



多肽分子自组装

许小丁, 陈昌盛, 陈荆晓, 张先正*, 卓仁禧

生物医用高分子材料教育部重点实验室; 武汉大学化学与分子科学学院, 武汉 430072

*通讯作者, E-mail: xz-zhang@whu.edu.cn

收稿日期: 2010-10-29; 接受日期: 2010-11-13

doi: 10.1360/032010-782

摘要 源于自然界中广泛存在的蛋白质自组装现象, 近年来多肽的自组装逐渐成为材料学和生物医学等领域的研究热点. 通过合理调控多肽的分子结构以及改变外界的环境, 多肽分子可以利用氢键、疏水性作用、 π - π 堆积作用等非共价键力自发或触发地自组装形成形态与结构特异的组装体. 由于多肽自身具有良好的生物相容性和可控的降解性能, 利用多肽自组装技术构建的各种功能性材料在药物控制释放、组织工程支架材料以及生物矿化等领域内有着巨大的应用前景. 本文总结了近年来多肽自组装研究的进展, 介绍了多肽自组装技术常见的几种结构模型, 概括了多肽自组装的机理, 并进一步阐述多肽自组装形成的组装体形态及其在材料学和生物医学等领域里的应用.

关键词

多肽
自组装
形态与结构
应用

1 引言

分子自组装是利用分子与分子或分子中某一片段与另一片段之间的分子识别, 通过非共价作用形成具有特定排列顺序的分子聚集体. 非共价键相互作用力是分子发生自组装的关键. 常见的非共价键相互作用力包括氢键作用、范德华力、静电作用、疏水作用、 π - π 堆积作用、阳离子- π 吸附作用等^[1]. 非共价键相互作用力维持了自组装体系的结构稳定性和完整性, 但并不是所有分子都具有自组装行为, 它的产生需要两个条件: 自组装的动力以及导向作用. 自组装的动力指的是分子间的非共价键相互作用力的协同作用, 它为分子自组装提供能量; 而自组装的导向作用指的是分子要在空间上存在互补性, 分子能够在空间的尺寸和方向上实现重排和堆积. 随着自组装技术的逐渐发展, 通过分子自组装可以得到具有光、电、催化等功能和特性的自组装材料, 例如非线性光学器件、化学生物传感器、信息存储材料和组织生长支架材料等^[2-4].

多肽是涉及生物体内各种细胞功能的生物活性

物质, 是介于氨基酸和蛋白质之间的一类化合物, 由多种氨基酸按照一定的排列顺序通过肽键结合而成. 由于多肽链段上氨基酸残基具有不同的化学结构, 多肽可以利用其肽键间氢键作用以及氨基酸残基之间的氢键作用、静电作用、疏水性作用以及 π - π 堆积作用等有效实现分子自组装. 自然界常见的氨基酸有 20 种, 通过分子设计和多肽合成等手段可以得到成千上万种结构特异、具有不同功能的多肽, 有利于多肽自组装的基元选择和自组装条件的优化. 此外, 由于多肽是涉及生物体内各种细胞功能的生物活性物质、具有良好的生物相容性和可控的降解性, 相对于其他自组装体系, 多肽的自组装有着更为广阔的应用前景, 尤其是在组织工程、基因治疗等生物医学领域. 基于以上优点, 近年来多肽的自组装引起国内外研究人员越来越大的研究兴趣. 1993 年, Ghadiri 等设计并合成了含有 8 个氨基酸残基的环肽(cyclo-[(L-Gln-D-Ala-L-Glu-D-Ala)₂-]), 通过交替改变分子结构中氨基酸残基的空间构象(L 型和 D 型), 该环肽可以在水溶液中自组装形成纳米管状结构^[5]. 同年, Zhang 等报道了

一种可以自组装形成水凝胶膜的离子互补型十六肽^[6]. 随后, 一系列具有自组装行为的多肽相继被报道^[7-21].

多肽自组装可以分为自发型自组装和触发型自组装. 自发型自组装是指多肽溶解在水溶液中后, 可以自发地形成组装体. 如 Zhang 等报道的由精氨酸(R)残基、天冬氨酸(D)残基和丙氨酸(A)残基交替排列的离子互补型 RAD16 系列肽^[6-8, 22]以及可以自组装形成纳米管、囊泡等结构的脂质体型小分子多肽^[23, 24]. 触发型多肽自组装是指通过改变外界环境如温度、pH、离子浓度等引导的自组装. 目前大部分的多肽自组装研究集中在触发型自组装, 因为这类自组装具有可逆性, 为多肽自组装技术的潜在应用提供了良好的可控性. 目前已报道的触发型多肽自组装主要包括温度敏感^[25, 26]、pH 敏感^[27, 28]、光敏感^[29, 30]以及配体-受体敏感^[31, 32]等类型的自组装. 事实上, 无论是自发型还是触发型, 其自组装都是基于二级结构如 α -螺旋(α -helix)、 β -折叠(β -sheet)的形成或者其自身分子结构的两亲性. 本文从多肽二级结构的转变以及其自身结构的两亲性逐一阐述多肽自组装的机理、自

组装体的形貌及其应用.

2 基于二级结构形成的多肽自组装

多肽的一级结构即为自身的化学结构, 当把多肽溶解在水溶液中, 多肽分子可以自发或触发地向二级结构转变. 这种空间构象的转变往往导致多肽自组装行为的发生. 多肽自组装过程中常见的二级结构主要包括 α -螺旋(α -helix)、 β -折叠(β -sheet)、 β -发夹(β -hairpin)等.

2.1 α -螺旋(α -Helix)

α -螺旋是多肽类分子主要的二级结构, 空间上表现为多肽链段上肽键通过氢键作用形成的单一的螺旋结构(图 1(a)). 在构建 α -螺旋结构时, 由于每一个螺旋状的旋转需要大约 3.6 个氨基酸残基, 因此多肽链段上 3 到 4 个氨基酸残基组成的多肽片段需要具有类似的化学性质, 如亲疏水性等. 由于 α -螺旋的热力学不稳定性, 在溶液中往往难以稳定的螺旋形式

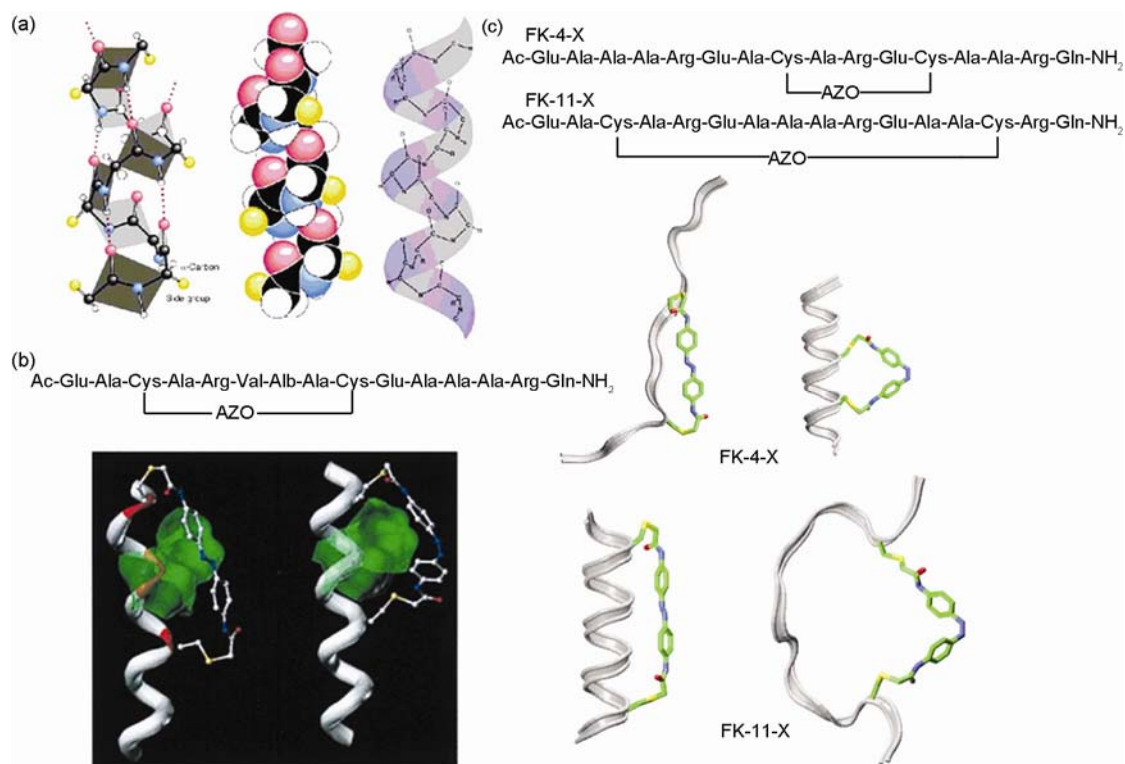


图1 多肽 α -螺旋空间结构(a)以及 Acetyl-EACARVAibAAEEAAARQ-NH₂ 肽^[33](b)、FK-4-X 和 FK-11-X 肽^[37](c)光敏感自组装行为示意图

存在. 因此, 稳定 α -螺旋构象对于此类多肽的自组装研究具有极其重要的意义. 常用的方法有化学交联在 α -螺旋结构中同一侧面的氨基酸残基、氢键配对、金属配位以及盐桥作用等^[28, 33~41]. 例如, Kumita 等^[33]利用多肽固相合成技术得到了含有两个半胱氨酸(C)残基的十六肽(acetyl-EACARVAibAAC $\underline{\text{E}}$ AAARQ-NH₂, 两个半胱氨酸残基分别位于 i 和 $i+7$ 位). 如图 1(b)所示, 用含有偶氮苯基团的交联剂对两个半胱氨酸残基进行交联后, 由于在光照的条件下偶氮苯基团可以实现反式到顺式的转变, 导致该肽在水溶液中的 α -螺旋结构大大增加并趋于稳定, 这样也使得其自组装行为具有光敏感特性. 同时, 他们还进一步研究了两个半胱氨酸残基分别位于 i 和 $i+4$ 位(acetyl-EAAAREACARE $\underline{\text{C}}$ EAARQ-NH₂, FK-4-X)以及 i 和 $i+11$ 位(acetyl-EACAREAAAREAA $\underline{\text{C}}$ RQ-NH₂, FK-11-X)的两种肽的自组装行为^[34]. 通过含有偶氮苯基团的交联剂对两个半胱氨酸残基进行交联, 顺式的偶氮苯基团有利于 FK-4-X 肽在水溶液中形成稳定的 α -螺旋结构, 而反式的偶氮苯基团则有利于 FK-11-X 肽在水溶液中形成稳定的 α -螺旋结构(图 1(c)). Mihara 等^[42]设计合成了 Ac-AAEALLKAHAELLA-AGGGC-NH₂ 二十一肽. 在水溶液中, 多肽链段上谷

氨酸(E)残基和赖氨酸(K)残基间的盐桥作用在一定程度上能够稳定 α -螺旋结构. 同时该种多肽结构上半胱氨酸残基可以通过二硫键交联形成二聚的H2 α -17肽. 这种新形成的H2 α -17肽结构中的两个组氨酸(H)残基通过与血红素识别形成金属配位桥联的平行 α -螺旋链, 导致 α -螺旋的稳定性显著增强, 能够自组装形成稳定的纳米聚集体. 另外 Lee 等^[43]巧妙地利用多肽分子的 β -折叠(β -sheet)结构来增强和稳定 α -螺旋构象. 研究发现, 孤立的 AAAAKAAAAK 多肽片段在水溶液中只有部分形成 α -螺旋结构, 而将 AAAAKAAAAK 多肽片段与 WKWEWKWEW 多肽片段相连形成环状多肽后, WKWEWKWEW 多肽片段形成的 β -折叠有序排列能够有效地诱导 AAAAKAAAAK 多肽片段形成稳定的 α -螺旋结构, 从而使得该环肽在水溶液中组装成纳米棒、球状纳米粒子等结构.

除了 α -螺旋, 近年来研究发现, 部分多肽的自组装是基于多股 α -螺旋即卷曲螺旋(coiled-coil)的超二级结构^[15, 16, 44~46]. 其空间上表现为两股或多股 α -螺旋结构之间通过氢键作用、静电作用以及疏水性作用形成的超螺旋结构. 用于构建卷曲螺旋结构的多肽分子结构中正常含有 3 到 4 个由 7 个氨基酸残基组成的基本重复单元(图 2(a)中的 a~g). 其中, a, d, e, g 四

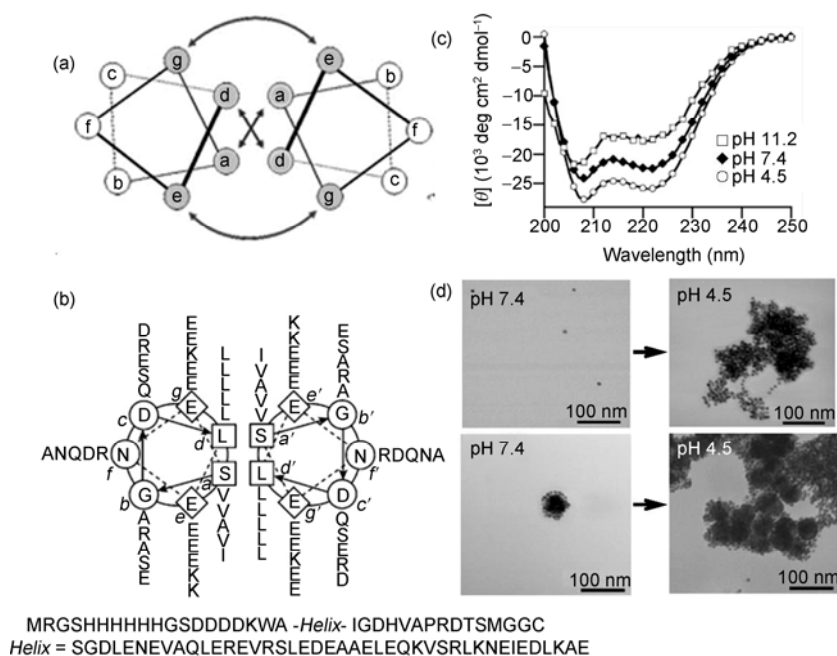


图 2 (a)多肽卷曲螺旋超二级结构; (b)含有 SGDL $\underline{\text{E}}$ NEVAQLEREVRSLE $\underline{\text{D}}$ EAAE $\underline{\text{L}}$ E $\underline{\text{Q}}$ KVSRL $\underline{\text{K}}$ NEIEDLKAE 序列的七十二肽形成的卷曲螺旋结构^[47]; (c)该七十二肽在 pH 为 4.5, 7.4 以及 11.2 水溶液的圆二色谱图(208, 222 nm 为 α -螺旋特征峰)^[50]; (d)该七十二肽与金纳米粒子键合后的透射电镜图^[51]

个位置上的氨基酸残基之间的相互作用是构建卷曲螺旋模型的内在作用力; a, d 两个位置上氨基酸残基之间的作用力为疏水性作用, 而 e, g 两个位置上氨基酸残基则可以通过静电作用来达到调节卷曲螺旋结构内核的疏水性强弱. 因此, 如果改变外界的 pH 值, e, g 两个位置的氨基酸残基可以进行质子化, 它们之间的静电排斥作用使得卷曲螺旋结构趋于不稳定. 事实上, 很多研究表明基于卷曲螺旋结构的多肽自组装都具有 pH 敏感性^[47-50]. 例如, Stevens 等^[50]合成了一种含有半胱氨酸端基的七十六肽, 其中 42 个氨基酸序列 (SGDLENEVAQLEREVRSLEDEAAELEQKVSRLKNEIEDLKAE)可以形成卷曲螺旋结构. 如图 2(b)所示, 由于 d 位置是亮氨酸(L)残基而 e, g 两位置为谷氨酸(E)残基, 在酸性水溶液中(pH 4.5), 该肽可以形成卷曲螺旋结构, 而且 e, g 两位置上谷氨酸残基间氢键作用可以稳定卷曲螺旋结构, 使得该肽可以自组装形成纳米纤维. 使用圆二色谱仪跟踪监测

时发现(图 2(c)), 升高溶液的 pH 值至中性(pH 7.4)或碱性(pH 11.2)后, e, g 两位置上谷氨酸残基质子化, 它们之间的静电排斥作用使得卷曲螺旋结构趋于不稳定, 会破坏自组装形成的纳米纤维结构. 基于上述的 pH 敏感性, 他们更进一步利用半胱氨酸端基上的巯基与金纳米粒子共价键结合^[51]. 在中性条件下(pH 7.4), 由于卷曲螺旋结构不稳定, 金纳米粒子均匀分散在水溶液中; 而在酸性条件下(pH 4.5), 多肽的自组装可以使金纳米粒子迅速在纤维表面聚集, 达到还原金的目的(图 2(d)).

与 Stevens 等不同, Woolfson 等在保持 d 位置为亮氨酸(L)残基的基础上, 在 e, g 两位置上引入谷氨酸(E)以及赖氨酸(K)残基, 得到一系列离子互补型二十八肽(图 3(a))^[52]. 在中性水溶液中, 这一系列肽可以利用 e, g 两位置上谷氨酸以及赖氨酸残基之间静电吸引作用构建稳定的卷曲螺旋结构, 并自组装形成纳米纤维. 升高溶液的离子浓度后, 谷氨酸以及赖

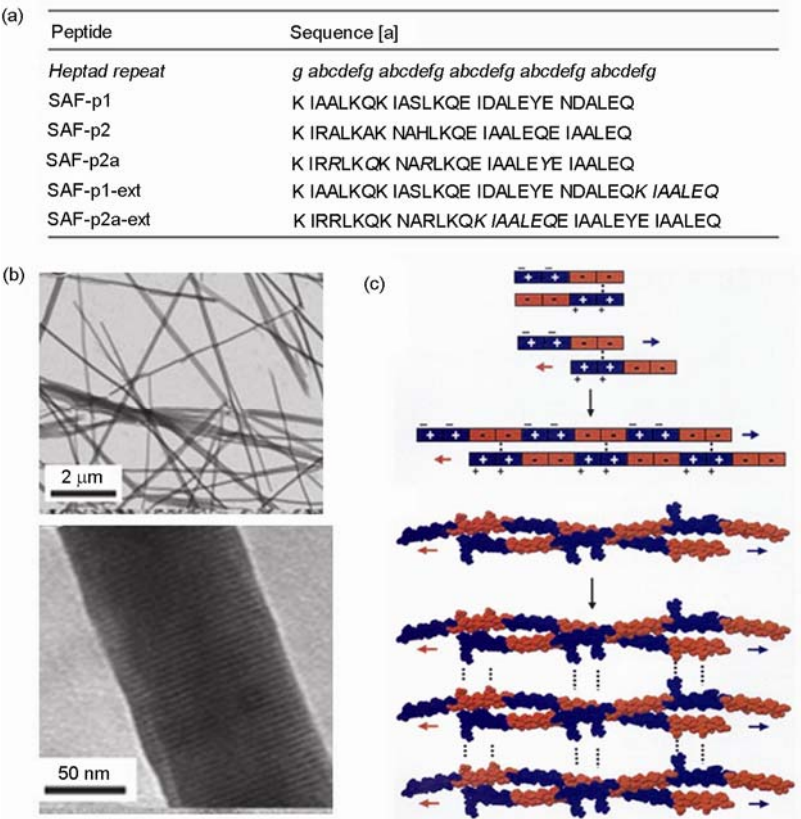


图 3 (a)卷曲螺旋结构中 e, g 两位置上位谷氨酸(E)以及赖氨酸(K)残基的几种多肽^[52]; (b)SAF-p1 和 SAF-p2a 两种肽共同自组装形成的微米级纤维透射电镜图^[53]; (c)SAF-p1 和 SAF-p2a 两种肽在自组装过程中初始形成的原纤维表面异性电荷的静电吸引作用示意图^[54]

氨酸残基上的电荷被屏蔽, 卷曲螺旋结构转变为无规卷曲, 进而破坏了纳米纤维自组装结构. 在此基础上, 他们还进一步研究发现, 卷曲螺旋结构中 b 位置分别为天冬氨酸和精氨酸的两种肽(图 3(a)中 SAF-p1 和 SAF-p2a)可以在水溶液中共同自组装形成稳定的微米级纤维(图 3(b))^[53, 54]. 通过高倍透射电镜观测可以发现这些微米级纤维是由很多个纳米纤维定向聚集而成. 其聚集的驱动力是 SAF-p1 和 SAF-p2a 两种肽在自组装过程中初始形成的原纤维表面异性电荷的静电吸引作用(图 3(c)).

2.2 β -折叠(β -Sheet)

β -折叠也是多肽类分子常见的二级结构, 空间结构表现为多肽链段通过平行(称为平行 β -折叠)或反平行(称为反平行 β -折叠)方式排列形成的薄片, 其内部作用力主要为多肽链段上肽键间的氢键作用(图 4(a)). 在众多的多肽自组装研究中, 反平行 β -折叠结构居多. 这是因为反平行 β -折叠结构中多肽链段之间氢键距离(图 4(b))相对平行 β -折叠中氢键距离较短

(图 4(c)), 氢键作用相对较强. 研究表明, 许多疾病, 如 Alzheimer 和 Parkinson 等与体内蛋白 β -折叠空间结构所导致的沉淀聚集有关^[55~57]. 基于 β -折叠的多肽自组装研究很多, 其中以亲疏水氨基酸残基相互穿插构成的多肽居多, 一个典型代表为 Lego 肽^[6~8, 58~63]. 这种肽由极性和非极性氨基酸残基交替排列组成, 类似 Lego 玩具上凸出的栓和凹陷的孔洞而得名. 由于 Lego 肽这种规则的分子结构(极性和非极性氨基酸交替排列), 多肽链段易在空间上通过氢键作用相互排列堆积形成 β -折叠的二级结构. Yokoi 等^[22]设计了由带正电荷的精氨酸(R)残基、带负电荷的天冬氨酸(D)残基和不带电荷的丙氨酸(A)残基交替排列的 RADA16-I 肽([COCH₃]-RADARADARADARA-DA-[CONH₂]), 图 4(d). 如图 4(e)所示, 在水溶液中, 疏水的丙氨酸残基迅速彼此靠拢聚集以降低体系的能量, 而能够电离的天冬氨酸残基和精氨酸残基则通过静电作用相互吸引排列在组装体的外层. 由于丙氨酸残基是靠疏水作用力相结合, 而非化学键键合, 丙氨酸残基可以横向滑移以减少其与水分子的接触,

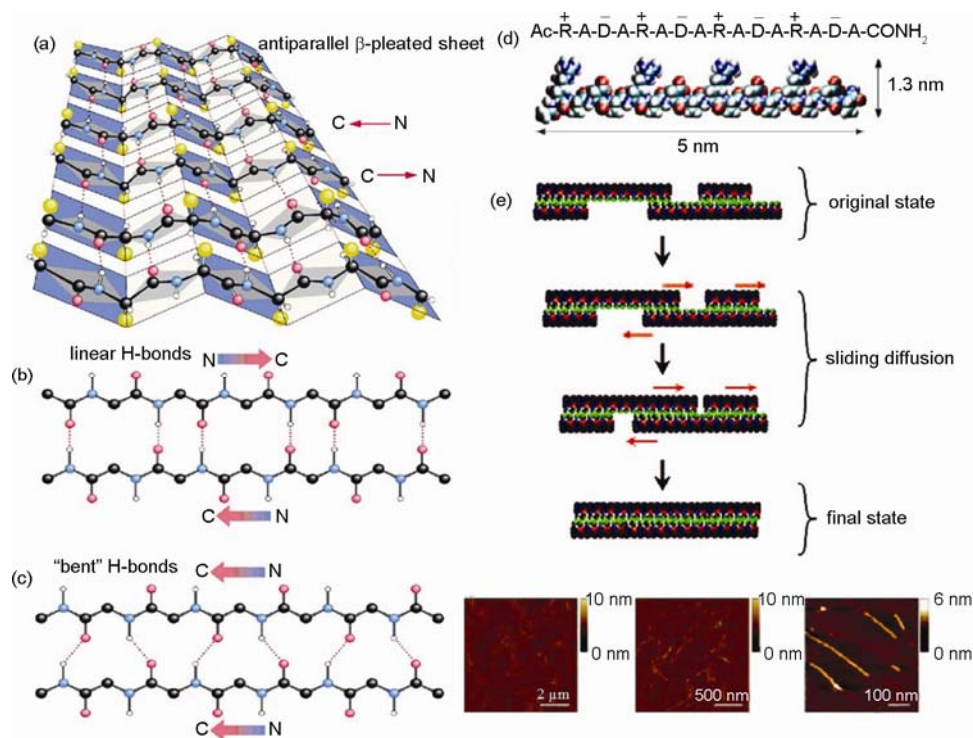


图 4 (a)多肽 β -折叠二级结构; (b)多肽 β -折叠二级结构中平行氢键作用; (c)多肽 β -折叠二级结构中反平行氢键作用; (d)Lego 型 RADA16-I 肽分子 3D 模拟结构^[22]; (e)Lego 型 RADA16-I 肽自组装过程中丙氨酸残基横向滑移形成规整的具有 β -折叠结构的纳米纤维^[22]

最终使肽链的疏水面完全契合形成规整的具有 β -折叠结构并自组装形成纳米纤维。目前, RADA16-I 肽已经商品化(PuraMatrix), 应用于多种组织和细胞培养^[8, 62, 63]。

除了上述 RADA16-I 肽, Lego 肽还有大量其他的分子结构。例如, Rapaport 等^[64]报道的 Pro-Glu-(Phe-Glu) $_n$ -Pro ($n = 4, 5$ 或 7) 肽, 由带负电荷的亲水谷氨酸残基 Glu 和疏水的苯丙氨酸残基 Phe 构成, 在空气和水的界面能以 β -折叠的结构自组装形成单分子层。类似的, Kamm 等^[65-67]合成的八肽 FKFEFKFE(KFE8) 中, 赖氨酸(K)残基带正电荷, 谷氨酸(E)残基带负电荷, 而苯丙氨酸(F)残基不带电荷, 组成了典型的亲疏水交替肽。通过实验观测与模拟计算发现, KFE8 肽能够以双螺旋状 β -折叠结构自组装形成较规则的纳米纤维。在 pH 值为 4 时, 纳米纤维可以在水溶液中迅速相互缠绕形成 KFE8 肽的超分子凝胶。Epand 等^[68]报道的 Ac-(LeuLysLysLeu) $_5$ -NH₂ 和 Ac-(LysLeu) $_{10}$ -

NH₂ 肽也能够在水溶液中以 β -折叠结构自组装形成纳米纤维。

除了自组装形成纳米纤维外, 研究发现多肽分子还可以利用其 β -折叠的二级结构自组装形成纳米管, 囊泡等组装体。例如, Ghadiri 等^[5]最早设计并合成的含有 8 个氨基酸残基的环肽(cyclo-[(L-Gln-D-Ala-L-Glu-D-Ala) $_2$]), 如图 5(a)所示, 通过交替改变分子结构中丙氨酸残基的空间构象(L 型和 D 型)。该环肽可以在水溶液中自组装形成具有 β -折叠结构的纳米管。Couet 等^[69]在环肽 cyclo-(L-Lys-D-Ala-L-Asp-D-Ala-L-Lys-D-Ala-L-Lys-D-Ala)结构上引入异丁基溴功基。在水溶液中, 该种环肽可以自组装形成具有 β -折叠结构的纳米管。如图 5(b)所示, 由于异丁基溴功基分布在纳米管的表面, 该种纳米管可以作为模板进行原子转移自由基聚合(ATRP), 形成一种多肽-聚合物复合纳米材料。Reiriz 等^[70]利用固相合成技术将 C₆₀ 接到含有八个氨基酸残基的环肽上。如图 5(c)所

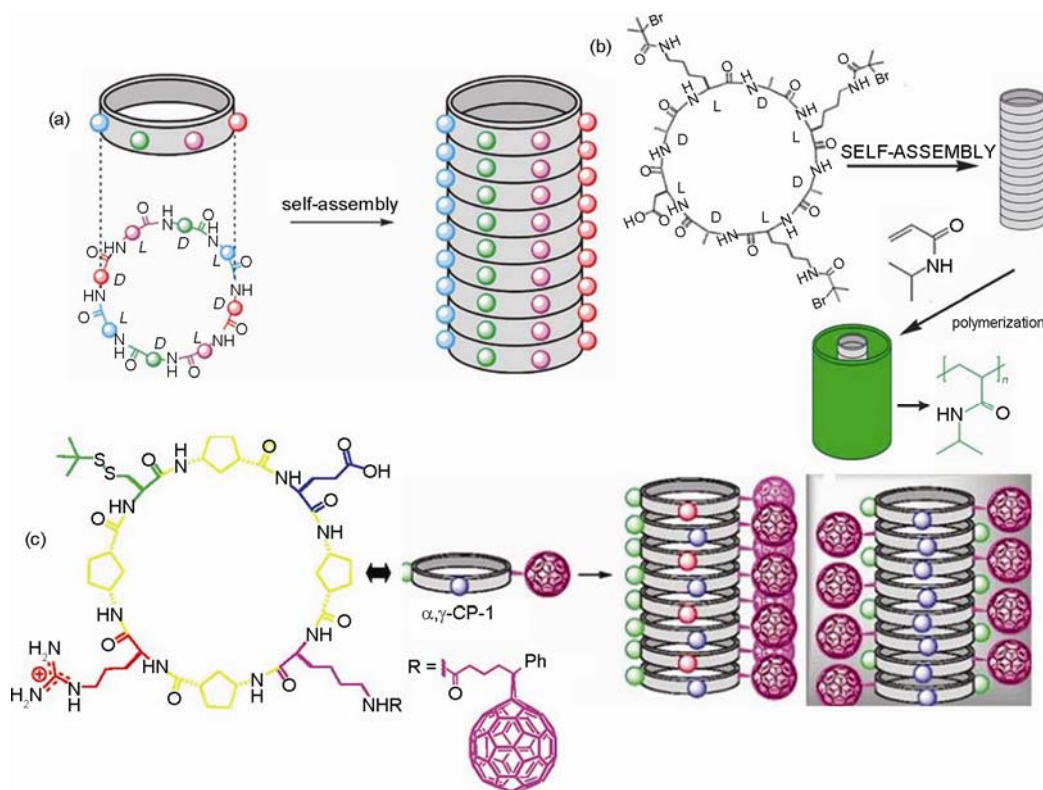


图5 (a)Ghadiri 等最早设计并合成的环肽(cyclo-[(L-Gln-D-Ala-L-Glu-D-Ala) $_2$])自组装形成具有 β -折叠结构的纳米管^[5]; (b)含有异丁基溴功能基的 cyclo-(L-Lys-D-Ala-L-Asp-D-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-D-Ala)环肽自组装形成具有 β -折叠结构的纳米管并引发 *N*-异丙基丙烯酰胺聚合形成多肽-聚合物复合纳米材料^[69]; (c)共价键结合 C₆₀ 的环肽在水溶液中自组装形成含有单层 C₆₀ 的纳米管^[70]

示, 在水溶液中该肽能够利用其 β -折叠结构自组装形成含有单层 C60 的纳米管. 近年来, 由环肽利用其 β -折叠结构自组装形成的纳米管在生物传感器^[71]、光器件^[72]以及电化学器件^[73]等方面都有着广泛的应用.

研究表明, 不仅单一的多肽链段能够以 β -折叠结构进行自组装, 两种或多种多肽也可通过分子间的非共价键相互作用共同自组装形成具有 β -折叠结构的组装体. Ramachandran 等^[74, 75]分别研究了阳离子型 acetyl-KWKVKVKVKVKVK-NH₂-(KVV15)、acetyl-WKVKVKVKVK-NH₂(KVV10)肽以及阴离子型 acetyl-EWEVEVEVEV-NH₂(EVW10)肽在水溶液中的自组装行为. 把阳离子型和阴离子型肽简单地混合在水溶液中后, 分子间静电吸引作用可以使两种多肽分子结合在一起, 并共同自组装形成具有 β -折叠结构的纳米纤维. 相对于单一阳离子型或阴离子型肽的自组装, 这种共同自组装并未改变溶液的 pH 值和盐浓度, 因此在组织工程支架材料领域具有潜在的应用前景.

2.3 β -发夹(β -Hairpin)

β -发夹是多肽二级结构 β -turn(β -转角)的衍变, 类似于 β -折叠结构, 是由 Schneider 等^[76]提出的一种多肽结构模型. 空间结构表现为多肽链段上氨基酸残基通过氢键作用形成的 U 形弯曲. 构建 β -发夹结构要求多肽链段中必须含有能够发生弯曲的氨基酸序列, 常见的是脯氨酸-甘氨酸(Pro-Gly)或者脯氨酸-苏氨酸(Pro-Thr)序列. Schneider 等利用多肽的固相合成技术先后制备了 MAX1-7 七种可以形成 β -发夹结构的多肽(图 6(a)). 在这些多肽分子结构中, 亲水性的赖氨酸(K)残基和疏水性的缬氨酸(V)氨基交替排列. 在酸性条件下, 质子化的赖氨酸残基之间的静电排斥作用使多肽分子不能形成 β -发夹结构. 升高溶液的 pH 值或增加溶液的离子浓度屏蔽静电排斥作用后, 多肽则可以形成以赖氨酸残基为内面、缬氨酸残基为外面的 β -发夹结构, 并进一步利用其缬氨酸残基外面的疏水性作用自组装形成纳米纤维(图 6(b))^[76-78]. 由于 MAX 系列肽可以在细胞培养液 DMEM 中自组装形成多肽凝胶, 因而可以作为细胞生长支架材料^[75]以及药物控释载体^[80]. 同时, 由于 MAX 系列肽中存在可电离的赖氨酸残基, 由 MAX 系列肽构成的多肽凝胶还具有一定的抑菌功能^[81]. Schneider 等还进一步对 MAX 系列肽进行化学修饰, 使得它们的自组装行为具有光^[29]、温

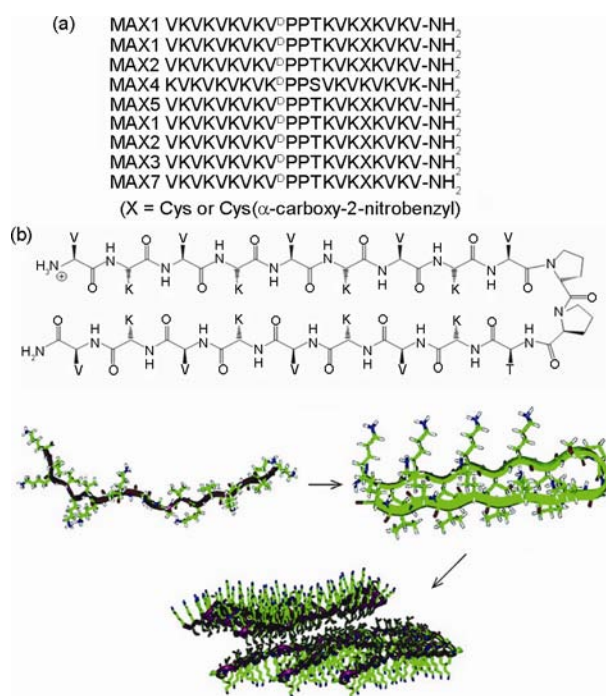


图 6 (a)可以形成 β -发夹空间结构的 MAX1-7 系列肽^[76-78]; (b)MAX 系列肽通过构建 β -发夹空间结构自组装形成纳米纤维和多肽凝胶^[76]

度^[82]等敏感特性.

3 基于两亲性分子结构的多肽自组装

两亲性分子与水分子相互作用时倾向于将其亲水段裸露在外围与水分子形成交界面, 疏水段则向内聚集. 在多肽的自组装研究中, 研究人员将传统的两亲性概念引入到多肽自组装体系中. 常用的手段是将疏水性的基团引入到多肽链段的一端, 这样得到的多肽衍生物类似于表面活性剂或脂质体, 通常称之为两亲性多肽(peptide amphiphile). 相对于前面所述的利用多肽空间结构转变的自组装, 两亲性多肽需要的多肽链段相对较短, 例如在简单的甘氨酸-甘氨酸(GG)二肽一端引入 9-芴甲氧羰基(FMOC)就可使其自组装形成纳米纤维^[31]. 目前常用的疏水性基团主要包括脂肪族烷基链和芳香族功能基.

3.1 以脂肪族烷基链为端基的两亲性多肽自组装

Kunitake 等最早提出了两亲性多肽的概念^[83]. 如 7(a)所示, 这种两亲性多肽包括一个疏水性的尾部(由一个或多个脂肪族烷基链组成)、连接区、间隔区

以及亲水性的头部(由多肽链段组成), 连接区将疏水性尾部与亲水性头部相连, 而间隔区增加二者之间连接距离, 以避免头尾两部分在自组装过程中相互干扰. 这种两亲性多肽能在水溶液中进行亲水段向外、疏水段向内的有序排列. 通过合理调控其结构中四部分的成分以及长短可以得到胶束、囊泡、单层膜、纳米纤维、纳米管、纳米盘等组装体^[12, 13, 84]. Gore 等^[85]设计合成了类似于胶原蛋白三螺旋结构的两亲性多肽(图 7(b)), 并研究疏水性烷基链长短、数目以及温度对该肽自组装行为的影响. 结果表明, 具有单个疏水性烷基链的两亲性多肽可以在水溶液中自组装形成球状胶束. 含有两个 C12 或 C14 疏水性烷基链的两亲性多肽同样可以自组装形成球状胶束(图 7(c)); 增长两个疏水性烷基链长度至 C16 或 C18 时, 两亲性多肽可以自组装形成盘状胶束, 而且这些盘状胶束在室温下可以相互堆积形成绳状组装体(图 7(d)). 此时, 升高体系的温度并冷却至室温后, 绳状组装体消失, 取而代之的是球状胶束.

近年来, 许多研究人员对 Kunitake 等提出的两亲性多肽概念进行简化并发现许多只有疏水性烷基链和亲水性的多肽链段组成的两亲性多肽也可以进

行自组装. 如图 8(a)所示, 这类两亲性多肽可以通过烷基链的疏水性作用以及多肽链段的氢键作用(β -折叠二级结构)在水溶液进行自组装, 形成的组装体绝大部分为纳米纤维(由于这些纳米纤维具有规整的疏水性内核和亲水性外壳, 可称之为纤维状胶束^[12]). Stupp 等对这一类型的两亲性多肽进行了系统、深入的研究, 包括在多肽链段中引入具有生物活性氨基酸序列, 例如具有细胞粘附特性的线性和环状精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)序列^[13, 86-89], 以及能够促进神经突生长的异亮氨酸-赖氨酸-缬氨酸-丙氨酸-缬氨酸序列(IKVAV)^[90-92]. 他们还针对这类两亲性肽的自组装形态, 采用计算模拟辅以实验观察的方式绘制出形态转变的“相图”^[93, 94](图 8(c)), 研究此类两亲性多肽分子在水溶液中的自组装形态变化与分子间作用力、溶液 pH 值、溶液盐离子浓度等之间的关系, 较直观地阐述了两亲性多肽在不同条件下的自组装形态及结构模型. Paramonov 等^[95]对肽链上 N-甲基化进行修饰来调控氢键数目, 研究氢键作用对这类两亲性多肽自组装行为的影响. 研究发现, 减少肽链片段间的氢键作用将会使分子不易形成纳米纤维, 而更倾向于形成球形纳米胶束. 我们也考察了不同

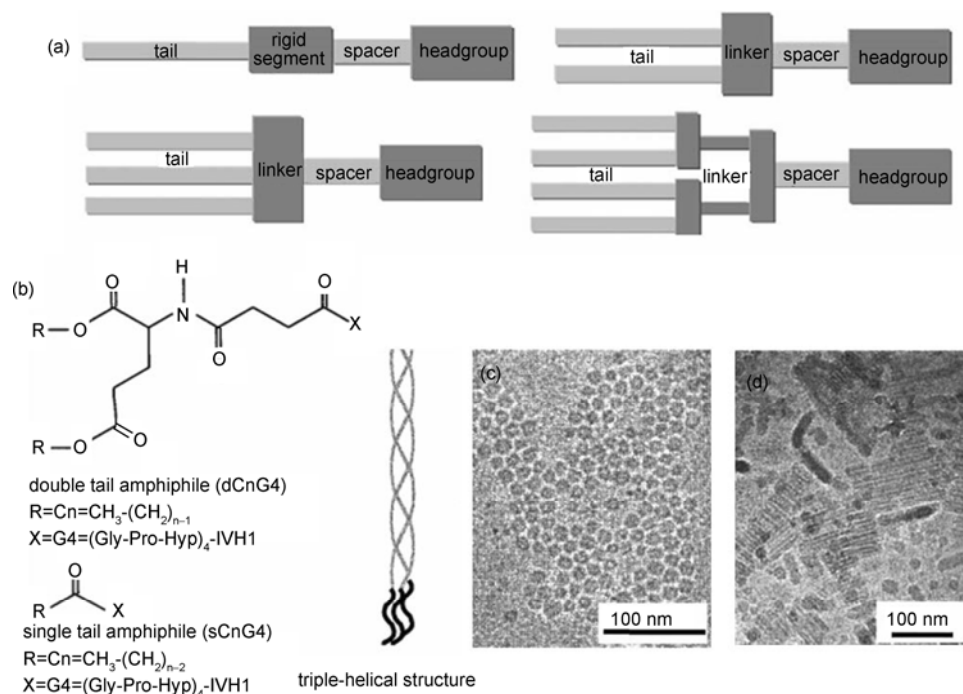


图 7 (a)Kunitake 等两亲性多肽的结构模型^[83]; (b)类似于胶原蛋白三螺旋结构的几种两亲性多肽分子结构^[85]; (c), (d)该系列两亲性多肽自组装形成的组装体透射电镜图^[85]

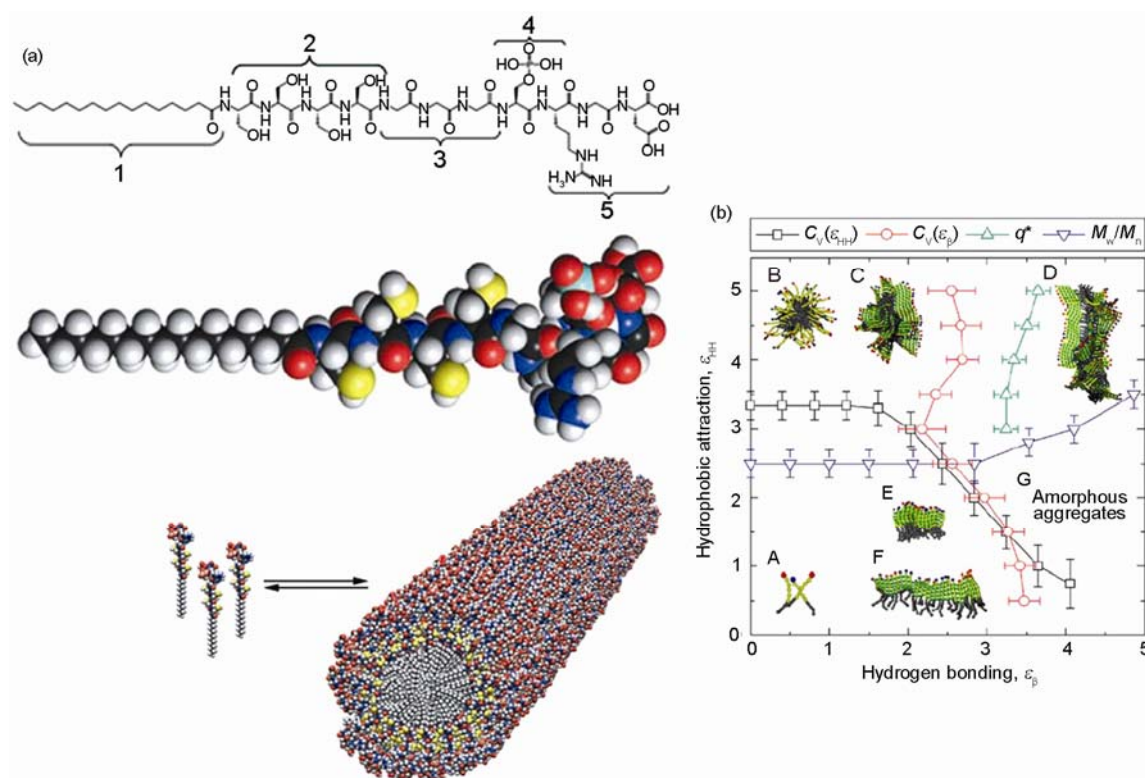


图 8 (a)由疏水性烷基链和亲水多肽链段组成的两亲性多肽自组装机理^[12]; (b)计算模拟该类两亲性肽自组装结构 (ϵ_{HH})相图, 其中各个区域分别代表自由分子(A)、球形胶束(B)、外围为 β -折叠冠状结构的胶束(C)、圆柱状长纤维(D)、平行堆积 β -折叠(E)、单层 β -折叠(F)以及无规聚集体(G)^[93, 94]

的疏水性端基、氨基酸序列以及溶液的 pH 对这一类型两亲性多肽自组装行为的影响^[96, 97]. 研究发现, 在中性或碱性水溶液中, 由于两亲性多肽电离而存在静电排斥作用, 具有较短疏水性烷基链或较大体积疏水性端基(如 Fmoc 功能基)的两亲性多肽更加倾向于形成球状纳米胶束或囊泡, 其自组装行为与离子型表面活性剂类似. 对于具有较长疏水性烷基链的两亲性多肽, 由于其较强的疏水性作用有效抑制静电排斥作用, 两亲性多肽更加倾向于形成纳米纤维结构(图 9(a)).

含有疏水性烷基链的两亲性多肽除了可以自组装得到各种功能性多肽材料, 研究人员还在其多肽链段中引入带正电的氨基酸残基如精氨酸 R 和赖氨酸 K, 制备可以携带 DNA 的两亲性多肽基因载体^[98-100]. 相对于传统的基因载体, 如 25 kDa 聚乙烯亚胺(PEI), 两亲性多肽基因载体可以有效降低载体毒性和提供靶向性. 我们^[101]制备了一系列含有跨膜肽(8 个连续的精氨酸序列)的两亲性多肽基因载体. 这些两亲性

多肽能够与 DNA 复合并共同自组装形成纳米组装体(图 9(b)). 其基因转染效率随着疏水性烷基链的增长而显著增加. 其中含有 RGD 靶向基团 $C_{17}H_{35}-CONH-GR_7RGD$ 肽负载 DNA 的转染效率与 25 kDa PEI 相当. Liu 等^[102]将疏水性的烷基链改为胆固醇并在多肽链段引入 TAT 肽(6 个连续的精氨酸序列), 得到一种新型的两亲性多肽基因载体(图 9(c)). 研究表明该两亲性多肽可以与 DNA 紧密的复合, 并表达出较高的转染效率达到抗菌的效果. Tarwadi 等^[103]采用带正电荷的赖氨酸 K、具有 pH 缓冲作用的组氨酸 H 以及可以通过氧化交联的半胱氨酸 C 与一条烷基链构成两亲性肽. 研究表明, 其中的两种肽 PalCK₂H₂ 和 PalCK₃H₂(Pal: palmitoyl fatty chain C₁₆)可较好地复合 DNA, 且转染效率较高, 能够有效地在细胞中进行基因传递. 而且通过调节组氨酸和赖氨酸的比例以及在多肽链段上的排列顺序, 还可进一步提高转染效率.

除了上述含有疏水性尾部和亲水性头部的两亲

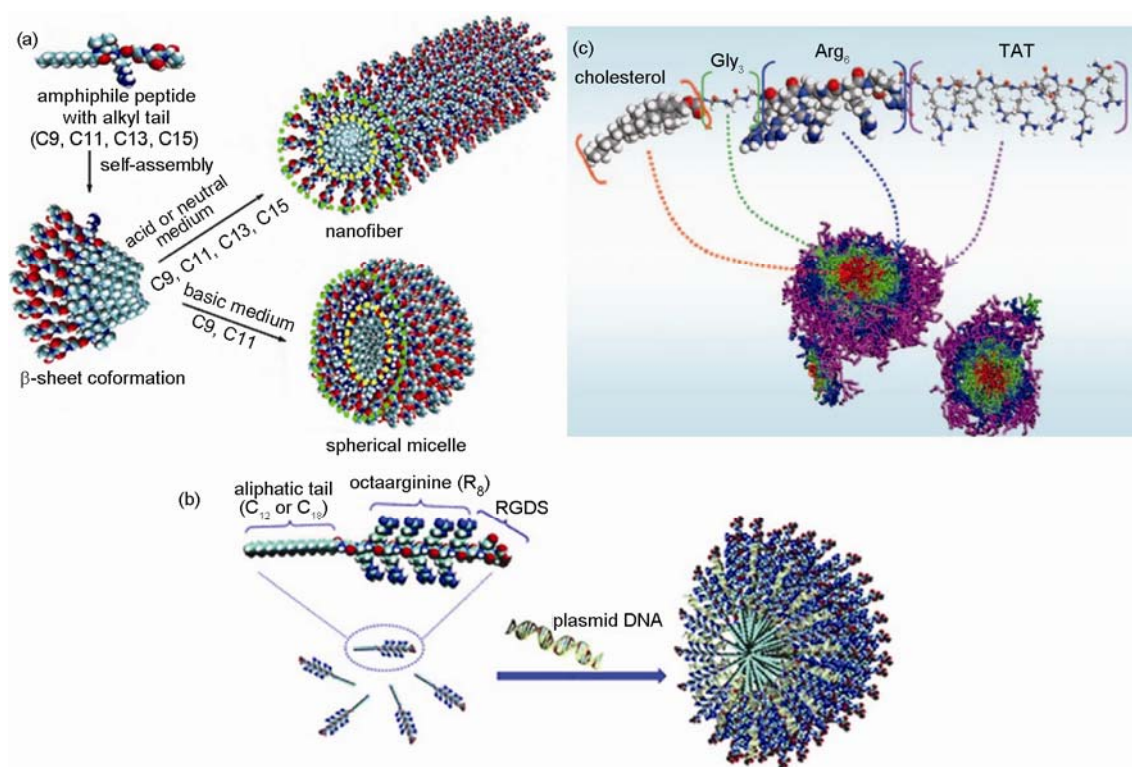


图9 (a)烷基链为 C9, C11, C13, C15 的两亲性多肽在不同 pH 值下自组装行为^[97]; (b)含有 8 个连续精氨酸序列的两亲性多肽作为基因载体与 DNA 复合共同自组装^[101]; (c)含有 6 个连续精氨酸序列的两亲性多肽作为基因载体与 DNA 复合共同自组装^[102]

性多肽外, 研究人员发现一些非常规的两亲性多肽也具有自组装行为. 如 Claussen 等^[104]报道的类似于哑铃型结构的两亲性多肽(peptide bolaamphiphile). 其分子结构两端分别多肽链段和亲水性的低聚乙二醇, 中间为疏水性的烷基链. 在水溶液中, 这种两亲性多肽可以自组装形成中间为疏水而内外面均为亲水的纳米纤维结构.

3.2 以芳香族功能基为端基的两亲性多肽自组装

自从 Gazit 等^[105, 106]报道了苯丙氨酸-苯丙氨酸(Phe-Phe)二肽可以通过苯环之间 π - π 堆积作用自组装形成纳米管、纳米空心球以及纳米纤维等结构, π - π 堆积作用被广泛运用于两亲性多肽自组装行为的研究^[17, 19, 31, 32]. 能够形成 π - π 堆积作用的两亲性多肽往往具有一个疏水性芳香族端基以及相对较短的亲水性多肽链段. 这类两亲性多肽在水溶液可以利用其芳香族端基的 π - π 堆积作用相互排列在一起, 通过其多肽链段间的氢键共同作用实现自组装. 目前常用的芳香族端基为 FMOC 功能基. Xu 等^[31]和 Ulijn 等^[107]

深入研究了一系列含有 FMOC 端基的二肽自组装行为. 研究发现, 除了甘氨酸-苯丙氨酸(Gly-Phe)以及甘氨酸-苏氨酸(Gly-Thr)二肽外, 其他含 FMOC 端基的二肽均能在水溶液自组装形成纳米纤维, 而且这些二肽的自组装大多具有 pH 敏感性. 最近, 我们研究发现, 两种离子互补型的含有 FMOC 端基的两亲性多肽可以在生理条件下共同自组装形成均一、稳定的, 具有纳米纤维微观结构的多肽凝胶^[108]. 在纳米纤维结构中, 两种离子互补型多肽预先通过静电作用结合在一起, 其 FMOC 端基通过反式的 π - π 堆积作用排列在一起, 而多肽链段则通过反式的氢键作用相互结合在一起(图 10(a)). 我们还设计合成了一类含有 FMOC 端基的两亲性五肽(FMOC-FFRGDF, 图 10(b)), 并发现这种五肽可以在生理条件下自组装形成具有纳米纤维微观结构的多肽凝胶(图 10(c))^[109, 110]. 将抗增生药物, 5-氟尿嘧啶包裹在多肽凝胶内并在青光眼滤过手术中注射到兔子眼睛后, 由于从多肽凝胶中释放出的 5-氟尿嘧啶可以有效抑制成纤维细胞的增生, 滤过手术后形成的滤过泡(bleb, 图 10(d))可以持

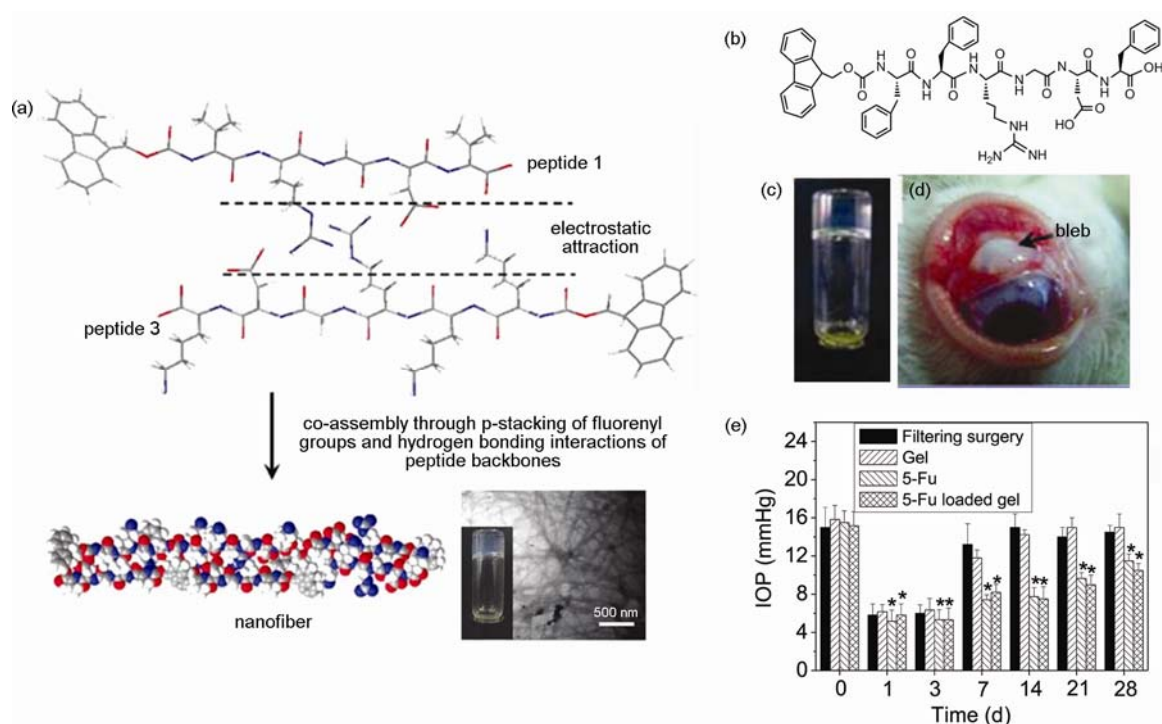


图 10 (a)两种离子互补型的含有 Fmoc 端基的两亲性多肽在生理条件下共同自组装形成均一稳定的具有纳米纤维微观结构的多肽凝胶^[108]; (b)含有 Fmoc 端基的两亲性五肽(Fmoc-FFRGDF)的分子结构式^[109]; (c)Fmoc-FFRGDF 两亲性多肽在中性条件下自组装形成多肽凝胶^[109]; (d)包裹把抗增生的 5-氟尿嘧啶 Fmoc-FFRGDF 多肽凝胶注射到兔子眼睛后形成的滤过泡^[109]; (e)注射含 5-氟尿嘧啶的 Fmoc-FFRGDF 多肽凝胶后兔子眼压^[109]

续存在, 兔子的眼压在术后一个月内均保持在较低水平(图 10(e)).

除了 Fmoc 基团, 研究表明, 许多其他芳香族功能基团都可以作为疏水性基团引入到多肽链段的一端提供 π - π 堆积作用. Yang 等^[26, 111]将萘乙酸引入到一系列二肽的一端成功实现了多肽的自组装. Zhang 等^[32]将茚丁酸作为疏水性基团引入到 D 型丙氨酸二肽的一端制备了 Py-b-D-Ala-D-Ala-OH 肽. 该两亲性多肽在水溶液中利用茚环的 π - π 堆积作用和 D-Ala-D-Ala 二肽片段的氢键作用自组装形成具有纳米纤维微观结构的凝胶. 由于 D-Ala-D-Ala 二肽与万古霉素之间存在着配体-受体作用, Py-b-D-Ala-D-Ala-OH 肽形成的凝胶具有配体-受体敏感性. 我们^[112]最近将 4-羧基苯硼酸引入到结构自互补的十肽一端得到了含有硼酸功能基的两亲性多肽. 这些两亲性多肽同样可以在水溶液中利用苯硼酸的 π - π 堆叠作用、多肽链段的氢键作用以及分子结构自身的互补性作用自组装形成稳定均一的纳米纤维.

在对含芳香族端基的两亲性多肽自组装的研究

中发现, 这类多肽可以较容易通过改变其分子结构的亲疏水性来调控其自组装行为. 如含有 Fmoc 端基的甘氨酸-甘氨酸二肽(Fmoc-Gly-Gly-OH)在 pH 为 3 的水溶液中可以自组装形成纳米纤维. 而升高溶液的 pH 至 6 时, 自组装形成的纳米纤维被迅速破坏^[31]. 此外, 升高自组装体系的温度则会破坏多肽链段间氢键作用, 该二肽也很难发生自组装. 除了温度和 pH 敏感性, Xu 和 Ulijn 等近年来开发了一系列基于含芳香族端基两亲性多肽的酶敏感自组装体^[113-120]. 通常由酶调控的多肽自组装主要分为两种形式(图 11(a)). 第一种就是利用酶的催化降解性能先分解掉多肽链上的某一基团, 改变其亲疏水性来实现其自组装. 如 Xu 等^[114]利用磷酸酯酶催化分解 Nap-s- β^3 -HPhg-s- β^3 -Phg-Tyr(PO_3H_2)-OH 肽结构中的磷酸酯键得到可以在水溶液中自组装的 Nap-s- β^3 -HPhg-s- β^3 -Phg-Tyr-OH 多肽分子(图 11(b)). 第二种是通过酶的催化作用将小分子多肽与另外一种化合物链接起来形成可以在水溶液中自组装的衍生物. Ulijn 等^[115]报道无论是 Fmoc 保护的苯丙氨酸(Fmoc-F)还是苯丙

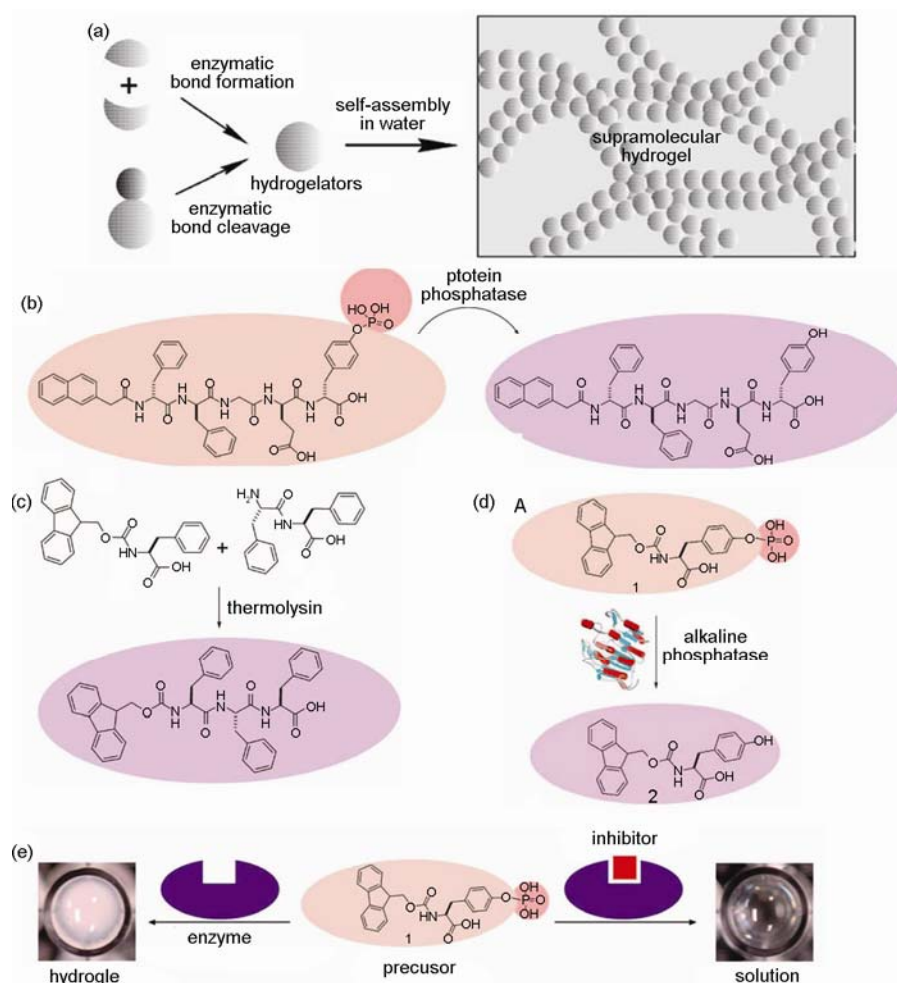


图 11 (a) 两种常见的酶调控的含芳香族端基的两亲性多肽自组装; (b) 磷酸酯酶调控的 Nap-s- β^3 -HPhg-s- β^3 -Phg-Tyr(PO_3H_2)-OH 肽自组装^[114]; (c) 嗜热菌蛋白酶调控的 Phe-Phe 肽自组装^[115]; (d) 磷酸酯酶调控的 Fmoc-Tyr(PO_3H_2)-OH 自组装^[117]; (e) 通过 Fmoc-Tyr(PO_3H_2)-OH 酶调控自组装可视检测磷酸酯酶抑制剂的活性^[121]

氨酸-苯丙氨酸(FF)二肽都不能在水溶液中自组装。但是有嗜热菌蛋白酶(thermolysin)或胰凝乳蛋白酶存在时, Fmoc-F 以及 FF 可以被催化缩合在一起形成 Fmoc-FFF 三肽并进行自组装(图 11(c))。除了上述的磷酸酯酶、嗜热菌蛋白酶、胰凝乳蛋白酶外, 众多研究表明 β -内酰胺酶、脂酶、胰蛋白酶等都可以用来调控含有芳香族端基的两亲性多肽自组装。近来研究发现酶不仅可以调控多肽的自组装, 还可以调控某些氨基酸的自组装。例如磷酸酯酶能够催化 9-芴甲氧羰基-(*O*-磷酸基)-酪氨酸(Fmoc-Tyr(PO_3H_2)-OH)上磷酸酯键的水解并形成可以在水溶液中自组装的 9-芴甲氧羰基-酪氨酸(Fmoc-Tyr-OH) (图 11(d))^[117]。当体系中存在磷酸酯酶时, 由于 Fmoc-Tyr(PO_3H_2)-

OH 与磷酸酯酶的抑制剂存在竞争性反应, 通过 Fmoc-Tyr(PO_3H_2)-OH 的酶敏感自组装可以宏观观测到磷酸酯酶的抑制剂的抑制活性(图 11(e))^[121]。

除了上述体外多肽酶敏感自组装, Xu 等^[122]根据细菌体内磷酸酯酶过度表达的原理, 将含有羧基疏水性端基的两亲性肽 $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{-L-Phe-L-Phe-Tyr}(\text{PO}_3\text{H}_2)\text{-OH}$ 与细菌共培养(图 12), 由于细菌体内的磷酸酯酶降解磷酸酯键, 得到两亲性肽 $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{-L-Phe-L-Phe-Tyr-OH}$ 可以在细菌体内自组装形成纳米纤维并达到抗菌的效果。同时, Xu 等^[123] 还根据癌细胞内脂酶含量过度表达的原理, 制备了 $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{-PhePhe-NHCH}_2\text{CH}_2\text{OCOCH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ 两亲性多肽, 通过癌细胞内酶敏感自组装达到抗癌的目的。

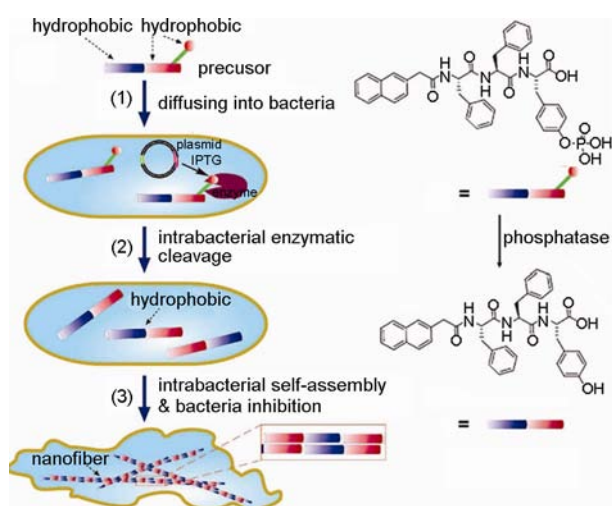


图 12 含有羧基端基的两亲性肽 $C_{10}H_7CH_2C(O)-L-Phe-L-PheTyr(PO_3H_2)-OH$ 在细菌体内进行酶调控自组装达到抗菌的效果^[122]

除了以上含有疏水性烷基链以及芳香族功能基的两亲性多肽, 一些其他类型的两亲性多肽也有报道^[124, 125]. 如 Zhang 等^[23, 24]报道的一系列小分子多肽可以自组装形成纳米管和囊泡. 这些小分子多肽均由亲水的带电荷的氨基酸残基和疏水的氨基酸残基构成, 分子链长约 2.4 nm. 如 A_6D , V_6D , L_6D_2 , V_6D_2 , D_2G_4 , D_2G_6 , D_2G_8 , D_2G_{10} 等, 是由带负电的天冬氨酸残基 D 作为亲水段, 若干个缩合后不带电荷的丙氨酸(A)、缬氨酸(V)、亮氨酸(L)和甘氨酸(G)残基作为疏水段. 这些阴离子型多肽在结构上与脂质体类似, 可以在水溶液中自组装成网状结构, 形态较相似. 但进一步研究发现, 其网状结构是以直径约 30~50 nm 的管状和囊泡形态为基础的(图 13). 研究认为, 这些小分子多肽在其组装体中并无明确的构象归属. 其自组装的主要原因是在水溶液中由于体系能量有最小化倾向, 这些阴离子型小分子多肽的疏水段会避

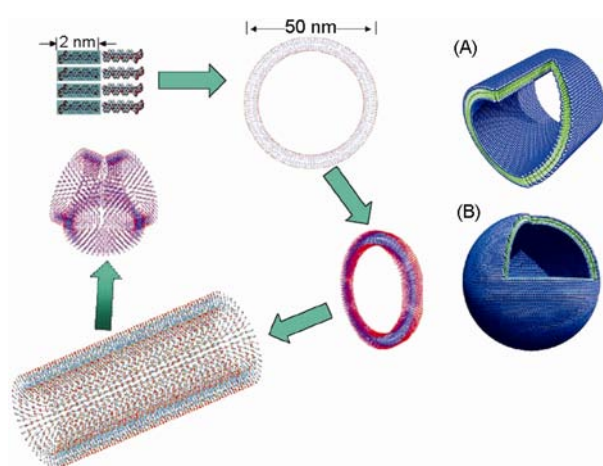


图 13 A_6D , V_6D , L_6D_2 , V_6D_2 , D_2G_4 , D_2G_6 , D_2G_8 , D_2G_{10} 等阴离子小分子多肽在水溶液中自组装形成纳米管和囊泡^[23, 24]

免与水分子的接触而彼此靠拢, 聚集在组装体内部, 而亲水段发生电离与水分子形成交界层, 最终形成与脂质体类似的亲水段向外、疏水段向内的双分子层. Kimura 等^[124]设计合成了含有 15 个氨基酸残基的序列肽(VGALAVVWLWLWLW), 并将其引入到亲水性相对较强的短链聚乙二醇(PEG)($n = 3, 6, 13$)一端, 构成与上述亲疏水结构相反的两亲性多肽分子. 在水溶液中, 这种两亲性多肽可以形成 α -螺旋空间结构并自组装形成大小约为 85 nm 的囊泡.

4 结语

本文概述了近年来有关多肽自组装的研究, 包括多肽的分子设计、自组装机理、组装体形态及其在材料学和生物医学等领域的应用. 对于多肽自组装行为的理解将有助于人们从分子水平调控多肽材料的性能, 制备具有特定结构和性能的多肽材料以满足各种实际应用.

致谢 本工作得到国家自然科学基金项目(20974083, 20774069)、教育部博士研究生专项科研基金项目以及武汉大学博士研究生自主科研基金项目资助, 特此致谢.

参考文献

- 1 Estroff LA, Hamilton AD. Water gelation by small organic molecules. *Chem Rev*, 2004, 104: 1201–1217
- 2 Yoshimura I, Miyahara Y, Kasagi N, Yamane H, Ojida A, Hamachi I. Molecular recognition in a supramolecular hydrogel to afford a semi-wet sensor chip *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 12204–12205
- 3 Chaki NK. Self-assembled monolayers as a tunable platform for biosensor applications. *Biosens Bioelectr*, 2002, 17: 1–12

- 4 Mahler A, Reches M, Rechter M, Cohen S, Gazit E. Rigid, self-assembled hydrogel composed of a modified aromatic dipeptide. *Adv Mater*, 2006, 18: 1365–1370
- 5 Ghadiri MR, Granja JR, Milligan RA, Mcree DE, Khazanovich N. Self-assembling organic nanotubes based on a cyclic peptide architecture. *Nature*, 1993, 366: 324–327
- 6 Zhang SG, Holmes TC, Lockshin C, Rich A. Spontaneous assembly of a self-complementary oligopeptide to form a stable macroscopic membrane. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 3334–3338
- 7 Zhang SG, Holmes T, Lockshin C, Rich A. Unusually stable β -sheet formation in an ionic self-complementary oligopeptide. *Biopolymers*, 1994, 34: 663–672
- 8 Zhang SG, Holmes TC, DiPersio CM, Hynes RO, Su X, Rich A. Self-complementary oligopeptide matrices support mammalian cell attachment. *Biomaterials*, 1995, 16: 1385–1393
- 9 Zhang SG, Rich A. Direct conversion of an oligopeptide from a β -sheet to an α -helix: A model for amyloid formation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 23–28
- 10 Zhang SG, Yan L, Altman M, Lassle M, Nugent H, Frankel F, Lauffenburger DA, Whitesides GM, Rich A. Biological surface engineering: a simple system for cell pattern formation. *Biomaterials*, 1999, 20: 1213–1220
- 11 Altman M., Lee P, Rich A, Zhang SG. Conformational behavior of ionic self-complementary peptides. *Protein Sci.*, 2000, 9: 1095–1105
- 12 Hartgerink JD, Beniash E, Stupp SI. Self-assembly and mineralization of peptide-amphiphile nanofibers. *Science*, 2001, 294: 1684–1688
- 13 Hartgerink JD, Beniash E, Stupp SI. Peptide-amphiphile nanofibers: A versatile scaffold for the preparation of self-assembling materials. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 5133–5138
- 14 Ryadnov MG, Woolfson DN. Introducing branches into a self-assembling peptide fiber. *Angew Chem Int Ed*, 2002, 42: 3021–3023
- 15 Ryadnov MG, Woolfson DN. Fiber recruiting peptides: noncovalent decoration of an engineered protein scaffold. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 7454–7455
- 16 Ryadnov MG, Woolfson DN. MaP peptides: Programming the self-assembly of peptide-based mesoscopic matrices. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 12407–12415
- 17 Mart RJ, Osborne RD, Stevens MM, Ulijn RV. Peptide-based stimuli-responsive biomaterials. *Soft Matter*, 2006, 2: 822–835
- 18 Guler MO, Stupp SI. A self-assembled nanofiber catalyst for ester hydrolysis. *J Am Chem Soc*, 2007, 129: 12082–12083
- 19 Ulijn RV, Smith AM. Designing peptide based nanomaterials. *Chem Soc Rev*, 2008, 37: 664–675
- 20 Cui H, Muroaka T, Cheetham A, Stupp SI. Self-assembly of giant peptide nanobelts. *Nano Lett*, 2009, 9: 945–951
- 21 Fallas JA, O'Leary LER, Hartgerink JD. Synthetic collagen mimics: self-assembly of homotrimers, heterotrimers and higher order structures. *Chem Soc Rev*, 2010, 39: 3510–3527
- 22 Yokoi H, Kinoshita T, Zhang SG. Dynamic reassembly of peptide RADA16 nanofiber scaffold. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 8414–8419
- 23 Vauthey S, Santoso S, Gong H, Watson N, Zhang SG. Molecular self-assembly of surfactant-like peptides to form nanotubes and nanovesicles. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 5355–5360
- 24 von Maltzahn G, Vauthey S, Santoso S, Zhang SG. Positively charged surfactant-like peptides self-assemble into nanostructures. *Langmuir*, 2003, 19: 4332–4337
- 25 Ciani B, Hutchinson EG, Sessions RB, Woolfson DN. Designing alpha to beta conformational transitions in peptides. *J Biol Chem*, 2002, 277: 10150–10155
- 26 Yang ZM, Liang GL, Ma ML, Abbah AS, Lu WW, Xu B. D-Glucosamine-based supramolecular hydrogels to improve wound healing. *Chem Commun*, 2007, 843–845
- 27 Dong H, Hartgerink JD. Short Homodimeric and heterodimeric coiled coils. *Biomacromolecules*, 2006, 7: 691–695
- 28 Ryadnov MG, Ceyhan B, Niemeyer CM, Woolfson DN. “Belt and Braces”: A peptide-based linker system of de novo design. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 9388–9394
- 29 Haines LA, Rajagopal K, Ozbas B, Salick DA, Pochan DJ, Schneider JP. Light-activated hydrogel formation via the triggered folding and self-assembly of a designed peptide. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 17025–17029
- 30 Muraoka T, Cui H, Stupp SI. Quadruple helix formation of a photoresponsive peptide amphiphile and its light-triggered dissociation into single fibers. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 2946–2947
- 31 Zhang Y, Gu HW, Yang ZM, Xu B. Supramolecular hydrogels respond to ligand-receptor interaction. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 13680–13681
- 32 Zhang Y, Yang ZM, Yaun F, Gu HW, Gao P, Xu B. Molecular recognition remodels the self-assembly of hydrogelators and increases the

- elasticity of the hydrogel by 10^6 -fold. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 15028–15029
- 33 Kumita JR, Smart OS, Woolley GA. Photo-control of helix content in a short peptide. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 3803–3808
- 34 Nilsson KPR, Rydberg J, Baltzer L, Inganas O. Self-assembly of synthetic peptides control conformation and optical properties of a zwitterionic polythiophene derivative. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 10170–10174
- 35 Zimenkov Y, Dublin SN, Ni R, Tu RS, Breedveld V, Apkarian RP, Conticello VP. Rational design of a reversible pH-responsive switch for peptide self-assembly. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 6770–6771
- 36 Tashiro S, Tominaga M, Yamaguchi Y, Kato K, Fujita M. Folding a de novo designed peptide into an α -helix through hydrophobic binding by a bowl-shaped host. *Angew Chem Int Ed*, 2006, 45: 241–244
- 37 Flint DG, Kumita JR, Smart OS, Woolley GA. Using an azobenzene cross-linker to either increase or decrease peptide helix content upon *trans*-to-*cis* photoisomerization. *Chem Biol*, 2002, 9: 391–397
- 38 Zhang FZ, Sadoski O, Xin SJ, Woolley GA. Stabilization of folded peptide and protein structures via distance matching with a long, rigid cross-linker. *J Am Chem Soc*, 2007, 129: 14154–14155
- 39 Liu J, Wang D, Zheng Q, Lu M, Arora PS. Atomic structure of a short α -helix stabilized by a main chain hydrogen-bond surrogate. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 4334–4337
- 40 Ruan FQ, Chen YQ, Hopkins PB. Metal ion-enhanced helicity in synthetic peptides containing unnatural, metal-ligating residues. *J Am Chem Soc*, 1990, 112: 9403–9304
- 41 Marqusee S, Baldwin RL. The helix-stabilizing effects of repeating pairs of Asp-Arg and Glu-Arg residues have been characterized using a peptide system of the same design used earlier to study Glu-Lys. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 8898–8902
- 42 Sakamoto S, Ueno A, Mihara H. Molecular assembly of two- α -helix peptide induced by haem binding. *Chem Commun*, 1998, 1073–1074
- 43 Lim YB, Moon KS, Lee M. Stabilization of an α helix by β -sheet-mediated self-assembly of a macrocyclic peptide. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48: 1601–1605
- 44 Ryadnov MG, Woolfson DN. Engineering the morphology of a self-assembling protein fibre. *Nat Mater*, 2003, 2: 329–332
- 45 Ryadnov MG, Woolfson DN. Introducing branches into a self-assembling peptide fiber. *Angew Chem Int Ed*, 2003, 42: 3021–3023
- 46 Smith AM, Acquah SFA, Bone N, Kroto HW, Ryadnov MG, Stevens MSP, Walton DRM, Woolfson DN. Polar assembly in a designed protein fiber. *Angew Chem Int Ed*, 2005, 44: 325–328
- 47 Dutta K, Alexandrov A, Huang H, Pascal SM. pH-Induced folding of an apoptotic coiled coil. *Protein Sci*, 2001, 10: 2531–2540
- 48 Dutta K, Engler FA, Cotton L, Alexandrov A, Bedi GS, Colquhoun J, Pascal SM. Stabilization of a pH-sensitive apoptosis-linked coiled coil through single point mutations. *Protein Sci*, 2003, 12: 257–265
- 49 Kovacic BC, Kokona B, Schwab AD, Twomey MA, de Paula JC, Fairman R. Self-assembly of peptide porphyrin complexes: Toward the development of smart biomaterials. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 4166–4167
- 50 Stevens MM, Allen S, Sakata JK, Davies MC, Roberts CJ, Tendler SJBDA, Tirrell DA, Williams PM. pH-Dependent behavior of surface-immobilized artificial leucine zipper proteins. *Langmuir*, 2004, 20: 7747–7752
- 51 Stevens MM, Flynn NT, Wang C, Tirrell DA, Langer R. Coiled-coil peptide-based assembly of gold nanoparticles. *Adv Mater*, 2004, 16: 915–918
- 52 Pandya MJ, Spooner GM, Sunde M, Thorpe JR, Rodger A, Woolfson DN. Sticky-end assembly of a designed peptide fiber provides insight into protein fibrillogenesis. *Biochemistry*, 2000, 39: 8728–8734
- 53 Smith AM, Banwell EF, Edwards WR, Pandya MJ, Woolfson DN. Engineering increased stability into self-assembled protein fibers. *Adv Funct Mater*, 2006, 16: 1022–1030
- 54 Papapostolou S, Smith AM, Atkins EDT, Ryadnov MG, Serpell LC, Woolfson DN. Engineering nanoscale order into a designed protein fiber. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 10853–10858
- 55 Goedert M, Spillantini MG. A century of Alzheimer's disease. *Science*, 2006, 314: 777–781
- 56 Roberson ED, Mucke L. 100 Years and counting: prospects for defeating Alzheimer's disease. *Science*, 2006, 314: 781–784
- 57 Hamely IW. Peptide fibrillization. *Angew Chem Int Ed*, 2007, 46: 8128–8147
- 58 Zhang SG, Lockshin C, Herbert A, Winter E, Rich A. Zuo-tin. A putative Z-DNA binding protein in *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J*, 1992, 11: 3787–3796
- 59 Holmes TC, de Lacalle S, Su X, Rich A, Zhang SG. Extensive neurite outgrowth and active synapse formation on self-assembling peptide scaffolds. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 6728–6733
- 60 Caplan MR, Schwartzfarb EM, Zhang SG, Kamm RD, Lauffenburger DA. Control of self-assembling oligopeptide matrix formation through systematic variation of amino acid sequence. *Biomaterials*, 2002, 23: 219–227

- 61 Hong Y, Legge RL, Zhang SG, Chen P. Effect of amino acid sequence and pH on nanofiber formation of self-assembling peptides EAK16-II and EAK16-IV. *Biomacromolecules*, 2003, 4: 1433–1442
- 62 Narmoneva DA, Oni O, Sieminski AL, Zhang SG, Gertler JP, Kamm RD, Lee RT. Self-assembling short oligopeptides and the promotion of angiogenesis. *Biomaterials*, 2005, 26: 4837–4846
- 63 Ellis-Behnke RG, Yang YX, You SW, Tay DKC, Zhang SG, So KF, Schneider GE. Nano neuro knitting: Peptide nanofiber scaffold for brain repair and axon regeneration with functional return of vision. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 5054–5059
- 64 Rapaport H, Kjaer K, Jensen TR, Leiserowitz L, Tirrell DA. Crystalline β -sheet monolayers - A new class of ordered molecular templates. *J Am Chem Soc*, 2000, 122: 12523–12529
- 65 Caplan MR, Moore PN, Zhang SG, Kamm RD, Lauffenburger DA. Self-assembly of a beta-sheet protein governed by relief of electrostatic repulsion relative to van der Waals attraction. *Biomacromolecules*, 2000, 1: 627–631
- 66 Marini DM, Hwang W, Lauffenburger DA, Zhang SG, Kamm RD. Left-handed helical ribbon intermediates in the self-assembly of a beta-sheet peptide. *Nano Lett*, 2002, 2: 295–299
- 67 Hwang W, Marini DM, Kamm RD, Zhang SG. Supramolecular structure of helical ribbons self-assembled from a β -sheet peptide. *J Chem Phys*, 2003, 118: 389–397
- 68 Epand RF, Lehrer RI, Waring A, Wang W, Maget-Dana R, Lelièvre D, Epand RM. Direct comparison of membrane interactions of model peptides composed of only Leu and Lys residues. *Biopolymers*, 2003, 71: 2–16
- 69 Couet J, Samuel JDJS, Kopyshv A, Santer S, Biesalski M. Peptide-polymer hybrid nanotubes. *Angew Chem Int Ed*, 2005, 44: 3297–3301.
- 70 Reiriz C, Brea RJ, Arranz R, Carrascosa JL, Garibotti A, Manning B, Valpuesta JM, Eritja R, Castedo L, Granja JR. α,γ -Peptide nanotube templating of one-dimensional parallel fullerene arrangements. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 11335–11337
- 71 Brea RJ, Vazquez ME, Mosquera M, Castedo L, Granja JR. Controlling multiple fluorescent signal output in cyclic peptide-based supramolecular systems. *J Am Chem Soc*, 2007, 129: 1653–1657
- 72 Vollmer MS, Clark TD, Steinem C, Ghadiri MR. Photoswitchable hydrogen-bonding in self-organized cylindrical peptide systems. *Angew Chem Int Ed*, 1999, 38: 1598–1601
- 73 Ashkenasy N, Horne W S, Ghadiri M. R. Design of self-assembling peptide nanotubes with delocalized electronic states. *Small*, 2006, 2: 99–102
- 74 Ramachandran S, Flynn P, Tseng Y, Yu YB. Electrostatically controlled hydrogelation of oligopeptides and protein entrapment. *Chem Mater*, 2005, 17: 6583–6588
- 75 Ramachandran S, Tseng Y, Yu YB. Repeated rapid shear-responsiveness of peptide hydrogels with tunable shear modulus. *Biomacromolecules*, 2005, 6: 1316–1321
- 76 Schneider JP, Pochan DJ, Ozbas B, Rajagopal K, Pakstis L, Kretsinger J. Responsive hydrogels from the intramolecular folding and self-assembly of a designed peptide. *J Am Chem Soc*, 2002, 124: 15030–15037
- 77 Lamm MS, Rajagopal K, Schneider JP, Pochan DJ. Laminated morphology of nontwisting β -sheet fibrils constructed via peptide self-assembly. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 16692–16700
- 78 Veerman C, Rajagopal K, Palla CS, Pochan DJ, Schneider JP, Furst EM. Gelation kinetics of beta-hairpin peptide hydrogel networks. *Macromolecules*, 2006, 39: 6608–6614
- 79 Kretsinger JK, Haines LA, Ozbas B, Pochan DJ, Schneider JP. Cytocompatibility of self-assembled β -hairpin peptide hydrogel surfaces. *Biomaterials*, 2005, 26: 5177–5186
- 80 Branco MC, Pochan DJ, Wagner NJ, Schneider JP. Macromolecular diffusion and release from self-assembled beta-hairpin peptide hydrogels. *Biomaterials*, 2009, 30: 1339–1347
- 81 Salick DA, Kretsinger JK, Pochan DJ, Schneider JP. Inherent antibacterial activity of a peptide-based β -hairpin hydrogel. *J Am Chem Soc*, 2007, 129: 14793–14799
- 82 Pochan DJ, Schneider JP, Kretsinger J, Ozbas B, Rajagopal K, Haines L. Thermally reversible hydrogels via intramolecular folding and consequent self-assembly of a de Novo designed peptide. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 11802–11803
- 83 Kunitake T. Synthetic bilayer membranes: molecular design, self-organization, and application. *Angew Chem Int Ed*, 1992, 31: 709–726
- 84 Cui HG, Webber MJ, Stupp SI. Self-assembly of peptide amphiphiles: From molecules to nanostructures to biomaterials. *Biopolymers*, 2010, 94: 1–18
- 85 Gore T, Dori Y, Talmon Y, Tirrell M, Bianco-Peled H. Self-assembly of model collagen peptide amphiphiles. *Langmuir*, 2001, 17: 5352–5360
- 86 Beniash E, Hartgerink JD, Storrer H, Stendahl JC, Stupp SI. Self-assembling peptide amphiphile nanofiber matrices for cell entrapment.

Acta Biomater, 2005, 1: 387–397

- 87 Bull SR, Guler MO, Bras RE, Meade TJ, Stupp SI. Self-assembled peptide amphiphile nanofibers conjugated to MRI contrast agents. *Nano Lett*, 2005, 5: 1–4
- 88 Storrie H, Guler MO, Abu-Amara SN, Volberg T, Rao M, Geiger B, Stupp SI. Supramolecular crafting of cell adhesion. *Biomaterials*, 2007, 28: 4608–4618
- 89 Niece KL, Czeisler C, Sahni V, Tysseling-Mattiace V, Pashuck ET, Kessler JA, Stupp SI. Modification of gelation kinetics in bioactive peptide amphiphiles. *Biomaterials*, 2008, 29: 4501–4509
- 90 Silva GA, Czeisler C, Niece KL, Beniash E, Harrington DA, Kessler JA, Stupp SI. Selective differentiation of neural progenitor cells by high-epitope density nanofibers. *Science*, 2004, 303: 1352–1355
- 91 Niece KL, Hartgerink JD, Donners JJM, Stupp SI. Self-assembly combining two bioactive peptide-amphiphile molecules into nanofibers by electrostatic attraction. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 7146–7147
- 92 Tysseling-Mattiace VM, Sahni V, Niece KL, Birch D, Czeisler C, Fehlings MG, Stupp SI, Kessler JA. Self-assembling nanofibers inhibit glial scar formation and promote axon elongation after spinal cord injury. *J Neurosci*, 2008, 28: 3814–3823
- 93 Velichko YS, Stupp SI, de la Cruz MO. Molecular simulation study of peptide amphiphile self-assembly. *J Phys Chem B*, 2008, 112: 2326–2334
- 94 Tsonchev S, Niece KL, Schatz GC, Ratner MA, Stupp SI. Phase diagram for assembly of biologically-active peptide amphiphiles. *J Phys Chem B*, 2008, 112: 441–447
- 95 Paramonov SE, Jun HW, Hartgerink JD. Self-assembly of peptide-amphiphile nanofibers: The roles of hydrogen bonding and amphiphilic packing. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 7291–7298
- 96 Jin Y, Xu XD, Chen CS, Cheng SX, Zhang XZ, Zhuo RX. Bioactive amphiphilic peptide derivatives with pH triggered morphology and structure. *Macromol Rapid Commun*, 2008, 29: 1726–1731
- 97 Xu XD, Jin Y, Liu Y, Zhang XZ, Zhuo RX. Self-assembly behavior of peptide amphiphiles (PAs) with different length of hydrophobic alkyl tails. *Colloids Surf B-Biointerf*, 2010, 81: 329–335
- 98 Wang M, Lowik DWPM, Miller AD, Thanou M. Targeting the urokinase plasminogen activator receptor with synthetic self-assembly nanoparticles. *Bioconjugate Chem*, 2009, 20: 32–40
- 99 Wiradharma N, Tong YW, Yang YY. Self-assembled oligopeptide nanostructures for co-delivery of drug and gene with synergistic therapeutic effect. *Biomaterials*, 2009, 30: 3100–3109
- 100 Seow WY, Yang YY. A class of cationic triblock amphiphilic oligopeptides as efficient gene-delivery vectors. *Adv Mater*, 2009, 21: 86–90
- 101 Chen JX, Wang HY, Quan CY, Xu XD, Zhang XZ, Zhuo RX. Amphiphilic cationic lipopeptides with RGD sequences as gene vectors. *Org Biomol Chem*, 2010, 8: 3142–3148
- 102 Liu LH, Xu KJ, Wang HY, Tan PKJ, Fan WM, Venkatraman SS, Li LJ, Yang YY. Self-assembled cationic peptide nanoparticles as an efficient antimicrobial agent. *Nature Nanotechnol*, 2009, 4: 457–463
- 103 Tarwadi, Jazayeri JA, Prankerd RJ, Pouton CW. Preparation and *in vitro* evaluation of novel lipopeptide transfection agents for efficient gene delivery. *Bioconjugate Chem*, 2008, 19: 940–950
- 104 Claussen RC, Rabatic BM, Stupp SI. Aqueous self-assembly of unsymmetric peptide bolaamphiphiles into nanofibers with hydrophilic cores and surfaces. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 12680–12681
- 105 Reches M, Gazit E. Casting metal nanowires within discrete self-assembled peptide nanotubes. *Science*, 2003, 300: 625–627
- 106 Reches M, Gazit E. Formation of closed-cage nanostructures by self-assembly of aromatic dipeptides. *Nano Lett*, 2004, 4: 581–585
- 107 Jayawarna V, Ali M, Jowitt TA, Miller AF, Saiani A, Gough JE, Ulijn RV. Nanostructured hydrogels for three-dimensional cell culture through self-assembly of fluorenylmethoxycarbonyl-dipeptides. *Adv Mater*, 2006, 18: 611–614
- 108 Xu XD, Chen CS, Lu B, Cheng SX, Zhang XZ, Zhuo RX. Coassembly of oppositely charged short peptides into well-defined supramolecular hydrogels. *J Phys Chem B*, 2010, 114: 2365–2372
- 109 Xu XD, Liang L, Chen CS, Lu B, Wang NL, Jiang FG, Zhang XZ, Zhuo RX. Peptide hydrogel as an intraocular drug delivery system for inhibition of postoperative scarring formation. *ACS Appl Mater & Interf*, 2010, 2: 2663–2671
- 110 Liang L, Xu XD, Chen CS, Fang JH, Jiang FG, Zhang XZ, Zhuo RX. Evaluation of the biocompatibility of novel peptide hydrogel in rabbit eye. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater*, 2010, 93B: 324–332
- 111 Yang ZM, Liang GL, Ma ML, Gao Y, Xu B. Conjugates of naphthalene and dipeptides produce molecular hydrogelators with high efficiency of hydrogelation and superhelical nanofibers. *J Mater Chem*, 2007, 17: 850–854
- 112 Chen CS, Ji TJ, Xu XD, Zhang XZ, Zhuo RX. Nanofibers self-assembled from structural-complementary borono-decapeptides. *Macromol*

- Rapid Commun*, 2010, 31: 1903–1908
- 113 Yang ZM, Gu HW, Fu DG, Gao P, Lam JK, Xu B. Enzymatic formation of supramolecular hydrogels. *Adv Mater*, 2004, 16: 1440–1444
- 114 Yang ZM, Liang GL, Ma ML, Gao Y, Xu B. *In vitro* and *in vivo* enzymatic formations of supramolecular hydrogels based on self-assembled nanofibers of a β -amino acid derivative. *Small*, 2007, 3: 558–562
- 115 Toledano S, Williams RJ, Jayawarna V, Ulijn RV. Enzyme-triggered self-assembly of peptide hydrogels via reversed hydrolysis. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 1070–1071
- 116 Yang ZM, Liang GL, Wang L, Xu B. Using a kinase/phosphatase switch to regulate a supramolecular hydrogel and forming the supramolecular hydrogel *in vivo*. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 3038–3043
- 117 Yang ZM, Xu B. Using enzymes to control molecular hydrogelation. *Adv Mater*, 2006, 18: 3043–3046
- 118 Yang ZM, Liang GL, Xu B. Enzymatic control of the self-assembly of small molecules: A new way to generate supramolecular hydrogels. *Soft Matter*, 2007, 3: 515–520
- 119 Yang ZM, Ho PL, Liang GL, Chow KH, Wang QG, Cao Y, Guo ZH, Xu B. Using β -lactamase to trigger supramolecular hydrogelation. *J Am Chem Soc*, 2007, 129: 266–267
- 120 Yang ZM, Liang GL, Xu B. Enzymatic hydrogelation of small molecules. *Acc Chem Res*, 2008, 41: 315–326
- 121 Yang ZM, Xu B. A simple visual assay based on small molecule hydrogels for detecting inhibitors of enzymes. *Chem Commun*, 2004, 2424–2425
- 122 Yang ZM, Liang GL, Guo ZF, Guo ZH, Xu B. Intracellular hydrogelation of small molecules inhibits bacterial growth. *Angew Chem Int Ed*, 2007, 46: 8216–8219
- 123 Yang ZM, Xu KM, Guo ZF, Guo ZH, Xu B. Intracellular enzymatic formation of nanofibers results in hydrogelation and regulated cell death. *Adv Mater*, 2007, 19: 3152–3156
- 124 Kimura S, Kim DH, Sugiyama J, Imanishi Y. Vesicular self-assembly of a helical peptide in water. *Langmuir*, 1999, 15: 4461–4463
- 125 Murugesan M, Jayakumar R, Durai V. Self-assembly of a nonionic peptide surfactant in aqueous medium. *Langmuir*, 1996, 12: 1760–1764

Molecular self-assembly of peptide

XU XiaoDing, CHEN ChangSheng, CHEN JingXiao, ZHANG XianZheng & ZHUO RenXi

Key Laboratory of Biomedical Polymers of Ministry of Education; Department of Chemistry, Wuhan University, Wuhan 430072, China

Abstract: Arising from the abundant protein self-assemblies existing in nature, recently, the self-assembly of peptides has been a research focus. Through rational designing the molecular structures of peptides and altering the external environment, peptides can spontaneously or induced self-assemble into specific-shape aggregates via noncovalent forces, such as hydrogen bonding, hydrophobic and π -stacking interactions etc. Due to well biocompatibility and controlled degradation, functional materials constructed from the self-assembly of peptides present a great potential in many biomedical fields. This review explores the research progress of the self-assembly of peptides in the past two decades. The structure motifs used in the self-assembly of peptide, self-assembly mechanisms, morphologies as well as the biomedical applications of the self-assembled peptides are also reviewed in detail.

Keywords: peptide, self-assembly, morphology and structure, application