

多肽水凝胶的研究进展

刘群峰, 原波

(华南理工大学材料学院生物材料研究所, 广东 广州 510640)

摘要: 多肽水凝胶具有良好的生物相容性和可降解性, 是一种很有前景的生物材料, 按照交联方式的不同, 多肽水凝胶可分为化学交联的水凝胶和物理水凝胶, 本文中按此分类对多肽水凝胶的研究做了一个总结和简要评述, 同时阐述了多肽水凝胶具有智能水凝胶的特点, 并进一步对其在生物医学方面的应用进行了介绍和展望。

关键词: 多肽水凝胶; 生物材料; 自组装; 智能水凝胶

中图分类号: R318.08

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2011)02-0029-05

Progress in peptide hydrogel

LIU Qun-feng, YUAN Bo

(Biomaterials Research Institute, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Peptide hydrogel is a kind of biomaterial with good developmental potential since it possesses good biocompatibility and degradability. Peptide hydrogel can be classified as chemical crosslinked peptide hydrogel and physical self-assembled peptide hydrogel according to its crosslinking style. Based on these two classifications, study on peptide hydrogel is summarized and briefly commented. Meanwhile, its characteristic as intelligent hydrogel is expatiated. Finally, its application in bio-medical field is introduced and forecast.

Key words: peptide hydrogel; biomaterial; self-assembly; intelligent hydrogel

凝胶是指三维网络结构的化合物与溶剂组成的体系, 它是一种三维网络立体结构^[1], 凝胶可分为水凝胶和有机凝胶, 水凝胶是最常见也是最为重要的一种。绝大多数的生物内存在的天然凝胶以及许多合成高分子凝胶均属于水凝胶。水凝胶作为一种软物质, 在很多方面具有广泛应用, 比如吸水性树脂、隐型眼镜、人造肌肉、细胞分离与培养、物料萃取、固定化酶、药物的控制释放等^[2]。制备水凝胶材料主要有两大类, 一类是合成高分子, 一类是天然生物材料如多糖和蛋白等。后者具有较好的生物相容性, 从而在生物医药等领域的应用具有优势。目前引起研究者广泛关注的一类生物高分子凝胶是多肽, 这种材料生物相容性好, 是一种很有前景的生物材料和环境友好材料。

1 化学交联的多肽水凝胶

根据多肽水凝胶内在交联方式的不同, 多肽水凝胶主要可以分成2类, 一类是化学交联键连接的水凝胶, 一类是物理水凝胶。化学交联的水凝胶交联作用通过共价键实现, 主要实现方法有采用交联剂法和光交联的方法。制备化学交联的水凝胶需要引入交联剂或者是具有反应活性的官能团, 利用多肽链中的活性反应基团与交联剂之间的反应获得凝

胶网络。

McMillan等^[3]通过基因工程的方法获得了类弹性蛋白的氨基酸序列[(Val-Pro-Gly-Val-Gly)₄(Val-Pro-Gly-Lys-Gly)](简称Lys-25), 此序列中含有规整的赖氨酸残基, 赖氨酸残基中胺基阳离子可以作为交联点与交联剂二甲基亚砷或者磷酸盐的缓冲溶液进行亲电反应制备凝胶, 这种凝胶显示了可逆的、温度趋向的溶胀和收缩, 其相转变温度估计为35℃。其他一些课题组也研究了这种类弹性蛋白的多肽凝胶体系^[3-4]。

Lutolf等^[5]描述了一种制备含有多肽组分的杂化水凝胶的方法, 凝胶网络的形成通过末端含有多个乙烯酮官能团的PEG大分子单体和两端含有半胱氨酸残基的硫醇基团的多肽片段发生Michael型的加成反应获得, 这种通过末端连接的方法获得的凝胶具有比较规整的凝胶结构, 值得进一步深入研究。

化学交联的多肽水凝胶还可以通过配体化学获得。以一个用醛酯封端的PEG大分子作为交联剂, 制备半胱氨酸封端的赖氨酸树枝状化合物(含有4个半胱氨酸)作为配体(见图1), 两者可以在温和的条件下发生反应。此凝胶比较稳定, 能在很长的时间内保持尺寸和形状不变化^[6]。

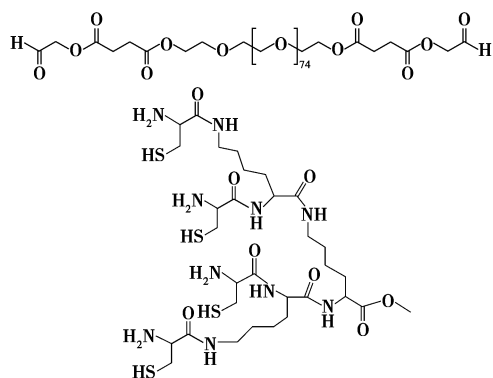


图 1 聚乙二醇二醛酯和半胱氨酸封端的赖氨酸树枝状化合物的结构示意图

在多肽的链中引入光敏感基团,利用光交联反应也可以制备多肽水凝胶法。例如,Yamamoto 等^[7]报道了一种光交联的聚(*L*-赖氨酸)多肽,此多肽的部分 *L*-赖氨酸残基中光敏感基团,可以发生光交联反应获得凝胶。他们进一步报道了含有光敏感基团的聚(*L*-鸟氨酸)多肽通过光交联反应制备凝胶^[8]。另外可以采用辐射的方法制备多肽水凝胶,这种方法不需要引入交联剂和交联基团,可以避免凝胶中加入其他组分对凝胶生物相容性产生影响,因而这种方法制备生物医用凝胶具有优越性。一些研究者报道了聚天冬氨酸和聚(γ -谷氨酸)以 γ 射线辐射交联可以形成凝胶,这些凝胶都具有高的吸水性,而且可以被体内的酶分解,是一类良好的生物材料^[9]。

多肽还可以以支链的形式引入其他凝胶中形成杂化的或者复合型的凝胶,比如多肽支链引入海藻酸盐凝胶^[10]、*N*-异丙基丙烯酰胺凝胶^[11]、丙烯酸凝胶^[12]、透明质酸^[13]、聚乙二醇(PEG)凝胶^[14-15]之中,多肽组分的引入,可以提高凝胶材料的细胞相容性。以 PEG 为例^[16],首先合成一端丙烯酸封端另外一端连接上多肽组分(Arg-Gly-Asp 或者 Arg-Asp-Gly)的 PEG,然后和双丙烯酸封端的 PEG 进行反应,即可以获得 PEG 和多肽支链的复合水凝胶。多肽组分的引入使得无细胞黏附性的 PEG 凝胶材料具有了细胞黏附性,且多肽组分越多,细胞黏附性越强。又有 Hem 等^[17]研究了人包皮成纤维细胞在光引发交联的多肽改性的聚乙二醇水凝胶表面的黏附铺展情况。他们发现无多肽改性的水凝胶表面细胞的黏附力很差,当采用 RGD 多肽改性后,RGD 在凝胶表面浓度为 $1.0 \times 10^{12} \text{ mol/cm}^2$ 时,有 50% 的细胞铺展开。

2 多肽物理(自组装的)水凝胶

通过化学键交联而得到的水凝胶是一种永久性

凝胶,即凝胶过程不可逆。通过氢键、离子键结晶区或疏水相互作用等物理方法交联得到的水凝胶,其最大特点是凝胶过程的可逆。多肽物理凝胶主要通过分子自组装的方法实现。

1993 年 Zhang 等^[18]首先报道一段 16 个氨基酸残基的多肽 [(Ala-Glu-Ala-Glu-Ala-Lys-Ala-Lys)₂] (EAK16) 在盐存在的情况下能自发装配形成水凝胶结构,开拓了一个多肽分子自组装技术的新领域。EAK16 能自装成为水凝胶与其分子的结构具有很大的关系,第 1 个特点是其肽链是亲水性和疏水性氨基酸残基交替的两性分子肽段,EAK16 有 16 个氨基酸残基,由于能形成 β -折叠片结构,故丙氨酸残基甲基部分全部折叠在折叠片的一边,而带电的侧链(赖氨酸和谷氨酸)则在另一边。而且所有侧链都垂直于折叠片的平面。交替地从平面上下两侧伸出从而形成了交替地突出和无突出的结构。从而使得它们具有性质截然不同的表面,其亲水与憎水表面像积木块的凸和凹一样,能自组装成不同的结构。第 2 个特点是亲水性氨基酸残基带有“正”或“负”电荷,使得亲水面形成互补离子键。在进行自组装过程中,疏水性的丙氨酸残基侧链隐藏在内部,而亲水性的基团:赖氨酸和谷氨酸,由于是交替地带正电荷和负电荷,所以相互形成离子键。大量结合在一起的多肽分子聚集在一起形成了纳米级纤维,这些纤维的直径小于 10 nm,相互交织在一起形成基质并进一步形成了含水质量分数 >99.5% 的水凝胶支架(蛋白质质量浓度 1~10 mg/mL)。这些互补离子面可分为不同类型,包括: I、II、III、IV 和混合类模式。例如:模式 I 为 - + - + - + - +, 模式 II 为 - - + + - - + +, 模式 III 为 - - - + + +, 模式 IV 为 - - - - + + + +。不同的顺序能使它们进行不同形式的自组装^[19]。

在肽的自组装中,肽的设计是至关重要的。近些年来,通过基因工程和蛋白质工程等方法为设计一些具有特定序列的多肽提供强有力的工具。例如上述的 EAK16 多肽序列。又如 MAX1 是另外一种具有代表性多肽^[20-21],MAX1 含有 20 个氨基酸残基的多肽序列含有交替的赖氨酸和缬氨酸(见图 2),因而是一种双亲性的链段,序列中含有的缬氨酸残基具有较高的形成折叠的倾向,通过对残基侧链的静电相互作用的控制(可以通过去质子化和电荷屏蔽实现)就能引发肽链分子内的折叠形成 β -折叠结构,而这种折叠的多肽能进一步直接自组装成凝胶。Schneider 报道了系列 β -折叠形成的多肽

(VKVKVTKVDPPTKVKVKVKV-NH₂), 赖氨酸占有亲水位置, 具有高 β -折叠倾向的缬氨酸作为主要的增水残基, 此序列中既存在氢键相互作用, 又存在疏水相互作用。当升高温度, 溶液中的多肽折叠和自组装成凝胶, 当低温的时候, 氢键和疏水相互作用使得自组装的凝胶溶解, 此体系是一种典型的温度敏感的热可逆多肽水凝胶。Aggeli 等^[34]发现(CH₃CO-Gln-Gln-Arg-Phe-Glu-Trp-Glu-Phe-Glu-Gln-Gln-NH₂) pH 大于 5 时能实现从列相到各向同性流体状态的转变, 而序列(CH₃CO-Gln-Gln-Orn-Phe-Orn-Trp-Orn-Phe-Gln-Gln-Gln-NH₂) 刚好相反, 两者都能发生可逆的相变, 是一种 pH 敏感的多肽水凝胶。

4 应用和展望

多肽凝胶降解时只形成氨基酸, 对机体不会产生不良影响; 当导入机体后, 不会引起免疫反应和组织炎症。一些多肽的自组装是在生理环境下发生的, 形成的水凝胶能够很容易地在不同环境中传输。这些新型的生物材料将在开发创新医药学技术方面发挥越来越重要的作用, 如药物的控释技术、细胞治疗新支架的研究、组织工程等。

多肽水凝胶与机体具有生物相容性, 它能为细胞的分布和细胞外基质(EMC)的积累提供支架。Kisiday 等^[35]采用 KLD₁₂(AcN-KLDLKLKLDL-CNH₂)形成的凝胶支架将软骨细胞封装在其中, 软骨细胞生长正常并且出现了软骨样 EMC。这说明自装配多肽水凝胶在作为三维支架供软骨样 EMC 的合成和积累方面有着潜在的作用。Todd 等^[36]采用 RAD16- Π (AcN-RARADADARADADA-CNH₂)制备成凝胶, 把细胞附着到此凝胶支架上, 结果观察到此细胞具有了立方型的外观, 说明这些柔软的凝胶包裹在细胞的周围。田维明等^[37]用人工方法合成了理化性质类似于细胞外基质(ECM)的多孔水凝胶材料 PHPMA, 并在其表面接枝具有促神经生长活性的肽段 IKVAV, 体外实验表明此种水凝胶具有良好的细胞亲和性能。

可见这些具有生物适应性和生物降解性的支架将在组织修复和组织工程中有广泛的应用。但是多肽水凝胶材料在实际应用中还有一些局限: 相对于其他生物材料, 如纤维素、壳聚糖等, 对多肽材料的研究相对较少; 而一些多肽序列的设计需要使用基因工程等方法, 但这些技术在经济上不适合大规模批量生产。

参考文献

- [1] Hoffman A S. Hydrogels for biomedical applications[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2002, 54(1): 3-12.
- [2] Qiu Y, Park K. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001, 53: 321-339.
- [3] McMillan R A, Conticello V P. Synthesis and characterization of elastin-mimetic protein gels derived from a well-defined polypeptide precursor[J]. *Macromolecules*, 2000, 33: 4809-4821.
- [4] Trabbic-Carlson K, Setton L A, Chilkoti A. Swelling and mechanical behaviors of chemically cross-linked hydrogels of elastin-like polypeptides[J]. *Biomacromolecules*, 2003, 4: 572-580.
- [5] Lutolf M P, Hubbell J A. Synthesis and physicochemical characterization of end-linked poly(ethylene glycol)-co-peptide hydrogels formed by michael-type addition[J]. *Biomacromolecules*, 2003, 4: 713-722.
- [6] Wathier M, Johnson C S, Kim T, et al. Hydrogels formed by multiple peptide ligation reactions to fasten corneal transplants[J]. *Bioconjugate Chem*, 2006, 17: 873-876.
- [7] Yamamoto H, Kitsuki T, Nishida A, et al. Photoresponsive peptide and polypeptide systems. 13. Photoinduced cross-linked gel and biodegradation properties of copoly(L-lysine) containing ϵ -7-coumaroyloxycetyl-L-lysine residues [J]. *Macromolecules*, 1999, 32(4): 1055-1061.
- [8] Ohkawa K, Shoumura K, Yamada M, et al. Photoresponsive peptide and polypeptide systems. 14. Biodegradation of photocrosslinkable copolypeptide hydrogels containing L-ornithine and δ -7-coumaroyloxycetyl-L-ornithine residues [J]. *Macromol Biosci*, 2001, 1(4): 149-156.
- [9] 刘文广, 姚康德, 戚务勤. 水凝胶研究的最新进展[J]. *高分子材料科学与工程*, 2002, 18(5): 54-57.
- [10] Rowley J A, Madlambayan G, Mooney D J. Alginate hydrogels as synthetic extracellular matrix materials[J]. *Biomaterials*, 1999, 20: 45-53.
- [11] Park K H, Na K, Jung S Y. Insulinoma cell line(MIN6) adhesion and spreading mediated by arg-gly-asp(RGD) sequence conjugated in thermo-reversible[J]. *Gel Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005, 99(6): 598-602.
- [12] Stile R A, Healy K E. Thermo-responsive peptide-modified hydrogels for tissue regeneration[J]. *Biomacromolecules*, 2001, 2: 185-194.
- [13] Glass J R, Dickerson K T, Stecker K, et al. Characterization of a hyaluronic acid-Arg-Gly-Asp peptide cell attachment matrix[J]. *Biomaterials*, 1996, 17: 1101-1108.
- [14] Hern D L, Hubbell J A. Incorporation of adhesion peptides into non-adhesive hydrogels useful for tissue resurfacing[J]. *J Biomed Mater Res*, 1998, 39: 266-276.
- [15] Mann B K, Gobin A S, Tsai A T, et al. Smooth muscle cell growth in photopolymerized hydrogels with cell adhesive and proteolytically degradable domains; synthetic ECM analogs for tissue engineering [J]. *Biomaterials*, 2001, 22: 3045-3051.
- [16] Burdicka J A, Anseth K S. Photoencapsulation of osteoblasts in in-

- jectable RGD-modified PEG hydrogels for bone tissue engineering [J]. *Biomaterials*, 2002, 23: 4315 - 4323.
- [17] Hem D L, Hubbell J A. Incorporation of adhesion peptides into non-adhesive hydrogels useful for tissue resurfacing [J]. *J Biomed Mater Res*, 1998, 39: 266 - 276.
- [18] Zhang S, Holmes T, Lockshin C, *et al.* Spontaneous assembly of a self-complementary oligopeptide to form a stable macroscopic membrane [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 3332 - 3338.
- [19] Zhang S, Marini M. Design of nanostructured biological materials through self-assembly of peptides and proteins [J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2002, 6: 865.
- [20] Veerman C, Rajagopal K, Palla C S, *et al.* Gelation kinetics of β -hairpin peptide hydrogel networks [J]. *Macromolecules*, 2006, 39: 6608 - 6614.
- [21] Kretsinger J K, Haines L A, Ozbas B, *et al.* Cytocompatibility of self-assembled β -hairpin peptide hydrogel surfaces [J]. *Biomaterials*, 2005, 26: 5177 - 5186.
- [22] Shen W, Kornfield J A, Tirrell D A. Dynamic properties of artificial protein hydrogels assembled through aggregation of leucine zipper peptide domains [J]. *Macromolecules*, 2007, 40: 689 - 692.
- [23] Wei S, Rob G H, Lammertink J K, *et al.* Assembly of an artificial protein hydrogel through leucine zipper aggregation and disulfide bond formation [J]. *Macromolecules*, 2005, 38: 3909 - 3916.
- [24] Yang J Y, Xu C Y, Kopeckova P, *et al.* Hybrid hydrogels self-assembled from HPMA copolymers containing peptide grafts [J]. *Macromol Biosci*, 2006, 6: 201 - 209.
- [25] Pechar M, Kopeckova P, Joss L, *et al.* Associative diblock copolymers of poly(ethylene glycol) and coiled coil peptides [J]. *Macromol Biosci*, 2002, 2: 199 - 206.
- [26] Seal B L, Panitch A. Physical matrices stabilized by enzymatically sensitive covalent crosslinks [J]. *Acta Biomaterialia*, 2006 (2): 241 - 251.
- [27] Seal B L, Panitch A. Physical polymer matrices based on affinity interactions between peptides and polysaccharides [J]. *Biomacromolecules*, 2003, 4: 1572 - 1582.
- [28] Schneider J P, Pochan D J, Ozbas B, *et al.* Responsive hydrogels from the intramolecular folding and self-assembly of a designed peptide [J]. *J Am Chem Soc*, 2002, 124: 15030 - 15037.
- [29] Pochan D, Schneider J, Kretsinger J, *et al.* Thermally reversible hydrogels via intramolecular folding and consequent self-assembly of a de novo designed peptide [J]. *J Am Chem Soc*, 2003, 125 (39): 11802 - 11803.
- [30] Ozbas B, Kretsinger J, Rajagopal K, *et al.* Salt-triggered peptide folding and consequent self-assembly into hydrogels with tunable modulus [J]. *Macromolecules*, 2004, 37: 7331 - 7337.
- [31] Kretsinger J, Haines L, Ozbas B, *et al.* Cytocompatibility of self-assembled β -hairpin peptide hydrogel surfaces [J]. *Biomaterials*, 2005, 26 (2539): 5177 - 5186.
- [32] Haines L A, Rajagopal K, Ozbas B, *et al.* Light-activated hydrogel formation via the triggered folding and self-assembly of a designed peptide [J]. *J Am Chem Soc*, 2005, 127 (48): 17025 - 17029.
- [33] Pochan D J, Schneider J P, Kretsinger J, *et al.* Thermally reversible hydrogels via intramolecular folding and consequent self-assembly of a de novo designed peptide [J]. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 11802 - 11803.
- [34] Aggeli A, Bell M, Carrick L M, *et al.* pH as a trigger of peptide α -sheet self-assembly and reversible switching between nematic and isotropic phases [J]. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 9619 - 9628.
- [35] Kisiday J, Jin M, Kurz B, *et al.* Self-assembling peptide hydrogel fosters chondrocyte extracellular matrix production and cell division: Implications for cartilage tissue repair [J]. *PNAS*, 2002, 99 (15): 9996.
- [36] Todd C H, Sonsoles L, Xing S, *et al.* Extensive neurite out-growth and active synapse formation on self-assembling peptide scaffolds [J]. *PNAS*, 2000, 97 (12): 6728.
- [37] 田维明, 徐群渊, 崔福高, 等. IKVAV 多肽生物活性水凝胶修复大鼠脑损伤 [J]. *基础医学与临床*, 2005, 25 (11): 999 - 1003. ■

中国石化科研成果再获国家科技进步一等奖

2011年1月14日,2010年度国家科学技术奖励大会在京隆重举行。中国石化共有12项成果获奖,其中包括国家科技进步一等奖1项,国家科技进步二等奖10项以及国家技术发明二等奖1项。

获得国家科技进步一等奖的成果是:塔河奥陶系碳酸盐岩特大型油气田勘探与开发。

获得国家科技进步二等奖的成果有:三维三分量地震关键技术突破与深层致密大气田高效勘探,单系列大型化炼油技术集成开发与工业应用,大型PTA生产关键技术——加氢精制催化剂及反应工艺的开发与应用,高含水油田优势通道定量描述与调控技术及工业化应用,油藏保护性可持续开发的微生物采油调控技术及工业化应用,特低渗透油藏有效开发非线性渗流理论和开发方法及其工业化应用,海洋工程安全与防灾若干关键技术及应用,稠密多

相流动与化学反应耦合体系的节能减排关键技术及应用,重油催化裂化后反应系统关键装备技术开发与应用,超大加氢反应器研制及工程应用等。

获得国家技术发明二等奖的成果是:催化氧化新材料——空心钛硅分子筛。

“塔河奥陶系碳酸盐岩特大型油气田勘探与开发”科技项目,攻克了塔里木盆地油气勘探开发中存在的“油气成藏条件复杂并且超深、超稠”等一系列世界级技术难题,逐步建立了具有塔里木盆地特色的“古生界碳酸盐岩海相油气地质理论”,自主创新了“碳酸盐岩缝洞型油藏”精细描述等多项核心技术,不仅为现阶段油气勘探开发提供强力支撑,还展示出这一科技项目所涵盖的基础性意义、作用和广阔的发展前景。(孙薇薇)