

# 预吸附法阻抗材料表面蛋白吸附的研究进展

陶蕊, 陈晓农\*, 夏宇正, 石淑先

(北京化工大学材料科学与工程学院, 北京, 100029)

**摘要:** 阻抗非特异性蛋白吸附的性能是材料具备生物相容性的重要条件。本文主要介绍预吸附法改善材料抗蛋白吸附性能的研究现状和预吸附及蛋白吸附的表征方法。

**关键词:** 生物相容性, 阻抗蛋白吸附, 表面预吸附, 研究进展

\*通讯联系人, Email: chenxn@mail.buct.edu.cn

## 1. 前言

生物相容性问题是生物材料研究所要解决的首要问题, 而生物材料表面的非特异性蛋白吸附是造成生物相容性不理想的主要原因。在实际应用中, 生物材料或制件表面的非特异性蛋白吸附会诱发体内的生物排异反应<sup>[1]</sup>, 血栓形成, 细菌繁殖与感染等严重的问题<sup>[2]</sup>。此外, 在非体内应用场合, 非特异性蛋白吸附也有诸多危害, 如诱发海洋生物附着船体, 增大航行阻力; 生化分离膜的生物垢堵塞、换热器生物结垢; 在生化分析检测中导致感应探头失准、失效等<sup>[3]</sup>。

在分子水平, 血栓、生物垢等形成的开始阶段有着共同点, 那便是蛋白迅速的吸附在无保护的材料表面<sup>[4-5]</sup>。因此, 材料表面抗蛋白吸附的研究是医用材料、生化分析、生物化工、海洋防污等领域的重要课题。

为改善合成材料表面对蛋白吸附的阻抗性能, 提高材料表面的亲水性是基本途径。传统方法是将合成材料与亲水聚合物共混或在材料表面接枝亲水聚合物。共混法中, 混合尺度及相态结构不易控制, 常导致材料本体物理机械性能劣化。当亲水聚合物与基体材料相容性差时, 在使用环境下难以克服亲水相的溶解。接枝法获得的亲水层与材料表面通过共价键连接, 耐久性好, 但工艺复杂, 成本高, 在应用上有局限性。预吸附法是将材料或制品用水溶性聚合物溶液浸泡处理, 使聚合物在材料表面吸附形成亲水表层, 从而阻抗蛋白吸附。预吸附法研究和应用的历史较短, 但工艺简单、成本低, 适合大规模应用, 尤其适用于一次性用品, 如隐性眼镜、医用导管、生化器皿等。预吸附法对大型制件和设备的表面处理也具有独特的优势。近年, 聚合物自组装理论的发展促进了预吸附法抗蛋白吸附的研究。本文着重介绍预吸附法的研究进展, 涉及不同材料表面的预吸附机理、预吸附聚合物的结构、设计合成及预吸附和抗蛋白吸附的表征。

## 2. 吸附动力及影响因素

水溶性聚合物在材料表面吸附的驱动力有多种。金属材料表面主要靠化学吸附, 如含巯基端基聚合物在金、银表面的化学结合<sup>[6-7]</sup>、含磷含氮聚合物在不锈钢或碳钢表面的配位络合<sup>[8-9]</sup>; 在无机材料如玻璃、金属氧化物表面, 吸附主要靠氢键和异性电荷吸引<sup>[10-11]</sup>; 对于疏水材料, 主要靠材料表面与聚合物

的疏水作用, 氢键和静电吸引也是极性疏水材料吸附聚合物的动力。有机高分子材料在所有生物医用材料中占45~47%, 远高于金属及无机非金属材料, 因此高分子材料表面的抗蛋白吸附改性一直是研究的重点。

蛋白在材料表面的吸附驱动力主要包括蛋白分子同材料表面之间的范德华力、静电吸引、氢键、疏水相互作用, 吸附过程还受多种因素影响, 如溶液温度、pH 值、离子强度、蛋白质种类及其性质等。谭国馨<sup>[12]</sup>考察了不同含水量的 N-乙烯吡咯烷酮(NVP)/甲基丙烯酸-β-羟乙酯(HEMA)共聚物水凝胶对牛血清白蛋白的吸附量与温度变化的关系。随着温度的升高, 水凝胶对蛋白质分子的吸附量逐渐增大。溶液 pH 值处于蛋白质等电点时吸附量最大, 远离等电点则递减<sup>[12-13]</sup>。这可能是由于蛋白质处于等电点时, 静电荷为零, 蛋白质主要通过疏水相互作用吸附到材料表面。另外, 液相电解质浓度(离子强度)较高时蛋白吸附量会因盐析效应而有所增加。

预吸附法的目标是在材料表面形成亲水性的阻隔层, 消除蛋白分子与材料表面的直接接触。这种方法对抵抗蛋白粘附的效果取决于两方面因素, 即: 所使用的水溶性聚合物能否在材料表面形成稳定的预吸附层; 预吸附聚合物对蛋白分子的排斥性能。显然, 理想的聚合物应当能够从水溶液中吸附到表面形成稳定的阻隔层, 而且聚合物自身具有良好生物相容性(不吸附蛋白)。因此, 预吸附法的关键是制备结构适宜的水溶性聚合物。

### 3. 用于预吸附法表面改性的聚合物

#### (1) 非离子型水溶性均聚物

上个世纪80、90年代, 曾直接使用聚(N-乙烯基吡咯烷酮)(PVP)<sup>[14-16]</sup>、聚乙二醇(PEG)及聚氧化乙烯(PEO)<sup>[17-18]</sup>、葡聚糖<sup>[19]</sup>、聚乙烯醇(PVA)和聚乙基甲醚(PVME)<sup>[20]</sup>等水溶性聚合物实施表面预吸附。用这些均聚物预处理的蛋白分离膜(如聚砷分离膜)减少了生物垢的堵塞。PVP最初作为血浆增容剂使用。预吸附PVP的分离膜可以有效的减少牛血清白蛋白(BSA)<sup>[21-22]</sup>和溶菌酶(Lysozyme)<sup>[23]</sup>的吸附。Robinson等<sup>[24]</sup>研究了PVP在硅表面的吸附, 发现预吸附程度由PVP的分子量决定, 而不是离子强度和pH值。PVP可以阻挡硅表面75%的蛋白吸附。Barrett等<sup>[25]</sup>详细考察了PVA在聚苯乙烯微球表面的预吸附和抗蛋白吸附, 发现PVA的分子量高有利于形成较厚的预吸附层, PVA适宜的水解度是<88%, 而且只有当PVA完全覆盖PS表面时才能阻止人血清白蛋白(HAS)对PS的吸附, 否则已吸附的PVA会被HAS取代。由于均聚物亲水性较强, 预吸附层附着力偏低, 形成的是不稳定的吸附层, 抵抗蛋白吸附的效果不甚理想。

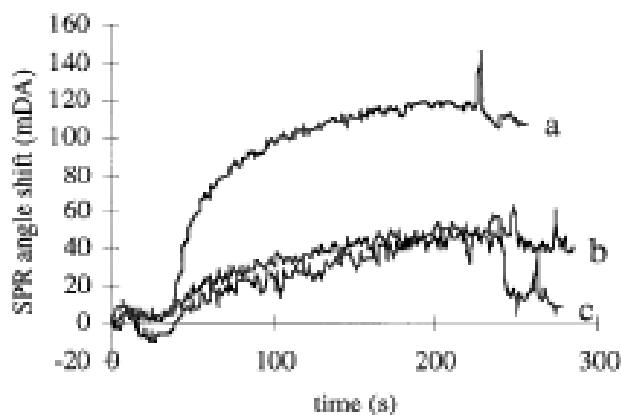
#### (2) 聚电解质

Lee等<sup>[26]</sup>制备了以聚(L-赖氨酸)为主链、PEG为支链的接枝共聚物(PLL-g-PEG), 该聚合物主链结构单元带正电荷。将等离子处理过的聚(二甲基硅氧烷)(PDMS, 表面为负电荷)用PLL-g-PEG水溶液处理, 通过PLL与PDMS的静电吸引在材料表面产生PEG覆盖的涂层。蛋白吸附实验证实, 经预吸附改性的PDMS具有优异的抵抗非特异性蛋白吸附性能。Jian Ji<sup>[8]</sup>等将阳离子聚电解质聚乙烯亚胺(PEI)吸附到不锈钢上, 获得带正电荷的表面, 然后再吸附带负电荷的牛血清白蛋白(BSA), 形成PEI/BSA复合涂层, 该涂层在pH7.35缓冲溶液中能稳定存在21天, 45天后仅有不到10%涂层脱落。静态

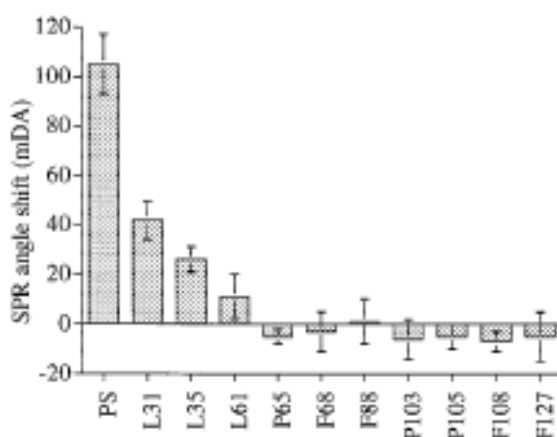
粘附实验显示, 该涂层可有效抑制血小板的粘附。

### (3) 两亲性嵌段共聚物

鉴于均聚物的缺点, 制备具有嵌段结构的共聚物以提高吸附强度成为研究重点。PEO和聚丙二醇(PPO)的二嵌段或三嵌段共聚物被广泛研究, 尤以PEO-PPO-PEO三嵌段共聚物报道最多<sup>[27]</sup>。该共聚物由疏水的中段PPO提供对表面的附着力, 两端的PEO链段则形成亲水表层, 通过空间位阻效应阻止蛋白质分子的吸附, 从而提高生物相容性。大量报道显示, 预吸附了PEO-PPO-PEO的聚苯乙烯(PS)微球具有显著的阻抗蛋白吸附效果<sup>[28-34]</sup>。Schroen等<sup>[35-36]</sup>曾通过PEO-PPO-PEO的预吸附改善聚丙烯分离膜的抗蛋白吸附性能、降低膜组件的压降。Tan等<sup>[34]</sup>则研究了可用于小鼠体内注射的PEO-PPO-PEO预吸附的PS纳米微球。三嵌段PEO-PPO共聚物有多种商业化产品, 且预吸附及抗蛋白吸附性能较水溶性均聚物有显著改善。近年来, 国内外研究集中在PEO、PPO链段长度及EO与PO单元的比例对预吸附及抗蛋白吸附性能的影响。研究表明, 既要使共聚物形成稳定的预吸附层, 又要保证抗蛋白吸附的效果, PEO与PPO链段需要控制在一个合适的比例。一部分研究者将着重点放在PEO链段上。研究发现<sup>[3]</sup>, 短而密的PEO链段有较好的抗蛋白质吸附作用。对于长而疏的PEO链段, 蛋白质可能会通过PEO层扩散并最终吸附到底物表面, 因而抗蛋白质吸附作用较差。Pavey与Olliff<sup>[37]</sup>用表面等离子体激元共振(SPR)方法研究了不同PEO链段长度的PEO-PPO-PEO共聚物的抗蛋白质吸附作用, 发现将不同PEO链长共聚物的混和物预吸附到材料表面, 阻抗蛋白质的效果比用单一共聚物效果好。而另一部分研究者认为PPO链段对吸附过程影响更大。Green等<sup>[38-39]</sup>将PEO-PPO-PEO三嵌段共聚物预吸附到聚苯乙烯片材上, 并用SPR方法研究了它阻抗蛋白质吸附的能力, 考察不同PPO或PEO链段长度以及溶液的胶束特性对吸附作用的影响。实验结果证明, 该共聚物能够吸附到苯乙烯片材上, 并起到阻抗蛋白质吸附的作用, 而阻抗能力的大小由共聚物与材料表面间的结合力的强度决定。这种结合力的强度取决于PPO链段长度。一方面, 增加聚合物中PPO含量导致溶液中胶束对吸附的影响的减弱。另一方面, 虽然PEO或PPO链段长度的增加都会导致SPR角的增大, 但PPO链段长度的增加使SPR角有更大幅度的增大。这些都表明, 中心憎水PPO链段既是决定胶束形成的重要因素, 又是溶液胶束特性对吸附影响的支配因素, 从而决定了阻抗蛋白质吸附作用的效果。因此, 较长的PPO链段对阻抗蛋白质吸附有利。但是过长的PPO链段将导致PPO-PEO前端共聚物不溶于水, 难以用于材料表面的预吸附处理, 所以文献报道的预吸附PPO-PEO共聚物中PPO链长均低于70个PO单元, 使得共聚物对基材表面的附着力难以进一步提高。图1是该研究中用SPR方法将两种不同牌号的PEO-PPO-PEO共聚物吸附结果作一比较。a为未经处理的聚苯乙烯表面, b和c分别是用牌号为L31和L61的共聚物处理过的表面。L31和L61的分子量和链段组成见表1。从SPR的结果可以看到经聚合物预吸附的表面可以明显的减少白蛋白的吸附。开始时, 蛋白在L31和L61表面有类似的吸附趋势, 然而在实验后期, 随着表面的振荡和冲洗, L61表面的蛋白被冲掉。这意味着蛋白在L61表面的吸附是不牢固的。



**Figure 1.** An SPR adsorption profile showing adsorption to the (a) uncoated polystyrene and to pluronics (b) L31- and (c) L61-coated surface (Green's result).<sup>[38]</sup>

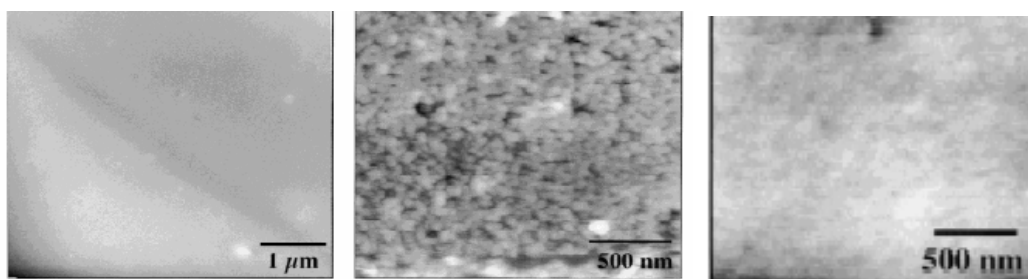


**Figure 2.** The SPR angle shifts (mDA) for albumin adsorption to each pluronic coating studied and to the Uncoated polystyrene surface (Green's result).<sup>[38]</sup>

图2列出了SPR方法得到的不同牌号PEO-PPO-PEO三嵌段共聚物在PS表面预吸附后的蛋白吸附结果，并作一比较。从图可以看出，大部分共聚物对蛋白的阻碍作用是充分的。PEO/PPO链段的分子量对抗蛋白吸附效果有影响，低分子量对抗蛋白吸附较为不利。此外，经计算，L31和L35吸附蛋白分别达到40%和25%，表明PEO链段增加而其他条件不变时，蛋白吸附量会减少。当PEO链段达到一定长度时，PPO链段长度增加、抗蛋白吸附效果改善，如P65和P103所示。这意味着共聚物在材料表面的预吸附强度也是影响其抗蛋白吸附性能的一个重要因素。改变PEO和PPO的嵌段长度比，用原子力显微镜观察预吸附表面对血浆蛋白的吸附，发现链段中PPO长度的增加，使蛋白吸附量减少。这进一步证实，是靠近亲油表面的锚式链结构而不是亲水性PEO链段的长度决定共聚物的抗蛋白吸附能力<sup>[38]</sup>。AFM扫描图像直观地显示预吸附P65的抗蛋白吸附效能（图3<sup>[38]</sup>），其中：a是光滑PS表面，没有缺陷。b是PS吸附白蛋白后的照片，可见颜色深浅不一，且不均匀；c是表面预吸附了P65后再经白蛋白吸附的图像，可以看到表面光滑，且无蛋白吸附的迹象。

**Table 1.** The molecular weight and block sizes of the Pluronics used in the study.<sup>[38]</sup>

Pluronic	Molecular Weight	Monomer Units		
		PEO	PPO	PEO
L31	1100	2	16	2
L35	1900	11	16	11
L61	2000	3	30	3
P65	3400	19	30	19
F68	8350	75	30	75
F88	10800	97	39	97
P103	4950	20	54	20
P105	6500	38	54	38
F108	14000	128	54	128
F127	11500	98	67	98



**Figure 3.** AFM image revealing (a) smooth polystyrene surface (b) surface of albumin adsorbed to polystyrene (c) surface adsorption of albumin to pluronic P65 (Green's result).<sup>[38]</sup>

有学者还研究了环境因素如溶液温度、pH值等对PEO-PPO-PEO三嵌段共聚物预吸附的影响。图4和图5<sup>[40]</sup>是用椭率测量法 (Ellipsometry) 得到的PEO-PPO-PEO共聚物F127在硅表面的预吸附结果。图4中, 箭头表示温度从26.5 升至28.2 , 可以看到, 在某一温度, 吸附量保持稳定, 当超过这一温度, 吸附量明显增大, 这一温度称为临界胶束化温度 (CMT)。图5是F127在25 时pH对预吸附量的影响, 加入NaOH使pH值升至11 (箭头所示), 预吸附量显著下降。由此可推测温度和pH值都会影响聚合物在材料表面的预吸附。

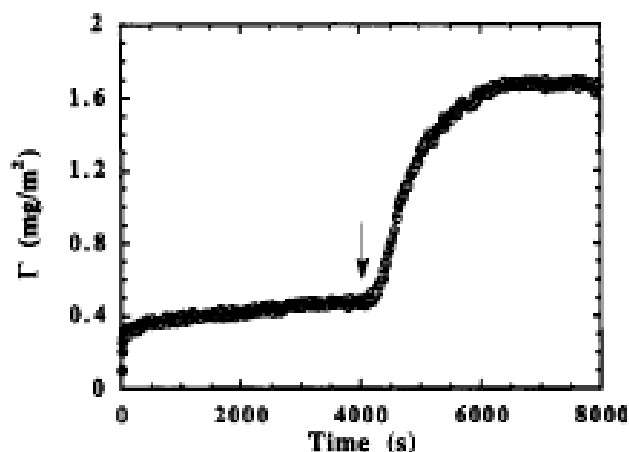


Figure 4. Ellipsometrically determined amount of F127 adsorption at silica. The arrow indicates raising the temperature from 26.5°C to 28.2°C (Malinsten's result).<sup>[42]</sup>

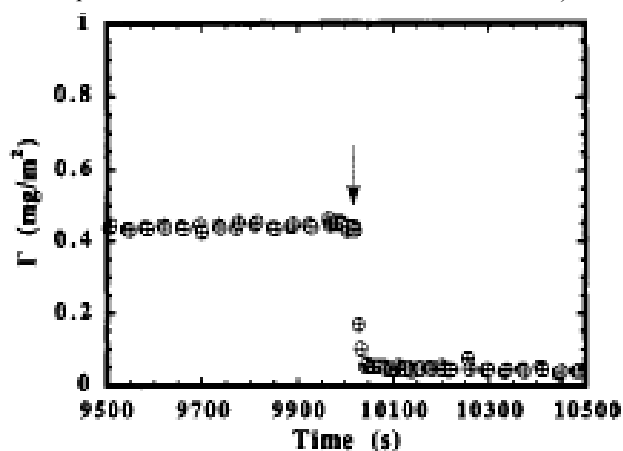


Figure 5. Ellipsometrically determined adsorbed amount of F127 at silica at 25°C. The arrow indicates injection of NaOH to a final pH of 11 (Malinsten's result).<sup>[42]</sup>

尽管 PEO-PPO-PEO 三嵌段共聚物已经商业化,但用于预吸附法抗蛋白吸附时仍然存在一系列问题。首先,由于 PPO 过于疏水,当 PPO 链段分子量大于一定值时 PEO-PPO 共聚物会在水中形成胶束甚至不溶,不利于聚合物在表面吸附,故文献中均采用 PPO 链节长度低于 70 个单元(对应的分子量只有 4000 左右)的共聚物,其后果是聚合物对表面的附着力仍然偏低,某些已吸附的聚合物会被蛋白取代<sup>[41]</sup>。其次,由于 PPO 与蛋白之间存在较强疏水作用,若蛋白渗透到 PEO 表层仍有可能在内层 PPO 上吸附<sup>[41]</sup>。第三,这种嵌段共聚物在低曲率表面的吸附能力低于具有高曲率的微球表面<sup>[30]</sup>,这将限制其应用范围。迄今为止,将此类共聚物成功用于光滑平面抗蛋白吸附的报道为数极少<sup>[42-43]</sup>,对隐形眼镜片的防污几乎无效<sup>[44]</sup>。我们通过接触角测定也发现 PEO-PPO-PEO 三嵌段共聚物不能在聚乙烯薄膜表面吸附<sup>[45-46]</sup>。因此,开发性能更好的预吸附聚合物,依然是迫切的研究课题。

#### (4) 温敏性聚合物

近年,Alcon 公司的美国专利率先<sup>[46]</sup>报道了将聚(N-异丙基丙烯酰胺)(PNIPAM)用于隐型眼镜片及其它生物医用制件的预吸附和抗蛋白吸附。PNIPAM 用作组织工程材料、人工角膜等已有多年<sup>[47-48]</sup>,在材料表面接枝 PNIPAM 也有不少报道,但直接使用 PNIPAM 水溶液预吸附来改善材料表面生物相容性却是新的尝试,而且效果显著。此外,Ista 等<sup>[49]</sup>将经过 PNIPAM 预吸附的玻璃片材置于含有海洋微生物的

人工海水中,将体系温度降至 LCST 以下,PNIPAM 层覆盖了 90%以上的玻璃表面,大大减少了微生物在片材表面的吸附。PNIPAM 为温敏聚合物,在其转变温度(LCST, 32 )以下是水溶性的,环境温度高于 LCST 时,不溶于水,这一特性使得已吸附在材料表面的 PNIPAM 的附着力随温度升高而增强。但是,升温使 PNIPAM 变得疏水而会吸附蛋白(将 PNIPAM 微凝胶对蛋白的热可逆吸附应用于蛋白分离已有大量报道),这是使用 PNIPAM 均聚物所不能回避的问题。

#### (5) 温敏性梳状嵌段共聚物

Chen 与 Pelton<sup>[50]</sup>采用可逆-加成-断裂-链转移聚合(RAFT)方法合成了 PNIPAM-PEO 梳状嵌段共聚物,发现室温(25 )时 PNIPAM-PEO 梳状嵌段共聚物预吸附层的抗蛋白吸附效果显著优于 PNIPAM 均聚物。Tao 等<sup>[51]</sup>也用 RAFT 方法制备出 PNIPAM-PEO 与 PNIPAM-PVP 梳状嵌段共聚物,通过变温絮凝的方法考察蛋白吸附,在温度高于 PNIPAM 相转变点时这类共聚物也具有阻抗蛋白吸附的性能,从而克服 PNIPAM 均聚物的不足,使温敏聚合物在更宽温度范围具有阻抗蛋白吸附性能。

综上所述,预吸附聚合物经历了从均聚物到两亲嵌段共聚物或接枝共聚物,再到梳状嵌段共聚物的发展过程。嵌段聚合物中较亲油链段提供对疏水表面的附着力,而强亲水链段形成阻隔蛋白的富水表层,其吸附层的形成实质上是嵌段共聚物从水相自组装到材料表面的过程。嵌段共聚物 and 支化共聚物的特有亲水/亲油构造可以使聚合物既有强的预吸附附着力又能形成有良好蛋白阻抗性能的外表层,这是预吸附法的重要发展。

此外,陆晓峰<sup>[36]</sup>等人分别选用了非离子型、阴离子型和两性离子的表面活性剂对聚砜超滤膜进行预吸附改性,以降低蛋白质对膜的吸附堵塞。结果表明:用表面活性剂对膜改性后,膜的通量都比未改性膜有不同程度的提高,其改性效果的顺序为:非离子型表面活性剂>离子型表面活性剂>两性离子。通过预吸附天然生物成分来抑制蛋白吸附或改善材料的血液相容性亦有报道。例如,在的SiO<sub>2</sub>表面预吸附卵磷脂<sup>[52]</sup>;用肝素溶液预处理聚氯乙烯医用导管<sup>[53-54]</sup>。

## 4. 预吸附与蛋白吸附的研究方法

预吸附以及蛋白吸附状况的表征是预吸附法阻抗蛋白吸附研究的重要内容。显微成像技术如原子力显微镜<sup>[38]</sup>、扫描电镜<sup>[55]</sup>,以及光学轮廓仪(Profilometry)<sup>[50]</sup>、X 射线光电子能谱(XPS)<sup>[56]</sup>、动态接触角仪<sup>[57]</sup>等已用于静态吸附状况表征;表面等离子体谐振(SPR)<sup>[39]</sup>、椭率测量法(Ellipsometry)<sup>[40]</sup>、石英晶体微天平(QCM-D)<sup>[58]</sup>、二元偏振干涉测量仪(Dual Polarization Interferometry)<sup>[50]</sup>等已用于实时监测动态吸附行为和吸附的定量研究;zeta 电位测定和动态激光散射用于考察聚合物和蛋白在纳/微米颗粒表面的吸附行为及聚合物与蛋白在水相中的相互作用<sup>[51]</sup>。

## 5. 结束语

通过预吸附法实施材料表面改性,在阻抗蛋白吸附效果上与化学接枝法没有差别,在静态实验条件下可以达到或接近零蛋白吸附。这种方法在蛋白分离膜阻垢(生物垢)、隐形眼镜的防污等方面已成功应用。

从表面上看,预吸附法所形成的亲水表层的稳定性似乎低于接枝法,考虑到多数亲水聚合物分子链

均会在生理环境下发生水解、生物降解等化学变化, 这种变化的速度必然影响表面涂层(吸附或接枝)的稳定性。因此获得“一劳永逸”的涂层是不现实的, 在降解速度快的情形中, 接枝法未必比预吸附法更有稳定性方面的优势。在以水为介质的乳液聚合中, 很多乳化剂是水溶性聚合物, 如PEO、PEG、PVA、PVP等, 乳聚所得到的聚合物乳液可以长期保持稳定, 这证实水溶性聚合物在疏水聚合物乳胶粒表面的吸附可以保持长期稳定。但是, 迄今为止, 预吸附改性的表面在涂层耐久性方面鲜有研究报道, 在动态条件和存在剪切力条件下的抗蛋白吸附性能尚未见研究报道, 开展这些方面的系统化研究是未来开发新型抗蛋白预吸附聚合物的需要。预吸附法实施材料表面改性工艺简单、成本低, 适用性强(制件形状和尺寸不受限制), 具有广阔的应用前景。

## 参考文献

- [1] Wedler, F.C.; Riedhammer, T.M.; *Biocompatibility in Clinical Practice*. 1982, 11, 1.
- [2] Costerton, J.W.; Lewandowski, Z.; Caldwell, D.E. et al. *Microbial microfilms*. *Annu Rev Microbiol*. 1995, 49, 711.
- [3] Kingshott, P.; Hans, J.; Griesser. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. 1999, 4, 403.
- [4] Andrade, J.; Hlady, V. *Ann, N.Y. Acad Sci*. 1987, 516, 158.
- [5] Horbett, T.A.; Brash, J.L. *ACS Symp.Ser., Vol. 602*, Washington, DC: ACS, 1995.
- [6] Robert, G.; Chapman; Emanuele, O. et al. *Langmuir* 2001, 17, 1225.
- [7] Emanuele, O.; Robert, G.; Chapman. et al. *Langmuir* 2001, 17, 6336.
- [8] Jian, J.; Qinggang, T.; Fan, D.Z. et al. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2004, 34, 185.
- [9] Felhosi, I.; Keresztes, Z.; *Electrochimica Acta*. 2002, 47, 2335.
- [10] Ma Imsten, M.; Linse, J.P.; Cosgrove, T. *Macromolecules* 1992, 25, 2474.
- [11] Robinson, S.; Williams, P.A. *Langmuir* 2002, 18, 8743.
- [12] 谭帼馨, 崔英德, 肖楚民. *离子交换与吸附*. 2004, 20 (3), 199.
- [13] 陈红, 林一铮, 江成璋. *水处理技术*. 1992, 18(5), 303.
- [14] Francois, P.; Vaudaux, P. *Biomaterials*. 1996, 17(7), 667.
- [15] Chaufer, B.; Dulieu, J. *PCT WO 8806477A1*, 1988.
- [16] Fromageot, H. P.; Groves, J. N. *Biomaterials Research*. 1976, 10(3), 455.
- [17] Desai, N. P.; Hubbell. *Biomaterials*. 1991, 12(2), 44.
- [18] Kwan; Stephen, C. *USP4*, 411,932, 1983.
- [19] Marchant, R. E.; Yuan, S. et al. *Biomat. Sci., Polym. Ed.*, 1994, 6(6), 549.
- [20] Bearinger, J. P.; Castner, D. G.; Golledge, S. et al. *Langmuir* 1997, 13, 5175.
- [21] Roesink, H. D. W.; Berrlage, M. A. M.; Potman, W. et al. *Colloids Surf*, 1991, 55,231.
- [22] Ko, M. K.; Pellegrino, J. J.; Nassimbene, R. *Membr. Sci*. 1993, 76, 101.
- [23] Rovira-Bru, M.; Giralt, F.; Cohen, Y. *Colloid Interface Sci*. 2001, 235.
- [24] Robinson, S.; Williams, P. A. *Langmuir* 2002, 18, 8743.

- [25] Barrett, D. A.; Hartshorne, M. S.; Hussain, M. A. et al. *Anal. Chem.* 2001, 73, 5232.
- [26] Seunghwan, L.; Janos, V. *Langmuir* 2005, 2, 11957.
- [27] Larsson, C. F. et al. *Biomaterials* 1996, 17, 2199.
- [28] Lee, J.; Martic, P.A. et al. *Colloid Interf. Sci.* 1989, 131(1), 252.
- [29] O'Connor, S.M.; Patuto, S.J. *Polym Prepr.* 1997, 38(1), 559.
- [30] Li, J.; Carlsson, J. *Adv. Chem. Series.* 1996, 248, 61.
- [31] Norman, M.E.; Williams, P.; *Biomaterials.* 1993, 4(3), 193.
- [32] Bohner, M.; Ring, T. A. et al. *Biomat. Sci., Polym. Ed.,* 2002, 13(6), 733.
- [33] Jackson, J.K.; Springate, C.M.K. et al. *Biomaterials*, 2000, 21, 1483.
- [34] Tan, J. S.; Butterfield, D. E. et al. *Biomaterials.* 1993, 14(11), 823.
- [35] Schroen, C.G.P.H.; Wijers, M.C. *Memb. Sci.* 1993, 80, 265.
- [36] 陆晓峰, 陈仕意, 李存珍. *膜科学与技术*, 1997, 17(4), 36.
- [37] Karl, D. P.; Cedric, J. O. *Biomaterials* 1999, 20, 885.
- [38] Green, R. J.; Davies, M. C.; Roberts, C. et al. *Biomedical Materials Research*, 1998, 42, 165.
- [39] Green, R. J.; Tasker, S.; Davies, J. et al. *Langmuir* 1997, 13, 6510.
- [40] MaImsten, M.; Linse, J. P.; Cosgrove, T. *Macromolecules* 1992, 25, 2477.
- [41] Holmberg, K. et al. *Colloids and Surfaces, A*, 1997, 123, 297.
- [42] Green, R. J.; Davies, M.C. et al. *Biomat. Research.* 1998, 4(2), 165.
- [43] Green, R. J.; Tasker, S. *Langmuir* 1997, 13, 6510.
- [44] Ketelson, H.A. US 20040131870A1, 2004.
- [45] Chen, X.; Pelton, R. 79<sup>th</sup> ACS Colloid and Surface Science Symposium, June 12-15, 2005, Potsdam, USA.
- [46] Chen, X.; Pelton, R. *Advanced Materials Research*, 2006, v 11-12, 363.
- [47] Stile, R.A. et al. *Biomacromolecules.* 2001, 2, 185.
- [48] Akiyama, Y. et al. *Langmuir* 2004, 20, 5506.
- [49] Ista1, L.K.; Lo, G.P. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 1998, 20, 121.
- [50] Chen, X.; Pelton, R. *Advanced Materials Research*, 2006, v 11-12, 363.
- [51] Tao, R.; Ma, H.; Chen, X. et al. 12<sup>th</sup> IACIS International conference on surface and colloid science, October 15-18, 2006, Beijing, China.
- [52] Karin, G.; Charlotte, L.; Fredrik, H. et al. *Journal of Colloid and Interface Science* 2002, 246, 40.
- [53] 杨剑, 易定华, 刘金成等. *生物医学工程与临床*, 2004, 8(1), 11.
- [54] 陈维涛, 李树材. *化工新型材料*. 2005, 33(1), 46.
- [55] Cuyper, P. A. et al. *J Biological chem.* 1983, 258, 2426.
- [56] Masayo, H.; Ken-ichiro, Y. et al. *Journal of Membrane Science.* 2004, 234, 41.
- [57] Freij-Larsson, T.; Nylandert, P.; Jannasch. et al. *Biomaterials.* 1996, 17, 2205.
- [58] Picart, C.; Lavaelle, P.; Hubert, P. et al. *Langmuir* 2001, 17, 7414.