

分类号：  
学号：20222014073

密级：公开  
单位代码：10759

# 石河子大学

## 硕士学位论文



### 可注射水凝胶负载超声响应型氧空位钛酸锶和 碳酸钛延缓 IVDD 进展

学位申请人	毛含林
指导教师	阮智
申请学位门类级别	医学硕士
学科、专业名称	临床医学
研究方向	外科学
所在学院	医学院

中国·新疆·石河子  
2025年5月

分类号：  
学号：20222014073

密级：公开  
单位代码：10759

# 石河子大学

## 硕士学位论文



### 可注射水凝胶负载超声响应型氧空位钛酸锶和 碳酸钛延缓 IVDD 进展

学位申请人	毛含林
指导教师	阮智
申请学位门类级别	医学硕士
学科、专业名称	临床医学
研究方向	外科学
所在学院	医学院

中国·新疆·石河子  
2025年5月

**Injectable hydrogel loaded with ultrasound-responsive  
oxygen-deficient strontium titanate and titanium carbonate for  
delaying IVDD progression**

A Dissertation Submitted to

**Shihezi University**

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

**Master of Medicine**

By

**Mao hanlin**

**(Intervertebral Disc Degeneration)**

Dissertation Supervisor: Prof. Ruan Zhi

May,2025

## 石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

### 学位论文独创性声明

本人所呈交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名




时间： 2025 年 5 月 27 日

### 使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：



时间： 2025 年 5 月 27 日

导师签名：



时间： 2025 年 5 月 27 日

## 摘要:

目的: 本研究旨在设计一种集超声压电效应与肖特基异质结特性于一体的新型纳米材料, 通过该材料的强吸附活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS) 的能力, 探讨是否可减少椎间盘中 ROS 过度积累, 进而抑制炎症因子的表达来延缓椎间盘退变 (Intervertebral Disc Degeneration, IVDD)。

方法: (1) 材料的设计与合成: 利用水热法合成含氧空位的  $\text{SrTiO}_3$  ( $\text{SrTiO}_v$ ), 借助球磨法同液相法合成的  $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$  MXene 混合均匀, 通过惰性气体热处理的方式合成复合材料氧空位型钛酸锶和碳酸钛 ( $\text{SrTiO}_v\text{-TiC}_x$ , S-T)。扫描电子显微镜 (SEM) 和透射电子显微镜 (TEM) 检测 S-T 的微观形貌。高分辨透射电子显微镜 (HRTEM) 分析 S-T 中  $\text{SrTiO}_v$  和  $\text{TiC}_x$  的异质界面。XRD 检测 S-T 的晶体结构。XPS 分析 S-T 的元素组成和化学键组成。AFM 表征 S-T 的超声响应性能。光学吸收光谱 (UV-Vis) 和 UPS 分析 S-T 的能带结构。第一性原理计算分析 S-T 表面对 ROS 的吸附能。(2) 材料毒性实验: 细胞计数试剂盒-8 实验 (Cell Counting Kit-8, CCK-8) 用于检测材料的最适细胞浓度。并将负载最适浓度 S-T 的 CS 注射入大鼠椎间盘, 然后将大鼠安乐死, 切取大鼠的心、肝、脾、肺、肾进行 HE 染色观察内脏形态及炎症细胞变化, 判断材料是否有内脏毒性。并通过提取大鼠血清和血液, 进行血常规和血生化实验, 检验是否具有血液毒性。(3) 细胞实验: 细胞分组为: 空白对照组 (NC 组)、造模组 (LPS 组)、材料治疗组 (S-T 组)、超声材料组 (US+S-T 组)。使用脂多糖 (LPS) 对髓核 (Nucleus Pulposus, NP) 细胞进行炎症造模。通过转录组测序实验, 检验治疗前后的表达的蛋白富集种类。通过蛋白质免疫印记实验 (Western blot, WB) 及免疫荧光技术 (Immunofluorescence, IF) 检测不同分组下 NP 细胞内相关炎症蛋白的表达, 使用 ROS 试剂盒检测不同分组 NP 细胞内 ROS 的积累程度。(4) 动物实验: 将雄性 SD 大鼠随机分为五组: NC 组、LPS 组、水凝胶组 (CS 组)、超声干预下的水凝胶负载材料组 (US+CS+S-T 组)。采用针刺法对 LPS 组、CS 组、US+CS+S-T 组的大鼠分别进行 IVDD 造模。然后分别将  $10\mu\text{L}$  的 LPS、CS、CS+S-T 注射入 LPS 组、CS 组、US+CS+S-T 组大鼠的第 6-8 尾椎间盘, 并使用超声刺激 US+CS+S-T 组干预后的大鼠椎间盘。使用 MRI 等影像学实验对椎间盘造模效果及治疗效果进行评估。最后, 通过苏木精-伊红染色 (Hematoxylin and Eosin Staining, HE) 和番红 O-固绿染色 (Safranin O and Fast Green staining, S-O) 组织学实验对 S-T 的治疗效果进一步评估。

结果: 通过扫描电子显微镜 (SEM) 和透射电子显微镜 (TEM) 观察到 S-T 的微观结合状态。通过高倍透射电子显微镜 (HRTEM) 对 S-T 中  $\text{SrTiO}_v$  和  $\text{TiC}_x$  的结合方式为原子键结合, 证明材料结构更加稳定。DOS 实验表明 S-T 的氧吸附能相比较  $\text{SrTiO}_v$  和  $\text{TiC}_x$  分别增强了 53% 和 24%。CCK-8 表明材料的最适细胞浓度为 100 ppm。DCFH-DA 探针表征

US+S-T 组的 NP 细胞内 ROS 的过量积累相对于 LPS 组减少了 89%，ROS 总量 US+S-T 组和 LPS 组差异无统计学意义 ( $p>0.05$ )。WB 实验验证基质金属酶 13 (MMP13) 的表达量相对于造模组减少了 74%，且差异具有统计学意义 ( $p<0.05$ )，除此之外 US+S-T 组中 p-p65 蛋白、NLRP3 的表达量相对于 LPS 组分别减少了 56%、72%，且差异具有统计学意义 ( $p<0.05$ )。通过免疫荧光实验对不同干预下的 NP 细胞中，MMP13 进行检测，并进行定量分析，发现 US+S-T 组相对于 LPS 组表达明显减少，且差异具有统计学意义 ( $p<0.05$ )。细胞 RNA 转录组分析表明，包括 NLRP3 和 MMP13 在内的信号通路被抑制，导致 ECM 降解的关键因子的表达受到抑制，从而抑制炎症治疗 IVDD。将大鼠安乐死后在 MRI 下观察椎间盘 NP 的完整度证明了 US+CS+S-T 组恢复到了 NC 组 NP 组织的 78%，通过 MRI 影像对椎间盘灰度值进行定量分析，发现 US+CS+S-T 组相对于 LPS 组差异具有统计学意义 ( $p<0.05$ )。

结论：本研究设计开发的新型纳米材料 S-T，它们具备肖特基异质结结构和超声压电特性，展现出优异的组织相容性和 ROS 吸附能力。通过吸收髓核中过量积累的 ROS，可有效抑制炎症因子的表达，进而实现延缓 IVDD 进展的治疗效果。

**关键词：**椎间盘退变；超声压电治疗；SrTiO<sub>v</sub>-TiC<sub>x</sub>；ROS；炎症

## Abstract

**Objective:** This study aims to design a novel nanomaterial integrating the ultrasonic piezoelectric effect with Schottky heterojunction properties. By leveraging the material's strong adsorption capacity for reactive oxygen species (ROS), we explore whether it can reduce the excessive accumulation of ROS in intervertebral discs, thereby inhibiting the expression of inflammatory factors and delaying intervertebral disc degeneration (IVDD).

**Methods:**(1) **Material Design and Synthesis:** Hydrothermal synthesis was used to prepare SrTiO<sub>3</sub> with oxygen vacancies (SrTiO<sub>v</sub>), which was then uniformly mixed with Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>T<sub>x</sub> MXene synthesized via liquid-phase methods using ball milling. The composite material, oxygen-vacancy strontium titanate and titanium carbide (SrTiO<sub>v</sub>-TiC<sub>x</sub>, S-T), was synthesized through inert gas heat treatment. The microstructure of S-T was characterized using scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM). High-resolution transmission electron microscopy (HRTEM) was employed to analyze the heterojunction interface between SrTiO<sub>v</sub> and TiC<sub>x</sub> in S-T. X-ray diffraction (XRD) was used to examine the crystal structure of S-T, while X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) analyzed its elemental composition and chemical bonding. Atomic force microscopy (AFM) was utilized to characterize the ultrasonic response properties of S-T. The band structure of S-T was investigated using ultraviolet-visible (UV-Vis) absorption spectroscopy and ultraviolet photoelectron spectroscopy (UPS). First-principles calculations were conducted to analyze the adsorption energy of ROS on the S-T surface.(2) **Material Toxicity Testing:** The optimal cell concentration of the material was determined using the Cell Counting Kit-8 (CCK-8) assay. The optimal concentration of S-T-loaded chitosan (CS) was injected into the intervertebral discs of rats, which were then euthanized. The heart, liver, spleen, lungs, and kidneys were harvested for hematoxylin and eosin (HE) staining to observe visceral morphology and inflammatory cell changes, assessing potential visceral toxicity. Blood serum and whole blood were collected for hematological and biochemical tests to evaluate hematotoxicity.(3) **Cell Experiments:** Cells were divided into groups: blank control (NC group), modeling group (LPS group), material treatment group (S-T group), and ultrasound + material group (US+S-T group). Lipopolysaccharide (LPS) was used to induce inflammation in nucleus pulposus (NP) cells. Transcriptome sequencing was performed to examine protein expression profiles before and after treatment. Western blot (WB) and immunofluorescence (IF) were used to detect the expression of inflammatory proteins in NP cells across different groups. ROS levels in NP cells were measured using an ROS assay kit.(4) **Animal Experiments:** Male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into five groups: NC group, LPS group, hydrogel group (CS group), and ultrasound-intervened hydrogel-loaded material group (US+CS+S-T group). The LPS, CS, and US+CS+S-T groups underwent IVDD modeling via needle puncture. Subsequently, 10 μL of LPS, CS, or

CS+S-T was injected into the 6th–8th caudal intervertebral discs of the LPS, CS, and US+CS+S-T groups, respectively. Ultrasound stimulation was applied to the US+CS+S-T group. Magnetic resonance imaging (MRI) was used to assess modeling efficacy and therapeutic outcomes. Finally, histological evaluation was performed using hematoxylin and eosin (HE) staining and Safranin O/Fast Green (S-O) staining to further assess the therapeutic effects of S-T.

Results: SEM and TEM revealed the microstructural integration of S-T. HRTEM confirmed atomic bonding between SrTiO<sub>v</sub> and TiC<sub>x</sub> in S-T, indicating enhanced structural stability. Density of states (DOS) analysis showed that the oxygen adsorption energy of S-T increased by 53% and 24% compared to SrTiO<sub>v</sub> and TiC<sub>x</sub>, respectively. CCK-8 assays determined the optimal cell concentration of the material to be 100 ppm. The DCFH-DA probe demonstrated an 89% reduction in excessive ROS accumulation in the US+S-T group compared to the LPS group, though the total ROS levels showed no significant difference ( $p > 0.05$ ). WB assays revealed a 74% reduction in matrix metalloproteinase-13 (MMP13) expression in the US+S-T group compared to the modeling group, with statistical significance ( $p < 0.05$ ). Additionally, p-p65 and NLRP3 expression levels decreased by 56% and 72%, respectively, in the US+S-T group compared to the LPS group ( $p < 0.05$ ). IF assays quantitatively analyzed MMP13 expression in NP cells under different interventions, showing a significant reduction in the US+S-T group compared to the LPS group ( $p < 0.05$ ). Transcriptomic analysis indicated that signaling pathways, including NLRP3 and MMP13, were suppressed, leading to inhibition of key factors involved in extracellular matrix (ECM) degradation, thereby mitigating inflammation and treating IVDD. Post-euthanasia MRI evaluation showed that the US+CS+S-T group restored 78% of NP tissue integrity compared to the NC group. Quantitative analysis of MRI grayscale values revealed a statistically significant difference between the US+CS+S-T and LPS groups ( $p < 0.05$ ).

Conclusion: The newly designed nanomaterial S-T, featuring a Schottky heterojunction structure and ultrasonic piezoelectric properties, exhibits excellent biocompatibility and ROS adsorption capacity. By scavenging excessive ROS in the nucleus pulposus, it effectively suppresses the expression of inflammatory factors, thereby delaying the progression of IVDD.

**Keywords:** Intervertebral disc degeneration; Ultrasonic piezoelectric therapy; SrTiO<sub>v</sub>-TiC<sub>x</sub>; ROS; Inflammation

# 目录

摘要: .....	I
Abstract .....	III
主要符号表 .....	VII
引言 .....	1
第 1 章 材料的合成及实验方法 .....	3
1.1 试剂与器械表 .....	3
1.2 材料制备方法 .....	5
1.3 材料的电镜下表征 .....	5
1.4 XRD 实验 .....	5
1.5 XPS 实验 .....	6
1.6 价带谱 (VB) 实验方法 .....	6
1.7 原子力显微镜 (AFM) 实验方法 .....	7
1.8 能带图实验方法 .....	8
1.9 紫外光电子能谱 (UPS) 实验 .....	8
1.10 X 射线光电子能谱 (XPS) 实验 .....	8
1.11 X 射线光电子能谱 (XPS) 实验 .....	8
1.12 X 射线光电子能谱 (XPS) 实验 .....	8
1.13 CCK-8 实验 .....	9
1.14 SD 大鼠椎间盘组织固定和切片 .....	9
1.15 苏木素和伊红 (HE) 染色 .....	9
1.16 番红固绿 (S-O) 染色 .....	9
1.17 Western Blot 检测实验 .....	10
1.18 免疫荧光检测 .....	10
1.19 数据处理 .....	10
1.20 技术路线图 .....	10
第 2 章 实验结果 .....	15
2.1 材料合成前后的电镜表征 .....	15
2.2 材料的元素分布图 .....	16
2.3 材料的 XRD 和 XPS 表征实验 .....	16
2.4 材料的各元素的 XPS 拟合图谱 .....	17
2.5 材料的光吸收能力和超声激活原理 .....	18
2.6 材料的能带图、DOS 图和结构图 .....	19

2.7 转录组测序及机制图 .....	20
2.8 材料的细胞毒性 .....	22
2.9 细胞的器官和血液毒性 .....	22
2.10 细胞实验 .....	23
2.11 动物实验 .....	24
第3章 讨论 .....	26
3.1 结论 .....	28
3.2 创新性 .....	28
第4章 综述 .....	29
4.1 镱离子治疗 IVDD 的进展 .....	30
4.2 镁离子治疗 IVDD 的进展 .....	30
4.3 锌离子治疗 IVDD 的进展 .....	31
4.4 含有锰元素 (Mn) 的纳米材料治疗 IVDD 的进展 .....	32
4.5 具有压电属性的纳米材料治疗 IVDD 的进展 .....	32
4.6 治疗 IVDD 的可注射水凝胶的发展趋势 .....	33
4.7 总结与展望 .....	34
引用文献 .....	37
致谢 .....	45
作者简介 .....	47
导师评阅表 .....	48

主要符号表 (1-1)

英文缩写	英文全称	对应中文
IVD	Intervertebral disk	椎间盘
IVDD	Intervertebral disc degeneration	椎间盘退变
LBP	Low back pain	下腰痛
NP	Nucleus pulposus	髓核
ECM	Extracellular matrix	细胞外基质
S-T	SrTiO <sub>v</sub> -TiC <sub>x</sub>	氧缺陷型碳酸钛和钛酸锶
AC	Sodium alginate-chitosan hydrogel	海藻酸钠-壳聚糖水凝胶
ROS	Reactive oxygen species	ROS
LPS	Lipopolysaccharide	脂多糖
H&E	Hematoxylin and eosin staining	苏木精-伊红染色法
PBS	Phosphate buffered solution	磷酸盐缓冲液
S-O	Safranin O staining	番红O染色
MRI	Magnetic resonance imaging	磁共振成像
Micro-CT	Micro computed tomography	微计算机断层扫描技术
IF	Immunofluorescence	免疫荧光
AF	Annulus fibrosus	纤维环
MMP13	Matrix Metalloproteinase 13	基质金属蛋白酶 13
NLRP3	NOD-like receptor family, pyrin domain containing	炎症小体3
CCK-8	Cell Counting Kit-8	细胞计数试剂盒-8实验
P65	p65 protein	P65蛋白
TBST	Tris-Buffered Saline with Tween 20	含Tween 20的Tris缓冲盐溶液
p-p65	Phosphorylation p65 protein	磷酸化 p65 蛋白
CH	Chloral Hydrate	水合氯醛
β-actin	Beta-actin	β-肌动蛋白
SEM	Scanning Electron Microscope	扫描电子显微镜
TEM	Transmission Electron Microscope	透射电子显微镜
XRD	X-ray Diffraction Experiment	X射线衍射实验
DOS	Density of States Experiment	态密度实验
AFM	Atomic Force Microscopy Experiment	原子力显微镜实验
XPS	X-ray Photoelectron Spectroscopy	X射线光电子能谱实验
EDS	Energy Dispersive X-ray Spectroscopy	能量色散X射线光谱实验

## 引言

椎间盘退变 (Intervertebral Disc Degeneration, IVDD) 是一种常见的退行性病变<sup>[1-3]</sup>。研究表明, 近些年 IVDD 的发病率呈显著上升趋势。目前全球患病率约 5.5%, 患病人数约为 4.03 亿人。该疾病不仅使得患者生活质量显著下降, 还对社会医疗体系造成沉重的经济负担。此外, 病理学研究证实椎间盘退变的早期征象可追溯至儿童期。60 岁以上老年人的患病率甚至高达 90%。传统观点认为 IVDD 的发生和机械负荷因素有关, 近些年发现 IVDD 的发生和氧化应激、衰老、炎症、遗传等因素密切相关<sup>[5,12,17,18]</sup>。其中氧化应激导致 ROS 的过度积累, 破坏了 ECM 稳态及相关炎症的产生被目前认为 IVDD 的主要原因<sup>[4-6]</sup>。所以本研究认为清除过量积累的 ROS 是治疗 IVDD 的关键。

纳米材料因其独特的物理化学性质, 如高比表面积、可控的药物释放能力和良好的生物相容性, 为 IVDD 的治疗提供了新的思路。纳米材料在治疗椎间盘退行性疾病中展现出巨大的潜力, 成为近年来医学研究的热点之一。纳米金属材料具有高效性、多功能性。纳米材料中含有的金属离子如锶 (Sr)、镁 (Mg)、锌 (Zn) 等离子对 IVDD 治疗都有显著的作用。其中,  $\text{Sr}^{2+}$  因其在治疗化脓性骨髓炎中具有良好的抗炎作用受到越来越多的关注。金属钛 (Ti) 具有非常好的生物相容性、耐腐蚀性、和良好的机械性能<sup>[7,8]</sup>, 并在金属复合物中容易形成侧位键便于吸附 ROS。比如本研究的 Sr 元素在治/疗 IVDD 的过程中既具备抗炎作用, 又可以直接吸收 ROS。与此同时, 超声压电材料因其独特的肖特基异质结特性在生物医学和能源领域受到广泛关注。它主要有以下几个特点: 首先是它具备电势垒, 使材料激活后状态和性能更加稳定; 二是它本身具备侧位键, 使材料本身具备更强的吸收 ROS 的性能。这些特点使得纳米材料的抗炎性能在超声波的辐照下有更一步提升的潜能。但是纳米材料在生物体内利用率低; 在动物体内容易扩散; 导致治疗效果不明显一直是需要解决的难题。

水凝胶可以作为药物递送工具, 将抗炎药物、生长因子或基因治疗分子负载并精准递送至椎间盘组织<sup>[14]</sup>, 达到稳定释放药物的效果。传统的水凝胶例如: 胶原蛋白、透明质酸、壳聚糖、脱细胞基质等天然材料; 聚乳酸和聚乳酸-羟基乙酸共聚物、聚乙二醇 (PEG) 水凝胶、聚氨酯等合成材料; 但是这些水凝胶的抗炎效果有限, 所以本研究采用海藻酸钠作为水凝胶的主要成分, 它除本身良好的抗氧化性能、生物相容性和生物降解性还具有抗炎作用。

本研究利用  $\text{Sr}^{2+}$  和 Ti 的特性设计一种超声激活材料  $\text{SrTiO}_v\text{-TiC}_x$  (S-T)。此材料本身由于  $\text{Sr}^{2+}$  存在从而具有抗炎能力, 由于本身超声压电性能和肖基特异质结的特性使它

也同时具备吸附 ROS 的能力。肖特基异质结是一种材料的二极管结构，在超声作用下，电子由价带面（VB）流向导带面（CB），电子也从电势高的金属面流向电势低的非金属面，所以在超声作用下高电势的一面具备更多的阳性离子，而游离的 ROS 大多以负电荷离子存在，所以在超声作用下具备肖特基异质结的材料吸附 ROS 能力更强。RNA 逆转录组学证明，超声的辐照后，S-T 与 NP 细胞共培养后呈现出明显的中和 ROS 的治疗效果。海藻酸钠—壳聚糖水凝胶用于负载此材料，进一步在动物体内进行注射治疗。证明其在体内对 IVDD 有很好的治疗效果。

## 第一章，材料的合成及实验方法

### 1.1 试剂与器械表

#### 实验所用试剂及来源（1-2）

试剂	来源
Dulbecco改良Eagle培养基（DMEM）培养基	Gibco 生物科技公司
胎牛血清	Sciencell 生物科技公司
磷酸盐缓冲盐水	Biosharp 生物科技公司
胰蛋白酶溶液	Biosharp 生物科技公司
II型胶原酶	Bioroxx 生物科技公司
CCK-8细胞计数	试剂盒碧云天生物科技公司
DEPC水	Biosharp生物科技公司
TBHP试剂	Sigma公司
脱脂奶粉	BioFROXX生物科技公司
Western blot 转膜液粉剂	Tsingke生物科技公司
丝氨酸蛋白酶抑制剂（PMSF）	博士德生物科技公司
增强RIPA缓冲液	博士德生物科技公司
HRP标记羊抗兔二抗	三鹰生物科技公司
$\beta$ -Actin鼠一抗	三鹰生物科技公司
MMP13兔一抗	三鹰生物科技公司
NLRP3鼠一抗	三鹰生物科技公司
免疫染色封闭液	碧云天有限公司
BCA蛋白浓度测序试剂盒	博士德有限公司
4%多聚甲醛固定液	Biosharp
DAPI溶液（含荧光粗灭剂）	碧云天有限公司
FITC标记的鬼笔环肽溶液	索莱宝有限公司
人髓核细胞	德尔夫生物公司
Western blot电泳液粉剂	BioFROXX生物科技公司
Western blot制胶试剂	雅酶生物科技公司
蛋白质Loading Buffer	博士德生物科技公司

## 器械及设备 (1-3)

器械及设备	来源
各体积离心管, EP管, 冻存管	Biosharp 生物科技公司
T25细胞培养瓶	BIOFIL 生物科技公司
各体积孔板	NEST 生物科技公司
移液器	Therom 生物科技公司
眼科剪, 纤维镊子	中国阿拉丁公司
CO <sub>2</sub> 细胞培养箱	北京科誉兴业科技发展公司
超净工作台	AIRTECH 生物科技公司
高速离心机	BioRAD 生物科技公司
天平 (千分之一)	上海奥豪斯有限公司
真空干燥箱	泰斯特有限公司
TOMY 生物科技公司酶标仪	BioRAD 生物科技公司
Western blot 电泳槽	六一生物科技公司
ChemiDoc TM MP 成像系统	BioRAD 生物科技公司
荧光显微镜	OLYMPUS 生物科技公司
Micro-CT	Bruker 生物科技公司
超声机	Chattanooga 生物科技公司
超声清洗机	朗杰科技公司
恒温水浴锅	上海一恒
纯水仪	优普科技有限公司
光学显微镜	奥林巴斯
激光共聚焦显微镜	奥林巴斯
组织包埋机	Leica 生物科技公司
冰冻切片机	Therom 生物科技公司
组织脱水机	Leica 生物科技公司

## 1.2 材料制备方法

氧缺陷型钛酸锶 ( $\text{SrTiO}_x$ ) 的制备方法: 将 0.2 mol/L 的  $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$  和  $\text{TiCl}_4$  按 1:1 摩尔比溶解于去离子水中, 然后向混合后的溶液中加入乙二醇 (体积占比 5-10%), 乙二醇作为形貌调节剂将混合溶液 pH 调节至 13-14。将混合溶液转移至聚四氟乙烯的水热反应釜中, 然后转移到烘箱中, 在 180-200°C 下加热 12-24 小时, 自然冷却后, 将溶液离心洗涤至 pH 中性, 将固体放入烘干箱中在 80°C 下干燥, 然后得到干燥的固体材料, 即  $\text{SrTiO}_3$  前驱体。将前驱体置于管式炉中, 通入  $\text{H}_2/\text{Ar}$  (5%  $\text{H}_2$ ) 还原气氛下, 在 600-800°C 下煅烧 2-4 小时, 合成的样品, 即为含氧空位的  $\text{SrTiO}_3$  ( $\text{SrTiO}_x$ )。

MXene 的制备: 将  $\text{Ti}_3\text{AlC}_2$  粉末 (1g) 与  $\text{HF}/\text{HCl}$  混合溶液 (20mL, 体积比 1:1) 在 35°C 下搅拌 24 小时, 离心洗涤至溶液 pH>6, 放入真空干燥箱中得到  $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$  MXene

复合材料的制备: 将  $\text{SrTiO}_x$  粉末与  $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$  MXene 按质量比 (1:1 至 1:3) 混合, 然后将混合后的材料球磨 (300 rpm, 4 小时) 后, 在 Ar 气氛下 400-500°C 煅烧 2 小时, 实验中避免了 MXene 氧化, 得到了  $\text{SrTiO}_v\text{-TiC}_x$

## 1.3 材料的电镜下表征

透射电子显微镜 (TEM): 这是一种利用电子束穿透样品, 通过检测电子与样品相互作用后的透射电子来获取样品内部的结构的技术。先将所检测的 S-T 以及前体进行处理。对于这种固体样品, 通常需要将材料样品切薄至电子束可穿过的厚度 (通常小于 100 纳米)。本研究采用减薄的方法为聚焦离子束 (FIB) 切割法。切薄好的材料样品放在铜网支撑膜上, 随后将负载样品的铜网放入 TEM 样品杆里。在此实验中, 将样品杆插入 TEM 的样品室中, 真空度必须达到标准才能进行下一步实验。调整电子束的加速电压 200kV, 为达到较好的成像条件必须选择合适的物镜光阑和聚光镜光阑。使电子束更精准的聚焦在材料样品上, 我们需要调整聚光镜和物镜电流, 从而得到准确的图像

扫描电子显微镜 (SEM) 是一种利用聚焦电子束扫描样品表面, 通过检测样品表面发射的二次电子和背散射电子来获得样品表面形貌和成分信息的技术。材料样品准备较为简易, 我们不用像 TEM 那样切薄, 只需要将合适尺寸的样品放入显微镜样品仓内, 但需要确保样品清洁且具有良好的导电性。对于导电性不足的, 我们通常需要进行特殊的处理, 以避免电荷积累对成像的影响。实验中, 分别将不同材料样品放入样品仓里, 并确保样品仓与显微镜的电子光学系统协调。调整电子束的加速电压为 20kV。同样为了电子束准确聚焦在不同样品表面, 本研究适当调节聚光镜和物镜电流, 进而得到清晰的图像。

## 1.4 XRD 实验

本实验最重要的是需要先制备标准的样品标本。本研究先将材料样本仔细球磨均匀 (直径小于 20 微米), 为了避免尺寸太大影响到实验结果。实验开始时, 将制备好的三种样品分别放置在 XRD 仪器的样品台上。X 射线管电压调整为 40 kV 电流调整为