

碳纳米管与蛋白质相互作用的机制及其生物效应

杜江锋, 葛翠翠*

苏州大学医学部放射医学与防护学院, 放射医学及交叉学科研究院, 苏州 215123

* 联系人, E-mail: ccge@suda.edu.cn

2015-06-29 收稿, 2015-07-31 接受, 2015-08-17 网络版发表

国家自然科学基金(21207164)和国家重大科学研究计划(2014CB931900)资助

摘要 由于碳纳米管本身具有诸多优异的物理化学性质, 已经在生物学和医学领域展现出潜在的应用前景. 从纳米科技的长期发展而言, 碳纳米管的安全应用及其潜在的毒理学评价显得非常重要. 众所周知, 碳纳米管用于载药、诊断或成像等生物医学领域时, 会与生物体内的各种蛋白质产生相互作用, 进而会改变碳纳米管自身的理化性质和影响蛋白质的构象及功能, 从而引发不同的生物反应. 而通过将蛋白质连接到碳纳米管上制备的生物器件, 既降低了碳纳米管潜在毒性又为其安全生物应用开拓了市场. 因此深入阐述碳纳米管-蛋白质相互作用的机制及后续的生物效应, 对发展碳纳米管的安全应用具有重要意义.

关键词

碳纳米管
蛋白质
相互作用
生物效应
潜在应用

纳米材料一般是指在三维空间中至少有一维处于纳米尺度范围(1~100 nm)内的材料, 大约相当于10~100个原子紧密排列在一起的尺度. 当物质的几何尺寸达到纳米级水平后, 由于量子效应、局域性和巨大的界面效应, 其物理化学性质会发生较大的改变. 当人们将宏观物体细分成纳米尺度的超微颗粒后, 它将在诸多领域如光学、热学、电学、磁学、力学以及化学等方面, 显示出不同于宏观物体材料的奇异特性, 这使其在生物医学研究方面有着巨大的应用潜力. 纳米技术的发展将物理科学、化学科学以及生命科学有机结合起来, 这必将为疾病诊断与治疗提供新的工具和平台^[1,2].

自1991年, 日本科学家Iijima用高分辨透射电子显微镜发现碳纳米管(carbon nanotubes, CNTs)以来^[3], 其便成为最受重视的纳米材料之一. 碳纳米管是一种具有独特结构的一维纳米材料, 可以看作是石墨烯片层卷曲而成, 管的直径一般由几纳米到几十个纳米, 长度可达微米量级; 按照管壁的层数可以分为单壁碳纳米管(single wall carbon nanotubes, SWCNT)、双壁碳纳米管(double wall carbon nanotubes, DWCNT)

和多壁碳纳米管(multi wall carbon nanotubes, MWCNT). 在过去的二十几年里, 碳纳米管因其优越的物理、机械和化学性质吸引着众多科学家的兴趣^[4-6], 在材料能源领域有着广泛的潜在应用, 如复合材料^[7]、纳米电子元件^[8]、场效应发射器^[9,10]和储氢材料^[11]等领域.

此外, 生物体中许多生物大分子如酶、抗体、DNA质粒都有着纳米级的尺寸, 使碳纳米管可以和它们广泛地接触, 这也使碳纳米管在生物医学领域展现出广泛的潜在应用^[12-14], 包括药物载体、生物传感器、生物成像等. 单壁碳纳米管的直径为1~2 nm、长度可达几百纳米到几十微米, 是一种典型的一维纳米材料, 相比球形纳米材料, 具有更大的长径比、更高的比表面积、更强的吸附能力, 使其载带药物和生物大分子的能力更强, 已有研究表明, 功能化的碳纳米管可以载带生物分子进入细胞, 不产生细胞毒性^[15-18]. 一维碳纳米管良好的柔韧性使其与细胞黏合时会出现多个吸附位点, 提高其与靶向配位体的吸附强度; 基于碳纳米管-蛋白质(特异性抗体)制作的传感器可以用来检测生物分子, 如蛋白质和DNA^[19,20].

引用格式: 杜江锋, 葛翠翠. 碳纳米管与蛋白质相互作用的机制及其生物效应. 科学通报, 2015, 60: 2977-2988

Du J F, Ge C C. The mechanism and biological effects for the interaction of carbon nanotubes with proteins (in Chinese). Chin Sci Bull, 2015, 60: 2977-2988, doi: 10.1360/N972015-00710

研究发现,单壁碳纳米管是一种优异的光学吸收材料,在近红外光谱范围内有着较强的光学吸收,可以被应用于辐射热疗^[21,22]和光声成像^[23].单壁碳纳米管独特的表面增强拉曼性质,使其也可以被应用于拉曼检测和拉曼成像^[24~26].与单壁碳纳米管相比,多壁碳纳米管具有多层的管壁,直径一般为10~100 nm,其光学性质较单壁碳纳米管差一些,但在运输生物分子方面如输送DNA质粒进入细胞却有着独特的优势^[15,27,28].总之,基于碳纳米管的运输、成像和诊断研究已经引发了其在医疗领域的一系列应用研究,如用于化学药物的载体^[29~31]、拉曼光谱的诊断和成像^[32~34]、光声成像^[35]以及利用光热转换效应治疗癌症^[36~38],利用其光学性质用作光学成像标记物或对比剂^[23,25,39].

发展碳纳米管潜在应用的同时,碳纳米管的安全性是不可忽视的问题,目前关于碳纳米管安全性已有大量的研究,主要为碳纳米管的负面效应以及长度、结构和纯度等参数对安全性的影响. Muller等人^[40]发现使用长短不同的MWCNT经支气管滴注进入大鼠(*Rattus norvegicus*)肺部后,60 d后发现长的MWCNT在肺部的残余量还在80%左右,短的MWCNT为36%左右,这些碳纳米管都会引起大鼠肺部的炎症反应和纤维化反应. Nagai等人^[41]发现碳纳米管可直接通过间皮细胞膜,细的碳纳米管比粗的碳纳米管更容易穿过细胞外膜及核膜,进入细胞核引发细胞毒性,而碳纳米管的长度、结构和纯度对其细胞毒性影响甚微. 随后研究人员将碳纳米管注射入小鼠(*Mus musculus*)体内,发现较细的碳纳米管(直径约50 nm)更容易引发间皮细胞肿瘤,而较粗的碳纳米管(直径约100 nm)引发肿瘤的几率较小.

一般认为,碳纳米管产生的毒性主要是通过提高生物体的氧化应激水平,引起急性炎症水平升高、损伤DNA或引起DNA突变、形成肉芽肿以及间质纤维化等方式实现;同时不少研究发现碳纳米管可以促进一些细胞功能的产生. Meng等人^[42]研究发现,不同种类长度的MWCNT对神经元细胞系PC12细胞表现出不同的生物学效应,低浓度羧基化修饰的长MWCNT对PC12细胞的形态和活力没有明显的影响,低浓度羧基化修饰的短MWCNT可以提高PC12细胞的分化. 相对于只用神经生长因子(nerve growth factor, NGF)处理的PC12细胞,用低浓度羧基化修饰的短MWCNT先与PC12细胞孵育2 d,再用NGF进行处

理的PC12细胞能够更明显地上调神经营养蛋白信号通路,协助受体TrkA/p75和Pincher/Gap43/TH蛋白的表达,这很有可能是MWCNT提高PC12细胞分化的潜在机制. Wang等人^[43]报道了MWCNT能够通过激活TGF- β /Smad信号通路,直接促进成纤维原细胞和成肌纤维细胞以及上皮细胞和间叶细胞之间的转化,长MWCNT能通过激活作用上调成纤维原细胞特异性蛋白I、 α -平滑肌肌动蛋白、胶原蛋白Ⅲ的表达. 该团队还发现TGF- β /Smad信号通路是成纤维原细胞表达胶原蛋白的必需途径,研究表明,长的MWCNT在激活巨噬细胞上调TGF- β 1表达后,可进而诱导细胞信号转导分子Smad2的磷酸化增加,然后引起胶原蛋白I/Ⅲ和细胞间质蛋白酶抑制体在肺部表达上调^[44]. 2013年, Liu等人^[45]应邀在*Acc Chem Res*上发表有关碳纳米管毒性的综述,文中详述了碳纳米管的杂质、形貌、表面电荷、形状、尺寸、聚集度和层数,以及不同暴露方式对生物体的毒性研究,分析了巨噬细胞对不同的碳纳米管的代谢方式(图1). 结果发现,每个研究组在实验中使用的碳纳米管具有不同参数类型,并且评价方法和暴露条件各异,导致不同的研究组得到的实验结果不一致、相互冲突,而且文章还提到目前有关碳纳米管对人体的毒性研究极为缺乏.

碳纳米管生物安全性的研究出现不一致的结论后,研究人员经过分析,发现是因为忽略了碳纳米管进入生物体后与生物大分子会发生相互作用,进而产生不同的生物效应. Ge等人^[46]发现,碳纳米管表面吸附蛋白质前后,其细胞毒性表现出截然相反的结果. 蛋白质吸附到碳纳米管表面后将覆盖碳纳米管表面的疏水区,使碳纳米管不再吸附其他的生物分子,降低对生物系统的干扰. 生物体内有大量的蛋白质分子,碳纳米管由于表面高的自由能,进入生物体后迅速吸附蛋白质分子,不但影响自身性质发生改变,还会造成蛋白质构象变化,继而引发相关生物效应. 有研究组在碳纳米管表面包裹蛋白质分子后,发现可有效降低碳纳米管的毒性,然后设计出一些基于碳纳米管-蛋白质的生物传感器,用于疾病的诊断和检测.

目前关于碳纳米管与蛋白质相互作用已经开展了相当多的研究,对解释碳纳米管生物效应机制和安全应用有着重要意义. 因此本文拟对碳纳米管-蛋白质相互作用的机制及其生物学效应的影响进行总

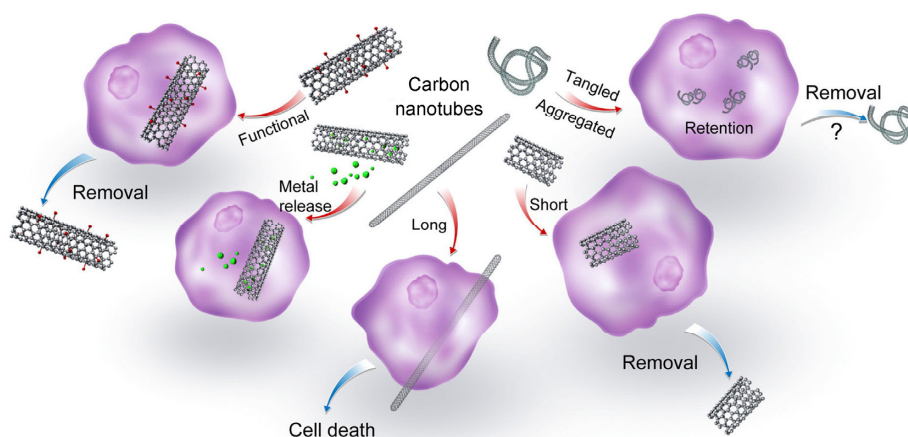


图1 (网络版彩色)不同类型的碳纳米管对细胞吞噬作用和细胞毒性的影响示意图^[45]

Figure 1 (Color online) Schematic illustration of the varying types of CNTs can affect phagocytosis and cytotoxicity^[45]

结, 以对碳纳米管的安全应用提供指导.

1 碳纳米管与蛋白质的相互作用

1.1 碳纳米管与蛋白质相互作用的方式

在生物体中碳纳米管与蛋白质是通过非共价键进行相互作用, 包括疏水性相互作用、氢键作用、 $p-\pi$ 共轭、 $\pi-\pi$ 共轭. Li等人^[47]通过原子力显微镜观察各种不同的多肽与单壁或多壁碳纳米管的相互作用, 发现聚赖氨酸氨基被质子化后, 和羧基氧化多壁碳纳米管在低pH环境中通过静电引力相互作用时, 黏附力会上升; 而氨基未质子化的聚赖氨酸和羧基化多壁碳纳米管在高pH环境中通过氢键结合时, 黏附力较弱. 进一步研究发现, 黏附力会随着多壁碳纳米管羧基化时间的延长而增强, 但对于单壁碳纳米管却没有明显增强. 这是因为对碳纳米管进行羧基化时, 羧基会分别出现在多壁碳纳米管的管壁和管口处, 但却只会出现在单壁碳纳米管的管口处. 此外, 聚色氨酸可以与碳纳米管之间 $\pi-\pi$ 共轭, 使含有聚色氨酸类芳香族基团的蛋白质与羧基化多壁碳纳米管之间的黏附力会比聚赖氨酸更强. 所以说, 功能化多壁碳纳米管可以通过电荷互补、 $\pi-\pi$ 堆垛或者疏水性相互作用与蛋白质结合.

Chen等人^[48]研究发现, 单壁碳纳米管经 $\pi-\pi$ 作用可吸附含有芘的双功能小分子: 1-芘丁酸N-羟基琥珀酰亚胺酯(1-pyrenebutyric acid N-hydroxysuccinimide ester, PANHS), 然后这种酯可以和表面富有氨基的蛋白质结合. 已有实验结果表明, 其可以协助多壁碳

纳米管通过物理吸附连接金属硫蛋白和链霉素亲和素蛋白^[49,50]. Wei等人^[51]研究发现, PANHS可经过 $\pi-\pi$ 共轭非共价修饰多壁碳纳米管, 然后被4种蛋白(纤维蛋白原、丙种球蛋白、血红蛋白和纤维结合素)包裹的金纳米颗粒连接到碳纳米管表面.

Erlanger等人^[52]发现抗富勒烯(C_{60})IgG单克隆抗体复合物, 可经由包裹在富勒烯表面的IgG抗体分子的疏水区, 通过疏水性相互作用吸附到碳纳米管的表面.

碳纳米管进入生物后, 其通过的第一道循环系统就是血液系统, 血液中的蛋白质种类极多, 对于多种类的蛋白质, 通过非共价键吸附到碳纳米管上的蛋白质可能存在Vroman效应^[53], 即首先吸附在碳纳米管表面的蛋白质可能解吸附. 例如, 当碳纳米管与血液中的蛋白质相互作用时, 一开始是高浓度的蛋白质吸附在碳纳米管上, 但是随着时间的延长一些吸附位点可能会被低浓度高亲和力的蛋白质取代. 但是关于这方面的研究结果目前较少, 还未形成明确的结论.

碳纳米管与蛋白质的相互作用主要是通过非共价键的方式进行作用, 无论是经过修饰的还是未修饰的碳纳米管, 其均是经由碳纳米管自身较强的疏水性或碳六圆环的共价电子与蛋白质相互作用, 然后将蛋白质吸附到其表面, 根据生物体微环境的变化, 这些吸附在碳纳米管表面的蛋白质成分可能会发生动态变化, 直至达到一个稳定的平衡状态.

1.2 影响碳纳米管-蛋白质相互作用的参数

Roman等人^[54,55]研究发现, 手性(3,3)的金属性SWCNT通过与甘氨酸、色氨酸、酪氨酸和组氨酸的

羧基端相互作用,使氨基酸都吸附在碳纳米管的侧壁上.并且,离子型的氨基酸比中性的更容易吸附在碳纳米管侧壁上. Ganji^[56]通过计算表明,手性为(10,0)的半导体性SWCNT与氨基酸相互作用时是与其N端进行结合.这说明碳纳米管的手性和氨基酸的电荷属性会影响生物分子与其相互作用的模式. Li等人^[57]发现,在不同的pH条件下,碳纳米管制作的原子力显微镜(atomic force microscope, AFM)探针与多肽的黏附力不同,并且含有芳香环的多肽与探针的黏附力较大.这说明生物环境中的pH、蛋白质分子中有无芳香环都会影响他们的相互作用. Wijaya等人^[58]研究发现,碳纳米管管壁的羧基化会影响吸附到碳纳米管上蛋白质的构象. Chen等人^[59]利用计算模拟的方式发现,碳纳米管的中心区域对蛋白质的吸引力最大,范德华相互作用势能最小. Shen等人^[60]通过计算表明,带电荷的碳纳米管表面吸附的水分子可以阻止多肽在碳纳米管表面的吸附.在前人研究的基础上, Du等人^[61]更为详细地研究了碳纳米管与血液中蛋白质的相互作用,并分析了影响作用的相关参数. 研究结果发现,不同结构、不同尺寸、不同功能化修饰的碳纳米管对血清中蛋白质的吸附影响是不同的. 通过比较,发现影响碳纳米管对蛋白质吸附能力的重要因素依次为:碳纳米管的结构、排列模式(阵列式或无规则卷曲)、尺寸和表面化学修饰. 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳技术(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)半定量分析了碳纳米管对血液蛋白质的吸附,

进一步证实了相关结论. 通过飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)对碳纳米管吸附的蛋白质种类鉴定,发现血清中明显吸附在碳纳米管上的蛋白质主要为白蛋白、前清蛋白、转铁蛋白和免疫球蛋白. 他们研究还发现,聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)修饰能够抑制碳纳米管对蛋白质的吸附,并且抑制能力同PEG链的结构和长度有关.

碳纳米管-蛋白质在小动物活体水平的实验研究中也有一些报道, Sacchetti等人^[62]进行了PEG修饰的SWCNT-蛋白质复合物在生物体的药理学和毒理学研究. 发现当修饰SWCNT的PEG分子的修饰方式(非共价或共价修饰)发生变化时, SWCNT与蛋白质形成的“蛋白冠”就会发生变化. 当分子量为2 kD的PEG修饰的SWCNT(PEG2-SWCNT)进入生物体后,有超过240种的蛋白质被筛选是否与碳纳米管作用,包括免疫球蛋白、载脂蛋白和补体蛋白. 他们分别从蛋白质的等电点、分子量、总疏水性和芳香性残基数量进行了分析. 结果发现, PEG对SWCNT的修饰方式比碳纳米管的表面电荷对“蛋白冠”的形成及其生物效应的影响更为关键. 当PEG的结构从“mushroom”转变为“mushroom-brush”时,吸附在碳纳米管表面的蛋白质的组成会发生变化,“蛋白冠”-碳纳米管混合物的血液循环时间会变得更短,更快地经由肾脏代谢排出体外,并且还能提高肝脏和肾脏的吸收. 他们建议可以通过调节PEG的结构,来调节PEG修饰的SWCNT在药物代谢动力学方面的应用(图2).

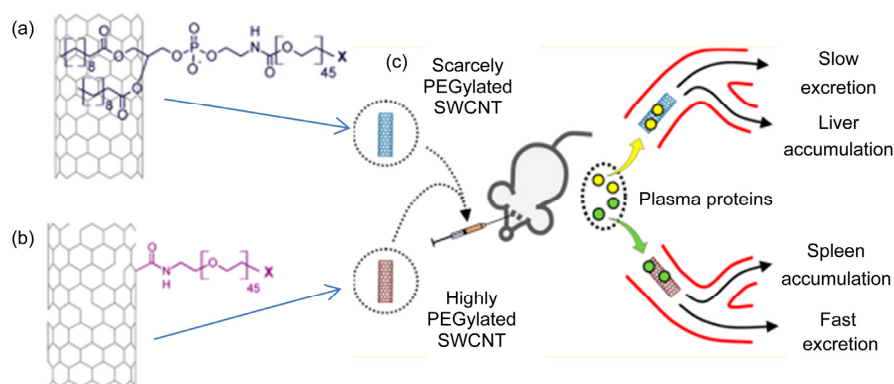


图 2 (网络版彩色)PEG 修饰的 SWCNT 在小鼠体内的代谢动力学示意图. (a) 非共价修饰的 SWCNTs(cPEG2-SWCNT); (b) 共价修饰的 SWCNTs (fPEG2-SWCNT); (c) 两种不同修饰方式的 SWCNT 在小鼠体内聚集的主要器官及代谢速度^[62]

Figure 2 (Color online) Schematic illustration of the pharmacokinetic for two types PEG modify SWCNT *in vivo*. (a) PEG(2k)-non-functionalized SWCNTs (cPEG2-SWCNTs); (b) PEG(2k)-functionalized SWCNTs (fPEG2-SWCNTs); (c) the distribution and metabolism of two types PEG modify SWCNTs^[62]

研究发现,血液中的蛋白质如纤维蛋白原、免疫球蛋白、补体蛋白等血液中丰度较高的蛋白质以及载脂蛋白、补体因子、急性时相蛋白、转运蛋白等丰度较小的蛋白质会吸附在PEG修饰的碳纳米管上,但丰度较高的白蛋白却在PEG修饰的碳纳米管上吸附较少.而对于不同的PEG修饰方式,吸附在碳纳米管表面的蛋白质种类和数量又有所不同.

综上所述,碳纳米管的手性、生物体中的pH微环境、碳纳米管的羧基化修饰程度、碳纳米管管身不同的位置、长度等均会对其吸附蛋白质的种类和数量产生不同的影响,因此分析每一种碳纳米管对蛋白质的吸附都应该综合考虑各个因素,得出一个全面可靠的结果.

1.3 碳纳米管对蛋白质构象的影响

X射线吸收近边结构(X-ray absorption near-edge structures, XANES)作为研究和表征催化剂的有力工具,可以确定价态、表征d-带特性、测定配位电荷、提供包括轨道杂化、配位数和对称性等结构信息.随着同步辐射光源的发展,XANES可被用来研究金属络合物的结构变化,进而发展到研究纳米材料和生物分子作用后分子结构信息的变化^[63].例如,利用XANES可用以分析原子周围环境中原子的几何配置,进而分析生物分子的结构变化.Wang等人^[64]应用XANES研究了牛血清白蛋白(bovine albumin, BSA)与金纳米棒的结合方式,揭示了BSA分子中至少有6对二硫键被打开,形成了BSA与金表面识别与结合的特定界面(plane S),发现他们是通过Au-S键构成了牢固吸附的“蛋白冠”.

碳纳米管与蛋白质作用后,蛋白质自身结构也会发生一定变化.Zhong等人^[65]使用XANES研究了蛋白质在碳纳米管上的吸附,结果发现,蛋白质中C=O键的X射线近边吸收光谱特征峰会受到碳纳米管中芳香族结构的影响.实验数据结合第一性原理计算后发现,碳纳米管与蛋白质的吸附作用,会导致蛋白质二级和三级结构发生变化.Liu等人^[66]利用荧光光谱、UV吸收光谱、同步荧光光谱和透射电子显微镜等技术,较为系统地研究了水溶性羟基化单壁碳纳米管与人血清白蛋白(albumin human, HSA)的相互作用.发现羟基化单壁碳纳米管可以明显猝灭HSA的内源荧光,且猝灭效应随碳纳米管浓度增大而增强.同步荧光光谱表明,二者之间的相互作用可导致

HSA构象发生变化,HSA的色氨酸残基荧光信号发生了2 nm红移,表明色氨酸残基周围微环境极性降低.Matsuura等人^[67]研究发现,溶菌酶和牛血清白蛋白可以用来分散单壁碳纳米管,而木瓜蛋白酶和胃蛋白酶却没有此功能.利用圆二色谱他们发现,包被在单壁碳纳米管表面的部分溶菌酶和牛血清白蛋白发生变性,这说明其二级结构发生了变化.他们推测,主要的原因可能是由于蛋白质内部的疏水腔暴露出来与碳纳米管非共价结合,导致部分蛋白质发生变性.

Shams等人^[68]等利用全原子分子动力学模拟和NIR光谱成像法研究发现,SWCNT可以通过疏水作用与细胞膜中的肌动蛋白(actin)相互作用,然后在细胞膜的表面滑动或旋转,进而影响细胞的行为学.虽然关于肌动蛋白结构的变化还没有明确的定论,但荧光强度的变化可以确定actin-SWCNT复合物的构象还是发生了纳米尺度的改变(图3).Holt等人^[69]发现高纯的单分散SWCNT在与细胞作用时,会首先与actin相互作用,这将使纯净的肌动蛋白丝形成束,进而影响细胞骨架的形成,虽然这种行为不会产生急性的细胞毒性,但会大大降低细胞的增殖速率.

总体来讲,不同种类的蛋白质在与碳纳米管相互作用后,其结构的变化效应是不同的,有些蛋白质的结构发生改变后不可逆转,而有些蛋白质的结构会产生一定的逆转,趋向于正常的结构^[46].碳纳米管与蛋白质作用后,主要是会引起蛋白质中与碳纳米管有较强作用的区域暴露在蛋白质的表面,进而引起蛋白质的结构发生变化.但是这些变化对蛋白质自身的功能影响各不相同,因此未来研究碳纳米管对蛋白质结构的影响,要针对每一种蛋白质进行研究,而不能以偏概全.

2 碳纳米管与蛋白质作用的生物学效应

碳纳米管进入生物体后会吸附蛋白质等生物大分子并发生相互作用,不但会改变碳纳米管自身的理化性质,还会影响蛋白质的构象、功能以及干扰蛋白质活性位点,从而引发相关生物学反应,使碳纳米管-蛋白质复合物在体外研究上表现出不同的生物效应.

Ge等人^[46]利用蛋白质的内源荧光、SDS-PAGE等研究血液蛋白在单壁碳纳米管表面的动力学吸附,发现血液中的蛋白质分子会竞争性地吸附在碳纳米管表面,几种主要蛋白如纤维蛋白原、免疫球蛋白、转铁蛋白、白蛋白会大量吸附在碳纳米管的表面.利

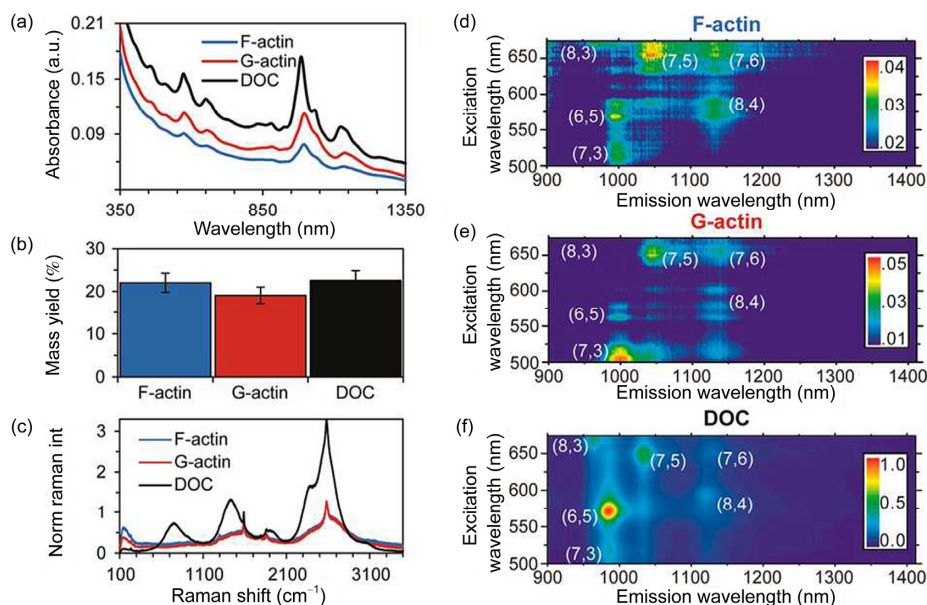


图 3 (网络版彩色)SWCNTs-actin 分散液表征. (a) SWCNTs-actin 分散液的 UV-vis-NIR 吸收光谱; (b) 离心后上清液中 SWCNT 的质量比, 说明蛋白质对 SWCNT 的分散性能有很大的提高; (c) 利用拉曼光谱来说明 SWCNT 存在于上清液中($150\sim300\text{ cm}^{-1}$ 为 SWCNT 的呼吸峰); (d-f) SWCNT 荧光的近红外荧光光谱热量分布图, SWCNT 的手性标注在图上, 颜色刻度插图为强度范围扩展的动态范围^[68]. DOC: 脱氧胆酸盐

Figure 3 (Color online) SWCNT-actin dispersions characterization. (a) UV-vis-NIR absorbance spectroscopy of SWCNTs-actin dispersions; (b) the proportion of SWCNTs remaining in the supernatant after centrifugation was determined and indicated relatively efficient dispersion of SWCNTs, especially for proteins; (c) Raman spectroscopy confirmed the presence of SWCNTs (G-band at $\sim 1591\text{ cm}^{-1}$ and radial breathing modes ($150\sim300\text{ cm}^{-1}$)); (d-f) NIR fluorescence spectroscopy heat maps of SWCNT fluorescence. Chiralities are indicated on the heat maps for visual aid. The color scale bar inset indicates the dynamic range of the intensity range scaling^[68]. DOC: desoxycholic acid

用原子力显微镜观察到上述几种蛋白竞争吸附后, 会在碳纳米管的表面形成不同外形的“蛋白冠”状的蛋白-碳管复合物. 圆二色谱以及生化分析结果表明, 尽管碳管表面吸附的血液蛋白的二级结构有轻微改变, 但是蛋白的生化功能并没有发生明显变化. 用分子动力学理论模拟分析蛋白分子与碳管表面的作用机制及结合位点, 结果显示, 碳纳米管的p电子与蛋白分子的芳香族氨基酸之间的相互作用力的大小, 决定了蛋白分子在碳管表面的竞争性吸附速率. 在进一步的细胞毒性实验研究中(图4), 他们发现“蛋白冠”-碳纳米管复合物降低了碳纳米管对不同种类细胞的细胞毒性. 这表明碳纳米管在进入体内以后, 其表面容易吸附血液蛋白, 这可以大大降低其细胞毒性, 提高其生物安全性. 通过这一研究, 为碳纳米管材料的安全使用指明了方向.

碳纳米管潜在的肺部毒性的研究也受到广泛的关注. Salvador-Morales等人^[70]研究了双壁碳纳米管和肺表面活性物质蛋白A(SP-A)和D(SP-D)的相互作用, SP-A和SP-D是一种胶原凝集素蛋白, 由肺的气管上皮细胞分泌. 当肺部受到外来物质感染时, 其在

第一道防御机制中扮演着重要的角色. 他们发现SP-A和SP-D会选择性地吸附在碳纳米管上, 而且它们在碳纳米管上的吸附受 Ca^{2+} 离子的影响. 研究显示, 碳纳米管慢性暴露于肺中可以导致SP-A和SP-D缺失, 而缺少这些蛋白会导致小鼠感染肺炎或导致肺气肿.

研究结果说明, 碳纳米管疏水性是其在生物学领域应用时不可忽视的一个问题. 未经表面包裹的碳纳米管进入生物体后, 可能会强烈地吸附和影响其周围的蛋白质, 对生物体的正常功能产生干扰. 而通过在碳纳米管表面形成“蛋白冠”, 既降低碳纳米管表面暴露的疏水性基团, 又可以增强碳纳米管的水溶性. 并且这种复合物在进入生物体后, 可降低其与周围环境的相互作用, 进而提高其生物相容性, 降低潜在的毒性, 增强碳纳米管在生物学领域的潜在应用.

3 碳纳米管-蛋白质相互作用的潜在应用

纳米技术和纳米生物技术的迅速发展, 带动了新型纳米材料在生物检测、生物材料领域的迅速发展

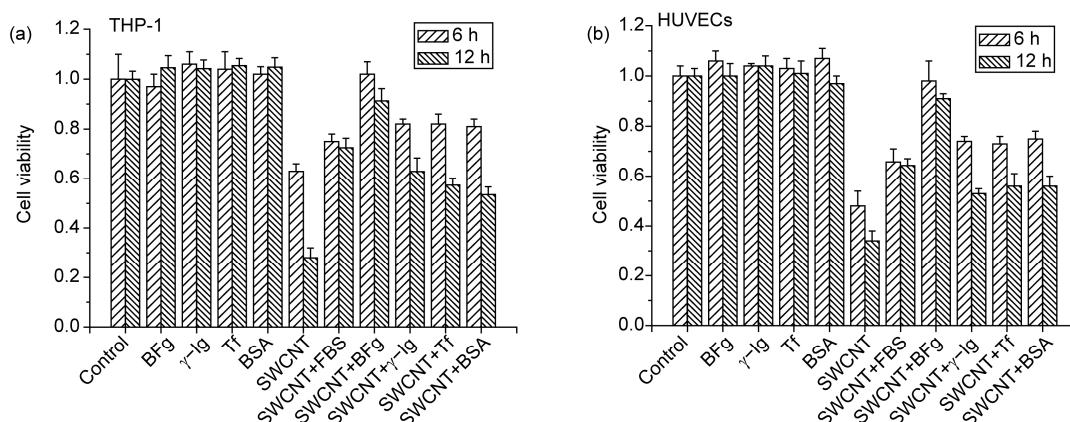


图4 单壁碳纳米管被不同种类的蛋白质包裹前后对不同种类细胞的毒性. (a) THP-1 细胞; (b) HUVEC 细胞^[46]

Figure 4 Proliferation and viability of cells in the presence of SWCNTs with/without protein coatings. The differential cytotoxicity of THP-1 (a) and HUVEC cells (b)^[46]

展. 有研究组将碳纳米管作为一个契机, 去探索碳纳米管表面和蛋白分子之间以及蛋白质分子-蛋白质分子之间的相互作用, 并且展示出了极有应用前景的研究成果.

水溶性功能化碳纳米管溶液可与两种模拟的多肽, 通过共价功能化稳定地结合在一起, 该多肽结构和P物质的拮抗体G结构非常相似. Karousis等人^[71]采用多种光学分析方法结合电子显微镜和差热分析法, 再辅助以结构和形态学对4种最新合成的碳纳米管-模拟多肽共价结合物进行表征. 发现当高剂量填充模拟多肽进入水溶性碳纳米管修饰的人造骨骼中后, 模拟多肽-碳纳米管共价结合物的胰蛋白酶抑制效应会增强. 另外, 这种模拟多肽-碳纳米管共价结合物还可以在回收后, 重新在6种生物评价环节中展现与胰蛋白酶一样的抑制活性. 作者认为该纳米尺寸体系在抑制炎症和恶性肿瘤方面有着非常大的优势, 同时在未来抗癌药物的分散系统中有着潜在的应用.

单壁碳纳米管具有纳米尺度、石墨烯式的表面化学和电学性质, 使其成为潜在的理想的制备化学与生物传感器的候选材料. Besteman等人^[72]报道使用单根半导体单壁碳纳米管, 可用于制作多功能生物传感器. 通过一个连接分子控制氧化还原酶吸附在碳纳米管管壁上, 可以观察到电导率有着明显的变化(图5). 用酶包裹碳纳米管可以制作一个pH传感器, 当改变pH时, 可以观察到电导率较大的明显的改变. 以氧化还原酶为基底添加葡萄糖, 会实时检测到一个阶梯式的响应, 这说明该传感器在单壁碳纳米管水平上也可以用来测量酶的活性. 该研究首次报

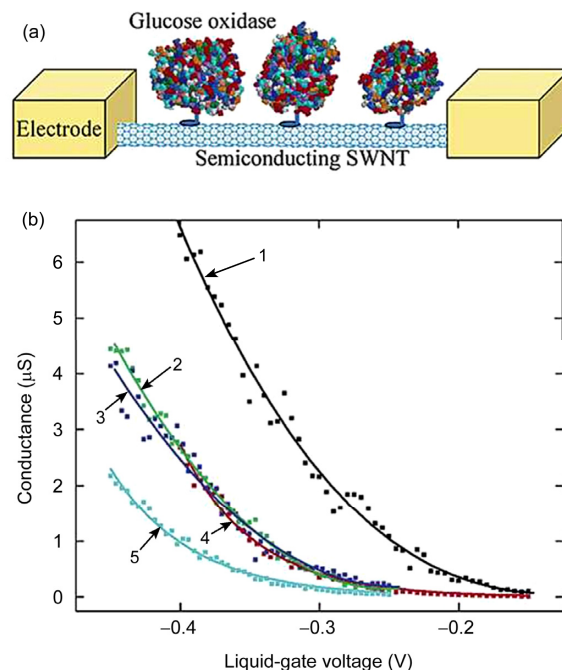


图5 (网络版彩色)(a) 葡萄糖氧化酶固定在半导体性 SWCNT 上连接两个电极的示意图; (b) 半导体性 SWCNT 在不同条件下电导率的变化. 黑色的线(第 1 条)代表裸的 SWCNT; 红色的线(第 4 条)代表 SWCNT 在 N,N-二甲基甲酰胺(N,N-Dimethylformamide, DMF)中浸了 2 h; 绿色的线(第 2 条)代表 SWCNT 在 DMF 中浸了 4 h; 深蓝色的线(第 3 条)代表 SWCNT 在 DMF 和交联分子中浸了 2 h; 浅蓝色线(第 5 条)代表葡萄糖氧化酶固定的 SWCNT^[72].

Figure 5 (Color online) (a) Schematic picture of two electrodes connecting a semiconducting SWCNT with GOx enzymes immobilized on its surface; (b) conductance of a semiconducting SWCNT as a function of the liquid-gate voltage in milli-Q water. Data are for the bare SWCNT (black), after 2 h in N,N-Dimethylformamide (DMF) (red), after 4 h in DMF (green), after 2 h in DMF with the linking molecule (dark blue), and after GOx immobilization (light blue). We observe that attachment of GOx significantly decreases $G(V_{lg})$ ^[72]

道碳纳米管基的生物传感器可以作为一种检测酶活性的工具,为生物分子诊断开辟了一条新的道路。

据报道,蛋白质吸附到单壁碳纳米管制作的场效应晶体管上时,会发现设备的电导率有着灵敏的变化,利用这一现象可以开发极有潜力的小型化设备,用自由标记的方法检测生物分子。Chen等人^[73]阐明了研制出的一种基于碳纳米管的微阵列传感器的电子生物传感机制,利用化学方法进行功能化设计,可以阻断设备对蛋白质的选择性吸附。该传感器首先将SWCNT沉积到SiO₂/Si基底上,然后将金属(Au, Pd)电极镀在SWCNT上,最后将自组装的单分子层甲氧基-聚乙二硫醇再连接到电极上。实验结果表明,蛋白质吸附在金属-碳纳米管上制作的电子生物传感器的信号要明显高于蛋白质吸附在单独的碳纳米管上。该课题组^[48]还发现具有优异电学性质碳纳米管再固定上具有特异性识别性质的生物系统后,可以制作成理想化的微型传感器。

一般蛋白质都是通过非特异性吸附在碳纳米管上,这种现象可以通过固定聚乙烯氧化物在碳纳米管上消除。最基本的方法就是先用聚乙烯功能化碳纳米管,再连接上蛋白质分子的特异性受体,这样蛋白质分子就可以选择性地与其受体结合。这种方案制作的传感器,结合了碳纳米管电子器件的灵敏性,又可以确保在临床检测重要生物分子时具有高度的特异性选择,如同抗体与人自身免疫疾病的关系一样^[12]。

Davis等人^[74]发现可以在不氧化破坏碳纳米管结构的条件下,经由羧基将胶体颗粒和多胺树枝状分子共价吸附在碳纳米管上。使用原子力显微镜可在分子水平上观察到碳纳米管-蛋白的聚合物,在单壁碳纳米管的管壁和端口均发现了吸附有金属蛋白和酶的分子,他们还可以通过控制碳纳米管管壁的氧化程度来控制其联接程度。碳纳米管制作的电极有着较好的伏安特性,这使具有氧化还原活性的生物分子和碳纳米管可以直接进行电子传递。

Ye等人^[75]通过多壁碳纳米管(MWCNTs)对临床血清蛋白提取物进行富集处理,经表面增强激光解析离子化飞行时间质谱(surface-enhanced laser desorption/ionization-time of flight-mass spectra, SELDI-TOF-MS)检测,发现MWCNTs对血清中小分子量蛋白(<20 kD)具有很好的富集效果,该方法可用于检测临床血清样本中低丰度的小分子量蛋白。

开发碳纳米管基生物传感器、人造骨骼支架的增韧剂、生物分子检测器件,是碳纳米管目前在生物领域最有可能突破的应用研究。因为在这些领域的应用,会最小化地减少碳纳米管的生物毒性,减少相关评价的环节和流程,使这种先进的纳米材料能够尽快地实现应用。

4 总结与展望

本文首先介绍了碳纳米管材料优异的物理化学性质及其潜在的应用方向,接着具体地讨论了碳纳米管和蛋白质的相互作用机制。其次,论述了碳纳米管与蛋白质相互作用后的生物学效应,以及将这种复合物作为一个整体论述了其潜在的生物应用。在机制介绍中详细论述了碳纳米管和蛋白质相互作用的方式和影响参数,并分析了碳纳米管对蛋白质构象的影响。这些都有助于更深刻地理解碳纳米管的生物效应,特别是在生物分子(主要是蛋白质)吸附到碳纳米管表面后的生物效应。关于蛋白质分子吸附到碳纳米管上的动力学过程和蛋白质构象具体改变的位点的研究,因为难度较大,目前研究结果较少且不全面,后续的研究仍面临极大的挑战。

研究显示,患有不同疾病的病人,其血液中的蛋白质的组成会发生一些变化,像一些关键蛋白的结构、浓度、水溶性和功能都会发生改变^[76]。近期有研究显示,对于一些特殊疾病的病人,其血液中的蛋白质在纳米材料表面形成的“蛋白冠”的组成成分是不同的^[77]。因此,通过判断纳米材料表面蛋白质的组成成分,可能有助于治疗病人的疾病。那么,患不同疾病的病人,其血液中的蛋白质在碳纳米管表面的吸附组成也可能不同。因此,未来研究碳纳米管和血液中蛋白质的相互作用,可以和医院临床研究者合作,收集正常的人和患有不同疾病的人的血液,通过分析血液中的蛋白质在碳纳米管表面吸附组成的不同,看能否发现不同疾病的差异,为疾病的治疗提供一些指导性的意见。

当前,有关碳纳米管与蛋白质的作用,还主要停留在细胞和小动物的水平,对人体影响的研究结果还很少。而从细胞和小动物的研究水平到人体水平还有很大的挑战,还需要做更多的研究。所以,未来应该深入到碳纳米管的生产一线,去采集人的相关样本。分析碳纳米管通过呼吸、吸食暴露到人体后的动力学过程,研究碳纳米管进入肺部或胃部后与相

关蛋白质的作用,检测在碳纳米管表面形成“蛋白冠”的组成成分,为职业病人的救治提供帮助。同时,还应该去分析碳纳米管和蛋白质作用后,在体内的迁移和代谢活动。当然,在研究的同时,也要注意个体的差异和周围环境的影响。

另外,在研究碳纳米管与蛋白质的相互作用时,还需要对碳纳米管处于不同的生物体液中(如血液、胃液、肠液、肺液等)与蛋白质的相互作用进行区分,分析碳纳米管表面蛋白质组成的变化,观察生物学和病理生理学的变化,优化实验规划和研究方法等。当然,除了关注碳纳米管对生物体的影响,也需要加强

对碳纳米管环境健康和生态毒理方面的研究,这些研究主要应体现在以下4个方面:

(i) 量化碳纳米管的生产以及在空气、土壤和水生态系统中的释放程度,为深入地研究碳纳米管的环境健康效应提供基础;

(ii) 采取相关的研究方法追踪碳纳米管在环境中的迁移和形态转化模式;

(iii) 建立碳纳米管的环境健康安全暴露评价体系(包括暴露途径和安全暴露剂量等);

(iv) 制定纳米材料环境安全性评估方法和评估标准,指导碳纳米管的安全生产和合理使用。

参考文献

- Whitesides G. The “right” size in nanobiotechnology. *Nat Biotechnol*, 2003, 21: 1161–1165
- Wang L, Zhao W, Tan W. Bioconjugated silica nanoparticles: Development and applications. *Nano Res*, 2008, 1: 99–115
- Iijima S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*, 1991, 354: 56–58
- Dai H. Carbon nanotubes: Synthesis, integration, and properties. *Acc Chem Res*, 2002, 35: 1035–1044
- Golberg D, Costa P, Mitome M, et al. Nanotubes in a gradient electric field as revealed by STM TEM technique. *Nano Res*, 2008, 1: 166–175
- Zhou W, Rutherglen C, Burke P. Wafer scale synthesis of dense aligned arrays of single-walled carbon nanotubes. *Nano Res*, 2008, 1: 158–165
- Ago H, Petritsch K, Shaffer M, et al. Composites of carbon nanotubes and conjugated polymers for photovoltaic devices. *Adv Mater*, 1999, 11: 1281–1285
- Javey A, Guo J, Wang Q, et al. Ballistic carbon nanotube field-effect transistors. *Nature*, 2003, 424: 654–657
- Fan S, Chapline M, Franklin N, et al. Self-oriented regular arrays of carbon nanotubes and their field emission properties. *Science*, 1999, 283: 512–514
- Allen B L, Kichambare P D, Star A. Carbon nanotube field-effect-transistor-based biosensors. *Adv Mater*, 2007, 19: 1439–1451
- Dillon A, Jones K, Bekkedahl T, et al. Storage of hydrogen in single-walled carbon nanotubes. *Nature*, 1997, 386: 377–379
- Chen R, Bangsaruntip S, Drouvalakis K, et al. Noncovalent functionalization of carbon nanotubes for highly specific electronic biosensors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 4984–4989
- Kam N, Jessop T, Wender P, et al. Nanotube molecular transporters: Internalization of carbon nanotube-protein conjugates into mammalian cells. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 6850–6851
- Liu Z, Tabakman S, Welsher K, et al. Carbon nanotubes in biology and medicine: *In vitro* and *in vivo* detection, imaging and drug delivery. *Nano Res*, 2009, 2: 85–120
- Singh R, Pantarotto D, McCarthy D, et al. Binding and condensation of plasmid DNA onto functionalized carbon nanotubes: Toward the construction of nanotube-based gene delivery vectors. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 4388–4396
- Kam N, Dai H. Carbon nanotubes as intracellular protein transporters: Generality and biological functionality. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 6021–6026
- Kam N, Liu Z, Dai H. Carbon nanotubes as intracellular transporters for proteins and DNA: An investigation of the uptake mechanism and pathway. *Angew Chem Int Ed*, 2006, 118: 591–595
- Kam N, Liu Z, Dai H. Functionalization of carbon nanotubes via cleavable disulfide bonds for efficient intracellular delivery of siRNA and potent gene silencing. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 12492–12493
- Tang X, Bangsaruntip S, Nakayama N, et al. Carbon nanotube DNA sensor and sensing mechanism. *Nano Lett*, 2006, 6: 1632–1636
- Chen Z, Tabakman S, Goodwin A, et al. Protein microarrays with carbon nanotubes as multicolor Raman labels. *Nat Biotechnol*, 2008, 26: 1285–1292
- Kam N, O’Connell M, Wisdom J, et al. Carbon nanotubes as multifunctional biological transporters and near-infrared agents for selective cancer cell destruction. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 11600–11605
- Chakravarty P, Marches R, Zimmerman N, et al. Thermal ablation of tumor cells with antibody-functionalized single-walled carbon nanotubes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 8697–8702

- 23 De la Zerda A, Zavaleta C, Keren S, et al. Carbon nanotubes as photoacoustic molecular imaging agents in living mice. *Nat Nanotech*, 2008, 3: 557–562
- 24 Rao A, Richter E, Bandow S, et al. Diameter-selective Raman scattering from vibrational modes in carbon nanotubes. *Science*, 1997, 275: 187–191
- 25 Heller D, Baik S, Eurell T, et al. Single-walled carbon nanotube spectroscopy in live cells: Towards long-term labels and optical sensors. *Adv Mater*, 2005, 17: 2793–2799
- 26 Huang N, Wang H, Zhao J, et al. Single-wall carbon nanotubes assisted photothermal cancer therapy: Animal study with a murine model of squamous cell carcinoma. *Laser Sur Med*, 2010, 42: 798–808
- 27 Pantarotto D, Singh R, McCarthy D, et al. Functionalized carbon nanotubes for plasmid DNA gene delivery. *Angew Chem Int Ed*, 2004, 116: 5354–5358
- 28 Liu Y, Wu D, Zhang W, et al. Polyethylenimine-grafted multiwalled carbon nanotubes for secure noncovalent immobilization and efficient delivery of DNA. *Angew Chem Int Ed*, 2005, 117: 4860–4863
- 29 Bhirde A A, Patel S, Sousa A A, et al. Distribution and clearance of PEG-single-walled carbon nanotube cancer drug delivery vehicles in mice. *Nanomedicine*, 2010, 5: 1535–1546
- 30 Pastorin G. Crucial functionalizations of carbon nanotubes for improved drug delivery: A valuable option? *Pharm Res*, 2009, 26: 746–769
- 31 Meng L, Zhang X, Lu Q, et al. Single walled carbon nanotubes as drug delivery vehicles: Targeting doxorubicin to tumors. *Biomaterials*, 2012, 33: 1689–1698
- 32 Kostarelos K, Bianco A, Prato M. Promises, facts and challenges for carbon nanotubes in imaging and therapeutics. *Nat Nanotech*, 2009, 4: 627–633
- 33 Wang X, Wang C, Cheng L, et al. Noble metal coated single-walled carbon nanotubes for applications in surface enhanced Raman scattering imaging and photothermal therapy. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 7414–7422
- 34 Liu Z, Yang K, Lee S T. Single-walled carbon nanotubes in biomedical imaging. *J Mater Chem*, 2011, 21: 586–598
- 35 Zerda A, Liu Z, Bodapati S, et al. Ultrahigh sensitivity carbon nanotube agents for photoacoustic molecular imaging in living mice. *Nano Lett*, 2010, 10: 2168–2172
- 36 Zhou F, Wu S, Wu B, et al. Mitochondria-targeting single-walled carbon nanotubes for cancer photothermal therapy. *Small*, 2011, 7: 2727–2735
- 37 Markovic Z M, Harhaji-Trajkovic L M, Todorovic-Markovic B M, et al. *In vitro* comparison of the photothermal anticancer activity of graphene nanoparticles and carbon nanotubes. *Biomaterials*, 2011, 32: 1121–1129
- 38 Marches R, Mikoryak C, Wang R H, et al. The importance of cellular internalization of antibody-targeted carbon nanotubes in the photothermal ablation of breast cancer cells. *Nanotechnology*, 2011, 22: 095–101
- 39 Welsher K, Liu Z, Daranciang D, et al. Selective probing and imaging of cells with single walled carbon nanotubes as near-infrared fluorescent molecules. *Nano Lett*, 2008, 8: 586–590
- 40 Muller J, Huaux F, Moreau N, et al. Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes. *Toxicol Appl Pharm*, 2005, 207: 221–231
- 41 Nagai H, Okazaki Y, Chew S H, et al. Diameter and rigidity of multiwalled carbon nanotubes are critical factors in mesothelial injury and carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: E1330–E1338
- 42 Meng L, Chen R, Jiang A, et al. Short multiwall carbon nanotubes promote neuronal differentiation of PC12 cells via up-regulation of the neurotrophin signaling pathway. *Small*, 2013, 9: 1786–1798
- 43 Wang P, Wang Y, Nie X, et al. Multiwall carbon nanotubes directly promote fibroblast-myofibroblast and epithelial-mesenchymal transitions through the activation of the TGF- β /smad signaling pathway. *Small*, 2014, 11: 446–455
- 44 Wang P, Nie X, Wang Y, et al. Multiwall carbon nanotubes mediate macrophage activation and promote pulmonary fibrosis through TGF- β /smad signaling pathway. *Small*, 2013, 9: 3799–3811
- 45 Liu Y, Zhao Y, Sun B, et al. Understanding the toxicity of carbon nanotubes. *Acc Chem Res*, 2012, 46: 702–713
- 46 Ge C, Du J, Zhao L, et al. Binding of blood proteins to carbon nanotubes reduces cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 16968–16973
- 47 Li X, Chen W, Zhan Q, et al. Direct measurements of interactions between polypeptides and carbon nanotubes. *J Phys Chem B*, 2006, 110: 12621–12625
- 48 Chen R, Zhang Y, Wang D, et al. Noncovalent sidewall functionalization of single-walled carbon nanotubes for protein immobilization. *J Am Chem Soc*, 2001, 123: 3838–3839
- 49 Guo Z, Sadler P, Tsang S. Immobilization and visualization of DNA and proteins on carbon nanotubes. *Adv Mater*, 1998, 10: 701–703
- 50 Balavoine F, Schultz P, Richard C, et al. Helical crystallization of proteins on carbon nanotubes: A first step towards the development of new biosensors. *Angew Chem Int Ed*, 1999, 38: 1912–1915
- 51 Wei G, Pan C, Reichert J, et al. Controlled assembly of protein-protected gold nanoparticles on noncovalent functionalized carbon nanotubes. *Carbon*, 2010, 48: 645–653

- 52 Erlanger B, Chen B, Zhu M, et al. Binding of an anti-fullerene IgG monoclonal antibody to single wall carbon nanotubes. *Nano Lett*, 2001, 1: 465–467
- 53 Vroman L, Adams A, Fischer G, et al. Interaction of high molecular weight kininogen, factor XII, and fibrinogen in. *Blood*, 1980, 55: 156–159
- 54 Roman T, Diño W A, Nakanishi H, et al. Amino acid adsorption on single-walled carbon nanotubes. *Eur Phys J D*, 2006, 38: 117–120
- 55 Roman T, Diño W A, Nakanishi H, et al. Glycine adsorption on single-walled carbon nanotubes. *Thin Solid Films*, 2006, 509: 218–222
- 56 Ganji M. Density functional theory based treatment of amino acids adsorption on single-walled carbon nanotubes. *Diam Relat Mater*, 2009, 18: 662–668
- 57 Li X, Chen W, Zhan Q, et al. Direct measurements of interactions between polypeptides and carbon nanotubes. *J Phy Chem B*, 2006, 110: 12621–12625
- 58 Wijaya I P M, Gandhi S, Nie T J, et al. Protein/carbon nanotubes interaction: The effect of carboxylic groups on conformational and conductance changes. *Appl Phys Lett*, 2009, 95: 073704
- 59 Chen Q, Wang Q, Liu Y C, et al. Energetics investigation on encapsulation of protein/peptide drugs in carbon nanotubes. *J Chem Phys*, 2009, 131: 015101
- 60 Shen J W, Wu T, Wang Q, et al. Adsorption of insulin peptide on charged single-walled carbon nanotubes: Significant role of ordered water molecules. *Chem Phys Chem*, 2009, 10: 1260–1269
- 61 Du J, Ge C, Liu Y, et al. The interaction of serum proteins with carbon nanotubes depend on the physicochemical properties of nanotubes. *J Nanosci Nanotech*, 2011, 11: 10102–10110
- 62 Sacchetti C, Motamedchaboki K, Magrini A, et al. Surface polyethylene glycol conformation influences the protein corona of polyethylene glycol-modified single-walled carbon nanotubes: Potential implications on biological performance. *ACS Nano*, 2013, 7: 1974–1989
- 63 Chen C, Li Y F, Qu Y, et al. Advanced nuclear analytical and related techniques for the growing challenges in nanotoxicology. *Chem Soc Rev*, 2013, 42: 8266–8303
- 64 Wang L, Li J, Pan J, et al. Revealing the binding structure of the protein corona on gold nanorods using synchrotron radiation-based techniques: Understanding the reduced damage in cell membranes. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 17359–17368
- 65 Zhong J, Song L, Meng J, et al. Bio-nano interaction of proteins adsorbed on single-walled carbon nanotubes. *Carbon*, 2009, 47: 967–973
- 66 Liu S, Yin J, Song M, et al. Interaction between water-soluble hydroxylated single-wall carbon nanotubes and human serum albumin (in Chinese). *Chem J Chin Univ*, 2009, 30: 1733–1738
- 67 Matsuura K, Saito T, Okazaki T, et al. Selectivity of water-soluble proteins in single-walled carbon nanotube dispersions. *Chem Phys Lett*, 2006, 429: 497–502
- 68 Shams H, Holt B D, Mahboobi S H, et al. Actin reorganization through dynamic interactions with single-wall carbon nanotubes. *ACS Nano*, 2013, 8: 188–197
- 69 Holt B D, Short P A, Rape A D, et al. Carbon nanotubes reorganize actin structures in cells and *ex vivo*. *ACS Nano*, 2010, 4: 4872–4878
- 70 Salvador-Morales C, Townsend P, Flahaut E, et al. Binding of pulmonary surfactant proteins to carbon nanotubes; potential for damage to lung immune defense mechanisms. *Carbon*, 2007, 45: 607–617
- 71 Karousis N, Papi R, Siskos A, et al. Peptidomimetic-functionalized carbon nanotubes with antitrypsin activity. *Carbon*, 2009, 47: 3550–3558
- 72 Besteman K, Lee J, Wiertz F, et al. Enzyme-coated carbon nanotubes as single-molecule biosensors. *Nano Lett*, 2003, 3: 727–730
- 73 Chen R, Choi H, Bangsaruntip S, et al. An investigation of the mechanisms of electronic sensing of protein adsorption on carbon nanotube devices. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 1563–1568
- 74 Davis J, Coleman K, Azamian B, et al. Chemical and biochemical sensing with modified single walled carbon nanotubes. *Chem Eur J*, 2003, 9: 3732–3739
- 75 Ye N, He W, Xu D. Enrichment of human serum proteins by multi-walled carbon nanotubes for mass spectrometric analysis (in Chinese). *Chin J Anal Lab*, 2008, 27: 66–68
- 76 Curtiss L K, Witztum J L. Plasma apolipoproteins AI, AII, B, CI, and E are glucosylated in hyperglycemic diabetic subjects. *Diabetes*, 1985, 34: 452–461
- 77 Hajipour M J, Laurent S, Aghaie A, et al. Personalized protein coronas: A “key” factor at the nanobiointerface. *Biomater Sci*, 2014, 2: 1210–1221

The mechanism and biological effects for the interaction of carbon nanotubes with proteins

DU JiangFeng & GE CuiCui

School of Radiation Medicine and Protection, Medical College of Soochow University, School for Radiological & Interdisciplinary Sciences, Soochow University, Suzhou 215123, China

Due to their extraordinary mechanical and physicochemical properties, carbon nanotubes have possessed broad range of potential applications in biology and biomedicine. However, the toxicological mechanism and safety of carbon nanotubes are still not understanding well. *In vivo*, carbon nanotubes could be interacted with the proteins firstly, when they were used in disease diagnose, imaging and drugs delivery fields. And then the physicochemical properties of carbon nanotube and the conformation of proteins would be changed, resulting in different biological effects. The biological devices based on proteins coated carbon nanotube have decreased the toxicity of carbon nanotubes and broaden the potential application. So it is important to describe the mechanism and biological effect of the interactions between carbon nanotubes and protein to guide safe applications of carbon nanotubes.

carbon nanotubes, proteins, interaction, biological effect, potential application

doi: 10.1360/N972015-00710