

琼脂糖凝胶的光学特性

张仁梅¹, 张 军^{1,2}, 谢梦圆¹, 陈建苏³

(1. 暨南大学 光电工程系, 广东 广州 510632; 2. 中国科学院长春光学精密机械与物理研究所 应用光学国家重点实验室, 吉林 长春 130033; 3. 暨南大学 医学院 眼科研究所, 广东 广州 510632)

摘 要: 为了研究应用于生物细胞打印的琼脂糖凝胶的光学特性, 将不同比例的琼脂糖粉末与蒸馏水混合后加热, 溶解冷却形成不同浓度的琼脂糖凝胶。测量琼脂糖热溶液冷却过程中 55 ℃ 时的琼脂糖溶液的折射率及琼脂糖凝胶的折射率。通过对比细胞培养液的折射率, 获得作为生物打印基质材料和生物支架的琼脂糖凝胶最佳浓度为 0.786%。测量琼脂糖凝胶的可见、近红外透射光谱及衰减全反射红外吸收光谱, 结果显示琼脂糖凝胶在 400~1 100 nm 波段没有特征吸收峰, 而且最大吸收只有 0.171Abs; 在红外波段琼脂糖凝胶的吸收特性与细胞培养液基本相同, 细胞培养液在 2 966 cm⁻¹ 处的特征吸收峰是培养液独有的。对琼脂糖凝胶表面的激光散射特性进行研究, 结果表明, 440 nm 激光的散射最强, 532 nm 激光散射最弱; 琼脂糖凝胶浓度越小, 散射越强。

关键词: 琼脂糖; 热冲击; 生物打印; 光谱吸收特性

中图分类号: O484.4 **文献标志码:** A **DOI:** 10.3788/IRLA201645.0721003

Optical characteristics of Agarose gel

Zhang Renmei¹, Zhang Jun^{1,2}, Xie Mengyuan¹, Chen Jiansu³

(1. Department of Optoelectronic Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. State Key Laboratory of Applied Optics, Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130033, China; 3. Eye Institute, Medical College of Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: Bio-printing can be described as an innovative technology that fabricates 3D functional multi-cellular tissue in vitro, namely deposited biological cells on biological scaffolds. Such efforts are being undertaken in many laboratories around the world. Agarose gel and its composite hydrogel are ideal material for scaffolds with superior biological, mechanical and structural properties. In order to research the optical properties of Agarose gel, which is applied to bio-printing, different concentration of Agarose gel were prepared by mixing up Agarose powder with distilled water in certain ratio after heating, dissolving and cooling. During the cooling process, the refractive index of Agarose solution at 55 ℃ and Agarose gel was measured with Abbe refractometer. By comparing the refractive index of cell culture medium, the concentration of 0.007 86 g/mL was proved to be the best concentration for Agarose hydrogel as bio-printing substrate materials and biological scaffolds. Visible transmittance spectrum, near infrared transmittance spectrum and attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectrum of

收稿日期: 2015-11-24; 修订日期: 2015-12-27

基金项目: 国家自然科学基金(813716896); 广东省自然科学基金(2014A030313377); 广东省重大科技专项(2015B010125007); 应用光学国家重点实验室开放基金

作者简介: 张仁梅(1990-), 女, 硕士生, 主要从事光谱分析方面的研究。Email: 15521327454@126.com

导师简介: 张军(1968-), 女, 研究员, 博士, 主要从事光谱分析、光电检测方面的研究。Email: ccdby@163.com

Agarose gel and cell culture medium were measured, which shows that there is no absorption peak in the spectrum of agarose gel at the wave band from 400 nm to 1 100 nm, and the maximum absorption is only 0.171 1Abs; In the range of infrared spectrum, Agarose gel has the same absorption properties with cell culture medium, except for an unique absorption property at $2\ 966\text{ cm}^{-1}$ in the spectrum of cell culture medium. The experiments of the laser scattering characteristic of the surface of Agarose gel show that the 440 nm laser has the strongest laser scattering intensity, while the 532 nm laser has the weakest one. Meanwhile, the smaller the concentration of Agarose gel, the stronger the scattering is.

Key words: Agarose; thermal shock; bio-printing; characteristic of spectrum absorption

0 引言

溶胶或溶液中的胶体粒子或高分子在一定条件下相互连接,形成空间网状结构,结构中充满了作为分散介质的液体或气体,这种特殊的分散体系被称为凝胶(或冻胶)。溶胶凝胶可以制成各种材料,例如:块体材料、多孔材料、纤维材料、薄膜材料^[1]、粉体材料^[2]、气凝胶及复合材料^[3]等。这些材料在生物^[4]、化学、工业及食品等方面应用广泛。

琼脂糖(Agarose)是从红藻中提炼的链状中性多糖,由 D-半乳糖和 3,6-脱水-L-半乳糖相间结合构成,是琼胶经过分离除去硫琼胶,提取的含硫酸基和灰分低的物质^[5]。琼脂糖在低浓度时就具有高凝胶强度,为近透明的凝胶基质,对微生物具有稳定性,因此,在生化、医学研究领域有着广泛的用途。目前,琼脂糖主要用作食品加工过程中的食品添加剂和生化实验中的生化试剂,如细胞分离^[6]、基因工程等生物技术。琼脂糖凝胶在免疫学中的凝胶扩散诊断、预测各种疾病以及生物化学电泳、光学效应增强等^[7]实验技术方面起着重要的作用。

现代生物医疗技术快速发展,生物组织工程^[8]培养及器官打印已成为各国科学家关注的焦点技术领域。细胞打印是近年来出现的一种在体外构造三维多细胞体系的先进技术^[9],即在生物支架上沉积生物细胞。生物支架是细胞黏附的基本框架,是细胞增殖分化的基本场所,是构建仿生组织和器官的基本支架。生物支架必须具备以下条件:良好的生物相容性、良好的生物降解性、三维立体结构、良好的力学性能和可塑性^[10]。水凝胶是水溶性高分子通过一定的化学交联或物理交联形成的交联聚合

物,为最典型的生物支架材料,琼脂糖凝胶及其复合水凝胶^[11]是生物细胞打印中常用的水凝胶支架材料^[12]。

在进行生物打印时^[13-14],琼脂糖凝胶作为重要的基质材料和支撑材料。必须充分了解琼脂糖的物理性质,如折射率和吸收特性等,以利于配制合适浓度的基质材料,避免打印过程对生物及支架材料产生破坏影响,并使得打印结果准确无误。但琼脂糖凝胶自身性质的研究少有报道,为此首先对琼脂糖的折射率、吸收特性和散射特性进行了研究。

1 实验与讨论

1.1 仪器、材料及样品制备

阿贝折射仪 NT52-975 (爱特蒙特光学有限公司); 福斯近红外光谱仪 (400~2 500 nm), FOSS XDS Rapid Liquid Analyzer (透射附件); 布鲁克 VERTEX 70v FT-IR spectrometers 光谱仪 (衰减全反射 ATR 附件); 半导体激光器 440 nm(QL-80-440)、532 nm(QL-100-532)、650 nm(QL-250-650); 光功率计 (日本 sanwa LP1); BIOWEST REGULAR AGEROSE G-10 琼脂糖(广州豪凯生物科技有限公司); 屈臣氏蒸馏水。

细胞培养液成份组成配比:胎牛血清 10%,高糖培养基(DMEM)87.98%,生长因子(EGF)0.02%,青霉素/链霉素 1%,非必需氨基酸(NEAA)1%。

配置琼脂糖凝胶过程是:用电子称称取一定量的琼脂糖粉末,与蒸馏水混合制成琼脂糖悬浊液(文中称为琼脂糖水溶液),将悬浊液置于酒精灯上加热,边加热边搅拌,溶液沸腾后琼脂糖完全溶解,溶液呈透明状,制成琼脂糖溶液。琼脂糖溶液置于室温下冷却,将琼脂糖溶液制成琼脂糖凝胶。

1.2 折射率的测量

在热冲击和激光生物打印^[13-14]过程中(见图 1), 琼脂糖凝胶作为基质材料支撑细胞成型。而琼脂糖凝胶是琼脂糖溶液冷却获得的, 为了配制琼脂糖溶液, 首先需要了解琼脂糖溶液及凝胶的折射率, 通过与细胞培养液的对比, 以确定适合的浓度。

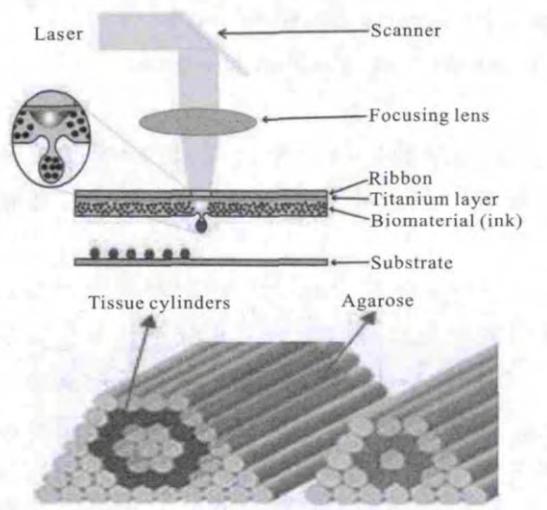


图 1 琼脂糖凝胶作为基质材料及生物支架

Fig.1 Agarose gel as matrix material and biological structure

琼脂糖水溶液是悬浊溶液, 悬浊溶液中琼脂糖与水简单混合, 静止时出现分层现象, 而且最终实验用不到悬浊液, 因此不测量琼脂糖悬浊液折射率。

用阿贝折射仪测量琼脂糖溶液和凝胶的折射率。测量过程中, 环境温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 。测量琼脂糖溶液时, 阿贝折射仪恒温 55°C ; 测量琼脂糖凝胶时, 阿贝折射仪保持室温状态。测量中使用的光源波长为 546 nm 。

琼脂糖溶液及凝胶样品浓度如表 1 所示。用阿贝折射仪测量不同浓度的琼脂糖溶液、凝胶的折射率, 每个样品测量 5 次计算平均值, 实验结果如图 2

表 1 琼脂糖溶液及凝胶样品浓度

Tab.1 Sample concentration of Agarose solution and gel

Mass of Agarose/g	Volume of distilled water/ml	Concentration
0.202 9	40	0.50%
0.302 4	40	0.75%
0.411 7	40	1.02%
0.524 0	40	1.29%
0.620 5	40	1.53%

所示。图 2(a)是琼脂糖溶液加热后冷却至 55°C 时测得的折射率。图 2(a)中琼脂糖溶液的折射率与溶液浓度的关系曲线线性拟合方程为: $n=0.0016c+1.3348$ (其中 n 是折射率值, c 是琼脂糖凝胶浓度, 线性拟合的相关系数 R^2 为 0.898)。图 2(b)是琼脂糖溶液冷却为凝胶后, 在室温 23°C 环境下测得的。对图 2(b)琼脂糖凝胶折射率与琼脂糖浓度进行线性拟合, 拟合方程为: $n=0.00571c+1.33151$, 其中 n 是折射率值, c 是琼脂糖凝胶浓度, 线性拟合的相关系数 R^2 为 0.97574。

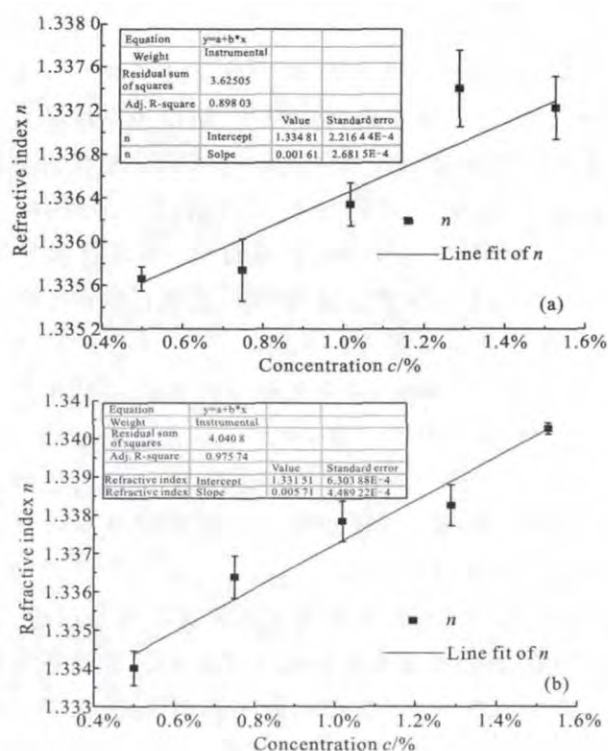


图 2 琼脂糖溶液折射率

Fig.2 Refractive index of Agarose solution

从图 2 可以看出, 琼脂糖溶液和凝胶的折射率都略高于水的折射率; 琼脂糖的浓度越大, 折射率越高; 同一浓度下琼脂糖凝胶的折射率略高于琼脂糖溶液的折射率; 琼脂糖凝胶的折射率不能由琼脂糖溶液折射率代替, 而琼脂糖凝胶的属性更为关键。

当琼脂糖凝胶作为生物打印的支架材料, 所要承载的是生物细胞, 而生物细胞一般在培养液中培养, 生物培养液的折射率为 1.336。为了保证生物细胞的活性, 琼脂糖凝胶的属性应该尽可能的与生物培养液接近。为此, 根据图 2(b)线性拟合方程, 可以计算出, 当琼脂糖凝胶的折射率是 1.336 时, 琼脂糖

的浓度应该是 0.786%。由此确定了作为生物细胞支架的琼脂糖凝胶浓度为 0.786%。

1.3 吸收特性的测量

利用激光对微量物质的热冲击效应,沉积含细胞的液滴的激光打印技术^[13-14]中,激光对于生物打印中支架材料的作用效果报道较少,为此在确定了琼脂糖凝胶浓度后,通过分析琼脂糖凝胶的光谱特性,以获取适合波段的光用于激光打印。

测量琼脂糖凝胶的可见、近红外和红外光谱,以分析其吸收特性。将琼脂糖凝胶切割成厚度为 1 mm 和 2 mm 的薄片,利用福斯近红外光谱仪(FOSS XDS Rapid Liquid Analyzer, 400~2 500 nm, 透射附件),测量其透射光谱。同时分别用 1 mm 与 2 mm 的样品池测量细胞培养液的透射光谱,并分析琼脂糖凝胶与细胞培养液的可见和近红外波段的吸收光谱。利用傅里叶变换红外光谱仪(BRUKER VERTEX 70v FTIR spectrometers, ATR 衰减全反射附件)分别对琼脂糖凝胶和细胞培养液进行衰减全反射光谱测量,并对中、远红外光谱吸收特性进行分析。

1.3.1 可见、近红外光谱吸收特性

将浓度为 0.5% 和 1.02% 的琼脂糖凝胶切割成厚度为 1 mm 和 2 mm 的长方体形状,长宽分别为 10 mm×40 mm,用福斯近红外光谱仪透射附件测量的透射光谱如图 3 所示。图 3(a) 为 1 mm 厚样品的透射光谱,图 3(b) 为 2 mm 厚样品的透射光谱。

对比不同厚度的琼脂糖凝胶近红外透射光谱(图 3)可知:琼脂糖凝胶在 1 444 nm、1 910 nm 和 2 430 nm 波长附近出现了特征吸收峰;厚度为 1 mm 的琼脂糖凝胶在这三个波长上的吸光度峰值为 2.62Abs、4.5Abs 和 4.0Abs;厚度为 2 mm 的凝胶样品对应吸光度峰值的吸光度均超过 3.0Abs,即厚度越大,其吸光度也越大。1 mm 厚琼脂糖凝胶在 400~1 100 nm 波长范围内光的吸收均小于 0.132Abs,而在 1 100 nm~2 500 nm 波长范围最低吸光度是 0.10Abs。在图 3 中细胞培养液的透射光谱与琼脂糖凝胶的透射光谱在 1 100~2 500 nm 波长范围非常相似:在 1 442 nm、1 910 nm 和 2 430 nm 波长附近出现特征吸收峰;1 mm 厚的细胞培养液在这三个波长上的吸光度峰值为 1.08Abs、4.5Abs 和 2.1Abs。当激光穿过琼脂糖凝胶时,不希望琼脂糖凝胶吸收光能,因

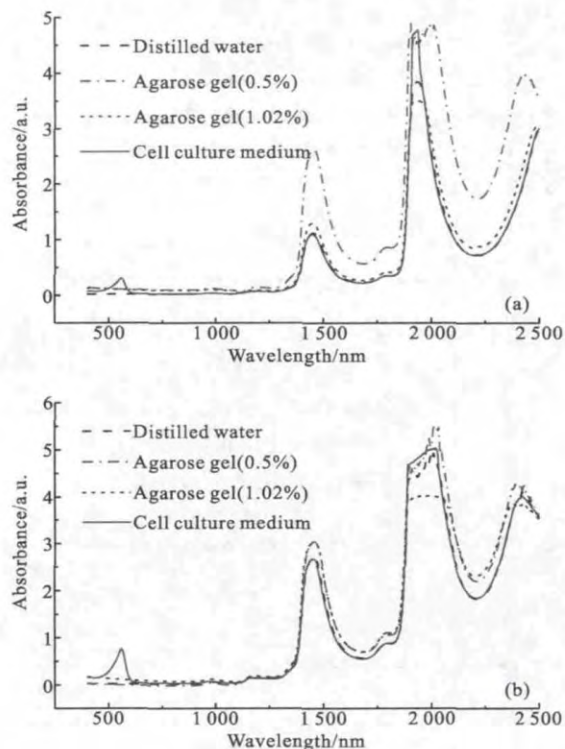


图 3 蒸馏水、琼脂糖凝胶(0.5% 浓度和 1.02% 浓度)和细胞培养液 FOSS 透射光谱(a)样品厚度 1 mm;(b)样品厚度 2 mm

Fig.3 Foss transmission spectroscopy of distilled water, Agarose gel and cell culture medium Agarose gel concentration is 0.5% and 1.02 (a) 1 mm;(b) 2 mm

此进一步分析 400~1 100 nm 波长范围琼脂糖凝胶的特性。

将蒸馏水、细胞培养液和琼脂糖凝胶在 400~1 100 nm 波长范围的透射光谱展开(如图 4 所示),图 4(a)为 1 mm 厚样品的透射光谱,图 4(b)为 2 mm 厚样品的透射光谱。可以看出:琼脂糖凝胶的吸收大于蒸馏水的吸收,且蒸馏水的吸收都小于 0.065Abs;细胞培养液在 558 nm 处有一个吸收峰,这与培养液的血清成分相关,而细胞培养液在 400~500 nm 和 600~1 100 nm 范围的吸收都很小,特别是 1 mm 厚细胞培养液在 600~1 100 nm 波段,吸收只有 0.039Abs。在 400~1 100 nm 波段 1 mm 厚琼脂糖凝胶的吸收曲线近似一条直线,虽然吸收值在 400~500 nm 和 600~1 100 nm 范围高于细胞培养液的吸收,但是吸光度相对较小:1 mm 厚的琼脂糖凝胶吸光度最大只有 0.132Abs;2 mm 厚的琼脂糖凝胶吸光度最大不过 0.171Abs。因此得出结论,在可见、近红外光谱范围,激光波长应该尽量选择在 400~1 100 nm 波段。

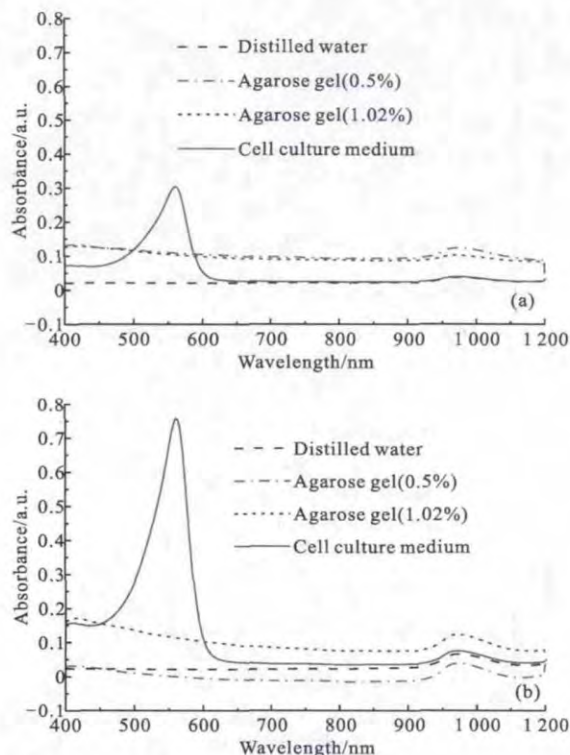


图 4 琼脂糖凝胶与细胞培养液 FOSS 透射近红外光谱(400~1 100 nm)(a)样品厚度 1 mm;(b)样品厚度 2 mm

Fig.4 Foss transmission spectroscopy of Agarose gel and cell culture medium(400~1 100 nm)(a)1 mm;(b)2 mm

1.3.2 中红外光谱吸收特性

琼脂糖凝胶及细胞培养液的衰减全反射吸收光谱如图 5 所示。

在图 5(a)中,实线是琼脂糖热溶液的光谱,虚线是琼脂糖凝胶的光谱,琼脂糖热溶液和琼脂糖凝胶红外吸收光谱图的最大区别是:热溶液在 2360 cm^{-1} 有个小的吸收峰,是由于测量过程中空气的影响,而其他波段两者之间没有区别。由图 5 对比可知,琼脂糖和细胞培养液的红外吸收光谱相似:分别在 1624 cm^{-1} 与 1630 cm^{-1} 附近有一个约为 0.45Abs 的吸收峰、以及分别在 3268 cm^{-1} 和 3273 cm^{-1} 附近有一个约为 0.8Abs 的吸收峰;在小于 1000 cm^{-1} 波数范围,都有较强的吸收。除掉琼脂糖凝胶和细胞培养液各自在 2360 cm^{-1} 和 2966 cm^{-1} 有小的吸收峰的不同之外,两者的红外吸收特性比较接近。琼脂糖凝胶在红外光谱范围,吸收较小的范围只有 $2500\sim 2800\text{ cm}^{-1}$ 。

由图 5 可知,琼脂糖凝胶在红外光谱范围的吸收特性与细胞培养液相近;但由于只有 $2500\sim 2800\text{ cm}^{-1}$ 光谱范围吸收较小,因此激光波长的备选范围尽量

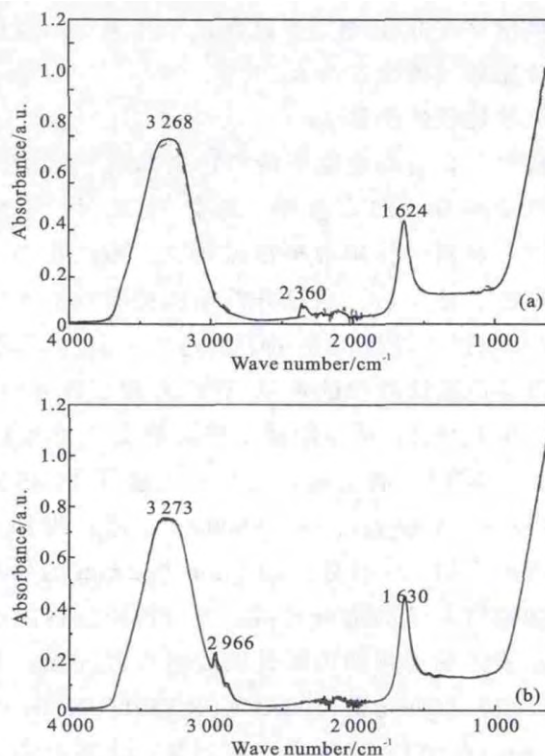


图 5 琼脂糖凝胶 FTIR-ATR 光谱(a);细胞培养液 FTIR-ATR 光谱(b)

Fig.5 FTIR-ATR spectra of Agarose gel(a)and cell culture medium(b)

不选择红外波段。

1.4 琼脂糖凝胶激光散射特性的测量

琼脂糖凝胶浓度和激光波段确定后,在利用热冲击效应进行细胞激光打印之前,琼脂糖凝胶作为细胞的承载材料,必须了解其对激光的散射特性。

将琼脂糖凝胶切割成 $25\text{ mm}\times 25\text{ mm}\times 25\text{ mm}$ 的方形,置于位移平台上,激光从琼脂糖凝胶侧边垂直入射,使用光功率计记录入射激光功率和上表面的散射激光功率(如图 6 所示),两者比值作为散射率的估测值。在测量上表面的出射功率时,探测器紧贴凝胶表面,且对于不同凝胶块,探测器在上表面的位

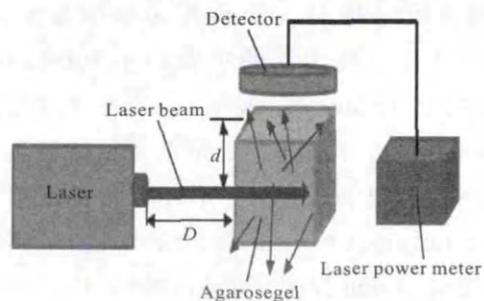


图 6 琼脂糖凝胶激光散射实验示意图

Fig.6 Laser scattering experiment of the Agarose gel

置保持固定。整个实验在暗室中完成。半导体激光器的波长分别为:440 nm、532 nm 和 650 nm。假设激光在琼脂糖凝胶传播过程中,光功率损耗不计。

在图 6 所示的琼脂糖凝胶散射特性测试结构中,激光束垂直于凝胶侧表面入射,并平行于凝胶上表面出射; d 是激光束距离凝胶上表面的距离; D 是激光器与凝胶侧表面的距离,实验中设 $D=10\text{cm}$ 。

图 7 是激光束距离凝胶上表面的距离 d 不同时,激光入射琼脂糖凝胶后上表面的散射特性。从图 7 可以看出,对于同一激光波长,激光束与琼脂糖凝胶表面的直线距离越大,琼脂糖凝胶表面探测到的散射光功率就越小;琼脂糖浓度越高,散射率越小。对

比图 7 中三个波长在凝胶上表面的散射,可以看出,440 nm 的蓝光散射率最大,其次是红光 650 nm,散射率最小的是 532 nm 的绿光。因此,为了降低激光对周边细胞的影响,同时尽可能将激光能量用于推动液滴沉降于基体上,选择 532 nm 的绿光作为热冲击实验的动力激光。

2 结 论

文中对琼脂糖的折射率和光谱特性作了相关研究。用阿贝折射仪测量琼脂糖溶液和琼脂糖凝胶的折射率,并与蒸馏水的折射率作比较。结果显示两种形态下的琼脂糖的折射率与蒸馏水的折射率相差不大。当琼脂糖凝胶的浓度为 0.786% 时其折射率与生物培养液的折射率相等为 1.336,因此选择 0.786% 浓度的琼脂糖凝胶用于生物打印实验。

对比琼脂糖凝胶和细胞培养液的可见、近红外和红外光谱特性,结果表明:琼脂糖凝胶和细胞培养液在近红外和中红外光谱基本相近;细胞培养液在 500~600 nm 波段有吸收峰;1 mm 厚琼脂糖凝胶在 400~1100 nm 波段吸收较小,可以选择该波段的激光用于激光打印。

对比 440 nm(蓝)、532 nm(绿)和 650 nm(红)三种激光在琼脂糖凝胶块中传播时,琼脂糖凝胶上表面的散射特性表明:440 nm 激光的散射率最高,650 nm 激光次之,532 nm 激光最低。因此为了降低激光对周边细胞的影响,同时尽可能将激光能量用于推动液滴沉降于基质上,选择 532 nm 的绿光作为热冲击实验的动力激光。

参考文献:

- [1] Li Baorang, Yang Yang, Yang Zhiwei, et al. Synthesis conditions and electric properties of $\text{Lu}_2\text{Ti}_2\text{O}_7$ thin films prepared by sol-gel technique [J]. *Optics and Precision Engineering*, 2013, 21(12): 3050-3057. (in Chinese)
李宝让, 杨洋, 杨智伟, 等. $\text{Lu}_2\text{Ti}_2\text{O}_7$ 薄膜的溶胶凝胶合成及电学特性[J]. 光学精密工程, 2013, 21(12): 3050-3057.
- [2] Yang Chengyan, Wang Xitang, Ma Yan, et al. Synthesis of YMnO_3 nano-powders by microwave-assisted sol-gel method [J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2014, 43 (2): 605-609. (in Chinese)
杨承燕, 王玺堂, 马妍, 等. 微波辅助溶胶-凝胶法合成

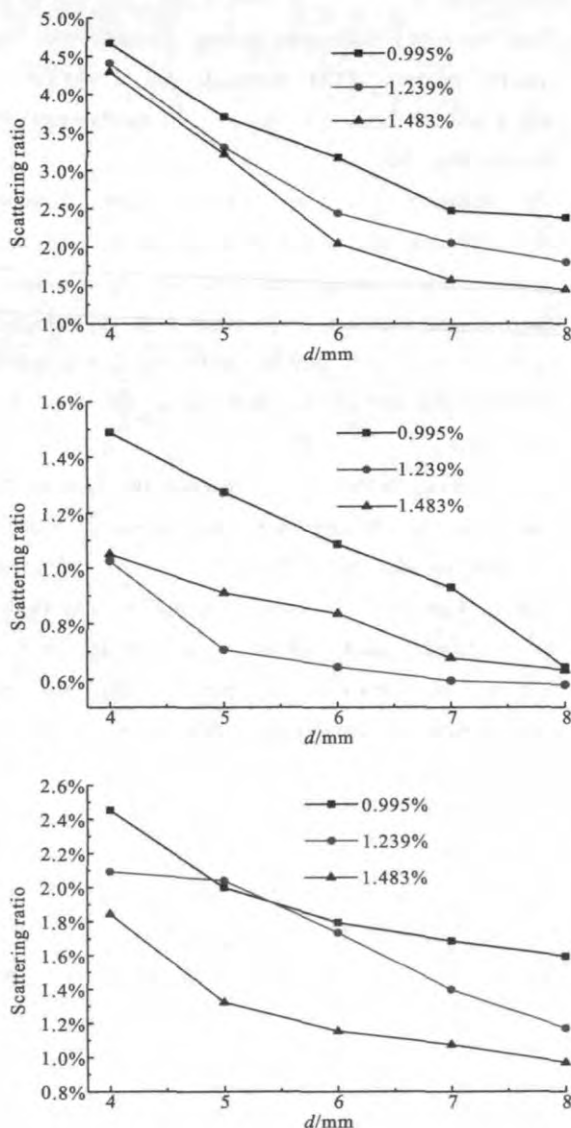


图 7 琼脂糖凝胶激光散射率(a)440 nm;(b)532 nm;(c)650 nm

Fig.7 Scattering rates of Agarose gel under the irradiation of laser

(a)440 nm;(b)532 nm;(c)650 nm

- YMnO₃ 纳米粉体[J]. 红外与激光工程, 2014, 43(2): 605–609.
- [3] Han Zhaojiang, Ma Yongjun, Pei Chonghua, et al. Preparation and characterization of silica composite aerogels with broadband IR absorption[J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2013, 42(8): 1956–1961. (in Chinese)
韩朝江, 马拥军, 裴重华, 等. 红外宽频带吸收基复合气凝胶的制备及表征[J]. 红外与激光工程, 2013, 42(8): 1956–1961.
- [4] Liu Dongxu, Xia Hong, Sun Yunlu, et al. Femtosecond laser direct writing bio-gel template for in situ synthesis of nanoparticles[J]. *Chinese Optics*, 2014, 7(4): 608–615. (in Chinese)
刘东旭, 夏虹, 孙允陆, 等. 飞秒激光直写生物凝胶模板原位合成纳米粒子[J]. 中国光学, 2014, 7(4): 608–615.
- [5] Zhang Shenru, Zhang Qibiao, Su Xirong. The comparison of abstracting agarose from different agar materials [J]. *Marine Fisheries Research*, 2002, 23(4): 51–55. (in Chinese)
陈申如, 张其标, 苏喜荣. 不同来源琼胶提取琼脂糖的比较[J]. 海洋水产研究, 2002, 23(4): 51–55.
- [6] Wu Gang, Wu Chengye. The effect of several modifications on electroosmosis and freezing point of agarose [J]. *Journal of Fujian Fisheries*, 2013, 35(3): 242–246. (in Chinese)
吴钢, 吴成业. 几种降低琼脂糖电内渗及凝固温度的方法综述[J]. 福建水产, 2013, 35(3): 242–246.
- [7] Gu Qi, Hao Jie, Lu Yangjie, et al. Research progress of biological three dimensional printing [J]. *Scientia Sinica (Vita)*, 2015, 45(5): 439–449. (in Chinese)
顾奇, 郝捷, 陆阳杰, 等. 生物三维打印研究的进展[M]. 中国科学: 生命科, 2015, 45(5): 439–449.
- [8] Zhou Lihong, Chen Ziqiang, Huang Guoyou, et al. The application of cell bioprinting [J]. *China Biotechnology*, 2010, 30(12): 95–104. (in Chinese)
周丽宏, 陈自强, 黄国友, 等. 细胞打印技术及应用[J]. 中国生物工程杂志, 2010, 30(12): 95–104.
- [9] Fu Mingfu, Yang Ying, Chen Weicai, et al. Application of inkjet printing to simultaneous printing of biomaterials and cells and tissue engineering [J]. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2011, 15(42): 7892–7896. (in Chinese)
付明福, 杨影, 陈伟才, 等. 喷墨打印技术同步打印细胞和生物支架材料及在组织工程中的应用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(42): 7892–7896.
- [10] Timothy J K, Stephen F B. Biomaterials for tissue engineering applications[J]. *Seminars in Pediatric Surgery*, 2014(23): 112–113.
- [11] Sean V. Murphy, Aleksander Skardal, Anthony Atala. Tissue specific synthetic ECM hydrogels for 3 –D in vitro maintenance of hepatocyte function [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(18): 4565–4575.
- [12] Ma Xiaoyuan, Liu Ying, Wang Zhouping. Preparation, characterization and surface-enhanced raman properties of agarose gel/gold nanoparticles hybrid [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2014, 34(8): 2126–2131. (in Chinese)
马小媛, 刘颖, 王周平. 琼脂糖凝胶/纳米金复合结构的制备及表面增强拉曼性质[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(8): 2126–2131.
- [13] Karoly Jakab, Cyrille Norotte, Francoise Marga, et al. Tissue engineering by self-assembly and bio-printing of living cells [J]. *Biofabrication*, 2010, 2: 14.
- [14] Sylvain Catros, Jean-Christophe Fricain, Bertrand Guillotin, et al. Laser-assisted bioprinting for creating on-demand patterns of human osteoprogenitor cells and nano-hydroxyapatite[J]. *Biofabrication*, 2011, 3: 11.