



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103328034 A

(43) 申请公布日 2013. 09. 25

(21) 申请号 201180053228. 1 *A61F 7/00* (2006. 01)

(22) 申请日 2011. 09. 03 *A61M 31/00* (2006. 01)

(30) 优先权数据 *A61F 2/02* (2006. 01)
61/379, 905 2010. 09. 03 US *A61L 27/44* (2006. 01)
A61L 27/50 (2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日 *A61L 27/22* (2006. 01)
2013. 05. 03 *A61L 27/04* (2006. 01)

(86) PCT申请的申请数据 *A61L 27/54* (2006. 01)
PCT/US2011/050453 2011. 09. 03

(87) PCT申请的公布数据
W02012/031282 EN 2012. 03. 08

(71) 申请人 塔夫茨大学 / 塔夫茨学院信托人
地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 菲奥伦佐·奥梅内托
大卫·L·卡普兰 陶虎

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227
代理人 顾晋伟 卢蓓

(51) Int. Cl.
A61M 36/02 (2006. 01)

权利要求书3页 说明书23页 附图2页

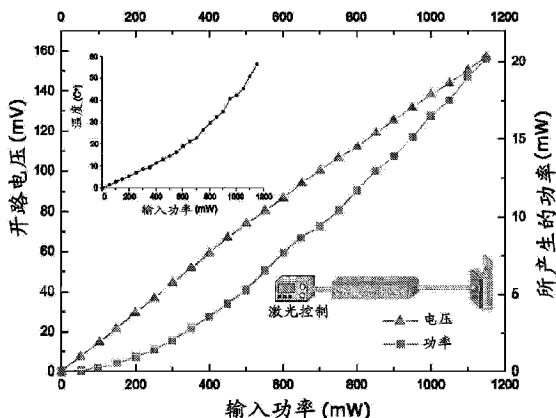
(54) 发明名称

掺杂有等离子体纳米颗粒的丝材

(57) 摘要

本申请提供了基于丝纤蛋白的光热元件及其用途。所述基于丝纤蛋白的光热元件包含分布于丝纤蛋白基质中的多个等离子体纳米颗粒, 并且当所述等离子体纳米颗粒暴露于电磁辐射时可产生热。基于丝纤蛋白的光热元件可被调整为可顺应和可生物降解的, 并且还可以与多种电子组件(例如热-电器件)整合以将热转化为电。本发明可用于多种体内应用, 例如光热治疗、受控药物递送器件或植入式微型器件的无线供能。

CN 103328034 A



1. 一种光热元件,其包含:
在暴露于电磁辐射时产生热的多个等离子体纳米颗粒;和
丝纤蛋白基质,
其中所述多个等离子体纳米颗粒分布于所述丝纤蛋白基质中;并且
其中所述多个等离子体纳米颗粒的平均直径为约 5nm 至 100nm。
2. 根据权利要求 1 所述的光热元件,其中所述丝纤蛋白基质的至少一部分是光学透明的。
3. 根据权利要求 1 或 2 所述的光热元件,其中所述丝纤蛋白基质为以下形式:
线、光纤、膜、超薄膜、凝胶、可注射基质、涂层、囊泡、海绵、块、多孔结构或其任意组合。
4. 根据权利要求 1 至 3 中任一项所述的光热元件,其中所述丝纤蛋白基质是丝膜。
5. 根据权利要求 4 所述的光热元件,其中所述丝膜的厚度为 10nm 或更少、30nm 至 500 μm 、30nm 至 50nm、约 100nm、约 2 μm 、或 20 μm 至 30 μm 。
6. 根据权利要求 5 所述的光热元件,其中所述丝膜的厚度为约 30 μm 。
7. 根据权利要求 1 至 6 中任一项所述的光热元件,其中所述光热元件被调整为在与表面接触之后与所述表面相适应。
8. 根据权利要求 1 至 7 中任一项所述的光热元件,其中所述至少一种等离子体纳米颗粒均匀地分散于所述丝纤蛋白基质中。
9. 根据权利要求 1 至 8 中任一项所述的光热元件,其中所述至少一种等离子体纳米颗粒以梯度分布于所述丝纤蛋白基质中。
10. 根据权利要求 1 至 9 中任一项所述的光热元件,其中所述至少一种等离子体纳米颗粒以图案状分布,所述图案包括光学图案、微米图案或纳米图案。
11. 根据权利要求 1 至 10 中任一项所述的光热元件,其中所述至少一种等离子体纳米颗粒和 / 或所述光热元件被 PEG 化。
12. 根据权利要求 1 至 11 中任一项所述的光热元件,其中所述至少一种等离子体纳米颗粒选自:纳米球、纳米壳、纳米棒、纳米笼、纳米晶体、纳米粉末及其任意组合。
13. 根据权利要求 1 至 12 中任一项所述的光热元件,其中所述至少一种等离子体纳米颗粒是纳米球或纳米壳。
14. 根据权利要求 1 至 13 中任一项所述的光热元件,其中所述至少一种等离子体纳米颗粒包含至少一种金属。
15. 根据权利要求 14 所述的光热元件,其中所述金属选自:贵金属、非贵金属、它们的氧化物、它们的合金及它们的任意组合。
16. 根据权利要求 15 所述的光热元件,其中所述贵金属选自:金、银、钯、铑、钼、铱、铂及其任意组合。
17. 根据权利要求 15 至 16 中任一项所述的光热元件,其中所述贵金属是金。
18. 根据权利要求 15 所述的光热元件,其中所述非贵金属选自:钛、铝、镍、氟、铈、锡、铋、锑、钨、铬、钴、锌、钨、钼、镉、铜及其任意组合。
19. 根据权利要求 1 至 18 中任一项所述的光热元件,其还包括热 - 电器件。
20. 根据权利要求 1 至 19 中任一项所述的光热元件,其中所述至少一种等离子体纳米颗粒和 / 或所述丝纤蛋白基质还包含至少一种活性剂。

21. 根据权利要求 1 至 20 中任一项所述的光热元件,其还包含至少一种对比度增强剂。
22. 根据权利要求 21 所述的光热元件,其中所述对比度增强剂是吲哚菁绿。
23. 根据权利要求 1 至 22 中任一项所述的光热元件,其中所述丝纤蛋白基质还包含至少一种光学器件以调节所述电磁辐射。
24. 根据权利要求 1 至 23 中任一项所述的光热元件,其中所述丝纤蛋白基质还包含至少一种光学图案以调节所述电磁辐射。
25. 根据权利要求 1 至 24 中任一项所述的光热元件,其中所述电磁辐射选自:γ 射线、X 射线、紫外线、可见光、红外线、近红外线、微波、无线电波、长无线电波、激光辐射、近红外线激光辐射及其任意组合。
26. 一种可植入器件,其包含根据权利要求 1 至 25 中任一项所述的光热元件。
27. 根据权利要求 26 所述的可植入器件,其中所述可植入器件配置为用于体内光热治疗。
28. 一种光热 - 电器件,其包含:
根据权利要求 1 至 25 中任一项所述的光热元件;和
与所述光热元件热接触的热电器件,其中所述热电器件将从所述光热元件传递的至少一部分热转化为电。
29. 根据权利要求 28 所述的光热 - 电器件,其还包含与所述热电器件连接的电路以将所转化的电作为输出能量传输。
30. 根据权利要求 28 或 29 所述的光热 - 电器件,其中所述热电器件包含薄膜热电材料。
31. 根据权利要求 28 至 30 中任一项所述的光热 - 电器件,其中所述热电器件被调整为在与表面接触之后与所述表面相顺应。
32. 根据权利要求 28 至 31 中任一项所述的光热 - 电器件,其还包含与所述光热元件相接触的绝热模块,其中所述绝热模块与所述光热元件的与接触所述热电器件的一侧相对的一侧相接触,并且其中所述绝热模块为与所述光热 - 电器件接触的组织提供绝热。
33. 一种无线供能器件,其包含根据权利要求 28 至 32 中任一项所述的光热 - 电器件。
34. 根据权利要求 33 所述的无线供能器件,其中所述无线供能器件被调整为在与表面接触之后与所述表面相顺应。
35. 根据权利要求 33 或 34 所述的无线供能器件,其中所述无线供能器件被调整为可植入的。
36. 一种光热治疗方法,其包括:
 - (a) 使内部或外部组织与包含丝纤蛋白基质及分散于其中的多个等离子体纳米颗粒的基于丝纤蛋白的光热元件相接触,其中所述基于丝纤蛋白的光热元件被调整为在接触之后与所述组织相顺应;和
 - (b) 将所述至少一种等离子体纳米颗粒暴露于电磁辐射,其中所述至少一种等离子体纳米颗粒在辐射之后产生热,并且其中所产生的热的至少一部分被传递到所述组织的至少一部分。
37. 根据权利要求 36 所述的方法,其中所述基于丝纤蛋白的光热元件包含至少一种活性剂。

38. 根据权利要求 36 或 37 所述的方法, 其还包括调节所述电磁辐射。
39. 根据权利要求 38 所述的方法, 其中所述调节所述电磁辐射包括调节电磁辐射源的强度。
40. 根据权利要求 38 至 39 中任一项所述的方法, 其中所述调节所述电磁辐射包括调节电磁辐射源的分布。
41. 根据权利要求 38 至 40 中任一项所述的方法, 其中所述调节所述电磁辐射包括将至少一个光栅施加于电磁辐射源。
42. 根据权利要求 41 所述的方法, 其中所述至少一个光栅被调整为使热的产生局部化。
43. 根据权利要求 38 至 42 中任一项所述的方法, 其中所述调节所述电磁辐射包括改变所述电磁辐射的波长。
44. 根据权利要求 36 至 43 中任一项所述的方法, 其中所述方法适于体内光热治疗。
45. 一种产生电的方法, 其包括:
 - (a) 提供包含丝纤蛋白基质的光热元件和与所述光热元件热接触的热电器件, 所述丝纤蛋白基质包含至少一种当用电磁辐射进行辐射时吸收辐射以产生热的等离子体纳米颗粒;
 - (b) 用电磁辐射辐射所述光热元件; 其中所述热电器件将至少一部分从所述光热元件传递的热转化为电。
46. 根据权利要求 45 所述的方法, 其还包括调节所述电磁辐射。
47. 根据权利要求 45 或 46 所述的方法, 其中所述调节所述电磁辐射选自: 调节电磁辐射源的强度、调节电磁辐射源的分布、向电磁辐射源施加至少一个光栅、改变所述电磁辐射的波长及其任意组合。
48. 根据权利要求 45 至 47 中任一项所述的方法, 其中所述方法适于体内施用。
49. 根据权利要求 45 至 48 中任一项所述的方法, 其还包括将所述热电器件与电路相连以将至少一部分所产生的电作为输出能量传输。

掺杂有等离子体纳米颗粒的丝材

[0001] 政府资助

[0002] 本发明在由美国陆军研究办公室 (United States Army Research Office) 授予的政府资助 W911NF-07-1-0618 和由美国空军科学研究办公室 (United States Air Force Office of Scientific Research) 授予的政府资助 FA9550-07-1-0079 下进行。政府享有本发明的某些权利。

[0003] 相关申请

[0004] 本申请要求于 2010 年 9 月 3 日提交的题为“GOLD NANOPARTICLE-DOPED BIOCOMPATIBLE SILK FILM AS A PATH TO IMPLANTABLE THERMAL-ELECTRICALLY WIRELESS POWERING DEVICES”的美国临时申请 No. 61/379,905 的权益,其内容通过引用整体并入本申请。

背景技术

[0005] 包含加热元件的器件提供了广泛范围的生物医学应用和临床应用,例如热疗。特别地,对于其中采用电磁辐射来治疗多种医学病症的许多应用(包括光热治疗)而言,光激活的加热元件受到了很大关注。

[0006] 另外,监测和治疗人体中的生理病症的可植入医学器件(IMD)吸引了全球生物学家、物理学家和工程师的极大关注。IMD 用于处置广泛范围的疾病,并且在技术和开发方面也反映出相当大的投入,包括如起搏器和药物递送系统这样不同的器件。已涌现出对微型、低功率的无线 IMD 的需要,并且在开发微米技术和纳米技术方面已取得进步。虽然有这些进步,但是 IMD(包括需要功率以适当操作的有源器件(active device))的长期稳定性和功能性仍然需要提高;例如改进这些器件的构造和封装材料的生物相容性、以及动力源的解决方案。

[0007] 发明概述

[0008] 本发明至少涵盖这样的认识:当与等离子体纳米颗粒组合时,基于丝的(silk-based)材料(例如,丝纤蛋白(silk fibroin))为改进的光激活的加热元件提供有用的成分。该组合可产生与本领域中之前所述的那些相比具有优越特征的光热器件。基于丝的材料独特特性允许等离子体纳米颗粒具有更广泛的用途,其提供了提高的可调制性(tonability)(例如,控制)和精确度。与添加等离子体纳米颗粒的常规器件不同的是,基于丝的器件提供了生物相容性、可生物降解性和顺应性(conformability)。因此,本申请所述的发明可用于多种应用,包括其中组织(细胞、器官、伤口等)热疗有益的治疗应用。

[0009] 因此,本发明的一些方面提供了光热元件,其包含当暴露于电磁辐射时产生热的多个等离子体纳米颗粒和所述多个等离子体纳米颗粒分布于其中的丝纤蛋白基质。

[0010] 在一些实施方案中,等离子体纳米颗粒是金属颗粒,例如金、银和氧化铁。在一些实施方案中,可用于本发明的等离子体纳米颗粒基本为球形。在一些实施方案中,可用于本发明的等离子体纳米颗粒基本为杆状。

[0011] 在一些实施方案中,可用于本发明的等离子体纳米颗粒的平均直径在约 2nm 至

500nm 的范围内。

[0012] 在一些实施方案中,可用于本发明的等离子体纳米颗粒构成两种或更多种(例如,形状、大小、材料)纳米颗粒的混合物。

[0013] 在一些实施方案中,等离子体纳米颗粒是实心颗粒。在一些实施方案中,等离子体纳米颗粒是壳形的。在一些实施方案中,等离子体纳米颗粒包括中空壳。在一些实施方案中,等离子体纳米颗粒包括芯和壳。

[0014] 本发明的另一方面涉及光热-电器件。该器件包含含等离子体纳米颗粒的表面和不含等离子体纳米颗粒的表面,当照明含等离子体纳米颗粒的表面时可在所述表面之间产生温差。在一些实施方案中,可使该光热-电器件与体内表面(例如皮肤或组织,体腔表面和肿瘤)相顺应(conform)。

[0015] 在一些实施方案中,光热元件可用于在体内产生热,例如用于光热治疗。在一些实施方案中,光热元件可用于组织结合。在一些实施方案中,光热元件用于热疗。在一些实施方案中,热疗用于治疗疼痛。在一些实施方案中,热疗用于治疗癌症。

[0016] 本发明的另一方面涉及将所产生的热转化为其它形式的能量,例如用于器件的无线供能的电。在一些实施方案中,所述器件是可植入微型器件。

[0017] 因此,掺杂有这些等离子体纳米颗粒的基于丝纤蛋白的材料可在多种应用(从无线供能到生物医学应用(例如,伤口愈合、疼痛缓解和细胞/细菌杀伤)中用作由光激活的可植入的并且可生物降解的加热元件。

[0018] 附图简述

[0019] 图 1 示出在本发明的一个非限制性实施方案中加工和开发掺杂有 GNP 的丝膜的一个实例。(1a) 切家蚕 (*Bombyx mori*) 茧,并在 Na_2CO_3 中煮沸以除去丝胶(1b)。将所得的丝纤蛋白溶解于 LiBr 中(1c);之后用水进行透析(1d)以产生约 8% 的无离子水性丝溶液。制备 GNP 并添加到丝溶液中,之后轻轻震荡(1e)以产生均匀的颗粒分散体。最后,将掺杂有 GNP 的丝溶液流延在微型热-电片上(1f),使之干燥(1g 和 1h)。

[0020] 图 2 是描绘不同浓度的掺杂有 GNP 的丝基质在 350nm 至 750nm 之间的特征性紫外可见(UV-Vis)光谱的图。随着 GNP 的浓度提高,样品在约 530nm 处的吸光度大大增加。样品之间的色差也是肉眼可见的。

[0021] 图 3 示出就本发明的一个特定实施方案(底部插图)而言,反映热-电元件的开路电压(三角形)和所产生的功率(正方形)作为激光输入功率的函数的数据。温度提高 vs 输入功率也示于上部插图中。

[0022] 某些实施方案详述

[0023] 几个世纪以来,热因其治疗作用已被许多临床病症所认识。允许受控热产生并且对于在体内使用而言安全的小型热元件的开发受到了很大关注。近来,激光的使用作为在临床上有前景的产热方法而出现。例如,已采用吸光染料和颗粒来实现局部环境的选择性加热,包括在体内(例如细胞和组织)使用。

[0024] 本公开提供了改进的光热元件,其包含等离子体纳米颗粒,例如 GNP 或金纳米壳(GNS)。等离子体纳米颗粒共振地吸收某些波长的入射光,并将其转化为热。虽然等离子体颗粒的添加已在光热治疗技术中用于体内医学应用例如肿瘤杀伤(Hirsch 等, 100PNAS13549(2003))和疼痛缓解(Jaeger 等, Acta Vet. Scand. 1(2007))中,但是这些纳

米颗粒在体内应用（例如移植）中的选择性定位是一项技术挑战。

[0025] 本发明至少部分地为该障碍提供了解决方案。根据本发明，光热元件包含等离子体纳米颗粒，其分布于基于丝纤蛋白的基质（即，掺杂有等离子体纳米颗粒的丝材）中。在加热元件中添加丝允许等离子体纳米颗粒选择性地施加于目的部位（例如，靶组织），在该部位，等离子体纳米颗粒可以以受控方式保留一段时间，这部分由于丝的特殊特性，将在下文中简要讨论这些特性。

[0026] 丝纤蛋白材料提供特殊组合的物化特性，例如，顺应性、粘性、生物相容性等，它们组合使得基于丝的材料通过提供基质以支持其中悬浮或分散的纳米颗粒来作为生物加热元件。

[0027] 除了其出色的生物相容性以外，丝纤蛋白基质还具有极佳的机械特性和光学特性，这使得这些材料非常适于多种可植入医学器件（IMD）。Omenetto & Kaplan, 2*Nature Photonics*641(2008)。可以将丝纤维（例如，由蚕或蜘蛛产生的那些）加工为丝纤蛋白，然后可以将丝纤蛋白加工为多种形式，包括丝溶液（Jin & Kaplan, 424*Nature*1057(2003)）、凝胶（Jim 等, 5*Biomacromol.* 786(2004)）、泡沫（Nazarov 等, 5*Biomacromol.* 718(2004)）和膜（Jin 等, 15*Adv. Functional Mats.* 1241(2005) ;Amsden 等, 17*Optics Express*21271(2009)）。多种加工选择使其可以被用作可植入微型医学器件的支持和包装材料。另外，可以在 IMD 中将丝膜图案化（以 2D 和 3D 二者）以实现许多光学元件例如衍射光栅（Amsden 等, 22*Adv. Mats.* 1746(2010)）和波导器（(Parker 等, 21*Adv. Mats.* 1(2009)））。

[0028] 此外，丝膜提供允许包含多种生物和 / 或化学掺杂物并维持其功能的生物有利微环境。蛋白质（Bini 等, 335*J. Mol. Bio.* 27(2004)）、酶（Lu 等, 10*Macromol. Biosci.* 359(2010)）和小有机物（Lawrence 等, 9*Biomacromol.* 1214(2008)）已被添加入丝膜中用于多种生物化学功能。

[0029] 因此，如本申请所述在丝基质（例如，丝纤蛋白基质）中包含等离子体纳米颗粒通过温度 / 热控制为基于丝纤蛋白的生物 - 电器件和光子器件提供了另外的用途和机遇。重要地，与其它目前现有的聚合物相比，丝纤蛋白可被加载较高浓度的等离子体纳米颗粒，从而允许更多的热产生。另外，丝纤蛋白是优越的分散介质，避免了通常在其它系统中成为问题的纳米颗粒聚集。

[0030] 有利地，基于丝纤蛋白的光热元件可以完全地或部分地可生物降解和可生物相容。术语“可生物相容”一般指不对环境或对象有害的材料：所述环境可以是体内环境或体外环境，例如，在农田中。

[0031] 如本申请所使用的，术语“可生物降解”一般指这样的材料：其化学结构可以被常规环境化学（例如，酶、pH 和天然发生化合物）（包括人体中的生理环境）改变，从而产生元素或简单的化学结构，而无害。可生物降解材料也可以是可生物侵蚀的。术语“可生物侵蚀”表示材料在环境中可生物降解、可消化或可侵蚀或者可溶解或可降解成为材料尺寸减小的形式，例如，通过化学、生物（例如，酶促）、物理分解、或增溶，从而使材料从环境中消除，而没有重大害处。在一些实施方案中，本申请所使用的术语“可生物降解”还涵盖术语“可生物吸收”，其一般描述这样的材料：在生理条件条件下分解为可进入宿主对象中经历生物吸收的分解产物，例如成为宿主对象之生化系统的代谢物。因此，在一些实施方案中，

本发明的基于丝纤蛋白的 IMD 无需回收,因为它们能够降解或侵蚀成为对对象无害的材料或成分。另外,丝纤蛋白可以在全水性过程中制备,进一步扩大了其与生物制品及环境的相容性。

[0032] 如本申请所使用的,术语“丝纤蛋白”包括蚕丝纤蛋白和昆虫或蜘蛛丝蛋白。参见例如 Lucas 等,13Adv. Protein Chem. 107(1958)。例如,可用于本发明的丝纤蛋白可以是由许多物种产生的那些,所述物种包括但不限于:印度柞蚕 (*Antheraea mylitta*)、柞蚕 (*Antheraea pernyi*)、天蚕 (*Antheraea yamamai*)、大蜡螟 (*Galleria mellonella*)、家蚕 (*Bombyxmori*)、野桑蚕 (*Bombyx mandarina*)、大蜡螟 (*Galleria mellonella*)、络新妇蛛 (*Nephila clavipes*)、*Nephila senegalensis*、乳突棘腹蛛 (*Gasteracantha mammosa*)、阿吉普奥兰提亚蜘蛛 (*Argiope aurantia*)、十字园蛛 (*Araneus diadematus*)、几何寇蛛 (*Latrodectus geometricus*)、*Araneus bicentenarius*、*Tetragnatha versicolor*、大腹园蛛 (*Araneusventricosus*)、*Dolomedes tenebrosus*、*Euagrus chisoseus*、*Plectrerys tristis*、三带金蛛 (*Argiope trifasciata*) 以及 *Nephila madagascariensis*。

[0033] 一般而言,用于根据本发明使用的丝可由任何这样的生物体产生,或者可通过人工方法(例如,包括遗传改造细胞或生物体以产生丝蛋白)和/或化学合成来制备。在本发明的一些实施方案中,丝由家蚕产生。

[0034] 如在本领域中已知的,丝在设计上是模块化的,其中大的内部重复侧翼是较短(约 100 个氨基酸)的末端结构域(N 末端和 C 末端)。丝具有高分子量(200 至 350kDa 或更高)、10,000 个碱基对和更高的转录物以及 > 3000 个氨基酸(综述于 Omenatto 和 Kaplan(2010)Science329 :528-531 中)。在蚕丝的情况下,较大的模块化结构域被具有疏水性带电基团的相对较短的间隔子(spacer)间断。N 端和 C 端包括于丝的组装和加工(包括组装的 pH 控制)中。尽管与内在模块相比具有相对较小的尺寸,但是 N 端和 C 端是高度保守的。

[0035] 下表 1 提供了产丝物种和丝蛋白的示例性列表:

[0036] 表 1:产丝物种和丝蛋白的示例性列表(摘自 Bini 等.(2003), J. Mol. Biol. 335(1) :27-40)

[0037] A. 蚕

[0038]

| 登记号 | 物种 | 产丝腺体 | 蛋白质 |
|-----------------|------|------|---------------------------------------|
| AAN28165 | 印度柞蚕 | 唾液腺 | 丝纤蛋白 |
| AAC32606 | 柞蚕 | 唾液腺 | 丝纤蛋白 |
| AAK83145 | 天蚕 | 唾液腺 | 丝纤蛋白 |
| AAG10393 | 大蜡螟 | 唾液腺 | 重链丝纤蛋白 (N-末端) |
| AAG10394 | 大蜡螟 | 唾液腺 | 重链丝纤蛋白 (C-末端) |
| P05790 | 家蚕 | 唾液腺 | 丝纤蛋白重链前体、 Fib-H、H-丝纤蛋白 |
| CAA27612 | 野桑蚕 | 唾液腺 | 丝纤蛋白 |
| Q26427 | 大蜡螟 | 唾液腺 | 丝纤蛋白轻链前体、 Fib-L、L-丝纤蛋白、PG-1 |
| P21828 | 家蚕 | 唾液腺 | 丝纤蛋白轻链前体、 Fib-L、L-丝纤蛋白 |

[0039] B. 蜘蛛

| 登记号 | 物种 | 产丝腺体 | 蛋白质 |
|----------|-------------------------------|-------|-------------------|
| P19837 | 络新妇蛛 | 大壶状腺 | 蜘蛛丝纤蛋白 1、牵引丝纤蛋白 1 |
| P46804 | 络新妇蛛 | 大壶状腺 | 蜘蛛丝纤蛋白 2、牵引丝纤蛋白 2 |
| AAK30609 | <i>Nephila senegalensis</i> | 大壶状腺 | 蜘蛛丝纤蛋白 2 |
| AAK30601 | <i>Gasteracantha mammosa</i> | 大壶状腺 | 蜘蛛丝纤蛋白 2 |
| AAG30592 | 阿吉普奥兰提亚蜘蛛 | 大壶状腺 | 蜘蛛丝纤蛋白 2 |
| AAC47011 | 十字园蛛 | 大壶状腺 | 丝纤蛋白-4, ADF-4 |
| AAK30604 | 几何寇蛛 | 大壶状腺 | 蜘蛛丝纤蛋白 2 |
| AAC04503 | <i>Araneus bicentenarius</i> | 大壶状腺 | 蜘蛛丝纤蛋白 2 |
| AAK30615 | <i>Tetragnatha versicolor</i> | 大壶状腺 | 蜘蛛丝纤蛋白 1 |
| AAN85280 | 大腹园蛛 | 大壶状腺 | 牵引丝蛋白-1 |
| AAN85281 | 大腹园蛛 | 大壶状腺 | 牵引丝蛋白-2 |
| AAC14589 | 络新妇蛛 | 小壶状腺 | MiSP1 丝蛋白 |
| AAK30598 | <i>Dolomedes tenebrosus</i> | 壶状腺 | 丝纤蛋白 1 |
| AAK30599 | <i>Dolomedes tenebrosus</i> | 壶状腺 | 丝纤蛋白 2 |
| AAK30600 | <i>Euagrus chisoseus</i> | 组合的腺体 | 丝纤蛋白 1 |
| AAK30610 | <i>Plectrerys tristis</i> | 较大安瓿 | 丝纤蛋白 1 |

[0040]

| | | | |
|-----------------|-------------------------------------|------------|-----------------|
| | | 形腺 | |
| AAK30611 | <i>Plectrerys tristis</i> | 较大安甬 形腺 | 丝纤蛋白 2 |
| AAK30612 | <i>Plectrerys tristis</i> | 较大安甬 形腺 | 丝纤蛋白 3 |
| AAK30613 | <i>Plectrerys tristis</i> | 较大安甬 形腺 | 丝纤蛋白 4 |
| [0041] AAK30593 | 三带金蛛 | 鞭形腺 | 丝蛋白 |
| AAF36091 | <i>Nephila madagascariensis</i> | 鞭形腺 | 丝纤蛋白、丝蛋白 (N-末端) |
| AAF36092 | <i>Nephila madagascariensis</i> | 鞭形腺 | 丝蛋白 (C-末端) |
| AAC38846 | 络新妇蛛 | 鞭形腺 | 丝纤蛋白、丝蛋白 (N-末端) |
| AAC38847 | 络新妇蛛 | 鞭形腺 | 丝蛋白 (C-末端) |

[0042] 丝纤蛋白是一种由某些产丝的蜘蛛和昆虫物种产生的结构蛋白。由家蚕产生的茧丝特别受关注,因为其提供适于许多商业应用(例如,织物)的低成本、大规模生产。

[0043] 蚕茧丝包含两种结构蛋白,丝纤蛋白重链(约 350k Da)和丝纤蛋白轻链(约 25k Da),它们与称为丝胶的非结构蛋白家族相关联,丝胶将丝纤蛋白连在一起形成茧。丝纤蛋白的重链和轻链通过两个亚基 C-末端的二硫键连接(Takei, F., Kikuchi, Y., Kikuchi, A., Mizuno, S. 和 Shimura, K. (1987) J. Cell Biol., 105, 175-180; Tanaka, K., Mori, K. 和 Mizuno, S. (1993) J. Biochem. (Tokyo), 114, 1-4; Tanaka, K., Kajiyama, N., Ishikura, K., Waga, S., Kikuchi, A., Ohtomo, K., Takagi, T. 和 Mizuno, S. (1999) Biochim. Biophys. Acta, 1432, 92-103; Y Kikuchi, K Mori, S Suzuki, KYamaguchi 和 SMizuno, Structure of the Bombyx mori fibroinlight-chain-encoding gene :upstream sequence elements common to the light and heavy chain, Gene110(1992), 第 151-158 页)。丝胶是丝的高分子量、可溶性糖蛋白成分,其为材料提供粘性。这些糖蛋白是亲水的并且可通过在水中煮沸而容易地从茧中除去。

[0044] 如本申请所使用的,术语“丝纤蛋白”指丝纤蛋白,无论是由蚕、蜘蛛或其他昆虫产生的,还是通过其它方法产生的(Lucas 等, Adv. Protein Chem., 13 :107-242(1958))。在一些实施方案中,丝纤蛋白获自包含溶解的蚕丝或蜘蛛丝的溶液。例如,在一些实施方案中,蚕丝纤蛋白获自家蚕的茧。在一些实施方案中,例如,蜘蛛丝获自络新妇蛛。在一些替选实施方案中,适合用于本发明的丝纤蛋白获自包含从细菌、酵母、哺乳动物细胞、转基

因动物或转基因植物收获的经遗传改造的丝的溶液。参见例如 W097/08315 和美国专利 No. 5, 245, 012, 其各自作为参考文献而整体并入本申请。

[0045] 因此, 在一些实施方案中, 丝溶液用于制备本发明的包含丝纤蛋白(基本不含丝胶)的组合物。在一些实施方案中, 用于制备本发明的多种组合物的丝溶液包含丝纤蛋白的重链, 但基本不含其它蛋白质。在另一些实施方案中, 用于制备本发明的多种组合物的丝溶液包含丝纤蛋白的重链和轻链二者, 但基本不含其它蛋白质。在某些实施方案中, 用于制备本发明的多种组合物的丝溶液包含丝纤蛋白的重链和轻链二者; 在一些这样的实施方案中, 丝纤蛋白的重链和轻链通过至少一个二硫键连接。在其中存在丝纤蛋白的重链和轻链的一些实施方案中, 丝纤蛋白的重链和轻链通过一个、两个、三个或更多个二硫键连接。

[0046] 虽然不同物种的产丝生物体和不同类型的丝具有不同的氨基酸组成, 但是多种丝蛋白共有某些结构特征。丝纤蛋白结构的一般趋势是特征在于通常交替的甘氨酸和丙氨酸或单独的丙氨酸的氨基酸序列。这样的构型使得丝纤蛋白分子自组装成为 β -片构型。这些“富含丙氨酸”的疏水组块通常被具有庞大侧基(例如, 亲水间隔子)的氨基酸区段分离。

[0047] 在一些实施方案中, 丝纤蛋白的疏水组块的核心重复序列由以下氨基酸序列和/或式表示: (GAGAGS)₅₋₁₅ (SEQ ID NO :1)、(GX)₅₋₁₅ (X = V, I, A) (SEQ ID NO :2)、GAAS (SEQ ID NO :3)、(S₁₋₂A₁₁₋₁₃) (SEQ ID NO :4)、GX₁₋₄GGX (SEQ ID NO :5)、GGGX (X = A, S, Y, R, D, V, W, R, D) (SEQ ID NO :6)、(S₁₋₂A₁₋₄)₁₋₂ (SEQ ID NO :7)、GLGGLG (SEQ ID NO :8)、GXGGXG (X = L, I, V, P) (SEQ ID NO :9)、GPX (X = L, Y, I)、(GP (GGX)₁₋₄Y)_n (X = Y, V, S, A) (SEQ ID NO :10)、GRGGAn (SEQ ID NO :11)、GGXn (X = A, T, V, S)、GAG (A)₆₋₇GGA (SEQ ID NO :12)、以及 GGX GX GX (X = Q, Y, L, A, S, R) (SEQ ID NO :13)。

[0048] 在一些实施方案中, 丝纤蛋白肽在肽中包含多个疏水组块, 例如 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 和 20 个疏水组块。在一些实施方案中, 丝纤蛋白肽包含 4 至 17 个疏水组块。

[0049] 在本发明的一些实施方案中, 丝纤蛋白肽包含至少一个亲水间隔子序列(“亲水组块”), 其长度为约 4 至 50 个氨基酸。亲水间隔子序列的非限制性实例包括: TGSSGFGPYVNGGYSG (SEQ ID NO :14)、YEYAWSSE (SEQ ID NO :15)、SDFGTGS (SEQ ID NO :16)、RRAGYDR (SEQ ID NO :17)、EVIVIDDR (SEQ ID NO :18)、TTIIEDLDITIDGADGPI (SEQ ID NO :19) 和 TISEELTI (SEQ ID NO :20)。

[0050] 在某些实施方案中, 丝纤蛋白肽包含作为任一以上列举的有代表性间隔子序列之衍生物的亲水间隔子序列。这样的衍生物与任一亲水间隔子序列具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、或至少 95% 的同一性。

[0051] 在一些实施方案中, 适于本发明的丝纤蛋白肽不包含间隔子。

[0052] 正如所指出的, 丝是纤维蛋白, 并且特征在于连在一起以形成高分子量、高度重复蛋白质的模块化单元。认为这些模块化单元或结构域(各自具有特定氨基酸序列和化学)提供特定功能。例如, 序列模体(motif)(例如聚丙氨酸(polyA)和聚丙氨酸-甘氨酸(poly-AG))趋向于 β -片形成; GXX 模体有助于 β -螺旋形成; GXG 模体提供硬度; 以及 GPGXX (SEQ ID NO :22) 有助于 β -螺旋形成。这些是多种丝结构中关键组分的实例, 所述丝结构的定位和排布与基于丝的材料末端材料属性密切相关(综述于 Omenetto 和 Kaplan (2010) Science 329 :528-531 中)。

[0053] 发现丝纤蛋白的 β -片堆叠形成晶体,而其他区段形成无定形结构域。硬结晶区段与应变弹性半无定形区之间的相互作用使丝具有其优异的特性。来自多种产丝物种的重复序列和间隔子序列的非限制性实例提供于下表 2 中。

[0054] 表 2:丝纤蛋白序列的疏水组分和亲水组分(摘自 Bini 等.(2003), J.Mol. Biol. 335(1):27-40)

[0055] A. Leiodoptera(重链丝纤蛋白)

[0056]

| 物种 | 亲水组块 | | | 疏水组块 | | |
|------|---------|---------|--|---------|-----|---|
| | N-末端 aa | C-末端 aa | 亲水间隔子(aa) & 有代表性的序列 | 范围, aa | 组块# | 核心重复序列 |
| 家蚕 | 151 | 50 | 32-33, TGSSGFGPYVNGGYSG, (SEQ ID NO: 14) | 159-607 | 12 | (GAGAGS) ₅₋₁₅ , (SEQ ID NO: 1); (GX) ₅₋₁₅ (X=V, I, A), (SEQ ID NO: 2); GAAS (SEQ ID NO: 3) |
| 野桑蚕 | 151 | | YEYAWSSE, (SEQ ID NO: 15) | | | |
| 印度柞蚕 | 86 | | SDFGTGS, (SEQ ID NO: 16) | | | |
| 柞蚕 | 87 | 32 | | | | |
| 天蚕 | 87 | 32 | 7, RRAGYDR, (SEQ ID NO: 17) | 140-340 | 16 | (S ₁₋₂ A ₁₁₋₁₃), (SEQ ID NO: 4); GX ₁₋₄ GGX, (SEQ ID NO: 5); GGGX (X=A, S, Y, R, D V, W, R, D), (SEQ ID NO: 6) |
| 大蜡螟 | 189 | 60 | 6-8, EVIVIDDR, (SEQ ID NO: 18) | 75-99 | 13 | (S ₁₋₂ A ₁₋₄) ₁₋₂ , (SEQ ID NO: 7); GLGGLG, (SEQ ID NO: 8); GXGGXG (X=L, I, V, P), (SEQ ID NO: 9); GPX (X=L, Y, I) |

[0057] B. 蛛形纲

[0058]

| 物种 | 亲水组块 | | | 疏水组块 | | |
|-------------------------------|---------|---------|--|---------|-----|--|
| | N-末端 aa | C-末端 aa | 亲水间隔子 (aa) & 有代表性的序列 | 范围, aa | 组块# | 核心重复序列 |
| 络新妇蛛 | 115 | 89 | | | | |
| <i>Nephila madascariensis</i> | 115 | 89 | 26, TTHIEDLDITIDG ADGPI, (SEQ ID NO: 19) | 260-380 | 5 | (GP(GGX)1-4 Y)n (X=Y, V, S, A), (SEQ ID NO: 10) |
| 三带金蛛 | | 113 | | | | GRGGAn, (SEQ ID NO: 11) GGXn (X=A, T, V, S) |
| <i>Major ampullata</i> | | | TISEELTI, (SEQ ID NO: 20) | | | |
| 络新妇蛛 | | 97 | 无间隔子 | 19-46 | | GAG(A) ₆₋₇ GGA, (SEQ ID NO: 12); GGX GX GXX(X=Q, Y, L, A, S, R), (SEQ ID NO: 13) |
| 乳突棘腹蛛 | | 89 | 无间隔子 | | | |
| 阿吉普奥兰提亚蜘蛛 | | 82 | 无间隔子 | | | |
| <i>Nephila senegalensis</i> | | 82 | 无间隔子 | | | |
| 几何寇蛛 | | 88 | 无间隔子 | | | |
| 十字园蛛 | | 94 | 无间隔子 | | | |

[0059] 在本申请中明确地例示的特定丝材通常是由家蚕纺的材料制备的。通常而言,将茧在 0.02M Na₂CO₃ 的水溶液中煮沸约 30 分钟,然后用水彻底冲洗以提取胶样丝胶蛋白。然后将所提取的丝在室温下溶解于 LiBr (例如 9.3M) 溶液中,产生 20% (重量) 溶液。然后,可以进一步加工所得丝纤蛋白溶液用于如本申请其它地方所述的多种应用。本领域普通技术人员理解其它可得并且可以良好适合的来源,例如在上表中例示的那些。

[0060] 已确定了家蚕丝纤蛋白基因的全序列 (C.-Z. Zhou, F. Confalonieri, N. Medina, Y. Zivanovic, C. Esnault 和 T. Yang 等, Fine organization of *Bombyx mori* fibroin heavy chain gene, Nucl. Acids Res. 28 (2000), 第 2413-2419 页)。丝纤蛋白编码序列示出引人注意的组织,具有高度重复且富含 G (约 45%) 的核心,侧翼是非重复 5' 和 3' 端。该重复核心由交替排列的 12 个重复结构域与 11 个无定形结构域组成。无定形结构域的序列在进化上是保守的,并且重复结构域的长度彼此相差约 208bp 的子域的多个串联重复序列。

[0061] 蚕丝纤蛋白由反向平行的 β 片层组成, β 片的一级结构主要由反复的氨基酸序列 (Gly-Ser-Gly-Ala-Gly-Ala)_n (SEQ ID NO: 21) 组成。丝纤蛋白的 β 片构型因形成在这些区中的氢键而主要负责材料的抗张强度。除了比 Kevlar 更坚韧以外,已知丝纤蛋白具有高弹性。在历史上,这些属性使其成为在若干领域 (包括织物制造) 中都有应用的材料。

[0062] 已知丝纤蛋白在大分子水平以三种结构排布其本身,称为丝 I、丝 II 和丝 III,实际上,发现前两者实际上是一级结构。丝 II 结构一般指丝纤蛋白的 β 片构型。丝 I 是丝纤蛋白的另一主要晶体结构,它是水合结构并且被认为是丝纤蛋白分子的预组织和预对准的必需中间体。实际上,在纺丝过程之后,丝 I 结构转化为丝 II 结构。例如,丝 I 是丝纤蛋白的天然形式,如同从家蚕丝腺中发出。丝 II 指纺丝中丝纤蛋白分子的排布,纺丝具有较大的强度并且经常在许多应用中商用。如在上文中所指出的,丝纤蛋白的 β -片形成结晶区的氨基酸序列主要是疏水序列。丝纤维形成涉及剪切和拉伸张力作用于腺中的蚕丝蛋白

溶液（多至 30% 重量 / 体积），引起溶液中的丝纤蛋白结晶。该过程包括溶致液晶相，在纺丝过程（即，液晶纺丝过程）中，该相由凝胶转化为溶胶态。拉伸流动确定丝纤蛋白链的方向，液体被转化为细丝。

[0063] 丝 III 是最近发现的丝纤蛋白结构 (Valluzzi, Regina ;Gido, Samuel P. ; Muller, Wayne ;Kaplan, David L. (1999). " Orientation of silk III at the air-water interface" . International Journal of Biological Macromolecules 24 :237-242)。丝 III 主要在界面（即，空气 - 水界面、水 - 油界面等）处形成于丝纤蛋白溶液中。

[0064] 丝可组装（并且事实上可自组装）成为晶体结构。丝纤蛋白可被制备为期望形状和构型，例如丝水凝胶 (W02005/012606 ;PCT/US08/65076)、超薄膜 (W02007/016524)、厚膜、顺应涂层 (W02005/000483 ;W02005/123114)、泡沫 (W02005/012606)、静电纺丝垫 (W02004/000915)、微球 (PCT/US2007/020789)、3D 多孔基质 (W02004/062697)、实心块 (W02003/056297)、微流体器件 (PCT/US07/83646 ;PCT/US07/83634)、电光器件 (PCT/US07/83639) 和直径为纳米级 (W02004/000915) 至若干厘米（美国专利 No. 6, 902, 932）的纤维。上述申请和专利通过引用整体并入本申请。例如，可将丝纤蛋白加工成具有极佳表面质量和光学透明性的薄的、在机械方面坚固 (robust) 的膜，这提供了作为高科技材料的机械支持的理想基底，所述高科技材料例如薄金属层和触体、半导体膜、介电粉末、纳米颗粒等。

[0065] 丝的这些特殊物化特性使得其可用于多种应用中，例如本申请中所述的那些。此外，可以通过可在室温下实施的并且基于水的方法来制备可用的丝材。因此，可以将目的生物分子容易地添加到丝材中。

[0066] 另外，基于丝的材料可在分子水平制备为平滑的和 / 或粘的。在一些实施方案中，由本发明提供的和 / 或根据本发明使用的基于丝的材料在分子水平是平滑且粘的。示出分子水平平滑性和 / 或粘合性的基于丝的材料允许对于其他材料而言不可能的某些应用。表面平滑度 / 粗糙度在决定一个真实物体如何与其环境相互作用中扮演着重要角色。在某些实施方案中，由本发明提供的和 / 或根据本发明使用的基于丝的材料对生物表面（例如，细胞和软组织）具有亲和力。此外，由本发明的某些实施方案提供的和 / 或根据本发明的某些实施方案使用的基于丝的材料对导电材料（例如金属）显示出极佳的粘性。本发明涵盖这样的认识：某些丝材可作为生物元件与非生物元件（例如，金属基颗粒）之间的界面。

[0067] 根据本发明的某些实施方案，一些实施方案提供了基于丝的材料可以被制备成在湿润时示出胶粘性（例如，黏性）。该特性（特别是与如本申请所述的表面平滑度联合时）可以使某些丝材特殊地适于作为将非生物元件（例如，纳米颗粒）与生物表面以其他基质无法实现的方式相连（例如，胶合）的纳米和 / 或微米级粘合剂。

[0068] 虽然可以使用多种类型的丝纤蛋白（例如，在上文中例示的那些）来实施所要求保护的发明，但是由蚕（例如家蚕）产生的丝纤蛋白是最常见，并且代表地球友好的可再生能源。例如，可以通过从家蚕的茧提取丝胶得到丝纤蛋白。有机蚕茧也是市售的。但是可以使用许多不同的丝，包括蜘蛛丝（例如，得自络新妇蛛）、转基因丝、遗传改造丝，例如来自细菌、酵母、哺乳动物细胞、转基因动物或转基因植物的丝（参见，例如，W097/08315；美国专利 5, 245, 012），及其变体。

[0069] 如已指出的，水性丝纤蛋白溶液可以使用本领域中已知的技术来制备。例如，在美

国专利申请序列号 11/247, 358、WO/2005/012606 和 WO/2008/127401 中公开了用于制备丝纤蛋白溶液的合适的方法。然后,可以将水性丝溶液加工为丝基质,例如丝膜、顺应涂层或层、或者 3 维支架、或静电纺丝纤维。在本申请中可以使用微过滤步骤。例如,可以在进一步加工为丝基质之前,通过离心和基于注射的微过滤进一步加工所制备的丝纤蛋白溶液。

[0070] 作为可用于本发明的产生热的基础,可以使用某些纳米级加热元件,例如等离子体纳米颗粒(例如,GNP 和金纳米壳(GNS))。本领域熟悉等离子体纳米颗粒。简要地,等离子体纳米颗粒共振地吸收某些波长处的入射光并将其转化为热。迄今为止,等离子体颗粒已被用于光热治疗技术用于体内医学应用中,例如肿瘤杀伤(Hirsch 等, 100PNAS13549(2003))和疼痛缓解(Jaeger 等, Acta Vet. Scand. 1(2007))。

[0071] 因此,本发明的一些实施方面提供了包含添加入或分布于丝纤蛋白基质中的等离子体纳米颗粒的光热元件,使得当元件暴露于电磁辐射时,等离子体纳米颗粒吸收至少一部分入射辐射以产生热。在一些实施方案中,本申请所述的光热元件可被调整为当与表面接触时与所述表面顺应。在一些实施方案中,这样的表面包括生物表面,例如细胞和组织。

[0072] 丝纤蛋白基质可以是光学透明的。另外,可以根据多种应用将丝纤蛋白基质造型为不同形式,例如,线、纤维、膜、超薄膜、凝胶、可注射基质、涂层、囊泡、海绵、块或多孔结构。在一些实施方案中,丝纤蛋白基质可用于产生光纤。在一些实施方案中,丝纤蛋白基质可制成压电的。在一些实施方案中,丝纤蛋白基质是厚度为 10nm 或更小(例如,约 10nm、约 9nm、约 8nm、约 7nm、约 6nm、约 5nm 等)的膜。在一些实施方案中,丝纤蛋白基质是厚度为 30nm 至 500 μm 、30nm 至 50nm、约 100nm、约 2 μm 或约 20 μm 至约 30 μm 的膜。在一个实施方案中,丝纤蛋白膜的厚度为约 30 μm 。

[0073] 金属基纳米光子学(等离子体光子学(plasmonics))是涉及在比常规光学元件小得多的纳米级结构上操作和聚焦光的领域。这些任选地可加热的纳米颗粒暴露于电磁辐射时,这些纳米颗粒能够将至少一部分入射辐射转化为热能。等离子体技术有用于应用例如高效计算机芯片、高效薄膜太阳能电池和极其敏感的生物分子传感器的纳米级光学互连中的潜力。如在本申请中进一步描述的,可以改造本实施方案的等离子体纳米颗粒以在给定的光波长处获得最大共振。

[0074] 根据本发明,可用于本发明的“等离子体纳米颗粒”是等离子体共振纳米颗粒,通常为金属颗粒或添加有金属的颗粒,其响应于电磁辐射。不希望受到特定理论的限制,等离子体纳米颗粒响应于电磁辐射,因为金属中的传导电子经历收集共振,称为表面等离子体共振。与特定等离子体颗粒相关的等离子体共振的振幅、峰波长和光谱带宽可取决于纳米颗粒的尺寸、形状和/或材料组成,以及其局部介电环境。参见,例如 Lu 等, Chemical Synthesis of Novel Plasmonic Nanoparticles, 60 Ann. Rev. Phys. Chem. 167(2009)。这些因素考虑到了在响应于特定波长的电磁辐射等离子体纳米颗粒热活性的预定控制。

[0075] 本发明的等离子体纳米颗粒可以是任何形状(例如,构造)的,例如纳米壳、半壳或纳米碗(Ye 等, 113 J. Phys. Chem. C 3110(2009); Ye 等, 25 Langmuir 1822(2009); Ye 等, ACS Nano 1457(2010))、纳米棒(Baciu 等, Protein-Membrane Interaction Probed by Single Plasmonic Nanoparticles, 8 Nano Lett. 1724(2008))、中空纳米笼、开放式纳米笼或中空纳米球(Ye 等, 15 Optics Express 23765(2009); Cobley 等, Targeting gold

nanocages to cancer cells for photothermal destruction and drug delivery, 7Expert Opin. Drug Deliv. 577 (2010))、纳米晶体、纳米粉末或纳米笼。等离子体纳米颗粒可以如本申请所教导的产生或者通过本领域中已知的技术产生、或者可购自广泛选择的商业来源,包括 nanoComposix, Inc. (San Diego, CA)、NN-Labs, LLC (Fayetteville, AR)、Nanoshell LLC (Haryana, India); Ted Pella, Inc. (Redding, CA) 和 Nanomaterial Store (Fremont, CA)。

[0076] 因此,在一些实施方案中,本发明的纳米颗粒可以是纳米壳。金属纳米壳具有与金属胶体类似的光学特性,例如,强光吸收和与其等离子体共振相关的极大且快速的三阶非线性光学 (NLO) 极化性。在一个实例中,纳米壳可以由用超薄金属层 (例如,金) 涂覆的介电芯 (二氧化硅) 组成; 纳米壳的另一实例可包含硫化金芯和金壳。参见例如美国专利 No. 6, 428, 811。介电芯材料的实例包括但不限于二氧化硅、硫化金、二氧化钛、聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA)、聚苯乙烯和大分子例如树枝状大分子。芯材料还可以是丝纤蛋白纳米颗粒,参见 2010 年 9 月 29 日提交的 PCT/US2010/05069, Silk Nanospheres & Microspheres & Methods of Making Same。通过调节相对芯和壳厚度和 / 或芯和壳材料,纳米壳可吸收或散射期望波长或特定波长光谱 (例如可见光和近红外光波长) 处的光。

[0077] 等离子体纳米颗粒通常包含至少一种金属。在一些实施方案中,可用的等离子体纳米颗粒通常是金属或合金、或者掺杂有至少一种金属或合金。这样的金属可以是任何领域认知的其中表面等离子体的激活可以由光诱导的金属。在一些实施方案中,金属可以是贵金属,包括但不限于金、银、钯、铑、钼、钨、铱和铂。在一些实施方案中,根据应用,贵金属可以是水银。在一些实施方案中,可用金属可以是非贵金属,例如钛、铝、镍、氟、铈、锡、铋、镉、钨、铬、钴、锌、钨、钼、铌和铜。在一些实施方案中,等离子体纳米颗粒可以包含贵金属或非贵金属的氧化物。在一些实施方案中,所述等离子体纳米颗粒可包含贵金属和 / 或非贵金属的合金,或者这些金属的非均质混合物。在一些实施方案中,等离子体纳米颗粒可以包含掺杂有稀有金属发射体 (例如 Pr^{+3} 、 Er^{+3} 或 Nd^{+3}) 的二氧化硅或丝纤蛋白。参见,例如美国专利 No. 6, 530, 944。在一个实施方案中,等离子体纳米颗粒包含金。在一个实施方案中,等离子体纳米颗粒是金纳米颗粒。

[0078] 当等离子体纳米颗粒暴露于电磁辐射时,等离子体纳米颗粒的尺寸可被调整为以期望的吸光度水平共振地吸收特定波长的光。在一些实施方案中,等离子体纳米颗粒的直径可以为约 1nm 至约 1000nm、约 5nm 至约 500nm、约 5nm 至约 250nm、或约 5nm 至约 100nm、或约 5nm 至约 50nm。在一些实施方案中,等离子体纳米颗粒的直径可以为 5nm 至约 25nm。如本申请所使用的,提及等离子体纳米颗粒群体时的术语“直径”表示群体的平均直径。在一些实施方案中,术语“直径”可指群体中等离子体颗粒的最大尺寸。在另一些实施方案中,术语“直径”可指群体中等离子体颗粒的最小尺寸。如果所述群体的尺寸均一,则术语“直径”也可以指各单个颗粒的直径。

[0079] 在一些实施方案中,等离子体纳米颗粒群体是异质群体,使得该群体包含多种直径的颗粒。在一些实施方案中,纳米颗粒群体中这样的直径变化在 $\pm 100\%$ 、 90% 、 80% 、 70% 、 60% 、 50% 、 40% 、 30% 、 20% 、 15% 、 10% 、 5% 、 2% 或更少的范围内。

[0080] 在本领域中已知在纳米级,块体 (例如,实心) 金属显示出其表面等离子体的光学共振。在胶体形式,这些金属通常强烈地吸收并散射光谱的可见光区中特征波长 (等离子体共振) 处的光。与光谱的近红外 (NIR) 区中的波长一起工作的能力可能对于某些临

床应用而言是有意义的,因为这些波长的光深深穿透组织(多至若干厘米)。实际上,某些几何构型(例如,球、杆和壳)的金属纳米颗粒具有可调谐到 NIR 区的光学等离子体共振(Oldenburg 等. 1999)。虽然金纳米球和纳米棒由实心金构成,纳米壳由被薄金壳包围的介电芯(例如,二氧化硅)组成。纳米球显示出约 540nm 的共振,该峰没有多少可调谐性,而纳米壳和纳米棒具有可通过 NIR 光谱调节的峰共振(Jain 等. 2006 ;Oldenburg 等. 1998)。纳米壳通过其芯:壳比调谐,而纳米棒通过其纵横比(即,长度:直径的比)调谐。例如,金纳米壳由经胺化硅胶(直径为 120nm)芯和 14nm 厚的吸附至其上的作为后续成核位点(导致 780nm 至 800nm 的吸收峰)的金胶体壳构成。

[0081] 本领域熟悉可确定最佳波长或其范围的合适的方法。图 2 提供了示出 UV 可见光谱中分散于丝纤蛋白溶液中的金纳米颗粒的吸光度与相对浓度之间的关系的示例性图。如图 2 所示,当如下文中的实施例 1 所述制备 8% 的丝纤蛋白溶液并与金纳米颗粒混合时,样品在约 530nm 处的吸光度大大提高。通过改变至少一个变量,例如纳米颗粒浓度、梯度、颗粒大小、形状,本领域普通技术人员可以调节适于特定应用的波长和吸光度的有效范围。

[0082] 应当理解,对于产生适于特定应用的可用量的热而言,可以改变因素例如丝基质中的纳米颗粒浓度和 / 或输入功率。在一个非限制性实例中,多个水平的输入功率与相应热功率之间的关系提供于图 3 中,在下文中对其更多细节进行了讨论。应指出,提高丝基质中纳米颗粒浓度应引起热产生在有效范围内密切成比例的且接近线性的增加。因此,就需要相对高的热产生的应用(例如伤口结合)而言,预期应当将较高浓度的等离子体纳米颗粒添加到丝基质制备物中。另外或者可替代地,较高的功率输入可用于得到期望量的产热。例如,可通过将掺杂有等离子体纳米颗粒的丝基质流延到热功率片上并基于照明监测丝相关表面与非丝相关表面之间产生的温度差来测量所产生的热差。在图 3 中对其进行了说明。

[0083] 如所提到的,本申请所描述的本发明可用于监测和治疗人体中的生理病症的可植入医学器件(IMD)。IMD 广泛地受到全球的生物学家、物理学家和工程师的极大关注。IMD 用于管理广泛范围的疾病,包括但不限于糖尿病((Jaremko & Rorstad, 21Diabetes Care 444(1998))、心率失常(Hsia 等, 87Annals Thoracic Surg. 124(2009)) 和帕金森氏病(Singh 等, 81Adv. Treat. Parkinson's Dis. 29(2007))。涌现了对微型、低功率的无线 IMD 的需要,并且在过去的二十年中,在开发微米和纳米技术方面取得了进步。参见 Staples 等, 23Pharm. Res. 847(2006); Lu & Chen, 56Adv. Drug Deliv. Rev. 1621(2004); Hilt & Peppas, 306Intl. J. Pharm. 15(2005)。尽管有这些进步,但是 IMD(特别是需要功率以适当操作的有源器件)的长期稳定性和功能性仍然需要提高。在本申请中提出的必要改进包括改进这些装置的构造与封装材料的生物相容性以及功率来源解决方案。在一些实施方案中,这些 IMD 可基于本说明书并入本发明的一些方面。示例性 IMD 包括但不限于起搏器(Narazaki & Yamashita, 29Inflammation & Regeneration 123(2009))、心脏除颤器(McAlister 等, 152Evidence Report/Tech. Assessment 1(2007))、神经兴奋剂(Mobbs 等, 14J. Clin. Neurosci. 216(2007)); 以及药物递送系统(Elman 等, 11Biomedical Microdevices 1387(2009))。

[0084] 如实施例中所例示的,就移植用途而言,当与组织发色团联合时,由组织发色团(例如血红蛋白和黑色素)引起的在接近 532nm 波长处成峰可对激光的穿透深度产生限

制。为了到达比约 0.5mm 深的移植物,功率将需要提高至可引起组织损伤或烧伤的不安全水平。Hamlin & Demidova, 6140Proc. SPIE1 (2006)。另外,水可在大于 1150nm 的波长处作为发色团,因此留下具有低水平吸收的约 600nm 至约 1150nm 之间的可用“光学窗口”。同前。因此,在一些实施方案中,本发明的等离子体纳米颗粒可调谐为在约 600nm 至约 1150nm 之间的任何波长处共振。在一些实施方案中,等离子体纳米颗粒可调谐为在更大的波长(例如,约 670nm、约 830nm 或约 1064nm)处共振,Stolik 等, 57J. Photochem. Photobio. B: Bio. 90 (2000)。例如,就更大穿透深度而言,其可通过改变等离子体纳米颗粒的直径或使用纳米壳来完成。Prodan 等, 3Nano Lett. 1411 (2003)。在这些波长处,机体组织的吸收率较低,使得即使对于深深地移植的器件而言也有安全的功率水平。

[0085] 等离子体纳米颗粒可以以很大变化分布于丝纤蛋白基质中或者丝纤蛋白基质上以优化光热活性用于特定用途。在一些实施方案中,等离子体纳米颗粒可均匀地分布于丝纤蛋白基质中或者丝纤蛋白基质的表面上。在一些实施方案中,等离子体纳米颗粒可以以梯度分布于丝纤蛋白基质中或者丝纤蛋白基质上,例如,更多等离子体纳米颗粒可以选择性地分布于丝纤蛋白基质中或者丝纤蛋白基质的一部分上。在一些实施方案中,等离子体纳米颗粒可分布于图案(例如光学图案、微米图案(micropattern)或纳米图案(nanopattern))中。参见,例如 Dong 等, Biogenic synthesis of hierarchical hybrid nanocomposites and patterning of silver nanoparticles, 110Mats. Chem. Phys. 160 (2008)。所述图案可通过任意已知技术获得,例如纳米印刷或蚀刻,并允许相应的图案化光热或光热-电产生。这样的梯度或图案使得以预定方式控制光热或热-电能量。换言之,可以通过等离子体纳米颗粒的选择性分布或图案化来设计能量递送的量和位置并添加入丝纤蛋白基质中。

[0086] 在一些实施方案中,等离子体纳米颗粒还可包含其他材料。其它材料可以根据用于等离子体纳米颗粒中的金属、共振峰的期望波长、吸光度量级、光谱带宽和/或等离子体颗粒的其它期望特性(例如,磁特性)的选择来选择。在一些实施方案中,所述其它材料可以是丝纤蛋白。例如,丝纤蛋白纳米颗粒可以按照 Zhang 等, Formation of silk fibroin nanoparticles in water-miscible organic solvent and their characterization, 9J. Nanoparticle Res. 885 (2007); Gupta 等, 4Intl. J. Nanomed. 117 (2009); Kharlampieva 等, Silk-based Mechanically-robust LbL Nano-composites with Tailored Optical Properties, 101PMSE Preprints 1059 (2009) 所教导的来产生。

[0087] 在一些实施方案中,本申请所述的光热元件可例如在丝纤蛋白基质中和/或在等离子体纳米颗粒中包括至少一种活性剂。所述活性剂的实例包括但不限于有机材料(例如辣根过氧化物酶)、酚红、寡核苷酸、核酸、适配体、抗体或抗体样分子(如抗体的片段、单链抗体(scFv)、单结构域抗体、嵌合抗体和双抗体)、酶(例如、过氧化物酶、脂肪酶、直链淀粉、有机磷酸酯脱氢酶、连接酶、限制性核酸内切酶、核糖核酸酶、RNA 或 DNA 聚合酶、葡萄糖氧化酶和乳糖酶)、细胞(包括红血细胞和干细胞)、病毒、其他蛋白质、或肽、肽模拟物、小分子(例如药物、染料、氨基酸、维生素、抗氧化物)、生物类似品(biosimilars)、生物制品(biologics)、脂质、碳水化合物、发色团、发光有机化合物(例如荧光素、胡萝卜素)和发光的无机化合物(例如、化学染料和/或对比度增强剂(contrast enhancing

agent) 例如吡啶菁绿)、抗生素、抗真菌剂、抗病毒剂、捕光化合物例如叶绿素、细菌视紫红质、变形菌视紫质和卟啉以及相关电子活性化合物、或前药、类似物以及任意上述实例的任意组合。参见,例如 W02011/006133, Bioengineered Silk Protein-Based Nucleic Acid Delivery Systems; W02010/141133, Silk Fibroin Systems for Antibiotic Delivery; W02009/140588, Silk Polymer-Based Adenosine Release: Therapeutic Potential for Epilepsy; W02008/118133, Silk Microspheres for Encapsulation & Controlled Release; W02005/1 23114, Silk-Based Drug Delivery System。

[0088] 在其中使用光学元件来治疗组织的一些实施方案中,丝纤蛋白可包括至少一种可促进组织的治疗(例如伤口愈合)的因子。这样的因子包括但不限于白蛋白、纤维蛋白原、胶原、弹性蛋白、纤连蛋白、层粘连蛋白、壳聚糖、成纤维细胞生长因子、血管内皮细胞生长因子、血小板衍生的生长因子、表皮生长因子、胰岛素样生长因子及其任意组合。在一些实施方案中,在分布于光热元件的丝纤蛋白基质之前,可以将本申请所述的活性剂或因子进一步封装入可以调节活性剂或因子之释放的不同丝纤蛋白载体(例如微米颗粒、纳米颗粒、膜或多孔海绵)中。参见例如, W02008/118133; W02009/1 40588; W0201 1/008842, Electrospun Silk Material Systems for Wound Healing。在其中靶向特定组织或生物体的一些实施方案中,丝纤蛋白基质、等离子体纳米颗粒和/或丝纤蛋白载体的至少一部分可进一步与一个或更多个靶部分结合。示例性靶向部分包括但不限于可以特异性地与生物体、细胞或组织结合的抗体、抗体片段、特定受体或蛋白质的配体。参见例如,美国专利 No. 6, 685, 730; No. 6, 530, 944。

[0089] 另外,丝纤蛋白基质可任选地与一种或更多种生物相容性聚合物组合。生物相容性聚合物的非限制性实例包括聚环氧乙烷、聚乙二醇、胶原、纤连蛋白、角蛋白、聚天冬氨酸、多聚赖氨酸、藻酸盐、壳聚糖、甲壳素、透明质酸,及其任意组合。参见,例如 W004/062697; W005/012606。对于本领域技术人员而言已知的任意其它生物相容性聚合物还可以与丝纤蛋白基质组合。还可以使用溶液中的活性剂,例如通过重氮或碳化二亚胺偶联反应、亲和素-生物素相互作用或基因修饰等来化学修饰丝纤蛋白以改变丝纤蛋白的物理特性和功能性。参见例如, W02011/011347, Functionalization of Silk Material by Avidin-Biotin Interaction; W02010/057142, Surface Modification of Silk Fibroin Matrices with PEG Useful as Anti-Adhesion Barriers & Anti-Thrombotic Materials; 美国序列号 12/192, 588, Diazonium Salt Modification of Silk Polymer。例如,可以使用活性剂例如酶或细胞因子通过碳二亚胺介导的反应来修饰丝纤蛋白基质的表面以在丝纤蛋白基质中形成活性剂梯度。参见例如美国专利公开 No. 2007/0212730, Covalently immobilized protein gradients in 3-dimensional porous scaffolds。另外,丝纤蛋白基质可以与例如影响基质的弹性的至少一种试剂(例如,甘油)组合。参见例如 W02010/042798, Modified Silk films Containing Glycerol。

[0090] 因此,本发明提供了用于热的局部递送和生物材料(例如,细胞和/或组织)的局部成像的方法。递送可以在体外或体内,并且可用于疾病或病症(例如,癌症、炎症或涉及组织过度增殖的其他病症)的局部治疗。该方法涉及热通过递送至细胞或组织包含等离子体纳米颗粒的顺应丝纤蛋白基质并在激发源放热的条件下将等离子体纳米颗粒暴露于激发源而局部感应至所述细胞或组织。本发明的一个实施方案包括用于将热局部感应至细胞

或组织的方法。该方法包括将本申请所述的光热元件递送至细胞或组织；并且将所述光热元件暴露于电磁辐射，例如紫外的、可见的、红外的或其任意组合，其中等离子体纳米颗粒当暴露于所述电磁辐射时发热。该方法可单独用于诊断成像，或者与光热治疗组合。参见 Hirsch 等，100PNAS13549(2003)。

[0091] 另外，在本发明的一些实施方案中，光热元件提供了可调节试剂的体内递送的方法。该系统包括在用电磁辐射照射纳米颗粒时能够将入射辐射转化为热能的多个等离子体纳米颗粒，所述等离子体纳米颗粒包含于丝纤蛋白基质中，所述丝纤蛋白基质还可包含分布于其中的至少一种活性剂。例如，当丝纤蛋白基质或其一部分的温度为第一温度（例如，37℃）时，活性剂保留于丝纤蛋白基质中。当丝纤蛋白基质或其一部分升高至第二、更高温度（例如，约 40℃至 45℃）（即由等离子体纳米颗粒暴露于电磁辐射产生的热）时，至少一部分活性剂可以从丝纤蛋白基质释放至机体中。任选地，本发明的一些实施方案可包括生物传感器系统，例如用于提供关于体内状态的信息以辅助作出治疗决定。该系统的一个优点是通过暴露于光以通过等离子体纳米颗粒（包括，例如，金属纳米壳）吸收和转化为热局部改变热响应 IMD 的温度的能力。这允许以多剂量植入药物递送器件，并通过调节药物递送器件暴露于合适的光源而提供剂量特性的外部控制。

[0092] 本发明的另一方面涉及活性剂的光热调节体内递送方法。该方法包括将在丝纤蛋白基质中包含一种更多个等离子体纳米颗粒和至少一种活性剂的组合物或器件移植入有治疗需要的对象机体中。当组合物的温度为对象的约正常体温时，所述活性剂可由丝纤蛋白基质基本保留。当组合物或其一部分的温度升高时，至少一部分活性剂可基本从丝纤蛋白基质释放到对象机体中。该方法包括向从体外植入的组合物或器件施加电磁辐射，例如近红外辐射。电磁辐射可通过光栅施加。可以施加直至电磁辐射足以升高等离子体纳米颗粒的温度使得丝纤蛋白基质或其一部分可引起试剂开始释放的量和持续时间的电磁辐射。或者，电磁辐射的施加可持续直至期望量的活性剂从移植物释放到机体中。在递送了期望量的试剂之后，可根据需要使组合物恢复到正常体温，因此药物递送减少或停止。在一些实施方案中，如果期望多剂量，则可以在之后的时间重复电磁辐射的施加。在一些实施方案中，治疗方法还可包括向来自体外的移植组合物或器件施加超声、磁场、电场或其任意组合。丝纤蛋白基质是可生物相容且可生物降解的，并且不需要后续去除。移植可以是皮下或肠胃外移植。

[0093] 本发明的另一实施方案提供了促进伤口愈合（特别是组织愈合）的方法。例如，激光组织焊接指响应于暴露于光及后续的产热组织可被连接的技术。这些技术的目的是在愈合中具有高拉伸强度的组织的快速连接、遍及靶标组织的深度的组织愈合、最小的瘢痕组织形成以及对环境组织的损伤最小。这些技术还可以在许多微创手术技术中有益。激光组织修复在许多临床领域中用于过程例如皮肤伤口的闭合、血管吻合、眼部修复、神经修复、软骨修复和肝修复。目前，激光组织修复通过以下来完成：焊接、使两个组织面相对然后暴露于激光辐射以充分加热组织从而将它们相连，或者通过这样的焊接，其中将外源材料（例如蛋白质或合成聚合物）置于两个组织面之间以当暴露于激光辐射时增强组织之间的连接。大于 50℃的温度可诱导组织愈合，其可通过蛋白质的降解和后续相关蛋白质链的缠结来诱导。参见，例如美国专利 No. 6, 685, 730。根据本发明的方法，本申请所述的顺应光热元件可以与组织接触，并被辐射以将热传递至靶组织。还参见 W02010/065957，

Vascularized Living Skin Constructs & Methods of Use Thereof; WO2011, Electrospun Silk Material Systems for Wound Healing.

[0094] 因此, 掺杂有等离子体纳米颗粒的丝纤蛋白基质可用于实现基于热的伤口结合。因此, 本发明包括基于丝的“无针缝合”, 其可通过照明靶伤口位点来控制以产生辅助伤口或组织结合或焊接的光激活的热。例如, 可用于预期用途的本发明的一些实施方案包括含有分散于基于丝的材料(例如, 凝胶和膜)中以形成掺杂有等离子体纳米颗粒之丝基质的光热等离子体纳米颗粒的组合物。这样的掺杂有等离子体纳米颗粒的丝基质可施用于待修复的伤口或组织位点, 例如, 沿着待结合的开放伤口或组织的边缘。然后用合适的光源照明该位点以诱导产热, 而对环境组织具有很小的不利作用或者没有不利作用。

[0095] 如在上文中所提到的, 常规而言, 激光技术已被用于实现基于热的组织结合, 有时将其称为“激光结合愈合”。虽然激光还可提供将光束定位于靶组织中非常小的区域的定位准确度, 挑战在于该技术倾向于引起组织或伤口过热。相反, 由本发明实现的基于丝的“无针缝合”提供了不仅准确控制施用位置还控制待施用靶组织温度的方法。通常而言, 期望向待结合伤口施加约 55°C 至约 70°C 的范围内的热, 认为该范围为肉熔化但仍可愈合的最佳温度范围。在一些实施方案中, 选择丝基质中等离子体纳米颗粒的浓度使得当颗粒以给定强度吸收光时, 它们产生约 60°C 至 68°C、约 63°C 至 67°C 的热, 例如 60°C、61°C、62°C、63°C、64°C、65°C、66°C、67°C 和 68°C。在一些实施方案中, 选择丝基质中等离子体纳米颗粒的浓度使得当颗粒以给定强度吸收光时, 它们产生约 65°C 的热。

[0096] 在一些实施方案中, 进行如本申请所述的组织修复以辅助伤口愈合, 例如皮肤上的开放性伤口。在一些实施方案中, 进行如本申请所述的组织修复作为手术过程的一部分。例如, 本发明可以为其中常规组织内缝合提出挑战的无创手术方法提供更佳的工具。

[0097] 在原则上, 认为将掺杂有等离子体纳米颗粒的丝基质用于这样的应用允许与经典针线缝合相比更快速的愈合和 / 或减少的瘢痕。此外, 这样的方法还可降低感染和 / 或炎症的风险。

[0098] 在另外一些实施方案中, 本发明包括掺杂有等离子体纳米颗粒的丝基质在临床热疗中的用途。引入激光加热源(从无线电射频或微波到超声波)以在特定靶区域诱导温和加热。这一般指热疗, 其通常定义为将组织加热到 41°C 至 47°C 的温度范围, 保持数十分钟 (Svaasand 等, 1990. *Lasers Med Sci* 5:121-128)。

[0099] 在一些实施方案中, 根据本申请所述的方法实现热疗以提供约 40°C 至 45°C 的温度。已报道在这样的范围内的温和升高可介导某些治疗作用, 包括但不限于疼痛缓解和抗肿瘤作用。特别地, 已记录有热疗介导的癌症治疗的有效性。传统而言, 热疗可以以许多方式实现, 包括通过外部或内部能量源的局部热疗、通过冲洗体腔或灌注器官或肢体的区域性热疗, 以及全身热疗。就前列腺癌治疗而言, 例如, 在局部晚期前列腺癌的治疗中成功地采用了例如腔内治疗的技术, 使用例如超声、无线电射频和微波的形式(其中适当的声极置于外部、腔内或间质)来产生热 (Krishnan 等., 2010. " Nanoparticle-mediated thermal therapy :Evolving strategies for prostate cancer therapy " *Int J Hyperthermia*. 26(8) :775-89)。通过采用本申请所述的本发明, 靶向肿瘤(例如前列腺癌)可以更有效地实现并且效力更高。

[0100] 另一实施方案提供了用于至少一种细胞或组织诊断成像的方法, 其包括将掺杂有

等离子体纳米颗粒的丝纤蛋白基质递送至所述细胞或所述组织,并在其中所述等离子体纳米颗粒吸收和/或散射待通过光检测器检测的光的条件下,将所述等离子体纳米颗粒暴露于电磁辐射。在一些实施方案中,掺杂有等离子体纳米颗粒的丝纤蛋白基质可涂覆有靶部分,例如对抗呈递在肿瘤细胞表面用于检测癌细胞的肿瘤特异性抗原。电磁辐射可以是任意波长的光,例如紫外光、可见光或红外光辐射。鉴于所述电磁辐射,等离子体纳米颗粒可作为对比剂(contrast agent)。还参见 W02009/105537, Non-invasive Optical Characterization of Biomaterial Mineralization。

[0101] 本领域普通技术人员将理解由光热丝纤蛋白基质产生的热可用于变化或改变丝纤蛋白基质的结构,例如将丝纤蛋白转化为 β -片结构,或者提高丝纤蛋白基质中 β -片结构的量。在该方面,丝纤蛋白基质可经历响应于暴露于电磁辐射的相变。例如,光热元件可以为凝胶或液体形式使得其可以在选定作用位点注射或者容易地移植入对象中,其中所述光电元件可与靶标组织或腔顺应。一旦被注射或移植,可以用电磁辐射对光电元件进行辐射使得丝纤蛋白基质被加热以采用在性质上更稳固且溶解性更低的 β -片结构。本领域普通技术人员将理解元件的多种结构特征有助于其表面顺应程度,并且将易于调节这些特征以实现特定的期望水平的顺应度。

[0102] 虽然报道了使用游离纳米颗粒的光热肿瘤消融(O'Neal等, 209Cancer Lett. 171(2009)),但是本发明实施方案的优点在于可以靶定肿瘤并使之与光电元件直接接触以进行后续消融。类似地,顺应光热元件可用于填充腔,然后通过暴露于电磁辐射硬化。该方法可用于移植块状试剂或组织平台,或者形成用于活性剂的持续/受控释放的库。

[0103] 在本发明的另一些方面,基于丝纤蛋白的光热元件还包含用以形成光热-电器件的热电器件。如本申请所使用的,术语“热电器件”指将温度差转化为电压的器件。术语“热电器件”还可涵盖产热电器。根据本发明,当光热元件的等离子体纳米颗粒暴露于电磁辐射时,在热电器件中产生温度差,随后所述热电器件将温度差转化为电压或电。

[0104] 因此,在一些实施方案中,本发明提供了热电器件,其包含含有纳米颗粒的表面和不含纳米颗粒的表面。器件的含纳米颗粒的表面包括含有分布于丝纤蛋白基质中的多个光热等离子体纳米颗粒的光热元件。器件的不含纳米颗粒的表面基本不含光热元件,或者包含与含纳米颗粒的表面相比显著减少的光热元件,使得可以基于用合适的光照明来建立温度差。在一些实施方案中,所述器件的不含纳米颗粒的表面包含多种对离散波长(或一系列波长范围)的光敏感的纳米颗粒,使得通过照明可以在两个面上差异地获得产热。因此,用合适的光照明器件的含纳米颗粒的表面在表面引起光激活的热产生,但使用特定光在另一表面不引起这样的热产生。

[0105] 作为一个非限制性实例,光热-电元件包含热功率片,表面涂覆有掺杂有等离子体颗粒的丝纤蛋白基质。这样的光热-电元件的特定实施方案是通过将掺杂有GNP的丝膜流延在市售热功率片(1.6mm×3.2mm)上产生的,其采用连续波(CW)绿激光(在532nm处输出功率多至450mW/mm²) 在60°C的 ΔT 下产生约20mW。在该实施方案中,GNP的直径可以为约10nm至约20nm。

[0106] 在一些实施方案中,本发明的光热元件的丝纤蛋白基质的厚度为等离子体纳米颗粒的平均直径的至少两倍。在一些实施方案中,本发明的光热元件的丝纤蛋白基质的厚度为等离子体纳米颗粒的平均直径的至少3倍、4倍、5倍或更多倍。

[0107] 所述包含含纳米颗粒的表面和不含纳米颗粒的表面的热电器件的结构可基本为平面构型,例如片、膜、板、盘等。在一些实施方案中,这样的结构的一个初级表面构成含纳米颗粒的表面,而该结构的对侧构成不含纳米颗粒的表面。这可通过使用与分布其中的等离子体纳米颗粒混合的基于丝的材料(例如,丝纤蛋白溶液)来涂覆或流延结构的第一表面(而非相对的表面)来实现。在图1中对其进行了示意性说明。基于干燥掺杂有纳米颗粒的丝材,所得结构包含含纳米颗粒的表面和不含纳米颗粒的表面,使得当在第一表面上产生照明热时,在结构厚度之间产生温差。

[0108] 例如,可根据光热-电器件的放置位点的性质和/或其所需灵活性来选择热电器件的大小用于特定应用。来自示例性供应者的市售热电器件的大小为:长度为约0.35mm至约34.00mm,宽度为约0.35mm至约2.40mm,以及高度为约0.30mm至约5.00mm,平均导电值(就一批而言)在约850至11500 $\text{hm}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 的范围内(Crystal Ltd. (Moscow, Russia; AlignSourcing LLC, Yardville, NJ, U.S.)。已使用约0.6 mm^2 至约25 mm^2 (Micropelt GmbH, Freiburg, German)或者高度为约2.5 mm^2 至50 mm^2 和2.5mm至5mm(Ferro Tec, Santa Clara, CA)、或者约12 μm 至约32 μm (Kim等, PowerMEMS2009281-284(Washington, DC, December1-4, 2009))的足迹来产生热电器件。另外,已设计了灵活的热电器件。参见Glatz等, Optimization and fabrication of thickflexible polymer based microthermoelectric generator, 132Sensors & Actuators A132337(2006); Glatz等, Bi₂Te₃-based flexible micro thermoelectric generator with optimized design 18J. Microelectromechanical Sys. 763(2009)。

[0109] 不希望受到理论约束,本申请所述的光热-电器件可通过塞贝克效应产生电,其中电产生自施加于器件的温差。热区与冷区之间的温差(ΔT)引起费米能量差,其产生电势差并驱动电流。因此,在一些实施方案中,以增加加热区为代价,可提高效率($P/\Delta T$ 和/或 $V/\Delta T$)。DiSalvo 285Sci. 703(1999)。在一些实施方案中,可通过提高等离子体纳米颗粒的浓度、改变等离子体纳米颗粒的组成或掺杂有纳米颗粒的丝膜的厚度来减少照明源的功率需求。

[0110] 在一些实施方案中,本申请所述的光热元件和/或光热-电元件还可包含光源。在一些实施方案中,光源可以由一个或更多个发光二极管(LED)提供。在那些实施方案中,一个或更多个LED可独立地产生电磁辐射,例如,波长范围为红外光至可见光至紫外光。在一些实施方案中,光源可用于为本申请所述的等离子体纳米颗粒提供电磁辐射。在另一些实例中,光源可以通过由等离子体纳米颗粒产生的热或电激活,例如用于诊断成像。

[0111] 目前,感应线圈是用于IMD的无线供能的最常用元件之一。Soma等, 34IEEE Trans. Biomed. Engin. 276(1987); Takeuchi & Shimoyama, A95Sens. Actuators, A269(2002)。通过植入接受线圈与外源线圈之间的感应偶联的功率传输主要依赖于偶联位置/角度并且随工作距离增加而快速降低。Fotopoulou & Flynn, in 2006 5th IEEE Conf. Sensors 765(2007)。光热-电供电方法对患者与照明源之间的分离的要求较为宽松,其可用于其中主要的是空间限制的手术设置。另外,该方法可避免组织的磁场暴露和器件干扰,出于安全性和隐私性的原因,就IMD而言,近来对其关注增加。Maisel & Kohno, 362N. Engl. J. Med. 1164(2010)。

[0112] 包含等离子体纳米颗粒的丝基质构成基于丝的可生物移植和吸收之器件的有前

景的构件。在一些实施方案中,添加热电功能性与硅电和/或其他工作组件例如 n- 沟道金属氧化物半导体 (nMOS) 晶体管 (Kim 等, 95Appl. Phys. Lett. 133701 (2009)) 以及被动神经记录电极 (Kim 等, 9NatureMats. 511 (2010)) 可增加这样的器件在多种生物医学应用中的用途。

[0113] 在一些实施方案中,本发明的器件可利用开发以使丝纤蛋白基质功能化以用于多种应用的许多技术,例如药物递送、生物传感和光学成像。参见,例如,美国专利 No. 6, 287, 340, Bioengineered anterior cruciateligament; W02004/000915, Silk Biomaterials & Methods of Use Thereof; W02004/001103, Silk Biomaterials & Methods of Use Thereof; W02004/062697, Silk Fibroin Materials & Use Thereof; W0 2005/000483, Method for Forming inorganic Coatings; W0 2005/012606, ConcentratedAqueous Silk Fibroin Solution & Use Thereof; W0 2011/005381, Vortex-Induced Silk fibroin Gelation for Encapsulation & Dclivery; W02005/123114, Silk-Based Drug Delivery System; W0 2006/076711, FibrousProtein Fusions & Uses Thereof in the Formation of AdvancedOrganic/Inorganic Composite Materials; 美国申请公开 No. 2007/0212730, Covalently immobilized protein gradients in three-dimensional porouscaffolds; W02006/042287, Methodfor Producing Biomaterial Scaffolds; W02007/016524, Method for Stepwise Deposition of Silk Fibroin Coatings; W02008/085904, Biodegradable Electronic Devices; W02008/118133, SilkMicrospheres for Encapsulation & Controlled Release; W02008/108838, Microfluidic Devices & Methods for Fabricating Same; W02008/1 27404, Nanopatterned Biopolymer Device & Method of Manufacturing Same; W02008/118211, Biopolymer Photonic Crystals & Method of ManufacturingSame; W02008/1 27402, Biopolymer Sensor & Method of ManufacturingSame; W02008/127403, Biopolymer Optofluidic Device & Method ofManufacturing the Same; W02008/127401, Biopolymer Optical WaveGuide & Method of Manufacturing Same; W02008/140562, BiopolymerSensor & Method of Manufacturing Same; W02008/1 27405, MicrofluidicDevice with Cylindrical Microchannel & Method for Fabricating Same; W02008/1 06485, Tissue-Engineered Silk Organs; W02008/140562, Electroactive Bioploymer Optical & Electro-Optical Devices & Method ofManufacturing Same; W02008/150861, Method for Silk Fibroin GelationUsing Sonication; W02007/103442, Biocompatible Scaffolds & Adipose-Derived Stem Cells; W02009/1 55397, Edible Holographic SilkProducts; W02009/100280, 3-Dimensional Silk HydroxyapatiteCompositions; W02009/061823, Fabrication of Silk Fibroin PhotonicStructures by Nanocontact Imprinting; W02009/1 26689, System & Methodfor Making Biomaterial Structures。

[0114] 在一些实施方案中,本发明的光热或光热 - 电元件还可用作传感器,或者可包括传感器,用于生物环境或其它环境中。参见例如, W02010/126640, Nanoimprinting of Silk Fibroin Structures for Biomedical & Biophotonic Applications; W02008/127401; W02008/118211; W02008/127402; W02008/140562。本发明的基于丝纤蛋白的光热或光

热-电元件还可以与其它基于丝纤蛋白的光子结构（包括基于丝纤蛋白的全息图和基于丝纤蛋白的光纤）组合。参见，例如 W02009/061823 ;PCT/US10/50565, Drawn Silk E-Gel Fibers & Methods of Making Same ;PCT/US2010/042585, All-Protein Implantable, Resorbable Reflectors ;PCT/US10/47307, Silk Transistor Devices & Method of Making TransistorDevices from Silk。

[0115] 如上文所述，期望本申请所述的掺杂有等离子体纳米颗粒的丝纤蛋白基质可用于体内光热治疗。不希望受到理论限制，因为掺杂有等离子体纳米颗粒的丝纤蛋白基质可被调整为与所处理的区顺应，所以其可提高热传输到靶区域或组织的效率，和 / 或置于弯曲表面。例如，可以将光热元件插于关节处，其中由光热元件产生的热可缓解关节疼痛，例如，关节炎疼痛。参见例如，Jaeger 等，49Acta Vet. Scanda. (2007)。另外，就现场数据记录和传输器件而言，掺杂有等离子体纳米颗粒的丝膜可用于在治疗过程中在体内产生功率（与适当的热电器件组合）。在使用时，电磁辐射可以以这样的方式传输：使得可以辐射预定特定区的光热器件或光热-电器件以将光激活转化为热或电。另外，预定频率（例如，颜色、衍射梯度）的光可用于控制由光热元件或光热-电器件产生的热或电的量。

[0116] 在另一实施方案中，光热-电器件可包含压电丝纤蛋白材料，即，可在施加机械力和 / 或丝纤蛋白材料形变的条件下产生的丝纤蛋白材料，反之亦然。参见 W02010/036992, Active Silk Muco-Adhesives, SilkElectrogelation Process & Devices ;美国序列号 12/974,796, pH-InducedSilk Gels & Uses Thereof。通过辐射调节丝纤蛋白的顺应的能力可用于例如根据需要使活性剂从丝纤蛋白基质中释放或者改变丝纤蛋白基质的降解速率。

[0117] 另一实施方案提供了用于产生电的方法，包括 (a) 提供光热元件，其包含含有等离子体纳米颗粒的丝纤蛋白基质，所述等离子体纳米颗粒在用电磁辐射照射时吸收入射辐射以产生热，所述热电器件与光热元件热接触，其中所述热电器件将从光热元件传递的热转化为电；b) 使用电磁辐射来辐射光热元件；其中光电元件将从光热元件传递的热转化为电。在一些实施方案中，辐射可通过导管基光纤（其可包括丝光纤）施加。在一些实施方案中，电磁辐射可以是近红外电磁辐射。

[0118] 应理解，本发明不限于本申请所述的特定方法、规程和试剂等并且因此可以变化。本申请所使用的术语仅出于描述特定实施方案的目的，并且不旨在限制本发明的范围，本发明的范围只由权利要求书所限定。

[0119] 如本申请和权利要求书中所使用的，除非另有说明，否则单数形式包括复数指称，反之亦然。除非在操作实施例中或者另有说明，否则本申请所使用的表示成分或反应条件的量的所有数字应理解为在所有情况下由术语“约”修饰。

[0120] 所限定的所有专利和其他公开明示地出于描述和公开例如可用于与本发明联合的这些公开中所述的方法的目的通过应用并入本申请。只提供这些公开是因为他们的公开内容在本申请的申请日期之前。鉴于此，任何内容都不应解释为承认由于现有发明或出于任何其它原因本发明人不具有在这些公开内容的日期之前的权利。如关于所述日期的所有陈述或关于这些文件的内容的展示都基于本申请人可得的信息，并且不构成承认这些文献的日期或内容的准确性。

[0121] 除非另有说明，否则本申请所使用的所有技术和科学术语与本发明所属领域普通技术人员所通常理解的含义相同。虽然在实施或测试本发明时可使用任何已知方法、器件

和材料,但是本申请仍描述了与此相关的这些方法、器件和材料。

实施例

[0122] 实施例 1:掺杂有金纳米颗粒 (GNP) 的丝纤蛋白的制备

[0123] 在之前的文献 Sofia 等,54J. Biomed. Mats. Res. 139(2001);Kimling 等,110J. Phys. Chem. B. 15700(2006). 中描述了丝纤蛋白溶液的产生和 GNP 的合成。简要地,将家蚕茧切成小块并在 0.02M 碳酸钠 (Na_2CO_3) 的水溶液中煮沸 60 分钟以除去丝胶,所述丝胶是结合丝纤蛋白丝的水溶性糖蛋白(图 1a 和 1b)。干燥所得丝纤蛋白包,然后在 60°C 下在 9.3M 溴化锂 (LiBr) 的水溶液中溶解 12 小时(图 1c)。然后通过水基透析过程萃取溴化锂盐(图 1d)。有必要制备无离子丝溶液以实现与 GNP 均匀混合。然后将所得溶液离心并通过注射基微过滤器 ($5\ \mu\text{m}$ 孔径,Millipore Inc, Medford, MA) 过滤以除去任何残余颗粒,产生 8% w/v 的具有很少污染物的丝纤蛋白溶液。通过以下步骤来制备 GNP 溶液:向 200mL 煮沸的 1.0mM 四氯金酸 (HAuCl_4) 中添加 20mL 1% 柠檬酸三钠 ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), 然后连续加热 10 分钟或者直至溶液变为深红色。在产生丝纤蛋白和 GNP 溶液之后,小心地将 GNP 溶液加入丝纤蛋白溶液中,并施加轻轻震荡以得到均匀分散体(图 1e)。

[0124] 制备了一系列由去离子水稀释的具有不同 GNP 浓度的丝-GNP 样品,使用 UV-Vis 分光光度计 (HP8452A, Hewlett-Packard Company) 表征 350nm 至 750nm 的波长范围处的吸光响应,分辨率为 1nm。如图 2 所示,掺杂有 GNP 的丝样品在约 530nm 处显示出显著的吸收峰。具有较高 GNP 浓度的丝溶液显示出较高的峰吸收,而未掺杂的样品在可见频率范围显示出非共振吸收应答,其也通过观察色差在视觉上证实。

[0125] 实施例 2:包含掺杂有 GNP 的丝纤蛋白膜的光热-电器件的制备

[0126] 将八 ($8\ \mu\text{L}$) 的丝 GNP 溶液流延在市售热-电片 (ETEG UPF40, Nextreme Thermal Solutions, Inc., Durham, NC) 的顶侧,并使之放置 2 小时,形成约 $30\ \mu\text{m}$ 厚的膜(图 1f 和 1g)。用以监测温度提高和功率输出的界面测试回路用于表征掺杂有 GNP 的丝纤蛋白膜光热-电器件(图 1h)。

[0127] 使用 CW 绿激光来照明涂覆有丝-GNP 的光热-电片,与片的冷区和热区相连的两个热偶联体监测由具有包埋 GNP 的丝膜基于照明而诱导的温差。如图 3 所示,当激光输出功率设置为 1.15W (即 $450\text{mW}/\text{mm}^2$) 并且激光点尺寸为直径为约 1.8mm 时,在 60°C 的 ΔT 下,开路电压 (V) 提高至 160mV 。在负载电阻 $R = 0.3\ \Omega$ 时,其提供最大的产生功率 (P)。对于可植入器件应用,有必要使用小温差的功率产生发电性能来避免组织损伤。将入射激光功率降低至 50mW 引起 1.3°C 的温度提高,其产生 7.4mV 的最大电压和 $70\ \mu\text{W}$ 的峰功率。这些值在现有低功率 IMD (例如起搏器 ($< 10\ \mu\text{W}$)) 的操作范围内 (Chandrakasan 等, 10Ann. Rev. Biomed. Engin. 247(2008)), 或者用于神经信号获取的互补金属氧化物半导体 (CMOS) 放大器 (约 $60\ \mu\text{W}$) (Li & Tang, in Proc. 31th Ann. Intl. Conf. IEEE Engin. Med. & Bio. Socy. 3806(2009))。用于该实施例中的光热-电器件通过塞贝克效应产生电,其中电产生于施加于器件的温差。热区与冷区之间的温差 (ΔT) 引起费米能量差的变化,其引起电势差并驱动电流。因此,以增加加热区为代价,效率 ($P/\Delta T$ 和 / 或 $V/\Delta T$) 可潜在地在提高。DiSalvo 285Sci. 703(1999)。另外,可以通过提高 GNP 的浓度或者掺杂有 GNP 的丝膜的厚度来降低照明源的功率需求。

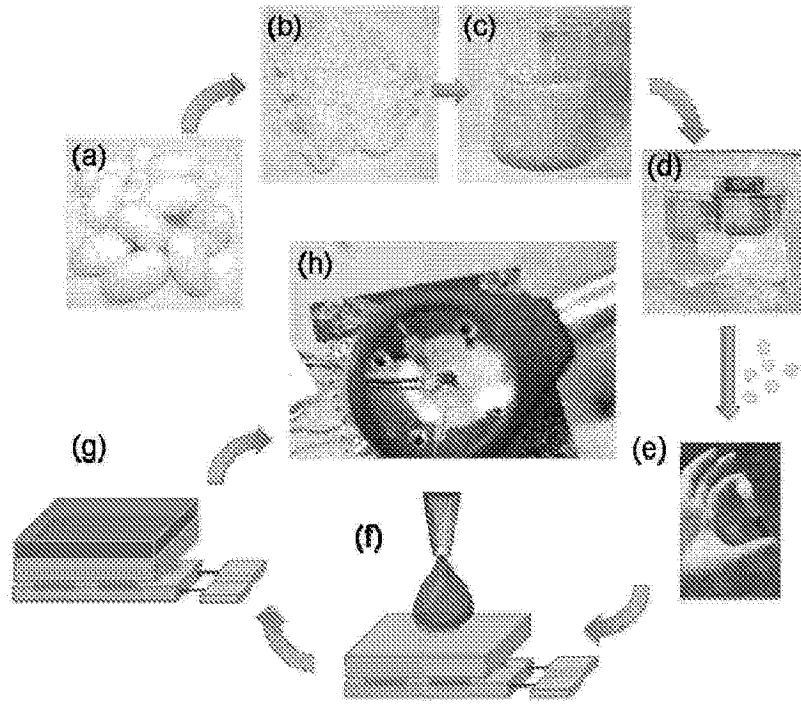


图 1

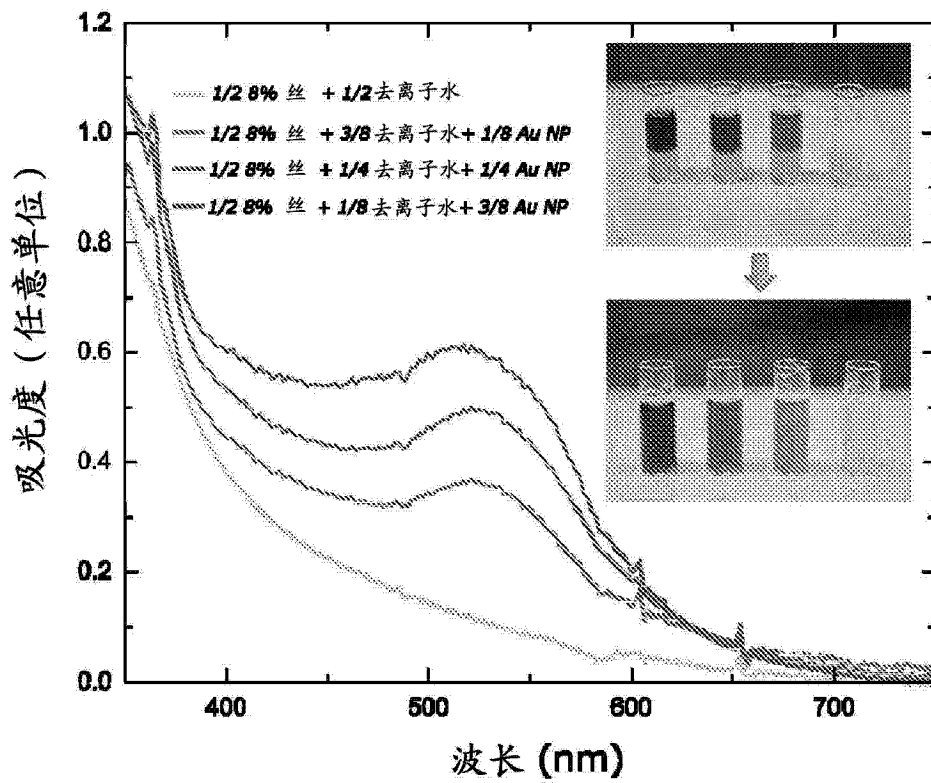


图 2

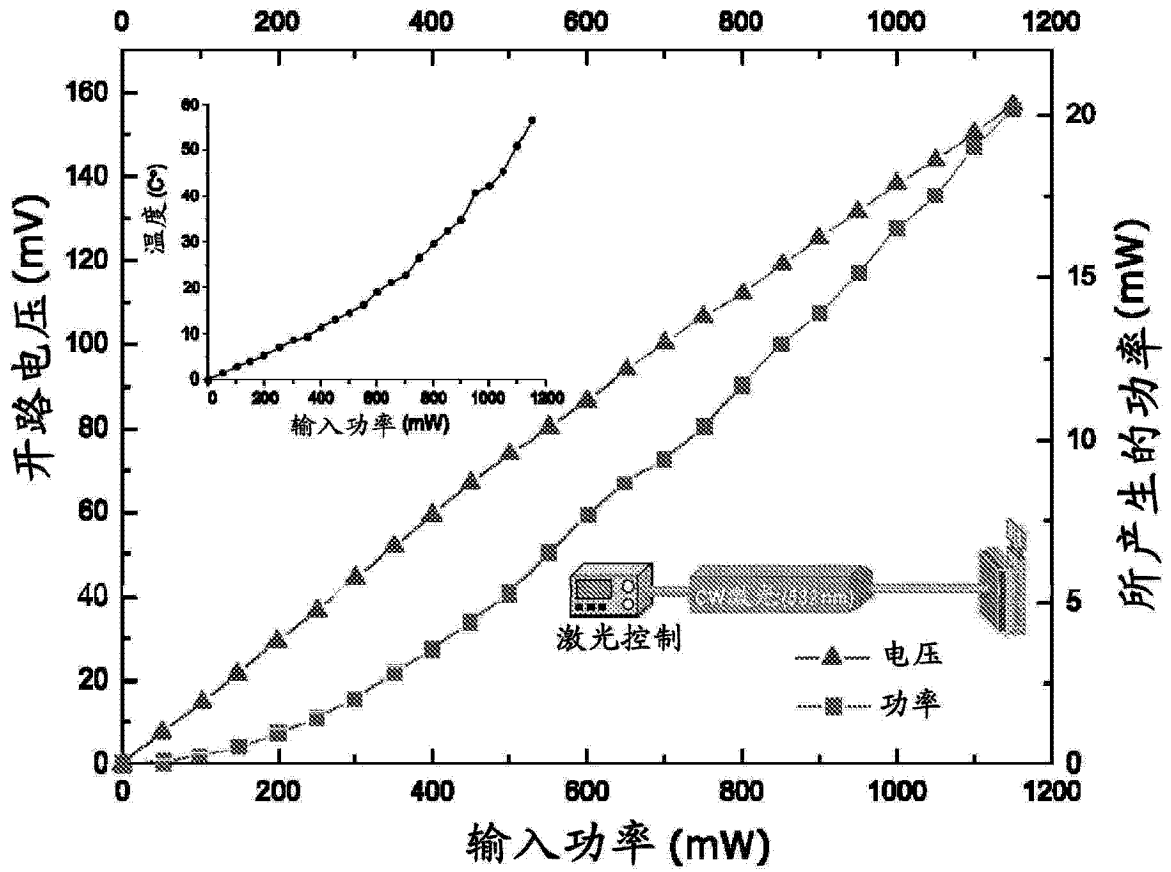


图 3