纳米生物界面对淀粉样蛋白聚集的调控机制研究

牛琳, 邹宜旻, 林雨晨, 郑永芳, 杨延莲, 王琛*

国家纳米科学中心, 北京 100190

*通讯作者, E-mail: wangch@nanoctr.cn

收稿日期: 2018-06-19; 接受日期: 2018-08-30; 网络版发表日期: 2018-10-20

摘要 本文以阿尔兹海默症的致病多肽 β 淀粉样蛋白(A β)为例, 介绍了疾病相关淀粉样蛋白的分子精细结构、组装和聚集过程、聚集体形貌及神经细胞毒性的研究进展, 并在此基础上以纳米生物界面对淀粉样蛋白构象、组装结构、聚集动力学、神经细胞毒性等生物功能的调控机制进行研究. 从分子水平上分析和探讨了纳米生物界面与淀粉样蛋白分子或者聚集体的相互作用方式和机理, 有助于加深对淀粉样多肽和调节剂之间复杂多样的相互作用方式的理解, 对深入了解淀粉样多肽的组装机理和调控机制以及探索治疗神经退行性疾病的药物设计等方面具有较大意义.

关键词 神经退行性疾病, 淀粉样蛋白, 调控机制, 纳米生物界面

1 引言

在生物系统中广泛存在的多肽或者蛋白质分子可以通过可逆的非共价相互作用驱动自组装形成一系列高级的组装体, 这些非共价相互作用的协同和加合效应有助于维持自组装体的结构稳定性和完整性, 从而具备某些特殊的生物学功能. 推动多肽或者蛋白质分子自组装的非共价弱相互作用力主要包括范德华力、氢键、疏水作用、静电力、 π - π 堆积、金属配位和溶剂作用等^[1]. 蛋白质和多肽分子只有经过正确折叠和组装, 才能具备正常的生物学功能. 如果受到遗传、体内控制系统功能紊乱、外界环境诱导等因素影响而发生错误折叠和异常组装, 多肽或蛋白质分子将丧失正常的生物学功能, 对生命体造成不同程度的损伤, 最终引起一系列疾病的发生. 这一类疾病的产生和发

展与相应的特异性多肽或者蛋白质空间构象密切相关, 因此这类疾病被称为蛋白质构象病. 这一类疾病的病理特征主要是脊髓和大脑的神经元细胞功能丧失, 原发性神经元变性, 所以又被称为神经退行性疾病, 如阿尔兹海默症(AD)^[2-4]、疯牛病^[5-9]、II型糖尿病^[10-14]和帕金森氏病^[15-17]等. 神经退行性疾病有多种致病因素, 包括神经胶质细胞或神经元不能提供充分营养、代谢通路受损、轴突传递功能损伤、形成大量错误折叠的蛋白质并且降解不充分等. 研究表明, 错误折叠可导致多肽或者蛋白质分子的异常自组装, 形成不同形态和大小的纳米聚集物, 包括纳米聚集体、纳米环以及纳米纤维等. 错误折叠蛋白质的聚集物为纳米尺度的球状颗粒物时, 具有明显的细胞毒性^[18-20]. 这些异常变化导致神经元变性死亡, 是人类和其他哺乳动物中枢神经系统机能退行性改变都具有的病理特征^[21].

引用格式: Niu L, Zou Y, Lin Y, Zheng Y, Yang Y, Wang C. Regulation mechanism of nanobiointerfaces in amyloid peptide assembly and aggregation structures. *Sci Sin Chim*, 2019, 49: 500-515, doi: 10.1360/N032018-00163

因此, 研究细胞内外纳米级聚集物的组装机制和细胞毒性的分子机制, 进而寻求有效的抑制和调控手段, 不仅对神经退行性疾病的诊断、预防和治疗具有重要的启示, 同时在生物医学、化学、材料学等各个方面也具有理论意义。

本文主要以阿尔兹海默症的致病多肽 β 淀粉样蛋白($A\beta$)为例, 首先介绍了如何利用各种研究方法和研究手段, 检测 $A\beta$ 淀粉样多肽分子的聚集过程和不同聚集状态下的组装结构, 获得关于 $A\beta$ 多肽分子的精细结构、聚集行为、神经毒性以及致病机理方面的研究结果。在此基础上, 利用纳米生物界面的相互作用, 选取各类抑制剂和调节剂, 调控多肽和蛋白质分子的结构, 改变其聚集过程和聚集体状态, 从而降低聚集体神经细胞毒性。同时, 探讨了分子水平上淀粉样多肽分子与各类调节剂的相互作用机理, 以及纳米生物界面对多肽和蛋白质分子结构及生物学功能产生的影响。

2 β 淀粉样蛋白的聚集结构和致病机制

在众多关于AD发病机制的研究中, β 淀粉样蛋白($A\beta$)毒性学说是受到广泛关注的代表性模型之一。 $A\beta$ 是AD老年斑的主要成分, 同时也是导致AD发病的各种作用机理的共同通路。因此, $A\beta$ 一直在AD相关研究中占据非常重要的地位。1984年, Glenner和Wong^[22]从阿尔兹海默症患者淀粉样变的脑膜血管上分离得到 $A\beta$, 并对其进行了测序, 明确了 $A\beta$ 是由其前体蛋白APP水解得到的包含39到43个氨基酸的多肽片段。正常情况下, 机体本身具有一定的清除机制, 脑内产生的 $A\beta$ 会被细胞外蛋白酶水解并通过血脑屏障转运出脑, 或者直接被受体介导细胞内吞, 所以 $A\beta$ 不会聚集。在AD发病过程中, $A\beta$ 产生和清除发生失衡, 导致脑内富集了大量的 $A\beta$, 进而聚集成多种形态的聚集体, 对大脑内的神经元产生毒性^[23~25]。相关机制的很多研究工作致力于利用各种研究手段研究 $A\beta$ 分子精细结构、聚集体微观二级结构、聚集动力学、不同阶段的聚集体形貌和神经细胞毒性, 探索掌握 $A\beta$ 的分子作用机制, 以期认识 $A\beta$ 的神经毒性以及致病机理。

研究 $A\beta$ 聚集体内部的分子精细结构, 获得精确的多肽分子结构和关键作用位点, 是研究 $A\beta$ 聚集的核心问题之一。利用X射线衍射(XRD)^[9]和核磁共振(NMR)^[26,27]可以获得 $A\beta$ 最重要的结构特征: 如图1(a)

所示, $A\beta$ 40多肽分子具有 β 片层结构, 链间周期性距离为0.47 nm, 相邻氨基酸残基的距离为0.35 nm, 相邻 β 片层的间距为0.8~1.2 nm。通过NMR的结果可以推断 $A\beta$ 40的分子组装通过侧基间的疏水相互作用和分子间的氢键作用形成了平行的 β 片层发卡结构, 其中D23和K28之间形成的盐桥帮助固定 $A\beta$ 40的平行 β 折叠片层结构(图1(b)), 这是 $A\beta$ 40聚集成淀粉样纤维的分子结构基础^[27]。本课题组^[28]利用扫描隧道显微镜(STM)研究了 $A\beta$ 42在高定向热解石墨(HOPG)上的组装结构, 获得了图1(c)中 $A\beta$ 42组装结构的高分辨STM图像, 其结果表明 $A\beta$ 42分子同样成 β 折叠结构。在此基础上, 利用圆二色谱(CD)^[29]和傅里叶变化红外光谱技术(FTIR)^[30~34]可以进一步研究多肽在聚集过程中的微观二级结构变化。 $A\beta$ 在这些分子结构基础上, 可以进一步组装和聚集。利用光散射技术(LS)和荧光光谱技术(FL)对整个 $A\beta$ 聚集过程进行监测, 结果显示 $A\beta$ 整个聚集过程是一个成核-聚集的典型S型生长曲线^[35]。此外, 通过扫描电子电镜(SEM)和原子力显微镜(AFM)可以观察 $A\beta$ 不同聚集阶段所产生的聚集体形貌^[36]。如图1(e)所示, 通过AFM扫描观测到聚集初期不同尺寸的 $A\beta$ 寡聚体, 寡聚体进一步聚集成为细小的原纤维, 这些原纤维继续聚集, 缓慢伸展, 最终形成典型的 $A\beta$ 成熟纤维。大量实验数据表明 $A\beta$ 寡聚体具有更强的神经毒性, 利用AFM技术发现寡聚体可以在磷脂膜上形成图2所示的类似于离子通道的孔状结构^[37], 由此可推测出寡聚体破坏细胞膜结构、产生细胞毒性的可能作用机制。

3 β 淀粉样蛋白聚集的调节剂和调控机制

在了解 $A\beta$ 产生细胞毒性的分子构象、聚集结构以及整个过程的相互作用驱动力的基础上, 可以进一步探讨调控 $A\beta$ 聚集结构和聚集过程以及抑制剂的设计策略: 如控制多肽和蛋白质分子的构象, 使其稳定在某个特定状态^[39~42], 干扰多肽分子之间、聚集体之间的相互作用, 削弱有毒聚集体的形成^[43~48]或者分解已经形成的有毒聚集体^[38,49~52]。已经报道的调控多肽和蛋白质分子组装以及聚集结构的方式主要包括有机小分子型抑制剂、纳米材料抑制剂和多肽类抑制剂三大类, 以及在这三类基础上设计出的复合型抑制剂。其中, 纳米材料抑制剂因为具有高比表面积和强吸附能

图 1 (a) 具有平行β折叠结构的Aβ40单分子层的模型示意图. (b) 通过能量最小化模拟得到的Aβ40分子核心结构的模型图^[27]. (c) Aβ42组装体的三维高分辨STM图像. 扫描条件为: $V = -418.5$ mV, $I = 919.2$ pA. (d) Aβ42一个折叠的单体结构的模型示意图. 橙色和紫色条带分别代表发卡的两个β折叠带, 绿色线条为发卡结构中的转角部分和多肽N端的无规卷曲部分^[28]. (e) Aβ42形成纤维的聚集过程的AFM图像. 从Aβ多肽的单体折叠成具有β折叠二级结构的多肽聚集体, 然后形成寡聚体、原纤维, 最后聚集为成熟纤维^[36] (网络版彩图)

Figure 1 (a) Schematic representation of a single molecular layer or cross-β unit. (b) Central Aβ40 molecule from the energy-minimized five-chain system viewed down the long axis of the fibril. Residues are color-coded according to their sidechains as hydrophobic (green) polar magenta positive (blue) or negative (red) [27]. (c) Three-dimensional high-resolution STM image of Aβ42 assemblies. $V = -418.5$ mV, $I = 919.2$ pA. (d) Proposed structural model of a folded single Aβ42 molecule. The red and purple ribbons represent the two β-strands of the hairpin and the green lines indicate the β-turn between two β-strands and the random coil at the end of the Aβ42 [28]. (e) Proposed model for Aβ1-42 fibrillogenesis *in vitro*. The hierarchy of structure from the Aβ peptide monomer folded into a β-sheet structure through oligomer protofibrils to amyloid fibrils [36] (color online).

力, 使得多肽和蛋白质分子或者聚集体能够与纳米材料表面发生各种形式的相互作用, 引起较大的构象改变, 从而改变多肽和蛋白质分子的聚集行为、聚集体结构和神经细胞毒性.

调控多肽聚集的纳米材料按照成分可分为无机纳米材料、高分子纳米材料、生物类纳米材料以及复合型纳米材料等, 从材料尺寸分为零维、一维、二维纳米材料, 包含量子点、纳米颗粒、纳米管及纳米片等, 如CdSe量子点、金纳米颗粒、聚合物纳米颗粒、碳纳米管、石墨烯纳米片、MoS₂纳米片. 当纳米材料被引入到生物体液中时会与蛋白质和核酸等生物组分相接触并通过吸附过程形成生物界面. 纳米-生物界面包含材料表面与生物组分(如蛋白质、磷脂、核酸等)的动力学、热力学交换以及动态的物理化学相互作用.

一般而言, 纳米-生物界面包含3个部分^[53]: (1) 纳米材料表面; (2) 纳米材料与周围介质间的固-液界面; (3) 固-液界面与生物物质的接触界面. 纳米材料拥有比较高的比表面积和强吸附能力, 在生物环境下, 纳米材料与生物组分之间通过范德华力、疏水作用、氢键、静电力等发生相互作用, 通常会诱导分子组装结构和构象的改变, 这一作用过程与纳米材料的尺寸、形状、化学修饰等表面性质密切相关^[43,54-57]. 大量研究表明, 纳米-生物界面对于纳米材料的生物效应具有至关重要的意义, 是纳米材料和生物体系相互作用的重要介质. 研究多肽或蛋白质分子和纳米材料两者界面之间的相互作用, 可以从分子水平揭示其作用和调节机理, 这既是生物医学领域应用的核心问题, 也是物理化学学科的重要科学问题.

图 2 (A) 淀粉样蛋白在磷脂膜上形成离子通道的AFM图像. (B) 单个离子通道型寡聚体的高分辨AFM图像^[38]. (C) 淀粉样蛋白在磷脂膜上形成离子通道的理论计算与结构模型^[37] (网络版彩图)

Figure 2 (A) AFM images of the ion channel of amyloid peptide and the model proposed. (B) Individual amyloid channel-like oligomer structures at high resolution ^[38]. (C) An annular channel structure in the membrane based Aβ17-42 oligomer ^[37] (color online).

3.1 基于无机纳米材料的Aβ聚集抑制方法

3.1.1 零维无机纳米颗粒调控Aβ聚集

无机纳米颗粒中, 量子点(QDs)可以通过化学修饰进行特异性连接并应用于生物活体标记和检测, 具有细胞毒性低、生物相容性好等优势. 研究人员研究淀粉样蛋白抑制剂过程中, 发现具有核壳结构的CdSe/ZnS QDs能与多种淀粉样蛋白相互作用, 可以用来监测淀粉样蛋白纤维化过程^[58-61]. 对QD表面进行化学修饰可以获得不同的物理化学特性, 进而对淀粉样蛋白聚集过程产生有效调节. 例如, 图3(A)所示的巯基乙酸(TGA)修饰的CdTe量子点(TGA-QDs)对Aβ40纤维化表现出显著的抑制效果, 这种量子点在尺寸、电性、结合方式上都模拟了多肽类抑制剂^[45]. 如果在CdTe量子点表面包被N-乙酰-L-半胱氨酸, 能够在生理pH下显著抑制Aβ分子的纤维化. 实验过程中发现, 这种NAC-QDs的抑制效果, 主要来源于NAC-QDs和Aβ纤维活性位点间的氢键相互作用, 量子点与Aβ纤维结合, 对活性位点的封闭阻碍了Aβ纤维的进一步生长^[62], 并且CdTe量子点的抑制效果与浓度有关.

近年来, 除了常见的CdSe、CdTe量子点, 研究人员发现经过独特方法制备的石墨烯量子点(graphene

QDs, GQDs)在Aβ聚集调控方面具有低毒高效的聚集抑制效果^[63,64]. 在多肽和蛋白分子相关的研究工作中, 高定向裂解石墨(HOPG), 其块体性能接近单晶石墨, 最初是作为可重复使用的平滑表面, 在原子力显微术和扫描隧道显微术中用作研究多肽和蛋白质组装和聚集过程的基底^[28,47,65-67]. 但在此过程中, 研究人员很快发现, 石墨基底的界面性质, 不仅会影响淀粉样蛋白的聚集体形貌, 还会影响淀粉样蛋白的整个聚集过程. 因此人们开始关注石墨对淀粉样蛋白自组装和聚集状态的基底效应^[39,68]. 比较不同基底的诱导作用, 结果发现相同的实验条件下, 淀粉样蛋白分子在云母表面仅有单体和聚集形成的寡聚体, 而在石墨基底上则聚集形成具有β-片层结构的聚集体和纤维^[39,40]. 本课题组^[69]的相关研究工作同样证实了石墨基底对多肽构象转变的诱导作用. 但是由石墨块体得到的石墨烯纳米片层, 本身溶解性和细胞毒性等问题限制了其在生物医药领域的应用前景. 研究人员试图将石墨烯片层尺寸进一步降低, 得到尺寸不超过100 nm的零维石墨烯量子点GQDs, 其生物相容性好, 细胞毒性大大降低, 且其表面可以诱导调控Aβ聚集过程和聚集体形貌, 有效降低Aβ的神经细胞毒性^[63]. 在此基础上, 还可以将GQDs与一些传统的Aβ拮抗剂结合, 如图3(B)所示的高牛磺酸

图 3 (A) (a) CdTe量子点的结构示意图, 其与Aβ42多肽分子在结构上具有相似性. (b) 使用ThT荧光光谱表征CdTe量子点对Aβ40聚集动力学的影响^[45]. (B) (a) GQD-T抑制Aβ42纤维化示意图. (b) GQDs和GQD-T抑制Aβ42纤维化的ThT荧光表征. (c~g) GQDs和GQD-T抑制Aβ42纤维化的AFM表征. (h) GQDs和GQD-T抑制Aβ42聚集体的神经细胞毒性^[64] (网络版彩图)

Figure 3 (A) (a) Molecular structures of CdTe QDs and Aβ42 with similarities. (b) Kinetics of Aβ1-40 fibrillization with and without CdTe NPs were monitored by ThT fluorescence ^[45]. (B) (a) Schematic representation of the inhibited fibril formation of Aβ42 with GQD-T. (b) The inhibited fibril formation of Aβ42 with GQDs and GQD-T observed by fluorescence intensity. (c~g) The inhibited fibril formation of Aβ42 with GQDs and GQD-T observed by AFM. (h) The inhibited cytotoxicity of Aβ42 with GQDs and GQD-T observed by MTT method ^[64] (color online).

与量子点结合得到GQD-T, 协同效应下, 进一步提高抑制Aβ聚集和神经细胞毒性的能力^[64].

除了上述量子点, 金纳米颗粒(AuNPs)也广泛用于淀粉样蛋白聚集的调控和检测^[47,70-74]. AuNPs是一类性质稳定、生物相容性好且具有良好光学特性的金属纳米颗粒. 基于Au-巯基相互作用, AuNPs能与多种生物大分子结合且不影响其生物活性. 近年来, 多项研究发现AuNPs不仅可以用来标记淀粉样蛋白的抑制剂, 其本身也可以用作淀粉样蛋白抑制剂, 与多肽和蛋白质发生相互作用, 抑制其纤维化. 图4(A)中, 在AuNPs作用下, Aβ单体倾向于形成球型的寡聚体和细小纤维, 相互作用下产生的聚集体与Aβ自组装聚集时形成的典型纤维结构相比, 具有较低的细胞毒性^[47].

通过模拟计算得到的最新研究结果显示, AuNPs通过疏水相互作用与Aβ多肽分子结合, 从而干扰了Aβ-Aβ之间的相互作用和聚集过程^[73]. 图4(B)中利用分子动力学模拟Aβ16-22 (KLVFFAE)四聚体和八聚体与AuNPs相互作用的详细过程. KLVFFAE中7个不同的氨基酸残基与AuNPs之间相互作用强度和结合能不同, 研究发现, AuNPs与L17和F20两个氨基酸残基疏水相互作用能力最强, AuNPs调控Aβ聚集过程中起到了关键作用. 此外, 利用AuNPs光-热转换能力, 通过AuNPs产生的局部热效应, 也可以清除淀粉样蛋白聚集体. 有报道指出, 对AuNPs与Aβ的共混体系施加很弱的微波, 只需几分钟的微波辐射就可以使Aβ的淀粉样聚集体沉积物解聚、清除^[49]. 通过这种局部光-热转

图 4 (A) 金纳米颗粒抑制Aβ的纤维化并降低神经毒性. (a) TEM表明在无金纳米颗粒时, Aβ形成完整的纤维, 加入金纳米颗粒后, 纤维破碎. (b) 加入金纳米颗粒后, ThT荧光强度大大减弱. (c) 经过不同修饰的金纳米颗粒对ThT荧光强度的影响有所区别. (d) 加入不同修饰的金纳米颗粒, Aβ细胞毒性的变化^[47]. (B) (a) 利用分子动力学详细模拟了KLVFFAE四聚体 KLVFFAE四聚体/AuNPs KLVFFAE八聚体以及KLVFFAE八聚体/AuNPs从初始阶段到500 ns内的分子相互作用过程. (b) KLVFFAE四聚体/AuNPs和KLVFFAE八聚体/AuNPs体系中不同氨基酸残基与AuNPs相互作用的强度和结合能. L17和F20两个氨基酸残基与AuNPs疏水相互作用能力最强^[73] (网络版彩图)

Figure 4 (A) Inhibition of Aβ fibrillization and reduction of Aβ neurotoxicity with bare gold nanoparticles. (a) Transmission electron microscopy (TEM) showed smooth fibrils formation in the absence of AuNPs while fragmented fibrils in the presence of AuNPs. (b) ThT fluorescence intensity was significantly reduced in addition of AuNPs. (c) Fibrillization kinetics of Aβ incubated with bare AuNPs and amine- and carboxyl-conjugated AuNPs by ThT assays. (d) The cytotoxicity was decreased in an AuNPs concentration-dependent manner^[47]. (B) (a) Molecular dynamics detailed analysis for the Aβ-tetramer system Aβ-tetramer/AuNPs system Aβ-octamer system and Aβ-octamer/AuNPs system from the initial state. (b) Contact probability and binding free energy analysis of Aβ-tetramer/AuNPs system and Aβ-octamer/AuNPs system^[73] (color online).

换效应, AuNPs不仅可以解聚已经形成的Aβ淀粉样沉积, 对Aβ分子的整个聚集过程也具有明显的抑制效果. AuNPs的特性, 使得微波的能量能够以特殊方式选择性地转移到“调控分子聚集”的体系上来, 这样一种微观纳米热效应与宏观的加热过程不一样.

在零维无机纳米材料与Aβ相互作用的研究中, 另一类常见的就是磁性纳米颗粒, 这类材料毒性低、生物相容性好、易降解、与淀粉样蛋白分子之间的结合能力较强, 可以实现对淀粉样蛋白聚集体的清除或者

调控淀粉样蛋白的聚集过程^[75~79]. 超顺磁四氧化三铁纳米粒子(SPIONs)与淀粉样蛋白分子相互作用, 可以影响Aβ聚集过程的滞涨期和快速生长期, 低浓度的SPIONs能够抑制Aβ的纤维化, 而高浓度的SPIONs则会提高Aβ纤维化的速率^[78]. 通过聚乙二醇(PEG)将不同生物活性肽连接到荧光素-γ-Fe₂O₃上可以得到具有生物活性的荧光磁性纳米颗粒, 这些纳米颗粒能够有效地控制Aβ40的聚集动力学^[77]. 除此之外, 荧光磁性纳米颗粒的荧光特性还有助于同时实现磁共振成像和

荧光成像, 从而实现超灵敏检测. 此外, 基于在磁场作用下磁性纳米颗粒能够产生温度变化, 近年来研究人员将磁性纳米颗粒与已经聚集成型的A β 成熟纤维共混, 在外加磁场影响下, 磁性纳米颗粒产生的热量可以有效破坏A β 成熟纤维中多肽分子间的疏水相互作用和氢键相互作用, 从而实现A β 纤维的解聚^[79].

3.1.2 一维无机纳米材料调控A β 聚集

一维纳米材料是指在两个维度上为纳米尺度的一类纳米材料, 包括纳米线、纳米棒、纳米管等. 其中, 碳纳米管作为典型的一维无机纳米材料, 六边形结构

连接完美、重量轻、强度高, 可能具有许多异常的力学、电学和化学性能. 近些年, 随着纳米材料研究的深入, 碳纳米管在生物医学领域广阔的应用前景也不断地展现出来. 碳纳米管抑制淀粉样蛋白聚集的相关研究过程中, 可以利用分子动力学模拟(MD)在分子水平上探索淀粉样蛋白与碳纳米管的结合方式和相互作用. 图5(A)中模拟A β 16-22片段KLVFF和碳纳米管相互作用的结果显示, 碳纳米管能够通过疏水作用和 π - π 堆积与KLVFF八聚体结合, 阻碍KLVFF多肽分子的氨基酸侧链进行 β -折叠(图5(B)), 因此抑制KLVFF的聚集过程^[41]. 如果将碳纳米管引入A β 25-35多肽体系, 会发现

图 5 (A) A β 16-22的单体或者寡聚体在SWCNT上吸附原理示意图. (B) A β 16-22在SWCNT上吸附导致各种微观二级结构的变化^[41]. (C) 蛋白质中与SWCNT作用的关键位点. 酪氨酸用红色表示, 苯丙氨酸用绿色表示^[83]. (D) 单壁碳纳米管与仿酶催化活性磁性颗粒共价连接, 利用协同效应, 更加有效地抑制A β 聚集过程的示意图(a)及其神经细胞毒性(b, c)^[84] (网络版彩图)

Figure 5 The interactions between carbon nanotubes and proteins. (A) Cartoon representing A β 16-22 monomer or oligomer absorption process on CNTs. (B) The changes of secondary structure probability of each residue for random A β 16-22 in presence of SWCNT^[41]. (C) The most preferred binding sites of proteins on SWCNTs. Residues highlighted in van der Waals representation corresponding to tyrosine colored in red and phenylalanine colored in green^[83]. (D) (a) Illustration of SWNT-BMP hybrid A β inhibitor. (b, c) Effect of SWNTs BMPs and hybrid on the inhibition of A β fibrillation and cytotoxicity^[84] (color online).

碳纳米管能够与A β 25-35多肽片段结合, 扰乱A β 25-35主链间的氢键相互作用, 使其原本的 β -折叠结构进一步弯曲成全新的筒状结构, 抑制A β 25-35多肽分子的聚集^[80]. 除了碳纳米管和A β 片段的相互作用形式, 研究A β 42全长和碳纳米管相互作用的工作发现, A β 42多肽分子能够快速吸附在单壁碳纳米管上, A β 42结构坍塌. 这一A β 42在碳纳米管表面吸附过程的驱动力是A β 42中疏水核心片段与碳纳米管的相互作用^[81].

除了疏水相互作用, 淀粉样蛋白序列中有芳香类氨基酸侧链, 如色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)、苯丙氨酸(Phe), 可以与碳纳米管中的共轭 π 电子结构形成 π - π 堆积作用. 研究不同的芳香类氨基酸侧链, 发现多聚色氨酸片段与氧化型多壁碳纳米管间的相互作用力强于多聚赖氨酸与碳纳米管间的作用力, 说明含有芳香类侧链的多肽序列与碳纳米管之间通过 π - π 堆积相互作用的重要性^[82]. 单壁碳纳米管和芳香族氨基酸残基(Trp Phe Tyr)间的相互作用和强结合力对淀粉样多肽和蛋白质分子在单壁碳纳米管上的吸附至关重要(图5(C))^[83]. 仅仅利用碳纳米管抑制A β 聚集和毒性的效果有限, 研究人员试图将单壁碳纳米管与仿酶催化活性的磁性纳米颗粒共价连接, 如图5(D)所示, 制备新型碳纳米管-仿酶催化活性磁性颗粒复合抑制剂, 利用协同效应, 更加有效地抑制A β 聚集过程、聚集体形貌和其神经细胞毒性^[84].

3.1.3 二维无机纳米材料调控A β 聚集

在零维无机纳米材料部分, 我们已经介绍过石墨烯纳米片本身溶解性和细胞毒性等问题限制了其在生物医药领域的应用前景. 除了将石墨烯纳米片进一步加工成尺寸更小的GQDs解决毒性、溶解性和生物相容性等问题, 还可以将其氧化得到氧化石墨烯, 用来改善各项性质. 细胞生长支架的相关研究工作中, 不仅发现氧化石墨烯的表面有助于细胞黏附和增殖, 同时针对多种细胞系的毒性实验, 验证了氧化石墨烯的生物安全性^[85,86]. 其中, 氧化石墨烯对人的成纤维细胞的细胞毒性是有浓度依赖关系的. 当浓度低于20 $\mu\text{g/mL}$ 时, 氧化石墨烯不会有明显的细胞毒性, 但是高浓度的氧化石墨烯在细胞和动物水平平均表现出一定的生物毒性. 选择生物相容性和安全性好的氧化石墨烯片层来调控淀粉样蛋白纤维化过程, 研究结果表明淀粉样蛋白单体能够在氧化石墨烯片层表面吸附, 其聚集过

程被抑制^[87]. 氧化石墨烯本身就具备独特的物理和化学性质, 在表面加以修饰, 更是增加其电学、光学、热学等方面的优异特性. 某些在近红外区拥有光学特性的氧化石墨烯, 还可以用于阿尔兹海默症的热疗. 如图6(A)所示, 对修饰有硫磺素S (ThS)的氧化石墨烯进行激光照射, 氧化石墨烯可加热并分解淀粉样蛋白聚集体, 降低A β 的细胞毒性. 在缓冲液和小鼠的脑脊液中, 研究人员都观察到这一效应. 此外, 硫磺素还是一种可以标记淀粉样蛋白的荧光染料分子, 利用ThS的荧光特性可以识别淀粉样蛋白中的 β -片层结构, 所以氧化石墨烯-ThS复合物不仅是淀粉样蛋白的调节剂, 同时可实现对纤维解聚过程的实时监测^[50].

g-C₃N₄是一种近似石墨烯的平面二维片层结构, 具有良好的热稳定性和化学稳定性, 且无毒无污染. g-C₃N₄作为新型的非金属光催化材料, 在普通可见光下即可以起到光催化作用. 图6(B)中的研究结果发现Pt掺杂的g-C₃N₄纳米片层g-C₃N₄@Pt, 与氧化石墨烯片层类似, 通过疏水和 π - π 堆积等界面相互作用, 诱导A β 40聚集, 其中掺杂的Pt²⁺还可以与电负性的A β 40产生静电相互作用, 强化了g-C₃N₄的A β 抑制效果^[88]. 同时, 可见光照射下就可以实现g-C₃N₄@Pt催化氧化A β 40聚集体, 改变其神经细胞毒性. 此外, 过渡金属硫化物二维纳米材料, 如MoS₂片层也被作为有效界面, 成功调控A β (33-42)聚集, 有别于A β (33-42)聚集形成的成熟纤维, 随着MoS₂片层浓度的增加, A β (33-42)聚集体逐渐从纤维变成细小的短纤维, 直至形成A β 膜状聚集体^[89].

3.2 基于聚合物纳米材料的蛋白聚集抑制方法

在聚合物纳米材料中, 研究最多的就是树枝状分子, 这是一类具有规整结构和单分散性的大分子化合物. 其分子本身是具有几到几十纳米尺寸的球状结构, 分布着可修饰的官能团, 不同于传统高分子化合物, 树枝状分子具有其独特的物理化学性质, 广泛应用于材料、催化以及生物医学领域. 树枝状分子可以与多肽和蛋白分子发生比较强的相互作用, 干扰多肽和蛋白分子构象, 尤其可以有效干扰淀粉样蛋白的折叠和聚集结构. 图7(A)中树枝状分子[G3]-Mor加入到A β 28体系中可以明显促进纤维状聚集体的形成, 降低聚集体中神经细胞毒性更高的原纤维和寡聚体的含量, 因此

图 6 (A) (a) ThS-GO 吸收近红外波段光使Aβ纤维解聚的示意图. (b) 在缓冲液(上)和小鼠脑脊液(下)中, 利用近红外波段光 GO-ThS都可以有效分解Aβ聚集体. (c) GO-ThS 抑制Aβ聚集体的细胞毒性^[50]. (B) g-C₃N₄@Pt抑制Aβ40聚集, Pt掺杂的 g-C₃N₄@Pt在可见光照射下对Aβ40聚集物有催化氧化作用, 抑制其神经细胞毒性^[88]. (C) MoS₂纳米片调控Aβ(33-42)的聚集体形貌: (a) Aβ(33-42), (b) Aβ(33-42)-25 μg/mL, (c) Aβ(33-42)-50 μg/mL, (d) Aβ(33-42)-100 μg/mL (网络版彩图)

Figure 6 (A) (a) Schematic representation of ThS-modified GO with high NIR absorbance used for AD treatment. (b) GO-ThS can effectively dissolve amyloid deposits of Aβ1-40 upon NIR laser irradiation confirmed by fluorescence images in Tris buffer (Top) and mice CSF (Bottom). (c) Cell toxicity of Aβ aggregates can be neutralized by ThS-GO [50]. (B) Schematic representation of the inhibition effect of g-C₃N₄@Pt for Aβ40 aggregation and toxic [88]. (C) AFM images of Aβ(33-42) aggregation structures modulated by MoS₂: (a) Aβ(33-42), (b) Aβ(33-42)-25 μg/mL, (c) Aβ(33-42)-50 μg/mL, (d) Aβ(33-42)-100 μg/mL. The scale bar in the image is 2 μm [89] (color online).

大大降低Aβ的毒性^[90]. 除了传统的树枝状分子, 人工修饰能够提高树枝状分子的特异性识别功能和生物相容性. Aβ与细胞表面的聚合唾液酸(SA)有着较强的结合, 合成的SA共轭树枝状分子能够新的结构单元协同作用下, 特异性结合Aβ单体. SA共轭分子的抑制效

果与尺寸和浓度有关, 浓度达到微摩尔级别时, 能够表现出对Aβ毒性的抑制作用^[91,92].

聚合物高分子还可以通过自组装形成纳米粒子、纳米线、纳米管和薄膜等丰富多样的结构. 不带电的 *N*-异丙基丙烯酰胺(*N*-isopropylacrylamide, NIPAM)和

图 7 (A) (a) [G3]-Mor 枝状聚合物结构. (b) [G3]-Mor 与 Aβ 1-28 相互作用, 加速 Aβ 聚集, 增加成熟纤维量, 降低毒性更大的寡聚体、原纤维比例. (c) [G3]-Mor 存在下 Aβ 1-28 神经细胞毒性被大大抑制^[90]. (B) (a) NP10-EGCG 双组分抑制剂与 Aβ 相互作用的调控机制示意图. (b-d) 荧光光谱曲线、荧光强度和细胞毒性数据, 都显示 NP10-EGCG 双组分抑制剂与单组分比较, 具有更强的 Aβ 抑制作用^[95] (网络版彩图)

Figure 7 (A) (a) Structure of [G3]-Mor. (b) Electron micrographs of Aβ 1-28 samples at the end of the aggregation process without and with [G3]-Mor. (c) Cell viability on treatment with Aβ 1-28 without (white bars) and with 0.02 μM [G3]-Mor (light grey bars) and 0.2 μM (dark grey bars) ^[90]. (B) (a) Schematic representation of the possible modes of interaction between NP10-EGCG dual inhibitor and Aβ. (b-d) ThT fluorescence intensity and the viability of SH-SY5Y cells in the presence or absence of NP10-EGCG with different concentration ratio ^[95] (color online).

N-叔丁基丙烯酰胺(*N*-tert-butylacrylamide, BAM)形成的NIPAM/BAM共聚物纳米颗粒, 两个组分比例不同, 其表面性质具有明显差异. NIPAM/BAM共聚物中NIPAM的含量越高, 共聚物纳米颗粒的氢键结合能力就越强, 通过切断现有Aβ单体或寡聚体的相互作用位点, 抑制Aβ的成核, 阻碍纤维状聚集体的生长, 表现出更强的抑制作用^[93,94]. 功能性聚合物纳米颗粒, 还可以与某些Aβ小分子抑制剂组成双组分聚集抑制剂, 协同作用下, 提高聚集调控效果. 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是绿茶茶多酚的主要成分, 是从茶叶中分离

得到的儿茶素类单体, 可以通过芳香环 π - π 堆积与Aβ分子或者聚集体发生相互作用, 抑制Aβ纤维生长, 改变纤维结构和细胞毒性. 负电性的NP10高分子纳米颗粒则抑制Aβ的初期成核. 如图7(B)所示, NP10-EGCG双组分共存的情况下, NP10还可以提高EGCG与Aβ的结合强度, NP10和EGCG两种抑制方式协同作用, 大大提高了Aβ聚集的抑制效果^[95].

3.3 基于生物分子组装体的蛋白聚集抑制方法

胆固醇、磷脂和多糖等生物分子形成的组装体具

有很多明显的优势: 氨基酸组装体通过调整侧基序列有可能实现不同种类的分子设计; 生物分子组装体具有突出的生物相容性和特异性识别功能; 生物分子组装体通常都具有尺寸效应、多价效应和位阻效应, 使得生物分子组装体具有较强的界面相互作用和聚集调控能力. PEG修饰的磷脂纳米胶束与A β 42结合, 可以有效抑制多肽分子向错误折叠结构的转变, 抑制A β 42的聚集, 降低其细胞毒性^[96]. 此外, 脂质纳米粒子, 即脂质体和固体油脂纳米粒子都和A β 42的聚集体有很高的亲和力, 通过与A β 组装体相互作用抑制其进一步聚集^[97]. 带有胆固醇基团的多糖类纳米凝胶能够高效地进入A β 42多肽分子中, 阻止其组装和聚集过程, 进而抑制A β 42纤维的形成, 降低A β 对PC12细胞的毒性. 使用正电性的氨基修饰该纳米凝胶, 抑制效果会进一步增强^[98]. 近年来有研究通过表面等离子共振的方法证实, 将脂质体和染料小分子结合, 在脂质体表面修饰上染料分子, 将大幅提高其与A β 纤维的相互作用力和抑制聚集的效果^[99].

3.4 基于多肽基复合纳米颗粒的蛋白聚集抑制方法

KLVFF和LVFFA作为A β 40和A β 42分子间相互作用聚集形成纤维的关键片段^[100], 能够特异性识别A β 分子并与其结合, 从而干扰A β -A β 分子间正常的相互作用. 但是单纯用KLVFF和LVFFA多肽本身去抑制A β 40和A β 42效果还是较弱, 需要在这两个核心多肽片段末端进行结构改造, 通过改变多肽序列^[101,102], 共价连接有机小分子^[103]、复合金属离子螯合剂^[38]以及共价键连接吡啶类小分子形成共组装体^[48]等各种方式, 在不影响核心多肽片段与A β 全长作用能力的前提下, 进一步增加生物分子和调节剂的作用面积, 增加范德华力、氢键、疏水作用、静电力、 π - π 堆积等作用强度, 提高多肽抑制剂干扰A β 聚集的能力, 进而提高抑制A β 聚集和降低神经细胞毒性的效率. 基于短肽抑制剂氨基酸残基与A β 分子的作用方式和作用机制, 研究者还筛选出了一系列类肽分子, 作为新型A β 抑制剂. 如图8(A)所示, 本课题组^[104]利用SPRi方法筛选出与A β 相关的类肽AIP1-Cys, 可以与A β 的N末端相互作用, 有效抑制A β 聚集. 纳米孔道形式的A β 寡聚体破坏细胞膜的能力最强, 该研究工作发现AIP1-Cys改变了A β 聚集集体形貌, 从有毒寡聚体变成更为无序、破坏细胞膜

能力弱的低毒聚集体, 成功抑制了A β 的细胞毒性.

研究者还可以利用多肽片段和纳米材料复合的方式, 结合特异性多肽片段和纳米材料二者的调控原理和突出效果, 设计抑制作用更为明显且具有良好生物相容性的多肽基纳米颗粒A β 抑制剂^[105]. 苯丙氨酸-苯丙氨酸(FF)是A β 16-20 (KLVFF)的关键作用位点, 对于A β 的聚集至关重要. FF可以组装形成水凝胶、纳米管等各种纳米结构^[106]. 聚N-丙酰胺-L-苯丙酰胺-L-苯丙氨酸甲酯(聚-FF-ME)是一类使用FF修饰的高分子材料, 能够自组装形成纳米颗粒, 其中的苯丙氨酸残基与A β 对应片段特异性识别, 可有效干扰A β 40从无规卷曲转变成 β -折叠的二级结构, 从而大大抑制A β 40聚集动力学^[105]. 与聚-FF-ME对比, 聚-AA-ME反而会加速A β 40的纤维化进程. 这一研究结果说明纳米颗粒上FF二聚体残基与A β 40上特定区域间的疏水相互作用是抑制A β 聚集的关键因素.

针对淀粉样多肽的研究表明, 脑内的小胶质细胞可以分泌营养神经的物质, 并通过吞噬作用直接清除A β . 实验结果表明, 单独的生物活性肽和金纳米颗粒都不能被巨噬细胞所识别, 但是经过生物活性肽修饰的金纳米颗粒可以激活巨噬细胞^[107]. 这一类工作的难点主要在于生物活性肽的设计和选择, 既要与淀粉样蛋白具有较高的亲和力, 同时还要保持其原有的生物活性. 基于这些问题, 研究人员巧妙地设计出一种A β 纳米“清道夫”, 其结构主要包含3部分: 带阳离子的壳聚糖自组装纳米颗粒为载体、其上连接包含聚乙二醇化KLVFF作为A β 多肽识别片段和自噬体成核的关键分子Beclin-1作为A β 降解的核心部分^[108]. 如图8(B)所示, 壳聚糖载体帮助A β 纳米“清道夫”通过血脑屏障, 进入大脑, 其上的多肽识别片段部分, 一方面可以有效识别A β 多肽分子, 抑制和调控A β 聚集过程和聚集集体形貌, 减少脑内A β 有毒聚集体的沉积; 另一方面识别脑内A β 有毒聚集体, 与其结合后利用Beclin-1诱导激活自噬细胞降解A β .

4 总结与展望

纳米尺度生物界面的物理和化学结构可以显著影响其与生物分子的相互作用, 进而影响蛋白质/多肽分子的作用形式和组装聚集方式. 通过利用化学和生物

图 8 (A) AIP1-Cys 类肽分子干扰 Aβ40 β 折叠二级结构和有毒寡聚体的形成. 通过荧光光谱(a), AFM (b, c) 和包裹钙黄绿素荧光标记物的脂质体小球荧光渗漏实验(d)比较未加入 AIP1-Cys 和加入不同浓度比例的 AIP1-Cys 的情况下, 对 Aβ40 聚集过程、聚集集体形貌、有毒寡聚体形成的影响. (e) AIP1-Cys 有效降低 Aβ 破坏细胞膜能力, 抑制 Aβ 神经细胞毒性的原理示意图^[104]. (B) (a) Aβ 纳米清道夫抑制 Aβ 聚集以及解聚 Aβ 有毒聚集体的作用机制示意图. (b, c) 利用 ELISA 检测未加入和加入 Aβ 纳米清道夫后可溶性的 Aβ42 和不溶性的 Aβ42 在脑内含量的变化. (d) 对野生普通小鼠, AD 患病小鼠, 加入 Aβ 纳米清道夫的 AD 患病小鼠脑内 Aβ42 沉积量进行免疫组织化学比较分析. (e) 利用尼氏染色法比较野生普通小鼠、AD 患病小鼠、加入 Aβ 纳米清道夫的 AD 患病小鼠脑内神经细胞状态^[108] (网络版彩图)

Figure 8 (A) AIP1-Cys inhibits Aβ42 oligomerization. (a) ThT fluorescence; (b, c) AFM and (d) fluorescence leakage from calcein-trapped entrapped liposomes in the presence or absence of AIP1-Cys with different concentration ratio. (e) Schematic illustration of the mechanism for reduction of Aβ42 oligomer-induced membrane permeability by AIP1 ^[104]. (B) (a) The schematic illustration of the Aβ nanosweeper mechanism of action. (b, c) Soluble Aβ42 and insoluble Aβ42 in the presence or absence of the Aβ nanosweeper in the brain measured by ELISA. (d) The immunohistochemical analysis of Aβ42 deposition in the brains of WT control mice, AD control mice, AD mice treated with the Aβ nanosweeper. The Aβ42 deposits appeared as brown signals as indicated by red dotted circle. Scale bar is 50 μm. (e) The Nissl staining of nerve cells in the brains of WT control mice AD control mice AD mice treated with the Aβ nanosweeper ^[108] (color online).

功能化的纳米材料, 有可能获得具有抑制和调控性能的核心结构和分子特征, 能够为发展调控蛋白聚集的实验技术提供必要的基础. 这些研究对于认识相关纳

米结构与生物系统的相互作用具有基础性的重要意义, 有助于发展与神经退行性疾病的诊断和治疗手段相关的纳米生物技术.

参考文献

- 1 Whitesides GM, Mathias JP, Seto CT. *Science*, 1991, 254: 1312–1319
- 2 Lorenzo A, Yankner BA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 12243–12247
- 3 Lührs T, Ritter C, Adrian M, Riek-Loher D, Bohrmann B, Döbeli H, Schubert D, Riek R. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 17342–17347
- 4 Petkova AT, Buntkowsky G, Dyda F, Leapman RD, Yau WM, Tycko R. *J Mol Biol*, 2004, 335: 247–260
- 5 Nelson R, Sawaya MR, Balbirnie M, Madsen AØ, Riekkel C, Grothe R, Eisenberg D. *Nature*, 2005, 435: 773–778
- 6 Prusiner SB, Lipton HL. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 1991, 26: 397–438
- 7 Prusiner SB. *Science*, 1991, 252: 1515–1522
- 8 Prusiner SB. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 13363–13383
- 9 Sawaya MR, Sambashivan S, Nelson R, Ivanova MI, Sievers SA, Apostol MI, Thompson MJ, Balbirnie M, Wiltzius JJW, McFarlane HT, Madsen AØ, Riekkel C, Eisenberg D. *Nature*, 2007, 447: 453–457
- 10 Betsholtz C, Svensson V, Rorsman F, Engström U, Westermark GT, Wilander E, Johnson K, Westermark P. *Exp Cell Res*, 1989, 183: 484–493
- 11 Johnson RE, Nahmias AJ, Magder LS, Lee FK, Brooks CA, Snowden CB. *N Engl J Med*, 1989, 321: 7–12
- 12 Nilsson KPR, Aslund A, Berg I, Nyström S, Konradsson P, Herland A, Inganäs O, Stabo-Eeg F, Lindgren M, Westermark GT, Lannfelt L, Nilsson LNG, Hammarström P. *ACS Chem Biol*, 2007, 2: 553–560
- 13 Westermark P, Wernstedt C, O'Brien T D, Hayden D W, Johnson K H. *Am J Pathol*, 1987, 127: 414–417
- 14 Westermark P, Wernstedt C, Wilander E, Hayden DW, O'Brien TD, Johnson KH. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 3881–3885
- 15 Bernheimer H, Birkmayer W, Hornykiewicz O, Jellinger K, Seitelberger F. *J Neurol Sci*, 1973, 20: 415–455
- 16 Conway KA, Harper JD, Lansbury PT. *Biochemistry*, 2000, 39: 2552–2563
- 17 Ravikumar B, Duden R, Rubinsztein DC. *Human Mol Genet*, 2002, 11: 1107–1117
- 18 De Felice FG, Velasco PT, Lambert MP, Viola K, Fernandez SJ, Ferreira ST, Klein WL. *J Biol Chem*, 2007, 282: 11590–11601
- 19 Klein WL. *Neurochem Int*, 2002, 41: 345–352
- 20 Lambert MP, Barlow AK, Chromy BA, Edwards C, Freed R, Liosatos M, Morgan TE, Rozovsky I, Trommer B, Viola KL, Wals P, Zhang C, Finch CE, Krafft GA, Klein WL. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 6448–6453
- 21 Mizoroki T, Meshitsuka S, Maeda S, Murayama M, Sahara N, Takashima A. *J Alzheimer's Disease*, 2007, 11: 419–427
- 22 Glenner GG, Wong CW. *Biochem Biophys Res Commun*, 1984, 120: 885–890
- 23 Robertson ED, Mucke L. *Science*, 2006, 314: 781–784
- 24 Goedert M, Spillantini MG. *Science*, 2006, 314: 777–781
- 25 Brody DL, Magnoni S, Schwetye KE, Spinner ML, Esparza TJ, Stocchetti N, Zipfel GJ, Holtzman DM. *Science*, 2008, 321: 1221–1224
- 26 Gestwicki JE, Crabtree GR, Graef IA. *Science*, 2004, 306: 865–869
- 27 Petkova AT, Ishii Y, Balbach JJ, Antzutkin ON, Leapman RD, Delaglio F, Tycko R. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 16742–16747
- 28 Ma X, Liu L, Mao X, Niu L, Deng K, Wu W, Li Y, Yang Y, Wang C. *J Mol Biol*, 2009, 388: 894–901
- 29 Barrow CJ, Yasuda A, Kenny PTM, Zagorski MG. *J Mol Biol*, 1992, 225: 1075–1093
- 30 Ono K, Naiki H, Yamada M. *Curr Pharm Design*, 2006, 12: 4357–4375
- 31 Blazer LL, Neubig RR. *Neuropsychopharmacology*, 2009, 34: 126–141
- 32 Frid P, Anisimov SV, Popovic N. *Brain Res Rev*, 2007, 53: 135–160
- 33 Irie K, Murakami K, Masuda Y, Morimoto A, Ohgashi H, Ohashi R, Takegoshi K, Nagao M, Shimizu T, Shirasawa T. *J Biosci Bioeng*, 2005, 99: 437–447
- 34 Klunk WE, Debnath ML, Pettegrew JW. *Neurobiol Aging*, 1994, 15: 691–698
- 35 Ono K, Yoshiike Y, Takashima A, Hasegawa K, Naiki H, Yamada M. *Exp Neurol*, 2004, 189: 380–392
- 36 Arimon M, Díez-Pérez I, Kogan MJ, Durany N, Giralte E, Sanz F, Fernández-Busquets X. *FASEB J*, 2005, 19: 1344–1346
- 37 Quist A, Doudevski I, Lin H, Azimova R, Ng D, Frangione B, Kagan B, Ghiso J, Lal R. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 10427–10432
- 38 Losic D, Martin LL, Aguilar MI, Small DH. *Biopolymers*, 2006, 84: 519–526
- 39 Arce FT, Jang H, Ramachandran S, Landon PB, Nussinov R, Lal R. *Soft Matter*, 2011, 7: 5267–5273
- 40 Oh JH, Choi S, Shin J, Park JS. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 477: 614–619

- 41 Li H, Luo Y, Derreumaux P, Wei G. *Biophys J*, 2011, 101: 2267–2276
- 42 Habchi J, Chia S, Limbocker R, Mannini B, Ahn M, Perni M, Hansson O, Arosio P, Kumita JR, Challa PK, Cohen SIA, Linse S, Dobson CM, Knowles TPJ, Vendruscolo M. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: E200–E208
- 43 Chen Y, Chen Z, Sun Y, Lei J, Wei G. *Nanoscale*, 2018, 10: 8989–8997
- 44 Tahmasebinia F, Emadi S. *Biomaterials*, 2017, 30: 285–293
- 45 Yoo SI, Yang M, Brender JR, Subramanian V, Sun K, Joo NE, Jeong SH, Ramamoorthy A, Kotov NA. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 5110–5115
- 46 Xie L, Luo Y, Lin D, Xi W, Yang X, Wei G. *Nanoscale*, 2014, 6: 9752–9762
- 47 Liao YH, Chang YJ, Yoshiike Y, Chang YC, Chen YR. *Small*, 2012, 8: 3631–3639
- 48 Niu L, Liu L, Xi W, Han Q, Li Q, Yu Y, Huang Q, Qu F, Xu M, Li Y, Du H, Yang R, Cramer J, Gothelf KV, Dong M, Besenbacher F, Zeng Q, Wang C, Wei G, Yang Y. *ACS Nano*, 2016, 10: 4143–4153
- 49 Triulzi RC, Dai Q, Zou J, Leblanc RM, Gu Q, Orbulescu J, Huo Q. *Colloids Surfs B*, 2008, 63: 200–208
- 50 Wu W, Lei P, Liu Q, Hu J, Gunn AP, Chen M, Rui Y, Su X, Xie Z, Zhao YF, Bush AI, Li Y. *J Biol Chem*, 2008, 283: 31657–31664
- 51 Li M, Yang X, Ren J, Qu K, Qu X. *Adv Mater*, 2012, 24: 1722–1728
- 52 Guan Y, Li M, Dong K, Gao N, Ren J, Zheng Y, Qu X. *Biomaterials*, 2016, 98: 92–102
- 53 Nel AE, Mädler L, Velegol D, Xia T, Hoek EMV, Somasundaran P, Klaessig F, Castranova V, Thompson M. *Nat Mater*, 2009, 8: 543–557
- 54 Wang J, Cao Y, Li Q, Liu L, Dong M. *Chem Eur J*, 2015, 21: 9632–9637
- 55 Elwing H, Nilsson B, Svensson KE, Askendahl A, Nilsson UR, Lundström I. *J Colloid Interface Sci*, 1988, 125: 139–145
- 56 Latour RA, Rini CJ. *J Biomed Mater Res*, 2002, 60: 564–577
- 57 Basalyga DM, Latour RA. *J Biomed Mater Res*, 2003, 64A: 120–130
- 58 Vannoy CH, Xu J, Leblanc RM. *J Phys Chem C*, 2010, 114: 766–773
- 59 Zhang LY, Zheng HZ, Long YJ, Huang CZ, Hao JY, Zhou DB. *Talanta*, 2011, 83: 1716–1720
- 60 Gupta S, Babu P, Suroliya A. *Biomaterials*, 2010, 31: 6809–6822
- 61 Ji X, Naistat D, Li C, Orbulescu J, Leblanc RM. *Colloids Surfs B*, 2006, 50: 104–111
- 62 Xiao L, Zhao D, Chan WH, Choi MMF, Li HW. *Biomaterials*, 2010, 31: 91–98
- 63 Liu Y, Xu LP, Dai W, Dong H, Wen Y, Zhang X. *Nanoscale*, 2015, 7: 19060–19065
- 64 Liu Y, Xu LP, Wang Q, Yang B, Zhang X. *ACS Chem Neurosci*, 2018, 9: 817–823
- 65 Liu L, Niu L, Xu M, Han Q, Duan H, Dong M, Besenbacher F, Wang C, Yang Y. *ACS Nano*, 2014, 8: 9503–9510
- 66 Liu L, Zhang L, Mao X, Niu L, Yang Y, Wang C. *Nano Lett*, 2009, 9: 4066–4072
- 67 Niu L, Liu L, Xu M, Cramer J, Gothelf KV, Dong M, Besenbacher F, Zeng Q, Yang Y, Wang C. *Chem Commun*, 2014, 50: 8923–8926
- 68 Brown CL, Aksay IA, Saville DA, Hecht MH. *J Am Chem Soc*, 2002, 124: 6846–6848
- 69 Mao X, Wang Y, Liu L, Niu L, Yang Y, Wang C. *Langmuir*, 2009, 25: 8849–8853
- 70 Choi I, Lee LP. *ACS Nano*, 2013, 7: 6268–6277
- 71 Gao N, Sun H, Dong K, Ren J, Qu X. *Chem Eur J*, 2015, 21: 829–835
- 72 Gao G, Zhang M, Gong D, Chen R, Hu X, Sun T. *Nanoscale*, 2017, 9: 4107–4113
- 73 Song M, Sun Y, Luo Y, Zhu Y, Liu Y, Li H. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 1815
- 74 Ma Q, Wei G, Yang X. *Nanoscale*, 2013, 5: 10397–10403
- 75 Brambilla D, Le Droumaguet B, Nicolas J, Hashemi SH, Wu LP, Moghimi SM, Couvreur P, Andrieux K. *Nanomed-Nanotechnol Biol Med*, 2011, 7: 521–540
- 76 Busquets MA, Sabaté R, Estelrich J. *Nanoscale Res Lett*, 2014, 9: 538
- 77 Skaat H, Shafir G, Margel S. *J Nanopart Res*, 2011, 13: 3521–3534
- 78 Mahmoudi M, Quinlan-Pluck F, Monopoli MP, Sheibani S, Vali H, Dawson KA, Lynch I. *ACS Chem Neurosci*, 2013, 4: 475–485
- 79 Loynachan CN, Romero G, Christiansen MG, Chen R, Ellison R, O'Malley TT, Froriep UP, Walsh DM, Anikeeva P. *Adv Healthc Mater*, 2015, 4: 2100–2109
- 80 Fu Z, Luo Y, Derreumaux P, Wei G. *Biophys J*, 2009, 97: 1795–1803
- 81 Jana AK, Sengupta N. *Biophys J*, 2012, 102: 1889–1896

- 82 Li X, Chen W, Zhan Q, Dai L, Sowards L, Pender M, Naik RR. *J Phys Chem B*, 2006, 110: 12621–12625
- 83 Ge C, Du J, Zhao L, Wang L, Liu Y, Li D, Yang Y, Zhou R, Zhao Y, Chai Z, Chen C. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 16968–16973
- 84 Shin J, Lee S, Cha M. *MedChemComm*, 2017, 8: 625–632
- 85 Ruiz ON, Fernando KAS, Wang B, Brown NA, Luo PG, McNamara ND, Vangsness M, Sun YP, Bunker CE. *ACS Nano*, 2011, 5: 8100–8107
- 86 Chang Y, Yang ST, Liu JH, Dong E, Wang Y, Cao A, Liu Y, Wang H. *Toxicol Lett*, 2011, 200: 201–210
- 87 Mahmoudi M, Akhavan O, Ghavami M, Rezaee F, Ghiasi SMA. *Nanoscale*, 2012, 4: 7322–7325
- 88 Li M, Guan Y, Chen Z, Gao N, Ren J, Dong K, Qu X. *Nano Res*, 2016, 9: 2411–2423
- 89 Wang J, Liu L, Ge D, Zhang H, Feng Y, Zhang Y, Chen M, Dong M. *Chem Eur J*, 2018, 24: 3397–3402
- 90 Klajnert B, Wasiak T, Ionov M, Fernandez-Villamarin M, Sousa-Herves A, Correa J, Riguera R, Fernandez-Megia E. *Nanomed-Nanotechnol Biol Med*, 2012, 8: 1372–1378
- 91 Patel D, Henry J, Good T. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1760: 1802–1809
- 92 Patel DA, Henry JE, Good TA. *Brain Res*, 2007, 1161: 95–105
- 93 Cabaleiro-Lago C, Lynch I, Dawson KA, Linse S. *Langmuir*, 2010, 26: 3453–3461
- 94 Cabaleiro-Lago C, Quinlan-Pluck F, Lynch I, Lindman S, Minogue AM, Thulin E, Walsh DM, Dawson KA, Linse S. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 15437–15443
- 95 Liu H, Yu L, Dong X, Sun Y. *J Colloid Interface Sci*, 2017, 491: 305–312
- 96 Pai AS, Rubinstein I, Onyüksel H. *Peptides*, 2006, 27: 2858–2866
- 97 Gobbi M, Re F, Canovi M, Beeg M, Gregori M, Sesana S, Sonnino S, Brogioli D, Musicanti C, Gasco P, Salmona M, Masserini ME. *Biomaterials*, 2010, 31: 6519–6529
- 98 Ikeda K, Okada T, Sawada SI, Akiyoshi K, Matsuzaki K. *FEBS Lett*, 2006, 580: 6587–6595
- 99 Mourtas S, Canovi M, Zona C, Aurilia D, Niarakis A, La Ferla B, Salmona M, Nicotra F, Gobbi M, Antimisiaris SG. *Biomaterials*, 2011, 32: 1635–1645
- 100 Akikusa S, Watanabe KI, Horikawa E, Nakamura K, Kodaka M, Okuno H, Konakahara T. *J Pept Res*, 2003, 61: 1–6
- 101 Soto C, Kindy MS, Baumann M, Frangione B. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 226: 672–680
- 102 Chafekar SM, Malda H, Merckx M, Meijer EW, Viertl D, Lashuel HA, Baas F, Scheper W. *ChemBioChem*, 2007, 8: 1857–1864
- 103 Findeis MA, Musso GM, Arico-Muendel CC, Benjamin HW, Hundal AM, Lee JJ, Chin J, Kelley M, Wakefield J, Hayward NJ, Molineaux SM. *Biochemistry*, 1999, 38: 6791–6800
- 104 Zhao Z, Zhu L, Li H, Cheng P, Peng J, Yin Y, Yang Y, Wang C, Hu Z, Yang Y. *Small*, 2017, 13: 1602857
- 105 Skaat H, Chen R, Grinberg I, Margel S. *Biomacromolecules*, 2012, 13: 2662–2670
- 106 Gazit E. *Chem Soc Rev*, 2007, 36: 1263–1269
- 107 Bastús NG, Sánchez-Tilló E, Pujals S, Farrera C, Kogan MJ, Giralt E, Celada A, Lloberas J, Puentes V. *Mol Immunol*, 2009, 46: 743–748
- 108 Luo Q, Lin YX, Yang PP, Wang Y, Qi GB, Qiao ZY, Li BN, Zhang K, Zhang JP, Wang L, Wang H. *Nat Commun*, 2018, 9: 1802

Regulation mechanism of nanobiointerfaces in amyloid peptide assembly and aggregation structures

Lin Niu, Yimin Zou, Yuchen Lin, Yongfang Zheng, Yanlian Yang, Chen Wang^{*}

National Center for Nanoscience and Technology, Beijing 100190, China

*Corresponding author (email: wangch@nanoctr.cn)

Abstract: In this review, we try to reflect the recent progress on assembly structures, aggregation behaviors and the cytotoxicity of beta amyloid (A β) peptides, which are closely related to the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD). Based on these studies, the progress on the regulation mechanism of various nanobiointerfaces in amyloid peptide assembly and aggregation structures is reviewed and discussed, especially the interaction patterns and mechanisms between A β peptides and nanomaterials on the molecule level. These progresses could help to deepen the insights of the complex interactions between amyloid peptides and modulators. To study A β peptide conformation, assembly mechanism and aggregation process, developing new efficient nanobiointerface modulators is of great importance for the therapeutic strategy evolution.

Keywords: neurodegenerative disease, amyloid peptide, regulation mechanism, nanobiointerface

doi: [10.1360/N032018-00163](https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N032018-00163)