

琼脂-羟基磷灰石复合物的仿生合成及细胞相容性*

蔡华琼¹, 李全利^{1,2}, 周 健^{1,2}, 汤 健³, 陈 辉⁴

Biomimetic synthesis and cytocompatibility of agar-hydroxyapatite composites

Cai Hua-qiong¹, Li Quan-li^{1,2}, Zhou Jian^{1,2}, Tang Jian³, Chen Hui⁴

Abstract

¹College of Stomatology, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province, China; ²Provincial Laboratory of the Prevention and Treatment for Oral Diseases, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province, China; ³First Affiliated Clinical College of Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province, China; ⁴China National Logging Corporation, Beijing 100000, China

BACKGROUND: Studies regarding synthesizing composite bone repair materials with organic macromolecules as mineralizers template are the hot research spot. However, reports concerning using agar as bone repair materials are few.
OBJECTIVE: To synthesize a novel agar-hydroxyapatite composite material, and to evaluate its physical and chemical properties as well as cytocompatibility.
METHODS: ①A certain amount of the non-nano-hydroxyapatite in hydrochloric acid solution was added into a certain amount of agar sol, and the reaction system was adjusted with PH value of 7-8. And then the precipitate was lyophilized to obtain the composite of agar-hydroxyapatite. ②The third generation of rat bone marrow stromal cell (BMSC) was co-cultured with agar-hydroxyapatite. And the growth of cells was observed at days 1, 3 and 5 after culture.
RESULTS AND CONCLUSION: The results of X-ray diffraction patterns, Fourier transform infrared spectrometer (FTIR), thermal analyzer, transmission electron microscope, and scanning electron microscope showed that agar could manipulate the growth of hydroxyapatite, and hydroxyapatite nanocrystals was equably formed on the agar-fibers with high porosity. The BMSC grew well in the composite and form a clear cytoskeletal at days 3 and 5 after culture. The results reveal that agar-hydroxyapatite composite has good physical and chemical properties and cytocompatibility.

Cai HQ, Li QL, Zhou J, Tang J, Chen H. Biomimetic synthesis and cytocompatibility of agar-hydroxyapatite composites. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(3):410-414. [http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

Cai Hua-qiong★, Studying for master's degree, College of Stomatology, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province, China
caihuaqiong@gmail.com

Correspondence to: Zhou Jian, Master, Chief physician, Professor, Doctoral supervisor, College of Stomatology, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province, China; Provincial Laboratory of the Prevention and Treatment for Oral diseases, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province, China

Received: 2009-11-13
Accepted: 2009-12-16

摘要

背景: 以有机大分子作为矿化模版进行骨组织修复材料的仿生构建, 是目前骨修复材料的研究热点。而将琼脂应用于骨修复材料的报道较少。

目的: 仿生合成一种由琼脂和羟基磷灰石组成的新型纳米复合骨组织修复材料, 评价其理化性能和细胞相容性。

方法: ①将一定量的非纳米羟基磷灰石的盐酸溶液, 加入一定量的琼脂溶胶中, 调整反应体系的 pH 值至 7~8, 然后将反应形成的复合物冷冻干燥后即得琼脂-羟基磷灰石复合材料。②将第 3 代 SD 大鼠骨髓基质细胞与琼脂-羟基磷灰石复合材料共培养, 于培养 1, 3, 5 d 时观察细胞生长情况。

结果与结论: X 射线衍射仪, 傅里叶变换红外光谱仪, 热分析仪, 透射电镜和扫描电镜对材料进行表征分析, 显示琼脂良好控制了磷灰石晶体的生长, 纳米的磷灰石晶体均匀分布在琼脂纤维中, 琼脂-羟基磷灰石复合物具有多孔结构。共培养 3, 5 d 时骨髓基质细胞在复合物中生长良好, 并有较明显的细胞骨架形成。提示琼脂-羟基磷灰石复合物具有良好的理化性质和细胞相容性。

关键词: 琼脂; 羟基磷灰石; 仿生合成; 细胞相容性; 骨修复材料

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.03.008

蔡华琼, 李全利, 周健, 汤健, 陈辉. 琼脂-羟基磷灰石复合物的仿生合成及细胞相容性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(3):410-414. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

0 引言

硬组织修复材料的临床应用可追溯到 19 世纪末期^[1]。早期的硬组织修复材料主要为自体骨, 自体骨是植骨成骨的“金标准”, 但是自体骨移植存在来源受限、影响供区功能、增加手术痛苦及易感染等缺点。同种异体骨是目前最常用的骨移植材料, 但面临的主要问题是降低其免疫原性及植骨排斥反应, 以达到与同种骨相近的治疗效果。自 19 世纪 60 年代开始, 人造生物材料开始应用于硬组织的修复。人造生物材料具有很多优点, 例如可以避免二次手术带来的痛苦及并发症, 可以进行批量

化生产等^[2-3]。目前, 人造的硬组织修复材料有金属、陶瓷及高分子材料等^[4-5], 它们的缺点是成分单一, 结构上与硬组织也相差甚远, 生物功能性较低, 因此其组织修复能力较差。近年发展起来的仿生学^[6], 从结构和成分上模拟硬组织, 实现与硬组织的最大相似, 从而显著提高了其组织修复能力。许多学者选择壳聚糖、胶原、自组装寡肽、海藻酸钠、羧酸或磷酸化纤维素这些有机大分子作为矿化模版进行骨组织修复材料仿生构建研究^[7-11]。羟基磷灰石是人体骨组织的主要无机成分, 具有很好的生物活性^[12], 而琼脂是一种水溶性多糖, 具有很好的亲水性及一定的生物活性^[13-14]。本实验即是从仿生学角度出发,

采用溶胶-凝胶法, 通过琼脂模板来调控羟基磷灰石的生长, 实现有机物/无机物的合理组合, 从而制备出新型琼脂-羟基磷灰石(AG-HA)纳米复合骨修复材料, 并对其细胞相容性进行评价。

1 材料和方法

设计: 合成材料制备及细胞学体外实验

时间及地点: 实验于2009-04/08在西南交通大学材料学院(材料先进技术教育部重点实验室)完成。

材料: 1月龄SD大鼠2只, 体质量约150 g, 由四川大学动物实验中心提供。实验过程中对动物处置符合动物伦理学要求^[15]。

主要材料、仪器和试剂:

主要材料、仪器和试剂	来源
琼脂	基因科技(上海)有限公司
羟基磷灰石	四川大学口腔医学院材料研究室提供
DMEM/F12 培养基及胰蛋白酶	Gibco, USA
骨架蛋白(actin)以及免疫荧光试剂盒	武汉博士德生物有限公司
X射线衍射仪	Philips, Holland
Nicolet 510P 傅里叶变换红外光谱仪	美国 Nicolet 公司
JEM2010 透射电子显微镜	日本电子株式会社
Sirion200 扫描电子显微镜	荷兰 FEI 公司
DTG-60H 热分析仪	Shimadzu, Japan
ECLIPSE TS100 倒置相差显微镜	Nikon, Japan

实验方法:

AG-HA复合物的制备: 称取3 g琼脂粉末溶于60 mL双蒸水中, 配制成5%琼脂溶液置于85℃干燥箱中, 直至呈熔融溶胶状。将7 g 羟基磷灰石溶于约40 mL盐酸中(质量分数为37%)。然后将琼脂凝胶置于85℃水浴中, 并在磁力搅拌(约100 r/min)下, 缓慢滴入羟基磷灰石溶液。在反应过程中不断用10 mol/L的NaOH溶液调节pH值, 使pH值始终保持在7.0~8.0, 此过程持续3 h。接着将悬浊液离心后去上清, 并用单蒸水反复洗涤。最后将复合物在-30℃的低温冰箱中预冻24 h, 再冷冻干燥24 h, 得到的即AG-HA复合材料。将所得的AG-HA复合物粉末分别采用X射线衍射仪, 傅里叶变换红外光谱仪, 热分析仪进行表征分析, 并通过透射电镜和扫描电镜观察羟基磷灰石在复合物中的分布

情况。

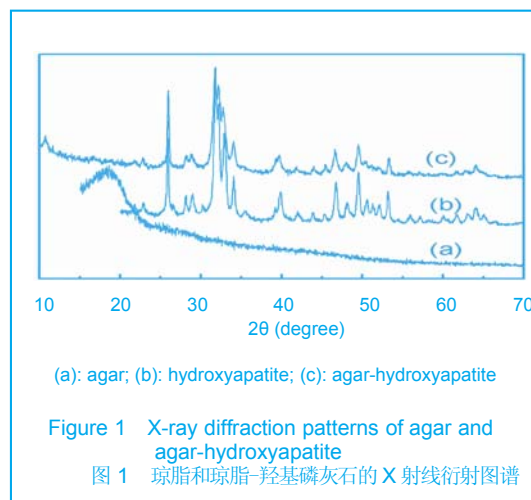
AG-HA复合物细胞相容性: 取1月龄SD大鼠的股骨, 用注射器冲出骨髓, 在培养皿中轻轻吹打制成单细胞悬液。加入培养液(DMEM/F12+体积分数为10%小牛血清), 接种于培养瓶。将培养的骨髓基质细胞(第3代)悬液以 $4 \times 10^7 \text{ L}^{-1}$ 密度加入含有AG-HA涂层的培养孔内, 在以DMEM/F12为培养液, 37℃, 体积分数为5%CO₂的恒温培养箱内培养。分别于1, 3, 5 d在倒置显微镜下观察细胞生长情况。并于1, 5 d时用多聚甲醛固定30 min, PBS反复冲洗后, 将1%血清蛋白滴在玻片上, 37℃, 孵育30 min。一抗和二抗按照试剂盒内说明书进行稀释, 然后滴在玻片上孵育。最后用DAPI进行细胞染色, 观察细胞的骨架形成情况。

主要观察指标: ①X射线衍射仪、傅里叶变换红外光谱仪、热分析仪、透射电镜和扫描电镜对材料进行表征分析。②于1, 3, 5 d观察细胞生长情况, 评价其细胞相容性。

设计、实施、评估者: 设计、资料收集、评估为第一、第二作者, 实验干预为全部作者。所有作者均接受专业培训。

2 结果

2.1 X射线衍射图谱 见图1。



从图1可以看出: 在琼脂的X射线衍射图中没有尖锐狭窄的晶体峰, 峰都较宽, 意味着琼脂的低结晶特征。而琼脂-羟基磷灰石的X射线衍射图中出现的羟基磷灰石特征性三强峰分别为31.7°、32.4°、32.9°, 说明羟基磷灰石晶体发育较完善, 而琼脂的特征峰进一步消失, 进一步说明琼脂由于羟基磷灰石的形成变为非结晶状态。

¹安徽医科大学口腔医学院, 安徽省合肥市 230032; ²安徽省医科大学安徽省口腔疾病研究省级实验室, 安徽省合肥市 230032; ³安徽医科大学附属第一临床医学院, 安徽省合肥市 230032; ⁴中油测井技术服务有限公司, 北京市 100000

蔡华琼★, 女, 1981年生, 安徽省巢湖市人, 汉族, 安徽医科大学口腔医学院在读硕士, 主要从事骨组织材料研究。caihuaqiong@gmail.com

通讯作者: 周健, 硕士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 安徽医科大学口腔医学院, 安徽省合肥市 230032; 安徽医科大学安徽省口腔疾病研究省级实验室, 安徽省合肥市 230032

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2010)03-00410-05

收稿日期: 2009-11-13
修回日期: 2009-12-16
(20091113001/M·Z)

2.2 傅里叶变换红外光谱 见图2。

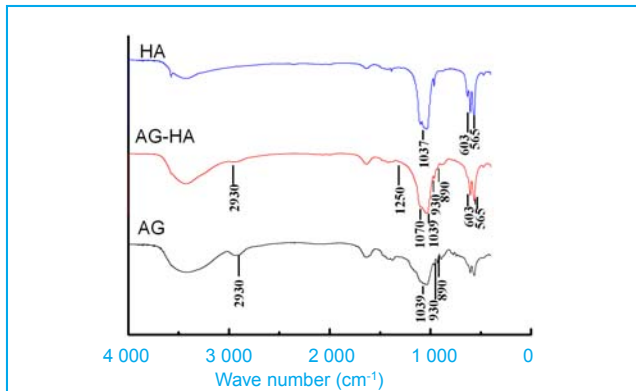


Figure 2 Fourier transform infrared spectroscopy of agar, hydroxyapatite and agar-hydroxyapatite
图2 琼脂、羟基磷灰石和琼脂-羟基磷灰石的傅里叶变换红外光谱

在红外光谱中，琼脂的特征峰主要在 $1\ 070\ \text{cm}^{-1}$ ， $1\ 039\ \text{cm}^{-1}$ ， $930\ \text{cm}^{-1}$ 附近，这是由于琼脂3,6-脱水-B-半乳糖骨架结构中的C-O振动引起的。而在 $890\ \text{cm}^{-1}$ 处的峰值则是B-半乳糖C-H中残留的C原子振动峰^[16]。从琼脂-羟基磷灰石的红外光谱中可以看出在相同的波段也出现了这些特征峰，意味着在反应的过程中复合物的主链结构没有改变。而在 $1\ 250\ \text{cm}^{-1}$ 附近处出现的 SO_4^{2-} 的特征峰^[17]，则比琼脂中的强度弱，可能是 SO_4^{2-} 与 Ca^{2+} 发生了反应。羟基磷灰石的特征吸收峰($1\ 037$ ， 603 ， $565\ \text{cm}^{-1}$)在琼脂-羟基磷灰石中发生了一定的偏移^[18]，强度明显减小。琼脂在 $2\ 930\ \text{cm}^{-1}$ 左右出现的特征峰主要是由次甲环中C-H中的H原子伸缩振动^[16]，在复合物中也向低波段偏移且强度明显减小； $3\ 400\sim 3\ 200\ \text{cm}^{-1}$ 附近表示分子间氢键的伸缩振动峰在琼脂-羟基磷灰石中变窄，振动频率向高波数位移，说明琼脂中的氢键被破坏，意味着新的复合物可能通过打破氢键形成了新的键合。

2.3 热重分析 见图3。

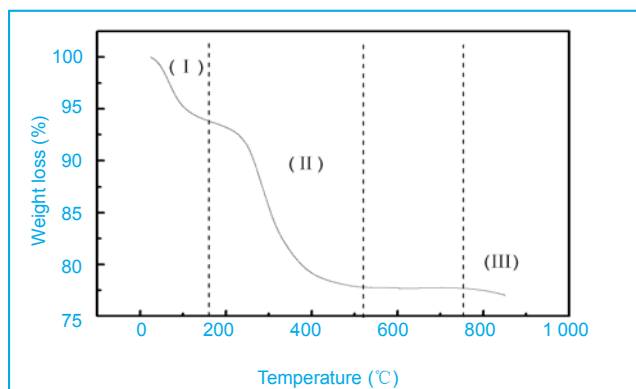


Figure 3 Thermal gravimetric analysis diagram of agar-hydroxyapatite
图3 琼脂-羟基磷灰石的热重分析图

如图3所示，曲线可分为3个阶段，第I阶段，从 $25.03\sim 174.03\ ^\circ\text{C}$ ，复合物失重 6.38% ；第II阶段，从 $174.03\sim 511.55\ ^\circ\text{C}$ ，复合物失重 15.78% ；第III阶段，从 $749.55\sim 851.83\ ^\circ\text{C}$ ，复合物失重 0.68% 。有文献报道称纯的琼脂的热重曲线分为两个阶段^[19]，在 $500\ ^\circ\text{C}$ 左右完全分解。本实验中，第I阶段和第II阶段，开始于 $25.03\ ^\circ\text{C}$ ，终止于 $511.55\ ^\circ\text{C}$ ，与文献报道的较为符合，为琼脂的失重阶段，失重为 22.16% ，到第II阶段结束，琼脂已分解完全，可见琼脂-羟基磷灰石复合物中琼脂的含量为 22.16% 。另有文献称，羟基磷灰石在 $800\ ^\circ\text{C}$ 左右开始分解，逐渐脱去羟基，转变成缺氧羟基磷灰石(OHA)^[20]。由此可得出，曲线中的第III阶段为琼脂-羟基磷灰石复合物中羟基磷灰石的失重阶段。

2.4 透射电镜观察结果 琼脂-羟基磷灰石复合物的透射电镜照片及微区能谱分析结果，见图4。

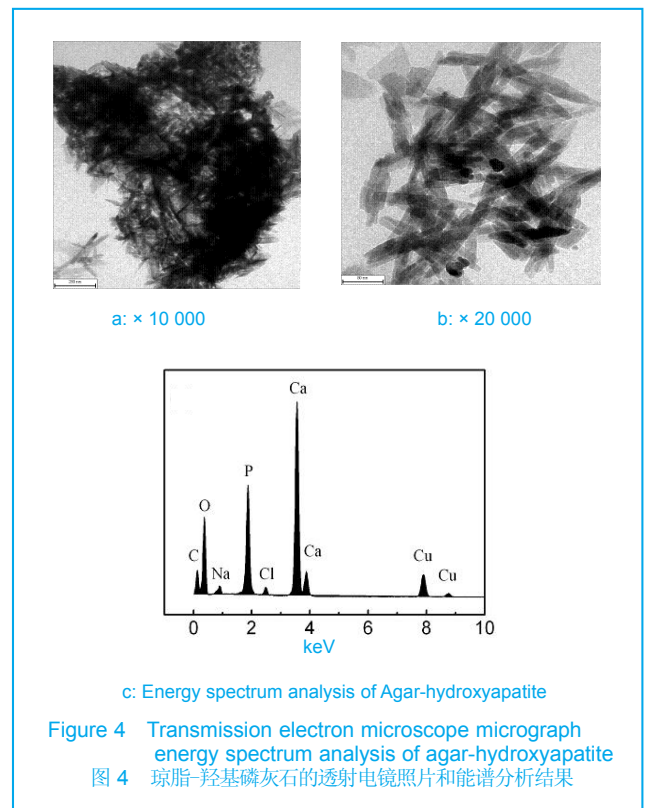
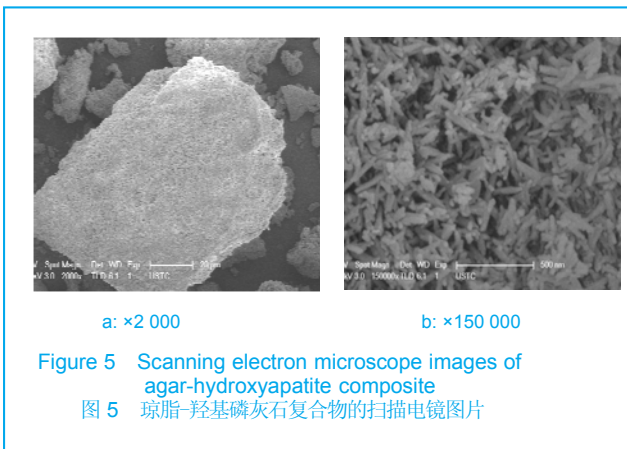


Figure 4 Transmission electron microscope micrograph energy spectrum analysis of agar-hydroxyapatite
图4 琼脂-羟基磷灰石的透射电镜照片和能谱分析结果

图4a中可以看出，琼脂如絮状与羟基磷灰石晶体紧密结合，且羟基磷灰石在复合物中分散均匀。从图4b中可进一步说明，琼脂-羟基磷灰石复合物中的羟基磷灰石呈短棒状或针状排列，平均尺寸为 $117\ \text{nm}\times 20\ \text{nm}$ ，与骨中纳米羟基磷灰石的尺寸 $[(5\sim 20)\ \text{nm}\times 60\ \text{nm}]$ 较为接近。图4c的能谱结果说明琼脂-羟基磷灰石复合物中含有Ca、P、O、C、Na、Cl元素，图谱中Ca和P为羟基磷灰石的成分，且含量较高；说明羟基磷灰石在复合的过程中效率较高，C、O为琼脂的成分。Cu为实验中铜网的成分。由于制备琼脂-羟基磷灰石复合物中的过程中，是先将羟基磷灰石溶于盐酸，然后用NaOH调节

pH值, 因此在整个制备过程中会有少量的NaCl形成, 从而能谱中出现了Na和Cl元素。

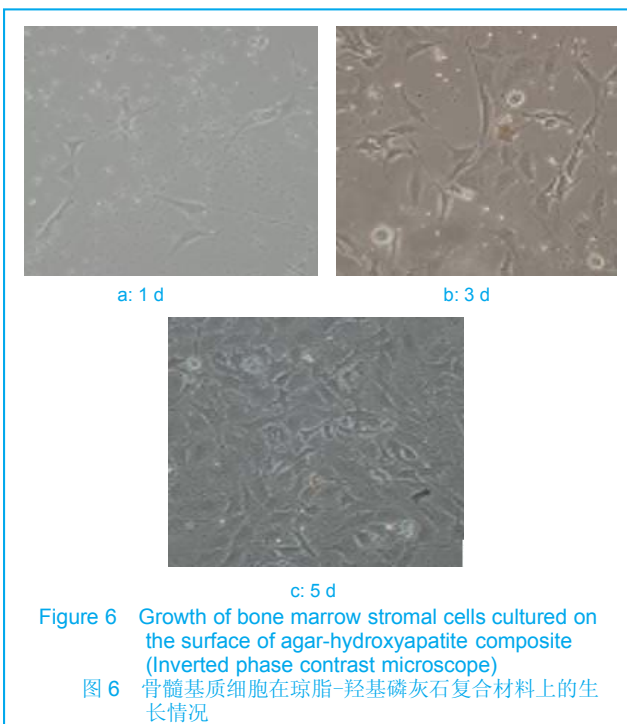
2.5 扫描电镜观察结果 见图5。



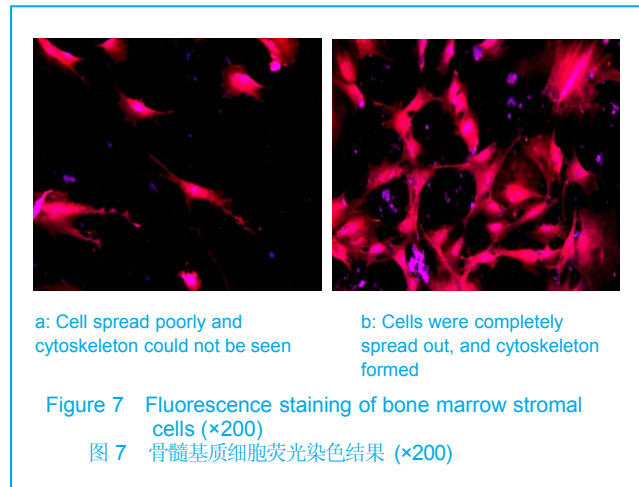
从图5a中可看出, 琼脂-羟基磷灰石复合物呈多孔絮状结构, 各组分间分布均匀。图5b为琼脂-羟基磷灰石复合物的高倍照片, 羟基磷灰石晶体呈短棒状或针状结构, 分布较均匀, 琼脂呈团絮状分布于羟基磷灰石晶体之间, 羟基磷灰石与琼脂之间结合良好。从扫描电镜分析可说明羟基磷灰石与琼脂形成了有机/无机复合。

2.6 材料与骨髓基质细胞作用

琼脂-羟基磷灰石复合材料接种细胞悬液1 d后倒置显微镜下可见培养细胞呈短梭成纤维样细胞, 部分为多边形上皮样细胞, 细胞贴壁较差, 铺展情况不佳(图6a)。3 d后可见细胞较多且铺展较好, 细胞呈梭形或星形, 有较大的突起(图6b)。5 d后, 细胞进一步增殖(图6c)。表明材料与骨髓基质细胞具有较强的亲和性。



在荧光显微镜下也可见细胞完全铺展开, 有较明显的细胞骨架形成(图7)。



3 讨论

本实验通过琼脂溶胶与磷灰石溶液的复合, 在碱性条件下, 磷灰石晶体在琼脂的调控下重新生长, 获得了新型的有机-无机纳米复合物, 纳米羟基磷灰石晶体分布均匀, 复合物的强度和结构发生了改变。琼脂凝胶是一种多糖且亲水的胶体, 由1, 3-D-半乳糖和1, 4-3, 6-脱水-L-半乳糖交替连接, 构成琼脂的骨架结构。硫酸根、甲氧基可以作为取代物结合到这两种双糖上; 取代物的类型, 数量, 位置将会严重影响到琼脂凝胶的物理性质和功能^[21]。琼脂在凝胶过程中先由单独的多糖链形成双螺旋, 然后通过分子间氢键作用, 交相重叠形成网状结构, 最后聚集成胶束。相互缠结形成的网络连接点区域, 便是琼脂胶凝强度的主要来源^[22-23], 由于羟基磷灰石的引入, 这种连接点区域可能被破坏, 使凝胶形成了相对较弱的网状结构。这导致反应结束, 温度降至室温后, 复合物胶凝强度降低。另外, pH值也会影响琼脂的凝胶特性^[24], 这可能在于pH值影响多糖分子之间的氢键形成, 而氢键恰恰是琼脂凝胶形成的主要作用力, 凡是能破坏氢键的因素都能导致凝胶性的破坏^[25]。

琼脂的分子式为 $(C_{12}H_{18}O_9)_n$, 在其结构中存在着醛酸结构, 其中醛的结构不稳定, 很容易被氧化。在加热过程中, 部分醛的结构被氧化, 形成羧基。本实验中, 将琼脂-羟基磷灰石的pH值调至8, 琼脂中的硫酸根、以及形成的羧基, 可以与溶液中的 Ca^{2+} , 发生键合反应, 在过饱和的钙磷溶液中, 介导磷灰石的成核、生长。可以作为羟基磷灰石晶体生长的模板, 类似骨组织中胶原等蛋白等调控磷灰石晶体的生长。通过扫描电镜和透射电镜可观察到琼脂-羟基磷灰石复合物上有大量纳米级羟基磷灰石晶体, 具有疏松多孔的结构, 这种结构非常有利于细胞的黏附和生长。在与骨髓基质细胞共培养中也显示了良好的细

胞相容性。

结论: 琼脂可以作为磷灰石晶体生长的模板, 调控磷灰石晶体的生长。合成的琼脂-羟基磷灰石纳米复合材料有望应用于骨组织的缺损修复。

4 参考文献

- [1] Barrere F, Mahmood T A, De Groot K, et al. Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions. *Materials Science and Engineering: R: Reports*.2008;59(1-6):38-71.
- [2] Wang XH. *Shengwu Yixue Gongchengxue Zazhi*. 2001;18(4): 647-652.
王小红. 骨修复材料的研究进展[J]. *生物医学工程杂志*, 2001, 18(4): 647-652.
- [3] Chen YP, Song XF, Cao DY, et al. *Huagong Jinzhan*. 2003;22(7): 673-677.
陈亦平, 宋雪峰, 曹德勇, 等. 骨修复材料研究进展[J]. *化工进展*, 2003, 22(7): 673-677.
- [4] Okazaki Y, Nishimura E, Nakada H, et al. Surface analysis of Ti-15Zr-4Nb-4Ta alloy after implantation in rat tibia. *Biomaterials*. 2001;22(6):599-607.
- [5] Chang BS, Lee CK, Hong KS, et al. Osteoconduction at porous hydroxyapatite with various pore configurations. *Biomaterials*. 2000; 21(12):1291-1298.
- [6] Hench LL, Polak JM. Third-generation biomedical materials. *Science*. 2002;295(5557):1014-1017.
- [7] Peter M, Binulal NS, Soumya S, et al. Nanocomposite scaffolds of bioactive glass ceramic nanoparticles disseminated chitosan matrix for tissue engineering applications. *Carbohydrate Polymers*. 2009; 79(20):284-289.
- [8] Wahl DA, Czemuszka JT. Collagen-hydroxyapatite composites for hard tissue repair. *Eur Cell Mater*. 2006;11:43-56.
- [9] Hartgerink JD, Beniash E, Stupp SI. Self-assembly and mineralization of peptide-amphiphile nanofibers. *Science*. 2001; 294(5547):1684-1688.
- [10] Caplan MR, Schwartzfarb EM, Zhang S, et al. Control of self-assembling oligopeptide matrix formation through systematic variation of amino acid sequence. *Biomaterials*. 2002;23(1):219-227.
- [11] Fricain JC, Granja PL, Barbosa MA, et al. Cellulose phosphates as biomaterials. In vivo biocompatibility studies. *Biomaterials*. 2002; 23(4):971-980.
- [12] Kokubo T, Kim HM, Kawashita M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. *Biomaterials*. 2003;24(13): 2161-2175.
- [13] Li HY, Chen WY, Dong JF. *Taiyuan Ligong Daxue Xuebao*. 2009;40 (2):195-199.
李华岳, 陈维毅, 董江峰. 关节软骨细胞的琼脂糖凝胶培养研究[J]. *太原理工大学学报*, 2009, 40 (2):195-199.
- [14] Huang JY, Bao L, Mao X. *Cailliao Kexue yu Gongcheng Xuebao*. 2009;27 (1):43-46.
黄建艳, 包磊, 毛萱. 琼脂糖-透明质酸共聚物作为胰岛素载体[J]. *材料科学与工程学报*, 2009, 27 (1):43-46.
- [15] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China Regulations for the Administration of Affairs Concerning Experimental Animals. 1988-10-31.
国家科委. 实验动物管理条例. 1988-10-31.
- [16] Wu Y, Geng FY, Chang PR, et al. Effect of agar on the microstructure and performance of potato starch film. *Carbohydrate Polymers*. 2009;76 (2):299-304.
- [17] Chirapat A, Ohno M, Ukeda H, et al. Chemical composition of agars from a newly reported Japanese agarophyte, *Gracilariaopsis lemnaeformis*. *Journal of Applied Phycology*. 1995;7 (4):359-365.
- [18] Wang F, Li MS, Lü YP. *Cailliao Rechuli Xuebao*. 2008;26 (4):8-11.
王峰, 李木森, 吕宇鹏. 模拟液体法合成晶须状类骨纳米羟基磷灰石的研究[J]. *材料热处理学报*, 2008, 26 (4):8-11.
- [19] Prasad K, Mehta G, Meena R, et al. Hydrogel-forming agar-graft-PVP and kappa-carrageenan-graft-PVP blends: Rapid synthesis and characterization. *Journal of Applied Polymer Science*. 2006;102 (4):3654-3663.
- [20] Luo MH, Xu QQ, Zhu QX. *Zhongguo Taoci*. 2007;43 (4):15-17.
罗民华, 徐琼琼, 朱庆霞. 羟基磷灰石分解和恢复的研究[J]. *中国陶瓷*, 2007, 43 (4):15-17.
- [21] Freile-Pelegrin Y, Madera-Santana T, Robledo D, et al. Degradation of agar films in a humid tropical climate: Thermal, mechanical, morphological and structural changes. *Polymer Degradation and Stability*. 2007;92 (2): 244-252.
- [22] Arminen R, Galatas F, Agar. In Philips GO, Williams PA. *Handbook of hydrocolloids*. New York: CRC Press. 2000:21-40.
- [23] Meena R, Prasad K, Siddhanta AK, et al. Development of a stable hydrogel network based on agar-kappa-carrageenan blend cross-linked with genipin. *Food Hydrocolloids*. 2009;23(2):497-509.
- [24] Ma Y, Yang YL, Yang Z. *Shipin yu Fajiao Gongye*. 2007;33 (9):24-27.
马云, 杨玉玲, 杨震. 琼脂凝胶质构特性的研究[J]. *食品与发酵工业*, 2007, 33 (9):24-27.
- [25] Norziah MH, Foo SL, Karim AA, et al. Rheological studies on mixtures of agar (*Gracilaria changii*) and kappa-carrageenan. *Food Hydrocolloids*. 2006;20 (2-3):204-217.

来自本文课题的更多信息一

课题意义: 随着组织工程的发展, 越来越多的材料被应用于组织工程领域以修复病损组织, 实现组织再生的功能。目前, 对人体硬组织修复材料的研究, 主要是应用分子仿生学方法构建有机-无机材料复合的骨组织修复材料。琼脂是一种从红藻中提取的复杂的水溶性多糖, 具有良好的生物活性, 由琼脂糖和琼脂果胶两部分组成。前者是凝胶成分, 具有亲水性, 在水中一般加热到 80 ℃ 以上溶解, 温度下降到 35~40 ℃ 时形成良好的半固体状凝胶, 这是它具有多种用途的主要特征和基础, 后者则没有凝胶能力, 含硫酸盐。琼脂常用于细菌分离、节软骨细胞培养及食品等研究, 而将琼脂应用于骨组织修复材料的报道比较少。

设计或课题的偏倚与不足: ①由于时间关系, 在细胞学试验中, 细胞在材料上培养的结果检测做的不充足, 例如 MTT, 碱性磷酸酶检测及细胞的扫描电镜检测等。②材料在合成的过程中, 可以加入细胞因子及缓释药物, 以提高材料的性能。

提供临床借鉴的价值: 实验通过琼脂溶液与羟基磷灰石溶液的复合, 在碱性条件下, 羟基磷灰石晶体在琼脂的调控下重新生长, 获得了新型的有机-无机纳米复合物, 结果显示琼脂可以作为羟基磷灰石晶体生长的模板, 调控羟基磷灰石晶体的生长。合成的琼脂-羟基磷灰石纳米复合材料有望应用于骨组织的缺损修复。