

掺杂及分子修饰对类金刚石细胞相容性的影响

刘敏¹, 刘爱萍^{1,2}, 郁建灿¹, 钱国栋¹

(1. 浙江大学 硅材料国家重点实验室, 材料科学与工程学院, 浙江 杭州 310027;

2. 浙江理工大学 物理系, 浙江 杭州 310018)

摘要: 为实现 DLC 薄膜在不同使用环境下生物相容的可调性, 采用元素掺杂及化学分子修饰对 DLC 薄膜表面进行改性, 借助 X 射线光电子能谱、拉曼光谱及静态接触角测试表征薄膜的表面形貌和微观结构, 探究掺杂及分子修饰对薄膜细胞相容性的影响。结果显示: B、N、P、Pt 元素掺杂以及 3-氨基苯硼酸 (APBA) 修饰均没有改变薄膜非晶结构, 只是提高薄膜有序程度。B、N、P 元素的掺入减小了 DLC 薄膜的接触角, 而 N、Pt 元素共掺使接触角变化不大。APBA 修饰使各种 DLC 薄膜的接触角均降低。B、N、P 元素的掺入促进 PC12 细胞的黏附与增殖, 抑制细胞凋亡, 而 Pt 元素的掺入起相反的作用, APBA 修饰对细胞生长有明显促进作用。这说明元素掺杂及分子修饰是调节 DLC 薄膜细胞相容性的有效方法。

关键词: 类金刚石 (DLC) 薄膜; 掺杂; 化学修饰; 细胞黏附; 细胞增殖

中图分类号: TB 321; Q 24

文献标志码: A

文章编号: 1008-973X(2015)09-00-00

Influence of doping and molecular modification on cell compatibility of diamond-like carbon film

LIU Min¹, LIU Ai-ping^{1,2}, YU Jian-can¹, QIAN Guo-dong¹

(1. State Key Laboratory of Silicon Materials, School of Material Science and Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China; 2. Department of Physics, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: DLC film was functionalized by element doping and molecular modification aiming at the biocompatibility regulation of diamond-like carbon (DLC) film to better use in different environment as the substrate material of cell sensor. X-ray photoelectron spectroscopy, Raman spectroscopy and static-state contact angle measurement were applied to characterize the surface morphology and microstructure of DLC film. The effects of element doping and molecular modification on the cell compatibility of the film were explored. Results show that the doping of B, N, P and Pt elements and the modification of 3-amino-benzeneboronic acid (APBA) do not change the amorphous structure of DLC film, but enhance the ordered structure. The doping of B, N and P elements decreases the contact angle of DLC film, while the codoping of N and Pt elements does not lead to obvious change of contact angle. The APBA modification makes the contact angle decrease for different DLC films. Moreover, the doping of B, N and P elements promotes the adhesion and proliferation of PC12 cells and inhibits cell apoptosis. However, the incorporation of platinum element presents the opposite effect. The modification of 3-aminophenylboronic acid can obviously promote the cell growth on the doped DLC surface. Therefore, element doping and molecular modification are effective methods for biocompatibility modulation of DLC film.

Key words: diamond-like carbon (DLC) film; doping; chemical modification; cell adhesion; cell proliferation

收稿日期: 2014-10-04.

浙江大学学报(工学版)网址: www.journals.zju.edu.cn/eng

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51272237, 51272231, 51010002); 中国博士后科学基金特别资助项目(2013T60587); 中国博士后科学基金面上资助项目(2012M520063); 浙江省博士后基金资助项目(Bsh1201016).

作者简介: 刘敏(1989-), 女, 硕士生, 从事薄膜生物相容性研究. ORCID: 0000-0002-5032-4973. E-mail: aipingwz@163.com

通信联系人: 钱国栋, 男, 教授. ORCID: 0000-0001-7133-2473. E-mail: gdqian@zju.edu.cn

类金刚石(diamond-like carbon, DLC)薄膜具有可低温沉积、耐摩擦磨损、高硬度、化学性能稳定、宽电势窗口、低背底电流等优良特性^[1-3],可广泛用于机械模具和零部件的耐磨保护层、太阳能电池减反膜、电化学工作电极等^[4-8]. DLC薄膜还具有良好的血液相容性与细胞相容性^[9-10],可用于构建组织工程心脏瓣膜、血管支架、人工骨及其他植入体^[11]. 此外, DLC薄膜还具有易于掺杂和表面修饰的特性. 大量研究表明:在 DLC薄膜中掺入一定量的杂质原子(如非金属元素 N、O、Si、F 或金属元素 Ti、Co、Mo、W、V 等),在不明显改变薄膜微观结构的同时,其物理化学及生物相容性能得到较大改善^[11]. 例如,在 DLC薄膜中掺杂 Si、Ti 等元素能有效提高薄膜的耐摩擦磨损能力^[12-13]. N、B、P 等元素的掺入能有效改善薄膜的导电性,拓宽 DLC薄膜在场发射和太阳能电池等方面的应用前景^[14-16]. P、Ca、Si 等元素的掺入有利于改善薄膜的血液相容性,减少血小板在薄膜上的黏附^[17-18]. 在 DLC薄膜中掺入具有光催化活性的 TiO_2 纳米粒子或 Ag 元素时,薄膜的抗菌能力有明显提升^[19-20].

目前,基于不同元素掺杂对 DLC薄膜细胞相容性的影响及本质规律的研究相对较少,而关于表面修饰改善 DLC薄膜细胞相容性的研究也非常有限. 为了深入探究元素掺杂及表面修饰对 DLC薄膜细胞相容性的影响机制,本文采用过滤阴极真空电弧沉积系统制备了 DLC薄膜,并在沉积过程中通入硼烷(BH_3)、氮气(N_2)和磷烷(PH_3)掺杂源对薄膜进行 B、N、P 元素的掺杂. 通过使用含有铂粉的碳靶及气体掺杂源 N_2 ,获得 N、Pt 共掺的 DLC薄膜. 此外,实验中采用 3-氨基苯硼酸(3-aminobenzenboronic acid, 3-APBA)对各种掺杂薄膜进行表面功能化,考察掺杂及表面修饰对薄膜亲疏水性及微观结构的影响,探讨元素掺杂及表面修饰的薄膜对 PC12 神经细胞黏附、增殖及凋亡等生理活动的影响规律.

1 材料和方法

1.1 掺杂 DLC薄膜的制备与表面修饰

采用 FCVA 技术^[21]在导电硅片上沉积 DLC 及掺杂 DLC 薄膜. 以 DLC : P 薄膜的制备为例,以纯度为 99.99% 的高纯碳靶为碳源,纯度为 99.999% 的磷烷气体(PH_3)为掺杂源. 当沉积室真空度达到 2.0×10^{-4} Pa 时,通入流量为 5 sccm 的 PH_3 ,碳靶在激发状态下放电并产生碳等离子体,轰击真空室内的 PH_3 ,使其电离. 多种等离子体在偏压下一同

沉积到氩气刻蚀的硅片表面. 分别改用氮气(N_2 , 5 sccm)和硼烷(BH_3 , 5 sccm)作为掺杂源,获得 DLC : N 及 DLC : B 薄膜. 通过使用含有铂粉的碳靶及 N_2 掺杂源,获得 N、Pt 共掺的 DLC : NPt 薄膜. 调节掺杂源气体流量及沉积时间,可以调控薄膜成分及薄膜厚度.

掺杂 DLC 薄膜表面的功能化修饰通过以下步骤实现:1) 将样品用丙酮、酒精及去离子水超声清洗 5 min,取出吹干;2) 将清洗好的样品浸泡于混合酸液(浓硫酸:浓硝酸 = 9 : 1)中 72 h,使其表面连接上羧酸基团^[22];3) 将酸化后的样品用 1 mg/mL 的 APBA 和乙基二甲基胺丙基碳化二亚胺(N-Ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, EDAC)的混合溶液浸泡 24 h,通过 APBA 分子的氨基与 DLC 样品表面羧基的脱水缩合,在样品表面修饰上 APBA 分子.

1.2 不同 DLC 薄膜的结构表征

使用 VG ESCALAB MKII 型 X 射线光电子能谱(XPS)分析不同 DLC 薄膜的成分和化学态, Mg K α 射线的能量为 1 253.6 eV,扫描全谱和元素分谱时能量分析器的通过能分别为 50 eV 和 20 eV. 为了探究元素掺杂和表面修饰对薄膜微观结构的影响,采用 Thermo Fisher Scientific DXR 激光拉曼(Raman)光谱仪(波长为 633 nm)测定 DLC 薄膜的拉曼光谱. 使用静态接触角测量仪(OCA20, GER)测定蒸馏水在薄膜表面的接触角. 室温下,将 1 μL 蒸馏水轻轻滴在薄膜表面并拍照,再利用 SCA20 分析软件测量所得接触角的大小,共设 6 组平行实验.

1.3 不同 DLC 薄膜的细胞相容性检测

1.3.1 PC12 细胞的培养 PC12 细胞来源于老鼠的肾上腺嗜铬肿瘤. 培养液使用新鲜配置的含 10% 胎牛血清(FBS, 四季青)的达尔伯克(氏)基础培养基(Dulbecco's minimum essential medium, DMEM),并加入 1% 的青霉素和链霉素(P/S, Boster). 细胞体外接种密度为 1×10^4 个/ cm^2 ,每 3 d 进行一次传代分瓶.

1.3.2 PC12 在不同 DLC 薄膜上的黏附、增殖与凋亡 将高温消毒后的不同 DLC 样品(8 mm $\times$ 8 mm)分别置于 24 孔板中,在孔中接种 800 μL PC12 细胞(4×10^5 个/孔). 将细胞置于 37 $^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 的标准条件下培养,每 2 d 更换一次培养液. 培养 1 d、3 d、5 d 后,将样品用 PBS 冲洗 3 次,然后用 4% 多聚甲醛固定细胞 15 min,随即用 5 $\mu\text{g/mL}$ 的 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylin-

?
 CO_2 所占
的体积
还是质量

dole, DAPI)染色 5 min,以观察细胞核的形貌.将染色后的样品用 PBS 冲洗 3 次后放在共聚焦显微镜(CLSM, fluoview FV1000, Olympus)下观察、拍照.每个样品随机选取 8 个区域进行拍照,然后对 $\times 20$ 照片中细胞的密度及 $\times 40$ 照片中细胞的凋亡率进行统计.凋亡细胞的判断标准为细胞核着色不均匀,发出刺眼的亮蓝色.这是因为在凋亡过程中细胞核会发生固缩,染色质高度凝聚浓缩.共设 3 组平行实验.

1.3.3 PC12 在不同 DLC 薄膜上的微管蛋白形貌

为了观察不同 DLC 薄膜上细胞骨架的形态,对细胞中的微管进行了染色.微管是一种具有极性的细胞骨架,是由微管蛋白二聚体组成的长管状细胞器.经过染色,可以看到丝状微管蛋白从细胞核周围往细胞质延伸.微管蛋白密集、有序地排列且伸长铺展是细胞生长状态良好的特征之一^[23].具体染色过程如下:将细胞固定后,用 Triton X-100 (0.5%, PBS) 在室温下处理 2 h,使细胞膜变通透.随后将细胞用血清(2%, PBS)和白蛋白(2%, PBS)混合液在室温封闭 2 h.封闭后的细胞用连接有 Alexa-Fluor 647 荧光基团的 β -微管蛋白抗体(1:500, 细胞信号传导)孵化 2 h,最后用 DAPI(5 $\mu\text{g/mL}$)染细胞核.经过封闭处理后, β -微管蛋白抗体可通过抗原-抗体反应特异性的标记细胞中的 β -微管蛋白.将染色后的细胞置于共聚焦显微镜下用双通道观察,激发波长分别为 405 nm(细胞核)和 633 nm(微管蛋白骨架).

2 结果与讨论

2.1 不同 DLC 薄膜的结构与亲疏水性

表 1 为掺杂及 APBA 分子修饰后 DLC 薄膜中各元素的原子百分比.从表中可以看出,DLC:N、DLC:P 和 DLC:B 中 N、P 和 B 元素的原子百分比依次为 2 at.%,4 at.%及 3 at.%.N、Pt 共掺的样品中 Pt 元素的原子百分比约为 6 at.%,N 元素的原子百分比为 19 at.%.经过酸化及 APBA 分子修饰后,各样品表面都检测到了 B 和 N 元素,其中 B 元素的原子百分比增加了 0.3 at.%~1.5 at.%(DLC:P 样品除外,因为 P 的 2s 峰与 B 的 1s 峰重合).N 和 B 元素的检出或含量增加说明不同掺杂 DLC 薄膜表面成功修饰上了 APBA 分子.

图 1 是掺杂及 APBA 修饰后 DLC 薄膜的拉曼(Raman)光谱(拉曼峰强度 I 随波数 W 的变化).图中在波数为 900~1 000 cm^{-1} 和 1 100~1 800 cm^{-1}

表 1 不同类金刚石薄膜样品中元素种类及原子百分比

Tab.1 Type and atomic content of elements in different diamond-like carbon films

样品	C	O	N	P	B	Pt
DLC	99.12	0.88	—	—	—	—
DLC-COOH	99.07	0.93	—	—	—	—
DLC-APBA	97.61	0.93	1.13	—	0.33	—
DLC:N	90.21	7.68	2.11	—	—	—
DLC:N-COOH	89.33	8.64	2.03	—	—	—
DLC:N-APBA	87.61	8.66	3.04	—	0.69	—
DLC:P	83.75	12.39	—	3.86	—	—
DLC:P-COOH	84.00	11.97	—	4.03	—	—
DLC:P-APBA	83.47	11.00	1.43	4.10	—	—
DLC:B	92.20	4.79	—	—	3.01	—
DLC:B-COOH	94.16	3.34	—	—	2.50	—
DLC:B-APBA	91.85	2.17	2.97	—	3.01	—
DLC:NPt	72.13	2.87	18.59	—	—	6.41
DLC:NPt-COOH	70.65	4.18	19.36	—	—	5.81
DLC:NPt-APBA	72.58	2.91	17.57	—	1.46	5.48

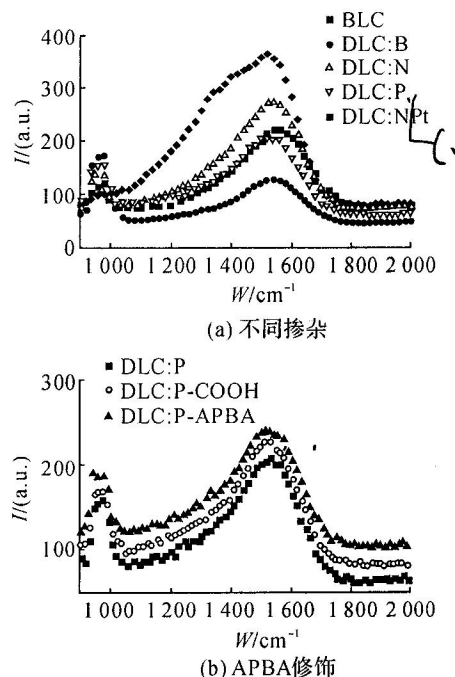


图 1 掺杂及表面修饰的 DLC 薄膜拉曼光谱

Fig.1 Raman spectra of doped and surface-modified DLC films

的峰分别为硅的二阶峰和碳的一阶峰.碳一阶峰可用 D 峰(峰中心位于 1 355 cm^{-1})和 G 峰(峰中心位于 1 581 cm^{-1})进行拟合,分别代表 sp^2 杂化碳的呼吸振动和伸缩振动模式^[24].从图 1(a)可以看出,元素掺杂既没有引入额外的振动峰,也没有改变薄膜的非晶结构,只是使碳的一阶峰的峰位向低波数方向移动了 15~40 cm^{-1} .这说明元素的掺入增加了 sp^2 杂化碳原子的含量,提高了薄膜有序程度^[25].图 1(b)的结果表明,酸化及 APBA 修饰后 DLC:P 薄膜的各峰位及峰强几乎没有变化,修饰对 DLC:P

薄膜结构没有明显影响。

图2是掺杂及修饰后各薄膜样品的接触角(θ)。结果显示,B、N和P元素的掺入减小了DLC薄膜的接触角,其中P元素的掺入对接触角的降低效果最为显著。从XPS数据看出,杂质元素的掺入使DLC薄膜表面的O元素含量增加。Yokota等^[26]在研究中发现,DLC薄膜表面的接触角会随着N元素的掺入而降低,这与薄膜表面含氧基团的增加有关。可见,DLC:P薄膜中O元素含量增加最多,接触角降幅最大(约为 17°),亲水性明显提高,与Kelly等^[22]的研究结果相符。对于DLC:NPt薄膜,虽然N元素掺入易于提高薄膜的亲水性,但是Pt元素的掺入易于增强薄膜的疏水性($\theta > 130^\circ$)^[27],两者共同作用使接触角变化不大。经过酸化和APBA修饰后,各种DLC薄膜的接触角都降低了约 $20^\circ \sim 25^\circ$ 。亲水性的改善可能与薄膜表面连接的APBA分子中亲水性的邻位羟基有关。

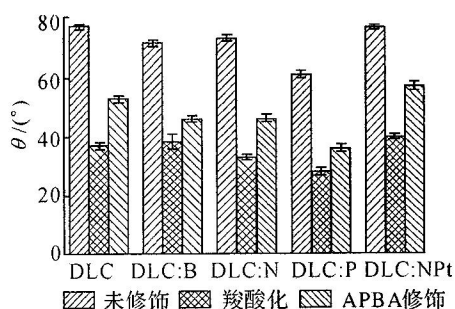


图2 不同DLC薄膜样品的接触角

Fig. 2 Contact angles of different DLC films

2.2 PC12细胞在不同DLC薄膜上的黏附、增殖与凋亡

细胞在材料表面的黏附、增殖与凋亡是衡量材料生物相容性的重要指标。图3是PC12细胞在不同DLC薄膜上的黏附与增殖,以样品上现有细胞密度(C)与原种植密度(C_0)的比值作为纵坐标。从图中可以看出,种植1d后细胞在B、N、P元素掺杂的薄膜上的黏附多于在未掺杂的DLC薄膜,B、N、P元素的掺杂对细胞黏附起到了促进作用,其中掺杂P元素的促进作用最为明显(约40%)。N、Pt元素共掺的薄膜上细胞黏附的数量明显低于未掺杂样品(约降低30%)。细胞在各薄膜样品上的增殖与凋亡表现出了与黏附相似的规律,即B、N、P元素的掺入促进了细胞在薄膜上的增殖,抑制了细胞的凋亡;而Pt元素的掺入对细胞增殖和凋亡产生了完全相反的作用(见图4)。培养5d后,与DLC薄膜相比,DLC:P薄膜上的细胞密度提高了约60%,凋亡率(A)降低了约40%。而DLC:NPt上的细胞密度降

低了70%,凋亡率提高了约30%。掺杂后DLC薄膜表面亲水性的变化可能是细胞行为改变的一个重要因素。Trantidou等^[28],细胞更倾向黏附于亲水性的基底上。本文的实验结果与文献^[28]的结论不谋而合,亲水性最好的DLC:P薄膜上细胞的黏附与生长最优。掺杂元素自身的生物相容性可能也是影响细胞行为差异的因素之一。文献^[29]的研究表明:B元素具有良好的生物相容性,体内适量的B元素能激发释放生长因子和细胞因子,加速细胞外基质的循环,同时也能促进某些RNA和蛋白质的合成。N、P元素是构成细胞的主要元素,掺入后也能提高材料的细胞相容性^[17, 22, 30, 31]。Regan等^[31]利用DLC:P薄膜可实现细胞的图案化生长。另外,Pt和Ag元素都是化学惰性的金属元素,当薄膜中掺杂纳米Ag,Ag表面能释放自由基并与细菌膜上的脂类结合,破坏膜的功能,表现出抗菌作用^[19, 32, 33]。本文实验中Pt元素对细胞生长的抑制作用可能同样来自于Pt表面自由基的释放。

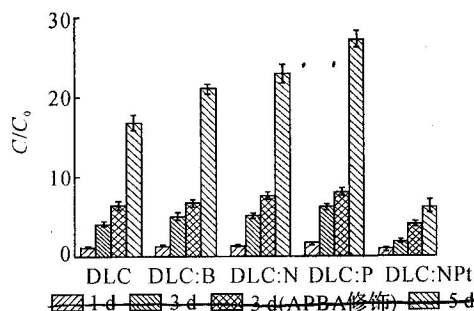


图3(a) 不同DLC薄膜样品上细胞密度

Fig. 3 Cell densities on different DLC films

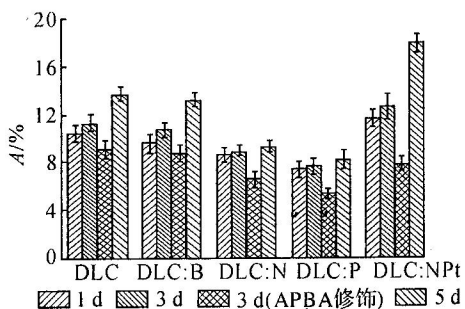


图3(b) 不同DLC薄膜样品上细胞凋亡率

Fig. 4 Cell apoptosis rates on different DLC films

从图3还可以看到,培养3d后,APBA修饰的掺杂DLC薄膜上(DLC:NPt除外)细胞密度增大了约50%,而DLC:NPt薄膜上细胞密度提高约为70%。APBA在增大细胞密度的同时也对细胞凋亡起了一定的抑制作用。培养3d后,经过APBA修饰的掺杂DLC薄膜上(DLC:NPt除外)细胞凋亡率

降低了约20%,而DLC:NPt薄膜上细胞凋亡率降低了约40%(见图4)。APBA修饰对细胞生长的调控可能与APBA上的邻位羟基有关。这些邻位羟基能与细胞膜糖蛋白终端的邻位羟基发生脱水缩合,从而增强材料与细胞的相互作用,利于细胞黏附和增殖。如图4所示为经过3d培养后不同DLC薄膜上细胞生长的光学照片,图中标尺为100 μm ,细胞核用DAPI染色。可以看出,掺杂及修饰前后薄膜上细胞密度有明显差异,相比于未掺杂的DLC薄膜,N、P元素掺杂的薄膜上细胞密度明显增大,Pt元素掺杂的薄膜上细胞密度减小;经过APBA修饰后,DLC:P薄膜上细胞密度明显增大。

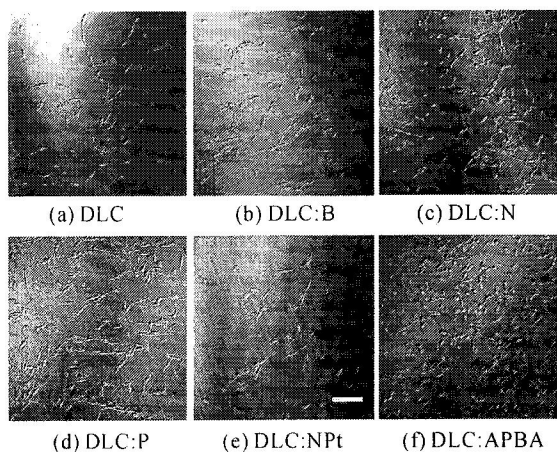


图4 不同DLC薄膜样品上细胞生长3d后的照片
Fig. 4 Images of cells on different DLC films after culture for 3 days

2.3 不同DLC薄膜上PC12细胞的微管蛋白形貌

微管蛋白是细胞内微管的基本结构单位, β -微管蛋白是主要成员之一。微管蛋白在细胞运动和分裂中都发挥着重要作用,微管蛋白状态能够反映细胞的生长状态。如图5所示为培养3d后不同掺杂薄膜及经APBA修饰的DLC:P薄膜上细胞微管蛋白的形貌,细胞核用DAPI染色,微管蛋白用 β -微管蛋白抗体染色,图中标尺为50 μm 。从图中可以看出,N、P、B元素的掺入对细胞微管蛋白的形貌几乎没有影响,微管蛋白分布密集且排列有序。但掺杂N、Pt元素的薄膜上细胞长度明显变短,微管蛋白的铺展受到了抑制。从图5(f)与图5(d)的对比中可以看出,APBA修饰在增大细胞密度的同时,对微管蛋白的伸展也起了一定的促进作用。

3 结论

(1)XPS及Raman光谱测试结果表明,B、N、

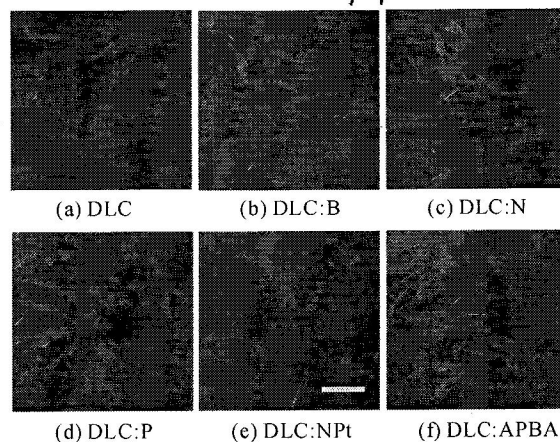


图5 不同DLC薄膜样品上细胞生长3d的的微管蛋白形貌
Fig. 5 Tubulin morphology of cells on different DLC films after culture for 3 days

P、Pt元素的掺入没有改变薄膜的非晶结构,元素掺杂后 sp^2 杂化碳原子增加,薄膜有序程度提高。

(2)B、N、P元素的掺入提高了薄膜的亲水性,掺P元素薄膜的接触角降低最为明显,为 17° 。

(3)B、N、P元素的掺入促进了PC12细胞在DLC薄膜上的黏附与增殖,抑制了细胞在薄膜上的凋亡;而Pt元素的掺入起了相反的作用。

(4)APBA分子修饰对各掺杂薄膜上PC12细胞的生长起了显著促进作用(3d后细胞密度增大约50%),对细胞相容性相对较差的DLC:NPt薄膜作用尤为显著(约70%)。

(5)不同元素掺杂及化学分子修饰对DLC薄膜的细胞相容性的影响不同。可以通过元素掺杂或者化学分子修饰来调节DLC薄膜的生物相容性,以满足其在生物体内、外不同环境对生物相容性需求。

参考文献(References):

- [1] AL MAHMUD K A H, KALAM M A, MASJUKI H H, et al. An updated overview of diamond-like carbon coating in tribology [J]. *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*, 2015, 40: 90 - 118.
- [2] HAUERT R, MULLER U. An overview on tailored tribological and biological behavior of diamond-like carbon [J]. *Diamond and Related Materials*, 2003, 12(2): 171 - 177.
- [3] QURESHI A, KANG W P, DAVIDSON J L, et al. Review on carbon-derived, solid-state, micro and nano sensors for electrochemical sensing applications [J]. *Diamond and Related Materials*, 2009, 18 (12): 1401 - 1420.
- [4] ZHU H W, WEI J Q, WANG K L, et al. Applications of carbon materials in photovoltaic solar cells [J]. *Solar En-*

- ergy Materials and Solar Cells, 2009, 93(9): 1461 - 1470.
- [5] BEGHI M G, FERRARI A C, TEO K, et al. Bonding and mechanical properties of ultrathin diamond-like carbon films [J]. *Applied Physics Letters*, 2002, 81(20): 3804 - 3806.
- [6] 陈钢, 王忠义, 张少锋. 四面体非晶碳膜在牙科钴铬合金表面的制备及表征 [J]. *口腔医学研究*, 2014, (2): 122 - 125.
CHEN Gang, WANG Zhong-yi, ZHANG Shao-feng. Deposition and surface characterization of tetrahedral amorphous carbon films on the surface of dental cobalt-chromium alloys [J]. *Journal of Oral Science Research*, 2014, (2): 122 - 125.
- [7] 苏博, 姚宁, 鲁占灵, 等. 太阳能电池用非晶碳薄膜在黑硅衬底上的生长 [J]. *材料导报*, 2012, 26: 12 - 15.
SU Bo, YAO Ning, LU Zhan-ling, et al. The growth of amorphous carbon thin films on black silicon for solar cells [J]. *Materials Review*, 2012, 26: 12 - 15.
- [8] ZHOU B, JIANG X H, ROGACHEW A V, et al. Bonding structure and mechanical properties of carbon nitride bilayer films with Ti and TiN interlayer [J]. *Surface and Interface Analysis*, 2014, 46(9): 591 - 601.
- [9] MANHABOSCO T M, MARTINS L A M, TAMBO-RIM S M, et al. Cell response and corrosion behavior of electrodeposited diamond-like carbon films on nanostructured titanium [J]. *Corrosion Science*, 2013, 66(1): 169 - 176.
- [10] WACHESK C C, PIRES C A F, RAMOS B C, et al. Cell viability and adhesion on diamond-like carbon films containing titanium dioxide nanoparticles [J]. *Applied Surface Science*, 2013, 266(2): 176 - 181.
- [11] HAUERT R. A review of modified DLC coatings for biological applications [J]. *Diamond and Related Materials*, 2003, 12(3/7): 583 - 589.
- [12] JANTSCHNER O, FIELD S K, MUSIC D, et al. Sputtered Si-containing low-friction carbon coatings for elevated temperatures [J]. *Tribology International*, 2014, 77(6): 15 - 23.
- [13] HAUERT R, KNOBLAUCH-MEYER L, FRAN CZ G, et al. Tailored a-C: H coatings by nanostructuring and alloying [J]. *Surface and Coatings Technology*, 1999, 120: 291 - 296.
- [14] CHEAH L K, SHI X, TAY B K, et al. Field emission from undoped and nitrogen-doped tetrahedral amorphous carbon film prepared by filtered cathodic vacuum arc technique [J]. *Diamond and Related Materials*, 1998, 7(2): 640 - 644.
- [15] MA Z Q, LIU B X. Boron-doped diamond-like amorphous carbon as photovoltaic films in solar cell [J]. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 2001, 69(4): 339 - 344.
- [16] 刘爱萍, 朱嘉琦, 韩杰才, 等. 掺磷四面体非晶碳薄膜电极的电化学伏安特性 [J]. *无机材料学报*, 2007, 22(6): 1056 - 1060.
LIU Ai-ping, ZHU Jia-qi, HAN Jie-cai, et al. Electrochemical properties of phosphorus Incorporated tetrahedral amorphous carbon film electrode [J]. *Journal of Inorganic Materials*, 2007, 22(6): 1056 - 1060.
- [17] KWOK S, HA P, MCKENZIE D R, et al. Biocompatibility of calcium and phosphorus doped diamond-like carbon thin films synthesized by plasma immersion ion implantation and deposition [J]. *Diamond and Related Materials*, 2006, 15(4/8): 893 - 897.
- [18] OKPALUGO T, OGWU A A, MAGUIRE P D, et al. Platelet adhesion on silicon modified hydrogenated amorphous carbon films [J]. *Biomaterials*, 2004, 25(2): 239 - 245.
- [19] SCHWARZ F P, HAUSER-GERSPACH I, WALTIMO T, et al. Antibacterial properties of silver containing diamond like carbon coatings produced by ion induced polymer densification [J]. *Surface and Coatings Technology*, 2011, 205(20): 4850 - 4854.
- [20] BAN M, HASEGAWA N. Deposition of diamond-like carbon thin films containing photocatalytic titanium dioxide nanoparticles [J]. *Diamond and Related Materials*, 2012, 25: 92 - 97.
- [21] LIU A P, REN Q H, XU T, et al. Morphology-controllable gold nanostructures on phosphorus doped diamond-like carbon surfaces and their electrocatalysis for glucose oxidation [J]. *Sensors and Actuators B-chemical*, 2012, 162(1): 135 - 142.
- [22] KELLY S, REGAN E M, UNEY J B, et al. Patterned growth of neuronal cells on modified diamond-like carbon substrates [J]. *Biomaterials*, 2008, 29(17): 2573 - 2580.
- [23] ALICIA C-M, LAURA S, HANNU K, et al. Interactions of human bone cells with diamond-like carbon polymer hybrid coatings [J]. *Acta Biomaterialia*, 2010, 6(8): 3325 - 3338.
- [24] FERRARI A C, ROBERTSON J. Interpretation of Raman spectra of disordered and amorphous carbon [J]. *Physical Review B*, 2000, 61(20): 14095 - 14107.
- [25] CLAEYSSSENS F, FUGE G M, ALLAN N L, et al. Phosphorus carbides: theory and experiment [J]. *Dalton Transactions*, 2004, 19(19): 3085 - 3092.
- [26] YOKOTA T, TERA I T, KOBAYASHI T, et al. Cell adhesion to nitrogen-doped DLCs fabricated by plasma-based ion implantation and deposition method using tol-

- uene gas [J]. **Surface and Coatings Technology**, 2007, 201(19/20): 8048 - 8051.
- [27] YEOW A K T, RETNASAMY V, SAULI Z, et al. Wettability analysis on platinum deposited wafer after reactive ion etching using SF₆+Argon gaseous [C] // **IEEE Regional Symposium on Micro and Nanoelectronics**. Perlis: IEEE, 2013: 239 - 241.
- [28] TRANTIDOU T, RAO C, BARRETT H, et al. Selective hydrophilic modification of Parylene C films: a new approach to cell micropatterning for synthetic biology applications [J]. **Biofabrication**, 2014, 6(2): 025004.
- [29] DZONDO-GADET M, MAYAP-NZIETCHUENG R, HESS K, et al. Action of boron at the molecular level: Effects on transcription and translation in an acellular system [J]. **Biological Trace Element Research**, 2002, 85(1): 23 - 33.
- [30] OKPALUGO T I T, OGWU A A, OKPALUGO A C, et al. The human micro-vascular endothelial cells in vitro interaction with atomic-nitrogen-doped diamond-like carbon thin films [J]. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, 2008, 85(1): 188 - 195.
- [31] REGAN E M, UNEY J B, DICK A D, et al. Differential patterning of neuronal, glial and neural progenitor cells on phosphorus-doped and UV irradiated diamond-like carbon [J]. **Biomaterials**, 2010, 31(2): 207 - 215.
- [32] MARCIANO F R, BONETTI L F, SANTOS L V, et al. Antibacterial activity of DLC and Ag-DLC films produced by PECVD technique [J]. **Diamond and Related Materials**, 2009, 18(5/8): 1010 - 1014.
- [33] SINTUBIN L, DE GUSSEMEB, VAN DER MEER-EN P, et al. The antibacterial activity of biogenic silver and its mode of action [J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2011, 91(1): 153 - 162.
- [34] HOLT K B, BARD A J. Interaction of silver(I) ions with the respiratory chain of Escherichia coli: an electrochemical and scanning electrochemical microscopy study of the antimicrobial mechanism of micromolar Ag [J]. **Biochemistry**, 2005, 44(39): 13214 - 13223.