

分子仿生体系在纳米生物工程应用中的研究进展

杨洋^①, 李峻柏^{①②*}

① 国家纳米科学中心, 北京 100190;

② 中国科学院化学研究所, 北京 100190

* 联系人, E-mail: jbli@iccas.ac.cn

2013-01-17 收稿, 2013-03-28 接受, 2013-07-02 网络版发表

国家重点基础研究发展计划(2009CB930101)和国家自然科学基金(21003027, 21273055)资助

摘要 分子仿生研究在纳米生物工程领域具有重要的研究意义, 近年来相关方面的工作得到了迅速发展. 分子仿生的研究主要是在分子水平上对一些典型的生物分子, 如磷脂、肽和蛋白等结构与功能模拟, 重新设计或组装成与其结构和功能相似的新的仿生体系, 研究和探索其在生物体中的自组装过程、识别能力以及物质传输等功能. 在分子尺度上认识和理解生物结构单元在生物体中的物理化学机制, 为新型仿生体系的构建和生物材料的研发提供重要的实验依据.

关键词

分子仿生
生物工程
纳米材料
生物材料

许多生命体的基本单元, 如氨基酸、蛋白质、多肽和细胞膜等, 其尺寸都在纳米范围. 分子仿生是纳米技术发展的重要方面, 也是生物学和纳米科学与工程的重要结合点. 磷脂、多肽和蛋白质是生物体的基本组成或活动单元, 是生物膜和细胞的重要组成部分, 具有完整和规律的分子结构. 从分子仿生的角度对其组装体进行研究, 有助于人们更直接地了解生物体中物质传递、能量运输和信号传导的物理化学过程^[1,2].

对于人工合成的多肽分子来说, 模仿其在生物体系中的结构与功能, 是通过分子间的相互作用、相互识别或特异性结合, 以及基于这些相互识别和特异结合的分子自组装来实现的. 自组装是连接生物分子结构与性能的桥梁, 也是分子仿生研究的重要途径. 例如, 以人工合成多肽为基础的自组装, 不仅有利于理解生命的基本活动和许多重大疾病的发病机制, 也有利于通过分子仿生的手段制备新的材料及生物医用材料, 更深层次地理解生物活动的本质^[3]. 分子仿生不仅仅局限于人工模仿生物体系的某些特定结构、功能或性质. 随着分子生物学和现代生物分离技术的发展, 人们可以直接地利用活性蛋

白来构造新型的生物纳米材料和器件, 使得活性蛋白能够在合成的环境中保持其生物活性和功能, 并赋予合成材料某些相应的特性^[4].

因此, 用化学和物理的方法, 与纳米工程相结合, 设计和构造新型的具有生物功能的材料和器件具有重要研究意义. 我们可以利用各种不同的分子间弱相互作用构筑具有不同结构的有序分子组装体, 揭示从分子到有序组装体, 以及不同仿生结构体系形成及相互转变的内在规律和调控方法, 通过对合成材料结构与功能的理论研究, 指导纳米材料和纳米孔隙的设计、组织(装)及可控操作条件的优化. 针对上述领域, 本文将对国际上以及本课题组在近几年的研究进展作简要介绍.

1 以肽为基础的纳米结构的组装及其应用

作为仿生体系的自组装构筑基元, 生物活性分子——肽是一类备受关注的研究对象, 因为其容易合成、相对稳定且易于化学修饰或生物功能化. 作为自组装的构筑基元, 寡肽分子是目前研究较为热门的一类物质, 它们有相对简单的结构、易于组装的性能和广泛应用的前景. 目前国际上 Kern^[5], Ulijn^[6]和

引用格式: 杨洋, 李峻柏. 分子仿生体系在纳米生物工程应用中的研究进展. 科学通报, 2013, 58: 2393-2397

Yang Y, Li J B. Progress of molecular biomimetics systems in nano-bioengineering (in Chinese). Chin Sci Bull (Chin Ver), 2013, 58: 2393-2397, doi: 10.1360/972012-1856

Gazit^[7]等课题组对肽基自组装材料都进行过系统研究. 然而, 肽序列和结构的合理设计、选择以及应赋予的功能仍是肽类分子自组装的一个巨大挑战, 对自组装机理的深入分析以及所构建的纳米结构在生物纳米技术上的应用也是鲜为探讨的问题. 而近年来在该领域有了一定进展, 通过系统研究, 我们发现某些寡肽分子在特定条件下可自组装形成多种有序结构(图 1), 并表现出特殊性质.

1.1 肽基有序自组装纳米结构的研究

二苯丙氨酸(FF)分子作为仿生体系的自组装构筑基元, 研究其在混合溶剂中自组装结构的转变具有重要的意义. 以甲苯和乙醇作为共溶剂, 随着乙醇在混合溶剂中体积含量的增加, 可以控制 FF 的自组装结构从有机凝胶逐渐转变为花状微晶. 在 25% 的乙醇/甲苯体系中, 存在原位的凝胶相向晶体相转变过程. 研究表明, 溶剂的极性以及提供氢键的能力在控制凝胶的形成以及 FF 自组装结构中起重要的作用. 通过在甲苯中引入极性较大的乙醇后, 乙醇同二肽分子之间产生的氢键作用会参与和破坏二肽分子间原有的相互作用, 造成二苯丙氨酸自组装结构的变化, 该研究有助于深入了解有机凝胶的形成、凝胶剂分子同溶剂分子之间的相互作用以及凝胶剂分子在溶液中的自组装过程^[8]. 同时, 发现 FF 在四氢呋喃中也可以自组装形成完美的花球状结构, 并通过溅射在其表面沉积不同厚度的纳米金层, 模板去除后能很好保留模板的原结构^[9].

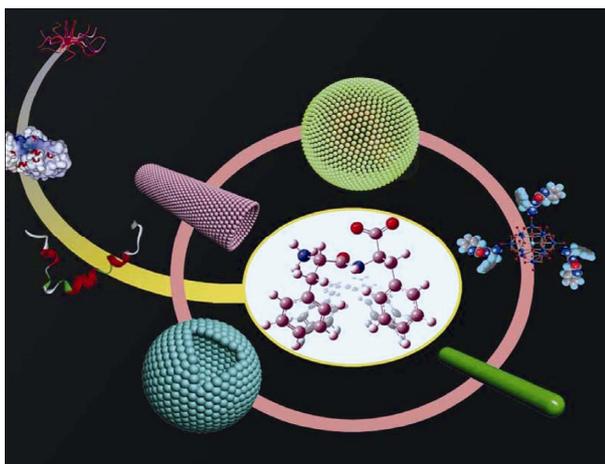


图 1 寡肽分子在特定条件下自组装形成多种有序结构示意图^[3]

1.2 肽基有序自组装纳米材料的应用研究

线性二肽分子 FF 是造成 Alzheimer 疾病的 β -淀粉样多肽的主要识别基序. 近几年来, 自组装二苯丙氨酸及其衍生物纳米结构的应用研究也得到了快速发展. 例如, 利用带有一个正电荷的阳离子二肽同带负电荷的磷钨酸之间的静电相互作用组装成稳定的有机/无机杂化胶体颗粒, 该胶体颗粒对 pH、温度具有一定的响应性, 并能用于吸附去除水中的有机染料分子. 研究还发现利用这种功能化的有机/无机杂化胶体球, 还能实现对以竹红菌素为模型的疏水性药物的有效包封^[10].

近来发现一些短肽分子经溶剂热处理后可自发组装为结晶性良好的六角状微管, 该结晶性肽微管显示出光波导性质, 这是首次在生物分子自组装结构中发现这一光学性质, 该性质有望在面向生物体使用的光学和电子器件中得到应用^[11]. 同时在 FF 的甲苯凝胶体系中, 加入戊二醛可同二肽 FF 分子发生西弗碱反应, 促使线性的二肽分子发生分子内环化, 形成环状二肽分子. 借助于分子间的氢键和 π - π 相互作用, 分子通过三维的有序组装形成均匀的结晶性片状结构, 该结构具有良好的热稳定性, 同时也具有光波导性质^[12].

1.3 多肽凝胶骨架材料的构建及应用

肽基自组装材料也可由微纳米尺度拓展到宏观骨架结构材料的设计. 例如, 通过呼吸图案法“breath figure”, 从自组装小分子单元 FF 出发成功构建了大孔蜂窝状支架. 这实现了对分子自组装行为的外部调控, 并得到肽自组装体的宏观有序结构. 通过调节制备过程中的气流速度可以调控支架的孔径大小. 改变气流湿度、溶剂、FF 浓度、基底材料可以影响多孔结构的形成. “Breath figure”过程中水分子参与了 FF 分子自组装行为, 从而引起 FF 组装体氢键构象从 β -sheet 反平行向 β -sheet 平行的转变. 同时, 水分子的强极性作用导致 FF 分子排列由层状堆积向六方结构的转变. 研究结果不但展示了 FF 分子自组装行为, 而且充分支持了呼吸图案法的形成机理. 细胞实验表明, 蜂窝状孔结构利于成纤维细胞的贴附生长, 此肽基支架材料在组织工程中具有很大的应用潜力^[13].

2 活性马达蛋白的组装

所有生物的运动系统都与能量的输运有密切的联系,这主要是具有马达功能的大分子蛋白做功的结果,这些蛋白质被称为分子马达或马达蛋白。根据运动形式分子马达可分为旋转运动马达(如CF₀F₁-ATP合酶)和线性运动马达(如驱动蛋白kinesin)。目前,基于生物分子马达的纳米器件的研究成为当前许多领域的研究热点,将天然的生物功能材料与人造材料合理结合,是一种很受欢迎的仿生手段。目前已有报道将活性马达蛋白作为运输工具负载量子点等纳米粒子或DNA等生物大分子^[14-16]。借助这种手段,有望在制备超分子仿生材料与微系统、智能材料或分子机器以及生物医用材料与器件等方面取得重大突破。

2.1 基于旋转分子马达 F₀F₁-ATP 合酶仿生体系的构建

将CF₀F₁-ATP合酶重组在磷脂膜中,再将得到的脂蛋白体组装到微胶囊表面,形成了一种新的仿生膜模拟体系,并且引入葡萄糖氧化酶对葡萄糖的催化作用,产生的质子浓度梯度为ATP合酶发挥催化活性提供驱动力。在该体系中,发现重组后的ATP合酶仍保留其催化活性,在细胞外人造环境中呈现了ATP的生物合成过程,同时证明通过葡萄糖氧化酶对葡萄糖的催化作用产生质子梯度的方法是行之有效的。由此,构建了一种新的仿生膜模拟体系。该体系的开发有助于进一步扩展合酶在生物纳米器件方面的应用^[17]。

2.2 基于线性分子马达活性仿生体系的构建

利用微管的滑动运动特点构筑基于驱动蛋白-微管作用的活性仿生体系。该体系中,驱动蛋白被固定在玻璃表面上,通过链霉亲和素和生物素的特异性识别把微胶囊成功地连接到微管上。微管作为分子穿梭搭载人工合成的微胶囊在其上运动(图2)。该工作把微胶囊成功地组装在生物体系中,使微胶囊及其被包埋的物质可以在微观领域发挥更大的作用。充分利用了微管作为分子穿梭的功能,驱动蛋白-微管体系的应用实现了在空间和时间上操纵微胶囊,有望在生物医疗的靶向运输中发挥作用^[18]。

另外,也可以将微管固定在两性物质处理过的

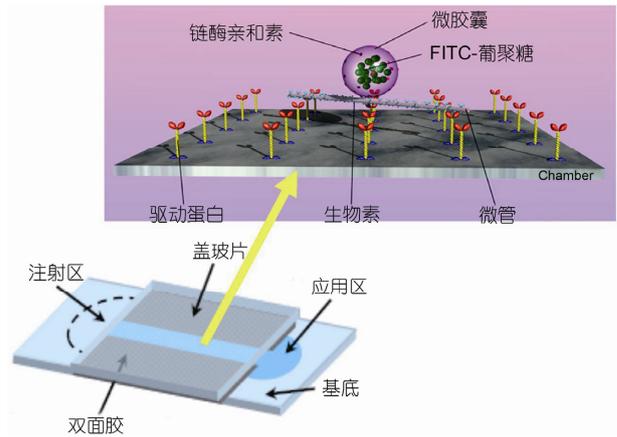


图2 微管牵引微胶囊的活性仿生体系组装示意图^[18]

表面,用微胶囊模拟细胞内的膜泡细胞器,在吸附驱动蛋白后,实现了在微管上的滑动运动。而且微胶囊也能像膜泡细胞器一样装载物质,微胶囊运动的速度与被装载物无关,但微胶囊的运动范围依赖于微管的长度。该活性仿生体系的构筑模式与体内膜泡的运输方式类似,有望为研究复杂的细胞内运输提供模型,推动驱动蛋白运动机制的研究,而且该体系组装了一种以驱动蛋白为基础的纳米生物器件。这种自然材料与人工材料的结合模式有助于改进人工合成材料^[19]。

3 生物分子在纳米孔隙纳米材料表面的组装

近年来,介孔SiO₂纳米粒子(MSN)及其复合材料应用于生物医药领域的研究取得了突飞猛进的发展。这源自于介孔SiO₂自身独特的性质,如具有有序的多孔结构,具有极高的比表面积以及易于表面功能化。因此可以将其作为一种药物或生物大分子的载体,研究其在生物医药领域的应用^[20]。另外,利用纳米粒子自身的尺寸优势(只有单个细胞的几十甚至几百分之一),将它们设计制作成基因转染试剂、细胞染色剂、生物传感器以及磁共振造影剂等增加细胞的摄取效率。目前,国际上Lin^[21], Mou^[22]以及Zink^[23]等课题组在该领域进行了系统的研究。但MSN粒子本身因缺乏生物功能基团,其生物相容性和靶向性较差,而利用分子组装的方法将生物分子修饰在粒子表面不仅可以改进其生物相容性,而且可以使其具有靶向性基团,从而扩展其在生物医药领域的应用范围。

3.1 磷脂在纳米 MSN 粒子表面的组装

将核酸适体-脂质体-多烯紫杉醇组装体铺展在 MSN 粒子表面, 从而构建了一种基于凝血酶核酸适体的多功能抗癌药物载体(图 3). 通过研究该组装体与特异性表达凝血酶激活的蛋白酶激活受体-1(PAR-1)的人宫颈癌(HeLa)细胞间的相互作用, 提出可能的药物输送模式: 在癌细胞膜外, 核酸适体通过与凝血酶的主-客体的相互识别抑制凝血酶的蛋白酶水解活性, 干扰 PAR-1 介导的肿瘤细胞增殖, 阻断肿瘤血管新生的信号传导通路; 纳米载体被内吞后, 组装到磷脂层内的疏水性的抗肿瘤药物多烯紫杉醇通过脂膜融合释放到细胞质中, 导致更为显著的细胞毒性. 该研究建立的新的药物纳米杂化体系, 可为构建兼具

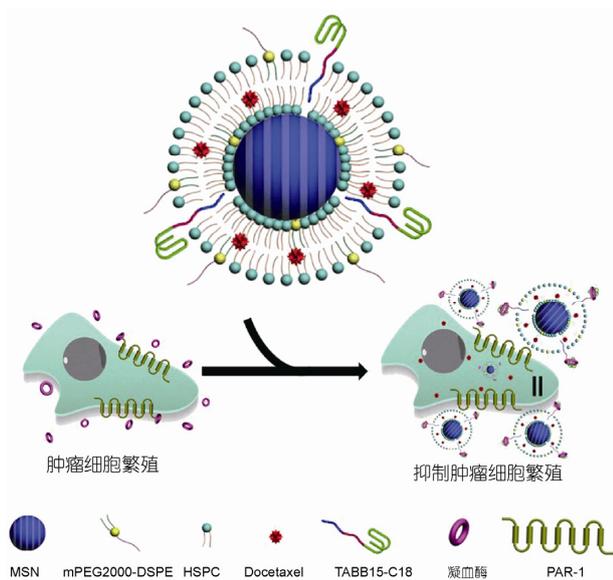


图3 含有核酸适体的功能性磷脂在 MSN 粒子表面组装示意图^[24]

治疗与抗血管新生治疗的抗肿瘤药物载体提供新的思路^[24].

利用 MSN 粒子做载体, 通过溶剂蒸发法将光敏抗癌药物竹红菌素 HB 装载到粒子孔道内部, 为了增加材料的细胞相容性, 在粒子表面组装一层混合磷脂. 将载有 HB 并包裹磷脂的复合材料与肿瘤细胞相互作用, 发现材料很容易进入细胞内并表现出良好的细胞相容性. 用单色光源对细胞进行光照一定时间后, 发现细胞活性大大降低, 粒子将 HB 带入细胞后在光照作用下对癌细胞产生了光学毒性, 所制备的复合材料是一种良好的光敏药物制剂^[25].

3.2 蛋白质在纳米 MSN 粒子表面的组装

通过戊二醛的共价交联作用将血红蛋白和葡萄糖氧化酶固定在 MSN 粒子表面, 制备的复合纳米粒子不仅具有葡萄糖响应性, 还具有自发荧光的特性, 与肿瘤细胞在体外培养一段时间后, 复合粒子会有效地聚集在细胞膜周围, 从而表现出一定的细胞膜标记特性. 该有机-无机复合纳米粒子制备简单, 结构稳定, 不仅可以作为药物载体或葡萄糖传感器, 还可以作为生物标记试剂^[26].

综上所述, 分子仿生体系的研究近年来取得了长足的进展. 这些基础性、概念性的研究成果对整个领域的前期发展起到了至关重要的作用. 该项工作从我国发展纳米科学研究, 特别是面向生物医学应用的纳米材料的战略需求出发, 致力于设计与制备基于自然界生物物质的仿生纳米材料, 具有不可忽视的指导意义. 以物理化学的研究方法和原理推动分子仿生的基础与应用研究, 必将成为材料科学和生物医学领域的热点, 为开发相应的功能材料和器件提供新的原理和技术, 为重大疾病的诊断、治疗和预防提供更加灵敏和有效的指导方法.

参考文献

- 1 Sarikaya M, Tamerler C, Jen A K Y, et al. Molecular biomimetics: Nanotechnology through biology. *Nat Mater*, 2003, 2: 577-585
- 2 Sanchez C, Arribart H, Guille M M. Biomimeticism and bioinspiration as tools for the design of innovative materials and systems. *Nat Mater*, 2005, 4: 277-288
- 3 Yan X, Zhu P, Li J. Self-assembly and application of diphenylalanine-based nanostructures. *Chem Soc Rev*, 2010, 39: 1877-1890
- 4 He Q, Cui Y, Li J. Molecular assembly and application of biomimetic microcapsules. *Chem Soc Rev*, 2009, 38: 2292-2303
- 5 Lingensfelder M, Tomba G, Costantini G, et al. Tracking the chiral recognition of adsorbed dipeptides at the single-molecule level. *Angew Chem Int Ed*, 2007, 46: 4492-4495
- 6 Jayawarna V, Ali M, Jowitt T A, et al. Nanostructured hydrogels for three-dimensional cell culture through self-assembly of fluorenylmethoxycarbonyl-dipeptides. *Adv Mater*, 2006, 18: 611-614

- 7 Mahler A, Reches M, Rechter M, et al. Rigid, self-assembled hydrogel composed of a modified aromatic dipeptide. *Adv Mater*, 2006, 18: 1365–1370
- 8 Zhu P, Yan X, Su Y, et al. Solvent-induced structural transition of self-assembled dipeptide: From organogels to microcrystals. *Chem Europ J*, 2010, 16: 3176–3183
- 9 Su Y, He Q, Yan X, et al. Peptide mesocrystals as templates to create an Au surface with stronger surface-enhanced Raman spectroscopic properties. *Chem Europ J*, 2011, 17: 3370–3375
- 10 Yan X, Zhu P, Fei J, et al. Self-assembly of peptide-inorganic hybrid spheres for adaptive encapsulation of guests. *Adv Mater*, 2010, 22: 1283–1287
- 11 Yan X, Li J, Möhwald H. Self-assembly of hexagonal peptide microtubes and their optical waveguiding. *Adv Mater*, 2011, 23: 2796–2801
- 12 Yan X, Su Y, Li J, et al. Uniaxially oriented peptide crystals for active optical waveguiding. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 11186–11191
- 13 Du M, Zhu P, Yan X, et al. Honeycomb self-assembled peptide scaffolds by the breath figure method. *Chem Europ J*, 2011, 17: 4238–4245
- 14 Wada Y, Hamasaki T, Satir P. Evidence for a novel affinity mechanism of motor-assisted transport along microtubules. *Mol Biol Cell*, 2000, 11: 161–169
- 15 Seitz A, Surrey T. Processive movement of single kinesins on crowded microtubules visualized using quantum dots. *EMBO J*, 2006, 25: 267–277
- 16 Diez S, Reuther C, Dinu C, et al. Stretching and transporting DNA molecules using motor proteins. *Nano Lett*, 2003, 3: 1251–1254
- 17 Qi W, Duan L, Wang K W, et al. Motor protein CF0F1 reconstituted in lipid-coated hemoglobin microcapsules for ATP synthesis. *Adv Mater*, 2008, 20: 601–605
- 18 Song W, Möhwald H, Li J. Movement of polymer microcarriers using a biomolecular motor. *Biomaterials*, 2010, 31: 1287–1292
- 19 Song W, He Q, Cui Y, et al. Assembled capsules transportation driven by motor proteins. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379: 175–178
- 20 Yang P, Gai S, Lin J. Functionalized mesoporous silica materials for controlled drug delivery. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 3679–3698
- 21 Vivero-Escoto J L, Slowing I I, Lin V S Y, et al. Mesoporous silica nanoparticles for intracellular controlled drug delivery. *Small*, 2010, 6: 1952–1967
- 22 Tu H L, Lin Y S, Lin H Y, et al. *In vitro* studies of functionalized mesoporous silica nanoparticles for photodynamic therapy. *Adv Mater*, 2009, 21: 172–177
- 23 Li Z, Barnes J C, Bosoy A, et al. Mesoporous silica nanoparticles in biomedical applications. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 2590–2605
- 24 Gao L, Cui Y, He Q, et al. Selective recognition of co-assembled thrombin aptamer and docetaxel on mesoporous silica nanoparticles against tumor cell proliferation. *Chem Europ J*, 2011, 17: 13170–13174
- 25 Yang Y, Song W, Wang A, et al. Lipid coated mesoporous silica nanoparticles as photosensitive drug carriers. *Phys Chem Chem Phys*, 2010, 12: 4418–4422
- 26 Yang Y, Jia Y, Gao L, et al. Fabrication of autofluorescent protein coated mesoporous silica nanoparticles for biological application. *Chem Commun*, 2011, 47: 12167–12169

Progress of molecular biomimetics systems in nano-bioengineering

YANG Yang¹ & LI JunBai^{1,2}

¹National Center for Nanoscience and Technology, Beijing 100190, China;

²Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

Molecular biomimetic system is an emerging hot field in nano-bioengineering. It has been developed rapidly in recent years. The research of molecular biomimetics focuses on the structure and function for typical biomolecules assembly, such as liposome, peptide and protein. These molecules can be assembled into novel biomimetic systems whose functions are similar to themselves. In this field, for these biomolecules, we study their self-assembly process, the ability of bio-recognition and transporting guest molecules. In this process, we try to recognize and understand the physical chemistry mechanism for these units in biosystems. We also try to provide important scientific basis for designing novel biomimetic systems and biomaterials.

molecular biomimetics, bioengineering, nanomaterials, biomaterials

doi: 10.1360/972012-1856