

中图分类号: Q518.1

单位代码: 10425

学 号: Z18140054



中國石油大學

# 工程硕士学位论文

China University of Petroleum

Degree Thesis of Engineering Master

两亲性短肽自组装手性传递机制的分子模拟研究

Molecular Simulation Study on the Chiral Transmission

Mechanism of Amphiphilic Short Peptide Self-assembly

工程领域: 材料工程

研究方向: 能源新材料技术与应用

作者姓名: 祁凯

指导教师: 张军 教授

二〇二一年五月

中图分类号: Q518.1

单位代码: 10425

学 号: Z18140054



中國石油大學

# 工程硕士学位论文

China University of Petroleum  
Degree Thesis of Engineering Master

两亲性短肽自组装手性传递机制的分子模拟研究

Molecular Simulation Study on the Chiral Transmission  
Mechanism of Amphiphilic Short Peptide Self-assembly

工程领域: 材料工程

研究方向: 能源新材料技术与应用

作者姓名: 祁凯

指导教师: 张军 教授

二〇二一年五月

**Molecular Simulation Study on the Chiral Transmission  
Mechanism of Amphiphilic Short Peptide Self-assembly**

A Thesis Submitted for the Degree of Engineering Master

**Candidate: Qi Kai**

**Supervisor: Prof. Zhang Jun**

School of Materials Science and Engineering

China University of Petroleum (East China)

## 关于学位论文的独创性声明

本人郑重声明：所呈交的论文是本人在指导教师指导下独立进行研究工作所取得的成果，论文中有关资料和数据是实事求是的。尽我所知，除文中已经加以标注和致谢外，本论文不包含其他人已经发表或撰写的研究成果，也不包含本人或他人为获得中国石油大学（华东）或其它教育机构的学位或学历证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对研究所做的任何贡献均已在论文中作出了明确的说明。

若有不实之处，本人愿意承担相关法律责任。

学位论文作者签名： 祁凯

日期：2021年5月26日

## 学位论文使用授权书

本人完全同意中国石油大学（华东）有权使用本学位论文（包括但不限于其印刷版和电子版），使用方式包括但不限于：保留学位论文，按规定向国家有关部门（机构）送交、赠送和交换学位论文，允许学位论文被查阅、借阅和复印，将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，采用影印、缩印或其他复制手段保存学位论文，授权但不限于清华大学“中国学术期刊(光盘版)电子杂志社”和北京万方数据股份有限公司用于出版和编入CNKI《中国知识资源总库》、《中国学位论文全文数据库》等系列数据库。（保密的学位论文在解密后适用本授权书）

学位论文作者签名： 祁凯

日期：2021年5月26日

指导教师签名： 张军

日期：2021年5月26日

## 摘要

肽是蛋白质水解的中间产物，由氨基酸按照一定的序列组成。因具有良好的生物相容性、可生物降解性以及生物活性，短肽及其自组装结构在新型材料合成和纳米器件方面具有非常广阔的发展前景。目前，实验上已经通过手性调控合成出了多种不同的纳米结构，并且发现氨基酸的手性是控制短肽自组装超分子结构的关键因素。然而，对于“分子水平的手性是如何发展到超分子水平上”这一问题缺乏基础理解，这阻碍了短肽自组装纳米材料的发展。

为了更好地选择氨基酸来合成短肽，从而更有效地以  $\beta$ -sheet 结构自组装，本文首先从 15 种天然非带电氨基酸侧链的差异性出发，研究每一种氨基酸采用  $\beta$ -sheet 结构自组装的倾向大小，并对相关结果进行理论解释。随后构建了一系列手性短肽分子来研究氨基酸手性对自组装体手性的影响，首次提出了一套基于分子模拟的系统研究短肽自组装过程中手性传递机制的方法，并通过实验验证了其正确性。研究内容主要包括以下两个方面：

(1) 建立了 15 种天然非带电氨基酸的四肽模型，以反平行  $\beta$ -sheet 结构进行堆积，考察 15 种天然非带电氨基酸形成  $\beta$ -sheet 结构的相对能力大小。研究表明，氨基酸采用  $\beta$ -sheet 结构结合的紧密程度以及其在溶液中的延展程度是两个主要的影响因素。结合能是表征氨基酸形成  $\beta$ -sheet 结构的紧密程度的重要物理量，研究发现不同氨基酸的结合能大小有较大差异，而造成这些差异的主要原因在于氨基酸侧链的不同。不同侧链对主链构型的支撑、较大侧链之间的位阻作用、部分侧链极性基团之间产生的氢键作用以及芳香侧链的相互作用均会影响氨基酸形成  $\beta$ -sheet 结构的稳定性。另一方面，肽在水中的动态构象的延展程度也会影响其形成  $\beta$ -sheet 结构的倾向。通过上述研究，筛选出了易于以  $\beta$ -sheet 结构自组装的氨基酸。

(2) 根据前面的研究结果，本文设计了由形成  $\beta$ -sheet 倾向较高的异亮氨酸和赖氨酸组成的两亲性短肽  $\text{Ac-I}_3\text{K-NH}_2$ 、 $\text{Ac-I}_4\text{K}_2\text{-NH}_2$  进行自组装，从而考察不同手性的氨基酸对其自组装体手性的影响。提出了一套系统的研究短肽采用  $\beta$ -sheet 结构自组装过程中手性传递机制的方法，采用分子动力学模拟和量子化学计算结合的方法，从短肽的单分子构象出发，探究氨基酸侧链对肽单分子构象的影响，发现赖氨酸侧链的位阻作用以及侧链相邻时产生的氢键作用显著影响肽单分子构象的手性。随后在肽的分级自组装过程中追踪手性的发展，阐明了单分子手性向超分子水平传递的分子机制。

这些结果加深了对短肽组装过程中手性传递机理的认识，为实验上合成手性短肽自组装体提供了一定的理论指导。

**关键词：**短肽， $\beta$ -sheet，手性，自组装

## Abstract

Peptides are intermediate products of proteolysis and are composed of amino acids in a certain sequence. Because of its good biocompatibility, biodegradability and biological activity, short peptides and their self-assembled structures have very broad development prospects in the synthesis of new materials and nanodevices. At present, many different nanostructures have been synthesized experimentally through chirality control, and it has been found that the chirality of amino acids is the key factor in controlling the self-assembled supramolecular structure of short peptides. However, there is a lack of basic understanding of the question of "how the chirality at the molecular level develops to the supramolecular level", which hinders the development of short peptide self-assembled nanomaterials.

In order to better select amino acids to synthesize short peptides, so as to more effectively self-assemble with  $\beta$ -sheet structure, this article first starts from the differences in the side chains of 15 natural uncharged amino acids, the tendency of each amino acid to self-assemble with  $\beta$ -sheet structure is studied, and the relevant results are explained theoretically. Subsequently, a series of chiral short peptide molecules were constructed to study the effect of amino acid chirality on the chirality of self-assembly. For the first time, a set of methods based on molecular simulation to study the chiral transfer mechanism in the process of short peptide self-assembly was proposed, and its correctness was verified through experiments. The research content mainly includes the following two aspects:

(1) A tetrapeptide model of 15 kinds of natural uncharged amino acids was established, stacked in antiparallel  $\beta$ -sheet structure, and the relative ability of 15 kinds of natural uncharged amino acids to form  $\beta$ -sheet structure was investigated. Studies have shown that the tightness of the combination of amino acids using the  $\beta$ -sheet structure and the degree of extension in solution are the two main influencing factors. Binding energy is an important physical quantity that characterizes the tightness of amino acids to form a  $\beta$ -sheet structure. Studies have found that the binding energy of different amino acids has large differences, and the main reason for these differences is the difference in amino acid side chains. Different side chains support the main chain configuration, steric hindrance between larger side chains, the hydrogen bonding between polar groups in part of the side chains and the interaction of aromatic side chains will

affect the stability of the  $\beta$ -sheet structure formed by amino acids. On the other hand, the degree of extension of the peptide's dynamic conformation in water will also affect its tendency to form a  $\beta$ -sheet structure. Through the above research, the amino acids that are easy to self-assemble in the  $\beta$ -sheet structure have been screened out.

(2) According to the previous research results, this paper designed the self-assembly of the amphiphilic short peptides Ac-I<sub>3</sub>K-NH<sub>2</sub> and Ac-I<sub>4</sub>K<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, which were composed of heterolinylic acid and lysine with a higher tendency to form  $\beta$ -sheet, so as to investigate the effect of different chiral amino acids on the chirality of their self-assembly. Put forward a set of short peptide using beta sheet of chiral transfer mechanism in the process of self-assembly method, using molecular dynamics simulations and quantum chemical calculation, starting from the single molecule conformation of short peptide, amino acid side chains on the influence of peptide molecule conformation, found lysine side chain steric hindrance effect and side chain adjacent peptide is significantly influenced by the hydrogen bonding interaction are produced when a single chiral molecular conformation. Subsequently, the development of chirality was tracked during the hierarchical self-assembly of peptides, and the molecular mechanism of single-molecule chirality transfer to the supramolecular level was clarified.

These results deepen the understanding of the chiral transmission mechanism in the process of short peptide assembly, and provide certain theoretical guidance for the experimental synthesis of chiral short peptide self-assembly.

**Keywords:** short peptide,  $\beta$ -sheet, chirality, self-assembly



# 目 录

第一章 绪论 .....	1
1.1 前言 .....	1
1.2 短肽自组装研究现状 .....	1
1.2.1 氨基酸：肽的基本组成部分 .....	1
1.2.2 肽自组装过程中的相互作用 .....	4
1.2.3 典型的自组装短肽 .....	7
1.2.4 SLPs 的设计规则及其可控的自组装 .....	7
1.3 手性肽自组装研究现状 .....	9
1.4 短肽的应用 .....	13
1.4.1 用于细胞培养的水凝胶支架 .....	13
1.4.2 药物输送 .....	15
1.4.3 仿生矿化和纳米加工的模板 .....	15
1.4.4 止血材料 .....	16
1.5 本文的主要研究内容 .....	16
第二章 分子模拟方法 .....	17
2.1 分子模拟简介 .....	17
2.2 OPLS 力场简介 .....	17
2.3 Kabsch 算法简介 .....	18
第三章 氨基酸类型与 $\beta$ -sheet 结构形成倾向的构效关系 .....	20
3.1 模型构建及模拟方法 .....	21
3.2 结果和讨论 .....	22
3.2.1 肽结合紧密程度分析 .....	22
3.2.2 弱相互作用分析 .....	24
3.2.3 肽构象延展程度分析 .....	29
3.3 本章小结 .....	31
第四章 $\text{Ac-LI}_n\text{K}_m\text{-NH}_2$ 短肽系列自组装手性传递机制研究 .....	32
4.1 模型构建及模拟方法 .....	32
4.2 肽组装过程中手性传递机制研究 .....	33

4.2.1 Lys 手性变化对 Ac- <sup>L</sup> I <sub>3</sub> K-NH <sub>2</sub> 组装体形貌的影响.....	33
4.2.2 Lys 手性变化对 Ac- <sup>L</sup> I <sub>4</sub> K <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub> 组装体形貌的影响 .....	37
4.3 本章小结.....	44
结 论.....	45
参考文献.....	46
致 谢.....	57

# 第一章 绪论

## 1.1 前言

分子自组装是自然界广泛存在的现象，是指一个无序的系统在没有外部的干预下，由物质分子通过氢键、 $\pi$ - $\pi$  相互作用等弱相互作用，从而形成一个有序的结构的过程。由于它提供了自下而上以及可控制的方法将分子组装成较大的结构，这些年在材料物理与化学、胶体与界面化学、超分子化学及生物材料等领域受到了广泛关注<sup>[1]</sup>。

短肽是由 2-10 个  $\alpha$ -氨基酸分子脱水缩合而成的化合物，是天然存在的小生物分子，介于氨基酸和蛋白质之间的物质。常见的肽包括表面活性剂肽、离子互补性肽、脂肽、发卡肽和表面活性剂肽。其中两亲性短肽是研究的热点，其具有与传统的表面活性剂类似的性质，比如都具有亲水的基团和疏水的基团，对两相都有亲和性等。除此以外，两亲性短肽还具有良好的可生物降解性、生物相容性以及一定的生物催化活性<sup>[2-5]</sup>等传统表面活性剂没有的性质。

短肽自组装是由多种弱相互作用力协同驱动的，其中主要包括范德华力、静电力、氢键作用、疏水作用以及  $\pi$ - $\pi$  相互作用等，在多种弱相互作用共同驱动下，可以产生与共价作用力媲美的强度，从而对自组装体的完整性和稳定性起到了非常重要的作用。无论在宏观还是微观尺度中，手性在自然界中无处不在，例如左手或者右手线圈，DNA 双螺旋（右手 A-和 B-DNA 和左手 Z-DNA 螺旋）、贝壳、植物和星系等。在生命系统、制备纳米材料和制药设计中，手性在其中起着非常重要的作用。除了甘氨酸外，其他的 19 种天然氨基酸均为手性氨基酸，且均已 L 型存在着。通过改变短肽中氨基酸的手性，往往可以调控形成的自组装体的手性，在实验上已经进行了大量的研究，但是由于短肽自组装过程中有多种弱相互作用力共同作用，所以组装过程较为复杂，目前对于氨基酸的手性是如何影响组装体的手性还不清楚，所以目前对组装体手性的调控还较为困难。

## 1.2 短肽自组装研究现状

### 1.2.1 氨基酸：肽的基本组成部分

在活生物体中，遗传特性存在于 DNA 序列中编码，DNA 序列由以线性顺序排列的四个不同核苷酸组成。根据弗朗西斯·克里克（Francis Crick）提出的中心教条<sup>[6]</sup>，DNA 序列控制着蛋白质的合成，这些蛋白质也具有相似的线性结构，并且遗传性状转移到这

些功能分子中。在蛋白质中，有 20 种不同的氨基酸串在一起形成其一级结构，并且类似地，它们的生物学功能和相关的超结构在氨基酸序列中编码。特定蛋白质的主要区别在于精确的氨基酸组成和序列。蛋白质的结构多样性和功能多样性在很大程度上源自具有完全不同的理化和生物学特性的 20 种氨基酸。为了清楚和简洁起见，在整个系统中，三个字母的代码和单个字母的代码分别用于表示氨基酸和肽序列。

所有氨基酸均具有相同的  $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH}$  基序，但仅与  $\text{C}_\alpha$  原子相连的 R 基团（侧链）有所变化，Pro 具有一个仲氨基，其侧链通过闭环直接连接到主链上（图 1-1a）。其中，只有一个氢为侧链的 Gly 是唯一的非手性氨基酸，其余具有 L-构型。Gly 是最简单的氨基酸，没有明显的亲水性或疏水性，在许多公开的氨基酸疏水性尺度中，其疏水性（ $\pi$  值）定义为  $0.0^{[7-10]}$ 。遵循 Fauchère 和 Pliška 标度的  $\pi$  值作为 20 种氨基酸疏水性的量度在（图 1-1b）中给出<sup>[11]</sup>。有很多方法可以对 20 种氨基酸进行分类，最广泛使用的方法是基于侧链的极性。因此，这些天然氨基酸可大致分为三类：（1）具有非极性侧链的疏水基团，（2）具有不带电荷的极性侧链的疏水基团，（3）带有带电侧链的分子（如图 1-1a 所示）<sup>[12]</sup>。疏水氨基酸的非极性侧链在大小和形状上明显不同。例如，Ala、Val 和 Leu 的脂族侧链具有不同的碳原子数；Leu 和 Ile 具有相同的碳原子数，但分支模式不同；Phe 和 Trp 具有庞大且刚性的芳环。不带电荷的极性氨基酸在其侧链中带有羟基（Ser、Thr 和 Tyr），酰胺（Asn 和 Gln）和硫醇（Cys）基团。带电荷的氨基酸包括带正电荷的氨基酸（Lys、Arg 和 His）和带负电荷的氨基酸（Asp 和 Glu）。这三个基本的在其侧链上具有完全不同的官能团，即分别对于 Lys、Arg 和 His 的  $\epsilon$ -氨基，胍基和咪唑基团，因此导致它们的侧链具有不同的  $\text{pK}_a(10.5、12.5 \text{ 和 } 6.0)$  值。此外，Gly、Cys 和 Pro 的特殊性在于它们在驱动蛋白质折叠中的独特作用，特别是在球化过程中；Phe、Trp 和 Tyr 带有芳香族侧基，通常被称为芳香族基团<sup>[13-15]</sup>。由于 20 种氨基酸的大小、形状和电荷的多样性（图 1-1a），它们的理化特性（疏水性和螺旋及  $\beta$ -sheet 形成倾向）也显着不同（图 1-1b），因此提供了驱动肽自组装的多种分子内和分子间相互作用。

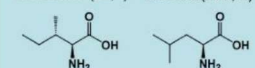
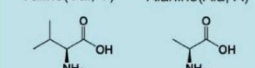
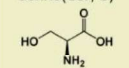
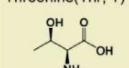
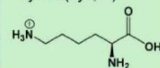
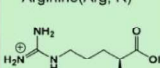
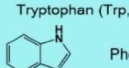
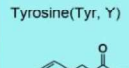
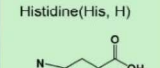
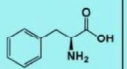
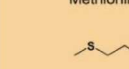
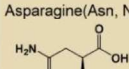
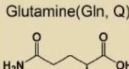
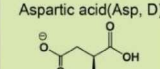
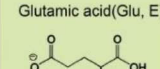
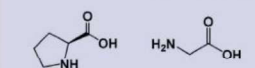
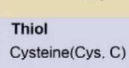
(a)			(b)			
Hydrophobic	Uncharged polar side chain	Charged polar side chain	Amino acid	Hydrophobicity	$\alpha$ -helix propensity (kcal/mol)	$\beta$ -sheet propensity (kcal/mol)
<b>Aliphatic</b> Isoleucine (Ile, I)    Leucine (Leu, L)  Valine (Val, V)    Alanine (Ala, A) 	<b>Hydroxyl</b> Serine (Ser, S)  Threonine (Thr, T) 	<b>Positive</b> Lysine (Lys, K)  Arginine (Arg, R) 	Ala	0.31	0.00	0.00
Tryptophan (Trp, W) 	Tyrosine (Tyr, Y) 	Histidine (His, H) 	Arg	-1.01	0.17	-0.40
Phenylalanine (Phe, F) 			Leu	1.70	0.17	-0.45
Methionine (Met, M) 	<b>Amide</b> Asparagine (Asn, N)  Glutamine (Gln, Q) 	<b>Negative</b> Aspartic acid (Asp, D)  Glutamic acid (Glu, E) 	Glu(0) / Glu(-)	- / -0.64	0.17 / 0.56	- / -0.23
Proline (Pro, P)    Glycine (Gly, G) 	<b>Thiol</b> Cysteine (Cys, C) 		Met	1.23	0.19	-0.90
			Lys	-0.99	0.31	-0.35
			Trp	2.25	0.31	-1.04
			Gln	-0.22	0.33	-0.38
			Ser	-0.04	0.44	-0.87
			Ile	1.80	0.43	-1.25
			Phe	1.79	0.47	-1.08
			Cys	1.54	0.54	-0.78
			Asp(0) / Asp(-)	- / -0.77	0.54 / 0.68	- / 0.85
			Tyr	0.96	0.56	-1.63
			Asn	-0.60	0.61	-0.52
			Thr	0.26	0.61	-1.36
			Val	1.22	0.63	-0.94
			His(0) / His(+)	0.13 / -	0.65 / 0.88	-0.37 / -
			Gly	0	0.90	1.21
			Pro	0.72	3.47	>5

图 1-1 (a) 真核细胞中 20 种常见氨基酸，(b) 疏水性和  $\alpha$ -螺旋和  $\beta$ -折叠倾向<sup>[11]</sup>。注意，b 中的 (0)，(-) 和 (+) 分别表示可电离侧链的中性，负电荷和正电荷形式

Fig-1 (a) 20 common amino acids in eukaryotic cells, (b) hydrophobicity and  $\alpha$ -helix and  $\beta$ -sheet propensity. Note that (0), (-) and (+) in b represent the neutral, negative and positive charge forms of the ionizable side chain, respectively

这些氨基酸在其生化特性方面也表现出极大的多样性，例如其许多体内生物学过程和功能。除了作为亲核试剂参与酶促反应和金属硫蛋白中重金属的结合以外，Cys 的巯基还通过形成二硫键在蛋白质结构和稳定性中起重要作用。Nilsson 等人已经证明离子互补肽 Ac-C (FKFE)<sub>2</sub>CG-NH<sub>2</sub> (Ac-和-NH<sub>2</sub> 分别表示通过乙酰化和酰胺化作用进行的 N 和 C 端封端) 经由分子内二硫键的环化施加了构象约束，并且阻止了该肽采用  $\beta$ -折叠结构和自组装。但是，添加还原剂会立即触发肽的自组装和水凝胶化<sup>[16]</sup>。Tyr 是黑色素颜料的前体，黑色素被生命有机体用来吸收紫外线辐射以进行保护并产生颜色<sup>[17]</sup>。Uljin 等人最近设计了一系列含酪氨酸的自组装三肽作为聚合颜料的可调节前体<sup>[18]</sup>。Gln 充当转谷氨酰胺酶 (TGase) 的特定底物，在基质交联中起着至关重要的作用<sup>[19]</sup>。徐等人设计了一种两亲性短肽 Ac-I<sub>3</sub>QGK-NH<sub>2</sub>，在添加 TGase 后可发生明显的溶胶-凝胶转变，形成刚性水凝胶，该肽可用于出血后快速有效的止血<sup>[20]</sup>。

总的来说，氨基酸在其物理、化学和生物学特性方面的多样性赋予了肽自组装很大

的潜力，可用于制造具有定制超结构和功能的先进材料。

### 1.2.2 肽自组装过程中的相互作用

与其他分子自组装系统相似，肽自组装在很大程度上依赖于非共价相互作用，在某些情况下，还涉及相对弱的共价键，例如配位键<sup>[21,22]</sup>。通常，许多弱相互作用的共同作用提供了稳定的组装过程。这些相互作用倾向于在调节分层自组装过程和最终结构的每个步骤中发挥各自的作用。最重要的是，这些交互以协作的方式工作，从而导致复杂但连贯的自组装过程和庞大的定义明确的体系结构。

氢键（H 键）、疏水相互作用（包括  $\pi$ - $\pi$  堆积）、静电相互作用、金属配位和二硫键是蛋白质折叠的主要作用力，已广泛用于肽自组装的设计中。蛋白质和肽自组装的最独特特征是广泛的 H 键网络的参与，该网络起源于肽主链或侧链。骨干的  $\text{CO}\cdots\text{NH}$  键驱动二级结构的形成，例如  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠和  $\beta$ -转角，它们构成了肽和蛋白质的分层自组装过程的主要结构基序。图（1-1b）列出了 20 种氨基酸的  $\alpha$ -螺旋和  $\beta$ -折叠倾向<sup>[23]</sup>。显然，这些值针对不同的氨基酸而变化，表明明显的侧链效应。作为一个典型的例子，由于 Ile 具有  $\beta$  支链侧链，它具有比 Leu 更强的  $\beta$ -折叠倾向。然而，这种分支模式使  $\alpha$ -螺旋形成不稳定，因此导致与 Ile 相关的  $\alpha$ -螺旋倾向值相对较低。再举一个例子，由于 Pro 和 Gly 具有特定的侧链，它们是最不稳定的基团。侧链 H 键可以稳定二级结构，例如在 Perutz 等人提出的  $\beta$  链之间形成极性拉链时<sup>[24]</sup>。徐等人通过合理设计一系列 SLP ( $\text{Ac-I}_3\text{XGK-NH}_2$ ，X 表示不带电荷的极性残基，例如 Gln, Ser 和 Asn)，首次证明了在相邻的  $\beta$ -薄片之间而不是在薄片内的  $\beta$  链之间形成极性拉链（如图 1-2 所示）<sup>[25]</sup>。基于 X 侧链氢键的极性拉链可以使  $\beta$  片相互啮合并克服其固有的扭曲，最终导致形成宽而扁平的条带。这样的超二级结构模板可以为除  $\beta$ -折叠之外的独特的纳米结构和纳米材料的制造提供一条敏捷的途径。注意，侧链-主链的 H 键相互作用可能会破坏螺旋的稳定性<sup>[26]</sup>。

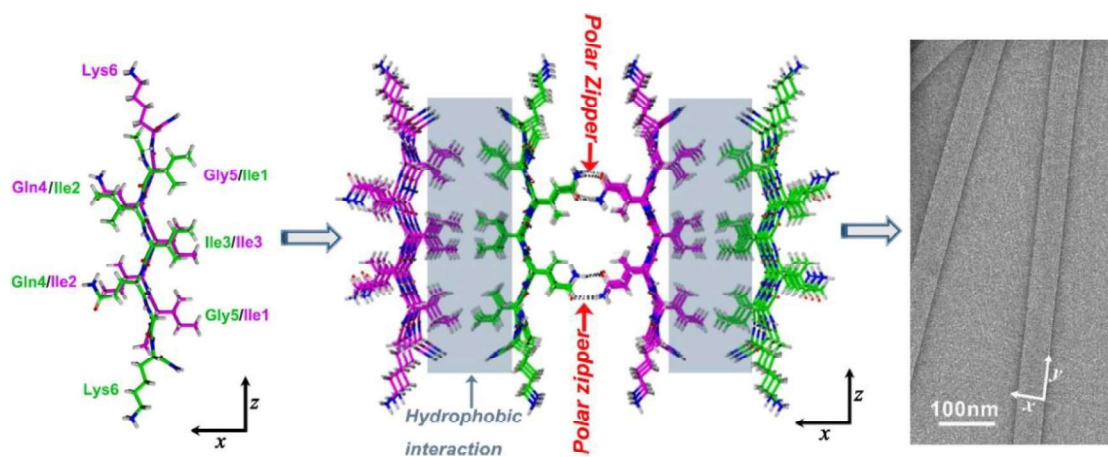


图 1-2 相邻  $\beta$  片之间的极性拉链导致形成宽而刚性的纳米带<sup>[25]</sup>

Fig1-2 Polar zippers between adjacent beta sheets result in the formation of wide and rigid nanoribbons <sup>[25]</sup>

在疏水作用的驱动下，非极性侧链通常埋在蛋白质内部，远离与水的接触。在水溶液中肽自组装过程中，分子间疏水相互作用是主要的热力学驱动力，不仅推动肽单体聚集，而且还可以促进形成的二级结构进一步组装，例如在盘绕线圈的形成和  $\beta$  片的横向堆叠中。与 H 键相反，Whitesides 等人提出疏水相互作用是无方向性的。然而，由于堆积的几何限制，作为一种特定的疏水相互作用的  $\pi$ - $\pi$  堆积可在短淀粉样肽，其衍生物和类似物的自组装中提供方向性和显著的有序水平<sup>[27]</sup>。疏水性相互作用主要来自疏水性氨基酸的侧链，但一些极性氨基酸，例如 Tyr 和 Thr，具有相对较高的疏水性值（如图 1-1b），也可能对疏水性相互作用有明显贡献<sup>[28,29]</sup>。通过改变溶剂的极性可以很容易地调节疏水相互作用<sup>[30,31]</sup>。

尽管大多数分子间相互作用源于静电，但在此本文将术语静电限于带电荷的氨基侧链之间的相互作用，即离子相互作用。静电相互作用是排斥的或有吸引力的，取决于电荷的迹象。带电荷的氨基酸通常分布在肽装配体的表面，因此决定了它们在水环境中的水合度和稳定性。通过调节 pH 值和添加盐来减少带有相同电荷的氨基酸之间的排斥力已广泛用于触发发夹肽的自组装（例如，Max1: VKVKVKVKVDPPTPTKVKVKVKV-NH<sub>2</sub>, DP 表示具有 D 构型的 Pro）<sup>[32,33]</sup>和肽两亲物（PA，例如 C<sub>16</sub>H<sub>31</sub>O-CCCCGGGS（PO<sub>4</sub>）RGD, S（PO<sub>4</sub>）表示磷酸丝氨酸）<sup>[34]</sup>。带相反电荷的氨基酸之间的分子间静电吸引力在离子自互补肽（例如 EAK16-II（AEAEAKAKAEAEAKAKAK）和 KFE-8（KFEFKFEF-NH<sub>2</sub>））的自组装中起重要作用螺旋肽（例如由 hSAFAAA-p1（KIAALKAKIAALKAEIAALEAENAAL）和 hSAFAAA-p2（KIAALKAKNAALKAEIAALEAENAAL）组成的 hSAF 系统<sup>[35-37]</sup>。

从本质上讲，由于组成氨基酸的多样性以及沿主链存在的酰胺键的多样性，仅一种力不太可能负责肽的自组装。即使对于超短肽，例如 FF 和 Fmoc-FF，尽管  $\pi$ - $\pi$  堆积在自组装中起着重要作用，但 H 键的贡献也不能忽略。尽管以上相互作用在驱动肽自组装中具有各自的作用，但它们通常以协同方式起作用，并且它们的相互作用决定了自组装过程和最终形成的纳米结构。一个典型的例子是两个短 SLP 系列的自组装，即 Ac-LmK-NH<sub>2</sub> 和 Ac-ImK-NH<sub>2</sub> (m = 3-5) [38,39]。相反，Ac-I<sub>3</sub>K-NH<sub>2</sub> 采用典型的  $\beta$ -折叠结构并自组装成长纳米纤维。鉴于 Ile 具有比 Leu 更强的  $\beta$ -sheet 倾向，因此可以预期存在这种差异。有趣的是，当 Leu 残基的数量增加到五个时，所得的 Ac-L<sub>5</sub>K-NH<sub>2</sub> 也形成了长纳米纤维，更重要的是，它还采用了独特的  $\beta$ -折叠结构。从这些结果可以看出，增加的疏水性相互作用促进了  $\beta$ -折叠的结构化，并且不同相互作用之间的相互作用决定了最终的自组装纳米结构。Ac-L<sub>3</sub>K-NH<sub>2</sub> 通过 Leu 侧链之间的疏水相互作用与 Lys 侧链之间的静电排斥之间的平衡形成球形堆叠，并且肽分子采用无规卷曲构象（如图 1-3a）。此外，分子间的  $\beta$ -折叠 H 键有利于肽装配体的纵向生长，这也得到了 Hartgerink 等人的证实，他们证明了对 C<sub>16</sub>H<sub>31</sub>O-GGGGGGGGERGDS 的一些关键氨基酸进行选择性 N-甲基化后，由于缺乏扩展的  $\beta$ -折叠 H-键网络，仅形成了球形胶束<sup>[40]</sup>。

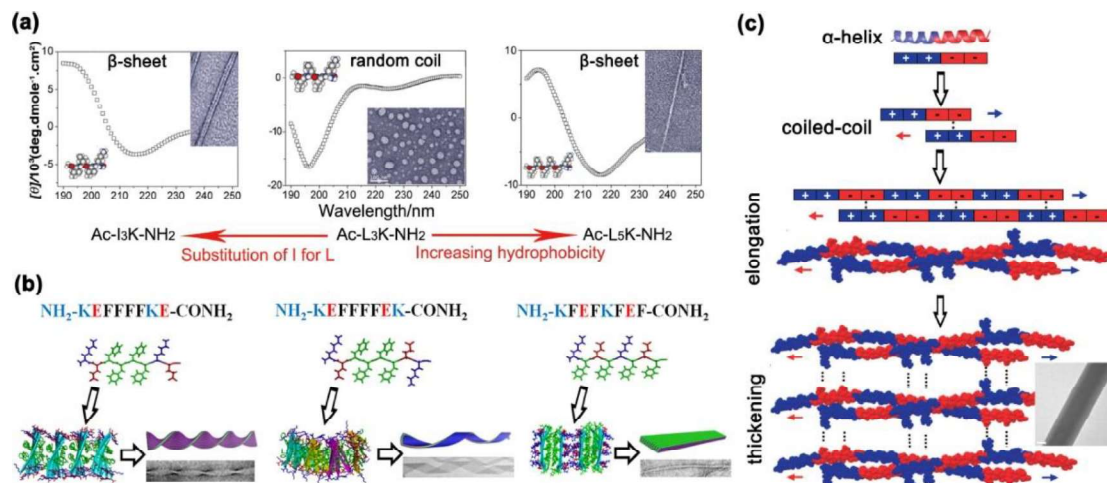


图 1-3 肽自组装过程中各种弱相互作用的协同相互作用

(a) H-键和疏水相互作用的相互作用<sup>[38,39]</sup>。(b) 各种非共价相互作用的空间协同效应，导致从三种离子互补肽自组装而来的不同形态<sup>[40]</sup>。(c) 各种非共价相互作用的时间协同效应，导致螺旋肽的分层自组装过程<sup>[41]</sup>

**Fig1-3 Synergistic interaction of various weak interactions during peptide self-assembly**  
**(a) Interaction of H-bond and hydrophobic interaction<sup>[38,39]</sup>. (b) The spatial synergistic effect of various non-covalent interactions results in different morphologies derived from the self-assembly of the three ionic complementary peptides<sup>[40]</sup>. (c) The time synergistic effect of various non-covalent interactions leads to the hierarchical self-assembly process of helical peptides<sup>[41]</sup>**

此外，各种交互作用的协同作用在空间和时间上都是明确定义的。徐等人设计了三



种短离子互补肽, KE-F<sub>8</sub> (KEFFFFKE-NH<sub>2</sub>), EK-F<sub>8</sub> (KEFFFFEK-NH<sub>2</sub>) 和 KFE-8 (KFEFKFEF-NH<sub>2</sub>), 具有相同的氨基酸组成和长度(如图 1-3b 所示)。序列变异使得氨基酸残基的空间分布沿三种肽的肽主链不同。结果, 三种肽所涉及的非共价力(静电,  $\pi$ - $\pi$  堆积和 H 键)的配合在空间上是不同的, 最终导致了不同的自组装纳米结构(KE-F<sub>8</sub> 的扭曲带, EK-F<sub>8</sub> 的螺旋带/管和 KFE-8 的扁平带)。在  $\alpha$ -螺旋肽的组装中可以很好地例证时间协同作用。如图 1-3c 所示, 分子内 H 键首先驱动肽分子采用  $\alpha$ -螺旋构象, 然后形成具有粘性末端的二聚体卷曲螺旋, 其主要由位置 a 和 d 处的疏水残基之间的分子间疏水相互作用驱动。然后, 粘性末端(位置 e 和 g)之间的分子间静电吸引力导致纵向缔合成伸长的和较细的原纤维。最后, 位置 b, c 和 f 的非共价相互作用(离子桥和疏水相互作用)促进了原纤维的增稠。

### 1.2.3 典型的自组装短肽

在本文中, 自组装短肽是指残基少于 30 个的短肽。该领域的开拓性工作可以追溯到 1990 年代初。通过研究可以与左手 Z-DNA 结合的酵母蛋白 zuotin, Zhang 等人偶然发现了来自该蛋白的重复序列 EAK16-II 可以自组装成稳定的膜和有序的纳米纤维。同时, Ghadiri 等人设计了具有偶数 D 和 L 型氨基酸交替排列的环状肽, 例如环(-DAEDAQDAEDAQ-), 可以采用平环构型并堆叠以提供连续的 H 键结空心管状结构<sup>[41]</sup>。从那时起, 偶然性和智能分子设计的结合就导致了各种各样的自组装短肽。当然, 存在基于两个亲本肽序列的广泛变化<sup>[42]</sup>。

到目前为止, 已报道的自组装短肽可大致分为以下几类: 离子互补肽(例如 EAK<sub>16</sub>-II), 环肽(例如, 环(-DAEDAQDAEDAQ-)), PA(例如, C<sub>16</sub>H<sub>31</sub>O-CCCCGGGS(PO<sub>4</sub>)RGD), SLP(例如, Ac-A<sub>6</sub>D)<sup>[43]</sup>, 发夹肽(例如 Max1), 淀粉样蛋白肽片段和衍生物(例如 FF 和 Fmoc-FF), 多域肽(MDP, 例如 Ac-K<sub>2</sub>(QL)<sub>6</sub>K<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>)<sup>[44]</sup>和螺旋肽(例如 hSAF 肽)。注意, 这些呈递的肽对应于每组自组装肽的第一个或最著名的报告。除螺旋肽外, 其余的在自组装时倾向于采用  $\beta$ -折叠结构。它们中的大多数是从头设计的, 但是它们的分子设计极大地受益于对蛋白质序列结构关系的理解。这种分类方案并不详尽, 但确实展示了该领域最重要的进展。

### 1.2.4 SLPs 的设计规则及其可控的自组装

Zhang 和他的同事在 2002 年设计了第一个 SLPs Ac-A<sub>6</sub>D。它由六个连续的疏水残基和一个负电荷组成, 因此在 C 端带有两个负电荷(一个来自侧链羧基, 另一个来自 C 端

羧基)。该肽和其他阴离子 SLPs (例如 Ac-V<sub>6</sub>D, Ac-V<sub>6</sub>D<sub>2</sub> 和 Ac-G<sub>6</sub>D<sub>2</sub>) 在中性水溶液中进行自组装, 从而形成纳米管和纳米囊泡, 并且这些纳米结构被认为是原始核酶和基本肽酶的原始外壳<sup>[45]</sup>。

自 2002 年以来, 已经设计并广泛探索了许多 SLPs。研究最广泛的 SLPs 是具有疏水尾部的 SLPs, 该尾部由几个相同的疏水残基组成, 而亲水性头基由一个或两个相同的带电残基组成, 例如 Ac-GAVILRR-NH<sub>2</sub>、Ac-AAVVLLLWEE 和 Ac-LIVAGD (如图 1-4a) <sup>[5,46-48]</sup>。最近已经设计了几种类似 bola 的 SLP, 例如 Ac-KI<sub>4</sub>K-NH<sub>2</sub>、Ac-HI<sub>4</sub>H-NH<sub>2</sub> 和 EFL<sub>4</sub>FE, 其中两个相同的末端带电荷残基通过疏水性氨基酸核心连接 (如图 1-4b 所示) <sup>[49-52]</sup>。

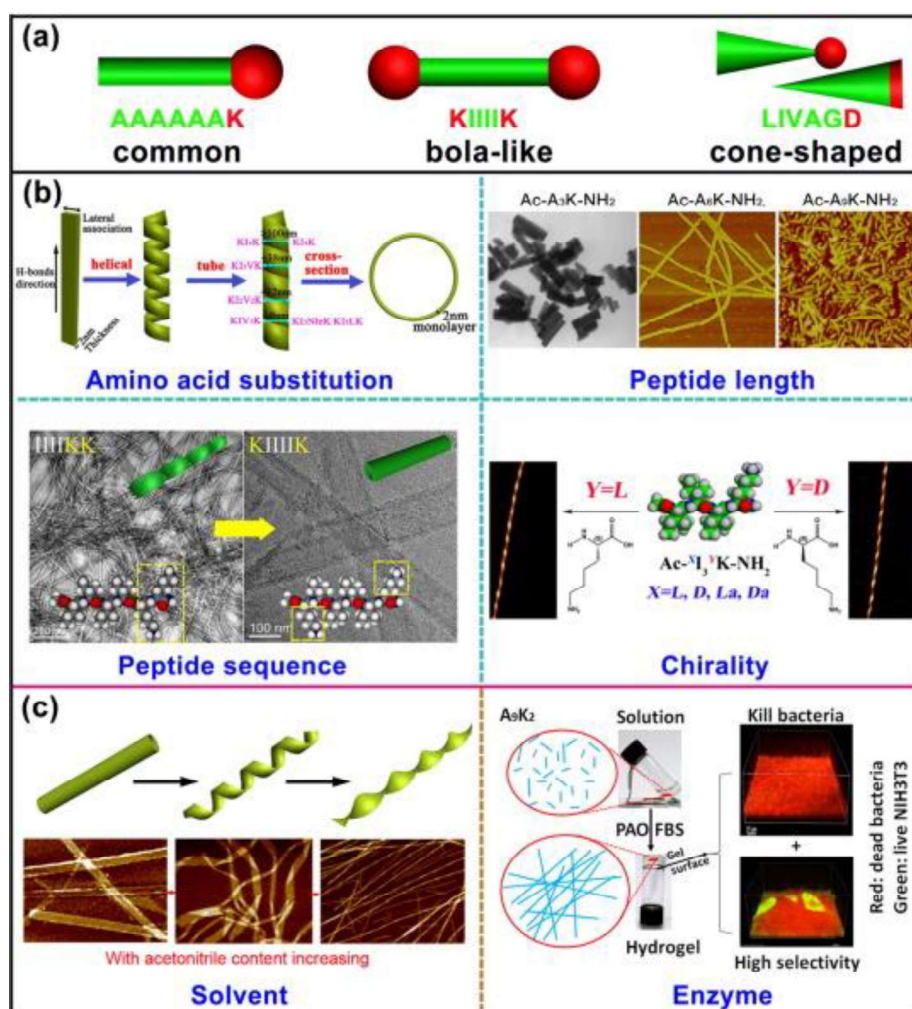


图 1-4 影响 SLP 自组装过程的代表性方法

(a) SLP 的主要类型: 常规, 波拉状和锥形; (b) 分子设计策略: 氨基酸取代, 序列变异, 长度增加和手性<sup>[53,54]</sup>; (c) 用于控制 SLP 自组装的外部因素: 溶剂和酶<sup>[55]</sup>。请注意, 阳离子 SLP 的两个末端均被封端, 而阴离子 SLP 的仅一个 N 末端被封端, 为简便起见, 在某些图像中省略了 Ac-和-NH<sub>2</sub>

Fig1-4 Representative methods affecting the SLP self-assembly process

**(a) The main types of SLP: regular, corrugated and tapered; (b) Molecular design strategy: amino acid substitution, sequence variation, length increase and chirality<sup>[53,54]</sup>; (c) External factors used to control SLP self-assembly: solvents and enzymes<sup>[55]</sup>. Note that both ends of the cationic SLP are capped, while only one N-terminus of the anionic SLP is capped. For brevity, Ac- and -NH<sub>2</sub> are omitted in some images**

与常规表面活性剂类似，许多 SLPs 具有明确定义的临界聚集浓度（CAC）<sup>[53,56-62]</sup>。除疏水性外， $\beta$ -折叠氢键在决定其 CAC 中也起着重要作用。例如，尽管 Ac-I<sub>3</sub>K-NH<sub>2</sub> 具有相似的疏水性，但水中的 CAC 值却比 Ac-L<sub>3</sub>K-NH<sub>2</sub> 低得多，这是因为后者缺乏  $\beta$ -折叠结构。但是，Ac-I<sub>5</sub>K-NH<sub>2</sub> 和 Ac-L<sub>5</sub>K-NH<sub>2</sub> 的 CAC 几乎相同，因为它们都形成  $\beta$ -折叠二级结构。在其 CAC 之上，SLPs 可以很容易地在水溶液以及各种有序的纳米结构和材料中进行自组装，到目前为止，从它们的自组装方面已经报道了诸如胶束、囊泡、纳米纤维、纳米带、纳米管和水凝胶之类的物质。由于它们的长度短，定义明确的疏水和亲水区域，分子两亲性以及出色的水溶性，因此可以通过适当的分子设计和变化的溶液条件轻松地调节 SLPs 的自组装和应用。

### 1.3 手性肽自组装研究现状

对于肽和蛋白质，组成氨基酸的手性被广泛认为是控制其折叠和超分子组织的手性的关键因素<sup>[63]</sup>。由于天然存在的氨基酸除甘氨酸外几乎都是 L-氨基酸，所以组成的肽 L-氨基酸残基通常在折叠时形成右旋  $\alpha$ -螺旋和右旋扭曲的  $\beta$  链，而左手的  $\beta$ -螺旋在能量上是不利的。当右旋扭曲的  $\beta$ -链组装成  $\beta$ -折叠时在氢键方向上，可以产生  $\beta$ -折叠中的左旋扭曲，并且预期随后的左手  $\beta$ -折叠的横向堆叠产生具有左旋扭曲的原纤维。结果，观察到的具有特征性交叉  $\beta$  结构的淀粉样蛋白原纤维通常是左旋扭曲的。相反，来自设计的由 D-氨基酸组成的肽的原纤维通常表现出右旋扭曲。尽管左手具有优势，但是已经观察到由天然肽和蛋白质形成的一些纤维状聚集体显示右手。右手原纤维主要由淀粉样蛋白多肽和蛋白质的小片段体外形成，例如来自血清淀粉样蛋白 A 蛋白（SAA）的 SAA 肽（RSFFSFLGEAFD）和来自鸡蛋清溶菌酶的 ILQINS 序列。此外，它们的通常在酸性条件（pH2.0 或更低）下，甚至在相对较高的温度下实现形成，这可能是由于它们在水溶液中的高疏水性或低溶解度。这些研究表明，目前很难根据已知的肽序列明确预测超分子纳米结构的手性。事实上，支持手性发展和反转的基本原理可能很复杂。无论是形成左旋和右旋螺旋的  $\beta$ -螺旋的采用，还是组成氨基酸的手性如何，或沿着肽骨架方向的末端相互作用，都被认为是可能的原因。在最近的一项研究中，Usov 等人<sup>[64]</sup>已经确定

了在 pH 2.0 和 90°C 下从牛血清卵清蛋白 (BSA) 自组装的左手和右手扭曲原纤维的共存,更重要的是,他们清楚地观察到右手刚性原纤维是通过缠绕两个左手柔性原纤维形成的,通过高分辨率 AFM 成像。因此,原纤维增厚过程中结构复杂性的增加可能是从左手到右手的手性反转的原因之一。

除了纯手性肽之外,由 L-和 D-氨基酸组成的异手性肽最近因其不同寻常的自组装行为而受到很多关注。例如, Marchesan 等人<sup>[65]</sup>已经证明,对于三肽 FFV,只有当 N-末端氨基酸的手性与其序列中的其余氨基酸的手性不同时,得到的三肽( $^D\text{F}^L\text{F}^L\text{V}$  和  $^L\text{F}^D\text{F}^D\text{V}$ )能够采用明确的  $\beta$ -折叠构象,并在生理条件下自组装成原纤维,而对于纯手性三肽 ( $^L\text{F}^L\text{F}^L\text{V}$  和  $^D\text{F}^D\text{F}^D\text{V}$ ) 和其他异手性三肽 ( $^L\text{F}^L\text{F}^D\text{V}$ 、 $^D\text{F}^D\text{F}^L\text{V}$ 、 $^L\text{F}^D\text{F}^L\text{V}$  和  $^D\text{F}^L\text{F}^D\text{V}$ ) 没有观察到有序结构和凝胶化。有趣的是,傅等人<sup>[66]</sup>已经合成了两对二肽对映体,它们通过与 N 端的疏水性 C18 链连接而连接 ( $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{O-LALA}$  和  $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{O-DADA}$ ;  $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{O-DALA}$  和  $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{O-LADA}$ ), 并发现其自组装聚集体的手性受 C 末端丙氨酸的手性控制,即  $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{O-LALA}$  和  $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{O-DALA}$  自组装成左手绞合带,而  $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{O-DADA}$  和  $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{O-LADA}$  形成右手。因此,这样的研究指出末端残基在调节超分子结构的手性方面的重要性。事实上,因为二肽 (AA) 充当亲水性头基并且在自组装时起作用, C 端丙氨酸残基位于自组装聚集体的表面,可以预期末端相互作用 (例如,氢键,离子和空间相互作用) 在调节超分子形态中起重要作用,正如 Lara 等人<sup>[67]</sup>所讨论的那样。

徐等人<sup>[54]</sup>设计了三对对映体短两亲肽:  $^L\text{I}_3^L\text{K}$  和  $^D\text{I}_3^D\text{K}$ 、 $^L\text{I}_3^D\text{K}$  和  $^D\text{I}_3^L\text{K}$ , 以及  $^L\text{aI}_3^L\text{K}$  和  $^D\text{aI}_3^D\text{K}$ , 结果表明,超分子纳米纤丝的扭曲手性由 C 末端亲水性赖氨酸 (I<sub>sy</sub>) 头的手性决定,而其特征性 CD 信号由疏水性异亮氨酸 (I<sub>le</sub>) 残基的手性决定。分子动力学 (MD) 模拟描述了旋律从原子级的分子手性向微米级的超分子旋律的演变 (如图 1-5 所示)。改变组成氨基酸的手性可能是调节基于肽的聚集体的手性的简便策略<sup>[65,68-71]</sup>。

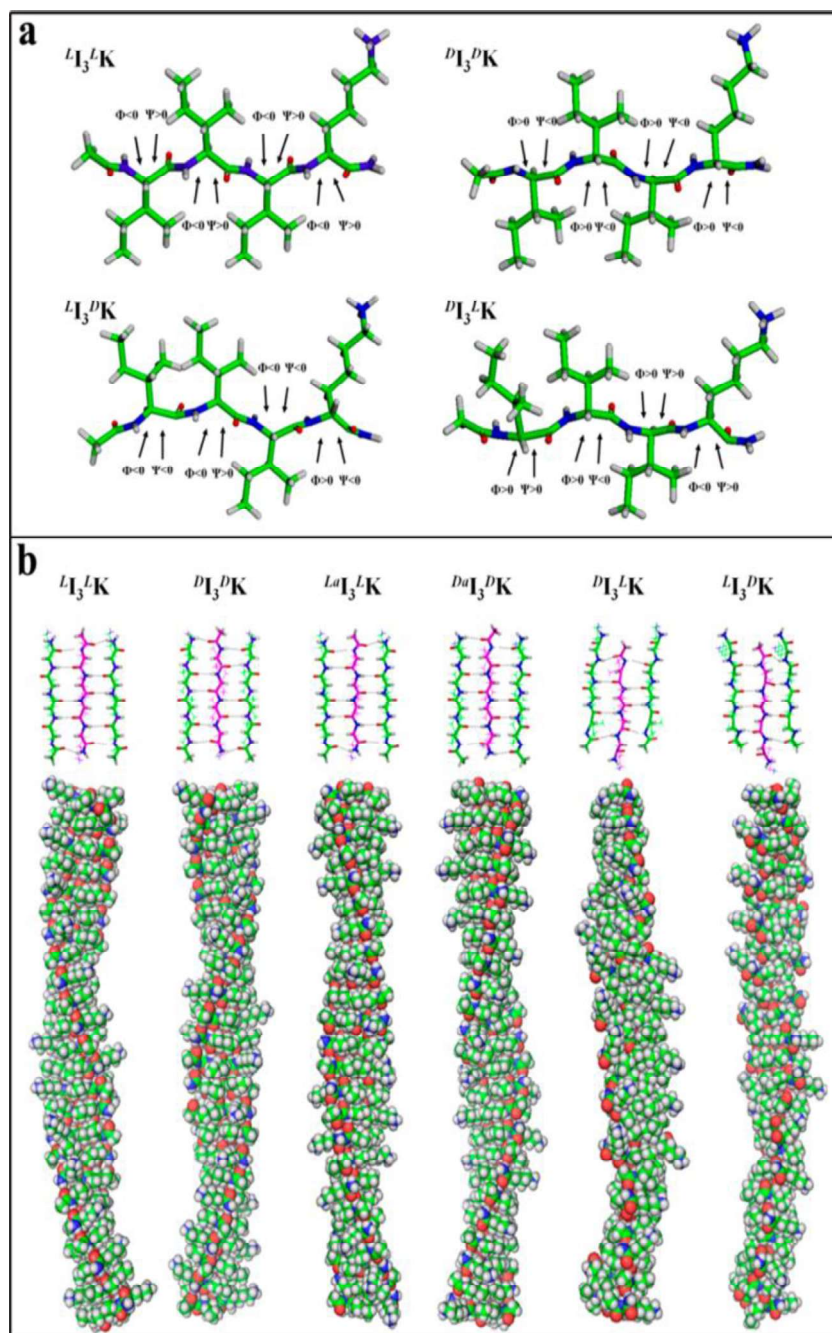


图 1-5 (a)  $L_3^L K$ 、 $D_3^D K$ 、 $D_3^L K$  和  $L_3^D K$   $\beta$  链的几何结构。(b) 三对  $I_3 K$  对映体的自组装单  $\beta$ -折叠层的链间填充方式和使用性<sup>[54]</sup>

Fig1-5 (a) The geometric structure of  $L_3^L K, D_3^D K, D_3^L K$  and  $L_3^D K$   $\beta$  chains. (B) The inter-chain filling mode and usability of the self-assembled single  $\beta$ -sheet layer of three pairs of  $I_3 K$  enantiomers<sup>[54]</sup>

Wei Qi 等人<sup>[72]</sup>设计了一系列具有不同 L-氨基酸序列的自组装三肽。具有 L-Phe-L-Phe 序列的肽优选自组装成左旋的纳米螺旋，而对于 L-Phe-L-Trp，将形成右旋的纳米螺旋结构（如图 1-6 所示）。此外，可以通过改变末端氨基酸（His、Arg、Ser、Glu 和 Asp）来调整自组装纳米螺旋的直径。自组装螺旋纳米纤维的手性不仅取决于肽骨架的手性，

而且还与侧链诱导的芳香堆积，氢键和空间相互作用密切相关。这些发现加深了对肽的手性自组装的理解，并为创建高功能手性纳米材料提供了机会。

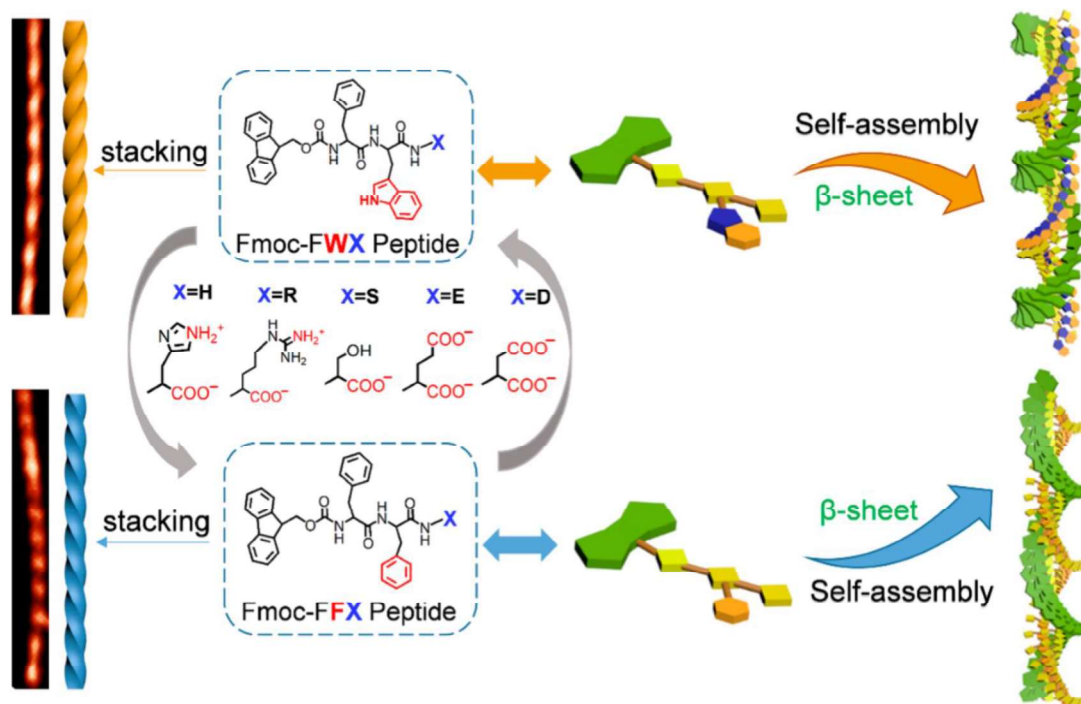


图 1-6 显示 Fmoc-FWX (X = H, R, S, E 或 D) 或 Fmoc-FFX (X = H, R, S, E 或 D) 手性自组装成手性纳米结构有不同的手性<sup>[72]</sup>

Fig1-6 Shows that Fmoc-FWX (X = H, R, S, E or D) or Fmoc-FFX (X = H, R, S, E or D) chiral self-assembly into chiral nanostructures are different Chirality<sup>[72]</sup>

冯等人<sup>[73]</sup>使用一种手性氨基酸小分子(半胱氨酸)作为修饰碲化镉(半导体材料)纳米粒子的表面配体。研究发现,采用 L 型半胱氨酸修饰的纳米粒子组装成的螺旋体几乎都是左旋结构,而采用 D 型半胱氨酸修饰的纳米粒子组装成的螺旋体几乎都是右旋结构(如图 1-7 所示)。考虑到史前的地球上可能有大量的纳米粒子存在,微观上的 L 型氨基酸能否通过手性传递影响着自然界一系列单一手性的介观、宏观现象,比如非对称矿物质、曲型细菌、植物蔓藤和海螺贝壳等。该项研究通过对氨基酸、纳米粒子这一最小单元的手性自组装过程进行研究,为生命的起源提供了科学的解释。

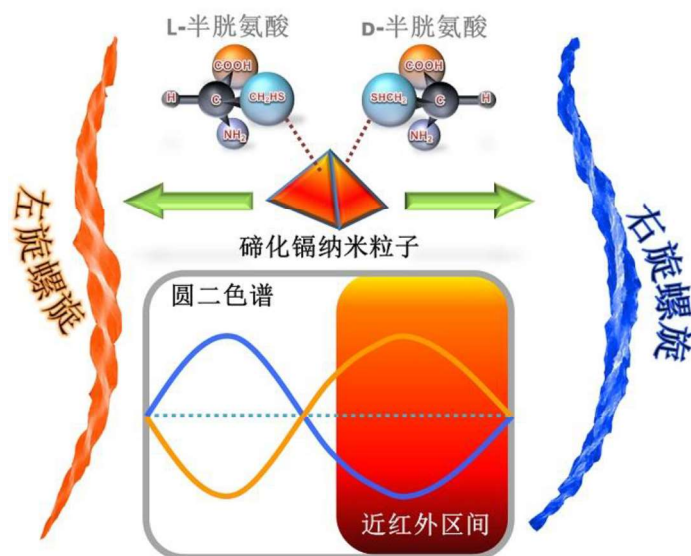


图 1-7 D 或 L 型半胱氨酸作为碲化镉纳米粒子的配体。粒子组装后将分别形成左旋或右旋螺旋。在圆二色谱上，这两种螺旋有着正负相反的广谱(包含近红外区间)旋光强度<sup>[73]</sup>

**Fig1-7 D or L-type cysteine as a ligand for cadmium telluride nanoparticles. After the particles are assembled, they will form a left-handed or right-handed spiral, respectively. On the circular dichroism, the two spirals have opposite broad spectrum (including the near-infrared range) optical rotation intensity<sup>[73]</sup>**

徐等人<sup>[25]</sup>通过合理设计短两亲性肽，证明了侧向堆叠时， $\beta$ -折叠片之间而不是  $\beta$ -链之间形成极性拉链。通过相邻  $\beta$ -折叠的极性侧链之间的 H-键相互作用使这种超二级结构稳定。由于氢键的固有方向性，极地拉链可以将许多  $\beta$  片相互啮合在一起，形成扁平 and 宽条状的带子。这是关于肽自组装中  $\beta$ -折叠之间形成的极性拉链的首次报道。通过利用这种超二级结构基序，将来应该能够设计更复杂的自组装纳米结构，例如肽桶。

尽管已经提出了一些假设，即肽和蛋白质组装的手性变化以及培养条件和序列的变化，定义超分子手性和从分子水平到超分子组装的手性发展的因素仍然很难实现。

## 1.4 短肽的应用

由于短肽具有独特的物理和结构特性，并且易于进行分子设计和合成，因此它们显示出了在广泛领域中的应用潜力，尤其是在生物技术和生物医学领域<sup>[74,75]</sup>，例如细胞培养、抗菌和抗癌材料，药物和基因的传递及控释、止血、仿生矿化、纳米制造和膜蛋白稳定化。

### 1.4.1 用于细胞培养的水凝胶支架

许多肽可以在水溶液中自组装成缠结的长纤维，然后形成纤维状水凝胶。由于其固有的生物相容性和生物降解性，自组装肽水凝胶最常用作 2D 和 3D 生物启发的支架，

用于细胞培养、组织工程和再生医学<sup>[76-82]</sup>。

Hauser 等人证明,锥形 SLPs 的水凝胶形成取决于疏水性尾部的长度和头基的极性。所得水凝胶显示出可调节的高机械强度,并且在高达 90°C 的温度下具有耐热性。Ac-LIVAGD 凝胶可在 1 mg/mL 的浓度下截留高达 99.9% 的水,因此类似于细胞外基质(ECM)中发现的胶原纤维网络。更重要的是,这些凝胶具有生物相容性,并且已经在水凝胶上成功地培养了多种哺乳动物原代细胞,例如人间充质干细胞、人原代肾小管细胞等。这些支架支持人类干细胞的 3D 培养以及原代细胞分化为器官型结构(图 1-8a)<sup>[83]</sup>。

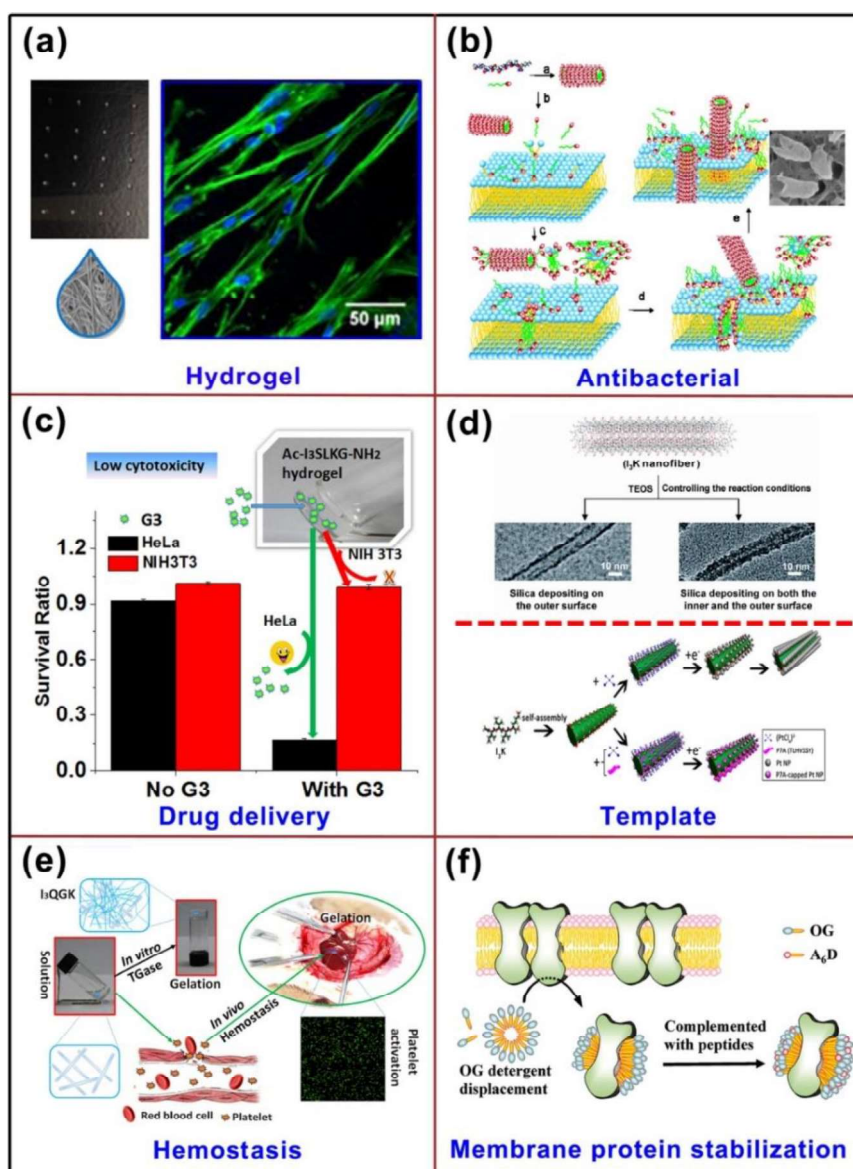


图 1-8 SLP 示例应用程序

(a) 水凝胶可以用作生物印刷的油墨<sup>[83]</sup>; (b) Ac-A<sub>9</sub>K-NH<sub>2</sub> 的抗菌机制<sup>[84]</sup>; (c) 从 Ac-I<sub>3</sub>SLKG-NH<sub>2</sub> 水凝胶可控地递送抗菌肽 G3<sup>[85]</sup>; (d) 仿生硅化和纳米制造的模板<sup>[86,87]</sup>; (e) Ac-I<sub>3</sub>QGK-NH<sub>2</sub> 引起的止血作用<sup>[20]</sup>; (f) 使用 Ac-A<sub>6</sub>D 稳定视紫红质的模型<sup>[88]</sup>。请注意,阳离子 SLPs 的两个末端均被封端,而阴离子 SLP 的仅一个 N 末端被封端,为简便起见,在某些图像中省略了 Ac-和-NH<sub>2</sub>



**Fig1-8 SLP sample application**

**(A) Hydrogel can be used as ink for bioprinting<sup>[83]</sup>; (b) Antibacterial mechanism of Ac-A<sub>9</sub>K-NH<sub>2</sub><sup>[84]</sup>; (c) Controllable from Ac-I<sub>3</sub>SLKG-NH<sub>2</sub> hydrogel Delivery of antimicrobial peptide G3<sup>[85]</sup>; (d) biomimetic siliconization and nano-manufactured templates<sup>[86,87]</sup>; (e) hemostatic effect caused by Ac-I<sub>3</sub>QGK-NH<sub>2</sub><sup>[20]</sup>; (f) using Ac-A<sub>6</sub>D Stable rhodopsin model<sup>[88]</sup>. Please note that both ends of cationic SLPs are capped, while only one N-terminus of anionic SLPs is capped. For brevity, Ac- and -NH<sub>2</sub> are omitted in some images**

通过适当的分子设计或使用酶促刺激，SLPs 水凝胶可具有特定功能。例如，Ac-I<sub>3</sub>SLKG-NH<sub>2</sub> 水凝胶在存在 MMP-2 的情况下表现出特定的降解行为，这是由于通过分子设计将 MMP-2 切割位点整合到了序列中<sup>[85]</sup>。另一个例子是，酶促 Ac-A<sub>9</sub>K<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub> 水凝胶对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌均显示出优异的抗菌能力，同时对哺乳动物细胞的细胞毒性较低（图 1-8b）<sup>[55]</sup>。

**1.4.2 药物输送**

自 1970 年代以来，已经广泛探索了以脂质或表面活性剂囊泡和胶束为载体的药物递送<sup>[89-92]</sup>。由于与脂质和表面活性剂的相似性，在过去的几年中，SLPs 被用于药物和基因的递送<sup>[85,93,94]</sup>。Wang 等已经证明两种模型药物，即亲水性甲基橙和疏水性油红，可以被 Ac-I<sub>3</sub>K-NH<sub>2</sub> 组件有效地包裹，并且被包裹的化合物的释放可以通过调节 pH 来调节<sup>[95]</sup>。显而易见的是，当 SLPs 用于药物递送时，可以通过分子设计和外部因素来控制负载能力和释放特性。

**1.4.3 仿生矿化和纳米加工的模板**

在水溶液中自组装后，极性氨基酸主要分布在自组装的纳米结构的表面。如上所述，极性氨基酸经常发挥功能性作用，例如在催化、识别、传感、信号转导和金属络合中。鉴于许多自组装肽纳米结构的高度稳定性，它们已被广泛用作仿生矿化和纳米加工的模板<sup>[86,96-99]</sup>。

Ac-I<sub>3</sub>K-NH<sub>2</sub> 纳米纤维非常稳定，带正电的 Lys 残留物投射在它们的表面。在温和的条件下，Ac-I<sub>3</sub>K-NH<sub>2</sub> 纳米纤维可以诱导 TOES 和其他二氧化硅前体的溶胶-凝胶反应，并直接沿着纳米纤维沉积二氧化硅，因此导致形成二氧化硅纳米材料（例如，纳米管和二氧化硅珠串）<sup>[86]</sup>。它们的形态可以通过改变溶液条件进行微调（图 1-8d）。这些研究将有助于理解生物体内硅化的潜在机制。另外，Ac-I<sub>3</sub>K-NH<sub>2</sub> 纳米纤维已被用作构建 1D Pt 纳米结构的模板。通过与无机结合肽 TLHVSSY 结合，可以制造 Pt 纳米晶体的螺旋阵列（图 1-8d）。连续的一维 Pt 纳米结构显示出对甲醇电氧化的相当高的电化学催化活

性。

#### 1.4.4 止血材料

如上所述, TGase 可以诱导 Ac-I<sub>3</sub>QGK-NH<sub>2</sub> 的水凝胶化。具体而言, 已经证明了通过分子间的  $\epsilon$ - ( $\gamma$ -谷氨酰基) 赖氨酸异肽键从单体酶促形成肽二聚体。二聚体迅速自组装成柔性且缠结的纳米纤维, 原始 Ac-I<sub>3</sub>QGK-NH<sub>2</sub> 纳米带和新创建的纳米纤维的共存导致水凝胶化。作为一种在血液中自然循环的酶原, 凝血因子 XIII 可以在出血期间转化为凝血因子 XIIIa (一种活性 TGase)。结果, 相对于其他止血方法或材料 (例如, 离子互补肽 EAK16<sup>[100]</sup>), 该肽溶液显示出更快, 更有效的体内止血 (如图 1-8e 所示)。另外, 该肽对正常哺乳动物细胞显示出低细胞毒性, 并且不诱导非特异性免疫应答。Ac-I<sub>3</sub>QGK-NH<sub>2</sub> 的低细胞毒性和良好的生物相容性, 以及快速有效的止血功能, 使其在未来的临床止血应用中具有巨大的潜力。

### 1.5 本文的主要研究内容

通过对研究背景的相关介绍, 对于两亲性手性短肽自组装机理的研究现状可以总结为: (1) 两亲性短肽具有非常好的生物相容性、可生物降解性以及生物活性, 使得两亲性短肽及其自组装结构在新型材料合成和纳米器件方面具有非常广阔的发展前景; (2) 手性是短肽自组装中一个重要的控制因素, 不同手性的短肽通过自组装可以为提供一系列手性纳米结构, 例如纤维, 扭曲带, 螺旋管等。通过改变氨基酸的手性来调控自组体的构型, 这样可以得到一定构型的纳米材料, 这对于新型纳米材料的研究具有非常重要的研究价值; (3) 目前, 实验上已经通过手性调控合成出了多种不同的纳米结构, 并且发现氨基酸的手性是控制短肽自组装超分子结构的关键因素。但是目前很难理解分子水平的手性是如何发展到超分子水平上的; (4) 目前手性短肽自组装领域模拟研究还比较少, 现有的研究还主要集中在对实验结果的简单解释上, 并没有提出一套系统的理论解释方法。

由于目前单独采用分子动力学的方法无法研究分子水平的手性问题, 而量子化学因为可以在分子水平上对体系进行精细的理论研究, 这是其它理论研究方法所难以替代的。所以在本文中通过量子化学和分子动力学模拟结合的方法, 研究氨基酸分子水平的手性是如何传递到自组装体上的, 以期在两亲性短肽自组装体的制备和手性调控提供理论指导。

## 第二章 分子模拟方法

### 2.1 分子模拟简介

分子模拟是指通过计算机对分子模型进行“实验”的各种方法，所以也可以称其为机器实验，它被广泛应用于计算生物学、药物设计、材料科学和计算化学等领域，研究尺度从化学反应系统到大型生物分子和材料结构的分子系统。分子模拟方法包括：①量子力学层次的第一性原理和量子化学（QC）方法；②统计力学层次的分子动力学（MD）、耗散粒子动力学（DPD）方法。在分子模拟中，为了使真实情况进行再现，通过计算分子间的相互作用来实现。所以，必须指定分子（原子、电子）之间的的作用力及方式，并且分子（原子、电子）在空间中所有的排布方式也需要被考虑。尽管现在已经有理论可以描述这些作用，但是在大量原子存在的体系当中，人们往往采用相对简单、迅速的方法来计算分子（原子、电子）间的相互作用。

分子模拟技术在近些年来有了很大的发展，它从真实实验的一个补充，发展到目前已经可以部分替代实验。尽管因为分子模拟的局限性使其永远无法完全取代实验。然而，随着计算硬件的不断进步和理论、算法的不断改进，未来，模拟将逐步承担更多的实验工作，进而为实际工程上提供更准确、可靠的指导。

分子模拟是一个非常强大的显微镜，它让我们以远超出实验能力的方式去观察、测量甚至操控材料。尤其在生物工程、材料设计等前沿领域，技术的进步基本都是在分子尺度下进行的，在未来的科学研究中，分子模拟技术在此级别上的优势将使它在这些行业的发展中做出重要的贡献。

本论文主要利用 MD 方法得到短肽的动力学构型，并采用 QC 方法研究肽的单分子构象、堆积过程、结合能以及弱相互作用等。

### 2.2 OPLS 力场简介

OPLS (optimized potentials for liquid simulations)<sup>[101]</sup> 是一个广泛使用的全原子力场，主要适用于液体体系。该力场 Jorgensen 团队开发，主要适用于多肽、蛋白、核酸、有机溶剂等液体体系，在本文的 MD 模拟中，原子间相互作用由该力场描述。

OPLS 力场表示为：

$$E_{total} = E_{bonds} + E_{angles} + E_{dihedrals} + E_{nonbonded} \quad (2-1)$$

$$E_{bonds} = \sum_{bonds} K_r (r - r_0)^2 \quad (2-2)$$

$$E_{angles} = \sum_{angles} K_\theta (\theta - \theta_0)^2 \quad (2-3)$$

$$E_{dihedrals} = \sum_{dihedrals} \left( \frac{V_1}{2} [1 + \cos(\varphi - \varphi_1)] + \frac{V_2}{2} [1 - \cos(2\varphi - \varphi_2)] + \frac{V_3}{2} [1 + \cos(3\varphi - \varphi_3)] + \frac{V_4}{2} [1 - \cos(4\varphi - \varphi_4)] \right) \quad (2-4)$$

$$E_{nonbonded} = \sum_{i>j} \left[ \varepsilon_{ij} \left( \frac{\sigma_{ij}^{12}}{r_{ij}^{12}} - \frac{\sigma_{ij}^6}{r_{ij}^6} \right) + \frac{q_i q_j e^2}{4\pi \varepsilon_0 r_{ij}} \right] \quad (2-5)$$

其中  $E_{total}$  是系统中的总能量，它等于键拉伸 ( $E_{bonds}$ ) 加上角摇动 ( $E_{angles}$ ) 加二面体摇动 ( $E_{dihedrals}$ ) 加成对 ( $E_{nonbonded}$ ) 的能量。

### 2.3 Kabsch 算法简介

Kabsch 算法<sup>[102]</sup>由 W. Kabsch 在 1976 年提出的，用于求解最优旋转，在分子生物学，特别是比较蛋白质的相似性方面有重要的应用。其方法推导是，设  $P$  和  $Q$  是同一个目标在不同坐标系下的两组点， $p_i$  和  $q_i$  是集合内的第  $i$  个点。令两个坐标系的旋转为  $R$ ，平移为  $T$ ，那么 Kabsch 求解下述优化问题：

$$\min E = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \|Rp_i - q_i + T\|_2^2 \quad (2-6)$$

由 (1) 式，可以推得

$$\min NE = \sum_{i=1}^N \|p'_i - q_i\|_2^2 = Tr((P' - Q)^T (P' - Q)) \quad (2-7)$$

其中  $p'_i = Rp_i$ ， $P' = RP$ ， $Tr(\cdot)$  是求迹运算

根据迹的性质，有

$$Tr((P' - Q)^T (P' - Q)) = Tr(P'^T P') + Tr(Q^T Q) - 2Tr(Q^T P') \quad (2-8)$$

又因为  $P'^T P' = P^T R^T R P = P^T P$  (旋转矩阵为正交矩阵)，有

$$NE = Tr(P^T P) + Tr(Q^T Q) - 2Tr(Q^T P') \quad (2-9)$$

求 (2) 式的最小值相当于求 (3) 式内  $Tr(Q^T P')$  的最大值

$$Tr(Q^T P') = Tr(Q^T R P) = Tr(P Q^T R) \quad (2-10)$$

对  $PQ^T$  做 SVD 分解，有

$$\text{Tr}(Q^T P') = \text{Tr}(V \Sigma W^T R) = \text{Tr}(\Sigma W^T R V) = \sum_{i=1}^3 \sigma_i T_{ii} \quad (2-11)$$

其中  $T=W^T R V$

因为  $R$  和  $V$  都是正交矩阵，因此  $T$  正交，即  $|T_{ii}| \leq 1$ ，因此

$$\text{Tr}(Q^T P') \leq \sum_{i=1}^3 \sigma_i \quad (2-12)$$

即  $W^T R V=1$  为所求：

$$R = W V^T \quad (2-13)$$

这里需要注意的是  $R$  必须是右手系下的旋转，因此（4）式修正为

$$R = W \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & d \end{bmatrix} V^T \quad (2-14)$$

其中  $d=\text{sign}(\det(PQ^T))$ 。

### 第三章 氨基酸类型与 $\beta$ -sheet 结构形成倾向的构效关系

了解蛋白质的折叠机制是将遗传信息转化为功能机制的关键，这是本世纪的主要科学挑战之一。由于蛋白质平均由数百个氨基酸组成，因此很难将无辅助蛋白质折叠的过程设想为对整体能量最小值的完全随机搜索。尚待解决的科学问题是蛋白质如何避免这种组合爆炸（所谓的莱文萨尔悖论）。

蛋白质结构决定功能。目前，仅通过氨基酸序列不能准确地预测蛋白质的结构，并且无法知道蛋白质的功能。蛋白质可以通过在细胞环境（特定的 pH，温度等）中的相互作用来组装自身。自组装的过程称为蛋白质折叠。蛋白质折叠的问题被列为“21 世纪生物物理学”的重要课题。这是一个尚未被分子生物学原理解决的重大生物学问题。从一级序列预测蛋白质分子的第二，第三和第四级结构并进一步预测其功能是一项艰巨的任务。作为蛋白质结构预测的第一步，蛋白质二级结构的预测是非常基础和重要的。充分了解蛋白质二级折叠的机制有助于蛋白质结构的预测。目前已经进行了大量研究以获得  $\alpha$ -螺旋和  $\beta$ -折叠的氨基酸倾向。目前所获得的  $\alpha$ -螺旋倾向彼此一致，并且成对相关系数通常较高。另一方面，虽然  $\beta$ -折叠也是两个最常见的蛋白质二级结构之一，并且已经观察到不同的氨基酸具有显著不同的形成  $\beta$ -折叠结构的倾向。然而，对  $\beta$ -折叠结构的理解落后于  $\alpha$ -螺旋。1974 年，Chou 和 Fasman 发表了计算的 15 种蛋白质的二级结构中每个氨基酸的出现频率和构象倾向<sup>[103]</sup>，这些蛋白质由 2473 个氨基酸残基组成。随后许多研究者进行了很多尝试来理解它们。 $\beta$ -sheet 倾向的实验研究主要在两个蛋白质模型系统中进行：锌指肽<sup>[104]</sup>和 B1 域蛋白 G<sup>[105]</sup>，这些实验研究了蛋白质稳定性随系统替换特定氨基酸而发生的变化，这些研究表明不同氨基酸的稳定性和倾向性之间存在相关性。

Ireta 等人<sup>[106]</sup>先前已经建立了  $\alpha$ -螺旋和  $\beta$ -折叠的模型并进行了量子力学模拟，以研究氢键的性质，但研究的重点不在于  $\beta$ -折叠的倾向。Rossmeisl 等人<sup>[107]</sup>使用第一原理密度泛函理论（DFT）计算多肽中不同氨基酸残基之间的相互作用能。它表明它们与从实验结构得出的统计  $\beta$ -折叠倾向直接相关。但是，仅研究了 14 个氨基酸，并且在模型构建中使用了平行的  $\beta$  结构。根据当前的研究，反平行结构比平行结构稳定得多且也更为普遍。本文利用量子化学和分子动力学软件，根据结合能与  $\beta$ -折叠趋势之间的直接关系，并通过回转半径来表征其分子构象延伸的广度，一方面获得了 15 种非带电氨基酸形成  $\beta$ -折叠的倾向，并且通过与实验数据进行比较。证明了该研究方法的可靠性，另一方面，解释了氨基酸从单分子构象形成  $\beta$ -折叠结构的倾向不同的原因。我们的研究结构有助于

对氨基酸形成  $\beta$ -sheet 结构倾向性大小的理解以及筛选。

### 3.1 模型构建及模拟方法

为了研究 15 种非带电氨基酸形成  $\beta$ -折叠结构的倾向，分别建立了每一种氨基酸的四肽模型，所有用于计算研究的四肽均在两个末端均被封端（C 端酰胺化和 N 端乙酰化）。在本研究中首先进行了分子动力学模拟（MD）以取得肽在水中的动力学构型。在初始配置中，装满水的盒子中只有一个肽分子，尺寸为  $34\text{\AA}\times 34\text{\AA}\times 34\text{\AA}$ ，由 1000 个水分子组成。通过使用大规模原子/分子大规模并行模拟器（LAMMPS）软件执行 MD 模拟。原子间和原子内的相互作用是通过液体模拟最佳电位的全原子（AA）力场（OPLS-AA）力场来描述的，它由成对和键合相互作用组成<sup>[108,109]</sup>。SPC/E 模型用来描述水分子<sup>[110]</sup>。OPLS 包括成对相互作用和键相互作用。成对相互作用由短程范德华（vdW）和长程静电相互作用的两部分组成。vdW 相互作用用 12-6 Lennard-Jones 势表示，静电相互作用用库仑势表示。采用 VMD 软件用于模拟结果的可视化。

具体来说，整个仿真过程包括两部分。首先，在 298 K 和 40 MPa 的 NPT 集成中执行 1 ns 模拟。此过程用于获得可靠的系统密度。然后，执行 3 ns NVT 集成以采样各种肽构象。温度和压力分别由 Nosé 恒温器<sup>[111]</sup>和恒压器<sup>[112]</sup>控制。使用 PPPM 求和处理远程静电相互作用<sup>[113]</sup>。时间步长为 1 fs。保存完整轨迹，每 1 ps 输出帧以对结果进行采样。并通过脚本得到了四肽主链每一帧的回转半径，并计算了其平均值。对于聚合物，也包括蛋白质等体系，经常讨论回转半径用来讨论分子构象延伸的广度。比如在一个蛋白去折叠过程中蛋白质链会伸展得越来越广，回转半径也因此逐渐增大。其公式为：

$$R_g = \left( \frac{\sum_i \|r_i\|^2 m_i}{\sum_i m_i} \right)^{1/2} \quad (3-1)$$

其中  $m_i$  为原子  $i$  的质量,  $r_i$  为原子  $i$  相对于分子质心的位置。

根据其扩展程度和二面角，选择了 20 个扩展构象用于后续的量子化学计算。使用 gaussian 09 软件<sup>[114]</sup>进行了 DFT 模拟，具有广义梯度逼近（GGA）方案和 PBE0 交换-相关功能<sup>[115]</sup>。通过在所有原子上使用混合 PBE1PBE 交换相关功能和 def2-SVP 基集（2- $\zeta$  基团）和构象优化了分子结构。通过使用混合的 PBE1PBE 交换相关函数和 def2-TZVP 基集（3- $\zeta$  基组）计算能量以及结合能<sup>[116]</sup>。在整个 DFT 模拟过程中，使用了 DFT-D3 色散校正<sup>[117]</sup>。这些模拟产生具有最低能量的单个  $\beta$  链构象。

将 MD 模拟获得的  $\beta$  链构象进行优化以获得能量，并选择具有最低能量的最稳定构象，其能量为  $E_{\text{Strand}}$ 。如图 3-1 所示，然后将四肽堆叠成反平行的  $\beta$  折叠结构，并计算两者的总能量和结合能  $E_{\text{bind}}$ 。在计算结合能之前，已经进行了严格的优化以获得非常准确的最小能量分子几何形状。然后取出形成最稳定的  $\beta$ -折叠结构的两个四肽，并分别计算其能量  $E_2$  和  $E_3$ 。因为从两个最稳定构象的四肽到  $\beta$ -折叠结构需要能量，所以计算出能量  $\Delta E = (E_2 - E_{\text{Strand}}) + (E_3 - E_{\text{Strand}})$ ，它是将最稳定的四肽结构转变为位于  $\beta$ -折叠中时所假定的结构所需的能量。随后，计算  $E = E_{\text{bind}} + \Delta E$ ， $E$  即为需要的能量。为了研究两条肽之间的弱相互作用，使用了独立梯度模型(IGM)方法。

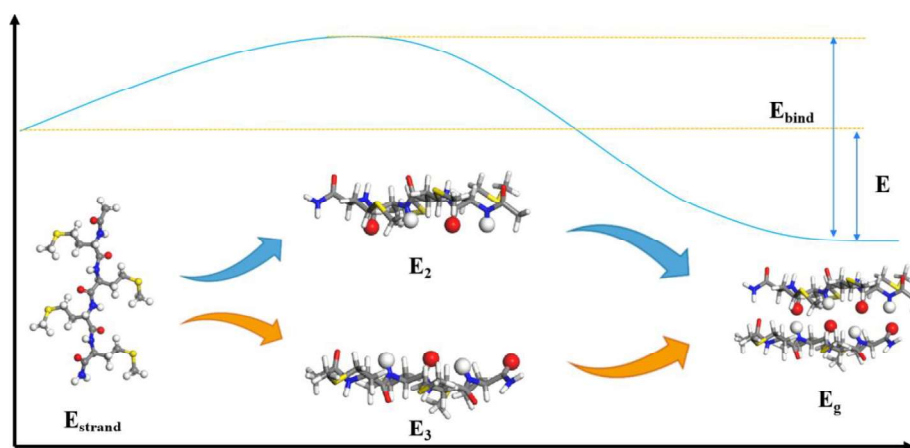


图 3-1 四肽堆积的能量计算过程和  $\beta$ -折叠结构中四肽堆积能量的能量变化示意图

Fig3-1 Schematic diagram of energy calculation process of tetrapeptide stacking and energy change of tetrapeptide stacking energy in  $\beta$ -sheet structure

## 3.2 结果和讨论

### 3.2.1 肽结合紧密程度分析

通过量子化学计算后的结果如表 3-1 所示，其中  $E_g$  为两个四肽以  $\beta$ -sheet 堆积后的总能量， $E_{\text{bind}}$  为经过由 Boys 和 Bernardi<sup>[118]</sup>开发的，在二聚体几何优化期间用于基础集叠加误差 (BSSE) 校正后的结合能， $E_2$  和  $E_3$  为以  $\beta$ -sheet 堆积两条肽的单分子能量， $E_{\text{strand}}$  为最稳定的  $\beta$  链构象的能量。将 15 种氨基酸的  $E$  除以它们的平均值，以获得在反平行的  $\beta$ -折叠堆叠结合能力中的 15 种氨基酸的相对大小。然后将所得数据与先前研究人员获得的蛋白质  $\beta$ -折叠结构中每个氨基酸的出现频率进行比较。在这里，为了减少数据的偶然性，选择了三篇发表论文中的数据。如图 3-2 所示，(1)：数据来自 Peter Y. Chou 和 Gerald D. Pasman 在 1974 年的研究。他们通过对 15 种蛋白质数据的 2473 个残基进行统计分析，获得了 20 个氨基酸的相关性<sup>[103]</sup>。(2)：数据来自 Peter Y. Chou 和 Gerald



D. Pasma, 后来通过对 29 种蛋白质的统计分析和分析获得了 20 种氨基酸相关数据<sup>[119]</sup>。

(3): 数据来自藤原一夫对 2012 年 24 种蛋白质的统计和分析, 获得的 20 种氨基酸的数据<sup>[120]</sup>。(考虑到只对 15 种非带电氨基酸进行分析, 所以这三组数据都进行了处理, 只考虑每一种氨基酸在这 15 种非带电氨基酸中统计值大小, 所以文中的数据与原数组并不完全一致) 这三组数据均为通过大量统计蛋白质  $\beta$ -折叠结构中每个氨基酸的频率, 从而获得氨基酸  $\beta$ -折叠趋势的大小。虽然这些数据都证明了确实可以用来估计氨基酸形成  $\beta$ -折叠的倾向大小, 但是毫无疑问通过统计方法获得的氨基酸的  $\beta$ -折叠趋势的大小是不准确的 (这可以从图 3-2 中三个人的数据的偏差看出)。另外, 研究的多肽的  $\beta$ -折叠结构的形成与蛋白质中的  $\beta$ -折叠结构存在一些差异。因此, 从图 3-2 可以看出, 多肽的  $\beta$ -折叠结构的结合能  $E$  可以大致反映 15 种非带电氨基酸形成  $\beta$ -折叠结构的能力。其中非极性氨基酸, 例如异亮氨酸 (I)、亮氨酸 (L)、苯丙氨酸 (F)、甲硫氨酸 (M) 脯氨酸 (P) 与统计结果匹配较好, 但是其他氨基酸仍有一定差异, 而极性氨基酸中除了酪氨酸 (Y) 和天冬酰胺 (N) 以外, 其他氨基酸的计算值与统计值匹配较差。由此认为, 除了结合能  $E$  的因素外, 还有一些其他因素也会影响  $\beta$ -折叠结构的形成。

表 3-1 以  $\beta$ -折叠结构堆叠的 15 个非带电氨基酸四肽的每个过程的能量  
Table 3-1 Energy of each process of 15 uncharged amino acid tetrapeptides stacked in  $\beta$ -sheet structure

Amino acid	I	L	V	A	G	P	W	F
$E_g$	-2094772	-2094766	-1897581	-1503179	-1305967	-1891488	-3322242	-2662172
$E_{bind}$	-57.49	-51.51	-54.15	-40.04	-45.52	-21.08	-77.74	-59.69
$E_2$	-1047359	-1047358	-948765	-751570	-652961	-945734	-1661079	-1331058
$E_3$	-1047356	-1047357	-948763	-751569	-652961	-945733	-1661085	-1331055
$E_{Strand}$	-1047363	-1047365	-948769	-751572	-652967	-945736	-1661102	-1331064
$E$	-46.9667	-36.8263	-44.3797	-35.2772	-33.4593	-16.4553	-30.5575	-44.3430

Amino acid	M	Q	N	Y	C	T	S
$E_g$	-3895898	-2546797	-2349586	-3039609	-3501509	-2077777	-1880554
$E_{bind}$	-56.32	-69.90	-74.52	-65.86	-48.93	-59.24	-58.76
$E_2$	-1947923	-1273361	-1174756	-1519774	-1750732	-1038862	-940244
$E_3$	-1947919	-1273366	-1174755	-1519769	-1750728	-1038856	-940251
$E_{Strand}$	-1947933	-1273379	-1174780	-1519785	-1750740	-1038874	-940262
$E$	-32.4872	-38.9499	-26.5849	-39.1658	-29.2001	-28.6961	-29.6320

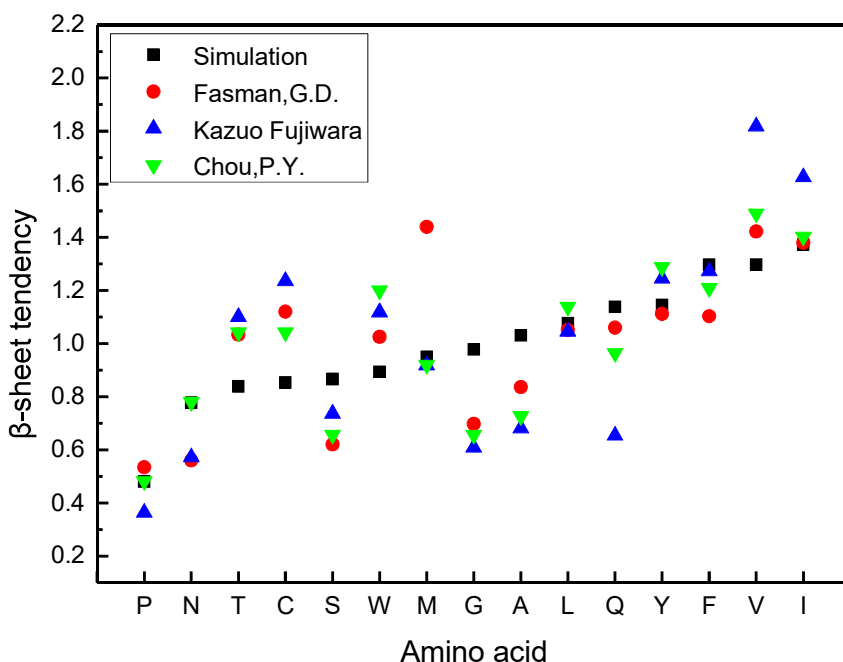


图 3-2 15 种非带电氨基酸结合能的计算值的相对大小和统计值

Fig3-2 The relative size and statistical value of the calculated binding energy of 15 kinds of uncharged amino acids

### 3.2.2 弱相互作用分析

从上述结果可以看出，不同氨基酸构成的肽形成  $\beta$ -sheet 结构的结合能有很大的差异，为了探究造成这种差异的原因，使用 Multiwfn v3.7 的独立梯度模型 (Independent Gradient Model, IGM) 方法进一步分析了多肽之间的弱相互作用<sup>[121]</sup>。IGM 与后面提到

的 RDG 方法有很多类似的地方，比如都是重在展现弱相互作用区域及其特征，但是它有很多优势，例如 IGM 给出的信息会明确划分成片段间和片段内两套数据，因此想考察分子间相互作用时，不会被分子内相互作用所干扰。以及可以定量给出每个原子、每对原子对片段间相互作用的影响程度，而且可以利用 VMD 通过着色直观地展现等。所以很适合用来研究两个或多个分子之间的相互作用。IGM 方法是通过定义了  $\delta g$  函数来研究相互作用类型及强度，一般方式计算的初分子密度的梯度等于各个原子密度梯度的加和。而 IGM 型密度梯度，则是把每个原子的梯度先取绝对值再加和。二者求差，就得到了所谓的  $\delta g$  函数。利用  $\delta g$  这个函数可以明确地把原子间相互作用区域展现出来。而且，原子间相互作用越强，相互作用区域的  $\delta g$  就会越大。这是因为如果原子间相互作用较弱，那么优化后的结构中两个原子距离就会较远，它们相交叠的区域将是各自密度梯度已经比较小的部分，此时 IGM 型密度梯度和普通密度梯度相差也就没那么大了。如图 3-3 (a1-e1) 所示，绘制了  $\text{Ac-LI}_4\text{-NH}_2$ 、 $\text{Ac-LL}_4\text{-NH}_2$ 、 $\text{Ac-LV}_4\text{-NH}_2$ 、 $\text{Ac-LA}_4\text{-NH}_2$ 、 $\text{Ac-LG}_4\text{-NH}_2$  和  $\text{Ac-LP}_4\text{-NH}_2$  的 IGM 散点图。在 IGM 散点图中，尖峰代表一种非共价相互作用，出现在蓝色、绿色和红色区域中的尖峰分别代表有吸引力的氢键相互作用、范德华 (vdW) 相互作用和排斥性位阻。这些相互作用可以通过生成包围真实空间相应区域的梯度等值面来定位，如图 3-3 (a2-e2) 所示。根据不同的非共价相互作用的性质，等值面也被着色。对于异亮氨酸 (I)、亮氨酸 (L)、缬氨酸 (V)、丙氨酸 (A)、甘氨酸 (G) 和脯氨酸 (P)，如图 3-3 (a1-e1) 所示，这五种氨基酸的侧链分别为仲丁基、异丁基、异丙基、甲基、氢原子和吡咯烷基。所以图中前五种氨基酸显示相似的分子间相互作用。首先，四肽中每个残基的酰胺氢和羰基氧与另一条肽的羰基氧和酰胺氢可形成强链间 H 键，如梯度等值面中的蓝色较高密度区域所示 (图 3-3 (a1-f1))。并且从 IGM 散点图可以看出，异亮氨酸 (I)、缬氨酸 (V) 在蓝色部分除了  $\lambda_2$  等于 -0.03 到 -0.04 间有峰外，在 -0.04 到 -0.05 之间还有一条峰。丙氨酸 (A) 与它们比较相似，只是峰值所处的  $\lambda_2$  相对更靠 -0.04。亮氨酸 (L) 和甘氨酸 (G) 仅在  $\lambda_2$  等于 -0.03 到 -0.04 间有峰。而脯氨酸 (P) 仅在 -0.01 到 -0.02 之间有很低的峰如图 3-3 (f1) 所示。由于  $\lambda_2$  值越小代表越强的吸引作用，所以证明了异亮氨酸 (I)、缬氨酸 (V) 的链间氢键作用更强。丙氨酸 (A)、亮氨酸 (L) 和甘氨酸 (G) 的氢键作用较弱，而脯氨酸 (P) 不具有酰胺氢，所以没有氢键作用，这也是造成它们结合能差异性的主要原因之一。而除此以外，位于封端基团的羰基氧和氨基氢大部分也会形成氢键，也正是为了将封端基团对模拟的结果影响尽量减小，才选择了如氨基酸本身形成氢键的基团相同的封端基团。第二，在两个梯度等值

面中存在许多低密度区域（由绿色和棕色着色），表明存在广泛的侧链-侧链和侧链-主链相互作用。而这部分中异亮氨酸（I）、亮氨酸（L）因为具有较大的侧链基团丁基，具有较大的相互作用。而侧链为异丙基的缬氨酸（V）相互作用就较小，只在个别位点会有一些的相互作用。侧链只有甲基以及一个氢原子的丙氨酸（A）和甘氨酸（G）几乎不存在这种相互作用。在之前的研究中已经证实，侧链基团的支撑对主链维持  $\beta$ -strand 结构起到了很大的作用，而  $\beta$ -strand 结构为形成  $\beta$ -sheet 结构的必要条件。

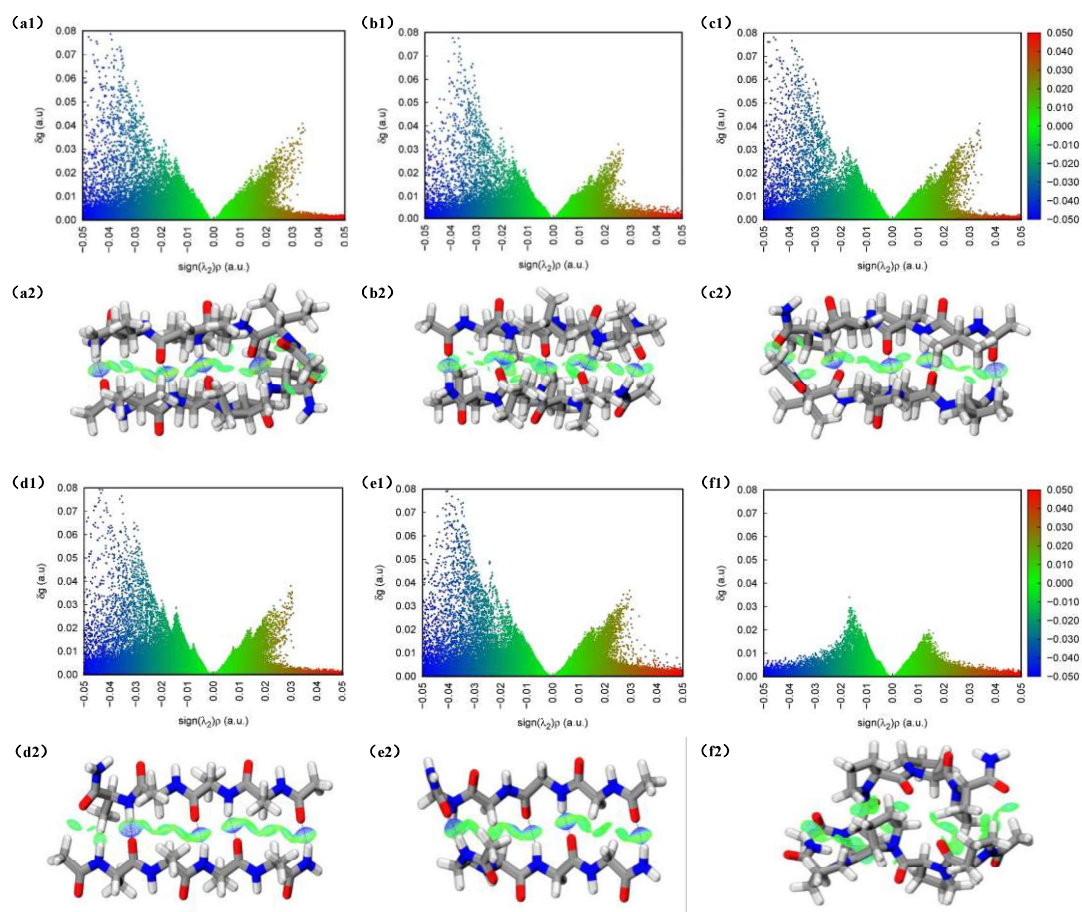


图 3-3 IGM 散点图和两条  $\beta$  链分子间相互作用的相应梯度等值面

(a)  $\text{Ac-L-I}_4\text{-NH}_2$ , (b)  $\text{Ac-L-L}_4\text{-NH}_2$ , (c)  $\text{Ac-L-V}_4\text{-NH}_2$ , (d)  $\text{Ac-L-A}_4\text{-NH}_2$ , (e)  $\text{Ac-L-G}_4\text{-NH}_2$  和 (f)  $\text{Ac-L-P}_4\text{-NH}_2$ 。(a1-f1) 散点图；(a2-f2) 渐变等值面

Fig3-3 IGM scatter plot and corresponding gradient isosurface of the interaction between two  $\beta$ -strand molecules

(a)  $\text{Ac-L-I}_4\text{-NH}_2$ , (b)  $\text{Ac-L-L}_4\text{-NH}_2$ , (c)  $\text{Ac-L-V}_4\text{-NH}_2$ , (d)  $\text{Ac-L-A}_4\text{-NH}_2$ , (e)  $\text{Ac-L-G}_4\text{-NH}_2$  and (f)  $\text{Ac-L-P}_4\text{-NH}_2$ 。(a1-f1) scatter plot; (a2-f2) gradient isosurface

随后对芳香族氨基酸苯丙氨酸（F）、色氨酸（W）和酪氨酸（Y） $\beta$ -sheet 堆积时弱相互作用进行分析。如图 3-4 (a1-c1) 所示，绘制了  $\text{Ac-L-F}_4\text{-NH}_2$ 、 $\text{Ac-L-W}_4\text{-NH}_2$  和  $\text{Ac-L-Y}_4\text{-NH}_2$  的 IGM 散点图，这三种氨基酸的侧链中均含苯环，这使得它们在堆积过程中，不仅有氢键及范式相互作用，还存在着一定的  $\pi$ - $\pi$  堆积作用。同样的，四肽中每个残基的酰

胺氢和羰基氧与另一条肽的羰基氧和酰胺氢可形成强链间 H 键，如梯度等值面中的蓝色较高密度区域所示（图 3-4 (a1-c1)）。在苯丙氨酸（F）的等值面图中可以看出，两个苯丙氨酸四肽之间只存在较少的  $\pi$ - $\pi$  堆积作用，如图 3-4 (a2) 中粉色箭头所示。在后期的研究中也发现，苯丙氨酸在反平行  $\beta$ -sheet 堆积时较少存在  $\pi$ - $\pi$  堆积作用，而在平行  $\beta$ -sheet 堆积时往往存在较多的  $\pi$ - $\pi$  堆积作用。而侧链为吲哚基的色氨酸（W）则由于有较大的芳香环，所以存在较多的  $\pi$ - $\pi$  堆积作用，并且其中既存在平行（Parallel-displaced）构象，如图 3-4 (b2) 左下方粉色箭头所示，也存在 T 形（T-shape）构象，如图右下方粉色箭头所示，这些  $\pi$ - $\pi$  堆积作用使四肽之间结合的更为紧密，从而使色氨酸（W）拥有 15 种非带电氨基酸中最大的结合能。酪氨酸（Y）中也存在一定的  $\pi$ - $\pi$  堆积作用，如图 3-4 (c2) 粉色箭头所示，而且苯酚中的羟基氢也可以和另一个羟基氧形成分子间氢键，如图中橙色箭头所示。这些特点也可以从 IGM 散点图进一步得到验证，苯丙氨酸（F）在 0 到 -0.02 之间绿色散点较稀疏，对应较少存在的  $\pi$ - $\pi$  堆积作用。而色氨酸（W）和酪氨酸（Y）在 0 到 -0.02 之间绿色散点明显更为稠密，且存在较高的峰，对应较多存在且较强的  $\pi$ - $\pi$  堆积作用。

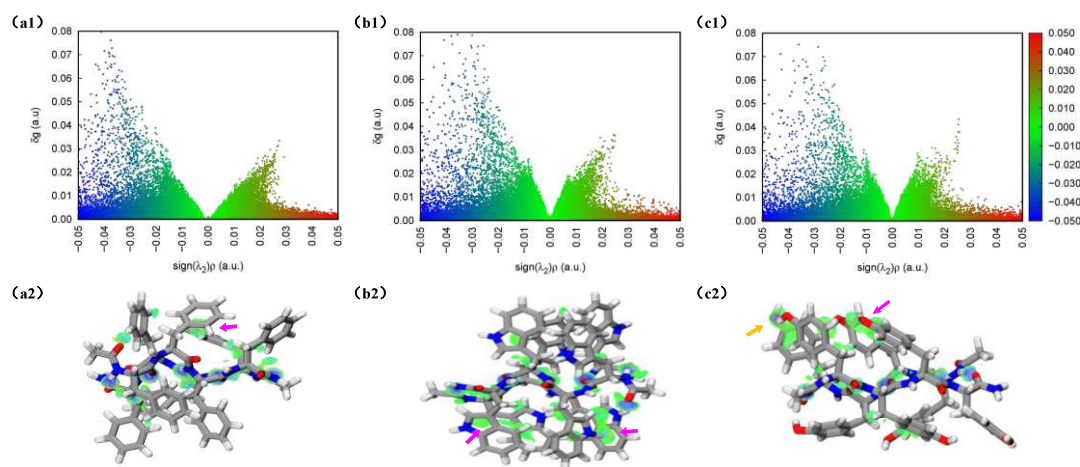


图 3-4 IGM 散点图和两条  $\beta$  链分子间相互作用的相应梯度等值面

(a)  $\text{Ac-L-F}_4\text{-NH}_2$ , (b)  $\text{Ac-L-W}_4\text{-NH}_2$ , (c)  $\text{Ac-L-Y}_4\text{-NH}_2$ 。(a1-c1) 散点图；(a2-c2) 渐变等值面  
**Fig3-4 IGM scatter plot and the corresponding gradient isosurface of the interaction between two  $\beta$  chain molecules**

(a)  $\text{Ac-L-F}_4\text{-NH}_2$ , (b)  $\text{Ac-L-W}_4\text{-NH}_2$ , (c)  $\text{Ac-L-Y}_4\text{-NH}_2$ 。(a1-c1) scatter plot; (a2-c2) gradient isosurface

最后对剩下的六种非带电氨基酸进行分析，这其中包括非极性的甲硫氨酸（M），极性的半胱氨酸（C）、苏氨酸（T）、丝氨酸（S）、谷氨酰胺（Q）和天冬酰胺（N）。与其他氨基酸一样，四肽中每个残基的酰胺氢和羰基氧与另一条肽的羰基氧和酰胺氢可形成强链间 H 键，如梯度等值面中的蓝色较高密度区域所示（图 3-5 (a1-f1)）。对于甲硫氨

酸 (M) 和半胱氨酸 (C)，它们的侧链分别为甲硫基 ( $\text{CH}_3\text{S}$ —) 的短碳链和甲硫基，这两种氨基酸的共同点在于它们侧链上都含有硫原子。在甲硫氨酸 (M) 的等值面图中可以看出，两个甲硫氨酸四肽侧链之间存在一些范式相互作用，对  $\beta$ -sheet 结构起到了一定的稳定作用，如图 3-5 (a2) 中粉色箭头所示。而半胱氨酸 (C) 由于侧链较短，侧链之间相互作用要弱于甲硫氨酸 (M)，这也是其结合能稍小的一方面原因。而对于苏氨酸 (T) 和丝氨酸 (S)，两者的侧链都存在羟基，区别在于丝氨酸 (S) 的羟甲基侧链中形成了少量的氢键，如图 3-5 (d2) 中黄色箭头所示。而侧链为  $\alpha$ -羟乙基的苏氨酸 (T) 则不存在这种相互作用。而对于谷氨酰胺 (Q) 和天冬酰胺 (N)，侧链中的氨基和羰基为其形成分子间氢键提供了条件，如图 3-5 (e2,f2) 中黄色箭头所示，两者的侧链中形成了较多氢键。区别在于，天冬酰胺 (N) 除了侧链之间形成的氢键外，侧链上的氨基氢还会和另一条肽主链上的羰基氧之间形成氢键，如图 3-5 (f2) 中粉色箭头所示，而谷氨酰胺 (Q) 并没有出现这种情况。其原因应该在于，天冬酰胺 (N) 侧链较短，氨基氢距离主链更近，更容易被主链上的羰基氧所吸引形成氢键。综上这些氢键作用使四肽之间结合的更为紧密，从而使谷氨酰胺 (Q) 和天冬酰胺 (N) 拥有除色氨酸 (W) 外 15 种非带电氨基酸中最大的结合能。

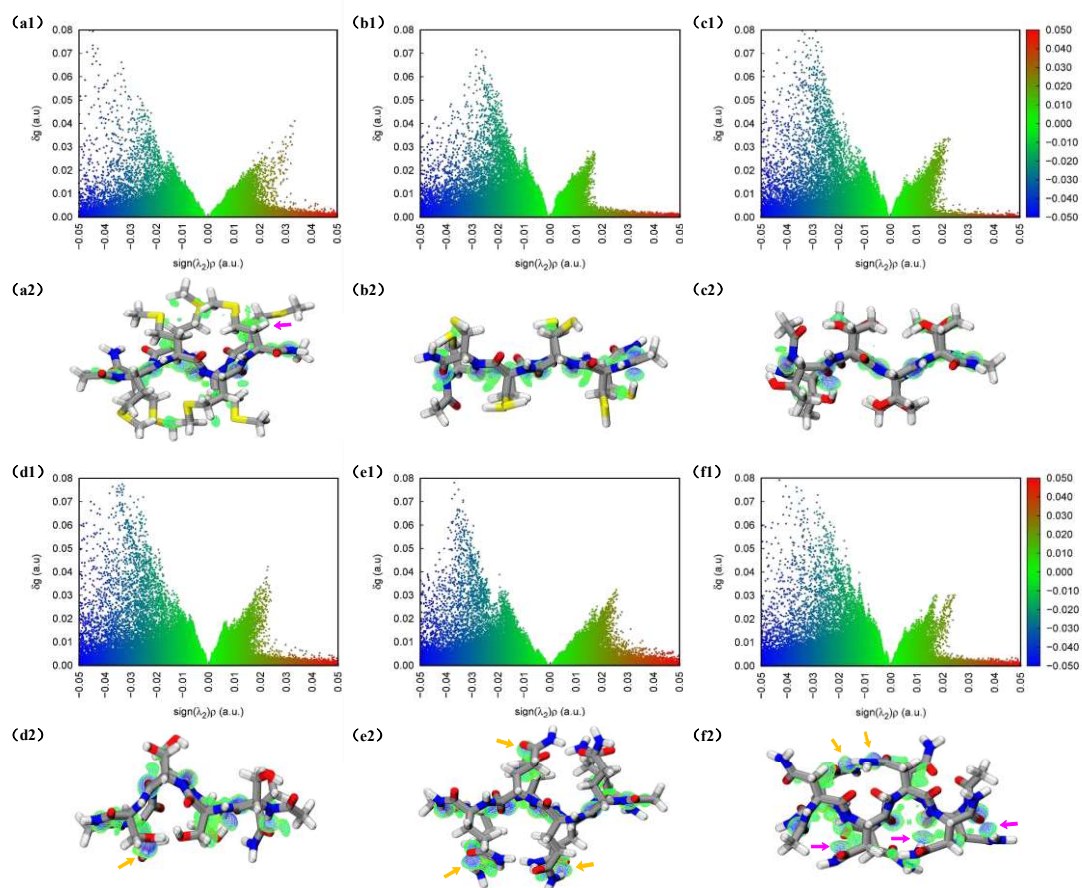


图 3-5 IGM 散点图和两条  $\beta$  链分子间相互作用的相应梯度等值面

(a)  $\text{Ac-LM}_4\text{-NH}_2$ , (b)  $\text{Ac-LC}_4\text{-NH}_2$ , (c)  $\text{Ac-LT}_4\text{-NH}_2$ , (d)  $\text{Ac-LS}_4\text{-NH}_2$ , (e)  $\text{Ac-LQ}_4\text{-NH}_2$  和 (f)  $\text{Ac-LN}_4\text{-NH}_2$ 。(a1-f1) 散点图。(a2-f2) 渐变等值面

**Fig3-5 IGM scatter plot and the corresponding gradient isosurface of the interaction between two  $\beta$  chain molecules**

(a)  $\text{Ac-LM}_4\text{-NH}_2$ , (b)  $\text{Ac-LC}_4\text{-NH}_2$ , (c)  $\text{Ac-LT}_4\text{-NH}_2$ , (d)  $\text{Ac-LS}_4\text{-NH}_2$ , (e)  $\text{Ac-LQ}_4\text{-NH}_2$  and (f)  $\text{Ac-LN}_4\text{-NH}_2$ . a1-f1, scatter plot. a2-f2, gradient isosurface

### 3.2.3 肽构象延展程度分析

由于纯结合能的相对大小与之前科研人员的统计结果存在差异,开始考虑还有哪些其他因素会影响氨基酸形成  $\beta$ -折叠构型的能力。每个形成  $\beta$ -折叠构型的肽链(称为( $\beta$ -链))和肽主链沿纸条形成锯齿形,并呈最伸展的构型。因此,认为肽在水中的动态构象的延伸将影响其形成  $\beta$ -折叠结构的能力。倾向于在水中呈卷曲状态的肽,会阻止其他肽与它们接近形成氢键,甚至会形成分子内氢键,从而使其难以形成  $\beta$ -折叠结构。对于聚合物,也包括蛋白质等体系,经常讨论回转半径用来讨论分子构象延伸的广度。例如,在蛋白质解折叠期间,蛋白质链将变得越来越延伸,并且回转半径将逐渐增加。因此,研究了水中 3ns 肽的分子动力学模拟,并计算了 15 种非带电氨基酸的四肽的平均回转半径。由于每个氨基酸的侧链基团不同,为了比较控制变量,仅计算四肽主链中原子的回转半径。从结果可以看出,由 15 种非带电氨基酸组成的四肽主链的回转半径在 4.1 埃至 4.7 埃之间。为了便于分析,将每个四肽主链的回转半径除以 15 种非带电氨基酸四肽的回转半径的平均值,以获得每个氨基酸的相对延展性,如图 3-6 (a) 所示。根据结果,发现极性氨基酸(Q, N, Y, C, T, S)除天冬酰胺(N)外均具有较大的回转半径。非极性氨基酸的回转半径与氨基酸侧链基团的大小具有一定的正相关关系,这可能是由于较大的侧链会和主链有较大的位阻作用,从而使肽主链处以较为延展的构型,但苯丙氨酸(F)是一个例外,其主链基本处以一个非常蜷缩的结果,造成这种现象的原因还有待考察。并且,从图 3-6 (b) 可以看出,氨基酸四肽的回转半径相对大小与之前计算值及统计值之间基本存在负相关关系,即计算值相比统计值偏大的氨基酸,往往回转半径较小,而计算值偏小的氨基酸,往往回转半径较大。由于之前就提到氨基酸结构越延展,越有利于形成  $\beta$ -sheet 结构,这也证实了的猜测,其确实为一个重要的影响因素。

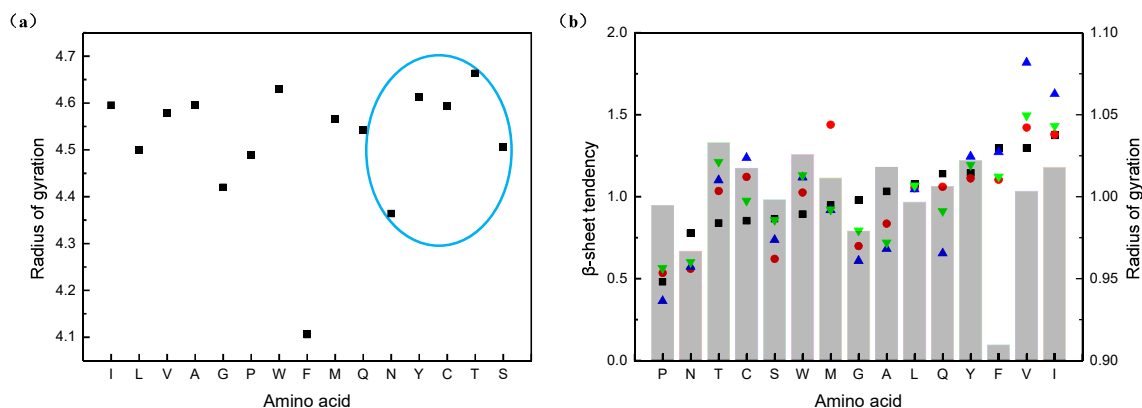


图 3-6 (a) 溶液中 15 种非带电氨基酸的平均回转半径的相对大小值, 其中蓝色圆圈为极性氨基酸。(b) 15 种非带电氨基酸  $\beta$ -Sheet 倾向的计算值与统计值和回转半径的相对大小之间的比较图  
**Fig3-6 (a) The relative size of the average radius of gyration of 15 kinds of uncharged amino acids in the solution, in which the blue circles are polar amino acids. (b) The comparison graph between the calculated value and the statistical value of the  $\beta$ -Sheet trend of 15 kinds of uncharged amino acids and the relative size of the radius of gyration**

基于先前的考虑, 认为结合能的大小和氨基酸形成  $\beta$ -Sheet 结构倾向大小呈正相关关系, 而回转半径所代表的氨基酸的延展性是一个比较重要的影响因子, 所以将结合能和相对旋转半径进行结合来分析它们对氨基酸形成  $\beta$ -折叠结构倾向大小的分析, 公式如下:

$$z = x + a (y - 1) \quad (3-2)$$

其中  $z$  表示 15 种非带电氨基酸形成  $\beta$ -折叠结构的相对能力,  $x$  表示堆叠在  $\beta$ -折叠结构中的 15 种氨基酸的四肽的相对结合能大小,  $y$  代表水中 15 种氨基酸的平均相对回转半径。 $x$  和  $y$  代表推测的两个主要因素, 它们影响氨基酸形成薄片结构的相对能力。其中, 结合能  $x$  是决定性因素, 并与  $z$  呈正相关关系, 回转半径  $y$  会在一定程度上产生影响, 因此用  $(y-1)$  来表示其对形成  $\beta$ -折叠结构的氨基酸大小的影响。

从图 3-7 可以看到, 结合能与回转半径的相对大小相结合而形成的  $\beta$ -折叠结构的理论计算值与实验结果基本一致。仅考虑结合能时, 计算出的相对尺寸与统计平均值的偏差大多超过 0.2。在增加了回转半径的相对大小对整体的影响之后, 除丙氨酸 (A) 和苯丙氨酸 (F) 以外的氨基酸的偏差均小于 0.19, 半数的氨基酸偏差小于 0.08。这也证实了之前假设, 即结合的紧密程度和延展性的相对大小是影响形成  $\beta$ -折叠结构的氨基酸大小的两个最重要的因素。



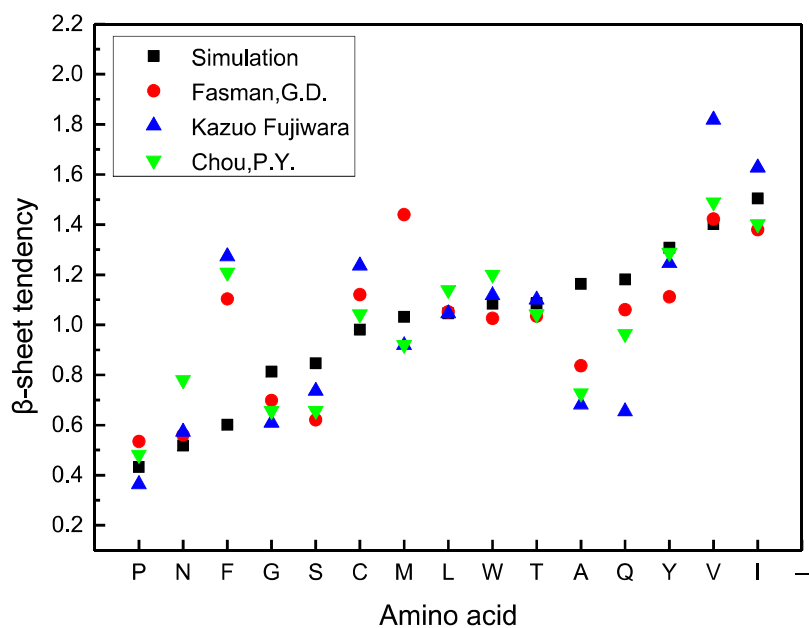


图 3-7 15 种氨基酸的计算修正值和实验统计值  
Fig3-7 Modified and calculated values of 15 amino acids

### 3.3 本章小结

由于两亲性短肽普遍以  $\beta$ -sheet 结构进行自组装，所以明确什么样的氨基酸形成的短肽，可以更有效地以  $\beta$ -sheet 结构来自组装，对实验可以起到指导作用。通过采用分子动力学和量子化学模拟结合的方法，研究了 15 种天然非带电氨基酸形成  $\beta$ -sheet 结构的倾向性，研究发现倾向性大小与形成  $\beta$ -sheet 结构的紧密程度呈正相关关系，并且还对每一种氨基酸进行了分析，从两者结合过程中产生的氢键作用、位阻作用、芳香环相互作用等来探究造成结合能不同的原因。氨基酸的延展性也是重要的影响因素，倾向于在水中呈卷曲状态的肽，会阻止其他肽与它们接近形成氢键，甚至会形成分子内氢键，从而使其难以形成  $\beta$ -sheet 结构。综合考虑了两种因素的共同影响，发现与统计结果基本一致。本文的结果将有助于对氨基酸形成  $\beta$ -sheet 结构倾向性大小的理解以及筛选，根据所得到的结果，选取了最易形成  $\beta$ -sheet 结构的异亮氨酸 (I) 来组成短肽中的疏水端，来研究短肽自组装过程中手性的传递机制。

## 第四章 Ac-<sup>L</sup>I<sub>n</sub>K<sub>m</sub>-NH<sub>2</sub> 短肽系列自组装手性传递机制研究

尽管过去几十年来,在生物系统中手性的起源和自组装过程中的手性放大方面已经积累了丰富的知识,但是关于分子手性与分子之间的关系尚无共识。典型的例子是在某些天然核酸序列中发现左旋 Z-DNA 双螺旋,这种构象并不常见,其可以为某些蛋白质提供右旋 B-DNA 中所不存在的独特结合位点。另一个代表性的例子是淀粉样蛋白原纤维,它与一系列使人衰弱的人类疾病(如阿尔茨海默氏病和帕金森氏病)有关,并具有共同的跨 β-折叠核心结构,其中 β-链垂直于原纤维轴排列,而尽管已广泛观察到天然蛋白质和多肽的淀粉样原纤维的左旋螺旋扭曲,但最近一些研究根据显微镜成像和振动圆二色性(VCD)测量,从天然蛋白质及其短核片段中分离出原纤维,发现了右旋螺旋的形成。到目前为止,尽管一些研究人员认为淀粉样原纤维的异常右手性,是通过表层间相互作用或缠绕在更高的聚集水平上发生,但控制生物分子组装的超结构性的机制和因素的研究仍处于起步阶段。更重要的是,在具有异常宏观右手性的自组装原纤维中,单肽 β 链的分子惯性是否可以逆转尚不清楚。为了更好的理解氨基酸残基的手性对组装体形貌的影响,本章中通过对 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-<sup>L</sup>I<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-<sup>L</sup>I<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-<sup>L</sup>I<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 和 <sup>L</sup>I<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> 的分子动力学模拟和量子化学计算,来研究短肽自组装过程中手性的传递机制。

### 4.1 模型构建及模拟方法

为了研究 Lys 手性变化对 Ac-<sup>L</sup>I<sub>n</sub>K<sub>m</sub>-NH<sub>2</sub> 组装体形貌的影响,分别建立了 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-<sup>L</sup>I<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-<sup>L</sup>I<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-<sup>L</sup>I<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 和 <sup>L</sup>I<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> 四条短肽的全原子模型,如图 4-1 所示。在本研究中首先进行了分子动力学模拟(MD)以取得肽在水中的动力学构型。在初始配置中,装满水的盒子中只有一个肽分子,尺寸为 34Å×34Å×34Å,由 1000 个水分子组成。通过使用大规模原子/分子大规模并行模拟器(LAMMPS)软件执行 MD 模拟。原子间和原子内的相互作用是通过液体模拟最佳电位的全原子(AA)力场(OPLS-AA)力场来描述的,它由成对和键合相互作用组成。SPC/E 模型用来描述水分子。OPLS 包括成对相互作用和键相互作用。成对相互作用由短程范德华(vdW)和长程静电相互作用的两部分组成。vdW 相互作用用 12-6 Lennard-Jones 势表示,静电相互作用用库仑势表示。对于键合相互作用,它包括键合拉伸,角度弯曲和二面扭转的三个分量。具体来说,整个仿真过程包括两部分。首先,

在 298 K 和 40 MPa 的 NPT 集成中执行 5 ns 模拟。此过程用于获得可靠的系统密度。然后，执行 5 ns NVT 集成以采样各种肽构象。温度和压力分别由 Nosé 恒温器和恒压器控制。使用 PPPM 求和处理远程静电相互作用。时间步长为 1 fs。保存完整轨迹，每 1 ps 输出帧以对结果进行采样。

根据其扩展程度和二面角，选择了 20 个扩展构象用于后续的量子化学计算。使用 gaussian 09 软件进行了 DFT 模拟，具有广义梯度逼近（GGA）方案和 PBE0 交换-相关功能。通过 def2-SVP 基集（2- $\zeta$  基团）和构象优化了分子结构。通过 def2-TZVP 基集（3- $\zeta$  基组）计算能量。在整个 DFT 模拟过程中，使用了 DFT-D3 色散校正。这些模拟产生具有最低能量的单个  $\beta$  链构象。

然后，基于反平行模式，为每个肽堆叠两个优化的  $\beta$  链，并使用 DFT 对所得二聚体结构进行进一步优化。由 Boys 和 Bernardi 开发的平衡方法在二聚体几何优化期间用于基础集叠加误差（BSSE）校正，而其他设置与上述单链模拟中的相同。基于优化的二聚体结构，使用 Kabsch 算法<sup>[102]</sup>重复堆叠过程并生成  $\beta$ -折叠。经过这些模拟后，所有快照均由 VMD 软件显示<sup>[122]</sup>。

## 4.2 肽组装过程中手性传递机制研究

### 4.2.1 Lys 手性变化对 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub>K-NH<sub>2</sub> 组装体形貌的影响

为了探究氨基酸的手性是如何传递到组装体上的，以 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> 和 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 作为原型，以在不同的结构水平上链接手性，并在分级肽自组装过程中跟踪手性的发展。如图 4-1 所示，首先在中性水中浓度为 8 mM 的 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 分别自组装形成左旋和右旋原纤维（注：本论文中的实验均为来自合作课题组），为了探究氨基酸的手性是如何传递到自组装体上的，进行了分子动力学和量子化学模拟来揭示手性的传递过程。首先对水中的单个肽分子进行 MD 模拟以生成各种  $\beta$  链构象。然后，使用量子化学（QC）方法优化其分子结构，从而确定具有最低能量的单个  $\beta$  链构象，如图 4-2 (a) 所示。残基  $i$  的羰基氧和酰胺氢位于优化链的一侧，而相邻残基  $i+1$  或  $i-1$  的羰基氧和酰胺氢则位于另一侧。这些原子实际上不在主链中，并且突出以形成链间  $\beta$ -折叠氢键。在每侧连接这些潜在的氢键原子可产生两条线，如两条箭头线所示（从 N 端到 C 端）。量子化学几何优化显示单个  $\beta$  链的两条指定线往往不在同一平面上。对于 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub>，正面（蓝色）上的线相对于背面（黄色）上的线处于顺时针位置。但是，对于 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub>，两条线处于逆时针方向。结果，如果沿着肽主链观察，整个 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> 和

Ac-I<sub>3</sub><sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 的 β 链分别在右手和左手方向上扭曲 (图 4-2a)。

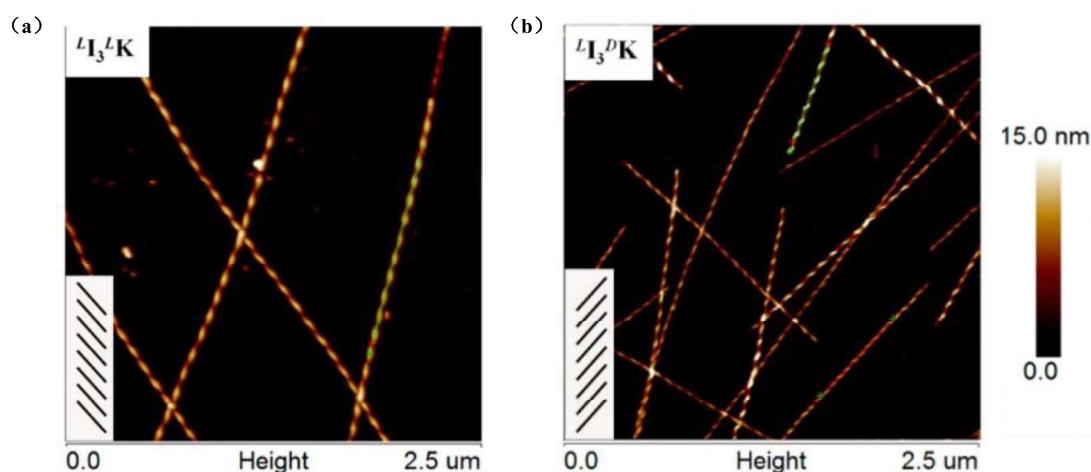


图 4-1 在中性水中浓度为 8 mM 的 (a) L-I<sub>3</sub>L-K 和 (b) D-I<sub>3</sub>D-K 原纤维的 AFM 图像  
Fig4-1 AFM images of (a) L-I<sub>3</sub>L-K and (b) D-I<sub>3</sub>D-K fibrils formed at a concentration of 8 mM in neutral water

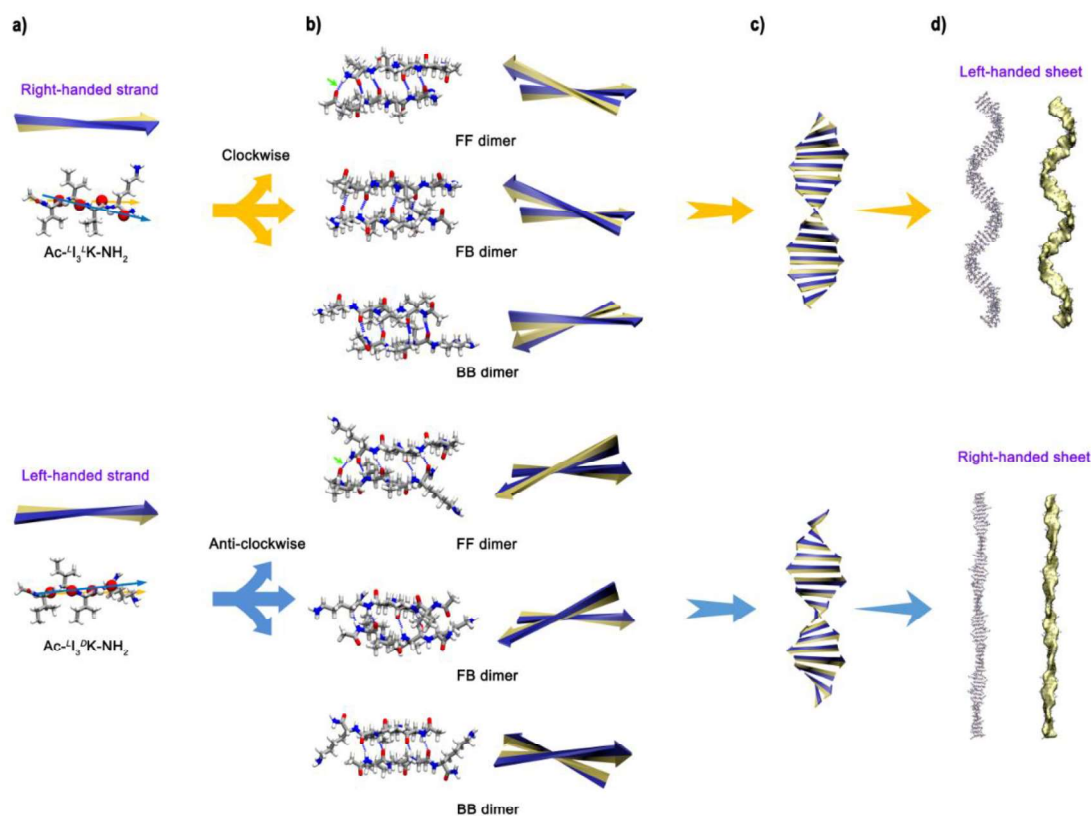


图 4-2 Ac-I<sub>3</sub><sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> 和 Ac-I<sub>3</sub><sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 的 β 链与 β 折叠扭曲之间的关系  
(a) 单 β 链。(b) 具有不同堆积方式的双链 β-折叠 (二聚体)。(c) 示意性地通过混合模式将二聚体堆积成 β-折叠。(d) 结构优化后的多链 β-折叠。可以观察到, 右旋 β 链通过形成反平行分子内氢键而演变为左旋 β 片, 而左旋 β 链则演变为右旋 β 片。在 (d) 中, 没有侧链的 β-折叠的简化表示可以清楚地显示其扭曲方向

Fig4-2 The relationship between the β chain and β sheet distortion of Ac-I<sub>3</sub><sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> and Ac-I<sub>3</sub><sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub>

(a) Single beta chain. (b) Double-stranded  $\beta$ -sheets (dimers) with different stacking modes. (c) Schematically stacking dimers into  $\beta$ -sheets through mixed mode. (d) Multi-stranded  $\beta$ -sheet after structural optimization. We can observe that the right-handed beta chain evolves into a left-handed beta sheet by forming antiparallel intramolecular hydrogen bonds, while the left-handed beta chain evolves into a right-handed beta sheet. In (d), the simplified representation of the  $\beta$ -sheet without side chains can clearly show its twisting direction

固态 NMR 光谱表明，形成  $\beta$ -折叠片时，短两亲性肽倾向于呈反平行排列。为了清楚地了解  $\beta$  链的堆积方式，将其面对的一侧称为“F”侧（蓝带），将另一侧称为“B”侧（黄带）。图 4-2b 给出了两条肽链具有 FF, BB 和 FB 三种堆积模式的反平行二聚体。进一步的量子化学结构优化表明，右旋  $\text{Ac-LI}_3^{\text{L}}\text{K-NH}_2\beta$  链优选以顺时针方式堆叠以形成牢固的链间氢键，而不论其堆积方式如何。相反，左旋  $\text{Ac-LI}_3^{\text{D}}\text{K-NH}_2\beta$  链优选逆时针堆积方式形成氢键合二聚体。具体而言，FF 和 BB 堆积模式存在一个残基转移，并伴随着五个和四个链间氢键的形成，而 FB 二聚体采用四个四个链间氢键的配准堆积模式。请注意，发现一条链的 N 末端封端基团的羰基氧和另一链的 C 末端封端基团的酰胺氢在 FF 二聚体的一端非常接近，因此有利于形成第五个链间氢键（如图 4-2b 中的绿色箭头所示）。

基于这些优化的双链结构，然后采用 Kabsch 算法<sup>[102]</sup>沿氢键方向重复上述二聚体堆积，从而生成  $\beta$ -折叠（图 4-2c 及 4-3）。最后，获得了形成的  $\text{Ac-LI}_3^{\text{L}}\text{K-NH}_2$  和  $\text{Ac-LI}_3^{\text{D}}\text{K-NH}_2\beta$  片的左旋和右旋螺旋，分别如图 4-2 (d) 所示。左旋和右旋  $\beta$ -折叠的进一步横向堆叠将不可避免地导致分别形成具有左旋和右旋性的原纤维。<sup>[123]</sup>这些理论结果与先前的实验结果非常吻合。因此， $\beta$ -折叠肽原纤维的超结构性取决于单个肽  $\beta$ -链的构象偏好：右旋  $\beta$  链堆积成左旋  $\beta$  折叠原纤维，而左旋  $\beta$  链也与左旋  $\beta$  折叠原纤维缔合，形成了这种短两亲性肽。扭曲是肽主链的固有特性，通常会被  $\beta$  链内的链内 H 键抑制， $\beta$ -折叠内的链间氢键可破坏链内氢键，从而释放该特性并导致肽主链发生深刻的扭曲。

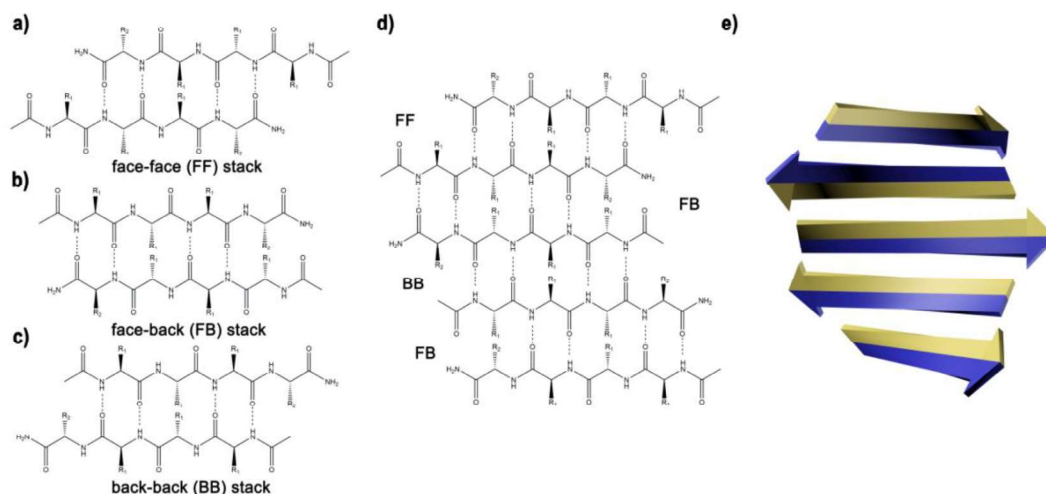


图 4-3 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> 链的堆积

(a) FF 二聚体, (b) FB 二聚体, (c) BB 二聚体, (d) 用作重复单元的混合五聚体, 用于将 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> 二聚体进一步堆叠到  $\beta$ -sheets 中, 以及 (e) 重复单元的简化表示

Fig4-3 Stacking of Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> chains

(a) FF dimer, (b) FB dimer, (c) BB dimer, (d) mixed pentamer used as repeating unit, Used to further stack the Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> dimer into  $\beta$ -sheets, and (e) a simplified representation of the repeating unit

从上述结果可以看出, 短肽自组装体的手性很大程度上取决于短肽的单分子构象, 位于两侧的羰基氧和酰胺氢作为潜在的氢键原子产生的两条线之间的顺时针或者逆时针偏转是造成组装体纤维手性的主要原因。而分子构象与分子内非共价相互作用密切相关<sup>[124]</sup>。为了找出控制单个  $\beta$  链构象偏好的关键因素, 使用了约化密度梯度 (RDG) 方法来分析单个肽链中的非共价相互作用<sup>[121]</sup>。如图 4-4 (a1-b1) 所示, 绘制了 RDG 对电子密度乘以 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub>, Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 的第二个 Hessian 特征值的符号。在 RDG 散点图中, 尖峰代表一种非共价相互作用, 出现在蓝色, 绿色和红色区域中的尖峰分别代表有吸引力的氢键相互作用, 范德华 (vdW) 相互作用和排斥性位阻<sup>[125]</sup>。这些相互作用可以通过生成包围真实空间相应区域的梯度等值面来定位, 如图 4-4 (a2-b2) 所示。根据不同的非共价相互作用的性质, 等值面也被着色。单个 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> 和 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub>  $\beta$  链显示相似的分子内相互作用。首先, 每个残基的酰胺氢和羰基氧可形成强链内 H 键, 如梯度等值面中的蓝色较高密度区域所示。结果, 对于两个四个残基的  $\beta$  链, 在正面和背面分别存在两个链内 H 键。实际上, 这些链内 H 键及其沿肽主链的交替排列促进了肽链的延伸, 从而抑制了其固有的扭曲。这种抑制作用可以通过形成链间 H 键来释放, 从而导致  $\beta$ -折叠内的主链扭曲。其次, 在相邻的 C=O 和 N-H 组之间同时观察到强烈的排斥相互作用, 如红色的高密度区域所示。已经建议这些主链空间相互作用是由沿着主链的键合电子和非键合电子对之间的库仑排斥引起的。第三, 在两个梯度等值面中存在许多低密度区域(由绿色和棕色着色), 表明存在广泛的侧链-侧链和侧链-主链相互作用。尽管主链空间相互作用对主链扭曲有显著贡献, 模拟结果显示, 源自侧链的相对较弱的相互作用是造成单个  $\beta$  链扭曲方向的主要原因。具体而言, 对于 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> 链, L-Lys 的侧链与局部主链之间的排斥相互作用 (黑色箭头) 使其 H 键合的 C = O 和 N-H 基团 (正面) 向下移动, 如图 4-4 (a2) 所示。结果, 连接正面 H 键位的线相对于背面 H 键线处于顺时针位置。相比之下, D-Lys 的侧链排斥其 C=O 和 N-H 基团 (表面侧), 使 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 向上移位, 最终导致左旋扭曲的  $\beta$  链, 如图 4-4 (b2) 所示。此外, Ile1 和 Ile3 残基之间有吸引力的侧链-侧链相互作用 (vdW 相互作用, 品红色箭头) 可以分别稳定 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> 和 Ac-<sup>L</sup>I<sub>3</sub><sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub>  $\beta$  链的右旋和左旋扭曲。因此, 这些 RDG 分析揭示了单

个  $\text{Ac-L}_3^{\text{L}}\text{K-NH}_2$  和  $\text{Ac-L}_3^{\text{D}}\text{K-NH}_2$   $\beta$  链构象偏转的分子起源，特别是 C 端 Lys 构型的影响。计算得到的结果与实验结果具有一致性。

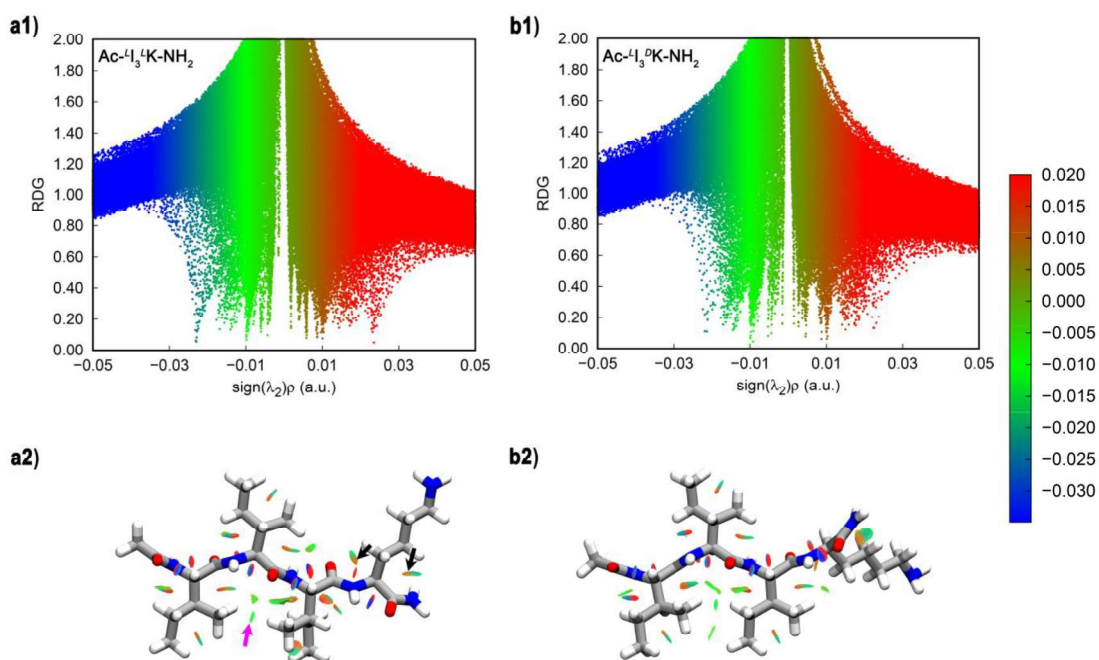


图 4-4 RDG 散点图和单个  $\beta$  链的相应梯度等值面

(a)  $\text{Ac-L}_3^{\text{L}}\text{K-NH}_2$ , (b)  $\text{Ac-L}_3^{\text{D}}\text{K-NH}_2$ 。(a1-b1) 散点图; (a2-b2) 渐变等值面

Fig4-4 RDG scatter plot and corresponding gradient isosurface of a single  $\beta$  chain

(a)  $\text{Ac-L}_3^{\text{L}}\text{K-NH}_2$ , (b)  $\text{Ac-L}_3^{\text{D}}\text{K-NH}_2$ 。(a1-b1) scatter plot; (a2-b2) gradient isosurface

#### 4.2.2 Lys 手性变化对 $\text{Ac-L}_4\text{K}_2\text{-NH}_2$ 组装体形貌的影响

为了进行进一步的研究，又对  $\text{Ac-L}_4^{\text{L}}\text{K}^{\text{L}}\text{K-NH}_2$ 、 $\text{Ac-L}_4^{\text{L}}\text{K}^{\text{D}}\text{K-NH}_2$ 、 $\text{Ac-L}_4^{\text{D}}\text{K}^{\text{D}}\text{K-NH}_2$  和  $\text{L}_4^{\text{D}}\text{K}^{\text{L}}\text{K-NH}_2$  这四条短肽进行研究，与  $\text{Ac-L}_3^{\text{L}}\text{K-NH}_2$  和  $\text{Ac-L}_3^{\text{D}}\text{K-NH}_2$  相比，这四条短肽多了一个 Ile 残基和 Lys 残基，从而有了更多的变化。原子力显微镜 (AFM) 能够提供高分辨率的 3D 图像，因此适合推断薄纳米纤维的手性。正如预期的那样，从图 4-5 及 4-6 中可以看出， $\text{Ac-L}_4^{\text{L}}\text{K}^{\text{L}}\text{K-NH}_2$ 、 $\text{Ac-L}_4^{\text{L}}\text{K}^{\text{D}}\text{K-NH}_2$  和  $\text{Ac-L}_4^{\text{D}}\text{K}^{\text{D}}\text{K-NH}_2$  形成的原纤维显示来自 AFM 高度成像的明确定义的左旋扭曲。通过使用 AFM 制造商的软件 (NanoScope 分析)，可以直接跟踪沿原纤维轴的高度，显示出锯齿形图案，从图 4-5(e) 中可以看出， $\text{Ac-L}_4^{\text{L}}\text{K}^{\text{L}}\text{K-NH}_2$  均匀间距为  $116 \pm 3$  nm，高度波动在 5 到 8 nm 之间。 $\text{Ac-L}_4^{\text{D}}\text{K}^{\text{D}}\text{K-NH}_2$  均匀间距为  $175 \pm 3$  nm，高度波动在 5 到 8 nm 之间。而  $\text{Ac-L}_4^{\text{D}}\text{K}^{\text{D}}\text{K-NH}_2$  形成的原纤维并不均匀，螺距较大且高度波动在 9 到 17 nm 之间。

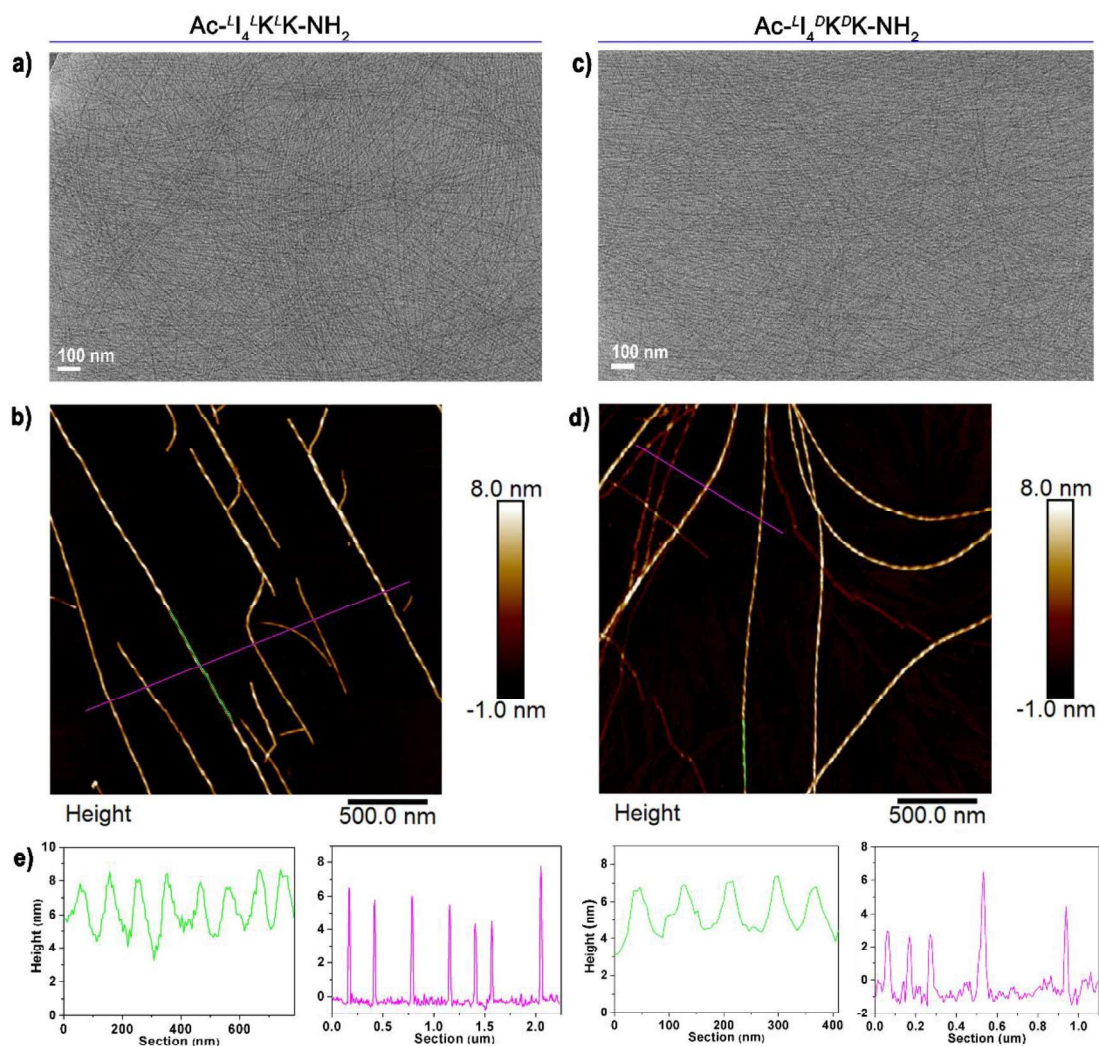


图 4-5 (a)Ac-L<sub>4</sub>L<sub>4</sub>K<sub>4</sub>K-NH<sub>2</sub> 和(c)Ac-L<sub>4</sub>D<sup>K</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 原纤维的 SEM 图像, (b)Ac-L<sub>4</sub>L<sub>4</sub>K<sub>4</sub>K-NH<sub>2</sub> 和(d)Ac-L<sub>4</sub>D<sup>K</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 原纤维的 AFM 图像, 其中性水中以 8mM 的浓度形成, (e)从 NanoScope 分析 (布鲁克) 获得的截面轮廓给出沿着原纤维轴和螺旋间距的高度变化

Fig4-5 (a) Ac-L<sub>4</sub>L<sub>4</sub>K<sub>4</sub>K-NH<sub>2</sub> and (c) Ac-L<sub>4</sub>D<sup>K</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> fibrils SEM images, (b) Ac-L<sub>4</sub>L<sub>4</sub>K<sub>4</sub>K-NH<sub>2</sub> and (d) Ac-L<sub>4</sub>D<sup>K</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> fibrils AFM images, fibrils formed at a concentration of 8 mM in neutral water, (e) The section profiles obtained from NanoScope Analysis (Bruker) giving the height variation along the fibril axis and the helical pitch



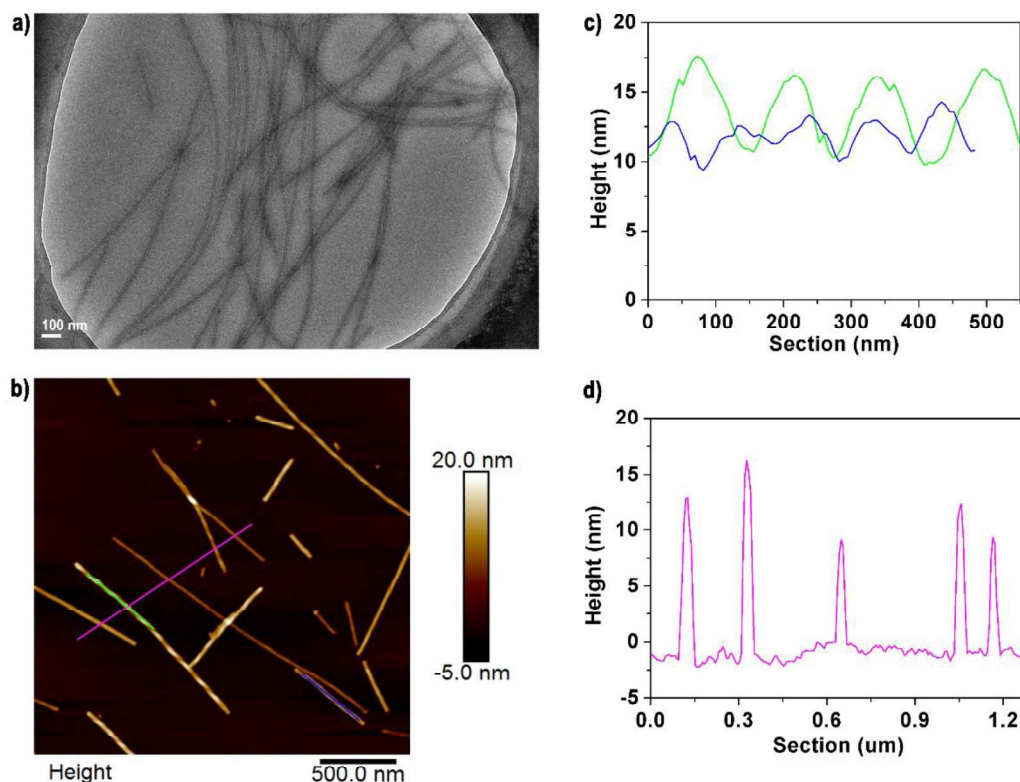


图 4-6 (a) Ac-<sup>L</sup><sub>4</sub><sup>L</sup><sup>D</sup><sub>K</sub>-NH<sub>2</sub> 原纤维的 SEM 图像, (b) AFM 图像, 其中性水中以 8mM 的浓度形成; (c-d)从 NanoScope 分析 (布鲁克) 获得的截面轮廓给出沿着原纤维轴和螺旋间距的高度变化  
**Fig4-6 (a) SEM image of Ac-<sup>L</sup><sub>4</sub><sup>L</sup><sup>D</sup><sub>K</sub>-NH<sub>2</sub> fibrils, (b) AFM image, fibrils formed at a concentration of 8 mM in neutral water; (c-d)The section profiles obtained from NanoScope Analysis (Bruker) giving the height variation along the fibril axis and the helical pitch**

而 <sup>L</sup><sub>4</sub><sup>D</sup><sub>K</sub><sup>L</sup><sub>K</sub>-NH<sub>2</sub> 的 AFM 图片则显示出不同的组装体样貌, 不同于其他系列短肽自组装形成的纳米纤维结构, <sup>L</sup><sub>4</sub><sup>D</sup><sub>K</sub><sup>L</sup><sub>K</sub>-NH<sub>2</sub> 短肽自组装主要形成了纳米管状结构。除了这些管状结构外, 还有少量的原纤维显示出来自 AFM 高度成像的明确定义的右旋扭曲, 如图 4-7 所示。从这可以发现, <sup>L</sup><sub>4</sub><sub>K</sub><sub>2</sub> 与 <sup>L</sup><sub>3</sub><sub>K</sub> 有一定的区别, 不再单单由 N 末端最后一个 Lys 的手性决定, 而是由 N 末端的两个 Lys 的手性共同决定。

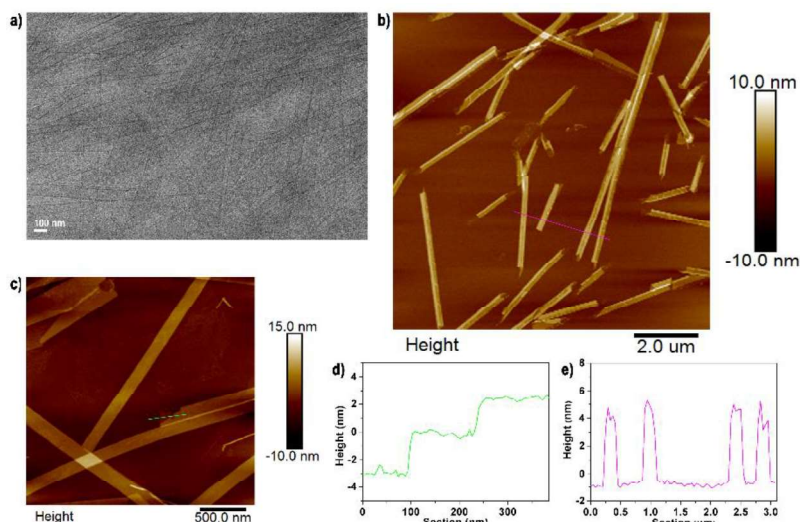


图 4-7 (a) Ac-L<sub>1</sub>I<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> 原纤维的 SEM 图像, (b) AFM 图像, 其中性水中以 8mM 的浓度形成。(c-d)从 NanoScope 分析 (布鲁克) 获得的截面轮廓给出沿着原纤维轴和螺旋间距的高度变化  
**Fig4-7 (a) SEM image of Ac-L<sub>1</sub>I<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> fibrils, (b) AFM image, fibrils formed at a concentration of 8 mM in neutral water. (c-d) The section profiles obtained from NanoScope Analysis (Bruker) giving the height variation along the fibril axis and the helical pitch**

按照之前的方法, 分别得到了经过量子化学优化后的四条具有最低能量的单个  $\beta$  链构象, 如图 4-8。和上述短肽一样, 残基  $i$  的羰基氧和酰胺氢位于优化链的一侧, 而相邻残基  $i + 1$  或  $i - 1$  的羰基氧和酰胺氢则位于另一侧。在每侧连接这些潜在的氢键原子可产生两条线, 如图 4-8 两条箭头线所示 (从 N 端到 C 端)。对于 Ac-L<sub>1</sub>I<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-L<sub>1</sub>I<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 和 Ac-L<sub>1</sub>I<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 这三条肽, 正面 (蓝色) 上的线相对于背面 (黄色) 上的线处于顺时针位置。但是, 对于 L<sub>1</sub>I<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub>, 在研究中发现其存在两种最为稳定的  $\beta$  链构象, 两者的能量差仅为 0.38kcal/mol, 所以认为, 这两种  $\beta$  链构象在水中应该均存在。其中图中的肽 (CCW) 其两条线处于逆时针方向, 而图中的肽 (CW) 其两条线处于顺时针方向。

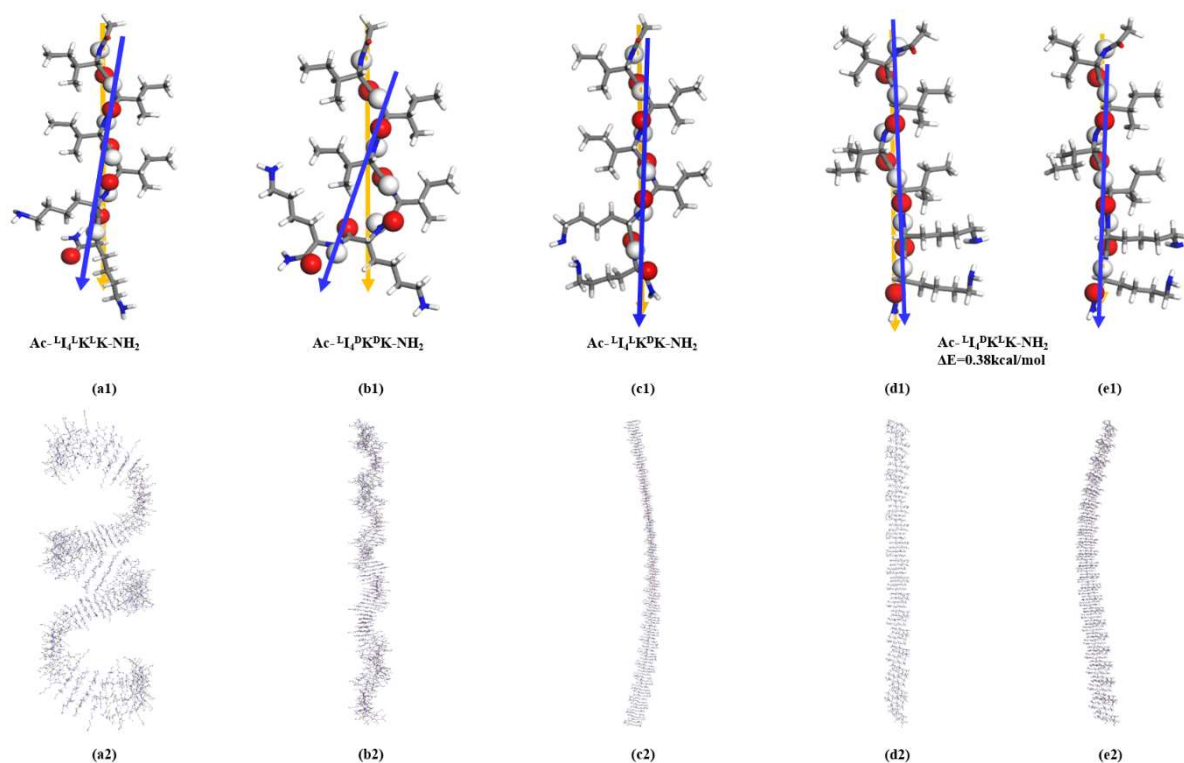


图 4-8 设计的具有最低能量的肽的(a1-e1) $\beta$ -链构象。在这样的构象中，羰基 O 原子和酰胺 H 原子交替地排列成对的分子内 H 键，并且其排列被突出。至于 Ac-L<sup>14</sup>D<sup>PK</sup>L<sup>K</sup>-NH<sub>2</sub>，有两个能量最低的构型。(a2-e2)将  $\beta$  链堆积成显示扭曲方向的薄片，其中(d2)为 d1,e1 按照 1:1 混合堆积而成，(e2)为单独 d1 堆积而成

**Fig4-8 (a1-e1) $\beta$ -strand conformations of the designed peptides with the lowest energies. In such conformations, the carbonyl O atom and the amide H atom arrange alternatively the paired intramolecular H-bonding and their alignment being highlighted. As for Ac-L<sup>14</sup>D<sup>PK</sup>L<sup>K</sup>-NH<sub>2</sub>, there are two populations with the lowest energies. (a2-e2) Packing of the  $\beta$ -strands into a sheet showing the twisting direction. Among them, (d2) is d1, e1 is mixed and stacked in a ratio of 1:1, and (e2) is d1 alone**

随后同样通过两条肽链堆积成具有 FF, BB 和 FB 三种堆积模式的反平行二聚体。这其中为了进一步探究 L<sup>14</sup>D<sup>PK</sup>L<sup>K</sup>-NH<sub>2</sub> 的堆积模式，不但通过图 4-8 (d1-e1) 中的两种  $\beta$  链构象分别堆积成具有 FF、BB 和 FB 三种堆积模式的反平行二聚体外，还将两种  $\beta$  链构象进行了混合堆积。然后进一步的量子化学结构优化后，计算了每一种堆积方式的结合能，结果如表 4-1 所示。从表中可以看出单独 CW 肽构象的三种堆积模式结合能普遍偏小。而单独 CCW 肽构象和混合 CW、CCW 肽构象的三种堆积模式结合能普遍偏大，其中 CW-CCW 由于是两种肽构象，所以 FB 堆积有两种堆积方式。进一步推测，在水中 L<sup>14</sup>D<sup>PK</sup>L<sup>K</sup>-NH<sub>2</sub> 更容易采用 CCW-CCW 和 CW-CCW 两种堆积构型。

表 4-1 Ac-L<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> 肽采用不同堆积方式的结合能Table 4-1 The binding energy of L<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> peptides in different stacking methods

堆积方式	CW-CW	CCW-CCW	CW-CCW
FF	-50.23 kcal/mole	-61.28 kcal/mole	-71.89 kcal/mole
FB	-64.52 kcal/mole	-62.37kcal/mole	-64.79/64.09 kcal/mole
BB	-43.15 kcal/mole	-45.09 kcal/mole	-46.40 kcal/mole

基于这些优化的双链结构,然后采用 Kabsch 算法沿氢键方向重复上述二聚体堆积,从而生成  $\beta$ -折叠(图 4-1c)。最后,获得了形成的 Ac-L<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-L<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 和 Ac-L<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub>  $\beta$  片的左旋螺旋,分别如图 4-8 (a2-c2) 所示。而对于 L<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub>, 首先采用 CW-CCW 堆积构型,按照两者 1:1 的比例进行堆积,最终发现堆积成了一条基本没有扭曲的带状结构。随后采用 CCW-CCW 堆积构型,形成了右旋螺旋,分别如图 4-8 (d2-e2) 所示。左旋和右旋  $\beta$ -折叠的进一步横向堆叠将不可避免地导致分别形成具有左旋和右旋性的原纤维,而根据之前研究者的研究,带状结构是形成纳米管的前提。由此可以看出,这些理论结果与的实验结果非常吻合。

同样为了找出控制单个  $\beta$  链构象偏好的关键因素,使用了约化密度梯度(RDG)方法来分析单个肽链中的非共价相互作用<sup>[121]</sup>。如图 4-9 (a-d2) 所示,绘制了 RDG 对电子密度乘以 Ac-L<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-L<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-L<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 和 L<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> 的第二个 Hessian 特征值的符号。在 RDG 散点图中,尖峰代表一种非共价相互作用,出现在蓝色,绿色和红色区域中的尖峰分别代表有吸引力的氢键相互作用,范德华(vdW)相互作用和排斥性位阻<sup>[125]</sup>。这些相互作用可以通过生成包围真实空间相应区域的梯度等值面来定位,如图 4-9(a-d)所示。根据不同的非共价相互作用的性质,等值面也被着色。单个 Ac-L<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-L<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-L<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 和 L<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub>  $\beta$  链显示相似的分子内相互作用。首先,每个残基的酰胺氢和羰基氧可形成强链内 H 键。结果,对于两个六个残基的  $\beta$  链,在正面和背面分别存在三个链内 H 键。实际上,这些链内 H 键及其沿肽主链的交替排列促进了肽链的延伸,从而抑制了其固有的扭曲。其次,在相邻的 C=O 和 N-H 组之间同时观察到强烈的排斥相互作用,如红色的高密度区域所示。已经认为这些主链空间相互作用是由沿着主链的键合电子和非键合电子对之间的库仑排斥引起的。第三,在两个梯度等值面中存在许多低密度区域(由绿色和棕色着色),表明存在广泛的侧链-侧链和侧链-主链相互作用。尽管主链空间相互作用对主链扭曲有显著贡

献, 的模拟显示, 源自侧链的相对较弱的相互作用是造成单个  $\beta$  链扭曲方向的主要原因。具体而言, 对于  $\text{Ac-L}^{\text{I}}\text{I}_4^{\text{L}}\text{K}^{\text{L}}\text{K-NH}_2$  链, 6 号 L-Lys 的侧链局部主链之间的排斥相互作用使其 H 键合的 C = O 和 N-H 基团 (正面) 向左移动, 如图 4-9 (a) 所示。结果, 连接正面 H 键位的线相对于背面 H 线处于顺时针位置。而对于  $\text{Ac-L}^{\text{I}}\text{I}_4^{\text{D}}\text{K}^{\text{D}}\text{K-NH}_2$  链, 5 号 L-Lys 的侧链由于 4 号 L-Ile 侧链的排斥作用向左下方移动, 从而推动主链使其 H 键合的 C = O 和 N-H 基团 (正面) 向左移动, 并且导致 6 号 L-Lys 的侧链与 3 号 L-Ile 侧链之间产生范德华相互作用, 如图 4-9 (b) 粉色箭头所示, 可以稳定  $\beta$  链的左旋扭曲, 最终导致左旋扭曲的  $\beta$  链。

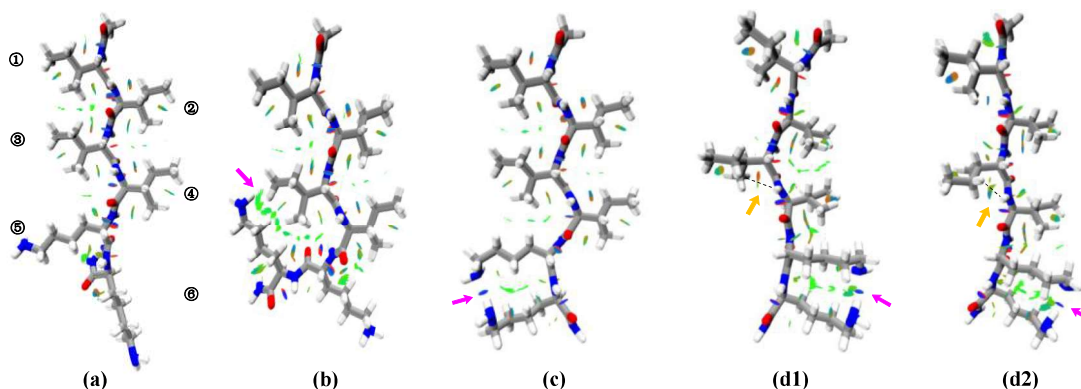


图 4-9 (a)  $\text{Ac-L}^{\text{I}}\text{I}_4^{\text{L}}\text{K}^{\text{L}}\text{K-NH}_2$ , (b)  $\text{Ac-L}^{\text{I}}\text{I}_4^{\text{D}}\text{K}^{\text{D}}\text{K-NH}_2$ , (c)  $\text{Ac-L}^{\text{I}}\text{I}_4^{\text{L}}\text{K}^{\text{D}}\text{K-NH}_2$ , (d)  $\text{Ac-L}^{\text{I}}\text{I}_4^{\text{D}}\text{K}^{\text{L}}\text{K-NH}_2$  RDG 等值面 (绿色部分代表范德华相互作用, 深黄色部分代表位阻, 蓝色部分代表氢键相互作用)

Fig4-9 (a)  $\text{Ac-L}^{\text{I}}\text{I}_4^{\text{L}}\text{K}^{\text{L}}\text{K-NH}_2$ , (b)  $\text{Ac-L}^{\text{I}}\text{I}_4^{\text{D}}\text{K}^{\text{D}}\text{K-NH}_2$ , (c)  $\text{Ac-L}^{\text{I}}\text{I}_4^{\text{L}}\text{K}^{\text{D}}\text{K-NH}_2$ , (d)  $\text{Ac-L}^{\text{I}}\text{I}_4^{\text{D}}\text{K}^{\text{L}}\text{K-NH}_2$  RDG isosurface (the green part represents van der Waals interaction, dark yellow The part represents steric hindrance, and the blue part represents hydrogen bond interaction)

对于  $\text{Ac-L}^{\text{I}}\text{I}_4^{\text{L}}\text{K}^{\text{D}}\text{K-NH}_2$  链, 由于两个 L-Lys 在同一侧, 因此在侧链的氨基之间会形成一个 H 键, 如图 4-9 (c) 中粉色箭头所示, 这将使最后一个赖氨酸更靠近倒数第二个赖氨酸, 从而使其 H 键合的 C = O 和 N-H 基团 (正面) 向左移动, 结果, 连接正面 H 键位的线相对于背面 H 线处于顺时针位置 (图 4-9a)。而对于  $\text{L}^{\text{I}}\text{I}_4^{\text{D}}\text{K}^{\text{L}}\text{K-NH}_2$  的两种  $\beta$  链构象, 均和  $\text{Ac-L}^{\text{I}}\text{I}_4^{\text{L}}\text{K}^{\text{D}}\text{K-NH}_2$  链有着相似的相互作用即。在侧链的氨基之间会形成一个 H 键, 如图 4-9 (d1-2) 中粉色箭头所示, 这将使最后一个赖氨酸更靠近倒数第二个赖氨酸。为了探究出现两种能量相近的最稳定构象的原因, 发现 3 号 L-Ile 的侧链与主链间的相互作用不同。对于 CCW 肽构象, 如图 4-9 (d1) 黄色箭头所示, 其侧链与主链间相互作用较小, 所以最终形成右旋扭曲的  $\beta$  链。而对于 CW 肽构象, 如图 4-9 (d2) 黄色箭头所示, 其侧链 H 原子与主链 N 原子间存在吸引作用, 从而吸引主链使其 H 键合的 C = O 和 N-H 基团 (正面) 向左移动, 最终导致左旋扭曲的  $\beta$  链。随后测量了造成两者

相互作用不同的两个原子之间的距离，发现 CCW 肽构象中距离 0.296nm，而 CW 肽构象中距离为 0.206nm。随后还根据两者间的距离计算了能量变化，如图 4-10 所示，从图中可以看出，两者的距离所在的构象正好处在两个势阱内，这也是造成 <sup>L</sup>I<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> 的有两种最稳定 β 链构象的原因。因此，这些 RDG 分析揭示了单个 c-<sup>L</sup>I<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-<sup>L</sup>I<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub>、Ac-<sup>L</sup>I<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 和 <sup>L</sup>I<sub>4</sub><sup>D</sup>K<sup>L</sup>K-NH<sub>2</sub> β 链构象偏转的分子起源，特别是 C 端两个 Lys 构型的影响。计算得到的结果与实验结果具有一致性。

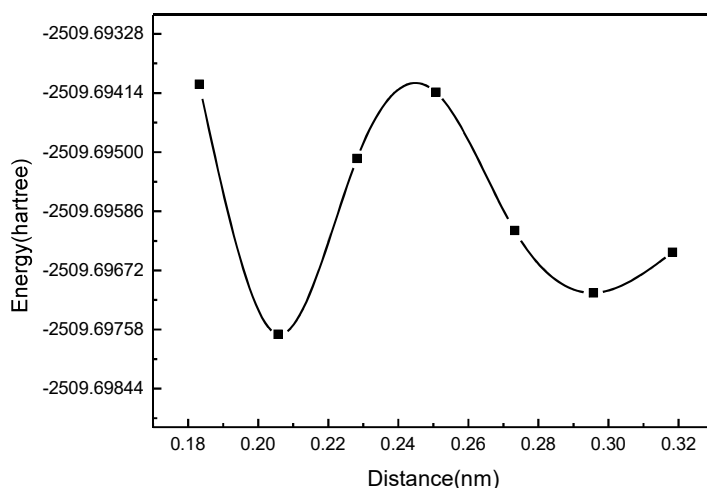


图 4-10 Ac-<sup>L</sup>I<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> 两原子距离大小与分子能量变化图

Fig4-10 Ac-<sup>L</sup>I<sub>4</sub><sup>L</sup>K<sup>D</sup>K-NH<sub>2</sub> two-atom distance and molecular energy change diagram

### 4.3 本章小结

本章通过采用分子动力学和量子化学模拟方法研究了 Lys 手性变化对 Ac-<sup>L</sup>I<sub>n</sub>K<sub>m</sub>-NH<sub>2</sub> 组装体形貌的影响，研究发现，对于 Ac-<sup>L</sup>I<sub>n</sub>K<sub>m</sub>-NH<sub>2</sub> 短肽系列，Lys 手性是影响组装体的形貌的主要因素，Lys 手性的改变会形成不同的组装体。从理论上联系了不同结构水平上的手性，并揭示了肽链扭曲的微观起源。并成功建立了单条肽 β 链的手性与肽原纤维的超结构性之间的关系：右旋 β 链堆积成左旋 β-折叠和原纤维，而左旋 β 链结合成左旋 β-折叠和原纤维，而基本不偏转 β 链堆积成纳米带状结构。此外，对单个 β 链的进一步 RDG 分析表明，侧链和肽主链之间以及侧链之间的分子内非共价相互作用是其扭曲方向的原因。我们的理论工作提供了一个蓝图，用于判断短肽链的分子有序性，并在肽的分级自组装过程中追踪其手性演变，这与许多报道的针对分级自组装的特定阶段的仿真工作相反。相信这项工作不仅提高了对生物系统中复杂的超分子手性的机械理解，而且还为通过非手性成分调控材料科学中的分子和超分子手性奠定了基础。

## 结 论

本论文主要结合分子动力学模拟和量子化学计算，对短肽自组装形成  $\beta$ -sheet 结构的倾向大小以及氨基酸手性影响自组装体手性的分子机制进行了研究，首次提出了一套系统的研究短肽自组装形成  $\beta$ -sheet 结构过程中手性传递机制的方法，并得到了实验证实。该工作进一步加深了短肽组装过程中手性传递机制的认识，获得的研究成果为实验上合成手性短肽自组装体提供一定的理论指导。

通过以上的研究，得出了以下的结论：

(1) 通过对 15 种天然非带电氨基酸形成  $\beta$ -sheet 结构的倾向性进行研究，发现倾向性大小与形成  $\beta$ -sheet 结构的紧密程度呈正相关关系。通过对每一种氨基酸的分析，从两者结合过程中产生的氢键作用、位阻作用、芳香环相互作用等阐明了造成结合能不同的原因。此外，氨基酸的延展性是另一个重要的影响因素。综合考虑了两种因素的共同影响，发现与统计结果基本一致。这些结果有助于理解氨基酸形成  $\beta$ -sheet 结构倾向性大小，基于此，本论文选取了最易形成  $\beta$ -sheet 结构的异亮氨酸 (I) 组成短肽中的疏水端，来研究短肽自组装过程中手性的传递机制。

(2) 通过对 Lys 手性变化影响  $\text{Ac-I}_n\text{K}_m\text{-NH}_2$  组装体形貌的研究，成功从理论上将短肽分子手性与更高层次的组装体手性关联起来，并揭示了肽链扭曲的微观起源。成功建立了单条肽  $\beta$  链的手性与肽原纤维的超结构性之间的关系：右旋  $\beta$  链堆积成左旋  $\beta$ -折叠和原纤维，左旋  $\beta$  链结合成左旋  $\beta$ -折叠和原纤维，而基本不偏转  $\beta$  链堆积成纳米带状结构。此外，对单个  $\beta$  链的进一步 RDG 分析表明，侧链和肽主链之间以及侧链之间的分子内非共价相互作用是造成其扭曲的根本原因。

本文的理论工作提供了一张蓝图，用于判断短肽链的分子有序性，并在肽的分层自组装过程中跟踪其有序性发展，这与许多报道的针对分层自组装的特定阶段的仿真工作形成了鲜明的对比。研究结果不仅有助于人们对生物系统中复杂超分子手性结构形成机制的理解，也为材料科学中的手性超分子结构或材料的制备奠定了基础。

## 参考文献

- [1] Li J, Wang J, Zhao Y, et al. Surfactant-like peptides: From molecular design to controllable self-assembly with applications[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2020, 421(12): 213-218.
- [2] Charles, J., Bowerman, et al. Review self-assembly of amphipathic  $\beta$ -sheet peptides: Insights and applications[J]. *Peptide Science*, 2012, 98(3): 169-184.
- [3] Koutsopoulos S, Zhang S. Long-term three-dimensional neural tissue cultures in functionalized self-assembling peptide hydrogels, Matrigel and Collagen I[J]. *Acta Biomaterialia*, 2013, 9(2): 5162-5169.
- [4] Koutsopoulos S, Zhang S. Two-layered injectable self-assembling peptide scaffold hydrogels for long-term sustained release of human antibodies[J]. *Journal of Controlled Release*, 2012, 160(3): 451-458.
- [5] Mishra A, Loo Y, Deng R, et al. Ultrasmall natural peptides self-assemble to strong temperature-resistant helical fibers in scaffolds suitable for tissue engineering[J]. *Nano Today*, 2011, 6(3): 232-239.
- [6] Crick., Francis. Central dogma of molecular biology[J]. *Nature*, 1970, 3(12): 167-171.
- [7] Walhout, Albertha. *Biochemistry and molecular biology*[M]. Oxford University Press, 2009.
- [8] Richardson J S. Introduction to protein architecture[J]. *Biochemistry & Molecular Biology Education*, 2001, 29(3): 129-130.
- [9] Fauchere J L, Pliska. V. Hydrophobic parameters  $\pi$  of amino-acid side chains from the partitioning of N-acetyl-amino-acid amides[J]. *Eur. J. Med. Chem*, 1983, 18(4): 369-375.
- [10] Mcj W, Aguilar M I, Mtw H. Physicochemical Basis of Amino Acid Hydrophobicity Scales: Evaluation of Four New Scales of Amino Acid Hydrophobicity Coefficients Derived from RP-HPLC of Peptides[J]. *Analytical Chemistry*, 1995, 67(7): 1210-1219.
- [11] Fauchere J L, Pliska. V. Hydrophobic parameters  $\pi$  of amino-acid side chains from the partitioning of N-acetyl-amino-acid amides[J]. *Eur. J. Med: chem*, 1983, 18(4): 369-375.
- [12] Voet D, Voet J G, Pratt C W. *Fundamentals of Biochemistry*[J]. *fundamentals of biochemistry*, 2008, 15(2): 1452.



- [13] Fleming, S., Ulijn, et al. Design of nanostructures based on aromatic peptide amphiphiles[J]. *Chemical Society Reviews*, 2014, 43(23): 8150-8177.
- [14] Ulijn R V, Smith A M. Designing peptide based nanomaterials[J]. *Chemical Society Reviews*, 2008, 37(4): 664-675.
- [15] Boyle A L, Woolfson D N. De novo designed peptides for biological applications[J]. *Chemical Society Reviews*, 2011, 40(8): 4295-4306.
- [16] Nilsson B B L. A reductive trigger for peptide self-assembly and hydrogelation[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2010, 132(28): 9526-9527.
- [17] Xiao M, Shawkey M D, Gianneschi N C. Melanin-Inspired Polymeric Peptide Pigments with Tunable Sequence-Dependent Behavior[J]. *Chem*, 2017, 3(1): 28-30.
- [18] Lampel A, Mcphee S A, Park H A, et al. Polymeric peptide pigments with sequence-encoded properties[J]. *Science*, 2017, 356(6342): 1064-1068.
- [19] Griffin M, Casadio R, Bergamini C M. Transglutaminases: Nature's biological glues[J]. *Biochemical Journal*, 2003, 368(Pt 2): 377-396.
- [20] Chen C, Zhang Y, Fei R, et al. Hydrogelation of the Short Self-Assembling Peptide I3QGK Regulated by Transglutaminase and Use for Rapid Hemostasis[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, 8(28): 17833-17836.
- [21] Whitesides G M, Mathias J P, Seto C T. Molecular self-assembly and nanochemistry: a chemical strategy for the synthesis of nanostructures[J]. *Science*, 1991, 254(5036): 1312-1319.
- [22] Zhang S. Fabrication of novel biomaterials through molecular self-assembly[J]. *Nature Biotechnology*, 2003, 21(10): 1171-1178.
- [23] Petsko G A. Structure and mechanism in protein science: a guide to enzyme catalysis and protein folding[J]. *Nature*, 1999, 401(6749): 115-116.
- [24] Perutz M F, Staden R, Moens L, et al. Polar zippers[J]. *Current Biology*, 1993, 3(5): 249-253.
- [25] Wang M, Wang J, Zhou P, et al. Nanoribbons self-assembled from short peptides demonstrate the formation of polar zippers between  $\beta$ -sheets[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(3): 5118-5125.
- [26] Chakrabarty A, Kortemme T, Baldwin R L. Helix propensities of the amino acids

- measured in alanine-based peptides without helix-stabilizing side-chain interactions[J]. *Protein Science*, 2010, 3(5): 843-852.
- [27] A.M., Smith, R.J., et al. Fmoc-Diphenylalanine Self Assembles to a Hydrogel via a Novel Architecture Based on  $\pi$ - $\pi$  Interlocked  $\beta$ -Sheets[J]. *Advanced Materials*, 2010, 20(1): 37-41.
- [28] Yang Z, Gu H, Fu D, et al. Enzymatic Formation of Supramolecular Hydrogels[J]. *Advanced Materials*, 2006, 2(16): 289-293.
- [29] 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]. *Journal of the American Chemical Society*, 2003, 125(39): 11802-11803.
- [30] Zhu P, Dr X Y, Su Y, et al. Solvent-induced structural transition of self-assembled dipeptide: from organogels to microcrystals[J]. *Chemistry*, 2010, 16(10): 3176-3183.
- [31] Zhao Y, Deng L, Wang J, et al. Solvent Controlled Structural Transition of KI4K Self-Assemblies: from Nanotubes to Nanofibrils[J]. *Langmuir the Acs Journal of Surfaces & Colloids*, 2015, 31(47).
- [32] Schneider J P, Pochan D J, Ozbas B, et al. Responsive hydrogels from the intramolecular folding and self-assembly of a designed peptide[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2002, 124(50): 15030-7.
- [33] Ozbas B, Kretsinger J, Rajagopal K, et al. Salt-Triggered Peptide Folding and Consequent Self-Assembly into Hydrogels with Tunable Modulus[J]. *Macromolecules*, 2004, 548(19): 7331-7337.
- [34] Hartgerink J D, Beniash E, Stupp S I. Peptide-amphiphile nanofibers: A versatile scaffold for the preparation of self-assembling materials[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(8): 5133-5133.
- [35] Papapostolou D, Smith A M, Atkins E D T, et al. Engineering nanoscale order into a designed protein fiber[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, 104(26): 10853-10858.
- [36] Banwell, Abelardo E F, Adams E S, et al. Rational design and application of responsive  $\alpha$ -helical peptide hydrogels[J]. *Nature Materials*, 2009, 8(7): 596-600.
- [37] Woolfson D N, Mahmoud Z N. More than just bare scaffolds: towards multi-component

- and decorated fibrous biomaterials[J]. *Chemical Society Reviews*, 2010, 39(9): 1-17.
- [38] Han S, Cao S, Wang Y, et al. Self-Assembly of Short Peptide Amphiphiles: The Cooperative Effect of Hydrophobic Interaction and Hydrogen Bonding[J]. *Chemistry*, 2011, 17(46): 13095-13102.
- [39] Zhou P, Xu H, Wang J Q, et al. Interplay between Intrinsic Conformational Propensities and Intermolecular Interactions in the Self-Assembly of Short Surfactant-like Peptides Composed of Leucine/Isoleucine[J]. *Langmuir*, 2016, 32(18): 1246-1251.
- [40] Paramonov S, Jun H, Hartgerink J. Self-assembly of peptide-amphiphile nanofibers: the roles of hydrogen bonding and amphiphilic packing[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2006, 128(22): 7291-7298.
- [41] Ghadiri M R, Granja J R, Milligan R A, et al. Self-assembling organic nanotubes based on a cyclic peptide architecture[J]. *Nature*, 1993, 366(6453): 324-328.
- [42] Bong D T, Clark T D, And J R G, et al. Self-Assembling Organic Nanotubes[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2001, 40(6): 988-1011.
- [43] Vauthey, S. Molecular self-assembly of surfactant-like peptides to form nanotubes and nanovesicles[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, 99(8): 5355-5360.
- [44] Dong H, Paramonov S E, Aulisa L, et al. Self-assembly of multidomain peptides: balancing molecular frustration controls conformation and nanostructure[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2007, 129(41): 12468-12472.
- [45] Santoso S, Hwang W, Hartman H, et al. Self-assembly of Surfactant-like Peptides with Variable Glycine Tails to Form Nanotubes and Nanovesicles[J]. *Nano Letters*, 2002, 2(7): 687-691.
- [46] Khoe U, Yang Y, Zhang S. Self-assembly of nanodonut structure from a cone-shaped designer lipid-like peptide surfactant[J]. *Langmuir the Acs Journal of Surfaces & Colloids*, 2009, 25(7): 4111-4114.
- [47] Van Hell A J, Costa C I C A, Flesch F M, et al. Self-assembly of recombinant amphiphilic oligopeptides into vesicles[J]. *Biomacromolecules*, 2007, 8(9): 2753-2759.
- [48] Hauser C a E, Deng R, Mishra A, et al. Natural tri- to hexapeptides self-assemble in water to amyloid beta-type fiber aggregates by unexpected alpha-helical intermediate

- structures[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011, 108(4): 1361-1366.
- [49] Zhao Y, Wang J, Deng L, et al. Tuning the Self-Assembly of Short Peptides via Sequence Variations[J]. *Langmuir*, 2013, 29(44): 13457-13464.
- [50] Zhao Y, Deng L, Yang W, et al. Tuning One-Dimensional Nanostructures of Bola-Like Peptide Amphiphiles by Varying the Hydrophilic Amino Acids[J]. *Chemistry - A European Journal*, 2016, 22(32): 1108-1112.
- [51] Silva E R D, Alves W A, Castelletto V, et al. Self-assembly pathway of peptide nanotubes formed by a glutamic acid-based bolaamphiphile[J]. *Chemical Communications*, 2015, 51(58): 11634-11637.
- [52] Hamley, Ian W, Burholt, et al. Shear Alignment of Bola-Amphiphilic Arginine-Coated Peptide Nanotubes[J]. *Biomacromolecules*, 2017, 18(5): 141-149.
- [53] Zhao Y, Yang W, Wang D, et al. Controlling the Diameters of Nanotubes Self-Assembled from Designed Peptide Bolaphiles[J]. *Small*, 2018, 14(12): 1703216.
- [54] Wang M, Zhou P, Xu H, et al. Left or Right: How Does Amino Acid Chirality Affect the Handedness of Nanostructures Self-Assembled from Short Amphiphilic Peptides?[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2017, 139(11): 4185-4194.
- [55] Bai J, Chen C, Wang J, et al. Enzymatic Regulation of Self-Assembling Peptide A9K2 Nanostructures and Hydrogelation with Highly Selective Antibacterial Activities[J]. *Acs Appl Mater Interfaces*, 2016, 8(24): 15093-15102.
- [56] Xu H, Wang Y, Ge X, et al. Twisted Nanotubes Formed from Ultrashort Amphiphilic Peptide I3K and Their Templating for the Fabrication of Silica Nanotubes[J]. *Chemistry of Materials*, 2010, 4(2): 694-701.
- [57] Nagai A, Nagai Y, Qu H, et al. Dynamic behaviors of lipid-like self-assembling peptide A6D and A6K nanotubes[J]. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2007, 7(7): 2246-2252.
- [58] Yang S J, Zhang S. Self-assembling Behavior of Designer Lipid-like Peptides[J]. *Supramolecular Chemistry*, 2006, 18(5): 389-396.
- [59] Han S, Xu W, Meiwen C, et al. Interfacial adsorption of cationic peptide amphiphiles: A combined study of in situ spectroscopic ellipsometry and liquid AFM[J]. *Soft Matter*, 2011, 8(3): 645-652.

- [60] Hamley I, Dehsorkhi A, Castelletto V. Self-assembled arginine-coated peptide nanosheets in water[J]. *Chemical Communications*, 2013, 49(18): 1850-1852.
- [61] Castelletto V, Gouveia R M, Connon C J, et al. Alanine-rich amphiphilic peptide containing the RGD cell adhesion motif: a coating material for human fibroblast attachment and culture[J]. *Biomaterials Science*, 2014, 2(3): 362.
- [62] Belica-Pacha S, Michalska-Tycka M, Ciechańska M, et al. The enthalpies of dilution of some dipeptides in water at 298.15 K[J]. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 2020: 106338.
- [63] Mark, P., Hendrick, et al. Supramolecular Assembly of Peptide Amphiphiles[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2017, 50(10): 2452-2458.
- [64] Usov I, Adamcik J, Mezzenga R. Polymorphism Complexity and Handedness Inversion in Serum Albumin Amyloid Fibrils[J]. *Acs Nano*, 2013, 7(12): 10465-10474.
- [65] Marchesan, Easton, Styan. Chirality effects at each amino acid position on tripeptide self-assembly into hydrogel biomaterials[J]. *Nanoscale*, 2014, 6(10): 5172-5180.
- [66] Fu Y, Li B, Huang Z, et al. Terminal is important for the helicity of the self-assemblies of dipeptides derived from alanine[J]. *Langmuir*, 2013, 29(20): 6013-6017.
- [67] Lara C, Reynolds N P, Berryman J T, et al. ILQINS Hexapeptide, Identified in Lysozyme Left-Handed Helical Ribbons and Nanotubes, Forms Right-Handed Helical Ribbons and Crystals[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2014, 136(12): 4732-4739.
- [68] Marchesan S, Easton C D, Kushkaki F, et al. Tripeptide self-assembled hydrogels: unexpected twists of chirality[J]. *Chemical Communications*, 2012, 48(16): 2195-2197.
- [69] Marchesan S, Styan K, Easton C D. Higher and lower supramolecular orders for the design of self-assembled heterochiral tripeptide hydrogel biomaterials[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2015, 3(41): 8123-8132.
- [70] Vargiu A V, Iglesias D, Styan K, et al. Design of a hydrophobic tripeptide that self-assembles into amphiphilic superstructures forming a hydrogel biomaterial[J]. *Chemical Communications*, 2016, 52(35): 5912-5915.
- [71] Lin S, Li Y, Li B, et al. Control of the Handedness of Self-assemblies of Dipeptides by the Chirality of Phenylalanine and Steric Hindrance of Phenylglycine[J]. *Langmuir the Acs Journal of Surfaces & Colloids*, 2016, 32(29): 7420-7426.

- [72] Qiguo, Xing, Jiaying, et al. Aromatic Motifs Dictate Nanohelix Handedness of Tripeptides[J]. *Acs Nano*, 2018, 12(12): 12305-12314.
- [73] Wenchun, Feng, Ji-Young, et al. Assembly of mesoscale helices with near-unity enantiomeric excess and light-matter interactions for chiral semiconductors[J]. *Science Advances*, 2017, 3(3): 1601159.
- [74] Rufo C M, Moroz Y S, Moroz O V, et al. Short peptides self-assemble to produce catalytic amyloids[J]. *Nature Chemistry*, 2014, 6(2): 303–309.
- [75] Cox H, Georgiades P, Xu H, et al. Self-Assembly of Mesoscopic Peptide Surfactant Fibrils Investigated by STORM Super-Resolution Fluorescence Microscopy[J]. *Biomacromolecules*, 2017, 18(11): 3481-3491.
- [76] Loo Y, Zhang S, Hauser C a E. From short peptides to nanofibers to macromolecular assemblies in biomedicine[J]. *Biotechnology Advances*, 2012, 30(3): 593-603.
- [77] Maude S, Ingham E, Aggeli A. Biomimetic self-assembling peptides as scaffolds for soft tissue engineering[J]. *Nanomedicine*, 2013, 8(5): 823-847.
- [78] Jung J P, Gasiorowski J Z, Collier J H. Fibrillar Peptide Gels in Biotechnology and Biomedicine[J]. *Biopolymers*, 2010, 94(1): 49-59.
- [79] Collier J H, Rudra J S, Gasiorowski J Z, et al. Multi-component extracellular matrices based on peptide self-assembly[J]. *ChemInform*, 2010, 41(9): 3413-3424.
- [80] Yan C, Pochan D J. Rheological properties of peptide-based hydrogels for biomedical and other applications[J]. *Cheminform*, 2010, 39(9): 3528-3540.
- [81] Fichman G, Gazit E. Self-assembly of short peptides to form hydrogels: design of building blocks, physical properties and technological applications[J]. *Acta Biomaterialia*, 2014, 10(4): 4587-4589.
- [82] Marchesan S. Chirality Effects on Peptide Self-Assembly Unraveled from Molecules to Materials[J]. *Chem*, 2018, 4(8): 678-688.
- [83] Hauser C a E, Loo Y, Lakshmanan A, et al. Peptide Bioink: Self-Assembling Nanofibrous Scaffolds for Three-Dimensional Organotypic Cultures[J]. *Nano Letters*, 2015, 15(10): 6919-25.
- [84] Chen C, Pan F, Zhang S, et al. Antibacterial Activities of Short Designer Peptides: a Link between Propensity for Nanostructuring and Capacity for Membrane Destabilization[J].

- Biomacromolecules, 2010, 11(2): 402-411.
- [85] Chen C, Zhang Y, Hou Z, et al. Rational Design of Short Peptide-Based Hydrogels with MMP-2 Responsiveness for Controlled Anticancer Peptide Delivery[J]. Biomacromolecules, 2017, 18(11): 3563-3571.
- [86] Wang S, Ge X, Xue J, et al. Mechanistic Processes Underlying Biomimetic Synthesis of Silica Nanotubes from Self-Assembled Ultrashort Peptide Templates[J]. Chemistry of Materials, 2011, 23(9): 2466-2474.
- [87] Tao K, Wang J, Li Y, et al. Short peptide-directed synthesis of one-dimensional platinum nanostructures with controllable morphologies[J]. Scientific Reports, 2013, 3: 2565.
- [88] Zhao X, Nagai Y, Reeves P J, et al. Designer short peptide surfactants stabilize G protein-coupled receptor bovine rhodopsin[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006, 103(47): 17707-17012.
- [89] Li J, Gao Y, Kuang Y, et al. Dephosphorylation of d-Peptide Derivatives to Form Biofunctional, Supramolecular Nanofibers/Hydrogels and Their Potential Applications for Intracellular Imaging and Intratumoral Chemotherapy[J]. Journal of the American Chemical Society, 2013, 135(26): 9907-9914.
- [90] Cai Y, Shen H, Zhan J, et al. Supramolecular "Trojan Horse" for Nuclear Delivery of Dual Anticancer Drugs[J]. Journal of the American Chemical Society, 2017, 139(8): 2876-2879.
- [91] Liang C, Zheng D, Shi F, et al. Enzyme-assisted peptide folding, assembly and anti-cancer properties[J]. Nanoscale, 2017, 9(33): 11987-11993.
- [92] Chunhui, Liang, Lushuai, et al. Supramolecular Nanofibers of Drug-Peptide Amphiphile and Affibody Suppress HER2+ Tumor Growth[J]. Advanced healthcare materials, 2018, 7(22): 1800-1809.
- [93] Zhaoqianqifeng, Tengfeizhang, Huaiminwang, et al. Supramolecular catalysis and dynamic assemblies for medicine[J]. Chemical Society Reviews, 2017, 46(21): 6470-6479.
- [94] Wang, Huaimin, Feng, et al. Bioinspired assembly of small molecules in cell milieu[J]. Chemical Society Reviews, 2017, 46(9): 2421-2436.
- [95] Wang Q, Zhang X, Zheng J, et al. Self-assembled peptide nanotubes as potential nanocarriers for drug delivery[J]. RSC Advances, 2014, 4(48): 25461-25469.
- [96] Yuwono V M, Hartgerink J D. Peptide amphiphile nanofibers template and catalyze silica

- nanotube formation[J]. Langmuir the Acs Journal of Surfaces & Colloids, 2007, 23(9): 5033-5038.
- [97] Acar H, Garifullin R, Guler M O. Self-assembled template-directed synthesis of one-dimensional silica and titania nanostructures[J]. Langmuir the Acs Journal of Surfaces & Colloids, 2011, 27(3): 1079-1084.
- [98] Wang S, Xue J, Xin G, et al. Biomimetic synthesis of silica nanostructures with controllable morphologies and sizes through tuning interfacial interactions[J]. Chemical Communications, 2012, 48(75): 9415-9417.
- [99] Wang S, Cai Q, Du M, et al. Synthesis of 1D Silica Nanostructures with Controllable Sizes Based on Short Anionic Peptide Self-Assembly[J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2015, 119(36): 12059-12065.
- [100] A Z L, A S W, B S Z. Fabrication of self-assembling d -form peptide nanofiber scaffold d-EAK16 for rapid hemostasis[J]. Biomaterials, 2011, 32(8): 2013-2020.
- [101] Jorgensen W L, Maxwell D S, Tirado-Rives J. Development and testing of the OPLS all-atom force field on conformational energetics and[J]. Journal of the American Chemical Society, 1996, 118(45): 11225-11236.
- [102] Kabsch W. A solution for the best rotation to relate two sets of vectors[J]. Acta Crystallographica, 1976, 32(5): 922-923.
- [103] Chou P Y, Fasman G D. Conformational parameters for amino acids in helical,  $\beta$ -sheet, and random coil regions calculated from proteins[J]. Biochemistry, 1974, 21(11): 562-572.
- [104] Kim C A, Berg J M. Thermodynamic  $[\beta]$ -sheet propensities measured using a zinc-finger host peptide[J]. Nature, 1993, 362(6417): 267-270.
- [105] Jr D L M, Kim P S. Context is a major determinant of  $\beta$ -sheet propensity[J]. Nature, 1994, 7(22): 264-267.
- [106] Ireta J, Neugebauer J R, Scheffler M, et al. Density Functional Theory Study of the Cooperativity of Hydrogen Bonds in Finite and Infinite  $\alpha$ -Helices[J]. Journal of Physical Chemistry B, 2003, 107(35): 9616-9616.
- [107] Rossmeis J, Kristensen I, Gregersen M, et al. Beta-sheet preferences from first principles[J]. Journal of the American Chemical Society, 2003, 125(52): 16383-16386.
- [108] Tirado-Rives J. The OPLS [Optimized Potentials for Liquid Simulations] Potential



- Functions for Proteins, Energy Minimizations for Crystals of Cyclic Peptides and Crambin[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1988, 110(14): 1657.
- [109] Jorgensen, William, L., et al. Development and testing of the OPLS all-atom force field on conformational energetics and[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1996, 118(45): 11225.
- [110] Berendsen H, Grigera J, Straatsma T. The missing term in effective pair potentials[J]. *Journal of Physical Chemistry*, 1987, 91(24): 6269-6271.
- [111] Nos'e S. A unified formulation of the constant temperature molecular dynamics methods[J]. *Journal of Chemical Physics*, 1984, 81(1): 511-511.
- [112] Martyna G J, Tobias D J, Klein M L. Constant pressure molecular dynamics algorithms[J]. *Journal of Chemical Physics*, 1994, 101(5): 4177.
- [113] Hockney R W, Goel S P, Eastwood J W. Quiet High-Resolution Computer Models of a Plasma[J]. *Journal of Computational Physics*, 1974, 14(2): 148-158.
- [114] Frisch M, Trucks G, Schlegel H, et al. 09, Revision D. 01, Gaussian[J]. Inc., Wallingford, CT, 2009, 32(14): 5648-5652.
- [115] Adamo C, Barone V. Toward reliable density functional methods without adjustable parameters: The PBE0 model[J]. *Journal of Chemical Physics*, 1999, 110(13): 6158-6170.
- [116] Weigend F, Ahlrichs R. Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: Design and assessment of accuracy[J]. *Physical Chemistry Chemical Physics Pccp*, 2005, 7(18): 3297-3305.
- [117] Eike, Caldeweyher, Sebastian, et al. A generally applicable atomic-charge dependent London dispersion correction[J]. *Journal of Chemical Physics*, 2019, 150(15): 154122.
- [118] Boys S F. The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies.[J]. *Molecular Physics*, 1970, 19(4): 553-566.
- [119] Chou P Y, Fasman G D. Prediction of the secondary structure of proteins from their amino acid sequence[J]. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*, 1978, 47(6): 45-148.
- [120] Fujiwara K, Toda H, Ikeguchi M. Dependence of  $\alpha$ -helical and  $\beta$ -sheet amino acid propensities on the overall protein fold type[J]. *BMC Structural Biology*, 2012, 12(1): 18-18.
- [121] Lu T, Chen F. Multiwfn: A multifunctional wavefunction analyzer[J]. *Journal of*

- Computational Chemistry, 2012, 33(5): 580-592.
- [122] Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD: Visual molecular dynamics[J]. J Mol Graph, 1996, 14(1): 33-38.
- [123] Aggeli, A., Nyrkova, et al. Hierarchical self-assembly of chiral rod-like molecules as a model for peptide  $\beta$ -sheet tapes[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001, 98(21): p11857.
- [124] Jackson N E, Savoie B M, Kohlstedt K L, et al. Controlling Conformations of Conjugated Polymers and Small Molecules: The Role of Nonbonding Interactions[J]. Journal of the American Chemical Society, 2013, 135(28): 10475-10483.
- [125] Johnson E R, Keinan S, Mori-Sanchez P, et al. Revealing noncovalent interactions[J]. Journal of the American Chemical Society, 2010, 132(18): 6498.

## 致 谢

流年似水，佳期如梦。转瞬即逝间，三年的硕士生活已步入尾声。回想在中国石油大学度过的七年时光，心中感慨万千，却清楚地记得初入石大时的新奇与懵懂。这一路走来，有过成功的喜悦，也有失败的黯然神伤，有春风化雨的老师在学业上传道授业解惑，也有志同道合的好友朝夕相伴。

师恩难忘，难忘师恩，首先我要特别感谢我的导师张军教授。在生活中，每当我迷茫，无助的时候，张老师总是会和我促膝长谈，帮我抚平心中的波澜。在科研中，每当我遇到困难时，张老师总是会用他渊博的知识为我答疑解惑，指引我前进。三年来，张老师不仅仅是学业上的良师，更是我生活中敬重的长辈，教会我许多为人处事的道理。借此机会，再次谨向老师致以我深深地谢意。

感谢徐海老师、燕友果老师、李振老师对我从论文选题的方法，结构框架的梳理，到内容的充实和完善科研方面给予我的指导和帮助。感谢王慕涵师兄、李嘉伟师兄、王俊峰师兄、么强师兄在我的科研学习道路上的大力协助和在生活上的照顾与陪伴。感谢课题组师弟师妹的陪伴与成长，祝大家前程似锦。感谢材料多尺度模拟课题组这个平台，为我提供良好的科研学习环境，让我感受到家的温暖，衷心祝愿课题组的明天越来越好。

感谢我的同学和朋友，几年来的朝夕相伴、同窗之谊，永生难忘。

感谢我的家人，没有你们，就没有我的今天，你们的支持和鼓励永远是我前进的最大动力。

最后要感谢我的母校，七年时光时光转瞬即逝，石大永远是我的最坚实的后盾。群鸿飞四海，旧忆留故园，海阔凭鱼跃，天高任鸟飞。未来我还将在石大度过我的博士时光，希望我能带着“惟真惟实”的石大精神，勇敢的再次启航。