

蛋白质高分子结合体*

何乃普^{1,2} 何玉凤¹ 王荣民^{1**} 宋鹏飞¹ 周 云¹ 李 刚¹

(1. 西北师范大学化学化工学院 生态环境相关高分子材料教育部重点实验室 甘肃省高分子材料
重点实验室 兰州 730070; 2. 兰州交通大学化学与生物工程学院 兰州 730070)

摘 要 蛋白质高分子结合体是蛋白质与高分子化合物以特定位置或方式结合的产物。其中,蛋白质(包括酶和多肽)分子中氨基酸残基上的氨基、巯基和羧基是常用的结合位点。本文主要对蛋白质高分子结合体的制备方法进行了综述。聚乙二醇是合成高分子中能够有效改善蛋白质性能的修饰剂,而多糖则是用于制备蛋白质高分子结合体较成功的天然高分子化合物。“点击化学”、活性聚合技术等已经被成功应用于蛋白质高分子结合体的制备。某些具有特异结合功能基团的化合物(如金属卟啉、生物素等)与高分子共价结合后也可制备蛋白质高分子结合体。在研究蛋白质高分子结合体制备方法的基础上,近年来开始了这类大分子的自组装行为研究,尤其是对巨型双亲性分子自组装行为的研究,这为设计和构筑先进功能材料提供了新的思路。与高分子化合物的结合是改善蛋白质性能和拓宽蛋白质应用范围的重要技术之一。蛋白质高分子结合体不但可用于生物医药领域,而且在纳米技术和材料科学等领域具有潜在的优势。

关键词 蛋白质高分子结合体 蛋白质化学修饰 自组装 活性自由基聚合 点击化学

中图分类号: O636; O629.7; Q51 文献标识码: A 文章编号: 1005-281X(2010)12-2388-09

Protein Polymer Conjugates

He Nai pu^{1,2} He Yufeng¹ Wang Rongmin^{1**} Song Pengfei¹ Zhou Yun¹ Li Gang¹

(1. Key Laboratory of Eco-Environment-Related Polymer Materials of Ministry of Education, Key Laboratory of Polymer Materials of Gansu Province, College of Chemistry and Chemical Engineering, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China; 2. College of Chemical and Biological Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China)

Abstract Protein polymer conjugates are the products of proteins conjugating polymers via specific sites or manners. Amino groups, carboxyl groups and thiol groups of amino acid residues on proteins, which include enzymes and peptides, are typically modified sites. This review describes recent progress in preparing protein polymer conjugates. Polyethylene glycol is one of the successfully synthetic polymers, and polysaccharide is one of the most successful natural polymers in improving the performance of proteins. Modern chemical synthesis strategies, such as “click chemistry” and living radical polymerization, have been recently applied in preparing protein polymer conjugates. Some functional compounds with specific functional groups, such as metalloporphyrin and vitamin, can be bound to proteins. These functional compounds were conjugated with polymers to prepare protein polymer conjugates. Based on progress in preparing protein polymer conjugates, self-assembly behaviors of these macromolecules have been investigated in recent years. Especially, self-assembly behaviors of giant amphiphile have gained increased attention. Studies on self-assembly behaviors of protein conjugates offered a new

收稿: 2010 年 5 月, 收修改稿: 2010 年 6 月

* 教育部新世纪优秀人才支持计划、国家自然科学基金项目(No. 20964002, 20274034)和教育部留学回国人员科研启动基金(2007-1108)资助

** Corresponding author e-mail: wangrm@nwnu.edu.cn

strategy for designing and fabricating advanced functional materials. The conjugation of proteins with polymers is an important technology to improve the performance of proteins and broaden applications range of proteins. These macromolecules could be applied in the field of biomedicine and shows potential in many other areas, such as nanotechnology, materials science, etc.

Key words protein polymer conjugates; chemical modification of proteins; self-assembly; living radical polymerization; click chemistry

Contents

- 1 Introduction
- 2 Polymer modifiers
 - 2.1 Polyethylene glycol (PEG)
 - 2.2 Polysaccharides
- 3 Strategies of fabricating protein polymer conjugates
 - 3.1 Classical methods
 - 3.2 Living radical polymerization (LRP)
 - 3.3 Specific binding of polymers and proteins
- 4 Self-assembly of protein polymer conjugates
- 5 Summary

1 引言

蛋白质独特的结构赋予其特有的生物活性和催化功能,如胰岛素可用于治疗糖尿病,血红蛋白可用作血液代用品,酪氨酸酶的氧化作用等。它们在疾病诊断、治疗以及工业生产等方面具有重要的应用价值。另外,蛋白质是来源于生物体内的一类高分子,其独特的三维结构在制造纳米机器、纳米结构和纳米传感器等器件中具有广泛的应用^[1]。因此,蛋白质是一类在医药、纳米技术以及材料科学等领域具有独特优势的生物高分子^[2-4]。由于蛋白质在不同体系中溶解性、保留时间以及稳定性等性质具有较大差异,从而限制了其应用。因此,通过高分子化合物结合蛋白质是一种拓宽并提高蛋白质应用范围和效率的有效方法^[5-9]。

高分子化合物结合蛋白质所得产物称为蛋白质高分子结合体。近 20 年,蛋白质高分子结合体是化学、生物、纳米技术以及材料科学等学科的研究热点之一^[10-15]。如聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 结合干扰素后极大地提高了蛋白质在血清中的半衰期^[16]; Reynhout 等^[17]制备的巨型双亲性分子 (giant amphiphiles) 在溶液中的自组装行为等。

蛋白质高分子结合体起初主要用于生物医药领域,它可以延长目标蛋白的循环半衰期、提高其稳定性、增加溶解性以及减小潜在的免疫原和抗原性

等^[18-20]。但是,近几年研究发现,这类大分子在纳米技术和材料科学等领域的应用具有潜在的優勢^[21-25]。特别是基于蛋白质巨型两亲性分子的合成和自组装对纳米技术和材料科学等领域的发展开辟了新的途径^[8,17]。

2 高分子修饰剂

许多高分子化合物已成功与蛋白质结合,如聚乙二醇、聚氨基酸、羧甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、葡聚糖、环糊精等^[6,26]。其中,聚乙二醇是目前与蛋白质结合最成功的合成高分子^[27-29],而天然高分子中研究最多是多糖 (polysaccharides)。

2.1 聚乙二醇

1977 年, Abuchowski 等^[30]发现蛋白质与聚乙二醇共价结合后可极大地提高蛋白质的循环半衰期。至此,由于蛋白质-PEG 活性高、免疫反应低、蛋白质在体内的自清时间延长和一定的免疫耐受性等优点被广泛研究和应用^[31,32]。1990 年,经 PEG 化学修饰的腺苷脱氨基酶 (adenosine deaminase, ADA),即 PEG-ADA,成为通过美国食品药品监督管理局 (FDA) 认证的第一种修饰蛋白^[33,34]。到目前为止,聚乙二醇是最常用、也是最成功的高分子修饰剂,已有多种蛋白质被 PEG 修饰后用于生物医学理论和应用研究领域,如 Schering-Plough 公司生产的 PEG-Intron® (Peginterferon Alfa-2b) 和 Roche 公司生产的 PEGasys® (Peginterferon Alfa-2a) 可以使干扰素在血清中的半衰期提高 50—70 倍^[16]。

2.2 多糖

在自然界中,蛋白质与多糖结合形成糖蛋白,因此,蛋白质的糖基化 (glycosylation) 是高分子化合物修饰蛋白质的一种重要途径^[35]。已报道的蛋白质糖基化具有以下功能:糖组分参与目标蛋白的分子识别和细胞识别;糖组分参与肽链的折叠和缔合以及增加蛋白质的生物半衰期等功能^[14,36]。

在自然界中,蛋白质的糖基化主要采用两种连接方式,即 *N*-连接和 *O*-连接^[37]。*N*-连接是糖链通过与天冬酰胺 (Asn) 的 N 原子共价连接在蛋白质上

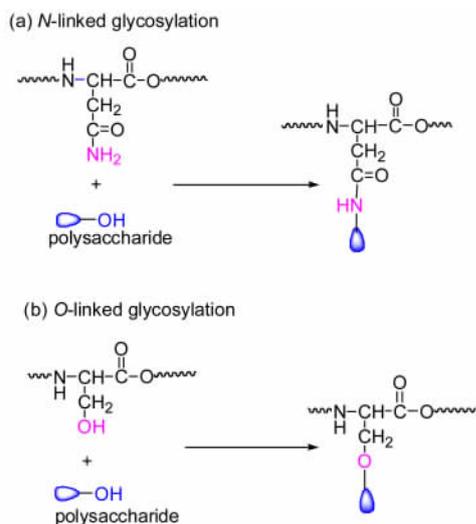


图 1 自然界中蛋白质的糖基化

Fig. 1 Glycosylation of proteins in nature

(图 1a); O-连接是糖链共价连接在羟基的 O 原子上,一般是丝氨酸或苏氨酸残基的羟基(图 1b)。

许多天然多糖被用于人工合成蛋白质多糖结合体,如右旋糖苷^[38]、海藻酸^[39]、壳聚糖^[40-42]等。蛋白质与多糖的结合使蛋白质的部分功能和性质得到了改善,如溶解性^[43]、稳定性^[39, 44, 45]、乳化性能^[44-46]、聚集性能^[44, 47],同时降低了抗原性和免疫原性^[38, 48]。另有部分蛋白质多糖结合体具有智能响应功能^[49]。值得一提的是,蛋白质和多糖均来源于生物体,具有生物相容性、细胞亲和性以及生物降解性等特点。因此,蛋白质与多糖结合是设计生物相容性和生物降解性高分子复合材料的一种有效途径^[50-52]。

3 构筑蛋白质高分子结合体的方法

组成蛋白质的氨基酸有 20 种,在这些天然氨基酸侧链中,大约有一半可以在足够温和条件下与其他试剂发生化学反应,其中氨基、巯基和羧基较易发生取代反应。同时,由于蛋白质特殊的三维结构,部分小分子与蛋白质存在特异性结合作用,因此高分子化合物与蛋白质的结合可归纳为以下 3 种方法。

(1) 带有功能基团的高分子链与蛋白质活性位点直接连接;或者将小分子引入蛋白质,然后与带有功能基团的高分子链结合。该方法发展历史较长,合成技术相对成熟,是较为传统的制备蛋白质高分子结合体的方法,也称为“grafting-to”技术。

(2) 基于蛋白质表面的聚合反应,这是近几年发展起来的一种新型制备方法。即通过在蛋白质表

面引入引发剂,引发聚合后在蛋白质表面形成高分子链,称为“grafting-from”技术;或者在蛋白质表面引入乙烯基,然后引发聚合,得到高分子侧链带有蛋白质的结合体^[53-56],称之为“grafting-through”技术。

(3) 将与蛋白质具有特异结合作用的分子首先与高分子以共价键结合,而后实现高分子与蛋白质的特异性结合^[57]。这是一类制备蛋白质高分子结合体的新型方法,属于“grafting-to”技术。

3.1 传统方法

通过带有反应性官能团的高分子链与蛋白质表面的活性基团结合时,这些活性基团可以是蛋白质原有的,也可以是在蛋白质表面引入的。蛋白质侧链基团的化学修饰可以通过选择性试剂或亲合标记试剂与蛋白质分子侧链上特定的功能基团发生化学反应而实现^[58]。蛋白质分子中氨基酸残基上的自由氨基、巯基和羧基等活性基团是常用的结合位点。

3.1.1 氨基的化学修饰

蛋白质分子中赖氨酸残基的 ϵ -氨基可以与带有羧基、醛基、环氧乙基和卤代三嗪等官能团的高分子链化学结合。但是,考虑到毒性、反应速率以及效率等因素,常用的是带有羧基、醛基的高分子化合物。

如图 2 反应(1)所示,带有羧基的高分子链首先与 N-羟基丁二酰亚胺(NHS)形成酯,然后与蛋白质表面的氨基偶合,形成稳定的酰胺键。在该反应中,采用水溶性的碳二亚胺——N-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)作为缩合剂。由于 NHS 酯在水溶液中不稳定,当蛋白质与高分子化学结合时,与 NHS 酯的水解反应是一对竞争反应。虽然如此,这类反应仍在蛋白质与高分子的化学结合中应用很多,是一种典型的偶合反应。

另外,如图 2 反应(2)所示,蛋白质表面的氨基也可以与带有醛基的高分子偶合,首先形成亚胺键,然后用氰基硼氢化钠或其他还原剂将亚胺键还原,形成二级胺。

3.1.2 巯基的化学修饰

蛋白质分子中半胱氨酸残基的自由巯基可以与带有顺丁烯二酰亚胺或者二硫吡啶基团的高分子结合(图 3)。由于已知序列的蛋白质分子中的自由巯基在氨基酸序列中的位置确定,且数量有限,同时,由于半胱氨酸的疏水性,许多自由巯基处在蛋白质分子内部,只有少量的自由巯基在蛋白质分子表面。因此高分子与蛋白质表面自由巯基的结合是实现蛋白质定位修饰的有效途径^[27]。

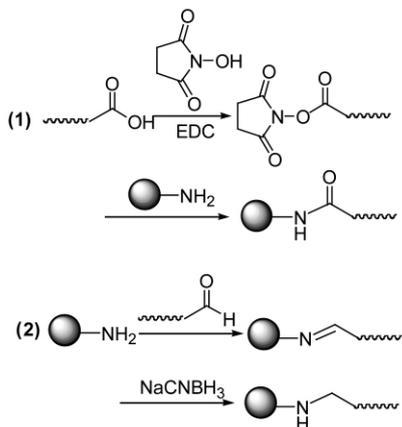


图 2 蛋白质分子中的氨基与高分子结合

Fig. 2 Protein conjugating polymers via amino group of proteins

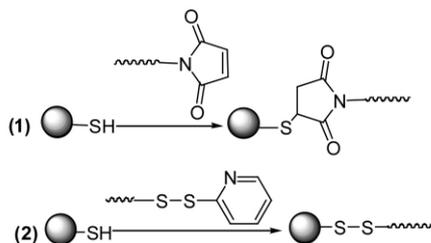


图 3 蛋白质分子中的巯基与高分子结合

Fig. 3 Proteins conjugating polymers via thiol group of proteins

3.1.3 羧基的化学修饰

蛋白质分子中精氨酸和天冬氨酸残基中各含有一个自由羧基,可以与带有氨基的高分子进行偶合反应,形成稳定的酰胺键。如图 4 所示,首先利用 NHS 和 EDC 活化蛋白质表面的羧基,形成 NHS 酯,然后与高分子端基的氨基反应。当然,活化后的羧基也可与其他蛋白质分子表面的自由氨基反应,造成蛋白质的交联。

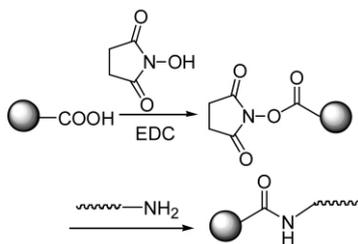


图 4 蛋白质分子中的羧基与高分子结合

Fig. 4 Proteins conjugating polymers via carboxyl group of proteins

不难看出,高分子化合物与蛋白质有效结合的

实质是蛋白质活性位点的确定,然后是蛋白质和高分子化合物的活化。其中,溶液的 pH、温度、溶剂等因素是影响蛋白质化学修饰的重要因素。在构成蛋白质的氨基酸中,许多氨基酸残基会出现在蛋白质链的不同位置和结构中,所以很难确定蛋白质化学修饰的确切位点。要实现蛋白质的定位修饰,就要求修饰剂具有专一性。为了克服这一缺陷,亲和性标记试剂被开发利用,这类化合物是具有化学反应性的蛋白质分子的底物或配体的类似物,由于结构的相似性,它们对底物或配体的结合部位具有亲和性和饱和性,显示了高度的位点专一性,其中包括点击化学原理的应用^[26,59-61]。

点击化学具有高转化率、高选择性、温和的反应条件以及副产物少等特点。利用点击化学原理实现蛋白质与高分子的结合可采取如图 5 所示的两种形式。如图 5 反应(1)所示,可分别将蛋白质活性位点炔基化和高分子端基叠氮化,然后采用 Cu(I) 催化端基炔和叠氮化物发生 Huisgen 1,3-偶极环加成反应,从而实现蛋白质与高分子的结合。Dirks 等^[62]采用该法成功将牛血清白蛋白(BSA)和多肽 GGR 与聚苯乙烯结合。

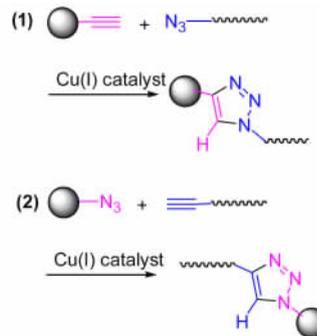


图 5 利用点击化学合成蛋白质高分子结合体

Fig. 5 Synthesis of protein polymer conjugates by "click chemistry"

如图 5 反应(2)中,可将蛋白质活性位点叠氮化而高分子炔基化,从而实现蛋白质与高分子的结合。Parrish 等^[63]采用该法将多肽 GRGDS 与聚酯成功结合;Shi 等^[64]采用该法成功将睾丸特异蛋白酶 50(testis-specific protease 50, TSP50)接枝在生物降解性纤维上。

除了上述采用一些化学试剂将高分子与蛋白质结合外,很多具有催化功能的酶也被用于催化合成蛋白质高分子结合体^[58]。由于酶的催化专一性,也可以达到定位修饰的目的。

3.2 活性自由基聚合

从高分子结合蛋白质的传统方法可以看出,对蛋白质进行化学修饰前,首先要制备带有活性端基的高分子化合物。其缺点是处理步骤较多,包括合成、活化、纯化等;同时,采用传统方法合成的高分子化合物分子量较难控制。

随着现代聚合技术的发展,一些先进的聚合方法也应用到了生物大分子结合体的制备中。其中,活性自由基聚合方法(LRP)在该领域已成功应用^[65]。同样,LRP在蛋白质高分子结合体的制备过程中也具有重要应用^[66,67]。

利用 LRP 方法制备蛋白质高分子结合体可通过两步实现:首先,将带有功能团的引发剂引入蛋白质分子中,形成带有蛋白质的大分子引发剂(macroinitiator);随后采用 LRP 原位聚合,成功实现高分子化合物与蛋白质的结合。这是一类典型的“grafting-from”方法。Mei 等^[68]发现通过 LRP 方法,将聚甲基丙烯酸羟乙酯(PHEMA)与多肽 GRGDS 结合,得到的结合体中高分子的分散度较低^[69]。

由于蛋白质表面巯基位置和数量的确定性,采用原位 LRP 方法以巯基为结合位点的研究较多。Bontempo 等^[70]将二硫吡啶连接引发剂后与 BSA 自由巯基偶合,采用原子转移自由基聚合将 HEMA 单体在 BSA 表面引发聚合,得到的 BSA-PHEMA 中,PHEMA 分散度小于 1.25。采用该法也可以成功实现聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(pNIPAAm)与蛋白质的结合^[71,72]。引发剂端基采用顺丁烯二酰亚胺活化是另一种制备大分子引发剂的方法^[21]。此外, γ 射线也可有效地引发聚合^[73]。

LRP 应用于蛋白质高分子结合体的制备是现代聚合技术应用的拓展,具有以下优点:反应体系中只有一种高分子化合物,其他均为小分子化合物,易分离和纯化;接枝在蛋白质表面的高分子化合物分子量分散度小,链长均一;高分子接枝在蛋白质表面的效率明显提高。

3.3 高分子与蛋白质的特异结合

一些小分子化合物由于其结构的特殊性,与蛋白质具有特异性结合作用,如金属卟啉和维生素 B₇(又称生物素,biotin)等^[74-77]。将高分子化合物与上述功能基团共价结合,然后通过功能基团与蛋白质实现特异性结合。铁卟啉(又称血红素,heme)和维生素 B₇的分子结构如图 6 所示,其中羧基可以与高分子链实现有效共价结合。

自然界中存在一类具有特殊生理活性的酶,其

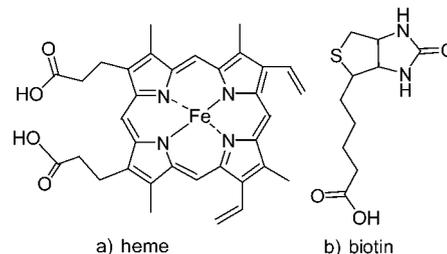


图 6 用于制备蛋白质高分子结合体的特异性基团

Fig. 6 Specific group used to fabricate protein polymer conjugates

活性中心是天然金属卟啉如血红素、叶绿素、维生素 B₁₂、细胞色素 P-450、过氧化氢酶等,它们可以一定的化学键、特定的空间结构、按一定方式与蛋白质结合^[78,79]。科学家利用金属卟啉这一特点,合成了大量金属卟啉类化合物,并研究了它们与蛋白质的结合^[80-83]。当高分子链与金属卟啉结合后,可实现高分子化合物与蛋白质的有效结合^[84]。

Boerakker 等^[85]将血红素与聚苯乙烯结合后分别与辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase,HRP)和肌红蛋白(myoglobin,Mb)成功制备了双亲性蛋白质高分子结合体。

另外,由于金属卟啉之间可以通过化学键形成聚金属卟啉^[86],因此,血红素衍生物与蛋白质结合后可形成二维的血红素蛋白结合体(图 7)^[87]。

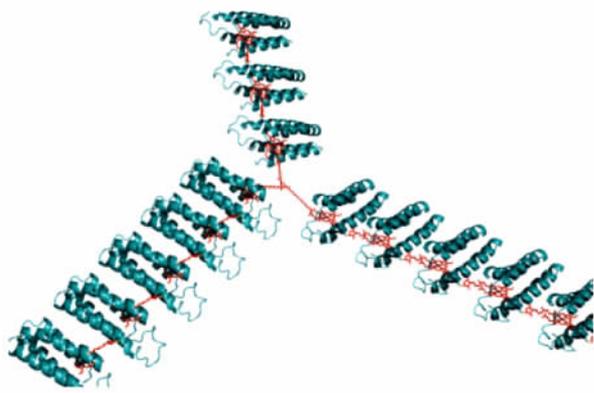


图 7 二维血红素蛋白的结构^[87]

Fig. 7 Structure of the two-dimensional hemoprotein^[87]

维生素 B₇与链霉亲和素具有良好的亲和性^[76,77],是在制备蛋白质高分子结合体研究中应用较多的另一类特异性分子。许多高分子化合物与维生素 B₇结合后可实现蛋白质与高分子的结合,如聚异丙基丙烯酰胺(pNIPAAm)^[88]、聚乙二醇等^[89]。Hannink 等^[90]研究了端基带有维生素 B₇的聚苯乙烯与链霉亲和素的结合,得到了蛋白质高分子双亲

性结合体,表现出良好的自组装行为。

4 蛋白质高分子结合体的自组装

蛋白质分子中氨基酸序列构成的多肽链可形成独特、相对固定的三维结构,这些特定结构使其能以非常特异的方式相互作用。所以,蛋白质具有天然适合自组装的性质,它们之间存在疏水作用、氢键和离子键等非共价键作用^[91,92]。因此,设计以蛋白质(包括酶和多肽)为组成单元的结合体是实现分子自组装的有效途径^[93,94]。其中,蛋白质高分子结合体的自组装行为是目前的研究热点之一^[24,95-97]。

通常由疏水段和亲水段组成的两性分子如小分子表面活性剂和磷脂等在水溶液中可以发生自组装。后来研究发现,很多具有双亲性的共聚物也可以在溶液中实现自组装,主要是由于它们特殊的双亲性分子结构决定的^[17]。

在嵌段共聚物中引入多肽链是制备双亲性大分子的一种有效方法。Hartgerink 等^[98]设计的多肽高分子嵌段共聚物最具代表性^[98],图 8 是多肽嵌段共聚物的分子组成(图 8a)和自组装结构模型(图 8b)。该嵌段聚合物分子组成具有 5 个明显的结构特点:链段 1 是由烷基链构成的疏水尾巴;链段 2 由半胱氨酸缩聚形成,由于巯基的存在可以实现二硫键的形成,以保持自组装结构的连续性,形成如图 8b 所示的纤维状自组装体;链段 3 由 3 个氨基酸缩合而成,由于其亲水性,从而保持了整个分子的柔性;链段 4 由磷酸化的丝氨酸构成,用于帮助羟基磷灰石通过钙离子直接矿化整个分子;链段 5 由多肽 RGD 组成,以实现整个分子对细胞的良好黏合性。

上述共聚物除具有明显的双亲性外,由于引入了巯基、磷酸盐以及 RGD 等各种具有特殊性质的链段,使其功能更加综合。同时,该共聚物在水溶液中可以自组装成平行排列的微米长度的纳米纤维。

另一类是以蛋白质或酶作为极性端基,疏水性高分子作为尾巴形成的巨型两性分子,这种双亲性分子可以在溶液中实现自组装^[17,21,62]。图 9 所示是 Reynhout 等^[17]通过计算机合成的三种双亲性分子的模型。图 9a 为传统的小分子表面活性剂;图 9b 为双亲性嵌段共聚物;图 9c 为典型的巨型双亲性分子,该分子以可溶性球状蛋白质或酶为亲水段,不溶性高分子链构成疏水段,整个大分子类似于一个小蝌蚪。

巨型双亲性分子的设计与传统的双亲性分子在分子基本组成上一脉相承,都是由疏水端基和亲水

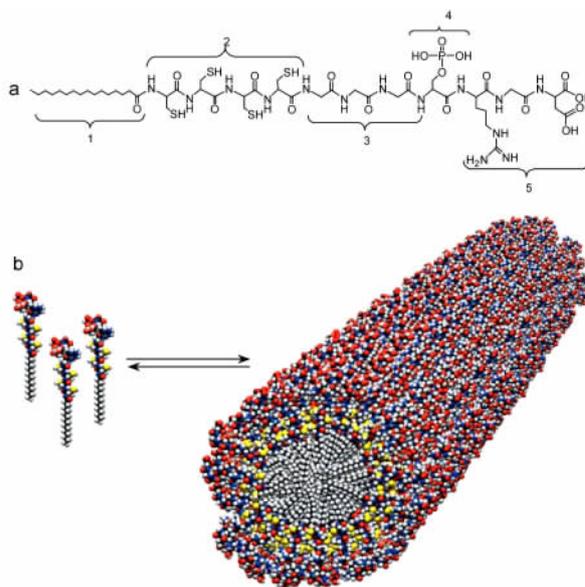


图 8 多肽双亲性分子的 (a) 化学结构及其 (b) 自组装^[98]

Fig. 8 (a) Chemical structure and (b) self-assembly of the peptide amphiphile^[98]

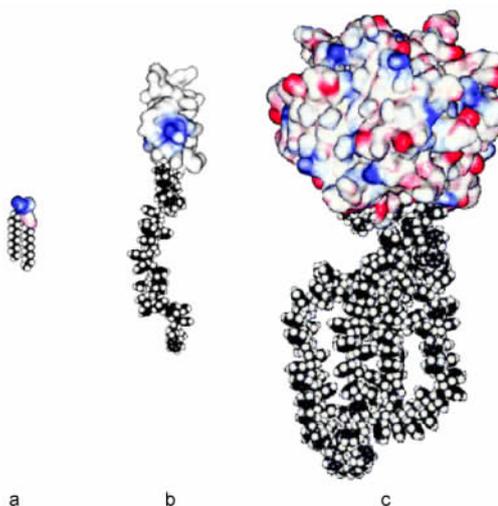


图 9 (a) 传统表面活性剂, (b) 双亲性二嵌段共聚物和 (c) 巨型双亲性分子计算机合成模型^[17]

Fig. 9 Computer-generated models of (a) a traditional surfactant, (b) an amphiphilic diblock copolymer and (c) a giant amphiphile^[17]

端基组成,只是分子尺寸非常大,所以称之为巨型双亲性分子。

Nolte 等^[17]对蛋白质高分子两性分子的合成和自组装行为做了大量的研究。他们^[99]制备的聚苯乙烯与南极假丝酵母脂肪酶 B (candida antarctica lipase B, CALB) 形成的巨型两性分子 CALB-PSm, 在四氢呋喃-水混合溶液中可自组装成直径 25nm 的

纤维,其 TEM 结果如图 10 所示。

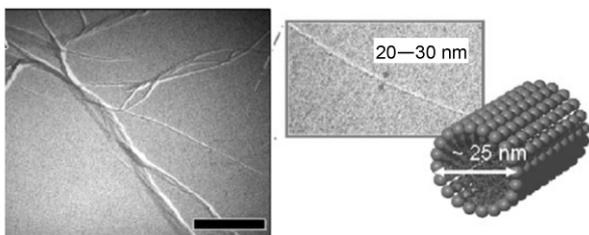


图 10 CALB-PSm 在 THF-水混合溶液中的 TEM 结果^[99]

Fig. 10 TEM images of CALB-PSm in THF-water solutions^[99]

聚苯乙烯也可以与辣根过氧化物酶 (HRP) 和肌红蛋白 (Mb) 形成巨型双亲性分子 HRP-PSm 和 Mb-PSm,在溶液中分别形成 60—400nm 和 20—700nm 的囊泡^[85]。聚苯乙烯-聚乙二醇-蛋白质三嵌段巨型两性分子 (protein-*b*-PSm-*b*-PEG113) 的自组装体形态不同于 protein-PSm 的自组装体,随着分子中聚苯乙烯聚合度的改变可形成胶束棒、囊泡、环形以及八边形等不同形态的自组装体^[100]。

巨型双亲性分子的合成和自组装行为的研究是对传统双亲性分子的延伸,是构筑超分子化合物的一种行之有效的办法。随着对高分子结合蛋白质技术的发展,必将推动这类大分子的合成和应用。

5 总结

高分子结合蛋白质已经成为高分子科学的一个重要研究领域,在医药、材料等方面具有广阔的应用前景。随着高分子结合蛋白质研究的逐渐深入,以下一些问题亟待解决:(1)对于具有治疗作用的蛋白质和催化功能的酶等生物特异性蛋白质,高分子结合后保持其生物功能尤为重要;(2)蛋白质表面有很多活性基团,采用对蛋白质具有特异性的试剂和反应是高分子定位结合蛋白质的关键;(3)蛋白质高分子结合体的单分散性、结构可控性以及功能化将是今后研究的重要课题。特别是巨型双亲性分子的合成和自组装研究对纳米技术和材料科学等学科的发展开辟了新的途径,将会拓宽和突破对传统表面活性剂的认识和应用。随着合成化学和超分子化学学科的发展,很多新技术将应用于高分子结合蛋白质的研究中,这对解决上述问题提供了新的思路,其中点击化学、活性自由基聚合等技术的发展将对高分子结合蛋白质的研究具有重要的推进作用。

参 考 文 献

- [1] Niemeyer C M. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, 40: 4128—4158
- [2] Patil G V. *Drug Dev. Res.*, 2003, 58: 219—247
- [3] Sundar S, Kundu J, Kundu S C. *Sci. Technol. Adv. Mater.*, 2010, 11: 1—13
- [4] Poole A J, Church J S, Huson M G E. *Biomacromolecules*, 2009, 10: 1—8
- [5] Veronese F M, Morpurgo M. *IL Farmaco*, 1999, 54: 497—516
- [6] Khandare J, Minko T. *Prog. Polym. Sci.*, 2006, 31: 359—397
- [7] 姜忠义 (Jiang Z Y), 高蓉 (Gao R), 许松伟 (Xu S W), 王艳强 (Wang Y Q). *化学通报 (Chemistry online)*, 2001, c01062. (2001-04-04). [2010-05-03]. <http://www.hxtb.org/col/2001/c01062.htm>.
- [8] Thordarson P, Le Droumaguet B, Velonia K. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, 73: 243—254
- [9] 周海梦 (Zhou H M), 王洪睿 (Wang H R). *蛋白质化学修饰 (Modification of Protein)*. 北京: 清华大学出版社 (Beijing: Tsinghua University Press), 1998. 4—43
- [10] Lee K Y, Yuk S H. *Prog. Polym. Sci.*, 2007, 32: 669—697
- [11] Haag R, Kratz F. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2006, 45: 1198—1215
- [12] Park J H, Lee S, Kim J H, Park K, Kim K, Kwon I C. *Prog. Polym. Sci.*, 2008, 33: 113—137
- [13] Allen T M, Cullis P R. *Science*, 2004, 303: 1818—1822
- [14] Marshall S A, Lazar G A, Chirino A J, Desjarlais J R. *Drug Discovery Today*, 2003, 8: 212—221
- [15] Nygren P A, Skerra A. *J. Immunol. Methods*, 2004, 290: 3—28
- [16] Bailon P, Palleroni A, Schaffer C A, Spence C L, Fung W J, Porter J E, Ehrlich G K, Pan W, Xu Z X, Modi M W, Farid A, Berthold W. *Bioconjugate Chem.*, 2001, 12: 195—202
- [17] Reinhout I C, Cornelissen J J L M, Nolte R J M. *Acc. Chem. Res.*, 2009, 42: 681—692
- [18] Vicent M J, Duncan R. *Trends Biotechnol.*, 2006, 24: 39—47
- [19] Zhu G Y, Wang P. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126: 11132—11133
- [20] Barbey R, Lavanant L, Paripovic D, Schuwer N, Sugnaux C, Tugulu S, Klok H A. *Chem. Rev.*, 2009, 109: 5437—5527
- [21] Dirks A J, Nolte R J M, Cornelissen J J L M. *Adv. Mater.*, 2008, 20: 3953—3957
- [22] Lutz J F, Börner H G. *Prog. Polym. Sci.*, 2008, 33: 1—39
- [23] De P, Li M, Gondi S R, Sumerlin B S. *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130: 11288—11289
- [24] Börner H G. *Prog. Polym. Sci.*, 2009, 34: 811—851
- [25] Fee C J. *Adv. Chem. Eng.*, 2009, 35: 211—222
- [26] Kochendoerfer G G. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2005, 9: 555—560
- [27] Veronese F M, Pasut G. *Drug Discovery Today*, 2005, 10: 1451—1458
- [28] Marsac Y, Cramer J, Olschewski D, Alexandrov K, Becker C F W. *Bioconjugate Chem.*, 2006, 17: 1492—1498

- [29] Castelletto V, Krysmann M J, Clifton L A, Lambourne J, Noirez L. *J. Phys. Chem. B*, 2007, 111: 11330—11336
- [30] Abuchowski A, McCoy J R, Palczuk N C, vanes T, Davis F F. *J. Biol. Chem.*, 1977, 252: 3582—3586
- [31] Roberts M J, Bentley M D, Harris J M. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2002, 54: 459—476
- [32] Caliceti P, Veronese F M. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2003, 55: 1261—1277
- [33] Hershfield M S. *Biochemistry and Immunology of Poly (ethylene glycol)-Modified Adenosine Deaminase (PEG-ADA)*. *Poly (ethylene glycol)*, ACS, 1997. Chapter 10, 145—154
- [34] Hershfield M S. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 1995, 76: S228—S232
- [35] Pratt M R, Bertozzi C R. *Chem. Soc. Rev.*, 2005, 34: 58—68
- [36] Imperiali B, O'Connor S E. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 1999, 3: 643—649
- [37] 王镜言 (Wang J Y), 朱圣庚 (Zhu S G), 徐长法 (Xu C F). *生物化学 (Biological Chemistry)*. 北京: 高等教育出版社 (Beijing: Higher Education Press), 2002. 57—58
- [38] Hattori M, Nagasawa K, Ohgata K, Sone N, Fukuda A, Matsuda H, Takahashi K. *Bioconjugate Chem.*, 2000, 11: 84—93
- [39] Hattori M, Ogino A, Nakai H, Takahashi K. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, 45: 703—708
- [40] Chen T H, Vazquez-Duhalt R, Wu C F, Bentley W E, Payne G F. *Biomacromolecules*, 2001, 2: 456—462
- [41] Guggi D, Krauland A H, Bernkop-Schnürch A. *J. Controlled Release*, 2003, 92: 125—135
- [42] Mi F L. *Biomacromolecules*, 2005, 6: 975—987
- [43] Dickinson E, Galazka V B. *Food Hydrocolloids*, 1991, 5: 281—296
- [44] Sato R, Katayama S, Sawabe T, Saeki H. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51: 4376—4381
- [45] Sanz M L, Corzo-Martinez M, Rastall R A, Olano A, Moreno F J. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, 55: 7916—7925
- [46] Dunlap C A, Coöteä G. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, 53: 419—423
- [47] Chen T H, Small D A, Wu L Q, Rubloff G W, Ghodssi R, Vazquez-Duhalt R, Bentley W E, Payne G F. *Langmuir*, 2003, 19: 9382—9386
- [48] Hattori M, Numamoto K, Kobayashi K, Takahashi K. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, 48: 2050—2056
- [49] Vazquez-Duhalt R, Tinoco R, D'Antonio P, Topoleski L D T, Payne G F. *Bioconjugate Chem.*, 2001, 12: 301—306
- [50] Masuko T, Iwasaki N, Yamane S, Funakoshi T, Majima T, Minami A, Ohsuga N, Ohta T, Nishimura S I. *Biomaterials*, 2005, 26: 5339—5347
- [51] Wang Y C, Kao S H, Hsieh H J. *Biomacromolecules*, 2003, 4: 224—231
- [52] He J K, Li D C, Liu Y X, Yao B, Zhan H X, Lian Q, Lu B H, Lv Y. *Acta Biomaterials*, 2009, 5: 453—461
- [53] Ayres L, Vos M R J, Adams P J H M, Shklyarevskiy I O, van Hest J C M. *Macromolecules*, 2003, 36: 5967—5973
- [54] Ayres L, Koch K, Adams P H H M, van Hest J C M. *Macromolecules*, 2005, 38: 1699—1704
- [55] Smeenk J M, Ayres L, Stunnenberg H G, van Hest J C M. *Macromol. Symp.*, 2005, 225: 1—8
- [56] Ayres L, Grotenbreg G M, van der Marel G A, Overkleeft H S, Overhand M, van Hest J C M. *Macromol. Rapid Commun.*, 2005, 26: 1336—1340
- [57] Gauthier M A, Klok H A. *Chem. Commun.*, 2008, 21: 2591—2611
- [58] Wong L S, Khan F, Micklefield J. *Chem. Rev.*, 2009, 109: 4025—4053
- [59] Droumaguet B L, Velonia K. *Macromol. Rapid Commun.*, 2008, 29: 1073—1089
- [60] Dirks A J, Cornelissen J J L M, van Delft F L, van Hest J C M, Nolte R J M, Rowan A E, Rutjes F P J T. *QSAR Comb. Sci.*, 2007, 26: 1200—1210
- [61] 赵正达 (Zhao Z D), 袁伟忠 (Yuan W Z), 顾书英 (Gu S Y), 任天斌 (Ren T B), 任杰 (Ren J). *化学进展 (Progress in Chemistry)*, 2010, 22: 417—426
- [62] Dirks A J, van Berkel S S, Hatzakis N S, Opsteen J A, van Delft F L, Cornelissen J J L M, Rowan A E, van Hest J C M, Rutjes F P J T, Nolte R J M. *Chem. Commun.*, 2005, 4172—4174
- [63] Parrish B, Breitenkamp R B, Emrick T. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127: 7404—7410
- [64] Shi Q, Chen X, Lu T, Jing X. *Biomaterials*, 2008, 29: 1118—1126
- [65] Boyer C, Bulmus V, Davis T P, Ladmiraal V, Liu J Q, Perrier S. *Chem. Rev.*, 2009, 109: 5402—5436
- [66] Nicolas J, Mantovani G, Haddleton D M L. *Macromol. Rapid Commun.*, 2007, 28: 1083—1111
- [67] Bontempo D, Maynard H D. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127: 6508—6509
- [68] Mei Y, Beers K L, Byrd H C M, vander Hart D L, Washburn N R. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126: 3472—3476
- [69] Lele B S, Murata H, Matyjaszewski K, Russell A J. *Biomacromolecules*, 2005, 6: 3380—3387
- [70] Bontempo D, Heredia K L, Fish B A, Maynard H D. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126: 15372—15373
- [71] Heredia K L, Bontempo D, Ly T, Byers J T, Halstenberg S, Maynard H D. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127: 16955—16960
- [72] Boyer C, Bulmus V, Liu J Q, Davis T P, Stenzel M H, Barner-Kowollik C. *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129: 7145—7154
- [73] Liu J Q, Bulmus V, Herlambang D L, Barner-Kowollik C M, Stenzel H, Davis T P. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, 46: 3099—3103
- [74] Lu Y, Yeung N, Sieracki N, Marshall N M. *Nature*, 2009, 460: 855—862
- [75] Boyer C, Liu J Q, Bulmus V, Davis T P, Barner-Kowollik C, Stenzel M H. *Macromolecules*, 2008, 41: 5641—5650

- [76] Lindqvist Y, Schneider G. *Cur. Opin. Struct. Biol.*, 1996, 6: 798—803
- [77] Letondor C, Ward T R. *ChemBioChem*, 2006, 7: 1845—1852
- [78] Lu Y, Berry S M, Pfister T D. *Chem. Rev.*, 2001, 101: 3047—3080
- [79] 刘有芹 (Liu Y Q), 颜芸 (Yan Y), 沈含熙 (Shen H X). *化学进展 (Progress in Chemistry)*, 2005, 17: 1067—1073
- [80] Hitomi Y, Hayashi T, Wada K, Mizutani T, Hisaeda Y, Ogoshi H. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, 40: 1098—1101
- [81] Huang Y B, Komatsu T, Wang R M, Nakagawa A, Tsuchida E. *Bioconjugate Chem.*, 2006, 17: 393—398
- [82] Komatsu T, Wang R M, Zunsain P A, Curry S, Tsuchida E. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128: 16297—16301
- [83] 王荣民 (Wang R M), 朱永峰 (Zhu Y F), 何玉凤 (He Y F), 李岩 (Li Y), 毛崇武 (Mao C W), 何乃普 (He N P). *化学进展 (Progress in Chemistry)*, 2010, 22 (10): 1952—1963
- [84] Wang R M, Komatsu T, Nakagawa A, Tsuchida E. *Bioconjugate Chem.*, 2005, 16: 23—26
- [85] Boerakker M J, Botterhuis N E, Bomans P H H, Frederik P M, Meijer E M, Nolte R J M, Sommerdijk N A J M. *Chem. Eur. J.*, 2006, 12: 6071—6080
- [86] 王荣民 (Wang R M), 赵明 (Zhao M), 何玉凤 (He Y F), 郝二霞 (Hao E X), 申国瑞 (Shen G R). *化学进展 (Progress in Chemistry)*, 2007, 19: 1783—1790
- [87] Kitagishi H, Kakikura Y, Yamaguchi H, Oohora K, Harada A, Hayashi T. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2009, 48: 1271—1274
- [88] Heredia K L, Grover G N, Tao L, Maynard H D. *Macromolecules*, 2009, 42: 2360—2367
- [89] Mok H, Bae K H, Ahn C H, Park T G. *Langmuir*, 2009, 25: 1645—1650
- [90] Hannink J M, Cornelissen J J L M, Farrera J A, Foubert P, de Schryver F C, Sommerdijk N A J M, Nolte R J M. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, 40: 4732—4734
- [91] 法内斯托克 S R, 斯泰因比歇尔 A (主编). 李秀荣 (Li S R) 主译. *生物高分子 (第 7 卷) ——聚酰胺和蛋白质材料 I (Biopolymers. Volume 7: Polyamides and Complex Proteinaceous Materials I)*. 北京: 化学工业出版社 (Beijing: Chemical Industry Press), 2005. 241—242
- [92] 张先恩 (Zhang X E). *科学通报 (Chinese Science Bulletin)*, 2009, 54: 2682—2690
- [93] Goodsell D S (著). 张文熊 (Zhang W X), 张鹏 (Zhang P), 王文雅 (Wang W Y) 等译. *生物纳米技术——来自大自然的启示 (Bionanotechnology—Lessons from Nature)*. 北京: 化学工业出版社 (Beijing: Chemical Industry Press), 2006. 64—74
- [94] Niemeyer C M. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, 40: 4128—4158
- [95] Carlsen A, Lecommandoux S. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 2009, 14: 329—339
- [96] Petka W A, Harden J L, McGrath K P, Wirtz D, Tirrell D A. *Science*, 1998, 281: 389—392
- [97] Taubert A, Napoli A, Meier W. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2004, 8: 598—603
- [98] Hartgerink J D, Beniash E, Stupp S I. *Science*, 2001, 294: 1684—1688
- [99] Velonia K, Rowan A E, Nolte R J M. *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124: 4224—4225
- [100] Reynhout I C, Cornelissen J J L M, Nolte R J M. *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129: 2327—2332