



仿生微胶囊的组装及其应用

崔岳, 费进波, 李峻柏*

中国科学院胶体界面与化学热力学重点实验室, 中国科学院化学研究所, 北京 100190

*通讯作者, Email: jbli@iccas.ac.cn

收稿日期: 2010-10-09; 接受日期: 2010-11-09

doi: 10.1360/032010-723

摘要 在生物物理和生物医药研究领域, 在分子水平上组装功能化的仿生微胶囊具有重要的理论和应用价值. 在现有制备微胶囊的技术手段中, 层层组装技术以其能够控制胶囊的尺寸、形状、囊壁的厚度和组成以及易于实现功能化等特点, 引起了人们越来越多的研究兴趣. 本文将着重介绍如何利用层层组装技术, 以磷脂、蛋白质和其他生物大分子为组装基元构筑仿生微胶囊、以及如何将微胶囊进行生物界面化的修饰. 此外, 以仿生微胶囊为药物载体, 探讨其在光动力治疗方面的应用也作简单介绍.

关键词

分子组装
仿生体系
微胶囊
药物释放

1 引言

仿生学对现代科学和技术发展的影响力是不可忽视的, 其基本理念是模拟自然界中生物系统的结构、功能、能量转换或信息传递过程, 并将其应用到材料或技术领域, 由此获得的材料和通常的化学合成材料相比, 具有更优异的物理化学性能和生物学功能. 因此仿生材料制备方法的研究, 引起人们越来越多的兴趣^[1-3]. 分子仿生是在分子水平上, 利用分子组装技术, 将分子生物学与纳米工程相结合, 模仿生物体特定的组成、结构与功能, 设计和构造具有生物功能的体系、材料或器件^[4].

生物体中的许多生物分子如磷脂、蛋白质、DNA 和 RNA 可自组装形成各种高级有序结构如细胞膜、内涵体、线粒体和细胞核. 这些生物分子的自组装独特性能给我们带来许多启示, 利用这种思路可以设计和制备具有特定结构和功能的仿生体系. 此外, 分子组装不仅仅限于对自然界生物体系的结构模拟, 具有特定功能的生物基元亦可直接用于分子组装.

生物膜(biomembrane)的典型结构是镶嵌有蛋白质和糖类(统称糖蛋白)的磷脂双分子层. 生物膜上有大量的酶结合位点, 是与许多物质能量转换和细胞

内通讯有关的重要部位. 从模仿生物膜结构和功能角度出发, 用分子组装的方法可构筑许多具有仿生生物膜结构的功能材料. 在这类具有仿生结构的体系中, 对脂质体的研究最为广泛, 其具有的内部空腔可用来装载药物或基因等物质. 利用脂质体可以和细胞膜融合的特点, 可以将荷载物质送入细胞内部^[5]. 此外, 仿病毒包膜结构的聚合物胶束也是仿生生物膜组装结构的研究重点之一^[6]. 这些仿生膜中空结构的潜在应用之一是作为药物载体, 但在应用上这些体系却常存在稳定性的限制. 制备仿生结构需要对组装材料的物理和化学性质有特殊的要求, 使得制备仿生纳米结构可供选择的材料不多, 进而限制了仿生结构材料的多功能化.

上世纪, Möhwald 的研究组发展了一种利用层层组装技术制备功能化微胶囊的方法^[7]. 其原理是在胶体模板粒子表面通过带有相反电荷的聚电解质的交替吸附, 组装多层膜后除去模板粒子, 获得具有中空结构的微胶囊. 这种方法主要是用人工合成的聚电解质组装制备微胶囊, 经过十余年的发展, 可以用来组装微胶囊的壁材料组分已经拓展到了纳米粒子、染料、树枝状、多肽、DNA 和蛋白质等^[8-10]. 同时, 层层组装的驱动力也由静电相互作用发展到氢键作用、

DNA 杂化作用、共价键键合、生物识别和疏水作用等^[11, 12]。由于可供选择的壁材料组分和组装驱动力的多样性, 层层组装方法制备的微胶囊在多功能化方面显示了明显的优势, 尤其是在生物医药领域, 如用作生物物理的理论研究模型与药物可控释放载体。

到目前为止, 有很多综述性文章详细地介绍了层层组装微胶囊的制备方法物理化学性质研究^[8]、渗透性调控^[13]、负载和释放功能^[14, 15]、微胶囊作为微反应器^[16]以及其他生物相关领域应用的研究进展^[17]。本文将扼要介绍如何用分子组装方法制备磷脂/蛋白质微胶囊, 及它们通透性调控的研究。

2 层层组装微胶囊——一种仿细胞结构

细胞是器官的结构和功能单元, 其外部有一封闭的膜, 称为细胞膜或细胞质膜, 主要由磷脂、蛋白质和糖类组成。细胞膜具有重要的生理功能, 它既能使细胞维持稳定代谢的胞内环境, 又能调节和选择物质进出细胞。细胞膜通过胞饮作用(pinocytosis)、吞噬作用(phagocytosis)或胞吐作用(exocytosis)吸收、消化和外排细胞膜外、内的物质。在细胞识别、信号传递、纤维素合成和微纤丝的组装等方面, 细胞膜也发挥重要作用^[18]。

为了更好的理解和研究生物膜的性质和功能, 具有磷脂双层的脂质体经常被用作模型来模拟细胞的结构与功能, 其可形成多室囊泡的性质是人为重建自然界中细胞环境的必要因素之一。与蛋白复合的脂质体可以用来研究蛋白的功能, 如在膜蛋白控制下的细胞与环境的物质、能量和信息交换等^[19]。从生物物理角度讲, 脂质体是理想的仿细胞结构模型。但是脂质体的尺寸可控性差, 机械强度低以及化学稳定性低等问题使得其在实际试验分析研究中遇到诸多不便。所以, 开发具有良好的尺寸均一性、机械和化学稳定性的仿细胞结构体系是十分必要的。这些新的仿细胞结构应该具有一个合适的空腔, 使得膜蛋白可以重组, 尤其是能够提供足够大空间使得蛋白质的构型转变得以顺利完成^[20]。到目前为止, 聚合物支撑的, 尤其是聚合物多层膜支撑的脂质体系统被认为是较为理想的^[21~23]。实际上, 活体器官中的生物膜也是由聚合物网状结构支撑着, 如真核细胞的细胞骨架, 细菌和植物细胞的细胞壁等。这种聚合物支撑的脂质体或磷脂双层修饰的聚合物胶囊可以

由在聚合物胶囊上铺展磷脂囊泡来制备。此方法可以在聚合物胶囊上形成不同种类的复合磷脂双层膜, 其过程和在平面基底上制备磷脂双层膜的过程相类似。简单地讲, 磷脂双层重组过程可分 3 步完成: 磷脂囊泡在胶囊上的吸附、囊泡的破裂和磷脂双层的铺展与再融合。我们课题组报道了利用脂质体在聚电解质微胶囊表面的破裂与吸附, 制备了一系列磷脂双层修饰的聚电解质微胶囊^[24~27], 如图 1 所示。显微镜实验和光谱表征技术证实了磷脂双层在胶囊壁外的铺展, 实验结果表明磷脂双层膜的稳定性因其得到聚电解质双层的支撑而得到了很大的提升, 可以作为一种仿细胞的简单的理想化结构。

如在引言中所提到的, 层层组装微胶囊的尺寸、形状和壁厚具有良好的可控性。囊壁的物理化学性质、胶体稳定性和渗透性可以通过调整囊壁组分来控制, 且胶囊壁易于进行功能化修饰。胶囊的内部空腔可以用来负载各种目标物质, 如药物、基因和纳米粒子等。此外负载的物质可以在一定的外界环境刺激下释放出来, 如 pH 值和温度的改变, 外加磁场和光照等。相应地, 磷脂双层修饰的微胶囊也同样具有类似性质, 所以这一体系作为仿细胞结构用来研究生物膜与生物大分子的相互作用是十分有益的, 也使得设计和应用新的仿生结构成为可能。

通常地, 制备这种仿生膜结构首先是将球形模板粒子与层层组装技术结合得到聚电解质多层膜胶囊^[28], 聚苯磺酸钠(PSS)与聚烯丙基氯化胺(PAH)常被用作囊壁材料^[29]。磷脂包覆是基于胶囊最外层与带有相反电荷的单壁囊泡之间的静电作用力。Moya 等人最早根据聚电解质胶囊表面 zeta 电位的变化来检测有效的磷脂吸附。吸附带有相反电荷的磷脂囊

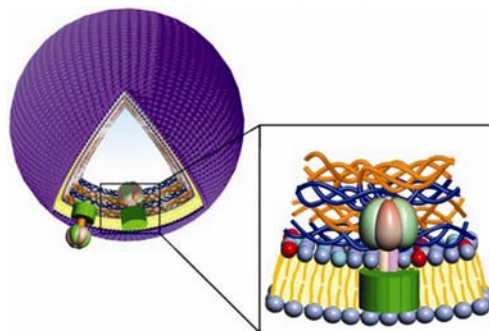


图1 磷脂双层修饰的层层组装微胶囊的示意图

泡后, 胶囊表面电荷的发生了反转, 证明了其表面被磷脂所修饰. 但对于带有中性的极性头基磷脂而言, 这种电荷的反转并不明显^[30]. 为了进一步验证磷脂在胶囊上的吸附, 可以使用一种荧光标记的磷脂 (NBD-PC), 利用激光共聚焦显微镜观察此组装体. 实验显示, 胶囊具有荧光, 且荧光强度分布均匀, 表明磷脂包覆比较均一. 同时利用流式细胞仪分析具有荧光的胶囊来确认包覆质量, 实验结果表明, 无论磷脂配比如何, 都可以得到强烈且尖锐的荧光峰, 这就证明了磷脂均匀地吸附在胶囊的表面. 如果磷脂不完全包覆的情况下, 因为有额外的低强度的荧光信号, 荧光峰会有比较大的半峰宽.

由于磷脂膜存在着典型的相转变温度, 利用它可以估计磷脂层是否在胶囊表面形成有序的结构. 示差扫描量热计可以通过测量相转变的焓提供吸附磷脂相的有关信息, 也能给出磷脂层与聚电解质支撑相互作用的信息^[31]. 吸附磷脂双层后, 胶囊外再吸附一层聚电解质 PAH, 为磷脂层提供均衡的电荷环境. 相转变峰的存在表明磷脂形成有序的相, 没有发生磷脂单分子吸附在聚电解质支撑上的现象. 对于吸附在胶囊上的阴离子型磷脂来说, 其相转变温度要比它在囊泡状态时低 8 °C 左右, 这种相转变温度的改变是由于磷脂层与聚电解质层之间存在强烈的作用, 它们之间的静电作用力干扰了磷脂分子的有序排列. 微胶囊表面修饰磷脂双层后, 其表面粗糙度可用原子力显微镜 (AFM) 进行表征. 实验结果显示, 包覆磷脂双层后微胶囊表面非常光滑, 高度变化均方根 (rms) 小于 1 nm. 相应地, 吸附磷脂双层之前, 聚电解质层具有比较大的粗糙度, 其 rms 值大约为 7 nm, 表明将脂质体与胶囊混合后, 磷脂层使得聚合物胶囊的表面变得比较光滑, 同时微胶囊的渗透性随之发生变化.

Moya 和他的同事利用电子显微镜冷冻刻蚀技术验证了磷脂吸附到胶囊表面上时形成的双层结构^[31]. 显微镜图像表明磷脂铺展大部分是连续的, 同时存在着磷脂双层. 此外, 通过定量检测两个荧光探针之间的傅立叶能量转移可以得到吸附在胶囊表面上磷脂层的厚度. 简单地说, 磷脂层被夹在荧光标记的聚阳离子 PAH 层之间, 其中一层被荧光素标记 (给体), 另一层用罗丹明标记 (受体), 考虑到聚电解质层的厚度为 1.5~2 nm, 可以估计出在磷脂包覆情况下荧光探针之间的距离为 4~5 nm, 证实为双层结构.

为了进一步验证磷脂双层的成功铺展, 我们课题组对铺展磷脂层后聚电解质胶囊的渗透性进行了检测^[26]. 将荧光探针 6-羧基荧光素 (6-CF, 不溶于磷脂层中) 与胶囊混合, 利用共聚焦显微镜观察, 发现磷脂包覆后, 胶囊对探针分子的渗透性下降了 3 个数量级, 且包覆磷脂后胶囊的渗透性 6 个月内 (4 °C) 没有发生明显变化. 另外一种实验方法是将 6-CF 分子加入到参比胶囊 (没有磷脂包覆), 部分或者完全被磷脂包覆的胶囊分散体系中. 结果表明, 探针分子可以进入参比胶囊或者部分包覆磷脂的胶囊内部, 而完全包覆磷脂的胶囊则没有此种情况的出现, 磷脂的完全包覆使胶囊成为极好不可渗透的中空体系. 为了调节磷脂包覆后胶囊的渗透性, 将磷脂酶 A₂ (PLA₂) 加入到胶囊的分散液中^[27], PLA₂ 可以立体选择性地水解 L 手性磷脂分子的 sn-2 酯键. 水解产物溶血磷脂是水溶性的, 可以从磷脂层脱离而溶解在水溶液中, 导致磷脂层物质损失并产生缺陷, 相应地可以调整包覆磷脂后胶囊的渗透性, 如图 2 所示. 通过选择适当的混合磷脂, 可以实现胶囊渗透性的精确调控, 此体系在可控释放方面具有广阔的应用前景^[27, 32].

3 共价键层层组装的蛋白质胶囊

作为静电层层组装多层膜的扩展, 以非静电作用作为组装驱动力, 可丰富多层膜的组成、结构和功能. 与静电组装相比, 层间形成的共价键, 可使组装的多层膜具有较高的稳定性, 不会因 pH 值或离子强度的变化而发生解离^[33]. 我们课题组以戊二醛 (GA) 为交联剂, 通过共价键层层组装技术制备了血红蛋白 (Hb) 微胶囊^[34]. 制备过程首先是聚乙烯亚胺 (PEI)

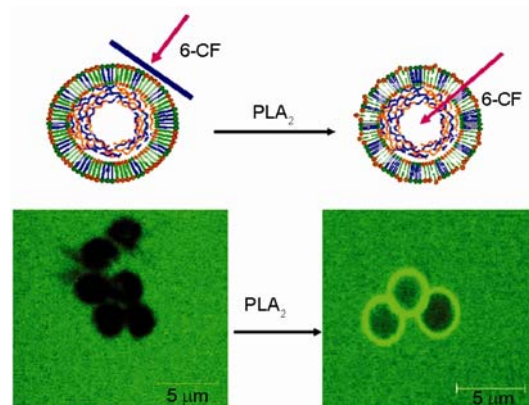


图2 PLA₂ 磷脂酶水解磷脂双层修饰的聚电解质微胶囊

吸附在模板粒子上产生氨基功能化的表面, 然后 GA 和 Hb 交替吸附(如图 3 所示). 透射电子显微镜和共聚焦激光扫描显微镜的结果显示, 共价键交联的蛋白质胶囊具有良好的机械强度和稳定性, 胶囊的壁厚可通过改变交替吸附的 GA/Hb 的次数进行调控. GA/Hb 胶囊的紫外可见光谱在 411 nm 处出现了血红蛋白的吸收带, 表明血红蛋白确实存在于胶囊中. 循环伏安法和电势控制的电流测量证实, 交联的血红蛋白微胶囊中血红素没有变性, 仍保持着电化学活性. 连续添加 H_2O_2 时检测到的典型的电流响应曲线进一步证实了 GA/Hb 微胶囊的电催化性质. 以 FITC 标记的不同分子量的葡聚糖为荧光探针, 研究了 GA/Hb 微胶囊的渗透性. 结果表明, $(\text{GA}/\text{Hb})_5$ 微胶囊对于分子量为 2000 和 500 kDa 的 FITC-dextran 是不可渗透的, 而对于分子量低于 70 kDa 的 FITC-dextran 是可以部分甚至完全渗透进胶囊内腔. 与传统的 $(\text{PAH}/\text{PSS})_5$ 胶囊相比, 血红蛋白微胶囊的囊壁具有选择性的渗透能力, 而且随着胶囊壁厚的增加, 渗透能力逐渐降低. 选用分子量为 20 kDa 的 FITC-dextran 作为荧光探针进行荧光漂白恢复实验, 在较低的激发强度下观察到胶囊内部的荧光恢复与时间成函数关系, 由此计算出 $(\text{GA}/\text{Hb})_5$ 微胶囊壁的特征渗透时间为 4×10^{-8} m/s. 血红蛋白是红细胞中一种共轭的铁-蛋白质复合物, 负责运载氧, 二氧化碳和一氧化氮, 其在生命活动中起着非常重要的作用. 制备血红蛋白微胶囊在一定程度上可以模仿它在生命体中的结构功能, 有助于了解它的功能并在此基础上制备蛋白质基生物材料, 如血液应急材料.

在随后的工作中, 我们将脂质双层吸附到蛋白质多层微胶囊的表面. 卵磷脂脂质体是生物膜的主要成分之一, 因此蛋黄磷脂被选作为脂质模型来包裹胶囊, 同时加入了少量带负电荷的脂质体和磷脂酸, 以促进吸附和囊泡融合. 换言之, 表面上的脂质

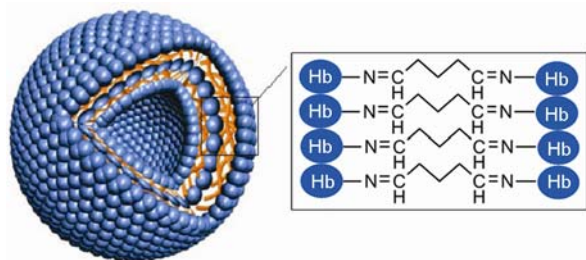


图 3 基于共价键的层层组装血红蛋白胶囊

体成分可以根据具体情况方便地进行调整. 通过激光共聚焦显微镜观察到的荧光环是胶囊壁上连续分布的磷脂产生的, 可以证明脂质双层的存在和稳定性. 为了验证脂质双层包裹的聚电解质多层胶囊可以作为细胞膜的模型, Battle 等人提出了一种新颖的设计, 将短杆菌肽(bis-gA)离子通道嵌入到了磷脂双层修饰的层层组装微胶囊上^[35]. 研究表明嵌入层中的离子通道 bis-gA 对中性的模型药物, 以及带正电荷和带负电荷的物质均可有选择性的穿过微胶囊壁进行传递和渗透, 并且可以通过控制离子通道的开关来调控选择性的释放.

4 仿生微胶囊的应用

4.1 ATP 的生物合成

三磷酸腺苷(ATP)是生物体内应用最广泛的能量来源. H^+ -ATP 合酶广泛存在于线粒体膜, 叶绿体膜和原核细胞膜上, 可以利用质子的跨膜电动势促使形成 ADP-P 键, 即合成 ATP. 这一过程伴随的 ATP 合酶的旋转运动可以在设计新型纳米器件过程中用作分子马达, 也可以在人工环境下持续的合成 ATP. 换言之, 将 H^+ -ATP 合酶重组在仿生体系中, 便能够以可控的方式重现复杂细胞的生理活动过程. 作为一种跨膜蛋白, F_0F_1 -ATP 合酶已经被成功的重构在脂质体内. 例如, 已经组建了包含细菌视紫红质(BR)和 F_0F_1 -ATP 合酶的脂质体仿生体系, 用来证明光可以驱动 ATP 的合成^[20, 36, 37]. 然而, 由于脂质体大小难以控制和稳定性较差, 在某种程度上限制了该体系作为细胞模型对细胞生理过程模拟及作为功能材料的研究. 理想的体系须有足够的机械强度, 且能够在较大尺度的范围内组装.

我们课题组报道了将 F_0F_1 -ATP 合酶重构在由磷脂包裹的聚合物微胶囊外层, 并可以在温和条件下进行 ATP 的合成^[25]. 微胶囊是由带负电的聚丙烯酸(PAA)和带正电的 PAH 在模板粒子上交替吸附, 随后除去模板后获得. 将 F_0F_1 -ATP 合酶-脂质体的重构体与聚电解质微胶囊在磷脂的相转变温度之上共同孵化, 脂质体通过静电作用铺展到该微胶囊上. 质子梯度是通过向体系中加入不同 pH 值的缓冲溶液, 通过酸-碱扩散作用在胶囊内外腔之间产生质子浓度差, 形成质子的跨膜电动势进而推动 ATP 合酶的旋转. 胶囊内腔 pH 值的改变可以由 8-羟基芞-1,3,6-三磺酸

钠(pyranine)探针分子的荧光强度变化来监控。

为了检测重组在胶囊外壳层上的 FoF1-ATP 合酶的活性, 我们引入荧光素-荧光素酶系(luciferin-luciferase system)的方法进行 ATP 含量测定, 荧光试剂测量法适用于不能直接受激发光激发而发出荧光、但具有与荧光素/荧光素酶产生光发射特征的物质, 因荧光强度与 ATP 浓度有关, 所以通过检测荧光强度即可知 ATP 浓度。目前, 利用荧光素酶系的方法测定 ATP 含量是最灵敏、最专一的方法之一。实验证明, 被重构在胶囊外壳层后 ATP 合酶仍具有一定的活性, 由于部分 ATP 合酶亲水头基朝向胶囊内腔, 大量的 ATP 在腔内被合成, 其合成速率与质子梯度差的大小有关。与脂质体作为基底的 ATP 合成相比, 以脂质体双层修饰的聚电解质微胶囊作为基底的 ATP 的生物合成过程有其独特的优越性。微胶囊的分步组装过程使得我们很容易对其大小、形状、组成和渗透性等性质进行调控, 即在仿生微胶囊中重现 ATP 的合成过程可以模拟真正细胞中 ATP 的生成, 并解决了脂质体系统稳定性差的缺点。这一结果同时也表明其他跨膜蛋白与这种仿生微胶囊具有良好的兼容性。

然而, 上述体系中通过加入不同 pH 值的缓冲溶液产生的质子梯度只能维持较短的时间, 便达到囊内外 pH 值平衡, 无法继续推动 ATP 合酶进行转动催化。如何设计能够产生持续质子梯度的仿生体系就成为新的挑战。最近, 我们课题组利用葡萄糖水解氧化产生质子酸的特性, 设计出一种能够持续产生质子梯度的体系。其原理是利用 β -D-葡萄糖被葡萄糖氧化酶(GOD)在氧分子的作用下催化氧化成 D-葡萄糖酸-1,5-内酯, 并进一步水解生成葡萄糖酸从而释放出质子, 由此形成的跨膜质子电动势已被线粒体 ATP 合酶用于合成 ATP^[34, 38]。

将含有 FoF1-ATP 合酶的脂质体双层铺展在 Hb/GA 蛋白质微胶囊表面, 实验手段与前述方法类似^[25]。向 ATP 合酶/脂质体包裹的微胶囊悬浮液中加入葡萄糖和 GOD 后, 产生的质子可在微胶囊内外腔之间形成质子梯度。pH 值变化同样可以用包封在胶囊内腔的 pyranine 荧光强度变化来监控。结果表明, 微胶囊内腔环境逐渐酸化, 这是由于质子被不停的泵入内腔导致的。随着葡萄糖的加入, 这一质子梯度可以保持较长的时间。泵入内腔的质子为 ATP 合酶的旋转提供了动力, 从而可以催化体系中的 ADP 和

无机磷酸合成 ATP。定量检测结果表明, 随着反应时间的延长, ATP 的浓度逐渐增加。更为重要的是, 当微胶囊外的脂质体膜被破坏后, 溶液中的 ATP 的浓度明显增大, 证明 ATP 主要储存在微胶囊的空腔内。此种微胶囊在生理条件下, 尤其是在加入表面活性剂的情况下非常稳定, 可以持续合成 ATP, 有利于大幅度提高 ATP 的合成效率。

另一种在仿生微胶囊内外产生持续质子梯度的方法是直接以 GOD 为壁材料构筑微胶囊^[39]。结果表明, 在外加葡萄糖的条件下, GOD 微胶囊内外可以持续地保持质子梯度, 从而促使 CF₀F₁-ATP 合酶将 ADP 与无机磷酸结合形成 ATP, 如图 4 所示。ATP 的产量随时间不断增加, 这与体系不断产生质子相吻合。ATP 出现在胶囊内部, 表明部分 F₁ 亚基朝向胶囊内。需要强调的是, 在组装过程中我们无法控制 CF₀F₁-ATP 合酶的取向, 按照重组过程, 马达蛋白在囊泡壁中的取向是随机的。因此, 我们可以从两个方向观察到跨膜质子转移, 只要取向合适的 ATP 合酶都可以利用质子浓度梯度在胶囊内腔或外腔合成 ATP。

4.2 仿生微胶囊作为药物载体

可控释放药物体系比传统的药物剂型更有优势: 如毒副作用最小化, 持续给药, 保护敏感性的药物免受酸和酶的分解, 屏蔽药物的不良味觉和靶向给药等^[14, 15, 40, 41]。仿生微胶囊的一项重要应用是作为功能化运输载体, 可以负载微囊化的组分到达特定的区域并释放。我们课题组利用层层组装技术在布洛芬药品表面上交替组装人血清蛋白(HSA)和磷脂 DMPA 微胶囊^[32]。布洛芬作为模型药物是因为其在水中的溶解性具有 pH 依赖性, 在低 pH 条件下, 布洛芬不溶于水, 可以在药品表面上交替组装 HSA 和 DMPA 胶囊。在 pH 7.4 的中性生理条件下, 布洛芬可以从微胶囊中释放出来。共聚焦扫描显微镜的表征证明了布洛芬药品成功微囊化, 并跟踪了单个的布洛芬药品从微胶囊中释放的动态过程。药品的溶解导致了可视化的药品周围囊壁的皱缩, 释放过程结束的时候, 最终的微胶囊保持了药品的形态。紫外-可见光谱跟踪了药物释放的动态过程, 结果表明微胶囊对药物具有缓释效果。布洛芬药品尺寸越大, 药物释放速度越慢。小的药品有更快的释放速率是由于其更大的比表面积。微胶囊化的布洛芬药品的释

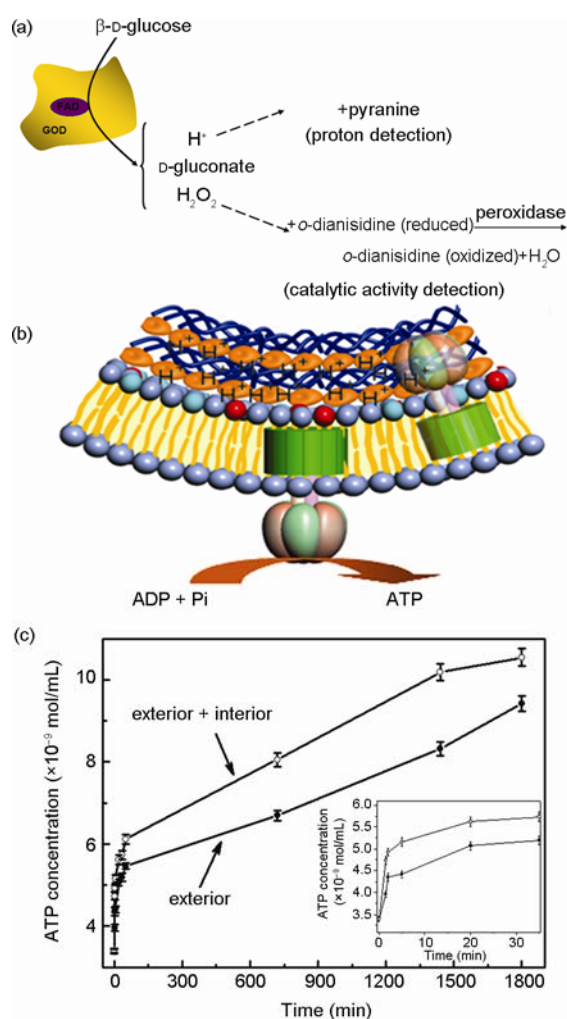


图4 (a) 葡萄糖氧化酶催化葡萄糖氧化反应; (b) ATP 合酶重组在磷脂双层修饰的 GOD 胶囊中; (c) ATP 的生物合成随时间的变化

放过程可以认为由两个同步化的过程组成: 布洛芬药品的溶解和布洛芬分子扩散出微胶囊. 扩散的速度可以由囊壁的厚度即组装的层数来控制.

仿生微胶囊也可以作为一种有效的抗肿瘤药物载体. 例如, 通过层层组装可制备能够生物降解的海藻酸钠/壳聚糖微胶囊, 包埋光敏药物后可用于光动力治疗^[42]. 激光共聚焦扫描显微镜证明了光敏药物竹红菌素在多糖微胶囊内部的高效富集, 胶囊化的药

物提高了其水溶性从而更利于在临床上的应用(图 5). 细胞活性实验显示细胞吞噬竹红菌素负载的微胶囊的机理是内吞效应, 胶囊进入细胞后其活性没有受到明显影响. 在避光条件下, 负载竹红菌素的微胶囊显示出良好的生物兼容性; 而当体系被施以光照时, 肿瘤细胞的死亡率迅速提高, 这是因为竹红菌素在光照下能产生高含量的单线态氧从而迅速引起细胞凋亡.

5 总结和展望

分子组装技术已成功用于制备中空微胶囊, 在材料科学、生物和医药领域显示出广阔的应用价值. 本文介绍了用层层组装技术制备仿生微胶囊的一些最新进展, 包括模仿细胞功能如离子传输和 ATP 生物合成, 以及作为药物载体等. 仿生微胶囊的一个重要应用是其简单的仿细胞结构, 如将 ATP 合酶重组在微胶囊表面上, 使组装的微胶囊体系可以作为 ATP 合成的微反应器和原位存储器, 可以帮助理解细胞的生物过程, 具有重要生物物理的理论研究价值. 仿生微胶囊的另一个重要应用是作为药物的载体, 可通过调节温度、pH 值和激光强度等外界因素实现可控释放. 此外, 开发对体内不同部位微小的生理环境变化具有响应性, 且可控制释放荷载的微胶囊在医药领域具有重要的意义.

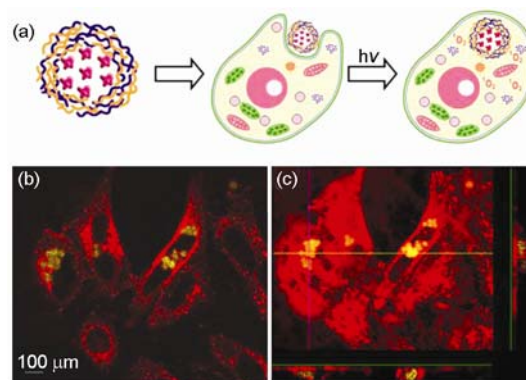


图5 (a) 负载竹红菌素的微胶囊光动力治疗机理; (b) 载药胶囊被癌细胞吞噬后共聚焦图像; (c) 共聚焦 3D 重建图

致谢 本工作得到国家自然科学基金(21003136)、国家重点基础研究发展计划(973 项目)纳米重大研究计划(2007CB935900)资助, 特此一并致谢.

参考文献

- 1 Heuer AH, Fink DJ, Laraia VJ, Arias JL, Calvert PD, Kendall K, Messing GL, Blackwell J, Rieke PC, Thompson DH, Wheeler AP, Veis A, Caplan AI. Innovative materials processing strategies: A biomimetic approach. *Science*, 1992, 255: 1098–1105
- 2 Sanchez C, Arribart H, Guille MM. Biomimetism and bioinspiration as tools for the design of innovative materials and systems. *Nat Mater*, 2005, 4: 277–288
- 3 Ratner BD, Bryant SJ. Biomaterials: Where we have been and where we are going. *Annu Rev Biomed Eng*, 2004, 6: 41–75
- 4 Sarikaya M, Tamerler C, Yen AK, Schulten K, Baneyx F. Molecular biomimetics: Nanotechnology through biology. *Nat Mater*, 2003, 2: 577–585
- 5 Lasic DD. *Liposomes: From Physics to Applications*. Amsterdam: Elsevier, 1993
- 6 Antonietti M, Foerster S. Vesicles and liposomes: A self-assembly principle beyond lipids. *Adv Mater*, 2003, 15: 1323–1333
- 7 Donath E, Sukhorukov GB, Caruso F, Davis SA, Möhwald H. Novel hollow polymer shells by colloid-templated assembly of polyelectrolytes. *Angew Chem Int Ed*, 1998, 37: 2201–2205
- 8 Peyratout CS, Daehne L. Tailor-made polyelectrolyte microcapsules: From multilayers to smart containers. *Angew Chem Int Ed*, 2004, 43: 3762–3783
- 9 Ariga K, Hill JP, Ji QM. Layer-by-layer assembly as a versatile bottom-up nanofabrication technique for exploratory research and realistic application. *Phys Chem Chem Phys*, 2007, 9: 2319–2340
- 10 Li JB, Möhwald H, An ZH, Lu G. Molecular assembly of biomimetic microcapsules. *Soft Matter*, 2005, 1: 259–264
- 11 He Q, Cui Y, Ai SF, Tian Y, Li JB. Self-assembly of composite nanotubes and their applications. *Curr Opin Colloid Interface Sci*, 2009, 14: 115–125
- 12 Quinn JF, Johnston APR, Such GK, Zelikin AN, Caruso F. Next generation, sequentially assembled ultrathin films: Beyond electrostatics. *Chem Soc Rev*, 2007, 36: 707–718
- 13 Antipov AA, Sukhorukov GB. Polyelectrolyte multilayer capsules as vehicles with tunable permeability. *Adv Colloid Interface Sci*, 2004, 111: 49–61
- 14 De Geest BG, Sers NN, Sukhorukov GB, Demeester J, De Smedt SC. Release mechanisms for polyelectrolyte capsules. *Chem Soc Rev*, 2007, 36: 636–649
- 15 Johnston AP, Cortez C, Angelatos AS, Caruso F. Layer-by-layer engineered capsules and their applications. *Curr Opin Colloid Interface Sci*, 2006, 11: 203–209
- 16 Shchukin DG, Sukhorukov GB. Nanoparticle synthesis in engineered organic nanoscale reactors. *Adv Mater*, 2004, 16: 671–682
- 17 Tong WJ, Gao CY. Multilayer microcapsules with tailored structures for bio-related applications. *J Mater Chem*, 2008, 18, 3799–3812
- 18 Mitragotri S, Laham J. Physical approaches to biomaterial design. *Nat Mater*, 2009, 8: 15–23
- 19 Sukhorukov GB, Möhwald H. Multifunctional cargo systems for biotechnology. *Trends Biotechnol*, 2006, 25: 93–98
- 20 Wendell D, Patti J, Montemagno CD. Using biological inspiration to engineer functional nanostructured materials. *Small*, 2006, 2: 1324–1329
- 21 Volodkin DV, Schaaf P, Möhwald H, Voegel J-C, Ball V. Effective embedding of liposomes into polyelectrolyte multilayered films: The relative importance of lipid-polyelectrolyte and interpolyelectrolyte interactions. *Soft Matter*, 2009, 5: 1394–1405
- 22 Tanaka M, Sackmann E. Polymer-supported membranes as models of the cell surface. *Nature*, 2005, 437: 656–663
- 23 Sackmann E. Supported membranes: Scientific and practical applications. *Science*, 1996, 271: 43–48
- 24 Tian Y, He Q, Tao C, Li JB. Fabrication of fluorescent nanotubes based on layer-by-layer assembly via covalent bond. *Langmuir*, 2006, 22: 360–362
- 25 Duan L, He Q, Wang K, Yan XH, Cui Y, Li JB. Adenosine triphosphate biosynthesis catalyzed by F_0F_1 ATP synthase assembled in polymer microcapsules. *Angew Chem Int Ed*, 2007, 46: 6996–7000
- 26 Duan L, He Q, Yan XH, Cui Y, Wang KW, Li JB. Hemoglobin protein hollow shells fabricated through covalent layer-by-layer technique. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 354: 357–36227
- 27 Zhang XM, He Q, Yan XH, Boullanger P, Li JB. Glycolipid patterns supported by human serum albumin for E.coli recognition, biochem. *Biophys. Res Commun*, 2007, 358: 424–428
- 28 Yan XH, He Q, Wang KW, Duan L, Li JB. Transition of cationic dipeptide nanotubes into vesicles and oligonucleotide delivery, *Angew Chem Int Ed*, 2007, 46: 2431–2434
- 29 Qi W, Duan L, Wang KW, Yan XH, Cui Y, He Q, Li JB. ATP synthesis catalyzed by motor protein CF_0F_1 reconstituted in lipid-coated hemoglobin microcapsules. *Adv Mater*, 2008, 20: 601–605

- 30 Moya S, Donath E, Sukhorukov GB, Auch M, Baeumler H, Lichtenfeld H, Möhwald H. Lipid coating on polyelectrolyte surface modified colloidal particles and polyelectrolyte capsules. *Macromolecules*, 2000, 33: 4538–4544
- 31 Moya S, Richter W, Leporatti S, Baeumler H, Donath E. Freeze-fracture electron microscopy of lipid membranes on colloidal polyelectrolyte multilayer coated supports. *Biomacromolecules*, 2003, 4: 808–815
- 32 An ZH, Lu G, Möhwald H, Li JB. Self-assembly of human serum albumin (HSA) and L- α -dimyristoylphosphatidic acid (DMPA) microcapsules for controlled drug release. *Chem Eur J*, 2004, 10: 5848–5852
- 33 Tian Y, He Q, Tao C, Li JB. Fabrication of fluorescent nanotubes based on layer-by-layer assembly via covalent bond. *Langmuir*, 2006, 22: 360–362
- 34 Duan L, He Q, Yan XH, Cui Y, Wang KW, Li JB. Hemoglobin protein hollow shells fabricated through covalent layer-by-layer technique. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 354: 357–362
- 35 Battle AR, Valenzuela SM, Mechler A, Nichols RJ, Praporski S, Maio IL, Islam H, Girard-Egrot AP, Cornell BA, Prashar J, Caruso F, Martin LL, Martin DK. Novel engineered ion channel provides controllable ion permeability for polyelectrolyte microcapsules coated with a lipid membrane. *Adv Funct Mater*, 2009, 19: 201–208
- 36 Mitome N, Suzuki T, Hayashi S, Yoshida M. Thermophilic ATP synthase has a decamer C-ring: Indication of noninteger 10:3 H⁺/ATP ratio and permissive elastic coupling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 12159–12164
- 37 He Q, Duan L, Qi W, Wang KW, Cui Y, Yan XH, Li JB. Microcapsules containing a biomolecular motor for ATP biosynthesis. *Adv Mater*, 2008, 20: 2933–2937
- 38 Qi W, Duan L, Wang KW, Yan XH, Cui Y, He Q, Li JB. Motor protein CF₀F₁ reconstituted in lipid-coated hemoglobin microcapsules for ATP synthesis. *Adv Mater*, 2008, 20: 601–605
- 39 Duan L, Qi W, Yan XH, He Q, Cui Y, Wang KW, Li DX, Li JB. Proton gradients produced by glucose oxidase microcapsules containing motor F₀F₁-ATPase for continuous ATP biosynthesis. *J Phys Chem B*, 2009, 113: 395–399
- 40 Skirtach AG, Javier AM, Kreft O, Kohler K, Alberola AP, Möhwald H, Parak WJ, Sukhorukov GB. Laser-induced release of encapsulated materials inside living cells. *Angew Chem Int Ed*, 2006, 45: 4612–4617
- 41 Peer D, Karp JM, Hong S, Farokhzad OC, Margalit R, Lange R. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nat Nanotechnol*, 2007, 2: 751–760
- 42 Wang KW, He Q, Cui Y, Yan XH, Qi W, Li JB. Encapsulated photosensitive drugs by biodegradable microcapsules to incapacitate cancer cells. *J Mater Chem*, 2007, 17: 4018–4021

Molecular assembly and application of biomimetic microcapsules

CUI Yue, FEI JinBo & LI JunBai

Key Laboratory of Colloid and Interface Science, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

Abstract: The assembly of multifunctional biomimetic microcapsules at the molecular level is of tremendous interest for biophysical research. Among the available molecular assembly techniques, layer-by-layer assembly has attracted extensive attention for the fabrication of biomimetic microcapsules because it possesses engineered features including size, shape, thickness, composition and permeation, and the capability of incorporating different types of biomolecules. In this tutorial review, we highlight how biomimetic microcapsules can be fabricated by directly applying lipids and proteins as assembly pairs and how layer-by-layer assembled polyelectrolyte microcapsules can be modified with biological components such as lipid membranes and proteins. The applications of the assembled biomimetic microcapsules in biological system is also summarized.

Keywords: molecular assembly, biomimetic system, microcapsule, drug delivery