

中图分类号: Q615

单位代码: 10425

学 号: B17090201



中國石油大學

# 博士学位论文

China University of Petroleum Doctoral Dissertation

## 仿病毒纳米颗粒与细胞膜相互作用的 耗散粒子动力学研究

**Dissipative Particle Dynamics Study of Interactions between  
Virus-like Nanoparticle and Cell Membrane**

学科专业: 材料科学与工程

研究方向: 材料多尺度模拟与分子设计

作者姓名: 李嘉伟

指导教师: 张 军 教授

二〇二一年五月

**Dissipative Particle Dynamics Study of Interactions between  
Virus-like Nanoparticle and Cell Membrane**

A Dissertation Submitted for the Degree of Doctor of Philosophy

**Candidate: Li Jiawei**

**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过的研究成果，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：\_\_\_\_\_ 日期： 年 月 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：\_\_\_\_\_ 日期： 年 月 日

指导教师签名：\_\_\_\_\_ 日期： 年 月 日



# 摘 要

纳米颗粒由于其独特的物理化学性质在药物输运和细胞成像等生物医学领域有着重要的应用，但目前以各种纳米颗粒为基础的诊疗应用中，仍存在细胞内化效率低和毒副作用强等问题，限制了纳米医学的进一步发展。近年来，受病毒传染能力和特殊形貌的启发，研究者们发现通过拟态病毒形貌可以帮助纳米颗粒在生物医学应用中实现更好的诊疗效果，如实现更高的输运/转染效率和更长血液循环时间等。虽然仿病毒纳米颗粒在生物医学领域展现出显著的优势，但关于仿病毒纳米颗粒的研究还在起步阶段，关于纳米颗粒表面拓扑结构影响纳米颗粒生物界面行为的理论研究非常匮乏，一定程度上局限了生物医学用仿病毒纳米颗粒的进一步优化。因此，深入理解仿病毒纳米颗粒与生物界面，尤其是与细胞膜间的相互作用，对于在生物医学领域更好地利用仿病毒纳米颗粒有着非常重要的科学意义和实用价值。本论文主要采用耗散粒子动力学模拟方法，对仿病毒纳米颗粒与细胞膜间的相互作用过程及影响因素开展系统研究，力求从微观介观角度揭示纳米颗粒的表面拓扑结构影响纳米颗粒与细胞膜间相互作用的机理，从而为实验上仿病毒纳米颗粒的理性设计提供理论支持。本论文的具体研究内容如下：

(1) 明确了仿病毒纳米颗粒表面的刺突影响纳米颗粒渗透穿膜能力的微观机理。本论文对比研究了仿病毒纳米颗粒与传统纳米颗粒的渗透穿膜过程，验证了纳米颗粒表面拓扑结构对穿膜效率的影响，并通过对比不同纳米颗粒穿膜的动力学过程发现仿病毒纳米颗粒可以实现更高穿膜效率的主要原因是其表面刺突对细胞膜双分子层结构的预先扰动造成了双分子层有序结构的提前破坏，此外刺突在穿膜过程中导致的周围磷脂分子的流体化作用也是仿病毒纳米颗粒可以实现更高穿膜效率的重要原因。进一步地，通过大量对比具有不同刺突数目和刺突长度的仿病毒纳米颗粒的穿膜过程和穿膜效率，对仿病毒纳米颗粒穿膜效率的进一步提升提出了理论建议。

(2) 剖析了仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞过程以及刺突数目和长度对颗粒内吞效率的影响。通过对比研究具有不同刺突数目和长度的仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞过程，发现刺突对仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞效率可以产生双相作用，即相对较短的刺突可以促进提升颗粒的内吞效率而相对较长的刺突则会阻碍内吞过程，且刺突数目对内吞效率的影响较为次要。通过对颗粒内吞动态过程的分析发现刺突长度对颗粒周围磷脂及受体扩散能力的影响是双相作用产生的关键因素，研究结果对于设计在生物医学

领域具有特定功能的纳米颗粒具有重要的指导意义。

(3) 探明了仿病毒纳米颗粒的亲疏水性质对颗粒内化效率及协同行为的影响。通过对比研究具有不同亲疏水排布的仿病毒纳米颗粒与细胞膜间的相互作用模式及过程证明仿病毒纳米颗粒的内化效率主要受刺突亲疏水性质的影响，发现两亲刺突最有利于颗粒内化。对仿病毒纳米颗粒内化过程中的协同行为的进一步研究发现颗粒间的协同行为主要受内核亲疏水性的影响，并对颗粒的协同行为对细胞膜的作用开展了分析，研究结果对仿病毒纳米颗粒在应用过程中动力学行为的控制具有指导意义。

(4) 揭示了仿病毒纳米颗粒的刺突形状对颗粒跨膜效率的作用。以实验研究中报道的仿病毒纳米颗粒为基础，设计了具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒并对其渗透能力和受体介导内吞过程开展研究，揭示了刺突结构对颗粒内化能力的影响规律及微观机制，为制备合成具有更强内化能力的仿病毒纳米颗粒提供了理论依据。

**关键词：** 仿病毒纳米颗粒，细胞膜，渗透，内吞，耗散粒子动力学

# **Dissipative Particle Dynamics Study of Interactions between Virus-like Nanoparticle and Cell Membrane**

Li Jiawei (Materials Science and Engineering)

Directed by Prof. Zhang Jun

## **Abstract**

Due to the intrinsic physical and chemical properties of nanoparticles (NPs), they have been widely used in biomedical fields, such as drug delivery and cell imaging et al. However, some serious drawbacks still exist in the NP-based diagnostic and therapeutic applications, including the low internalization efficiency and side effects of NPs, which limit the further development of nanomedicine. In recent years, inspired by the unique spiky surface and superior transmission ability of virus, morphologically virus-like nanoparticles (VLPs) have been successfully synthesized, and it is experimentally demonstrated that the cellular uptake properties of NPs can be improved by mimicking the spiky surfaces of viruses. For instance, it is reported that the VLPs can achieve higher transmembrane efficiency and longer blood circulation time as compared with traditional NPs. However, this field is still in its infant stage and some intractable problems remain unresolved. Especially, the theoretical and simulation investigation on how the virus-like surface topology affects NP–membrane interactions has not been reported yet, and such investigation is envisioned to provide useful information for designing and optimizing NPs for versatile biomedical applications. Therefore, an in-depth understanding of the interactions between VLPs and membrane is essential for the development of VLPs for biomedical applications. In this work, dissipative particle dynamics (DPD) was employed to systematically investigate the internalization of VLPs, as well as the factors influencing VLP-membrane interactions. These studies provide an important theoretical guidance for the optimization and design of VLPs for biomedical applications. The main research contents in this thesis are summarized below.

The microscopic mechanisms of the spikes of VLPs affecting the penetrability of VLPs have been clarified. By comparing the penetration process of VLPs and traditional NPs, it is verified the significant effect of the surface nanotopology on the penetrability of NPs. Moreover, by investigating the penetration process of different NPs, it is found that the presence of spikes

can help to increase the lateral defects in the bilayer, decrease the vertical deformation of the bilayer, and lower the density of nearby lipids during the translocation process. These effects of spikes jointly contribute to the superior penetrability of VLPs. Furthermore, by comparing the transmembrane process and transmembrane efficiency of VLPs with different spike numbers and spike lengths, theoretical suggestions were put forward for improving the internalization efficiency of VLPs, which holds great promise for the development of NP-based diagnostic and therapeutic agents with advanced functionalities.

The receptor-mediated endocytosis process of VLPs has been investigated, and the effects of the spike number and spike length on the endocytosis efficiency of VLPs have been analyzed. By comparing the dynamic process of receptor-mediated endocytosis of VLPs with different spike number and spike length, it is found that the spikes can produce biphasic effect on the receptor-mediated endocytosis efficiency of VLPs, meaning that the relative short spikes can enhance the endocytosis efficiency of VLPs, while relatively long spikes can hinder endocytosis process. Meanwhile, the effect of spike number on endocytosis efficiency of VLP is insignificant. Further investigation on endocytosis process demonstrated that the effect of the spike length on the wrapping mode of the particle and the diffusion ability of the surrounding lipids is the main reason for the biphasic effect of spikes. The obtained results of this part serve as a foundation for future studies toward the rational design of VLPs with specific functions for biomedical applications.

The influences of the hydrophobicity properties of the VLPs on the internalization efficiency and the cooperative behavior of VLPs have been clarified. The comparative study of the interactions between membrane and VLPs with different hydrophobicity arrangement demonstrates that the internalization efficiency of VLPs is mainly affected by the hydrophobicity of the spikes. The uptake efficiency of VLP can be improved with changing hydrophilic VLP spikes into hydrophobic spikes or amphiphilic block spikes. With the goal of controlling the dynamics behavior of VLPs in the practical applications, the multi-particle model was used to conduct further research on the cooperative behavior of VLPs during the internalization process. It is found that the cooperative effect is enhanced as the core of VLP changes from hydrophilic to hydrophobic. These findings highlight that the regulation of hydrophobicity arrangement of VLP can be an efficient strategy for controlling the VLP-

membrane interactions.

The effects of spike shape of VLPs on the non-specific and specific interaction between the VLPs and the cell membrane have been elucidated. Based on the VLPs in experimental studies, VLP models with different kinds of spike shape were built and investigated. By analyzing their penetration and receptor-mediated endocytosis process, the effects of spike shape on the internalization ability of VLPs were clarified. Moreover, with elucidating the underlying mechanisms of spike shape affecting the transmembrane efficiency of VLPs, the theoretical suggestions for optimization of VLPs were put forward, which serve as a foundation for future studies towards the development of VLP-based diagnostics and therapeutics.

**Key words:** Virus-like Nanoparticle, Cell Membrane, Penetration, Endocytosis, Dissipative Particle Dynamics

## 论文创新点摘要

本工作创新性地引入耗散粒子动力学模拟方法，以近年来新发展的仿病毒纳米颗粒为研究对象，突破传统实验研究的局限性，探索了仿病毒纳米颗粒的跨膜过程及影响因素，为生物医药用仿病毒纳米颗粒的理性设计提供了新的视角和新的思路。

**1. 探索了仿病毒纳米颗粒跨膜的动态过程，揭示了通过拟态病毒形貌提升纳米颗粒跨膜效率的微观机理。**通过探究仿病毒纳米颗粒与传统纳米颗粒在渗透穿膜过程及受体介导内吞过程中的差异，阐明了纳米颗粒表面刺突形貌对纳米颗粒渗透和内吞过程中细胞膜结构及颗粒动力学行为的影响，提出了仿病毒纳米颗粒的刺突在跨膜过程中对细胞膜结构的预扰动和对颗粒周围磷脂分子扩散性的影响分别是病毒形貌可以帮助提升纳米颗粒渗透能力和受体介导内吞效率的关键。

**2. 明确了刺突长度和数目对颗粒渗透能力和受体介导内吞效率的影响规律，建立了仿病毒纳米颗粒结构性质与颗粒内化能力间的关系。**基于对具有不同刺突长度和刺突数目的仿病毒纳米颗粒与细胞膜间的相互作用过程及作用模式的定量分析，提出仿病毒纳米颗粒的渗透穿膜能力受刺突长度和数目的共同影响，而其受体介导内吞效率主要受刺突长度的影响且不同长度的刺突会对内吞效率产生两相作用，并对刺突长度和数目影响仿病毒纳米颗粒内化能力的微观机制从动力学和热力学角度进行了分析，加深了仿病毒纳米颗粒结构性质与跨膜效率间构效关系的认识。

**3. 阐明了仿病毒纳米颗粒亲疏水性质和刺突形状对颗粒内化能力的影响，提出了进一步提升仿病毒纳米颗粒内化能力的方法。**系统分析了具有不同亲疏水性质和刺突形状的仿病毒纳米颗粒的内化过程和内化效率，提出了刺突和内核的亲疏水性质分别是影响仿病毒纳米颗粒内化能力和协同行为的关键，揭示了刺突形状对颗粒跨膜效率的影响规律和作用机制。研究工作将为生物医药用仿病毒纳米颗粒的理性设计提供基础数据和理论指导。

# 目 录

<b>第一章 绪论</b> .....	<b>1</b>
1.1 引言 .....	1
1.2 纳米颗粒在生物医学领域的应用 .....	3
1.2.1 纳米颗粒的定义与分类 .....	3
1.2.2 基于纳米颗粒的诊疗应用 .....	3
1.3 仿病毒纳米颗粒在生物医学领域的研究现状 .....	6
1.3.1 仿生纳米材料概述 .....	6
1.3.2 仿病毒纳米颗粒的发展与应用 .....	7
1.3.3 有机仿病毒纳米颗粒 .....	9
1.3.4 无机仿病毒纳米颗粒 .....	11
1.3.5 杂化仿病毒纳米颗粒 .....	13
1.4 纳米颗粒与细胞膜间的相互作用研究 .....	16
1.4.1 细胞膜的组成与功能 .....	16
1.4.2 纳米颗粒与细胞膜间的相互作用研究 .....	17
1.5 耗散粒子动力学在生物界面研究中的应用 .....	19
1.5.1 耗散粒子动力学的理论基础 .....	21
1.5.2 耗散粒子动力学的发展与应用 .....	22
1.5.3 基于耗散粒子动力学的生物界面研究现状 .....	23
1.6 本论文的研究意义、研究思路及研究内容 .....	27
<b>第二章 仿病毒纳米颗粒穿膜过程与效率研究</b> .....	<b>30</b>
2.1 引言 .....	30
2.2 模型建立与计算方法 .....	30
2.2.1 仿病毒纳米颗粒模型的建立 .....	30
2.2.2 细胞膜及初始模型的构建 .....	31
2.2.3 模拟细节及相互作用参数的选取 .....	32
2.2.4 弹簧力拉伸方法验证 .....	33
2.3 结果与分析 .....	34

2.3.1 刺突长度及数目对穿膜效率的影响.....	34
2.3.2 仿病毒纳米颗粒穿膜的动态过程.....	36
2.3.3 颗粒表面刺突对双分子层结构的影响.....	37
2.4 本章小结.....	40
<b>第三章 仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞行为研究.....</b>	<b>41</b>
3.1 引言.....	41
3.2 模型建立与计算方法.....	41
3.2.1 仿病毒纳米颗粒模型的建立.....	41
3.2.2 细胞膜及初始模型的构建.....	42
3.2.3 模拟细节及相互作用参数的选取.....	43
3.3 结果与分析.....	44
3.3.1 刺突的长度与数目对内吞效率的影响.....	44
3.3.2 仿病毒纳米颗粒内吞的动态过程.....	46
3.3.3 刺突影响内吞效率的微观机理.....	47
3.3.4 各向异性刺突的影响以及刺突作用的验证.....	51
3.4 本章小结.....	53
<b>第四章 亲疏水性质对仿病毒纳米颗粒内化能力的影响研究.....</b>	<b>55</b>
4.1 引言.....	55
4.2 模型建立与计算方法.....	55
4.2.1 仿病毒纳米颗粒模型的建立.....	55
4.2.2 细胞膜及初始模型的构建.....	56
4.2.3 模拟细节及相互作用参数的选取.....	57
4.3 结果与分析.....	58
4.3.1 亲疏水性质对颗粒与细胞膜间的相互作用状态的影响.....	58
4.3.2 亲疏水性质对颗粒内吞效率的影响.....	60
4.3.3 亲疏水性质对颗粒内化过程中协同行为的影响.....	62
4.4 本章小结.....	65
<b>第五章 刺突形状对仿病毒纳米颗粒内化能力的影响研究.....</b>	<b>66</b>

5.1 引言.....	66
5.2 模型建立与计算方法.....	66
5.2.1 仿病毒纳米颗粒模型的建立.....	66
5.2.2 细胞膜及初始模型的构建.....	67
5.2.3 模拟细节及相互作用参数的选取.....	68
5.3 结果与分析.....	69
5.3.1 刺突形状对颗粒渗透穿膜能力的影响.....	69
5.3.2 刺突形状对颗粒受体介导内吞的影响.....	71
5.4 本章小结.....	75
<b>结论与展望.....</b>	<b>77</b>
<b>攻读博士学位期间取得的研究成果.....</b>	<b>100</b>
<b>致谢.....</b>	<b>103</b>
<b>作者简介.....</b>	<b>105</b>



# 第一章 绪论

## 1.1 引言

纳米颗粒由于其尺寸小、比表面积大、表面能高等特点以及其独特的光学与电学性质等而在生物医学领域有着广泛的应用。目前，以纳米颗粒为平台的生物医学应用主要包括生物成像、生物传感、药物递送、光动力治疗、光热治疗、磁性治疗、抗菌治疗、基因治疗等<sup>[1-9]</sup>，如图 1-1 所示。虽然以纳米颗粒为平台的各种诊疗应用已经展现出了巨大的优势与潜力，但与此同时，也有很多研究指出纳米颗粒在目前的应用中还存在一些限制与弊端，比如纳米颗粒的细胞摄入效率较低以及纳米颗粒可能会对生物体的器官和组织带来一定的毒副作用等<sup>[10-14]</sup>。通过发展更加高效、低毒的纳米颗粒，可以进一步提升纳米颗粒在生物医学领域的应用价值，所以如何优化纳米颗粒使其具备更高的输运效率及更优的生物安全性引起了研究者的广泛关注。在以纳米颗粒为基础的各种诊疗应用中，纳米颗粒从体外经历重重的生理屏障到达靶向细胞之后首先需要接触的便是细胞膜，纳米颗粒与细胞膜间的相互作用对纳米颗粒效用的发挥至关重要<sup>[15-17]</sup>。因此，从微观角度探究纳米颗粒与细胞膜间的相互作用对提升纳米颗粒的摄取、改善纳米颗粒的生物利用度、降低纳米颗粒的毒副作用以保障其安全应用均具有极其重要的意义<sup>[18-21]</sup>。

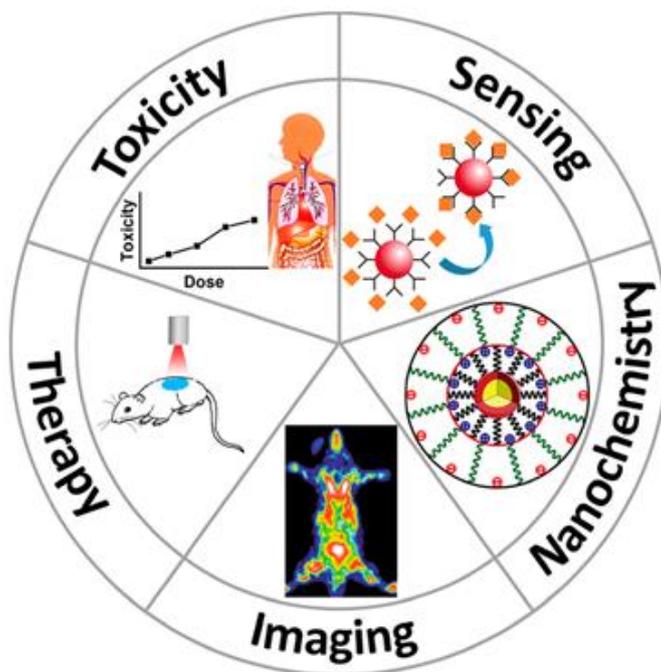


图 1-1 以纳米颗粒为基础的诊断和治疗应用<sup>[1]</sup>

Figure1-1 Nanoparticle-based diagnosis and treatment<sup>[1]</sup>

通过数百万年的进化,自然界中的各种生物体的结构和功能实现了有效的协调统一,其近乎完美的构效特征为设计、制备仿生材料提供了有益的思路、理论和策略<sup>[22-24]</sup>,极大促进了纳米材料的进步和发展。在生物界中,病毒是最特殊的一类物种。病毒,作为极其微小、不能独立生存必须寄生在其他生物体内的没有细胞结构的特殊物种,它们同样经历了漫长的进化<sup>[25]</sup>。虽然,人们对病毒的理解和认识还在不断深化和改变,但可以确定的是,这一介于生物和非生物之间的特殊物种经过漫长的进化具备了极强的入侵细胞的能力<sup>[26]</sup>。在本论文的研究期间,正值新型冠状病毒肆虐全球,新型冠状病毒正是由于其极强的传染性而给人类健康、社会稳定和经济发展带来了巨大的危害<sup>[27,28]</sup>。受病毒极强的传染能力和特殊形貌的启发,近年来,国内外研究者们发现通过拟态病毒形貌、对纳米颗粒进行仿病毒设计,可以有效提升纳米颗粒的性能(更高的载药率、更高的细胞摄取率、更优的稳定性等)<sup>[29-32]</sup>。目前,随着实验研究中仿病毒纳米颗粒合成方法的不断发展,研究者们成功制备合成了多种有机、无机和杂化仿病毒纳米颗粒。然而,仿病毒纳米颗粒的研究目前仍在起步阶段,纳米颗粒的表面拓扑结构影响纳米颗粒内化的机制仍缺少系统深入的理论研究,亟需引入新的方法来对仿病毒纳米颗粒在生物医学领域的进一步发展给予一定的理论指导。

近年来,分子模拟方法逐渐发展成为一种从微观层次研究复杂体系的重要手段,对剖析研究对象的物化性质、微观结构和作用机制等起到了关键的作用<sup>[33-35]</sup>。目前,分子模拟方法已在生物医药用纳米材料的研究中得到一定的应用,通过基于不同理论的分子模拟方法对具有不同物理化学性质的纳米材料与细胞膜间的相互作用开展深入研究,为纳米材料的优化设计和制备合成提供了诸多有益信息和理论支撑<sup>[36-39]</sup>,但由于在实验研究中对纳米颗粒表面拓扑结构的调控方法近年来逐渐发展,专门针对纳米颗粒表面拓扑结构影响颗粒与细胞膜相互作用的模拟研究还未有报道,相关理论的空白亟待补充。鉴于此,本工作拟采用耗散粒子动力学模拟方法,对仿病毒纳米颗粒与细胞膜相互作用的动态过程和机理进行系统研究,剖析仿病毒纳米颗粒的刺突数目、长度、亲疏水性、形状等对仿病毒纳米颗粒跨膜能力的影响,寻找影响仿病毒纳米颗粒跨膜效率的主控因素,以此为仿病毒纳米颗粒的理性设计提供基础数据和理论依据。

在本章中,首先将对纳米颗粒在生物医学领域的应用进行概述,然后对仿病毒纳米颗粒的实验研究现状进行介绍和总结,指出目前实验研究的不足以及未来的发展方向,随后介绍耗散粒子动力学模拟方法在生物界面研究中的应用,最后总结提出本论文的研究思路、研究内容及意义。

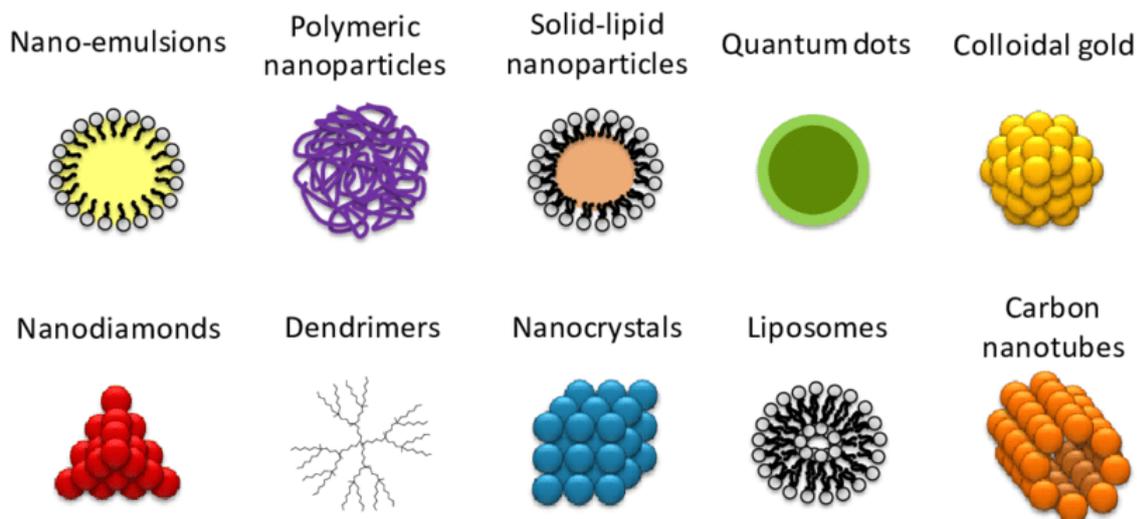
## 1.2 纳米颗粒在生物医学领域的应用

### 1.2.1 纳米颗粒的定义与分类

广义上, 纳米材料是三维空间中至少有一维处于纳米尺度范围超精细颗粒材料的总称<sup>[40]</sup>。当材料的尺寸变为纳米尺度, 材料会展现出很多不同于宏观尺度材料的独特的性质, 其声学、光学、电磁学以及热性能等都会呈现出新的特性。在 1857 年, Michael Faraday 就已成功准确指出纳米材料的特殊性质主要由于其极其微小的尺寸所导致。在上世纪, 随着电子显微技术的不断发展和普及, 为研究者们可以更好的表征纳米材料提供了条件, 研究者们也由此逐渐探明了纳米颗粒的尺寸和形状等结构性质与纳米颗粒性能间的关系。上世纪九十年代后, 合成技术不断进步, 使得大批量制备具备各种功能的纳米颗粒逐步实现。在欧盟委员会在 2011 年的定义中, 纳米材料是一种由基本颗粒组成的粉状、团块状的天然或人工材料, 且这一基本颗粒的一个或多个三维尺寸在 1 纳米至 100 纳米之间, 并且这一基本颗粒的总数量在整个材料的所有颗粒总数中占 50% 以上。按化学组成, 纳米颗粒可分类为纳米高分子、纳米陶瓷、纳米金属、纳米玻璃、纳米晶体和纳米复合材料等; 按材料物性, 纳米颗粒可分为纳米磁性材料、纳米超导材料、纳米铁电体、纳米非线性光学材料、纳米热电材料和纳米半导体等。

### 1.2.2 基于纳米颗粒的诊疗应用

与传统分子药物相比, 纳米颗粒可以发挥小尺寸效应, 从而更易进入细胞, 且由于增强渗透滞留 (Enhanced Permeability and Retention, EPR) 效应, 纳米颗粒更易靶向肿瘤组织, 将药物或 DNA 输送到人体特定的器官<sup>[41,42]</sup>; 此外, 纳米颗粒的比表面积大, 可载带的功能基团也较多, 可实现治疗与疗效跟踪同步化<sup>[43,44]</sup>; 还有很多纳米颗粒还可被制备成中空和多孔等结构, 易于所负载药物的缓释控制等, 从而不仅有助于增加载药量还能在保证药效的情况下减少药物用量, 减轻药物的毒副作用对正常器官或组织的损害<sup>[45,46]</sup>。由于这些独特的性质, 纳米颗粒在生物传感、细胞成像、药物输运等生物医学领域展现出巨大的应用价值<sup>[47-56]</sup>。如图 1-2 所示, 目前广泛应用于生物医学领域的无机纳米材料主要包括金属纳米材料、磁性纳米材料和半导体量子点等, 有机纳米材料主要包括高分子纳米材料、脂质体纳米材料和天然生物大分子材料等, 此外有机-无机杂化材料在生物医学中也有着独特的应用。

图 1-2 常见的用于诊疗的纳米颗粒类型<sup>[47]</sup>Figure 1-2 Typical nanoparticle used in diagnosis and treatment<sup>[47]</sup>

在纳米颗粒的实际应用中，纳米颗粒的化学组分、表面性质、尺寸和结构等均可影响纳米颗粒与细胞的相互作用，从而影响其潜在的生物医学应用，如图 1-3 所示。在金属纳米材料研究方面，由于金纳米颗粒合成方法相对简易以及便于在颗粒表面修饰配体，从而成为生物医学领域最被广泛研究的纳米载体<sup>[57,58]</sup>。此外金纳米颗粒具有独特的催化作用和介电特性，配合其较易调控的颗粒尺寸，使得金纳米颗粒发展成为较为理想的生物探针<sup>[59,60]</sup>，另外金纳米颗粒也常用于利用光热效应抑杀癌细胞<sup>[61,62]</sup>。银纳米颗粒由于其颗粒表面会因为氧化而释放银离子的特性，使其常被用于高效抗菌<sup>[63-65]</sup>。相关研究已充分证实随着银纳米颗粒尺寸的降低其比表面积得到提升，有助于纳米颗粒表面银离子的释放，而银纳米颗粒表面的银离子可以对细胞膜造成损伤从而诱导细胞凋亡，因此使其具备了独特的抗菌性能。在磁性纳米颗粒研究方面，各种各样的功能磁性纳米颗粒——包括铁、钴、锰和镍的超顺磁铁氧体纳米颗粒等，已被证实可以在生物医学中发挥独特的作用<sup>[66-68]</sup>。现阶段，研究者们已发展出了以微乳液法、水热合成法和共沉淀法等为代表的多种合成方法来制备稳定性较好且形貌可控的磁性纳米颗粒。目前磁性纳米颗粒在生物医学领域中的主要应用方式为利用纳米颗粒小尺寸的特点使其经历生物屏障后递送至生物靶点，并在安全且无组织穿透深度限制的外磁场的作用之下，利用磁性纳米材料的磁、热、力等物理效应影响生物靶点，继而实现诊断和治疗。量子点，又称半导体纳米晶，是一类由 II-VI 族或 III-V 族元素组成的稳定且尺寸在 2~20nm 之间的纳米晶体，其中 II-VI 族量子点的合成方法更加简便且光学性质更佳。在生物领域，量子点主

要有三方面的应用<sup>[69-71]</sup>：一是作为小分子探针用以检测药物分子等；二是作为生物探针用以活体成像和细胞组织标记等；三是作为离子探针用于阴离子及金属离子的检测等。近年来，也有诸如 CdSeTe 和 CdTeTg 等合金量子点被制备以提升量子产率，随着合成技术的不断发展，量子点有望在生物医学领域发挥更大的优势。二氧化硅基纳米颗粒在生物医学中是常被设计为纳米载体的一类纳米材料，二氧化硅基纳米颗粒具有出色的生物相容性以及便于控制的物理化学特性，尤其是在粒径和形貌方面，研究者们利用二氧化硅成功设计合成出了具有丰富形貌和介观结构的二氧化硅纳米颗粒以提升颗粒的靶向和控释性能<sup>[2,72-74]</sup>。

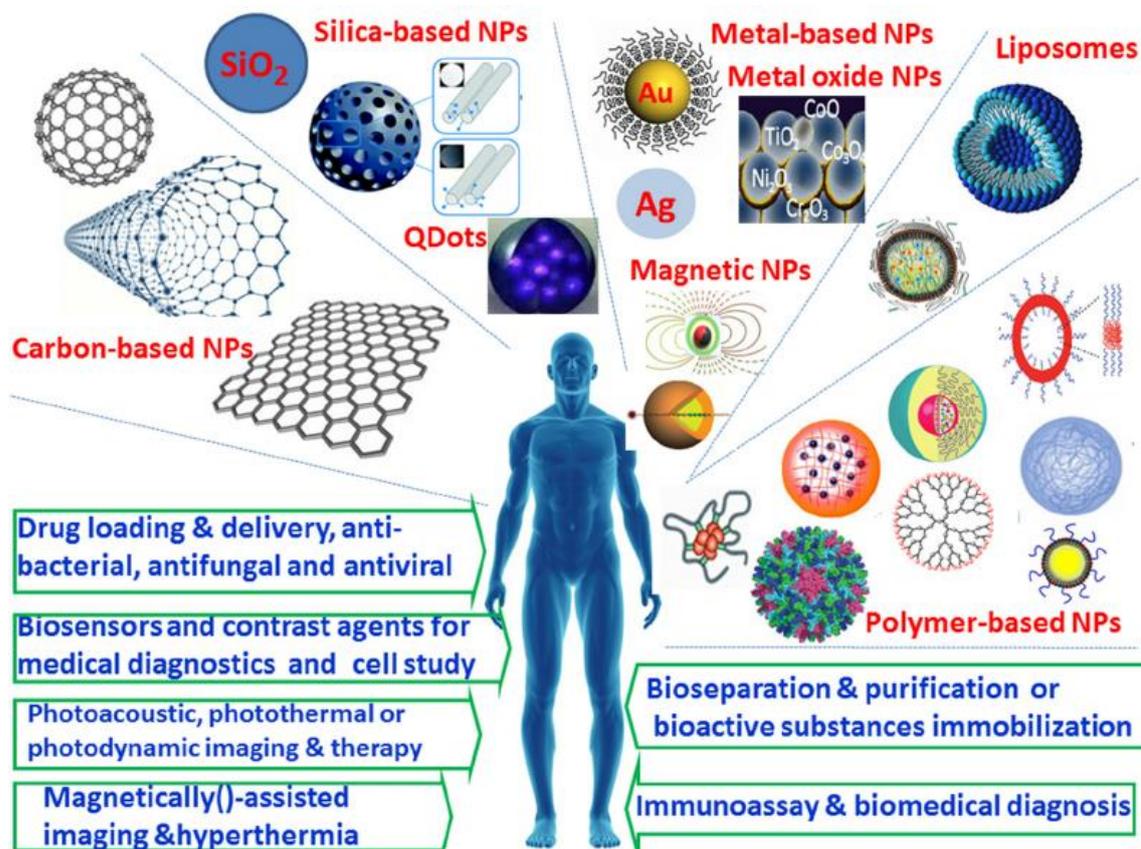


图 1-3 不同类型的纳米颗粒在生物医学领域的多种应用<sup>[88]</sup>

Figure1-3 Examples of typical nanoparticles and their applications in biomedical fields<sup>[88]</sup>

在碳基纳米材料方面，诸如富勒烯、碳纳米管和石墨烯等零维、一维、二维纳米材料在作为支架材料和药物输运方面有着独特的优势<sup>[75-77]</sup>，例如碳纳米管可以用以促进骨组织的修复生长和神经再生，石墨烯可以通过  $\pi$ - $\pi$  堆积和疏水相互作用等负载药物等。高分子材料方面，用以生物医学的高分子材料种类繁多且研究极广，尤其是以 Polyethylenimine 和 Poly(amidoamine) 为代表的树枝形分子，由于生物相容性较好、生长代数可控、表面便于修饰基团并具有非免疫原性等特点，树枝形分子在生物医学中被

视为较为理想的纳米载体<sup>[78-81]</sup>。脂质体是另一种被广泛研究的有机纳米载体，纳米脂质体作为首个被成功应用于临床的纳米药物递送系统，具有制备工艺简单和可以与细胞膜融合的特点<sup>[82-86]</sup>。通过将脂溶性药物或水溶性药物包裹于脂质体内部，可以降低药物的毒性并延长药物的作用时间，还可增加药物的定向性，减少药物对正常物质和细胞的损害且提升对癌细胞的抑杀效果。此外，还有一些多糖、蛋白以及其衍生物所形成的生物大分子材料被用以改善原药的水溶性和半衰期等物理化学性质<sup>[87]</sup>，此类纳米材料由于其已被生物相容性好和易被降解的特点常被用作前药的载体。

虽然纳米颗粒在生物医学领域展现出巨大的优势和潜力，但越来越多的研究指出纳米颗粒在目前的生物医学应用中还存在诸多弊端，限制了以纳米颗粒为平台的各种诊疗应用效果。现阶段，最受研究者们关注的问题主要包括纳米颗粒的载药量较低、体内循环时间较短以及存在一定的副作用等<sup>[14,89-98]</sup>。因此，深入理解纳米颗粒与生物体，尤其是与细胞间的相互作用，对增强以纳米颗粒为平台的诊断和治疗效果具有非常重要的科学意义及实用价值。总的来说，无论将纳米颗粒用于药物运输、成像诊断还是光热治疗，研究者们都是希望在增强纳米颗粒的生物利用度的同时，提升纳米颗粒的靶向性，并延长其体内循环时间、增强其细胞摄入效果、降低其毒副作用<sup>[4,6,99-104]</sup>。为实现此目标，探索纳米颗粒在生物界面的行为与相互作用机理成为了生物医学领域的研究热点<sup>[105-109]</sup>。

## 1.3 仿病毒纳米颗粒在生物医学领域的研究现状

### 1.3.1 仿生纳米材料概述

复杂多变的生态环境对自然界中的各种物种进行着残酷的淘汰和选择。物竞天择、适者生存，不同物种经过长期的优胜劣汰进化出各自最合理、最优化的结构和功能，从而能够更好地适应其所在的环境。从自然中学习是科技进步的基本动力之一，也是发展新型先进材料的重要思路和方向。自然界中形形色色的物种为科学家们研发和制备智能材料提供了丰富多样的灵感源泉<sup>[110-118]</sup>。近几十年来，仿生材料不断发展，其核心是从分子水平上阐明生物体的材料特性和构效关系，进而模仿生物材料的成分、结构以及功能，将仿生理念与材料制备技术相结合，将基础研究与应用研究相结合，以实现成分、结构和功能的协调统一，设计并制备出结构、功能与原生物对象类似或更优的新型材料体系。自 20 世纪 90 年代以来，仿生材料学科迅速发展成为一个涉及材料学、化学、物理学和生物学等多学科的交叉性研究领域，为推进科技创新、解决工程应用中的实际问题提供了新的视角，为研究者们更加合理、有效地开发材料和造福社会提供了新的方法

和途径。例如，受贻贝等海洋生物在水中黏附机理的启发，利用邻苯二酚基团的特殊性质所制备的水下黏结材料已成为目前新型水下黏结材料的主流<sup>[119]</sup>；再例如，大部分海洋生物之所以能够表现出优异的防污特性，与其表皮黏液分泌、活性分子释放、表层自脱落等有着密切的关系，受此启发而合成制备的一系列仿生润滑液体浸渍多孔涂层展现出出色的海洋防污能力<sup>[120-122]</sup>。随着对自然界中不同物种各个层级结构了解的不断深入，现代仿生技术也从宏观走向了微观，在这种背景下，纳米仿生学应运而生并迅速发展。在众多研究者的不断努力下，仿生纳米材料取得了长足的进步，并涌现出诸多经典的工作。例如，Park 和 Meldrum<sup>[123]</sup>以海胆骨架为模板，复制出高分子框架，进而以此为模板合成出了与海胆骨骼类似形状的方解石单晶。Sugawara 等<sup>[124]</sup>利用疏水改性的纤维素和多糖等为模板成功制备了具有规则起伏表面的碳酸钙复合物。Aisenberg 等<sup>[125]</sup>受海星的启发利用人工制备的模板合成了毫米级的方解石单晶。除动物之外，还有很多植物的特殊结构为纳米材料的发展起到了重要的启示作用。例如，受荷叶结构的启发，Jiang 等<sup>[126]</sup>利用激光刻蚀法制备了与荷叶表面阵列相似的超疏水碳纳米管薄膜。Fürstner 等<sup>[127]</sup>同样受荷叶结构启发，利用双组分硅及熔融的聚醚对荷叶表面结构进行复刻，得到了类似的超疏水表面薄膜。随着研究的深入，研究者们现在已经可以通过等离子体处理<sup>[128]</sup>和气相沉积<sup>[129]</sup>等多种方法制备超疏水材料。总的来说，在自然界中有着各种结构复杂、性能优越的有机、无机或有机无机杂化材料，而这些材料与常规合成材料相比有着更为特殊和复杂的物理化学性质，随着表征技术和生物学等学科的不断发展，人们对这些自然材料的理解不断深入，为人们在微尺度上的仿生开辟了新的道路；此外，近年来，物理、化学和纳米科学技术继续进步，为更加科学、理性地制备与合成仿生材料提供了有力的技术支撑，科研者们从而有机会在微观尺度上更加有效地改善新型仿生材料的制备方法，进而最大限度地提高仿生材料的性质和功能。仿生纳米材料的发展对解决工程应用中的各种技术难题和推动科技创新具有重要的意义，从而逐渐成为材料领域研究的重点方向之一。

### 1.3.2 仿病毒纳米颗粒的发展与应用

随着纳米颗粒研究的不断深入，有趣的是，病毒—众多生物体自古以来的“宿敌”，为纳米颗粒的进一步优化提供了新的思路。众所周知，病毒尺寸微小且结构简单，只含一种核酸（DNA 或 RNA），是一种必须在活细胞内寄生并以复制方式增殖的非细胞型物种。通常，病毒给其他生物带来的多是危害，例如人类免疫缺陷病毒（Human

Immunodeficiency Virus, HIV)、狂犬病毒、流感病毒、肝炎病毒等给人类带来生命的危险；烟草花叶病毒、马铃薯 Y 病毒等给植物带来疾病。以图 1-4 所示的疱疹病毒结构为例，病毒主要由一个核酸长链和蛋白质外壳构成，且没有自己的代谢机构和酶系统。因此，病毒一旦离开宿主细胞便不能进行任何生命活动，不能独立自我繁殖。但病毒一旦进入宿主细胞之后，它就可以利用细胞中的物质和能量按照病毒自身核酸所包含的遗传信息产生新一代的病毒。病毒通常分为动物病毒、植物病毒和细菌病毒，从组成结构上也可以分为单链 RNA 病毒、双链 RNA 病毒、单链 DNA 病毒和双链 DNA 病毒。经过极其漫长的演化，病毒成为了在自然界中能够高效侵入细胞的最佳天然杰作<sup>[130-132]</sup>。

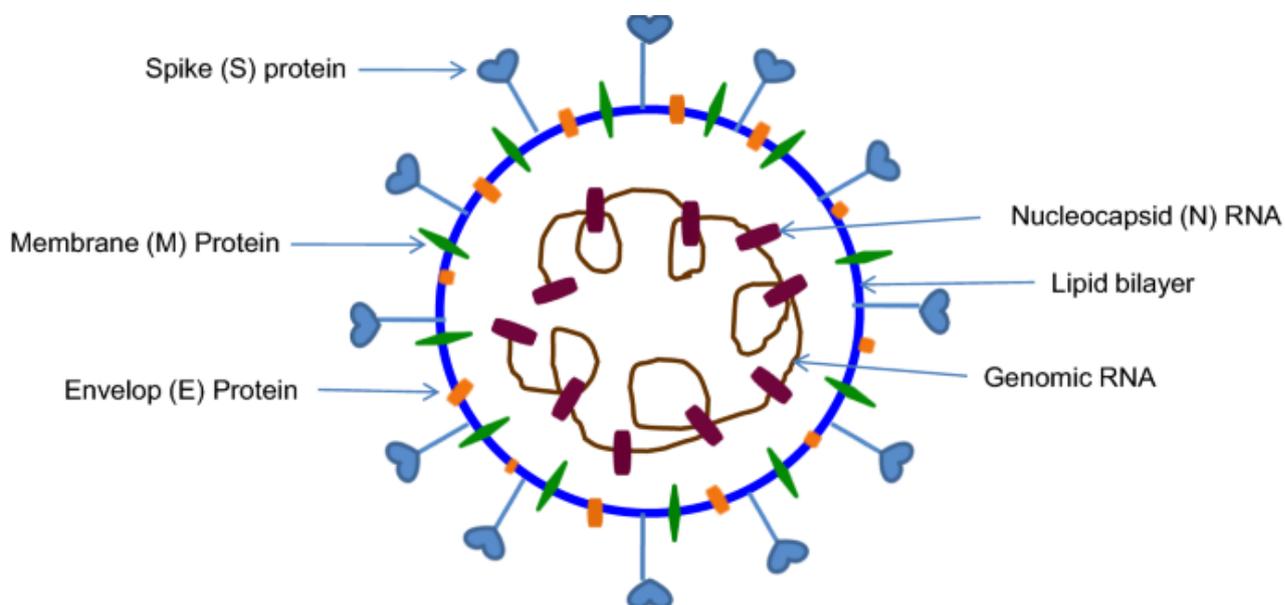


图 1-4 病毒结构示意图<sup>[132]</sup>

Figure1-4 Illustration of virion<sup>[132]</sup>

大多数的病毒都具有纳米级的核壳结构，其壳主要由肽和多糖组成。细观病毒的结构，在有囊膜的病毒粒子表面常有突起物，称刺突，也称囊膜突起，如图 1-5 所展示的流感病毒<sup>[133]</sup>。这些刺突即病毒包膜的糖蛋白，这些糖蛋白的功能各不相同，有的是病毒粒子的吸附蛋白，与病毒的吸附有关；有的是病毒的融合蛋白，它可以促进病毒包膜与细胞膜融合，与病毒的侵入有关；有的是病毒的凝血素（能凝集红细胞），用于启动病毒感染过程，具有诱生免疫保护作用以及中和抗体的能力；有的具有神经氨酸酶的活力，可促使病毒从宿主细胞上释放。总的而言，病毒的刺突在病毒入侵细胞的过程中起到了重要的作用<sup>[134-136]</sup>。

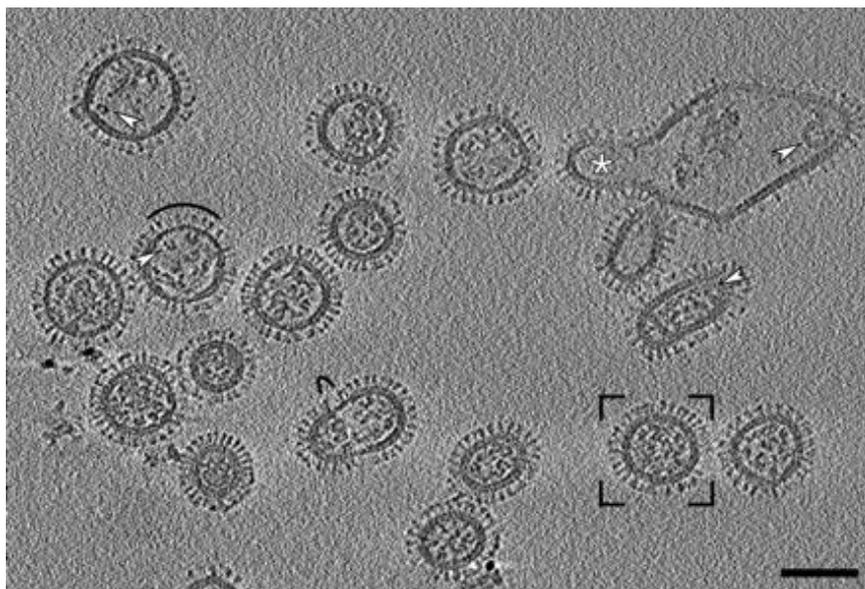


图 1-5 流感病毒的低温电子断层成像<sup>[133]</sup>

Figure 1-5 Section through a cryotomogram of a field of influenza virions<sup>[133]</sup>

受病毒特殊的刺突形貌的启发，研究者们使用有机、无机和杂化材料都成功合成出了拟态病毒形貌的仿病毒纳米颗粒（Virus-Like Particles, VLPs）。仿病毒纳米颗粒具有比普通纳米颗粒更高的比表面积，在生物医学、能源、催化等领域都表现出巨大的应用潜力。尤其是在生物医学领域，仿病毒纳米颗粒被证实相较于传统纳米颗粒可以有效降低纳米颗粒的免疫原性，并使其具备良好的靶向性、安全性，从而日益受到研究者的关注<sup>[137-139]</sup>。此外，值得指出的是，本论文中所讨论的仿病毒纳米颗粒有别于由病毒改造而成的病毒样纳米颗粒，由纳米材料制备而成的仿病毒纳米颗粒的结构性质可被有效调控且可在应用过程中发挥纳米材料的独特优势。在下文中，将对实验研究中所报道有机、无机和杂化仿病毒纳米颗粒分别进行介绍和总结。

### 1.3.3 有机仿病毒纳米颗粒

近几年来，研究者们基于树枝状大分子和囊泡等发展出了多种拟态病毒的有机纳米颗粒，这些有机仿病毒纳米颗粒目前多集中于药物输运研究。实验研究表明有机仿病毒纳米颗粒相比于传统纳米颗粒有着更佳的递送性能，因而有望成为理想的药物递送系统。例如，2014年，Chau等<sup>[140]</sup>受病毒衣壳的启发，通过16-氨基酸肽和质粒DNA的协同组装构建了拟态病毒形貌的纳米颗粒。该研究中得到的纳米颗粒在结构上呈现为普通病毒尺寸（65×47 nm）的椭圆体，并展现出4 nm左右宽度的重复条纹，研究发现这种条纹结构可以有效保护肽和DNA免于酶促消化。2015年，Liu等<sup>[141]</sup>通过在细胞膜表面进行

蛋白抗原的结构改造和表面活化剂的嵌入，制备了一种尺寸可控并能展示多种病毒包膜多肽和蛋白的纳米囊泡。研究表明该纳米载体不仅在尺寸、形态以及免疫原性上与天然的流感病毒非常接近，小鼠实验还证明该纳米载体可有效诱导抗病毒的中和抗体，证明该拟态病毒纳米囊泡作为抗原投递系统在快速应对包膜病毒疾病方面的巨大应用价值。2018年，Sun 等<sup>[142]</sup>报道了一例由聚乙烯亚胺（Polyethylenimine, PEI）、DNA 和阿霉素制备的拟态病毒形貌的药物/DNA 递送系统 PEI/DNA@DNPs，如图 1-6 所示。通过将疏水药物以静电相互作用修饰在 PEI/DNA 复合颗粒的表面，可以有效提高载药效率和基因转染效率，并以此实现协同治疗，该递送系统在抑癌领域展现出巨大的潜力。

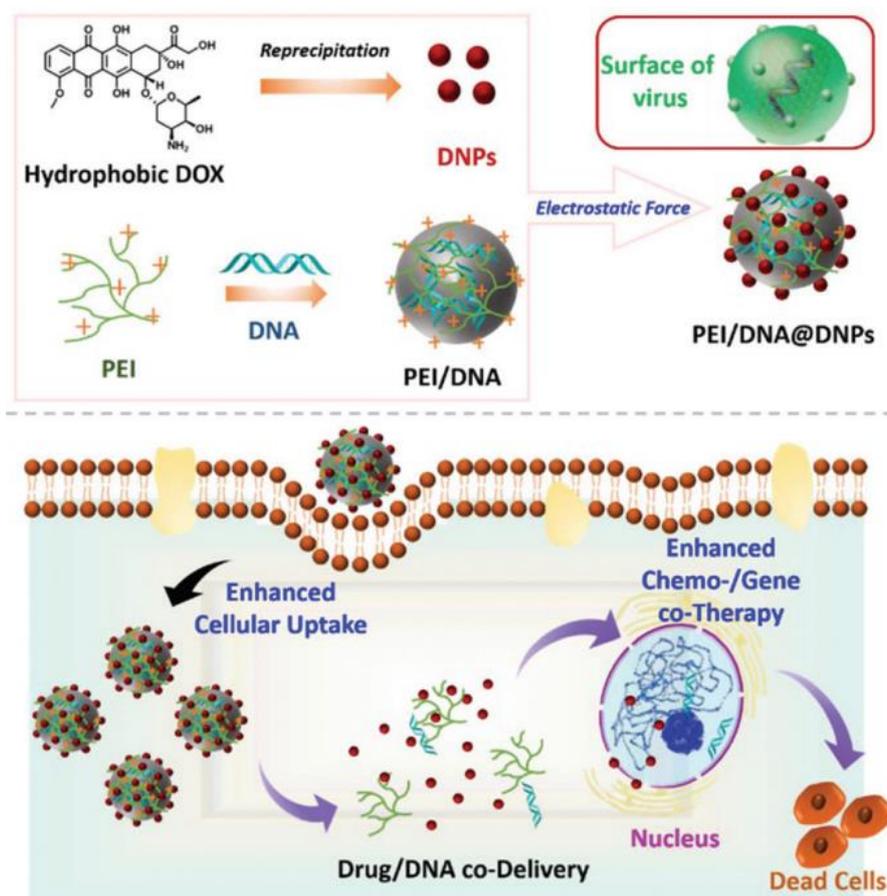


图 1-6 拟态病毒表面形貌的药物/DNA 递送体系<sup>[142]</sup>

Figure 1-6 Illustration of the formation of the virus-surface-mimicking hybrid vector<sup>[142]</sup>

树状大分子组装体相较于其他纳米递送系统具有较高的稳定性和机械强度，而且其表面能修饰丰富的表面官能团。Gu 等基于树状大分子自组装策略构筑了仿病毒衣壳<sup>[143]</sup>以及诊治一体纳米递送系统<sup>[144]</sup>，并于 2015 年报道了一例基于多功能树状大分子组装的仿病毒递送系统<sup>[145]</sup>。这一生物启发型树状大分子组装体不仅具有与病毒相类似的高效侵染特性，而且具有肿瘤组织及细胞特性识别的功能。通过进一步研究，该课题组于 2018

年继续发展了具有模仿病毒高效侵染与渗透特性的树状大分子组装纳米颗粒<sup>[31]</sup>，研究证明该递送系统具有与病毒类似的可以高效穿入及穿出细胞的活性，在肿瘤微环境中，该仿病毒纳米颗粒可开启“细胞-组织”双重渗透的功能：其可以击穿血管细胞膜或肿瘤细胞膜直接渗透进细胞，还可以够维持较为稳定的纳米结构穿出细胞，从而侵染渗透进入另一个肿瘤细胞，实现高效、深度的组织渗透，从而为突破诊疗分子在较难渗透肿瘤中递送的困境提供了解决方案。副粘病毒（与粘液蛋白有特殊亲和性的一类病毒）同样为高效基因输送体系的设计提供了全新的思路。2016年，Shen等<sup>[146]</sup>设计了一种氧化触发电荷反转型聚合物并由此构建了膜融合型基因输送体系（Fusogenic Charge-Reversal Lipopolyplexes, FLPPs），该体系的创新点是在阳离子复合纳米颗粒物表面包裹一层能够与肿瘤细胞膜发生融合的特殊脂质层，使载药体系与肿瘤细胞接触后能够以类似于病毒入胞的膜融合方式将复合物纳米颗粒直接“吐”入细胞质中，从而避开溶酶体陷阱以及避免了DNA被溶酶体中的酶降解，如图1-7所示。此外，FLPPs静脉注射后在血液循环系统中稳定并有长的血液循环时间，因而能够在肿瘤部位有效蓄积。动物实验结果表明，FLPPs可将肿瘤自杀基因输送到肿瘤部位，实现比阿霉素更好的抑瘤效果，且毒副作用很低。

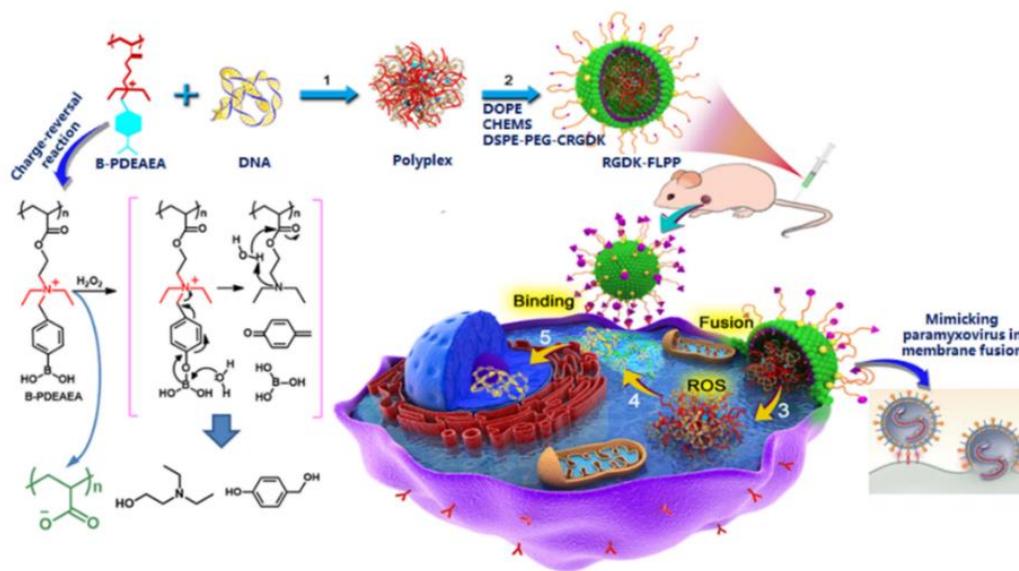


图 1-7 受副粘病毒启发的基因输送体系<sup>[146]</sup>

Figure 1-7 Schematic representation of FLPPs delivery system<sup>[146]</sup>

### 1.3.4 无机仿病毒纳米颗粒

无机纳米材料由于其独特的光学和电磁学性能，在生物成像和诊疗一体化等领域有着独特的应用。近年来，研究者们基于无机材料成功制备出了多种拟态病毒形貌的纳米

颗粒，尤其是二氧化硅纳米颗粒，由于其具有比表面积高、形貌可控、生物相容性好和表面易功能化等优点，成为无机仿病毒纳米颗粒研究的重点<sup>[54,73,147]</sup>。2016年，Yu等<sup>[148]</sup>发现二氧化硅纳米颗粒的表面变得粗糙之后更容易粘附在细菌表面的纤毛上，此外通过在纳米颗粒表面的小孔中载入溶菌酶，当载有溶菌酶的纳米颗粒粘附在细菌表面后，溶菌酶可以被缓慢释放，因此这种纳米颗粒不仅可以提高溶菌酶的利用效率，还延长了它的抑菌周期。2017年，Zhao等<sup>[32]</sup>同样受病毒启发，发展了一种基于表面活性剂调控的外延生长策略，成功合成出了刺突长度（~6-70nm）可控的模仿病毒形貌的介孔二氧化硅纳米颗粒（图1-8），该研究得到的仿病毒纳米颗粒展现出均匀的粒径和优异的单分散性。更重要的是，这种仿病毒纳米颗粒展现出极佳的细胞摄入率，可以在几分钟内进入活细胞，并展现出极佳的稳定性和血液循环时间，从而实现优异的抑癌效果。此外，这一外延生长策略可以进一步推广，使片层状、方块状、棒状的二氧化硅纳米颗粒表面同样形成有序的刺突结构，并具备优异的单分散性。

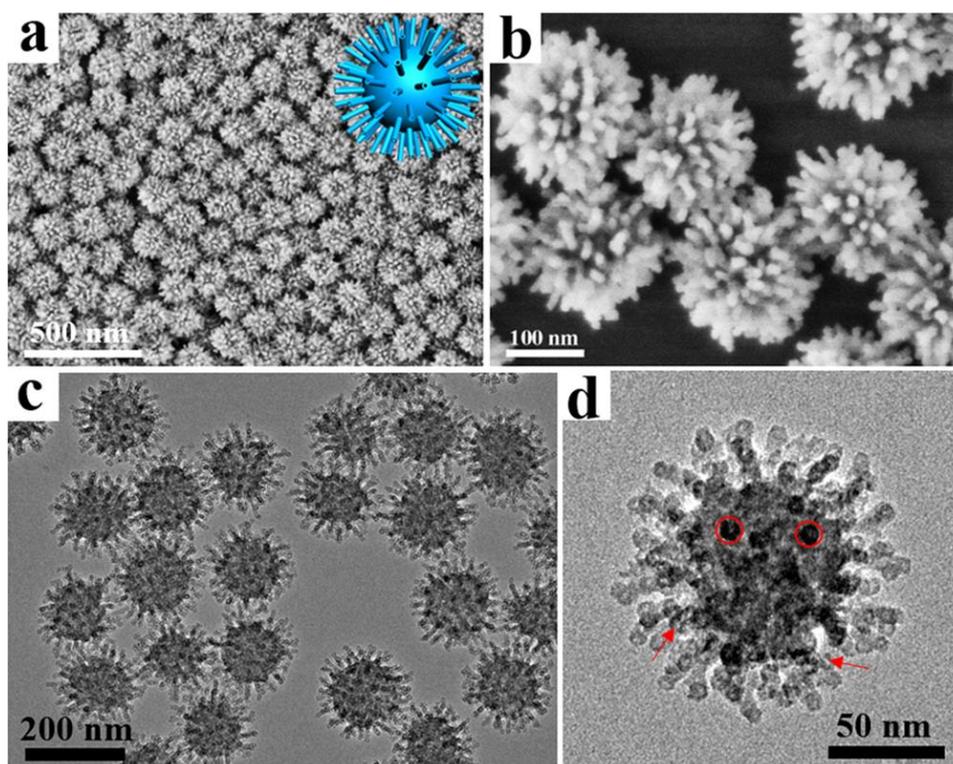


图 1-8 拟态病毒形貌的介孔二氧化硅纳米颗粒<sup>[32]</sup>

Figure 1-8 Structural characterization of virus-like mesoporous silica nanoparticles<sup>[32]</sup>

Yu等<sup>[149]</sup>将二氧化硅仿病毒纳米颗粒进一步发展，在2019年实现了刺突在颗粒表面的各向异性分布。Zhao等<sup>[150]</sup>在2020年更是极具创新的将仿病毒纳米颗粒与周期性介孔有机硅嫁接，成功制备出了“纳米卡车”。这种纳米卡车尾部长度和半径可控，贡献了

极强的载药能力，其头部的刺突结构有效增强了纳米生物界面的相互作用，其极佳的细胞摄入率和载药能力共同提升了这种新型载体的抑癌能力。

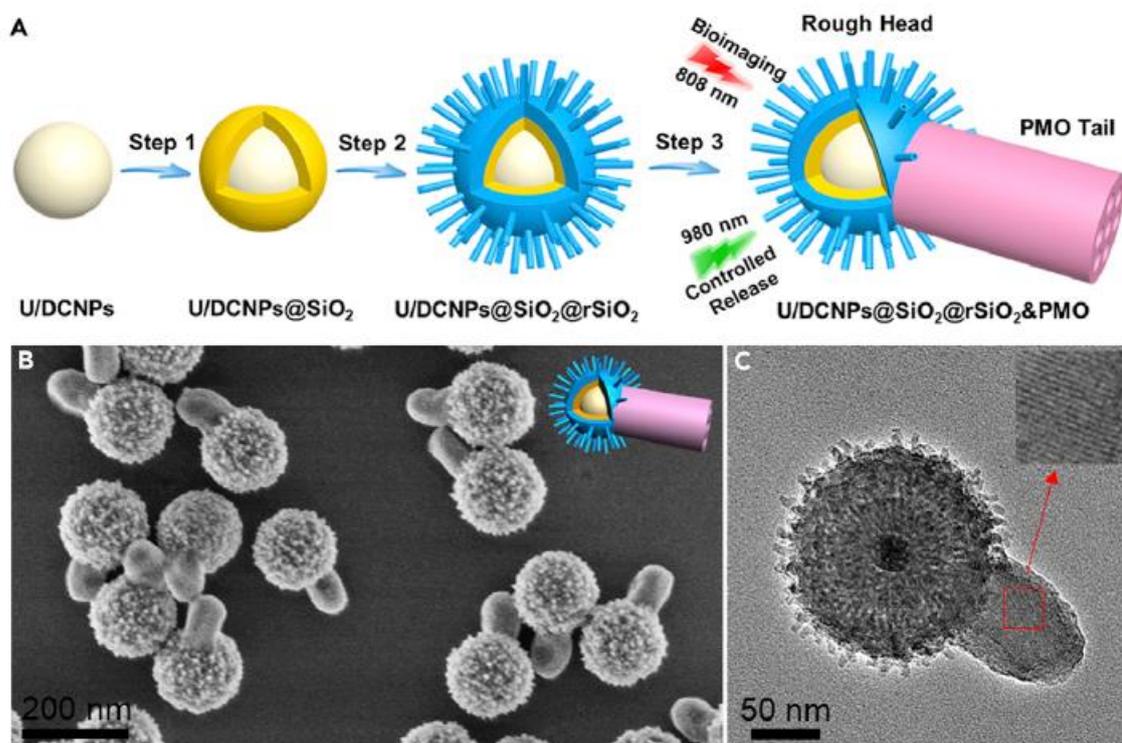


图 1-9 嫁接二氧化硅仿病毒纳米颗粒的纳米卡车<sup>[150]</sup>  
Figure1-9 Structural characterization of nanotruck<sup>[150]</sup>

### 1.3.5 杂化仿病毒纳米颗粒

构建有机-无机杂化纳米材料可以结合有机纳米材料和无机纳米材料的各自优势，以拓宽纳米材料在生物医学领域的应用范围<sup>[151-155]</sup>，因此杂化仿病毒纳米颗粒的研究也日益受到研究者的关注。在癌症治疗领域，基因治疗已成为一种根除癌症的有力手段，在基因治疗的过程中基因与载体所形成的复合物的细胞内化能力是影响转染过程的重要因素之一；另一方面，金纳米粒子可实现体内成像以及光热治疗，基于金纳米粒子的诊疗也备受关注，但传统的策略多是将金纳米粒子作为母体材料进行表面修饰，较少利用金纳米粒子来杂化有机材料实现功能性拓展。2015年，Feng等<sup>[156]</sup>受病毒形貌的启发，开创性地将金纳米粒子富集在DNA/载体有机纳米复合体表面，制备了具有类似病毒高表面粗糙度的杂化纳米基因载体（图1-10）。这种杂化仿病毒纳米颗粒不仅有效提高了DNA复合物进入细胞的能力，使其转染效率提高100倍，而且实现了自由金纳米粒子无法单独达到的近红外光热治疗效果。这种杂化仿病毒纳米颗粒有效整合了有机、无机材料各自的优势，为多功能纳米诊疗体系的构建提供了重要的思路。

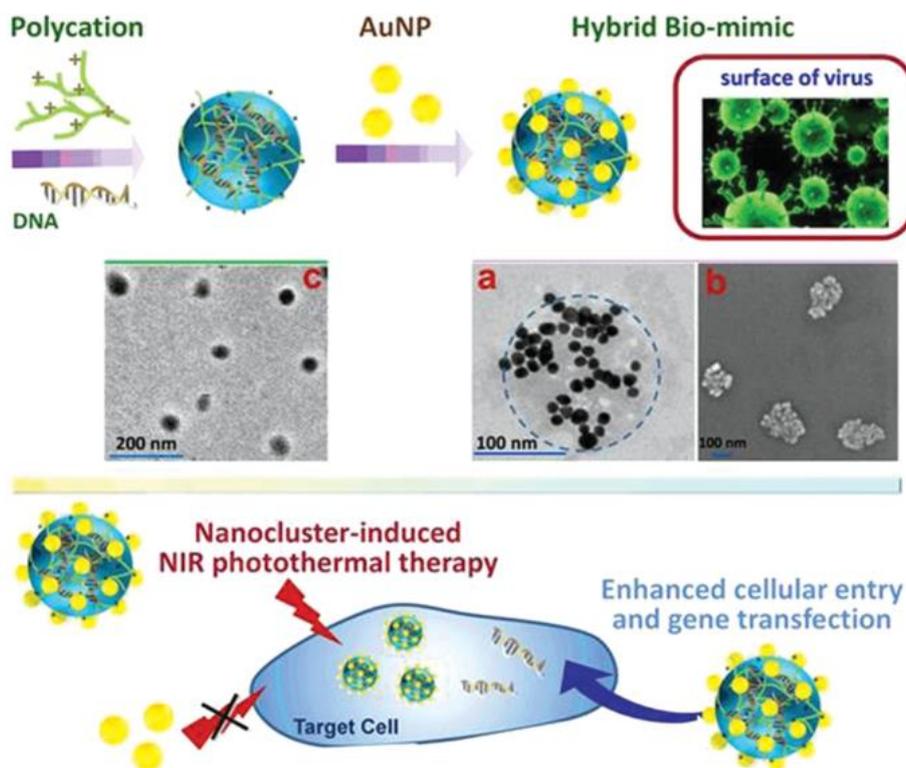


图 1-10 用于基因转染和 NIR 光热疗法的杂化仿病毒纳米颗粒<sup>[156]</sup>

Figure1-10 Illustration of the virus-surface-mimicking hybrid VLPs for enhanced gene transfection and nanocluster-induced NIR photothermal therapy<sup>[156]</sup>

2017 年, Youn 等<sup>[30]</sup>受狂犬病毒启发, 首先合成了长径比为 5.0 的金纳米棒, 进一步通过横向生长的方法使其长径比减少到 4.0, 接着在金纳米棒外包裹了一层 15 nm 的介孔硅并修饰模拟病毒外层刺突的糖蛋白层, 使纳米颗粒的长径比减小至约为 2.4, 得到了尺寸、形状以及表面糖蛋白的性质与狂犬病毒非常接近的仿狂犬病毒纳米颗粒(图 1-11)。在该研究中制备得到的仿狂犬病毒纳米颗粒不仅结构性质与狂犬病毒接近, 还保留了金纳米棒的近红外光热性能。实验结果表明这种仿狂犬病毒纳米颗粒可以有效地穿越血脑屏障, 进入大脑并在肿瘤处富集, 借助于纳米颗粒的近红外光热的性质使小鼠脑内肿瘤明显缩小。

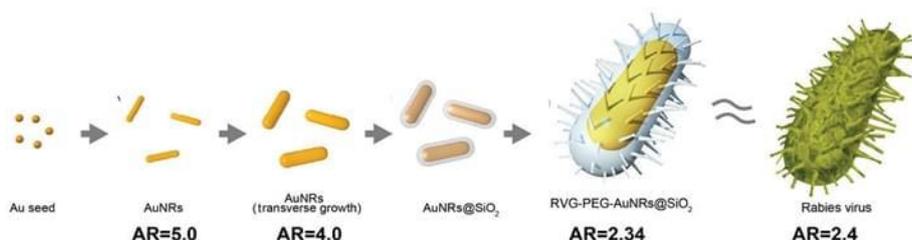


图 1-11 拟态狂犬病毒病形态的杂化纳米颗粒<sup>[30]</sup>

Figure1-11 Preparation process of rabies virus-inspired NPs<sup>[30]</sup>

此外，由于对纳米颗粒表面拓扑结构的研究还在起步阶段，在很多实验报道中，虽然并未使用“仿病毒纳米颗粒”这一名词，但实际还是利用对纳米颗粒表面粗糙度的调控来提升以纳米颗粒为平台的诊疗效果。例如，在 2018 年，Xu 等<sup>[157]</sup>报道了由内部原位形成的金纳米棒核和多阳离子介孔二氧化硅壳组成的纹理粗糙的杂化纳米囊 (Au@HSN-PGEA, AHPs)，借助操控表面粗糙度、近红外反应性和控释方式，AHPs 可以实现疏水性抗增殖、抗血管生成药物索拉非尼和抗癌基因 p53 联合用于恶性肝癌的治疗（图 1-12），研究证明 AHPs 具有良好的递送性能，该体系为构建互补基因/化疗/光热治疗的协同治疗提供了一种有效可行的策略。

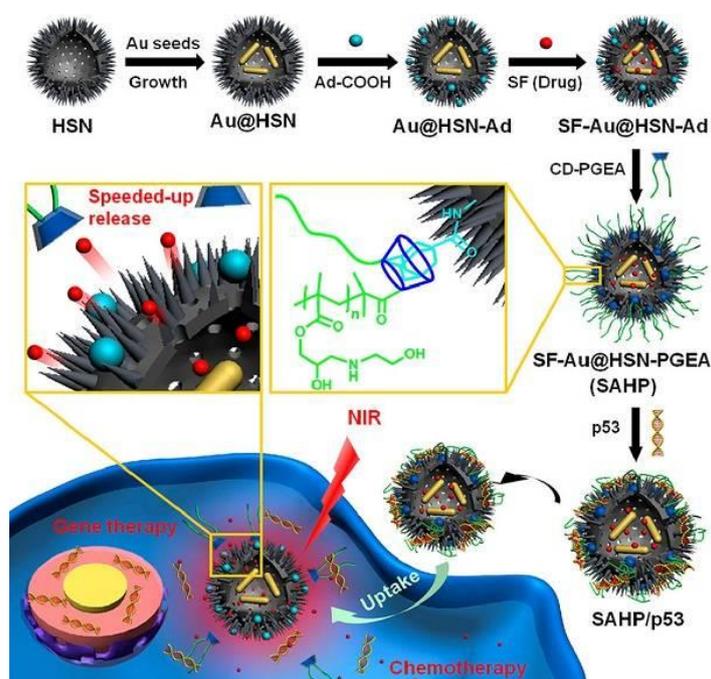


图 1-12 杂化纳米囊 AHPs 的制备和应用示意图<sup>[157]</sup>

Figure1-12 Illustration of the preparation and application of hybrid AHPs<sup>[157]</sup>

综上所述，受病毒形貌的启发，研究人员利用有机、无机及杂化材料成功制备了多种拟态病毒形貌的纳米颗粒，并且这种仿生病毒的纳米颗粒已经在药物运输、基因转染和抑菌等领域展现出优异的性能。实验研究表明仿病毒纳米颗粒的粗糙表面可以增强纳米颗粒的粘附性以促进纳米颗粒被细胞所摄取，使得这些仿病毒纳米颗粒具有更强的组织渗透能力、更高的运输/转染效率、更长血液循环时间等，因而在生物医学领域展现出巨大的潜力。但目前的实验研究仍仅以简单模仿病毒的形貌为主，在已报道的实验研究中，常设置传统纳米颗粒为对照组，虽然相较于传统纳米颗粒这种新型的仿病毒纳米颗粒应用效果更佳，但针对病毒形貌提升纳米颗粒性能的机理还缺少深入认识，在这一新

兴领域存在若干重要问题有待解答。例如，在缺少与真实病毒刺突相同功能的情况下，为什么仅仅模仿刺突结构就可以使基于不同材料的纳米颗粒的内化效果皆得到有效提升？由于纳米颗粒表面拓扑结构与纳米颗粒递送性能间的构效关系还未建立，影响仿病毒纳米颗粒动力学行为的各因素仍未进行系统分析，距离仿病毒纳米颗粒的理性设计还有很长的路要走。

## 1.4 纳米颗粒与细胞膜间的相互作用研究

在以纳米颗粒为基础的各种诊疗应用中，纳米颗粒需要经历和克服重重生物屏障才能达到特定部位并发挥其作用<sup>[158-160]</sup>。在纳米颗粒被注入体内后，首先会与血液发生相互作用，在这一过程中纳米颗粒的表面通常会吸附血浆中的蛋白分子并触发免疫反应，从而可能被巨噬细胞等识别和吸收，并作为异物排除体外<sup>[161,162]</sup>。此外，由于生物体内的生物酶，在纳米颗粒作为载体运输药物或基因的过程中，其负载的分子也可能被催化或降解<sup>[163]</sup>，另外纤维蛋白和细胞外基质也会对纳米颗粒的运输起到一定的阻碍作用<sup>[164]</sup>。而在纳米颗粒经历和克服重重生理屏障到达目标部位后，首先需要接触的便是细胞膜。细胞膜作为保持细胞内环境相对稳定的屏障，具有着选择和调节物质进出细胞的重要生理功能，它保证了细胞内环境的相对稳定，也使各种生化反应能够有序运行<sup>[165]</sup>。在绝大多数以纳米颗粒为载体的运输研究中，纳米颗粒需要成功跨越细胞膜并被释放到细胞质才能发挥其作用。但实验研究表明，现阶段的纳米颗粒的运输效率都不理想，通常只有少于 10% 的药物或 DNA 分子被成功递送至细胞核<sup>[21,166]</sup>。因此，深入理解纳米颗粒与细胞膜间的相互作用，对于提升纳米颗粒的细胞内化效率和理解纳米颗粒的细胞毒性等都具有非常重要的意义。

### 1.4.1 细胞膜的组成与功能

细胞膜存在于大部分生物体内，是包围细胞质、维持细胞内部组分动态平衡的一个半透膜，参与细胞黏附、离子传导、信号传导等分子生物学过程。细胞膜作为防止细胞外物质自由进入细胞的屏障，维持了胞内环境的稳定性，具有调节与选择物质进出细胞的重要生理功能<sup>[167]</sup>。生物膜形态上呈双分子层结构，厚度约 3-10nm，其成分主要是脂质和蛋白质，另外还有胆固醇和糖类，它们形成的脂质双分子层是构成细胞膜的基本支架，如图 1-13 所示。在细胞膜中，磷脂是最主要的部分，磷脂是双亲性分子，一端为亲水头基，另一端为疏水的长烃基链。细胞膜表面作为细胞抗原—抗体特异性识别的基底，

能够识别外界物质，对外界的刺激发生反应。此外，细胞膜的表面积巨大，有利于新陈代谢活动的进行。总的来说，生物膜在细胞内外物质的运输、能量转换、以及信号的传递等生命活动过程中，是一种必不可少的结构<sup>[168]</sup>。

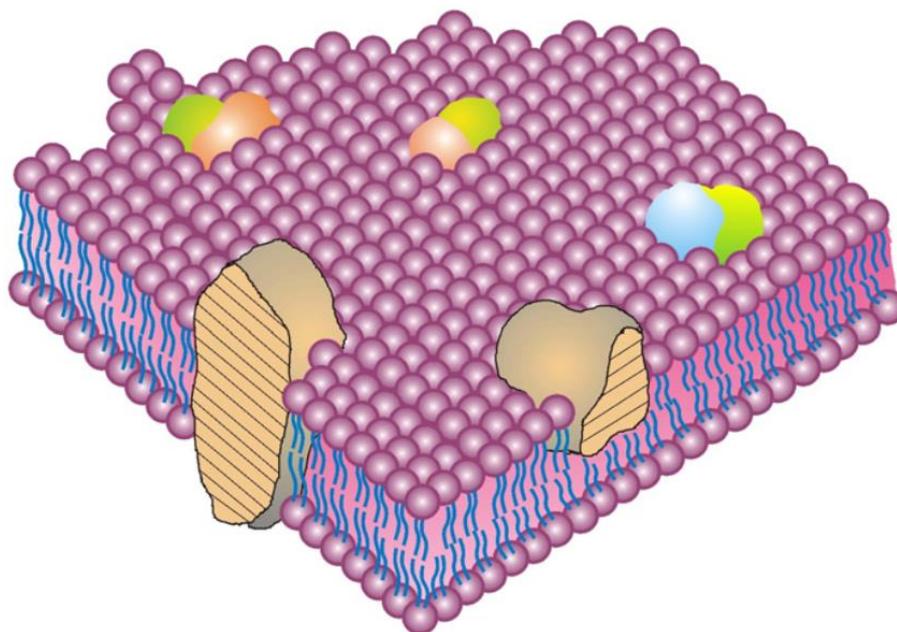


图 1-13 细胞膜双分子层结构示意图<sup>[167]</sup>

Figure1-13 Illustration of structure of cell membrane<sup>[167]</sup>

天然的生物膜是一个极其复杂的体系，其包含的成百上千种化学性质不同的脂质和蛋白质之间的相互作用也非常的复杂，且生物膜的组分在膜内也并不是固定不动的，它们都在不停地运动之中，这些因素都导致了生物膜形态和结构的复杂性。因此从分子层面上研究纳米颗粒与细胞膜的相互作用有助于合理优化纳米颗粒以及理解纳米颗粒的生物安全性，进而促进纳米颗粒在生物医学领域的应用<sup>[109,169]</sup>。

#### 1.4.2 纳米颗粒与细胞膜间的相互作用研究

纳米材料在到达靶向细胞后、发挥效用前，最主要一步就是穿越细胞膜，以药物运输为例，药物分子通常需要穿透细胞膜到达细胞内部后才能与靶标结合并发挥药效。一般来说，纳米粒子一旦黏附到细胞表面上，就有可能被转运到细胞内部，尽管细胞膜上存在一些离子通道但是这些通道尺寸对于纳米粒子来说都过于狭小。如图 1-14 所示，纳米颗粒穿越细胞膜的方式一般分为两种：直接渗透，以及内吞作用<sup>[36]</sup>。根据入胞机制的不同，内吞作用又可分为吞噬作用、吞饮作用和受体介导的内吞作用，其中，根据介导受体的不同，受体介导内吞又可进一步分为网格蛋白介导的内吞作用、小窝蛋白介导的内吞作用和其他分子介导的内吞作用。总的来说，内吞作用都是通过质膜的变形运动将

胞外物质转运至细胞内部。除内吞作用外，外界物质还可以通过直接渗透来进入细胞内部。在直接渗透跨膜的方式中，最常见的就是一些小分子通过浓度梯度自由扩散至细胞内部。此外，一些离子还常通过细胞膜上的离子通道来进入细胞内部。另外，有一些小的纳米颗粒可以通过自发渗透穿越细胞膜，还有一些纳米颗粒可以通过诱导细胞膜表面形成孔道从而进入至细胞内部。值得指出的是，虽然目前大部分的纳米材料是通过内吞作用被转运至细胞内部，但直接渗透的跨膜方式相较于内吞作用存在着一些优点。例如，通过直接渗透跨膜的颗粒不易被陷入内吞体中，从而容易更好的接触靶点并发挥作用等。

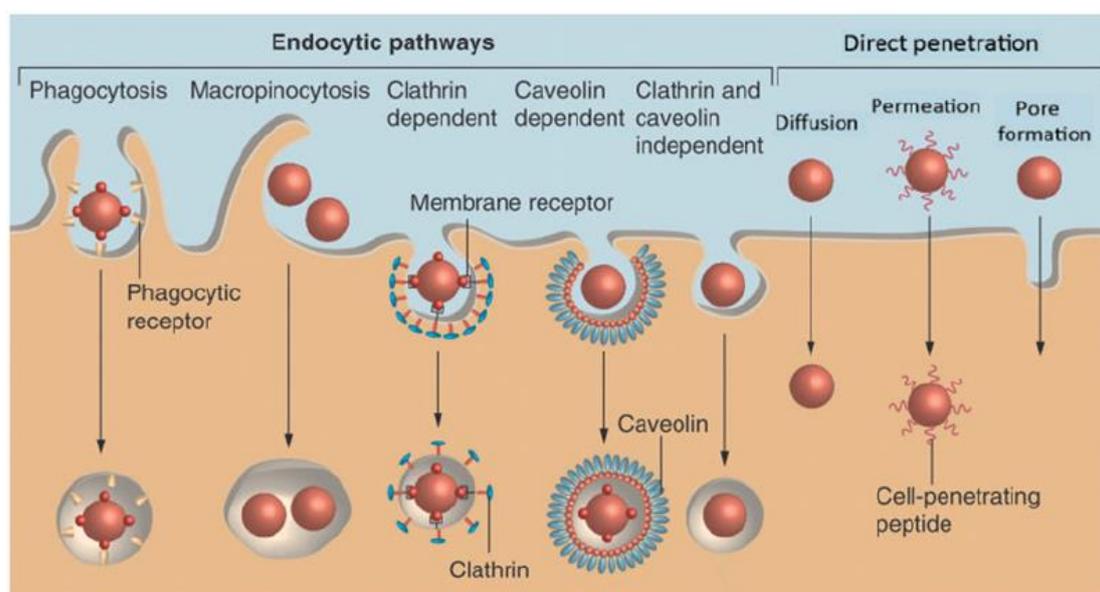


图 1-14 纳米颗粒跨越细胞膜的不同路径<sup>[36]</sup>

Figure 1-14 Illustration of different pathways of nanoparticles translocation across cell membranes<sup>[36]</sup>

在纳米颗粒的实际应用中，还可通过施加驱动力来将纳米颗粒富集到特定的区域，增加纳米颗粒与靶细胞作用的几率与强度，促进颗粒在细胞膜上的黏附及内化。例如，带有正电的纳米颗粒可以借助静电相互作用更易黏附至带有负电荷的细胞膜上；此外研究者们也常在聚合物纳米颗粒表面修饰一些具有特殊作用的大分子可以改善纳米颗粒与细胞膜间的黏附力，如聚乙二醇包覆的纳米颗粒能够提高非特异性胞吞的效果；另外研究者们也常在聚合物纳米颗粒表面化学键接受体分子进而获得具有靶向能力的纳米颗粒，纳米颗粒上的受体分子在特异性相互识别作用下可以与细胞膜上的配体结合，以促使纳米颗粒黏附至细胞膜，如叶酸分子能够识别癌细胞表面的叶酸受体，使叶酸修饰的纳米粒子特异性地黏附在癌细胞膜上等。由于细胞膜表面带有多种受体蛋白，与之相对应的蛋白都可以被用来修饰聚合物纳米颗粒的表面以实现纳米颗粒在细胞膜上的特异性黏附。

众多研究表明，纳米颗粒与细胞膜间的相互作用非常复杂，受到纳米颗粒的尺寸、亲疏水性、表面性质及电荷等多种物理化学性质的共同影响（图 1-15）<sup>[170-172]</sup>。例如，在尺寸效应方面，实验研究和模拟研究的结果均表明纳米颗粒经由内吞途径跨膜还是通过自由扩散跨膜与纳米颗粒的尺寸紧密相关，小尺寸纳米材料可通过被动扩散形式跨膜<sup>[173]</sup>。通过研究者的不断努力，纳米颗粒的亲疏水性和电荷对纳米颗粒内化效率和细胞毒性的影响也逐渐明确。然而目前在实验研究中从分子层面上开展纳米颗粒与细胞膜间的相互作用的研究还非常困难，一定程度上局限了纳米颗粒在诊疗领域的发展<sup>[20,174,175]</sup>。通过引入新的方法来获得分子层面上新型纳米颗粒与细胞膜间相互作用的动力学信息对促进纳米颗粒的生物医学应用具有重要的意义。

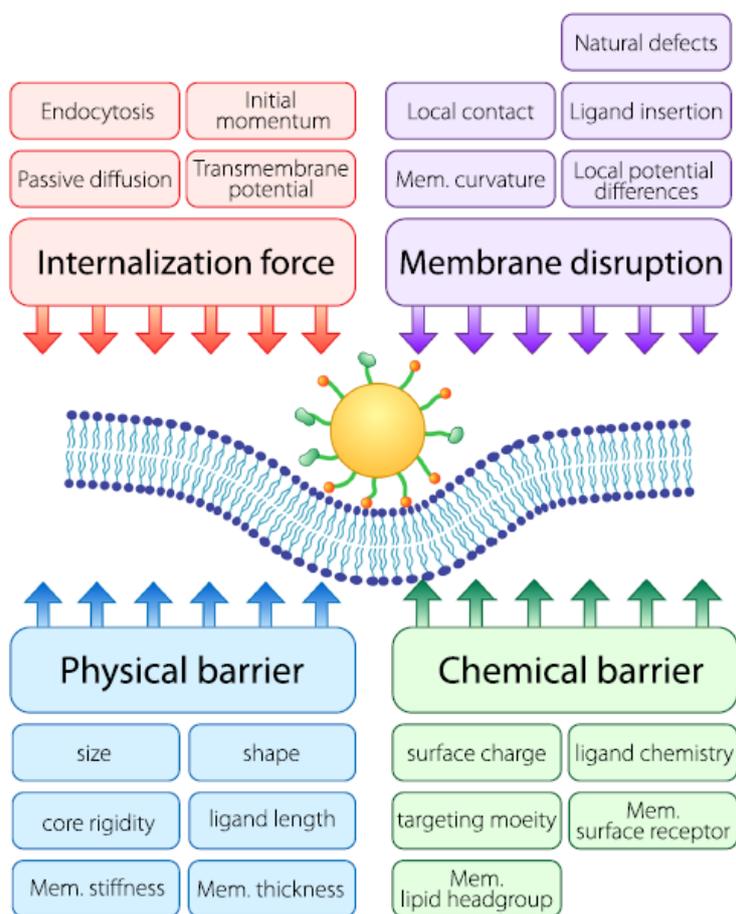


图 1-15 纳米颗粒跨膜过程中遇到的物理及化学势垒<sup>[170]</sup>

Figure 1-15 Paradigm of the fundamental interactions of NPs at the cell membrane interface<sup>[170]</sup>

## 1.5 耗散粒子动力学在生物界面研究中的应用

分子模拟（Molecular Simulation）是在实验研究的基础上通过基本物理与化学原理构建的一套模型和算法，通过计算机来模拟原子与分子的结构与行为，进而从微观层面

研究体系的各种物理化学性质。分子模拟技术不仅可从分子水平对不同构象关系展开详细考察，又能对研究体系的定量结果进行统计分析，从而为实验结果提供理论依据和数据补充<sup>[33,176-178]</sup>。近年来，分子模拟方法与计算资源不断发展，分子模拟以成为从微观角度模拟材料结构、理解材料性质、预测材料行为、验证试验结果以及帮助设计和优化材料的重要手段。

根据时间和空间尺度的划分，计算机模拟通常可以分为量子力学层次（Quantum Machines）、统计力学层次（Statistical Mechanic）、介观尺度层次（Mesoscopic Simulation）和宏观尺度层次（Numerical Simulation），而分子模拟主要包括前三个层次。在研究中，不同层次的模拟方法根据原理的不同可以继续细分，研究者们也会根据不同的研究对象来选取适用的模拟方法<sup>[179-182]</sup>。例如，为解决求解薛定谔方程的困难，研究者们改进、发展了多种量子力学计算方法，目前的量子力学模拟主要包含从头算方法、半经验分子轨道计算方法和密度泛函计算等，借助量子力学模拟，可以帮助认识离子、原子和晶体或凝聚态体系的光谱性质、电子结构以及分子不同构象的能级等；但量子力学方法通常适用于简单的分子或电子数目较少的体系，难以适用于包含大量原子的体系，而统计力学模拟将原子作为一个独立受力单位，不考虑电子在原子内部的影响，考察牛顿力对分子原子的作用以及导致其速度和位置的变化，计算体系的统计特征，目前统计力学模拟主要包括分子动力学模拟（Molecular dynamics, MD）、蒙特卡洛模拟（Monte Carlo, MC）及分子力学模拟（Molecular Mechanics, MM），该层次的模拟适用于研究药物、团簇体、聚合物体系的稳定构象和热力学性质研究；介观尺度模拟主要包括耗散粒子动力学模拟（Dissipative Particle Dynamics, DPD）和布朗动力学模拟（Brownian Dynamics, BD）等方法，通过将研究体系中的官能团等基本单元粗粒化为珠子，可以对生物界面和高分子等领域的复杂问题进行再现研究，是在微观和宏观模拟之间的模拟方法；介观尺度模拟主要基于微分方程型数学模型和积分方程型数学模型，根据工程数学物理模型进行精细网格划分并进而计算研究该模型在受力、磁场、电场等宏观性质影响而产生的相应变化。随着模拟的时间尺度和空间尺度的扩展，模拟体系的精度也往往随之降低，因此研究者们需要根据研究对象的特质来选用最适合的模拟方法。近年来，分子动力学模拟方法已发展成为一种从微观层次研究复杂体系的有效手段，通过分子模拟方法，可细致刻画研究对象的物理性质、微观结构和相互作用。目前，该方法已在生物界面的相关研究中得到广泛且重要的应用。为实现模拟精度和效率间的平衡，研究者们多采用耗散粒子动力学方法和分子动力学方法对纳米颗粒与细胞膜间的相互作用展开研究，从而能够在

复现细胞膜结构性质的同时兼顾纳米材料的尺寸问题。借助模拟研究，尤其是耗散粒子动力学模拟，研究者们已经对传统纳米颗粒的跨膜过程<sup>[183-185]</sup>、纳米颗粒物理化学性质对纳米颗粒跨膜的影响<sup>[170,186]</sup>、纳米颗粒的毒副作用<sup>[187,188]</sup>进行了一定的探索，为扩展和深化纳米颗粒的生物医学应用提供了重要的借鉴和理论依据。在下文中，我们将对耗散粒子动力学的理论基础和该方法在生物界面研究中的应用现状进行介绍和总结。

### 1.5.1 耗散粒子动力学的理论基础

耗散粒子动力学（DPD）模拟方法是由荷兰科学家 Hoogerbrugge 和 Koelman<sup>[189]</sup>在上世纪九十年代提出的一种介观尺度的模拟，最初为以描述粒子运动的方式来反映介观时间和空间尺度上的流体运动问题。在 DPD 中，以离散的被称为耗散粒子的珠子为模拟的基本单元，每个珠子作为动量载体与周围一定范围内的其他珠子发生相互作用。为力求在保证体系物质理化性质准确的基础上尽可能的简化运算，DPD 珠子不再代表真实的单个原子，而是常对应着分子的官能团或嵌段，一定程度上忽略了分子的一些结构信息，因此 DPD 是一种典型的粗粒化模拟方法。在 DPD 中，珠子的运动受牛顿运动方程约束，每个珠子所受到的力由保守力 $\mathbf{F}^C$ ，耗散力 $\mathbf{F}^D$ 和随机力 $\mathbf{F}^R$ 构成，即质量为 $m_i$ 速度为 $\mathbf{v}_i$ 的 DPD 珠子 $i$ 的受力 $\mathbf{F}_i$ 为：

$$m_i \frac{d\mathbf{v}_i}{dt} = \bar{\mathbf{F}}_i = \sum_{j \neq i} (\bar{\mathbf{F}}_{ij}^C + \bar{\mathbf{F}}_{ij}^D + \bar{\mathbf{F}}_{ij}^R) \quad (1-1)$$

其中保守力 $\mathbf{F}^C$ 是相互作用的珠子在中心连线方向上的软作用力，与珠子间的距离成反比，随着珠子间距离的增加而递减，可以理解为珠子间的排斥作用；耗散力相当于体系的热沉，与相互作用的珠子间的相对速度成正比，提供了珠子间的摩擦力，消耗了体系的能量；随机力相当于体系的热源，为体系提供了能量的补充，使体系中的珠子不会在达到平衡后滞留于固定位置，与耗散力耦合起到了热浴的作用。保守力 $\mathbf{F}^C$ ，耗散力 $\mathbf{F}^D$ 和随机力 $\mathbf{F}^R$ 的表达式分别为：

$$\bar{\mathbf{F}}_{ij}^C = \alpha_{ij} \omega(r_{ij}) \hat{\mathbf{r}}_{ij} \quad (1-2)$$

$$\bar{\mathbf{F}}_{ij}^D = -\gamma \omega^2(r_{ij}) (\hat{\mathbf{r}}_{ij} \cdot \mathbf{v}_{ij}) \bar{\mathbf{r}}_{ij} \quad (1-3)$$

$$\bar{\mathbf{F}}_{ij}^R = \sigma \omega(r_{ij}) \theta_{ij} \hat{\mathbf{r}}_{ij} \quad (1-4)$$

其中， $\alpha_{ij}$  是珠子 $i$ 与珠子 $j$ 间最大排斥力的大小， $r_{ij} = |\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|/r_c$ ， $\hat{\mathbf{r}}_{ij} = \mathbf{r}_{ij}/|\mathbf{r}_{ij}|$ ，珠子 $i$ 与珠子 $j$ 间的相对运动速度 $\mathbf{v}_{ij} = \mathbf{v}_i - \mathbf{v}_j$ ， $\gamma$ 为摩擦系数， $\omega(r_{ij})$ 为加权函数，

用以判断珠子间的受力范围， $\theta_{ij}$ 为随机变量，是高斯分布的且具有单位方差， $\sigma$ 为噪声幅度，满足方程：

$$\sigma^2 = 2\gamma k_B T \quad (1-5)$$

其中， $k_B$ 为玻尔兹曼常数， $T$ 为体系温度。此外，成键的珠子以弹簧力相连，满足公式 $\mathbf{F}^S = C\hat{\mathbf{r}}_{ij}$ ，其中 $C$ 为弹簧常数。在DPD中，相互作用力都是成对出现的，珠子所受到的合力为截断半径内每一对力的叠加。

### 1.5.2 耗散粒子动力学的发展与应用

耗散粒子动力学模拟自1992年被提出以来，至今仍在不断发展。在1997年，Groot和Warren<sup>[190]</sup>利用Floy-Huggins理论计算了高分子的自由能，并将计算结果与DPD模拟所得到的自由能进行对比，发现二者之间存在着对应关系，证明了DPD模拟与真实高分子体系间存在的对应关系，逐步架起了DPD模拟与实验间的桥梁。如图1-16(a)所示，DPD软势与Weeks-Chandler-Andersen势和Lennard-Jones势相比有着明显的区别<sup>[191]</sup>，这种软势提升了计算效率并且适用于较大的研究体系。近年来，科研人员不断对DPD理论的衍生性进行研究并取得了诸多重要的成果。例如，为处理多尺度问题，Serrano等<sup>[192]</sup>将DPD模拟中质量和大小固定的珠子发展为质量与大小都可变的Voronoi格子，使模拟结果更加接近相应的实验体系。2003年，Groot<sup>[193]</sup>对DPD模拟中的电荷问题进行了研究，由于如果在DPD中采用点电荷的描述方式可能会导致静电吸引强于软排斥力进而导致体系失衡，Groot采用公式 $\rho_e(r) = \frac{3}{\pi R_e^3}(1 - r/R_e)$ 利用电荷密度分布的方式来描述DPD中的静电相互作用，其中 $R_e$ 一般选取为 $1.6r_c$ 。Maiti等<sup>[194]</sup>通过研究珠子尺寸与相互作用参数之间的关系，发现了珠子间的相互作用参数可以通过表面张力来计算。随着DPD模拟的不断发展，DPD逐步结合了分子动力学、格子气动机、郎之万动力学等方法，遵守伽利略不变性、各向异性、质量守恒以及动量守恒等理论，所适用的研究体系也越来越多。如图1-16(b)和(c)所示，DPD模拟被应用于囊泡在纳米孔道内的运移<sup>[195]</sup>和界面纳米颗粒对机械力的响应研究<sup>[196]</sup>，这些非平衡态DPD模拟研究证明了DPD方法适用的广泛性。此外，DPD模拟方法经过发展已不仅适用于研究常规的聚合物溶液体系，还可对动态的聚合诱导自组装体系进行模拟，在模拟中，可以通过在聚合物链上引入活性末端，使溶液中溶解的单体在模拟中逐渐连接到聚合物链末端实现聚合物链段的生长，以此研究在聚合物链段生长过程中的自组装现象，如图1-

16 (d) 所示, 通过 DPD 模拟可以精准预测和复现与聚合诱导自组装实验研究中所观察到的聚合物自组装结构<sup>[197]</sup>。由于其建模灵活的优点, DPD 模拟还被广泛的应用与纳米颗粒有关的界面现象研究<sup>[198]</sup>, 如图 1-16 (e) 所示。在下文中, 我们将对 DPD 模拟在纳米颗粒与细胞膜间相互作用研究中的应用进行着重介绍。

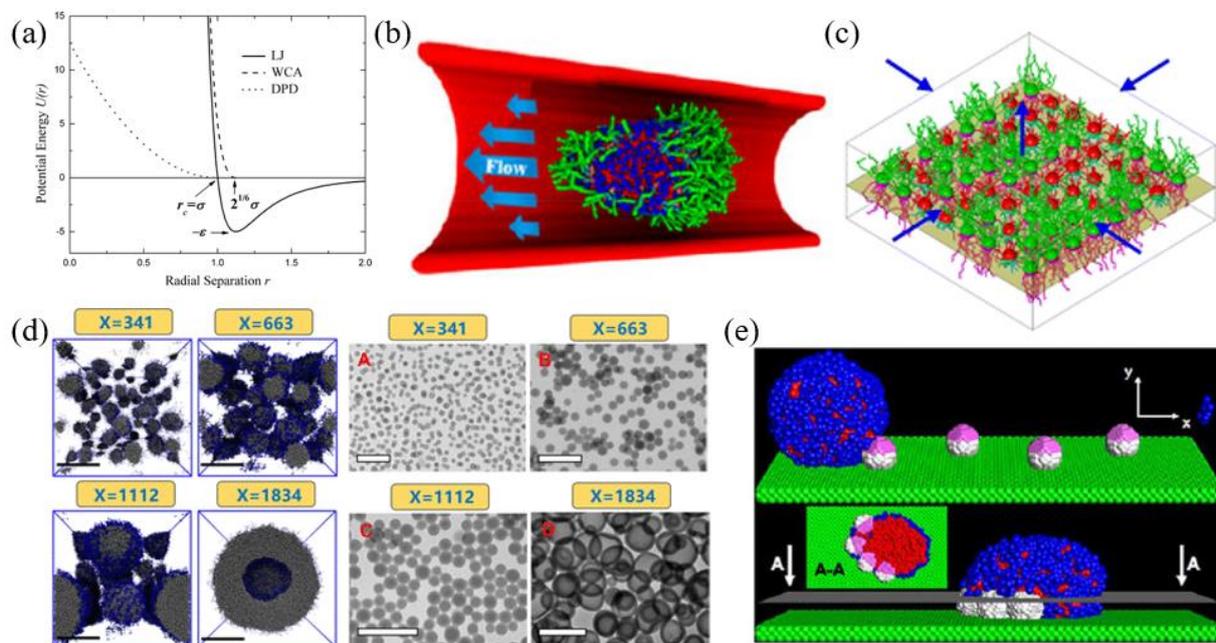


图 1-16 (a) DPD 软势与 weeks-chandler-andersen 势及 Lennard-Jones 势的对比<sup>[191]</sup> (b) 囊泡在纳米孔道内的运移<sup>[195]</sup> (c) 界面纳米颗粒对机械力的响应<sup>[196]</sup> (d) 聚合诱导自组装模拟与实验结果的对比<sup>[197]</sup> (e) 囊泡对纳米颗粒的摄取<sup>[198]</sup>

Figure 1-16 (a) Comparison of DPD potential and Weeks-Chandler-Andersen potential and Lennard-Jones potential<sup>[191]</sup> (b) Translocation of vesicle within nanopore<sup>[195]</sup> (c) Mechanical response of the interfacial nanoparticle patterning<sup>[196]</sup> (d) DPD simulation of polymerization-induced self-assembly<sup>[197]</sup> (e) Fluid-driven vesicles to pick up nanoparticles<sup>[198]</sup>

### 1.5.3 基于耗散粒子动力学的生物界面研究现状

DPD 的建立和发展为研究者们深入理解生物界面现象带来了重要的契机。在 DPD 模拟研究中, 研究者们发展了多种磷脂分子的粗粒化模型, 如图 1-17 所示。磷脂分子组成的双分子层是细胞膜的主要组成部分, 磷脂分子的亲水头基是磷酸胆碱基团, 连接带有长链碳原子疏水尾部的脂肪酸分子。当磷脂分子组装为双分子层结构时, 磷脂分子的亲水头部朝外接触细胞外部或内部的水环境, 疏水尾链朝内形成双分子层内部的疏水环境, 构成相对稳定的有序排列。虽然细胞膜的成分比较复杂, 根据其化学结构可分为多种类型的磷脂分子, 且磷脂双分子层通常由多种不同比例的磷脂分子组成, 但在目前大部分 DPD 模拟研究中, 一般采用单一磷脂分子或者混合几种磷脂分子来构建双分子层模型用以对细胞膜进行模拟<sup>[171,199]</sup>, 模拟研究结果表明这些粗粒化模型可以较好的复现

细胞膜的形态及张力变化等。

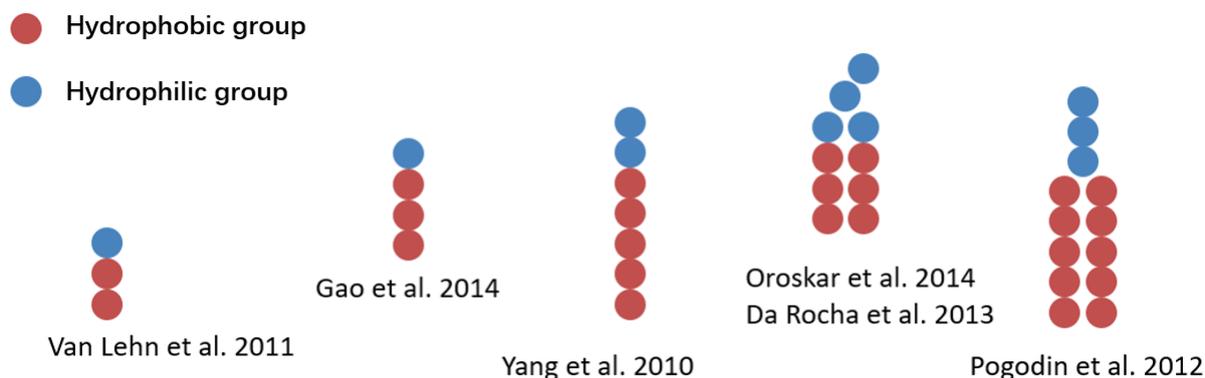


图 1-17 常见的磷脂分子粗粒化模型<sup>[171]</sup>  
Figure1-17 Typical coarse-grained model of lipids<sup>[171]</sup>

以实验中的分子为基础，DPD 模拟可以较好的复现有机纳米颗粒的结构特征。例如，Yan 等<sup>[200]</sup>以 PAMAM 树枝状聚合物为基础，模型研究了柔性纳米颗粒与细胞膜相互作用的过程，如图 1-18 (a) 所示，研究证明 DPD 方法可以较好复现 PAMAM 的代数与颗粒尺寸间的关系，并进一步研究发现柔性纳米颗粒与细胞膜主要存在三种相互作用模式：渗透、渗透与部分包裹、完全包裹，且这三种模型出现的情况是由 PAMAM 分子的代数和细胞膜的张力共同决定的，这些研究发现对深入理解细胞摄取柔性纳米颗粒的过程具有重要意义。随后，Yan 等继续以柔性纳米颗粒为研究对象模拟研究了柔性颗粒的受体介导内吞<sup>[201]</sup>，研究发现内吞作用的发生与细胞膜中受体的密度密切相关，且柔性纳米颗粒在跨膜过程中会发生明显的形变。相对于柔性纳米颗粒，刚性纳米颗粒的 DPD 研究更为丰富，在先前的 DPD 研究中，研究者们对刚性纳米颗粒的形状、亲疏水性和配体修饰等都进行了较为充分的研究。例如，Yang 等<sup>[202]</sup>对椭球状纳米颗粒的跨膜过程进行了研究，如图 1-18 (b) 所示，研究发现椭球状纳米颗粒的初始位置对颗粒与细胞膜间的相互作用有着重要的影响，当椭球状纳米颗粒垂直于细胞膜时最容易进入和穿越细胞膜，且在跨膜过程中，椭球状纳米颗粒会发生旋转，其第一次旋转主要是由与细胞膜接触时的阻力引起，第二次旋转发生在纳米颗粒嵌入在膜内时，有趣的是，第一阶段的旋转阻碍了纳米颗粒跨膜，然而第二阶段的旋转却对纳米颗粒的跨膜起到了促进作用，通过进一步研究了不同形貌的纳米颗粒的跨膜过程，发现倒锥型的纳米颗粒在跨膜过程中的所需要的驱动力最小，意味其跨膜能力更强。各向异性的纳米颗粒由于其独特的性质逐渐成为研究人员们近年来日益关注的热点，其中，Janus 纳米颗粒作为一种重要的各向异性颗粒在生物成像等领域有着独特的应用。借助 DPD 模拟方法，研究人员对 Janus

纳米颗粒与细胞膜间的相互作用机制进行了深入的研究，如图 1-18 (c) 所示，Ding 等<sup>[39]</sup>发现在 Janus 纳米颗粒与细胞膜相互作用过程中存在着两种截然不同的模式，即嵌入模式和包裹模式，研究发现 Janus 纳米颗粒的初始取向和纳米颗粒的自身结构性质对颗粒与细胞膜间的相互作用模式有着重要的影响，在 Janus 纳米颗粒的亲水部分更靠近细胞膜的情况下 Janus 纳米颗粒更易被细胞膜包裹。之后，Ding 等<sup>[203]</sup>进一步模拟研究了非共价键修饰的两亲配体对纳米颗粒跨膜效率的影响，如图 1-18 (d) 所示，研究发现纳米颗粒所修饰配体的物理化学性质能够显著影响纳米颗粒的跨膜效率，在没有配体-受体相互作用的情况下，通过操控纳米颗粒的形状和纳米颗粒表面所修饰配体的性质，可以使纳米颗粒的跨膜效率提高到 90% 以上，表明这种高效率和低毒性的新型纳米颗粒在药物运输、基因转染等方面有着巨大的应用前景。Ma 等<sup>[172]</sup>模拟研究了共价修饰的配体对纳米颗粒与细胞膜间相互作用的影响，研究发现在纳米颗粒表面共价修饰配体后，纳米颗粒与细胞膜间主要存在着三种不同相互作用模式，包括纳米颗粒的弱吸附、部分包裹以及全包裹，如图 1-18 (e) 所示，且在这种情况下纳米颗粒与细胞膜间相互作用模式的确定主要取决于纳米颗粒的尺寸、表面配体的密度以及细胞膜中受体的密度，此外，该研究发现修饰一定长度配体的纳米颗粒还可能与细胞膜发生受挫包裹的相互作用模式，这种现象发生的主要原因是纳米颗粒的内吞过程中配体在纳米颗粒表面的不对称分布，在纳米颗粒表面修饰较长的配体可以促进纳米颗粒吸附于细胞膜，但受挫包裹的发生却抑制了颗粒的内化，研究证明可以通过缩短配体的长度、增加配体的密度和硬度、改变配体的亲疏水性来促进纳米颗粒的包裹和内吞。Ma 等<sup>[204]</sup>进一步研究了血浆蛋白在纳米颗粒表面的吸附对纳米颗粒与细胞膜间相互作用的影响，如图 1-18 (f) 所示，该研究发现血浆蛋白能够吸附于疏水纳米颗粒表面形成硬蛋白冠，也能够吸附于带正电的纳米颗粒表面形成软蛋白冠，而血浆蛋白较难吸附在亲水不带电的纳米颗粒以及带负电的纳米颗粒表面，当疏水纳米颗粒与巨噬细胞发生相互作用时，纳米颗粒表面吸附的蛋白冠会改变巨噬细胞与纳米颗粒的相互作用模式，以及增加巨噬细胞对带正电纳米颗粒的摄取效率，但当纳米颗粒与癌细胞发生作用时，纳米颗粒表面吸附的蛋白冠可以阻碍疏水纳米颗粒和带正电纳米颗粒的内化，这些研究发现为理解血浆蛋白对纳米颗粒在体内运输的影响提供了重要的信息。Gao 等<sup>[205]</sup>借助 DPD 模拟研究了具有不同亲疏水性质配体的排列方式对纳米颗粒跨膜效率的影响，研究证实，相比于修饰亲水配体、疏水配体和随机混合的两亲性配体，当纳米颗粒表面的疏水配体和亲水配体成条纹状交替排列时纳米颗粒的跨膜效率最高，研究进一步发现疏水配体和亲水配体的交替排列方

式可以约束纳米颗粒跨膜过程中颗粒的旋转自由度,进而有助于纳米颗粒跨膜。Li 等<sup>[206]</sup>模拟研究了纳米颗粒的形状对纳米颗粒与细胞膜间相互作用的影响,该工作考察了球形、椭球形、块状、和盘状纳米颗粒与细胞膜间的相互作用,研究发现纳米颗粒的形状可以显著影响颗粒内化过程中细胞膜的弯曲能,而球形纳米颗粒内化所需要的细胞膜弯曲能最低,因此其内化效率最高,证实了纳米颗粒的形状在纳米颗粒跨膜效率中的重要作用。

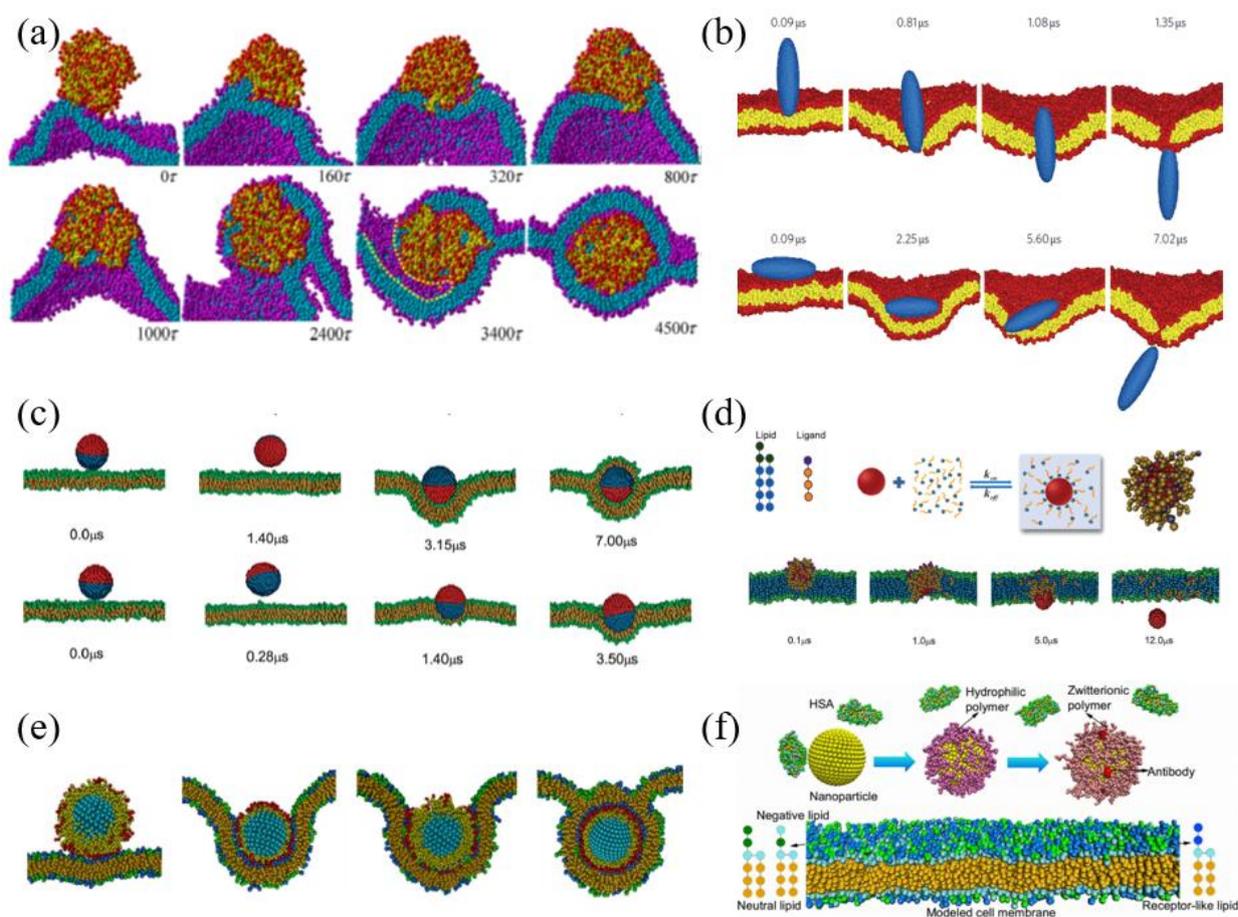


图 1-18 (a) 柔性纳米颗粒与细胞膜相互作用的过程<sup>[200]</sup> (b) 椭球纳米颗粒的跨膜过程<sup>[202]</sup> (c) Janus 纳米颗粒与细胞膜间的相互作用模型<sup>[39]</sup> (d) 配体-纳米颗粒复合体的跨膜过程<sup>[203]</sup> (e) 修饰配体的纳米颗粒与细胞膜间相互作用的不同模式<sup>[172]</sup> (f) 血浆蛋白在纳米粒子表面的吸附行为<sup>[204]</sup>

Figure 1-18 (a) Interactions between soft nanoparticle and lipid bilayer<sup>[200]</sup> (b) Transmembrane process of ellipsoidal nanoparticle<sup>[202]</sup> (c) Interaction models between Janus nanoparticle and lipid bilayer<sup>[39]</sup> (d) Transmembrane process of nanoparticle-ligand complex<sup>[203]</sup> (e) Interaction models between membrane and nanoparticle with ligand<sup>[172]</sup> (f) Interactions between cell membrane and nanoparticle with different surface coatings<sup>[204]</sup>

值得指出的是,除耗散粒子动力学模拟外,一些其他的分子模拟方法(如全原子分子动力学及粗粒化分子动力学等)也为理解纳米颗粒与细胞膜间的相互作用作出了重要的贡献。例如,Rai 等<sup>[207]</sup>采用粗粒化模拟方法研究了不同尺寸(1-6 nm)的金纳米颗粒

穿透人体皮肤的过程与机理，研究结果表明金纳米颗粒跨越磷脂双分子层的过程发生在 100ns 以内，且跨膜过程中的细胞膜形变会随着金纳米颗粒尺寸增大而增加，但是当金纳米颗粒完全跨越细胞膜后细胞膜可以发生自愈合。之后，Rai 等继续研究了不同数目的富勒烯渗入人体皮肤的过程<sup>[184]</sup>，研究发现富勒烯会先在水相中形成小的团簇，并保持聚集以团簇状的形式进入到细胞膜的疏水区域，从而引起细胞膜的形变，随着富勒烯数目的增加，细胞膜形变的程度也随之上升。Monticelli 等<sup>[208]</sup>采用粗粒化模拟方法阐释了为何富勒烯在磷脂双分子层的溶解性要强于烷烃，研究发现双分子层的空间约束和分子链排布并未显著影响富勒烯的聚集，而溶剂的密度以及溶剂间的相互作用却是影响富勒烯聚集的关键。Nakamura 等<sup>[209]</sup>研究了外加电场对纳米颗粒以直接渗透方式跨膜的影响，研究发现通过操控外加电场可以有效提升纳米颗粒跨膜的效率。Alexander-Katz 等<sup>[210]</sup>采用联合原子模拟力场研究证实了修饰配体的金纳米颗粒更易从细胞膜的端部进入细胞膜内。

总的来说，通过借助分子模拟方法，尤其是耗散粒子动力学模拟，研究者们细致研究了纳米颗粒的尺寸、形状、表面电荷及亲疏水性等因素对纳米颗粒与细胞膜间相互作用的影响，并对这些影响因素影响纳米颗粒在生物界面的动力学行为及其微观机理进行了分析和探究，为深入理解纳米颗粒的生物界面现象提供了大量有益的信息。这些模拟研究中所获得的知识和信息可以帮助验证实验的结果及假设，并通过分析体系的热力学及动力学性质来帮助预测纳米颗粒的性能，进而辅助生物学用纳米颗粒的优化与设计，以实现纳米颗粒的效率与安全性间的平衡。然而，仿病毒纳米颗粒作为近几年发展的一种新型纳米颗粒，对纳米颗粒的表面拓扑结构的优化近几年来才逐渐被研究者们所逐渐关注，同时也由于建模复杂等各方面问题，还未有专门针对纳米颗粒的表面拓扑结构对纳米颗粒与细胞膜相互作用影响的系统研究，有必要对仿病毒纳米颗粒的跨膜过程和病毒形貌帮助纳米颗粒跨膜的机理进行深入而系统的研究。鉴于仿病毒纳米颗粒的实验研究也尚在起步阶段，为指导和辅助生物学用仿病毒纳米颗粒的理性设计，关于仿病毒纳米颗粒与细胞膜相互作用的理论模拟研究亟待开展。

## 1.6 本论文的研究意义、研究思路及研究内容

由上述关于纳米颗粒在生物医药领域的应用以及仿病毒纳米颗粒的发展和研究现状可知，通过纳米技术的不断发展，研究人员利用有机材料、无机材料以及杂化材料成功制备合成了不同类型的拟态病毒形貌的纳米颗粒，并证明通过拟态病毒形貌可以有效提

升纳米颗粒在药物输运、基因转染、抑菌等诊疗方面的性能，如更强的组织渗透能力、更高的输运/转染效率、更长血液循环时间等，这些实验研究已充分证明通过调控纳米颗粒的表面拓扑而发展的仿病毒纳米颗粒在生物医学领域有着巨大的应用潜力和极佳的应用效果。但目前关于仿病毒纳米颗粒的实验研究主要以模仿病毒表面的刺突结构为主，虽然相比于传统纳米颗粒，仿病毒纳米颗粒有着更优的应用效果，但由于仿病毒纳米颗粒近年来才被成功制备，关于这种新型纳米颗粒的理论研究尚存空白，仿病毒纳米颗粒的进一步发展缺乏一定的理论指导，一定程度上限制了仿病毒纳米颗粒的进一步优化。在目前的仿病毒纳米颗粒研究中存在如下问题亟待解决：

(1) 深入认识病毒形貌帮助纳米颗粒提升纳米颗粒内化效果的微观机理。在已有的实验中，通常将传统纳米颗粒作为对照组，证明了通过拟态病毒形貌可以显著提升纳米颗粒的性能，然而病毒形貌帮助纳米颗粒提升细胞内化率的原因仍缺少合理解释。由于实验研究在研究尺度上的限制，难以对仿病毒纳米颗粒的动力学行为进行细致研究，故有待通过模拟方法对病毒形貌提升纳米颗粒跨膜性能的机制进行深入分析。

(2) 探索影响仿病毒纳米颗粒与细胞膜间相互作用的主控因素。随着不断发展的合成方法，现已可以对纳米颗粒表面刺突的长度等变量进行控制，然而，受实验成本和实验周期的限制，鲜有工作针对这些变量对仿病毒纳米颗粒性能的影响进行探索。由于纳米颗粒表面拓扑结构的变量较为复杂，颗粒表面刺突的长度和刺突的密度等都可能对仿病毒颗粒的摄入过程造成影响，通过实验方法对这些变量进行系统的研究需要耗费大量的成本，亟需对这些可能影响仿病毒纳米颗粒在生物界面行为的影响因素开展分析探究以明确其中的构效关系，进而为仿病毒纳米颗粒的理性设计提供理论基础。

(3) 获得分子层面的仿病毒纳米颗粒内化过程中细胞膜结构的相关信息。在纳米材料的内化过程中所涉及的细胞膜的形变等现象与纳米材料的生物利用度等息息相关，从微观层面探究仿病毒纳米颗粒与细胞膜的相互作用过程中关于细胞膜的相关变化对以纳米颗粒为平台的各种诊疗应用具有重要意义。

综上所述，为弥补仿病毒纳米颗粒与细胞膜间相互作用理论研究的空白，在本研究中采用耗散粒子动力学模拟方法针对仿病毒纳米颗粒与细胞膜间的相互作用模式、动态过程及影响因素开展系统研究，主要目标如下：首先，探究通过拟态病毒形貌能够帮助提升纳米颗粒内化效率的微观机理；其次，分析阐释仿病毒纳米颗粒的刺突数目、刺突长度、刺突形状和亲疏水性等因素对仿病毒纳米颗粒与细胞膜间的相互作用的影响；最后，基于研究分析获得的构效关系为仿病毒纳米颗粒的进一步优化提供理论建议。为此，

根据实验研究制备的仿病毒纳米颗粒以及细胞膜的性质建立仿病毒纳米颗粒与细胞膜相互作用模型，探索仿病毒纳米颗粒渗透及内吞的动态过程及微观机理，剖析各个主控因素对仿病毒纳米颗粒性能的影响，以此为仿病毒纳米颗粒的理性设计提供科学依据与理论支持。本论文的研究内容与研究思路如下：

本论文共分为五章，在第一章的绪论中，阐释了生物医学用纳米颗粒的研究背景、国内外仿病毒纳米颗粒的研究现状，并介绍了耗散粒子动力学的理论基础和发展过程，以及耗散粒子动力学模拟方法在纳米颗粒与细胞膜相互作用研究中的应用，对本论文的意义和可行性进行了分析；根据直接渗透和内吞两种纳米颗粒的内化方式，在第二章和第三章中，分别对仿病毒纳米颗粒在两种内化方式下的内化过程开展研究，同时剖析仿病毒纳米颗粒的刺突长度和刺突数目对这两种跨膜方式下纳米颗粒内化效率的影响；在第四章，对纳米颗粒的亲疏水性质对纳米颗粒内化效率的影响开展探究，同时考察了细胞膜中受体密度的影响，以此明确了仿病毒纳米颗粒的内核及刺突的亲疏水性质对仿病毒纳米颗粒内化效率和内化过程中协同行为的影响规律和微观机制；在第五章，根据实验研究设计了具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒并对其跨膜效率开展研究，考察了刺突形状对仿病毒纳米颗粒渗透能力和受体介导内吞效率的影响；在最后的结论与展望，对论文得出的研究成果进行了系统地总结和归纳，旨在丰富仿病毒纳米颗粒研究的相关理论，实现纳米颗粒性能的突破与创新，为生物医学用仿病毒纳米颗粒的优化设计提供一定的建议与指导，从而有效促进提升仿病毒纳米颗粒在药物输运和基因转染等诊疗领域的应用效果。

## 第二章 仿病毒纳米颗粒穿膜过程与效率研究

### 2.1 引言

以纳米颗粒为平台的各种诊疗应用不断创新发展,近年来,对纳米颗粒表面拓扑结构的优化日益受到研究者的重视,尤其是利用不同材料经过拟态病毒形貌而制备合成的仿病毒纳米颗粒,被证实具有比传统纳米颗粒更优的应用效果。在纳米颗粒的多种内化方式中,直接渗透被认为是其中最有效的一种。由于在内吞作用的情况下,纳米颗粒可能会被受困于胞内体中,进而影响药物或 DNA 的递送,因此在没有受体参与的情况下如何提升纳米颗粒的渗透效率成为研究者们关注的重点。在实验研究中,仿病毒纳米颗粒的刺突长度及刺突数目已可以实现精准调控,尤其是由二氧化硅合成出的仿病毒纳米颗粒,甚至已可以实现纳米颗粒表面刺突的各向异性排布,为仿病毒纳米颗粒的发展提供了重要的契机,然而在实验研究中合成不同刺突长度和刺突数目的仿病毒纳米颗粒需要消耗巨大的时间精力与实验成本,至今仍未有专门针对刺突长度和刺突数目影响仿病毒纳米颗粒渗透穿膜效率的实验研究报道。所以系统研究仿病毒纳米颗粒的刺突长度与刺突数目对直接渗透情况下仿病毒纳米颗粒穿膜效率的影响规律和微观机制具有重要科学意义和实用价值。

因此,在本章中,以实验研究中最被广泛研究的二氧化硅仿病毒纳米颗粒为基础,构建仿病毒纳米颗粒模拟模型,并根据细胞膜的性质建立磷脂双分子层模型,使用弹簧力拉伸的方法探究在没有受体参与的情况下具有不同刺突长度与刺突数目的仿病毒纳米颗粒的穿膜效率,并对仿病毒纳米颗粒的穿膜过程开展研究,通过与传统纳米颗粒进行对比,剖析纳米颗粒的表面拓扑结构影响纳米颗粒穿膜效率的微观机理。

### 2.2 模型建立与计算方法

#### 2.2.1 仿病毒纳米颗粒模型的建立

为建立与实验研究中所制备的仿病毒纳米颗粒结构相近的模拟模型,以实验研究中最被广泛研究的二氧化硅仿病毒纳米颗粒为基础,采用 Matlab 软件首先对仿病毒纳米颗粒的内核进行建模,利用三角网格建立表面光滑的球状模型,如图 2-1 所示。随后,将 DPD 珠子以  $0.2r_c$  的间距沿直线等距连接,以模仿颗粒表面的刺突结构。最后根据球形内核的质心,将刺突均匀的嫁接到球形内核的表面,并将整个颗粒设置为刚体,获得

仿病毒纳米颗粒模拟模型。为对比研究仿病毒纳米颗粒刺突长度和刺突数目的影响，在本部分的研究中，考虑了  $0.4r_c$ 、 $0.8r_c$ 、 $1.2r_c$ 、 $1.6r_c$ 、 $2.0r_c$  共 5 种刺突长度，以及 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50 共 10 种刺突数目，共 50 种仿病毒纳米颗粒模型建立。为设置对照组，球形内核的半径也相应改变，将不同仿病毒纳米颗粒模型的总半径控制在  $4r_c$ ，同时考虑了半径为  $4r_c$  的球形纳米颗粒以对比研究纳米颗粒表面拓扑结构的影响。

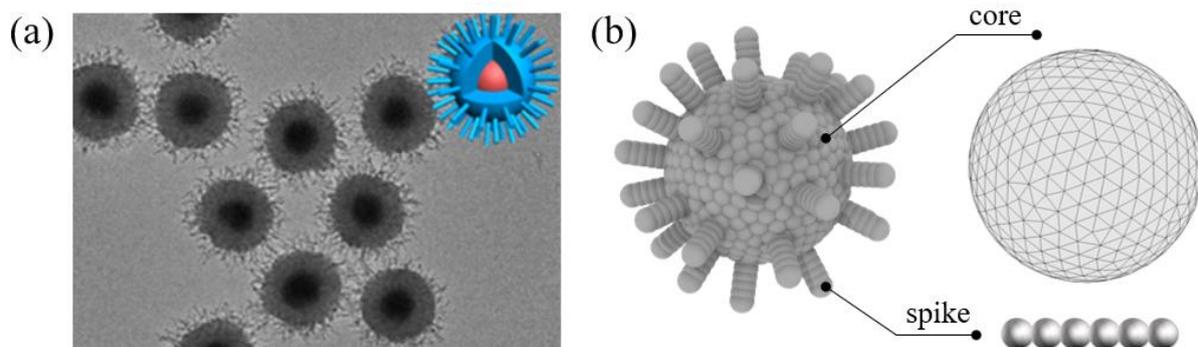


图 2-1 (a) 实验研究制备的介孔二氧化硅仿病毒纳米颗粒<sup>[32]</sup> (b) 由内核部分和刺突部分组成的仿病毒纳米颗粒耗散粒子动力学模拟模型

Figure 2-1 (a) Silica-based virus-like nanoparticle in experimental study<sup>[32]</sup> (b) Virus-like nanoparticle model composed of inner core and spikes in DPD simulation study

### 2.2.2 细胞膜及初始模型的构建

在细胞膜双子分层的模拟中，为复现真实细胞膜的特征与性质，选用一种经典的磷脂粗粒化模型来构建双分子层结构，该磷脂分子的粗粒化模型由三个亲水珠子和六个疏水珠子组成，具有双疏水尾链。粗粒化模型中相邻的珠子采用简谐弹簧势来链接，珠子间的平衡长度为  $0.5r_c$ ，链接亲水珠子的简谐弹簧势的弹簧弹性系数为 64，链接疏水珠子的弹簧弹性系数为 10。在本章研究中，双分子层全部由磷脂分子组成，未考虑配体-受体相互作用参与的情况。为保证细胞膜模型的合理性，首先将双分子层的张力控制为 0，双分子层的边长为  $60r_c$ ，对细胞膜体系进行平衡态模拟，并对平衡状态下细胞膜双分子层的结构进行分析。通过磷脂双分子层亲水头基与疏水尾链沿垂直于双分子层方向的密度分布及如图所示的平衡结构可知，平衡状态下的细胞膜模型是完整的，没有孔洞出现且双分子层两侧受力平衡，如图 2-2 所示。之后，将纳米颗粒放置于平衡细胞膜上方的  $15r_c$  处，进行正式的模拟及分析。

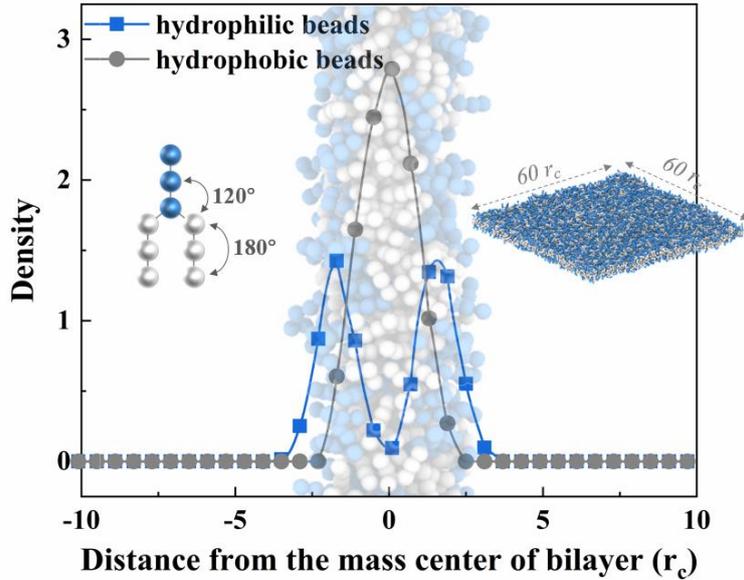


图 2-2 磷脂双分子层亲水头基与疏水尾链沿垂直于双分子层方向的密度分布及磷脂分子的粗粒化模型和双分子层平衡结构

Figure 2-2 Density profile of hydrophilic/hydrophobic beads of lipid bilayer in equilibrium state

### 2.2.3 模拟细节及相互作用参数的选取

本章中所有的模拟皆采用开源模拟软件 LAMMPS (large-scale atomic/molecular massively parallel simulator) 完成。LAMMPS 是目前最为灵活、最容易扩展、最广泛应用的动力学模拟软件之一, 便于添加和利用新的力场、珠子类型、作用势、边界条件等, 适用于全原子分子动力学模拟和耗散粒子动力学模拟, 且其并行效率极高。但也存在前处理和后处理有待继续完善的缺点, 需要利用其他软件和自行编写的程序来对模拟数据进行处理和分析。在本部分的研究中, 模拟采用的方形盒子的尺寸大小为  $60r_c * 60r_c * 40r_c$ , 模拟体系的数密度为 3, 因此整个模拟体系中共包含 432000 个珠子。除纳米颗粒模型中的珠子和双分子层模型中的珠子外, 都用水珠子填充, 以保持合理的体系数密度。根据 DPD 原始文献<sup>[190]</sup>, 耗散系数  $\gamma$  设置为 4.5, 随机力系数  $\sigma$  设置为 3。模拟步长  $\Delta t = 0.02\tau$ , 截断半径  $r_c$ 、珠子质量  $m$  和体系温度  $k_B T$  设置为 1。每个体系的模拟步长不少于 500,000 步, 模拟体系的 XYZ 三个方向皆采用周期性边界条件。以实验中的介孔二氧化硅仿病毒纳米颗粒为基础, 将纳米颗粒中的珠子 (P) 与水珠子 (W) 间的相互作用参数  $\alpha_{ij}$  设置为 25, 以模拟二氧化硅的亲水性质, 其余珠子间的相互作用参数设置源自先前的模拟研究, 如表 2-1 所示, 表中的 H 代表磷脂分子的亲水头基, T 代表磷脂分子的疏水尾链。先前报道的模拟研究证明采用的珠子间的相互作用参数可以合理模拟细胞膜的特征以及细胞膜与纳米颗粒间的作用。

表 2-1 水珠子 (W)、亲水头基 (H)、疏水尾链 (T)、颗粒珠子 (P) 间的相互作用参数  $\alpha_{ij}$   
 Table2-1 Interaction parameters of bead-bead pairs  $\alpha_{ij}$  among water/lipid/nanoparticle

$\alpha_{ij}$	W	H	T	P
W	25	25	100	25
H	25	25	100	25
T	100	100	25	100
P	25	25	100	25

### 2.2.4 弹簧力拉伸方法验证

为合理检验纳米颗粒在穿膜过程中的受力，采用了弹簧力拉伸的方法来驱动纳米颗粒穿膜。弹簧力的表达式为：

$$F = K((z_0 - vt) - z_{com}) \quad (2-1)$$

其中， $K$  是弹簧常数，在本研究中设置为  $0.01K_B T \cdot r_c^{-2}$ ， $z_0$  为纳米颗粒的初始位置， $v$  为拉伸参考点的速度， $t$  为模拟时间， $z_{com}$  为纳米颗粒的动态位置。该方法的物理意义为：虚拟点的位置随模拟时间的推移而匀速变化，而纳米颗粒与虚拟点的距离越大则施加在纳米颗粒上的驱动力越大，以此驱使纳米颗粒沿一方向运动。

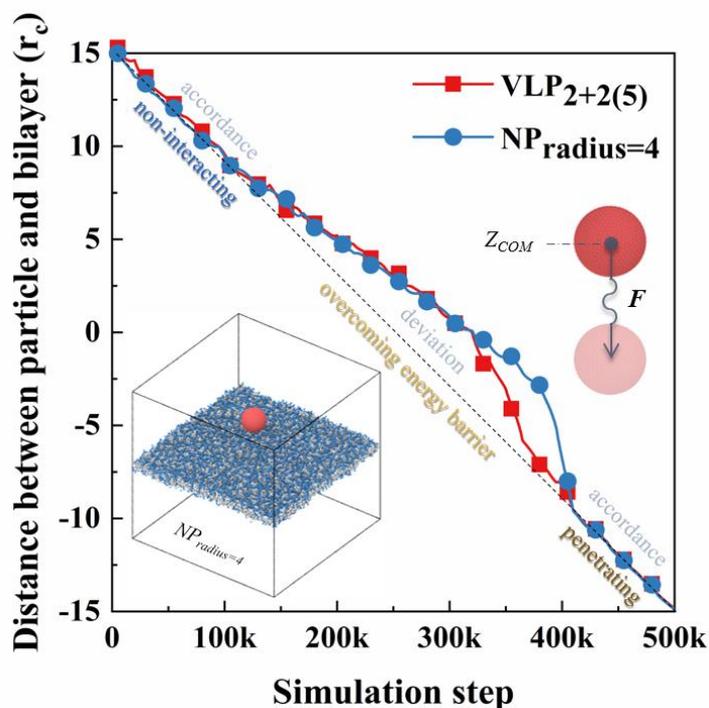


图 2-3 纳米颗粒的质心位置随模拟步长的变化

Figure2-3 Evolution of particle position as a function of simulation step

如图 2-3 所示，受施加在纳米颗粒上弹簧力的驱动，纳米颗粒随着模拟步长的增加逐渐靠近细胞膜。在穿膜的初始阶段，由于纳米颗粒与细胞膜距离相对较远，两者间不存在相互作用，因此纳米颗粒已接近匀速的状态向细胞膜靠近；随着纳米颗粒逐渐靠近细胞膜，势垒阻碍纳米颗粒继续匀速运动，导致从匀速运动上偏移；待纳米颗粒完全跨越细胞膜后，纳米颗粒又重新回到匀速运动，对应着渗透跨膜过程的结束。采用了弹簧力拉伸方法有两个主要的优点：首先，这一方法对纳米颗粒运动自由度的影响较小，一些以往的研究中采用的恒速或恒力的拉伸方法会对纳米颗粒的运动造成影响和限制，从而导致一定的失真；其次，采用弹簧力拉伸的方法可以帮助合理检验纳米颗粒在穿膜过程中的距离和受力的变化关系。

## 2.3 结果与分析

### 2.3.1 刺突长度及数目对穿膜效率的影响

基于弹簧力拉伸方法，对比研究了总尺寸相同的具有不同刺突长度与刺突数目的仿病毒纳米颗粒的穿膜过程，如图 2-4 所示，为方便读写，仿病毒纳米颗粒英文缩写后的下标中加号之前的数字代表球形内核的半径，加号后的数字代表刺突的长度，括号内的数字代表刺突的数目。

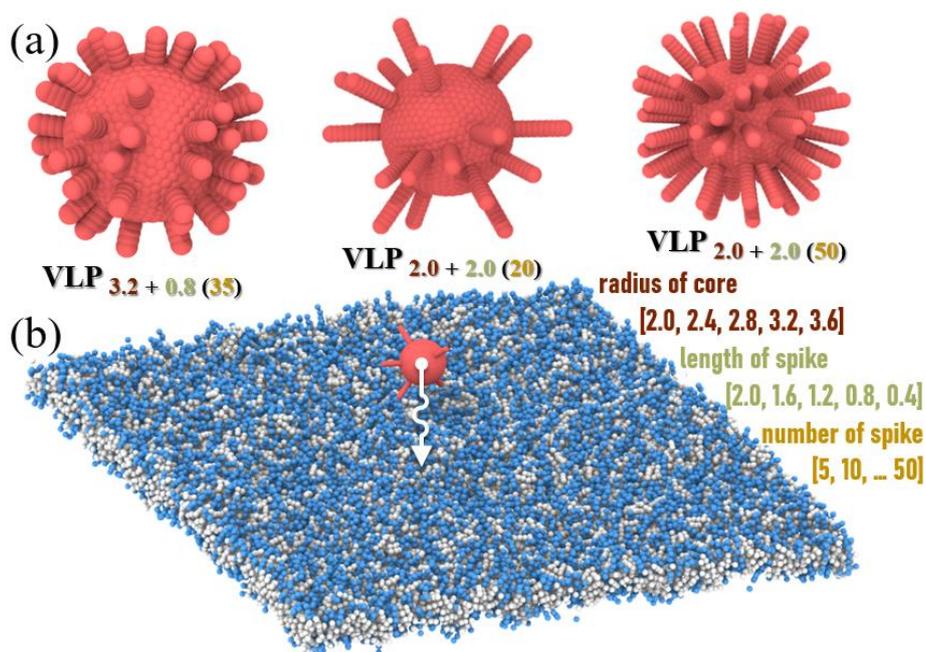


图 2-4 (a) 代表性的仿病毒纳米颗粒模型以及 (b) 仿病毒纳米颗粒与细胞膜相互作用模拟体系  
Figure 2-4 (a) Coarse-grained model of VLPs. Taking  $VLP_{3.2+0.8}(35)$ ,  $VLP_{2.0+2.0}(20)$ , and  $VLP_{2.0+2.0}(50)$  as examples (b) Representative snapshot of the interaction between  $VLP_{2.0+2.0}(5)$  and the lipid bilayer

从图 2-5 (a) 所示的纳米颗粒在穿膜过程中的受力曲线可以看出，随着仿病毒纳米颗粒刺突数目和刺突长度的改变，仿病毒纳米颗粒穿膜过程中需要跨越能垒的大小发生了明显的变化，意味着刺突的数目和长度同时对仿病毒纳米颗粒的渗透穿膜能力产生重要影响。总体而言，传统球形纳米颗粒和不同仿病毒纳米颗粒的穿膜过程都可以分为三个阶段：当纳米颗粒与细胞膜处于相对较远的距离 ( $>10r_c$ )，两者不存在相互作用；随着纳米颗粒逐渐靠近细胞膜 ( $<10r_c$ )，纳米颗粒需要克服势垒以继续靠近细胞膜；伴随拉力的增加，纳米颗粒完成渗透穿膜过程，施加在纳米颗粒上的拉力也随之卸载。但总的来说不同仿病毒纳米颗粒穿膜过程中的受力皆小于等尺寸的球形纳米颗粒，证明纳米颗粒表面不同数目和长度的刺突皆有利于颗粒渗透能力的提升。在受力曲线中值得注意的是，不只是穿膜过程中受力阈值的大小，仿病毒纳米颗粒受力阈值的位置也会随着刺突的长度和数目而改变，穿膜过程中颗粒受力阈值越小其出现的位置也越靠前，意味着仿病毒纳米颗粒的刺突结构在颗粒主体正式完成穿膜前已经对细胞膜造成了一定的影响，因此在随后的研究中，对颗粒在细胞膜粘附后的行为和现象进行了着重分析。在此，统计了不同仿病毒纳米颗粒穿膜所需拉力的阈值，并以刺突数目和刺突长度的变化为坐标，以热力图的形式呈现，如图 2-5 (b) 所示。从图中可以直观看出，在颗粒总尺寸不变的情况下，随着仿病毒纳米颗粒刺突数目的增加和刺突长度占总尺寸中比例的减小，仿病毒纳米颗粒穿膜所需要受力越来越大，也就是说，更长和更加稀疏的刺突有利于仿病毒纳米颗粒以直接渗透的方式穿越细胞膜。

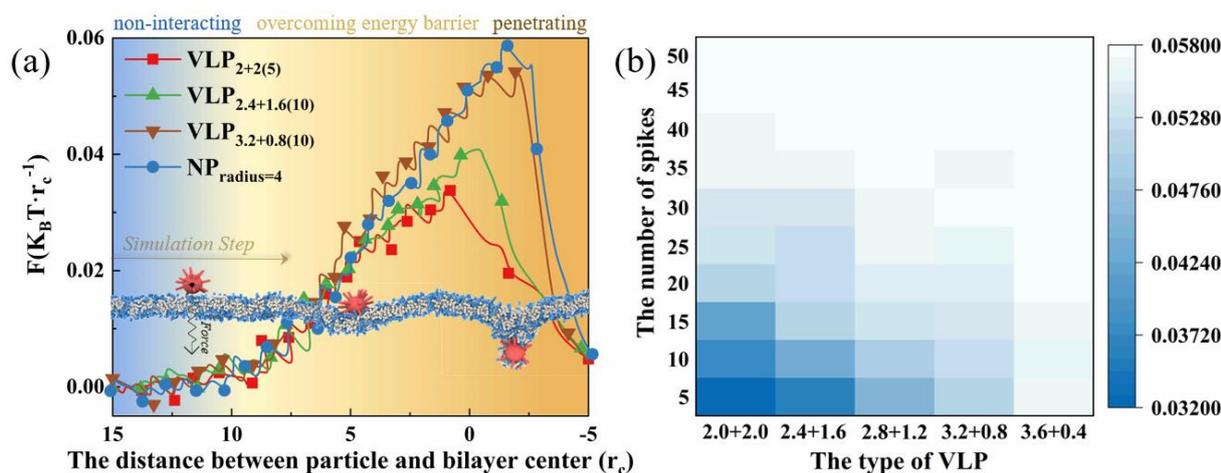


图 2-5 (a) 纳米颗粒在穿膜过程中的受力变化以及过程图 (b) 仿病毒纳米颗粒的受力阈值与刺突数目和刺突长度间的关系

Figure 2-5 (a) Representative profiles of pulling force on the beads of the particle with respect to the distance between the nanoparticle and the bilayer center. (b) Heatmap of critical force for VLP penetrating lipid bilayer as a function of the number of spikes and the type of VLP

### 2.3.2 仿病毒纳米颗粒穿膜的动态过程

为剖析颗粒表面的刺突结构能够提升仿病毒纳米颗粒穿膜效率的机理，以穿膜能力最强的  $VLP_{2+2(5)}$  为例，分析了仿病毒纳米颗粒穿膜的动态过程。如图 2-6 所示，在  $VLP_{2+2(5)}$  粘附到细胞膜后，仿病毒纳米颗粒会发生旋转并在旋转过程中将刺突插入细胞膜中，由于仿病毒纳米颗粒在细胞膜表面的运动，插入细胞膜中的刺突会显著扰动细胞膜的结构，如橘色方框所示。因此，不同于表面光滑的纳米颗粒，VLP 在内核进入细胞膜前，细胞膜的结构就已发生变化，随着穿膜过程的继续，仿病毒纳米颗粒逐步跨越已被显著扰乱的双分子层。

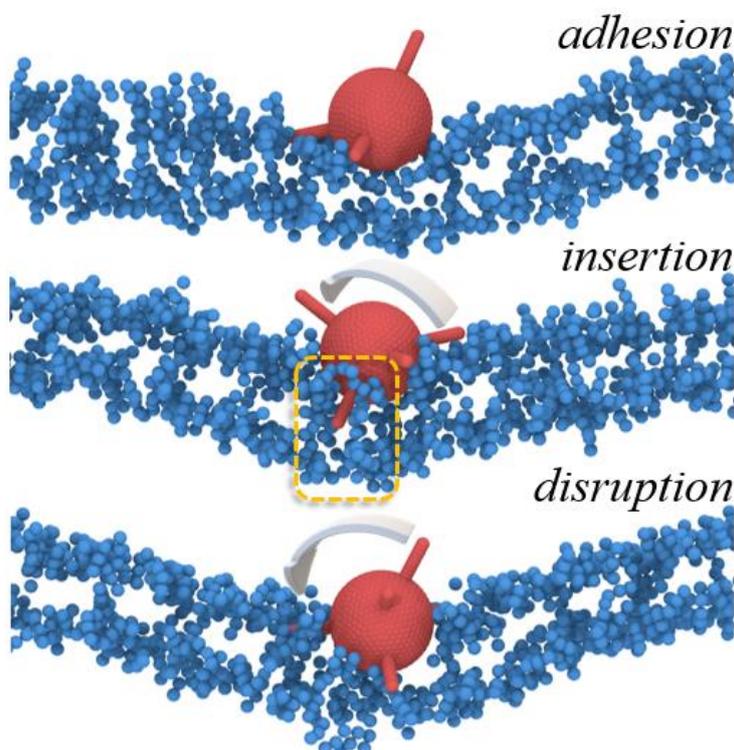


图 2-6  $VLP_{2+2(5)}$  黏附在细胞膜后破坏细胞膜结构的过程图

Figure 2-6 Representative snapshots of the internalization pathway for  $VLP_{2+2(5)}$

为定量分析仿病毒纳米颗粒的动力学行为，首先对  $VLP_{2+2(5)}$  在渗透穿膜过程中的转动行为进行了定量分析，如图 2-7 (a) 所示，分析结果表明在仿病毒纳米颗粒的穿膜过程中，包括颗粒在细胞膜内的阶段，颗粒是不断无规转动的。如图 2-7 (b) 所展示的  $VLP_{2+2(5)}$  在穿膜过程中随时间变化的完整的三维运动轨迹，仿病毒纳米颗粒在细胞膜上滞留了一段时间，而在这段时间内仿病毒纳米颗粒是不断平动与转动的，如黑色圆框所示，正是这段时间内仿病毒纳米颗粒在细胞膜上的运动导致在颗粒正式穿越细胞膜前便显著破坏了细胞膜双分子层的有序结构。

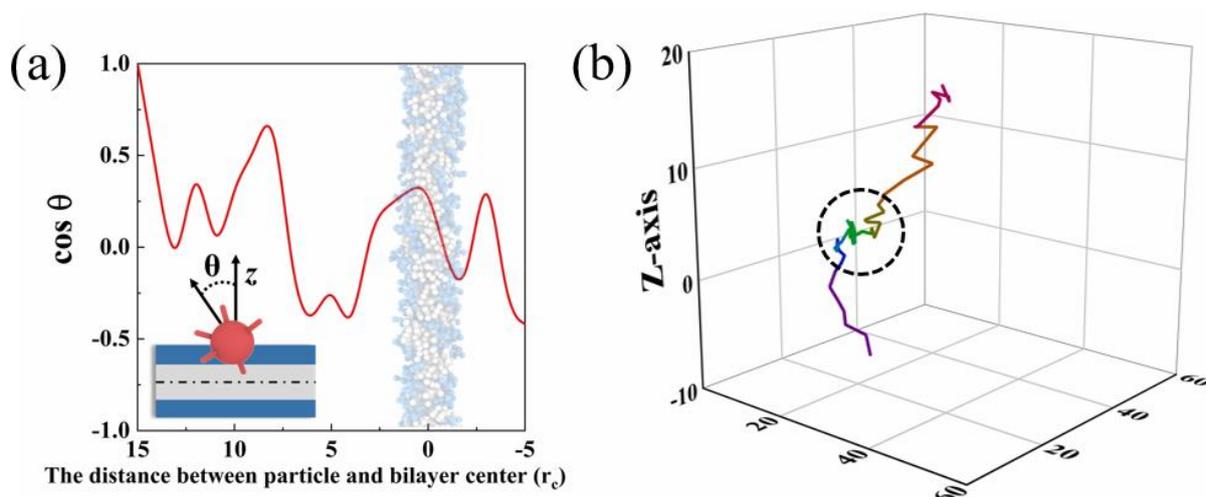


图 2-7 (a) VLP<sub>2+2(5)</sub>在穿膜过程中的旋转及其 (b) 在穿膜过程中的三维运动轨迹  
 Figure2-7 (a) Particle orientation and (b) 3D centroid trajectories of VLP<sub>2+2(5)</sub>

### 2.3.3 颗粒表面刺突对双分子层结构的影响

为更进一步分析纳米颗粒的表面拓扑结构对纳米颗粒渗透能力的影响，对总尺寸相同的仿病毒纳米颗粒和普通球形纳米颗粒的跨膜过程进行了对比。首先，对比研究了 VLP<sub>2+2(5)</sub>和相同尺寸的传统球形纳米颗粒在穿膜过程中的细胞膜结构变化。在此，以平衡状态下细胞膜的厚度为基准，分析了纳米颗粒穿膜引起的细胞膜垂直形变，如图 2-8 (a) 所示。从颗粒质心变化与细胞膜形变间的关系可以看出，球形纳米颗粒和 VLP<sub>2+2(5)</sub>在穿膜过程中随着细胞膜与纳米颗粒间质心距离的减小，细胞膜的形变都逐渐增大，并且随着穿膜过程的结束，细胞膜愈合复原。然而在相同距离的情况下，VLP<sub>2+2(5)</sub>所造成的细胞膜形变要明显小于总尺寸相同的球形纳米颗粒，这一区别也可以由根据细胞膜相对位置而渲染的颗粒穿膜过程图中直观看出，如图 2-8 (b-c) 所示。在相同的位置仿病毒纳米颗粒和传统纳米颗粒造成细胞膜不同形变程度的主要原因是仿病毒纳米颗粒表面刺突间的空隙并不作为有效体积，从而可以被磷脂分子占据和填充，在此也可以看出颗粒表面拓扑对颗粒与细胞膜间相互作用的影响与纳米颗粒尺寸效应的区别。根据经典生物膜弹性理论<sup>[211]</sup>，仿病毒纳米颗粒与传统纳米颗粒在穿膜过程中造成细胞膜垂直形变的差异也意味着仿病毒纳米颗粒在穿膜过程中所导致的细胞弯曲能更低，从而更有利于纳米颗粒的渗透穿膜。

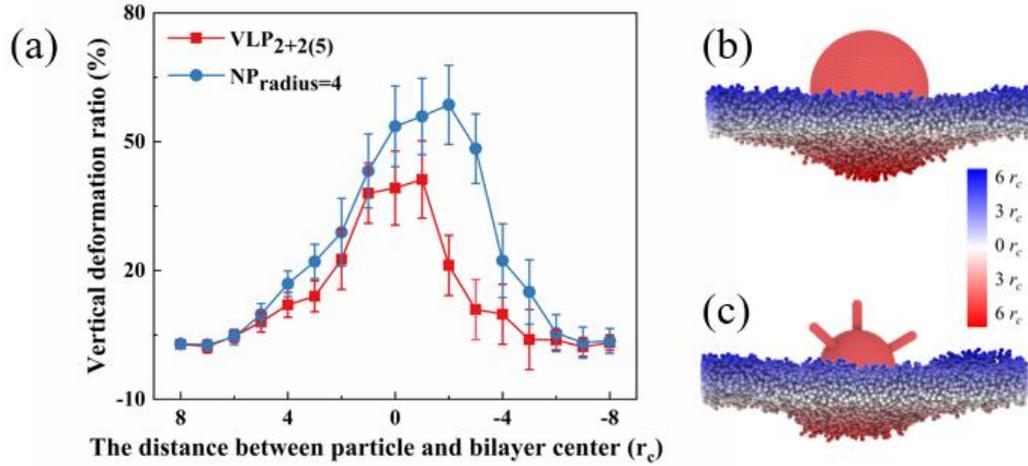


图 2-8 (a)  $\text{NP}_{\text{radius}=4}$  和  $\text{VLP}_{2+2(5)}$  在穿膜过程中引起的细胞膜垂直形变比率以及 (b)  $\text{NP}_{\text{radius}=4}$  和 (c)  $\text{VLP}_{2+2(5)}$  在相同位置引起的细胞膜形变的侧视图

Figure2-8 (a) Vertical deformation ratio of the bilayer during the translocation of the nanoparticle. Side view of the membrane during (b) spherical nanoparticle and (c)  $\text{VLP}_{2+2(5)}$  across the lipid bilayer. Color gradient for beads of lipid is based on the relative distance along the Z-axis

除细胞膜的垂直形变外，还对纳米颗粒穿膜过程中所造成的细胞膜平行方向的结构进行了分析。在此部分，为减小数据的噪音，以纳米颗粒的质心为中心，选取周围半径为  $20r_c$  的正方形区域对其疏水部分的暴露进行分析。如图 2-9 (a) 所示，相较于总尺寸相同的球形纳米颗粒， $\text{VLP}_{2+2(5)}$  在穿膜过程中可以在细胞膜表面制造更多的缺陷，而先前的实验和模拟研究也已证实纳米颗粒更易从细胞膜中有缺陷的位置进入细胞<sup>[210]</sup>。仿病毒纳米颗粒在穿膜过程中造成的缺陷位置可以从细胞膜的俯视图中直观观察到，如图 2-9 (b-c) 所示，细胞膜的表面以透明紫色显示，在  $\text{VLP}_{2+2(5)}$  跨膜引起的细胞膜的凹陷部位，明显有更多的疏水部分暴露。

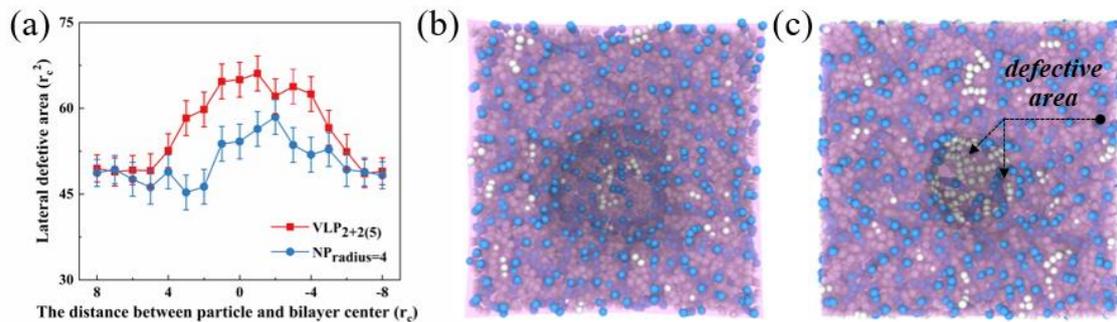


图 2-9 (a)  $\text{NP}_{\text{radius}=4}$  和  $\text{VLP}_{2+2(5)}$  在穿膜过程中引起的细胞膜缺陷面积以及 (b)  $\text{NP}_{\text{radius}=4}$  和 (c)  $\text{VLP}_{2+2(5)}$  在细胞膜造成凹陷的俯视图

Figure2-9 (a) Lateral defective area of the bilayer during the translocation of  $\text{NP}_{\text{radius}=4}$  and  $\text{VLP}_{2+2(5)}$ . Top view of invagination in the bilayer induced by (b)  $\text{NP}_{\text{radius}=4}$  and (c)  $\text{VLP}_{2+2(5)}$ , and the translucent mauve is the surface of the bilayer

综合纳米颗粒跨膜过程中垂直方向和平行方向的结构变化分析可知，仿病毒纳米颗粒表面的刺突能够帮助实现在不增加细胞膜垂直形变的基础上增加细胞膜表面的缺陷。如图 2-10 所示的球形纳米颗粒及仿病毒纳米颗粒穿膜过程中细胞膜结构变化的侧视图可以看出：由于细胞膜的弹性，传统球形纳米颗粒在粘附到细胞膜之后与细胞膜接触均匀，在均匀受力的情况下，即使细胞膜在垂直方向发生明显形变也未显著破坏细胞膜的完整性和有序度，而仿病毒纳米颗粒的刺突插入细胞膜后可以借助热运动扰动细胞膜有序结构并造成细胞膜厚度的分布不均，进而利于仿病毒纳米颗粒从缺陷位置渗透穿越细胞膜。

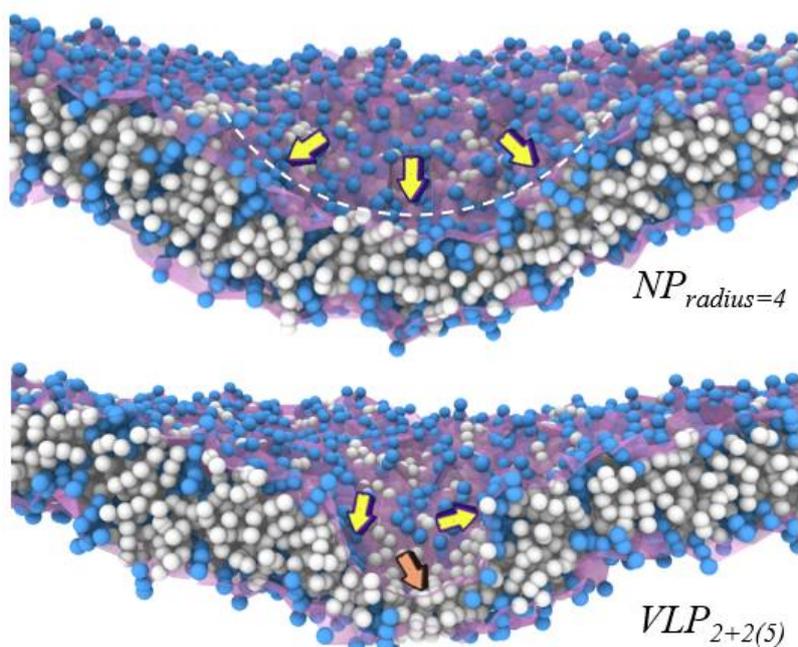


图 2-10  $NP_{radius=4}$  和  $VLP_{2+2(5)}$  在穿膜过程中引起细胞膜凹陷的侧视图

Figure 2-10 Side view of invagination in the bilayer induced by  $NP_{radius=4}$  and  $VLP_{2+2(5)}$

另外，对颗粒渗透穿膜过程的分析结果表明仿病毒纳米颗粒刺突的作用不仅存在于仿病毒纳米颗粒黏附在细胞膜后，在颗粒进入细胞膜中且完全完成穿膜之前，仿病毒纳米颗粒的刺突还可以对颗粒周围的磷脂分子造成一定的影响。如图 2-11 所示，通过统计分析颗粒穿膜过程中磷脂分子的平面密度分布可知，仿病毒纳米颗粒在穿膜过程中可以通过破坏颗粒周围磷脂分子的有序结构致使周围的磷脂分子密度变低。不同于球形纳米颗粒，仿病毒纳米颗粒表面的粗糙度可以扰乱更大范围内磷脂分子的密度和有序程度使其“流体化”。在这种情况下，纳米颗粒更易穿越细胞膜并从细胞膜脱离进入胞内，从而有助于仿病毒纳米颗粒在渗透能力的提升。

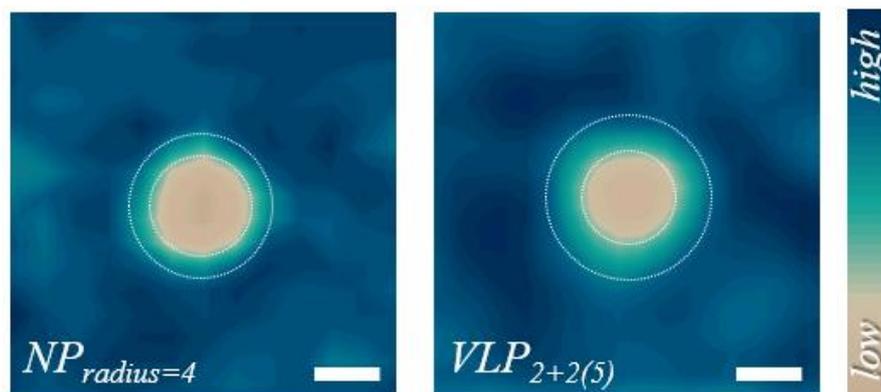


图 2-11  $NP_{radius=4}$  和  $VLP_{2+2(5)}$  在穿膜过程中周围磷脂分子的平面密度分布

Figure 2-11 Planar number density distribution of lipids during the translocation of  $NP_{radius=4}$  and  $VLP_{2+2(5)}$  (scale bar =  $5r_c$ )

## 2.4 本章小结

通过耗散粒子动力学模拟研究，对球形纳米颗粒和具有不同结构性质的仿病毒纳米颗粒的渗透穿膜过程进行了研究分析。基于弹簧力拉伸方法，通过对具有不同刺突长度和刺突数目的仿病毒纳米颗粒进行穿膜能力对比，发现在总尺寸不变的情况下，更长、更稀疏的刺突更有利于纳米颗粒渗透能力的提升。通过对仿病毒纳米颗粒渗透穿膜的动态过程进行分析，发现仿病毒纳米颗粒在粘附到细胞膜后，其刺突可以插入细胞膜内部，并借助热运动破坏细胞膜结构。通过对比仿病毒纳米颗粒与球形纳米颗粒在穿膜过程中对细胞膜结构的影响，发现仿病毒纳米颗粒的刺突可以在不增加细胞膜垂直形变的同时增加细胞膜的表面缺陷，并可以使颗粒周围的磷脂分子呈现流体化的状态，这些因素共同驱使仿病毒纳米颗粒可以达到更高的渗透能力。该章节的研究首先阐释了纳米颗粒的表面拓扑结构如何影响纳米颗粒的渗透能力，剖析了病毒形貌如何帮助纳米颗粒提升渗透能力的问题，并基于对比分析对仿病毒纳米颗粒渗透能力的提升给出了理论建议，为用于药物输运等领域的仿病毒纳米颗粒的优化提供了理论借鉴。

## 第三章 仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞行为研究

### 3.1 引言

内吞作用是纳米材料进入细胞内部的重要途径。相对于直接渗透，纳米材料以内吞方式被转运至胞内虽有一定的劣势但适用于内吞作用的纳米材料的尺寸范围更加广泛，因此深入理解纳米材料的结构性质对内吞作用的影响对于生物医学用纳米材料的发展有着重要的意义。在实验研究中，尺寸较大的纳米颗粒更易以内吞方式进入到细胞膜中，而这一内化方式主要包括纳米颗粒的吸附、纳米颗粒的包裹以及纳米颗粒最终脱离细胞膜等步骤。先前的实验和理论研究也表明纳米颗粒被细胞以内吞方式摄取时存在最优尺寸，此外先前研究证明纳米颗粒的形状也对纳米颗粒的内吞有着显著的影响，结合 Helfrich 理论研究者证明球形纳米颗粒可以达到比盘状和方形纳米颗粒更高的内吞效率<sup>[212]</sup>。另外，影响纳米颗粒内吞效率的还包括纳米颗粒的电荷和所修饰的配体等<sup>[204,213]</sup>。然而，由于仿病毒纳米颗粒是近年来新发展的一种纳米颗粒，对纳米颗粒表面拓扑结构调控的实验研究相比于纳米颗粒形状等性质调控的实验研究出现较晚，针对纳米颗粒表面拓扑结构如何影响纳米颗粒内吞效率的研究还未探明，而剖析上述问题对于仿病毒纳米颗粒的发展具有重要价值。基于此，本章采用耗散粒子动力学模拟方法对仿病毒纳米颗粒刺突长度和刺突数目对颗粒受体介导内吞效率的影响开展研究，并对刺突影响纳米颗粒内吞的机理从热力学和动力学角度进行分析。

### 3.2 模型建立与计算方法

#### 3.2.1 仿病毒纳米颗粒模型的建立

由于二氧化硅仿病毒纳米颗粒易于调节刺突的长度和分布等性质，在该章节中所建立的仿病毒纳米颗粒模拟模型仍以二氧化硅仿病毒纳米颗粒为基础。如图 3-1 所示，首先利用 Matlab 软件对仿病毒纳米颗粒的球形内核进行建模，利用三角网格建立表面光滑的实心球体模型，球形内核的半径控制为  $2r_c$ 。随后，将 DPD 珠子以  $0.2r_c$  的间距等距沿直线连接，用以模仿刺突结构。最后，根据球状内核的质心将刺突均匀的嫁接到球形内核的表面。在该部分的研究中，考虑了  $0.2r_c$ 、 $0.4r_c$ 、 $0.6r_c$ 、 $0.8r_c$ 、 $1.0r_c$ 、 $1.2r_c$ 、 $1.4r_c$ 、 $1.6r_c$ 、 $1.8r_c$ 、 $2.0r_c$  共 10 种刺突长度，以及 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50 共 10 种刺突数目，共 100 种仿病毒纳米颗粒模型建立。为对比研究仿病毒纳米颗粒与传统

纳米颗粒受体介导内吞的区别，也对半径为  $2r_c$  的球形纳米颗粒进行了模拟研究。所有纳米颗粒模型皆被设置为刚体。为便于读写，下标中加号前的数字代表内核的半径，加号后的数字代表刺突的长度，括号内的数字代表刺突的数目。

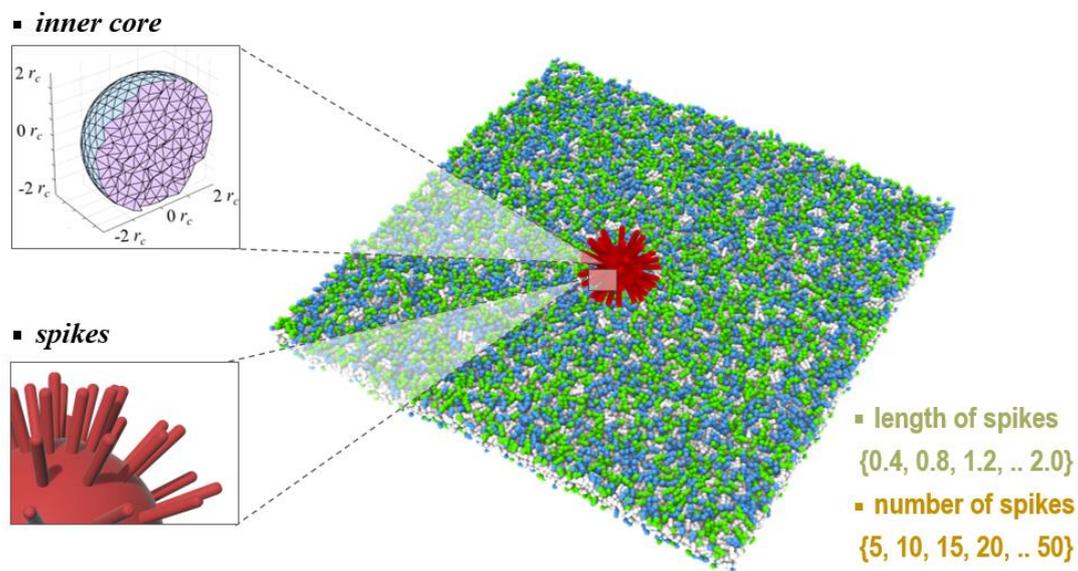


图 3-1 仿病毒纳米颗粒模拟模型以及研究颗粒与细胞膜间相互作用的模拟体系

Figure 3-1 Model of virus-like nanoparticle and representative snapshot of the interaction between virus-like nanoparticle and membrane

### 3.2.2 细胞膜及初始模型的构建

根据磷脂分子双疏水尾链的特点，选用经典的由三个亲水珠子和六个疏水珠子组成磷脂分子粗粒化模型来构建细胞膜双分子层，磷脂分子模型中的珠子间的平衡长度为  $0.5r_c$ ，采用简谐弹簧势来连接相邻的珠子，且链接亲水珠子的弹簧弹性系数为 64，链接疏水珠子的弹簧弹性系数为 10。此外，为复现配体-受体相互作用，部分磷脂分子模型的亲水头基与纳米颗粒间设置为较为亲和的作用参数，具体相互作用参数在下一小节中详细记录。虽然受模拟方法的限制，模拟中的受体与真实情况的受体存在一定差异，但先前研究证明该方法可以较好的复现受体介导内吞的特点与动态过程。根据先前的模拟研究，该部分研究中细胞膜的受体密度设置为 50%。为保证细胞膜模型的合理性，首先将双分子层的张力控制为 0，并对细胞膜体系进行模拟以得到合理平衡的细胞膜结构。如图 3-2 所示，平衡状态下细胞膜结构的密度分析表明模拟得到的细胞膜结构是完整的，且细胞膜两侧受力平衡，没有孔洞出现。随后将纳米颗粒放置于平衡细胞膜上方的  $15r_c$  处，进行正式的模拟及分析。

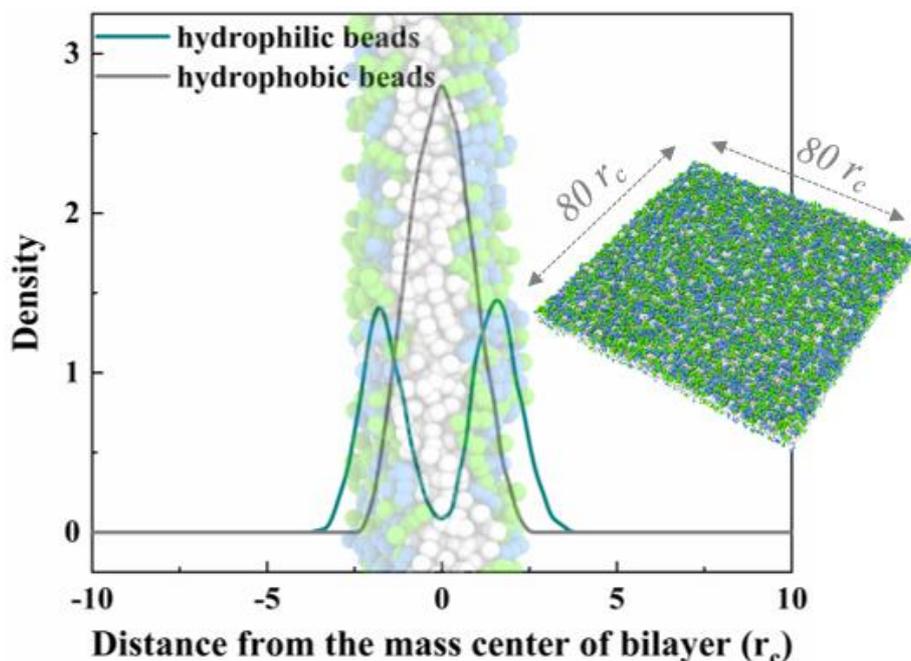


图 3-2 细胞膜中的亲水头基与疏水尾的密度分布及磷脂/受体的粗粒化模型和双分子层平衡结构  
 Figure3-2 Density profile of hydrophilic/hydrophobic beads of cell membrane in equilibrium state

### 3.2.3 模拟细节及相互作用参数的选取

本章中所有的模拟皆采用开源模拟软件 LAMMPS 完成。模拟中采用的盒子大小为  $80r_c * 80r_c * 40r_c$ ，体系的数密度为 3。除纳米颗粒模型和双分子层模型中的珠子外，都用水珠子填充，整个模拟体系中共包含 768000 个珠子。耗散系数  $\gamma$  和随机力系数  $\sigma$  分别设置为 4.5 和 3，截断半径  $r_c$ 、珠子质量  $m$  和体系温度  $k_B T$  设置为 1。模拟体系的 XYZ 三个方向皆采用周期性边界条件。模拟步长  $\Delta t = 0.015\tau$ ，每个体系的模拟步长不少于 1,000,000 步。

表 3-1 水珠子 (W)、磷脂 (H/T)、受体 (R/L)、颗粒珠子 (P) 间的相互作用参数  $\alpha_{ij}$   
 Table3-1 Interaction parameters of bead-bead pairs  $\alpha_{ij}$  among water/lipid/receptor/nanoparticle

$\alpha_{ij}$	W	H	T	R	L	P
W	25	25	100	25	100	25
H	25	25	100	25	100	25
T	100	100	25	100	25	100
R	25	25	100	25	100	5
L	100	100	25	100	25	100
P	25	25	100	5	100	25

参考二氧化硅仿病毒纳米颗粒的亲水性质,将纳米颗粒中的珠子(P)与水珠子(W)间的相互作用参数  $\alpha_{ij}$  设置为 25;为模拟配体-受体相互作用,根据先前报道的模拟文献将受体头基(R)与纳米颗粒中的珠子(P)间的相互作用参数  $\alpha_{ij}$  设置为 5;其余珠子间的相互作用参数设置源自先前报道的模拟文献,如表 3-1 所示,表中的 H 代表磷脂分子的亲水头基, T 代表磷脂分子的疏水尾链, L 代表受体的疏水尾链。已报道的模拟研究表明该相互作用参数可以合理有效的模拟细胞膜结构以及纳米颗粒与细胞膜间的配体-受体相互作用。

### 3.3 结果与分析

#### 3.3.1 刺突的长度与数目对内吞效率的影响

为定量研究刺突长度和刺突数目对仿病毒纳米颗粒与细胞膜间的相互作用模式的影响,根据纳米颗粒被细胞膜包裹的面积比,可以将仿病毒纳米颗粒与细胞膜间的相互作用模式分为三类:完全包裹、部分包裹、粘附。在此,颗粒被细胞膜包裹面积小于 50% 的状态被划分为粘附,介于 50% 和 100% 间的被划分为部分包裹状态,颗粒面积被细胞膜 100% 包裹的定义为完全包裹。在纳米材料以内吞方式被转运至细胞膜内的过程中,通常包括纳米材料在细胞膜上的吸附、纳米材料的包裹和纳米材料脱离细胞膜等步骤,而纳米材料的完全包裹是内吞过程中的重要步骤,因此在模拟研究中,通常将未能实现纳米颗粒完全包裹状态的体系定义为内吞受挫。尽管受模拟方法适用性的限制,现存的耗散粒子动力学模拟方法还难以模拟完整的内吞过程,如纳米材料脱离细胞膜并与核内体发生相互作用等,但耗散粒子动力学模拟研究可以从纳米材料与细胞膜间的作用状态以及内吞效率帮助评价纳米材料的内化能力。如图 3-3 (a) 所示,刺突的数目和长度都会对仿病毒纳米颗粒与细胞膜间的相互作用模式产生影响,但刺突的长度对相互作用模式影响更大,模拟结果表明具有较短刺突的仿病毒纳米颗粒可以被完全包裹,而随着刺突长度的增加,仿病毒纳米颗粒被包裹的程度逐渐下降,从部分包裹逐渐变为粘附状态,对应着相互作用强度的下降。类似的现象也曾被 Ma 等<sup>[172]</sup>发现报道,该研究团队发现在纳米颗粒表面修饰过长的配体不利于纳米颗粒的完全包裹,并且在这种情况下,即使提升配体-受体间的相互作用也难以促进纳米颗粒的包裹和内吞。概括来说,模拟结果证实仿病毒纳米颗粒的应用中,对刺突长度和刺突数目的合理设计是至关重要的。为进一步明确刺突对仿病毒纳米颗粒的内化效率的影响,对球形纳米颗粒的受体介导内吞进行了模拟研究。在相同的条件下,球形纳米颗粒需要  $862\tau$  的模拟时长来实现完全包裹,因

此以  $862\tau$  为基准对比研究了不同仿病毒纳米颗粒实现完全包裹的相对时长。如图 3-3 (b) 所示，具有较短刺突的仿病毒纳米颗粒需要比球形纳米颗粒更短的时间来实现颗粒的完全包裹，证明相对较短的刺突可以促进仿病毒纳米颗粒的包裹和内化，而随着刺突的变长，仿病毒纳米颗粒需要达到完全包裹的时间逐渐变长，并且逐步变的难以被包裹，最终只能被细胞膜部分包裹甚至仅能粘附在细胞膜表面

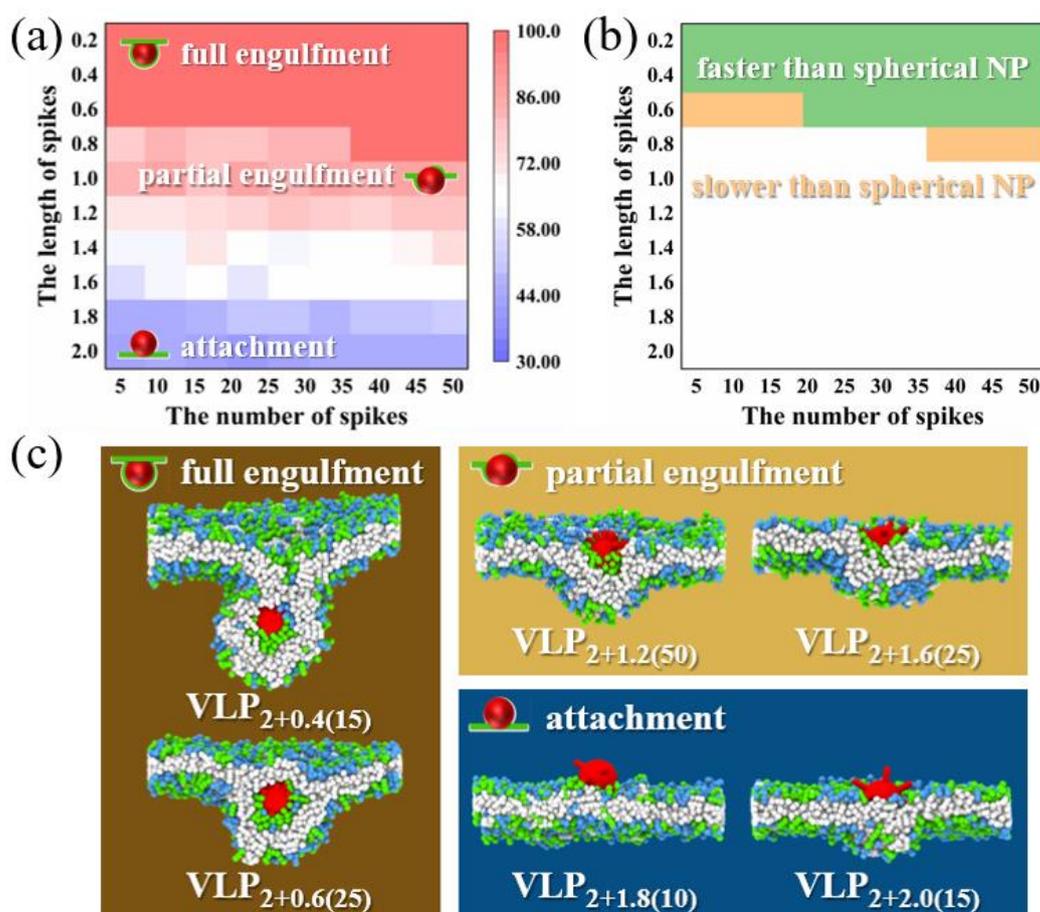


图 3-3 (a) 具有不同刺突长度和刺突数目的仿病毒纳米颗粒与细胞膜间的相互作用状态 (b) 不同仿病毒纳米颗粒的相对内吞速率 (c) 典型的完全包裹、部分包裹以及粘附状态截图  
 Figure3-3 (a) Engulfment degree of VLPs as a function of spike length and spike number (b) Relative engulfment speed for full engulfment (c) Representative snapshots of interaction states

从具有不同刺突长度和刺突数目的仿病毒纳米颗粒与细胞膜间的相互作用状态和不同仿病毒纳米颗粒的内化效率中可以看出仿病毒纳米颗粒的刺突既可能促进又可能阻碍仿病毒纳米颗粒的包裹和内化，且具体主要由刺突的长度而决定，而刺突数目的作用相对次要。因此，刺突对仿病毒纳米颗粒内吞效率的影响可以称为双相作用 (biphasic effect)。图 3-3 (c) 展示了仿病毒纳米颗粒被细胞膜完全包裹和部分包裹以及在细胞膜粘附的代表性体系。

## 3.3.2 仿病毒纳米颗粒内吞的动态过程

为进一步探究刺突对仿病毒纳米颗粒受体介导内吞的双相作用，选用  $VLP_{2+0.6(30)}$  和  $VLP_{2+2(30)}$  两个体系作为代表，与球形纳米颗粒的内吞过程进行对比研究。如图 3-4 所示，从颗粒与细胞膜间距的变化中可以看出，从相同的初始位置，不同颗粒都较快的粘附在细胞膜表面，但刺突的出现略微加快了颗粒的粘附速度；随后，黏附在细胞膜表面的纳米颗粒需要一定的时间来募集受体，受体的动态募集过程已被广泛的报道和证实；在募集受体的过程中，纳米颗粒的粘附能逐渐增加，逐步弥补细胞膜弯曲能的损耗，从而引起细胞膜的形变增大，以及纳米颗粒包裹率的增加；随着粘附能的继续增大， $VLP_{2+0.6(30)}$  和  $NP_{radius=2}$  最终被细胞膜完全包裹，但  $VLP_{2+2(30)}$  的包裹率在 40% 左右震荡，难以被细胞膜包裹内吞。

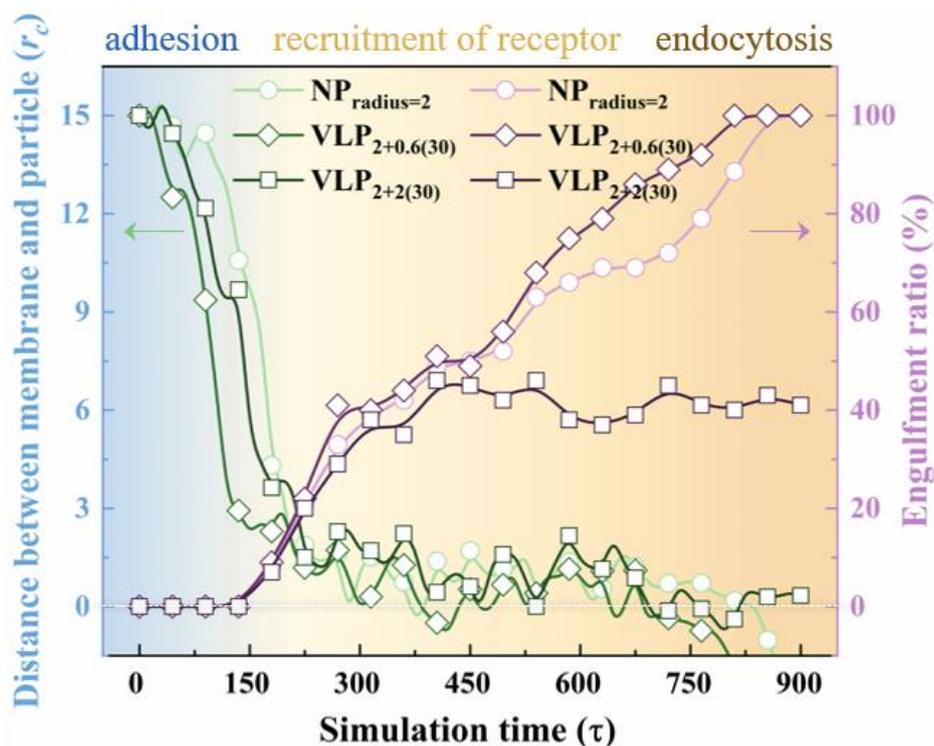


图 3-4 纳米颗粒与细胞膜间的距离及纳米颗粒的包裹率随模拟时间的变化

Figure 3-4 Evolution of engulfment ratio and the distance between bilayer and particle centre

从图 3-5 (a-c) 所示的纳米颗粒在内吞过程中随时间变化的三维运动轨迹中可以看出，三种典型的纳米颗粒在粘附到细胞膜后都在细胞膜表面停留了一段时间。但纳米颗粒募集受体的过程中，纳米颗粒并不是完全静止的，伴随着颗粒的运动过程， $VLP_{2+0.6(30)}$  和  $NP_{radius=2}$  逐渐被细胞膜完全包裹，而  $VLP_{2+2(30)}$  相对较长的刺突阻碍了颗粒的包裹过程，最终使其难以被细胞膜完全包裹，如图 3-5 (d) 所示。

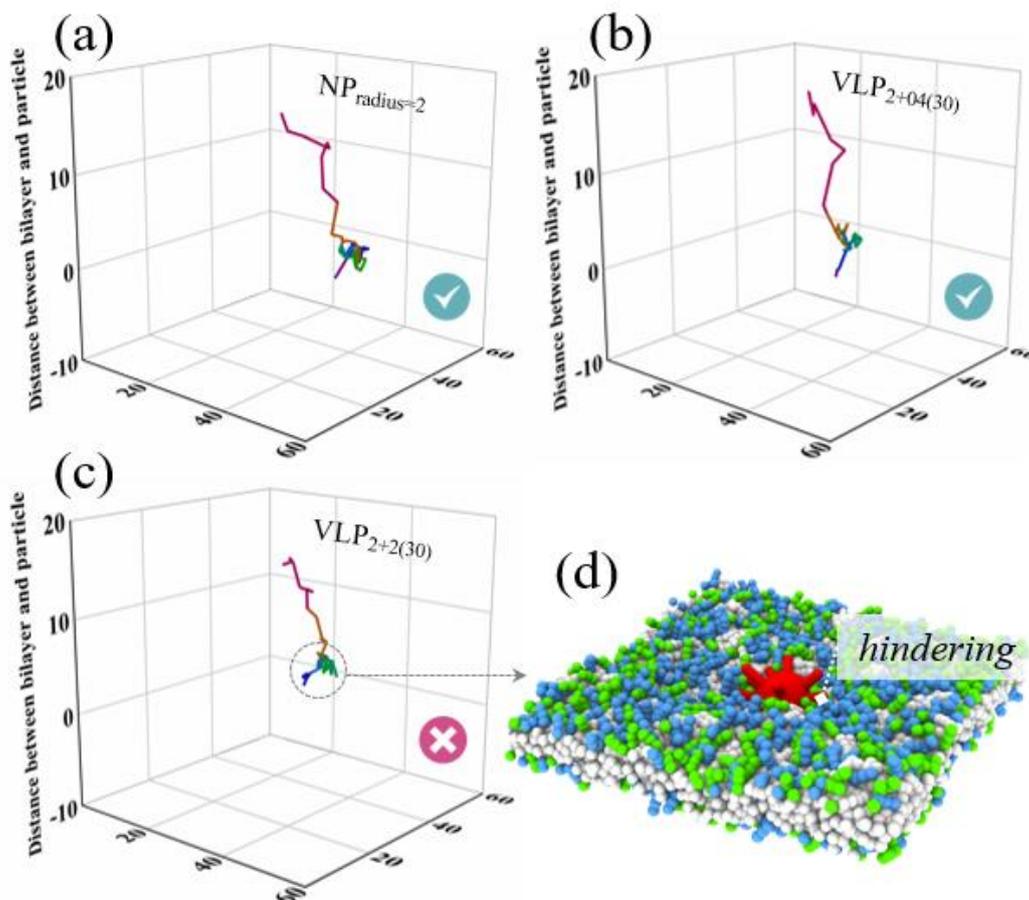


图 3-5 (a)  $NP_{radius=2}$  (b)  $VLP_{2+0.6(30)}$  (c)  $VLP_{2+2(30)}$  在内吞过程中随时间变化的三维运动轨迹，  
(d) 长刺突阻碍  $VLP_{2+0.6(30)}$  包裹的截图

Figure 3-5 3D centroid trajectories of (a)  $NP_{radius=2}$ , (b)  $VLP_{2+0.6(30)}$  and (c)  $VLP_{2+2(30)}$ . (d) Snapshot of long spikes hinder the endocytosis of  $VLP_{2+0.6(30)}$

### 3.3.3 刺突影响内吞效率的微观机理

为深入理解为何相对较短的刺突可以帮助仿病毒纳米颗粒提升受体介导内吞的效率，进一步对比了  $VLP_{2+0.6(30)}$  和  $NP_{radius=2}$  内吞的动态过程。如图 3-6 (a) 所示，普通的球形纳米颗粒在粘附到细胞膜后，会通过募集受体增加粘附能，并在随着粘附能的增加引起细胞膜的凹陷，而由于球形纳米颗粒各向同性的特点，在球形纳米颗粒被细胞膜包裹的过程中细胞膜的形变是较为对称的，此外球形纳米颗粒自身的热运动也不能促进包裹过程。模拟中得到的球形纳米颗粒的内吞过程与实验中透射电镜观察到的球形二氧化硅纳米颗粒的受体介导内吞过程<sup>[214]</sup>非常接近，如图 3-6 (c) 所示。相较之下，具有较短刺突的仿病毒纳米颗粒的内吞过程与普通球形纳米颗粒截然不同，如图 3-6 (b) 所示的  $VLP_{2+0.6(30)}$  的内吞过程，在  $VLP_{2+0.6(30)}$  粘附到细胞膜表面后，虽然同样由于粘附能的增加引起了细胞膜的形变，但随着配体-受体相互作用的增强，磷脂分子逐步覆盖了  $VLP_{2+0.6(30)}$

的上半部分，随着磷脂分子的进一步扩散， $VLP_{2+0.6(30)}$ 被细胞膜完全包裹。该现象的产生一方面是由于刺突的出现进一步增加了纳米颗粒的比表面积，使得仿病毒纳米颗粒相较于球形纳米颗粒更容易接触和募集受体，进一步增强了纳米颗粒的粘附能；另一方面，仿病毒纳米颗粒表面适当的粗糙度也增加了磷脂分子在颗粒表面的稳定性，使其能够“攀爬”到颗粒的上部。在此情况下，仿病毒纳米颗粒的旋转也会对包裹过程的完成起到促进作用，相较之下球形纳米颗粒只能依靠更高的粘附作用强度并引起更大的细胞膜形变来完成颗粒的完全包裹。如图 3-6 (d) 所示的具有较短刺突的仿病毒纳米颗粒的非对称包裹模式，仿病毒纳米颗粒在嵌入细胞膜后，逐步被包围和覆盖，而后细胞膜逐渐愈合完成内吞。

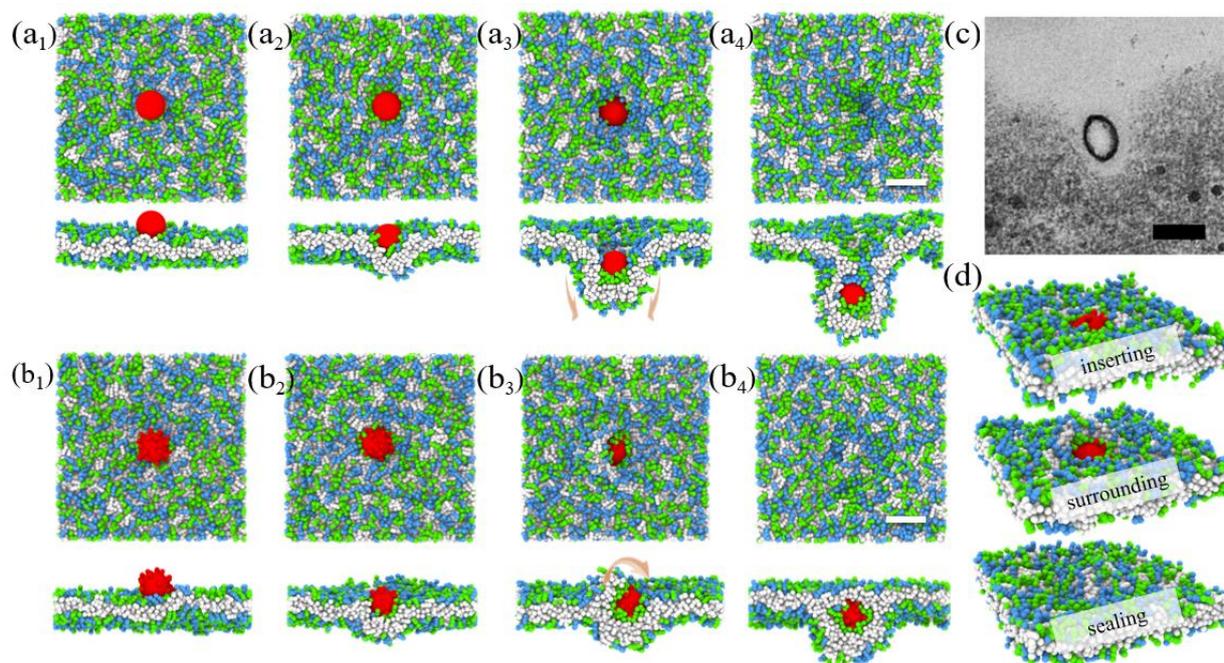


图 3-6 (a) 球形纳米颗粒  $NP_{radius=2}$  内吞的动态过程 (b) 仿病毒纳米颗粒  $VLP_{2+0.6(30)}$  内吞的动态过程 (c) 实验研究中获得的球形二氧化硅纳米颗粒与 SKOV3 细胞间受体介导相互作用的透射电镜图片<sup>[214]</sup> (d) 仿病毒纳米颗粒  $VLP_{2+0.6(30)}$  的非对称包裹模式

**Figure 3-6 Dynamic endocytosis processes of (a)  $NP_{radius=2}$  and (b)  $VLP_{2+0.6(30)}$ . Scale bar =  $5r_c$ . (c) TEM micrograph of receptor-mediated interactions between silica NP and SKOV3 cell<sup>[214]</sup>. Scale bar = 200 nm. Reprinted with permission of publishers, copyright belongs the American Association for the Advancement of Science. (d) Representative snapshots of the asymmetrical engulfment of VLP**

对内吞过程中细胞膜形变的研究进一步证明了仿病毒纳米颗粒的包裹需要比球形纳米颗粒更小的细胞膜形变，如图 3-7 所示的根据细胞膜由垂直方向的坐标所渲染的侧视图可以看出，在  $VLP_{2+0.6(30)}$  和  $NP_{radius=2}$  达到相同包裹率的状态下，具有较短刺突的  $VLP_{2+0.6(30)}$  引起了明显较小的细胞膜形变，意味着在包裹过程中  $VLP_{2+0.6(30)}$  需要消耗更

少的弯曲能来实现跟球形纳米颗粒相同的包裹率。在下文中，还对刺突的长度与数目对磷脂及受体分子的动力学行为进行了检验与分析，至此已可以证明的是，较短的刺突有利于颗粒与细胞膜间受体-配体相互作用的增强，进而有助于提升仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞效率。

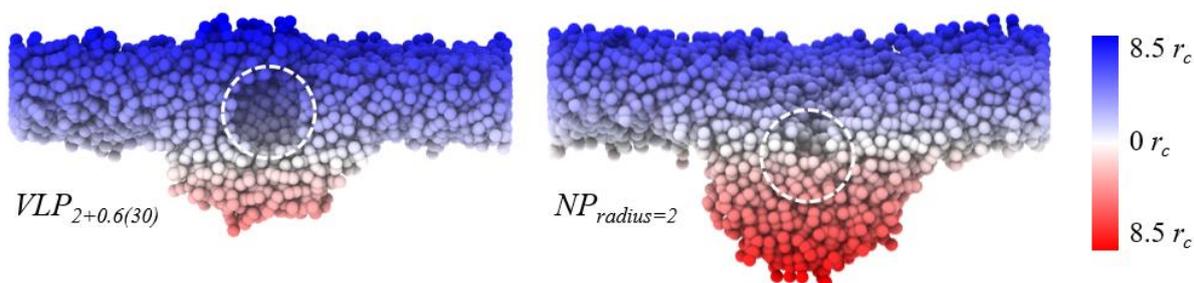


图 3-7 根据珠子在垂直于细胞膜的  $Z$  轴方向的相对位置渲染的细胞膜侧视图，纳米颗粒在细胞膜中的位置由白色虚线所示

Figure3-7 Side view of membrane during endocytosis of  $VLP_{2+0.6(30)}$  and  $NP_{radius=2}$ . Color gradient for beads of membrane is based on the relative distance in  $Z$ -axis. The position of particle is indicated by white circle

仿病毒纳米颗粒的非对称包裹模式证明刺突对颗粒周围磷脂及受体的扩散有着较为明显的影响，然而纳米颗粒的内吞过程处于短暂的亚稳态。为进一步探究较短刺突和较长刺突分别对仿病毒纳米颗粒受体介导内吞效率产生促进作用和阻碍作用的微观机理，建立了表面模型来对磷脂及受体的扩散性能进行研究。该部分模拟中的相互作用参数设置与前文颗粒内吞研究中所设置的相互作用参数相同。如图 3-8 所示，通过在固体表面分别嫁接短且稀疏刺突、长且稀疏刺突、短且致密刺突、长且致密刺突，共建立四种表面模型。通过将磷脂及受体均匀铺展在表面，进行平衡态模拟，并对磷脂及受体的均方位移进行分析。对磷脂及受体在修饰不同刺突表面的均方位移分析表明，在相对较短且较稀疏刺突的表面，磷脂及受体的均方位移最高，代表此种表面最有利于磷脂及受体的扩散，其次为嫁接较短且较致密刺突的表面，再次为嫁接较长且较稀疏刺突的表面，而在嫁接较长且较致密的刺突的表面上磷脂及受体的均方位移最低，扩散能力最弱。总体而言，磷脂及受体在两种修饰短刺突的表面扩散能力强于两种修饰长刺突的表面，证明短刺突更有利于磷脂及受体扩散，且刺突密度的影响相对次要。表面扩散模拟模型与受体介导内吞模拟模型结果相符，印证了相对较短的刺突更有利于磷脂及受体在仿病毒纳米颗粒表面的扩散，而相对较长的刺突则不利于磷脂及受体在仿病毒纳米颗粒表面的扩散。

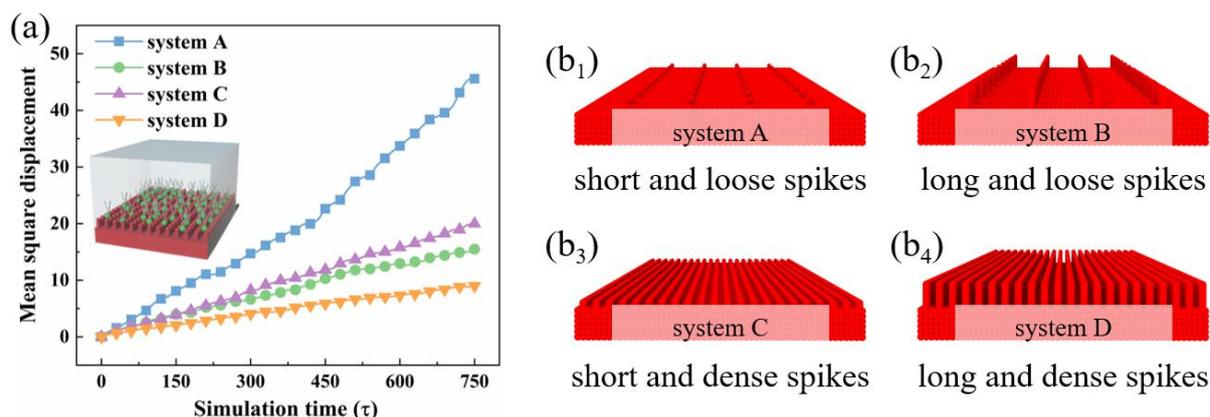


图 3-8 (a) 磷脂及受体在嫁接不同刺突的表面的均方位移以及嫁接 (b<sub>1</sub>) 短且稀疏刺突 (b<sub>2</sub>) 长且稀疏刺突 (b<sub>3</sub>) 短且致密刺突 (b<sub>4</sub>) 长且致密刺突的表面的模拟模型

Figure3-8 (a) Mean square displacement of receptors in different systems. Snapshots of basal surface modified with (b<sub>1</sub>) short and loose spikes, (b<sub>2</sub>) long and loose spikes, (b<sub>3</sub>) short and dense spikes, and (b<sub>4</sub>) long and dense spikes

磷脂及受体在不同表面扩散能力的差异可以从动力学的角度进行理解。图 3-9 展示了磷脂分子在具有较短刺突和较长刺突的仿病毒纳米颗粒表面的排布示意图，相比与球形纳米颗粒，磷脂分子在具有较短刺突的仿病毒纳米颗粒表面的附着并未显著增加体系的复杂度，也就是说，在这种情况下，相对较短的刺突虽然增加了纳米颗粒的比表面积，进而增加了颗粒与周围磷脂和受体的接触概率和相互作用强度，但并不限制和阻碍周围磷脂和受体的扩散。而与前者不同的是，在具有相对较长刺突的仿病毒纳米颗粒表面，磷脂分子会被限制在相对较长的刺突的夹缝中，从而抑制和降低在表面附着的磷脂或受体的扩散能力。

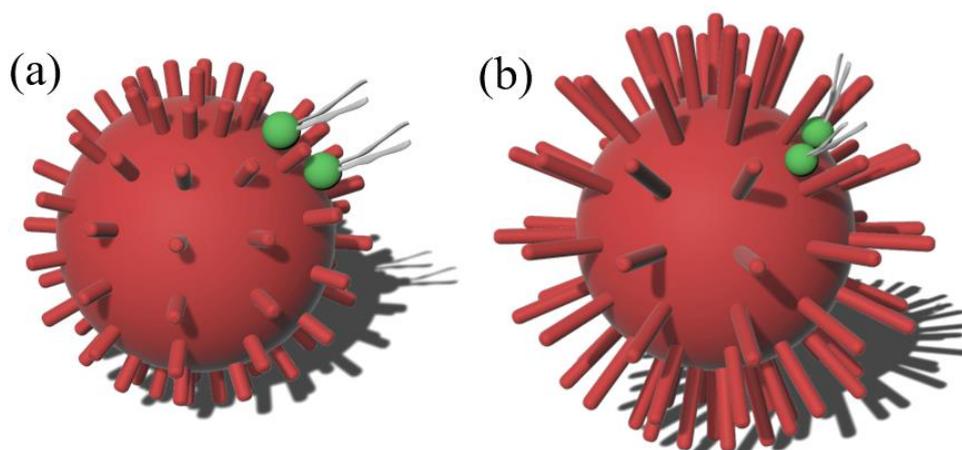


图 3-9 磷脂分子在嫁接 (a) 短刺突和 (b) 长刺突仿病毒纳米颗粒表面的排布示意图

Figure3-9 3D schematic illustrations of the spatial arrangement of receptors onto (a) VLP with short spikes and (b) VLP with long spikes

另外，从热力学的角度来说，磷脂或受体如若被限制在相对较长刺突的夹缝中，会不利于体系构象熵的增加。同时，具有相对较长刺突的仿病毒纳米颗粒如果被细胞膜完全包裹也不利于减少细胞膜的疏水部分与水溶液的接触。因此，具有相对较长刺突的仿病毒纳米颗粒的完全包裹从能量角度来说不利于体系总能量的下降。在刺突数目的影响方面，在具有相对较长的刺突的情况下，随着刺突数目的增加，仿病毒纳米颗粒在结构上愈发接近球形纳米颗粒，磷脂及受体也变的不易再被限制在刺突间的狭缝，因此可以理解在图 3-3 中刺突数目的增加一定程度上减弱了长刺突对仿病毒纳米颗粒受体介导内吞效率的抑制作用。

### 3.3.4 各向异性刺突的影响以及刺突作用的验证

在最近的实验研究中，研究者们已经成功实现了仿病毒纳米颗粒表面刺突的各向异性分布<sup>[149]</sup>。那么刺突的分布又会如何影响仿病毒纳米颗粒的内吞效率呢？该问题的探索对于仿病毒纳米颗粒的理性设计具有实用意义。为阐明这一问题，借助模拟方法，对刺突各向异性排布的影响继续进行了进一步探究。

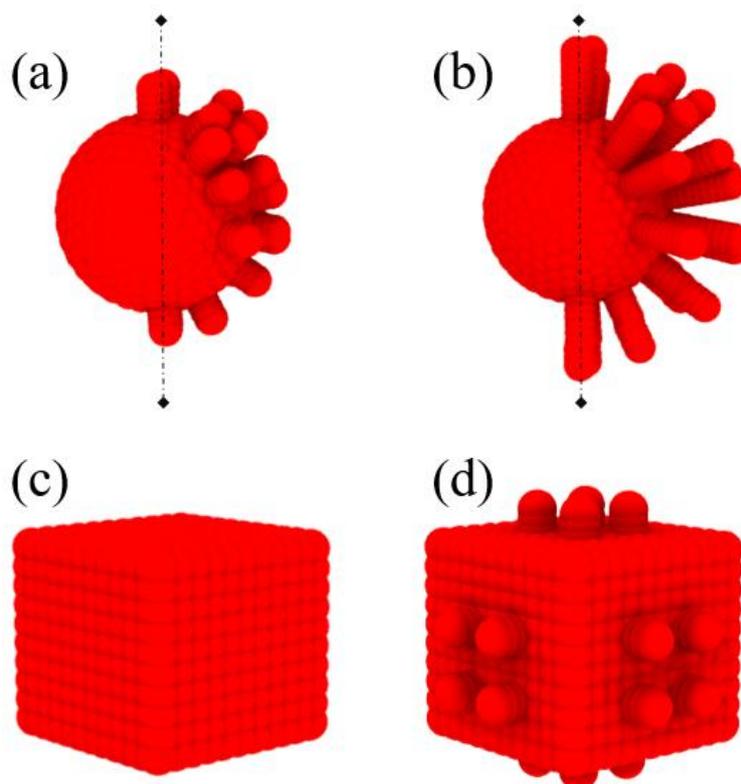


图 3-10 (a) 具有短刺突的 Janus 型仿病毒纳米颗粒 (b) 具有长刺突的 Janus 型仿病毒纳米颗粒  
(c) 正方体形纳米颗粒 (d) 表面具有短刺突的正方体形纳米颗粒

Figure 3-10 Model of (a) Janus VLP with short spikes, (b) Janus VLP with long spikes, (c) cube-shaped NP, (d) cube-shaped NP with short spikes

如图 3-10 (a-b) 所示, 受实验研究中 Janus 型仿病毒纳米颗粒的启发, 在模型中建立了具有短刺突和长刺突的 Janus 型仿病毒纳米颗粒模型, 以对仿病毒纳米颗粒表面刺突各向异性排布的影响开展探究。此外, 为验证上文中刺突对颗粒内吞效率影响的研究结论, 以正方体形纳米颗粒为代表, 建立了普通方形纳米颗粒模型和表面修饰刺突的方形纳米颗粒模型, 如图 3-10 (c-d) 所示, 针对刺突对方形纳米颗粒内吞效率的影响进行了进一步验证。

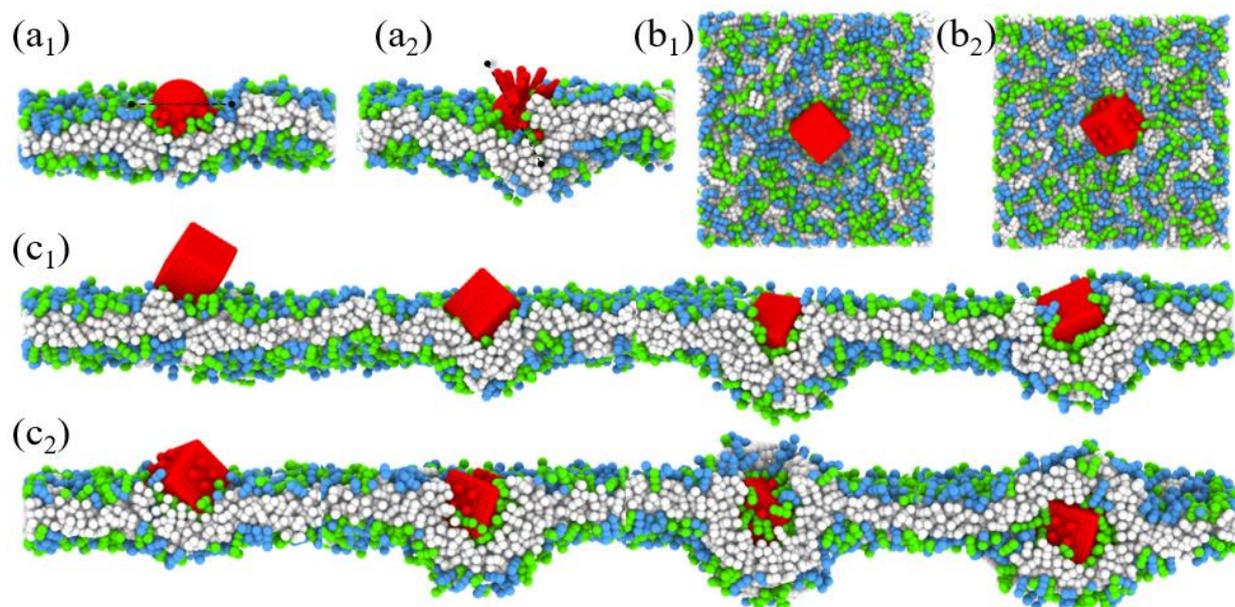


图 3-11 (a<sub>1</sub>) 具有短刺突和 (a<sub>2</sub>) 具有长刺突的 Janus 型仿病毒纳米颗粒与细胞膜的相互作用状态, (b<sub>1</sub>) 正方体形纳米颗粒和 (b<sub>2</sub>) 表面具有短刺突的正方体形纳米颗粒与细胞膜接触的俯视图, (c<sub>1</sub>) 正方体形纳米颗粒和 (c<sub>2</sub>) 表面具有短刺突的正方体形纳米颗粒内吞的动态过程

**Figure 3-11 Snapshots of the interaction state between membrane and (a<sub>1</sub>) Janus VLP with short spikes, (a<sub>2</sub>) Janus VLP with long spikes. Initial contact between membrane and (b<sub>1</sub>) cube-shaped NP, (b<sub>2</sub>) cube-shaped NP with short spikes. Dynamic endocytosis processes of (c<sub>1</sub>) cube-shaped NP, (c<sub>2</sub>) cube-shaped NP with short spikes**

如图 3-11 (a<sub>1</sub>) 所示, 具有短刺突的 Janus 型仿病毒纳米颗粒以具有刺突的一面朝向细胞膜, 由于较短的刺突有利于接触和募集受体, 该构型有利于增强纳米颗粒在细胞膜表面的粘附能, 然而表面光滑的纳米颗粒的上半部分却不利于磷脂/受体分子的“攀爬”, 因此具有短刺突的 Janus 型仿病毒纳米颗粒的包裹和内吞效率要低于具有均匀短刺突的仿病毒纳米颗粒。与此不同的是, 被细胞膜部分包裹的具有长刺突的 Janus 型仿病毒纳米颗粒出现了一定的倾角, 由于如果纳米颗粒以具有长刺突的一面朝向细胞膜会显著破坏细胞膜的有序结构和造成细胞膜疏水部分的暴露, 在这种情况下颗粒以倾斜的方式嵌入细胞膜可以在不显著破坏膜结构的同时提高纳米颗粒的包裹率。总体来看, 各向异性

分布的刺突并不利于仿病毒纳米颗粒的包裹和内吞，而是相对分散均匀的刺突更有利于仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞。

方块状的纳米颗粒被先前研究证明相较于球形纳米颗粒其内吞效率更低。为验证刺突对颗粒被细胞膜包裹效率的影响，对表面光滑和表面嫁接刺突的正方形纳米颗粒的受体介导内吞过程进行了对比研究。如图 3-11 (b) 所示，两种块状纳米颗粒都是先以顶点接触细胞膜。随后，两种颗粒都在粘附至细胞膜后随着粘附能的增加引起更大的细胞膜形变，然而由于块状纳米颗粒在内化过程中需要比球状纳米颗粒逾越更高的势垒，普通的方块状纳米颗粒难以被细胞膜完全包裹，相比之下，表面具有短刺的正方体纳米颗粒提供了适宜的表面粗糙度，使得磷脂/受体分子能够爬越至颗粒之上，如图 3-11 (c) 所示，促使该纳米颗粒最终被细胞膜完全包裹。该部分研究再次证实了适度长度的刺突可以促进纳米颗粒的受体介导内吞。

值得指出的是，自然界中真正的病毒所具有的刺突蛋白是相对柔性且可在病毒入侵细胞的过程中通过形变来促进病毒入侵的，虽然不同病毒形状和性质各异但它们的表面粗糙度也都是有限的，该章节的研究可能也会为病毒物理学提供一些新的视角，与此同时，病毒学的不断发展也会为仿病毒纳米颗粒的优化起到重要的启发。除此之外，值得指出，在该部分研究中关于长刺突抑制仿病毒纳米颗粒内吞效率的发现对于纳米颗粒的设计来说并不一定都是负面的，例如，最近几年所发展的变形纳米颗粒在药物递送中展现出重要的优势，比如表现出更佳的血液循环性能等。根据刺突长度对颗粒与细胞膜间相互作用的影响规律，如果能够在纳米颗粒输运过程中实现对刺突长度的调节，可以借此提升纳米颗粒的靶向递送能力。

### 3.4 本章小结

采用耗散粒子动力学模拟研究，在本章中对仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞开展了系统研究，同时对刺突长度和刺突数目对颗粒内吞效率的影响进行了分析。模拟研究发现仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞效率主要受刺突长度的影响，而刺突数目的影响相对次要。通过分析不同仿病毒纳米颗粒与细胞膜间的相互作用状态以及内吞的动态过程，研究证明刺突可以对仿病毒纳米颗粒的内吞效率产生双相作用，即相对较短的刺突有利于提升颗粒的内吞效率，而过长的刺突则会阻碍颗粒的内吞。通过对比具有较短刺突的仿病毒纳米颗粒与球形纳米颗粒内吞的动态过程，发现仿病毒纳米颗粒表面适宜的粗糙度可以帮助增强颗粒募集受体的能力并提升周围磷脂/受体分子的扩散能力，从而引发

特殊的非对称包裹模式来实现仿病毒纳米颗粒的完全包裹，这种非对称包裹模式相较于普通的球形纳米颗粒的对称包裹模式需要更小的细胞膜弯曲能来完成，具有更高的包裹效率。但随着刺突长度的增加，附着在颗粒表面的分子扩散能力显著下降，且由于具有长刺突的仿病毒纳米颗粒的完全包裹是一种不利于体系能量下降的构象，从而使得具有相对较长刺突的仿病毒纳米颗粒只能被细胞膜部分包裹或粘附在细胞膜表面。此外，通过对刺突各向异性分布的 Janus 型仿病毒纳米颗粒进行研究，发现刺突的均匀分布更有利于仿病毒纳米颗粒的包裹和内吞。最后，通过对表面光滑和表面嫁接刺突的正方形纳米颗粒的内吞进行研究，再次验证了本章提出的关于刺突影响内吞效率的观点。

## 第四章 亲疏水性质对仿病毒纳米颗粒内化能力的影响研究

### 4.1 引言

随着合成技术的不断发展，基于各种不同材料的仿病毒纳米颗粒被成功制备，并且证实仿病毒纳米颗粒相比于传统的纳米颗粒更易被细胞所摄取。然而，目前所报的实验中用以制备仿病毒纳米颗粒的材料性质各异。例如，Zhao 和 Yu 等利用外延生长策略制备合成的二氧化硅仿病毒纳米颗粒整体为亲水的<sup>[32,149,215]</sup>，而有些增加纳米颗粒表面表面粗糙度的刺突则是由疏水的有机药物或者金纳米粒子构成的<sup>[156]</sup>，各种不同的仿病毒纳米颗粒的亲疏水性质各异。先前的实验与模拟研究表明纳米颗粒的亲疏水性质不仅显著影响颗粒的内化能力，而且与纳米颗粒的协同行为以及生物相容性密切相关。因此，探究仿病毒纳米颗粒的亲疏水性质对仿病毒纳米颗粒内化能力以及内化过程中动力学行为的影响对于仿病毒纳米颗粒的理性设计具有实用意义。在本章中，采用耗散粒子动力学模拟方法，对具有不同亲疏水性质的仿病毒纳米颗粒与细胞膜间的相互作用开展研究，以期为具有更高内化效率和更低毒性的仿病毒纳米颗粒的发展提供理论基础。

### 4.2 模型建立与计算方法

#### 4.2.1 仿病毒纳米颗粒模型的建立

为建立可以适当复现仿病毒纳米颗粒结构性质的模拟模型，首先采用 Matlab 软件对仿病毒纳米颗粒的球形内核进行建模，采用三角网格建立表面光滑的实心球状模型，并将球形内核的半径控制在  $2r_c$ 。在前文中已经对刺突长度和刺突数目对仿病毒纳米颗粒内化能力的影响进行了详尽的研究，在本章中，为对比研究亲疏水性的影响，将刺突的长度和数目设置为固定值。通过将六个 DPD 珠子以  $0.2r_c$  的间距等距沿直线连接获得长度为  $1.2r_c$  的刺突，在球形内核的表面均匀嫁接 30 根刺突，获得仿病毒纳米颗粒基础模型。同时将纳米颗粒模型设置为刚体。为系统研究亲疏水排布的影响，在本章中详细考察了亲水和疏水两种性质的内核，以及亲水、疏水、两亲三种性质的刺突，共六种仿病毒纳米颗粒模型被建立，如图 4-1 所示。为便于读写，在仿病毒纳米颗粒的下标中对内核和刺突的亲疏水性分别进行了标注，其中，phil 代表亲水性，phob 代表疏水性，amphi 代表两亲性。具体相互作用参数的设置在下文中进行了详细的介绍。

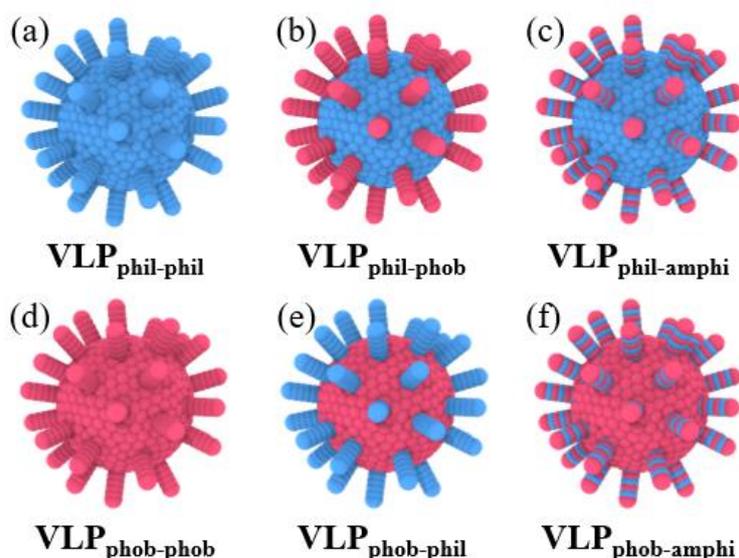


图 4-1 具有不同亲疏水排布的仿病毒纳米颗粒模拟模型

Figure4-1 Virus-like nanoparticle model in DPD simulation study. (a)  $VLP_{\text{phil-phil}}$ , (b)  $VLP_{\text{phil-phob}}$ , (c)  $VLP_{\text{phil-amphi}}$ , (d)  $VLP_{\text{phob-phob}}$ , (e)  $VLP_{\text{phob-phil}}$ , (f)  $VLP_{\text{phob-amphi}}$

#### 4.2.2 细胞膜及初始模型的构建

为建立结构与性质与真实细胞膜接近的细胞膜模型，根据磷脂分子的结构特点选用经典的由三个亲水珠子和六个疏水珠子组成的具有双疏水尾链的磷脂分子粗粒化模型来构建细胞膜双分子层，如图 4-2 所示。磷脂分子模型中的珠子间的平衡长度为  $0.5r_c$ ，采用简谐弹簧势来连接相邻的珠子。链接亲水珠子的弹簧弹性系数为 64，链接疏水珠子的弹簧弹性系数为 10。

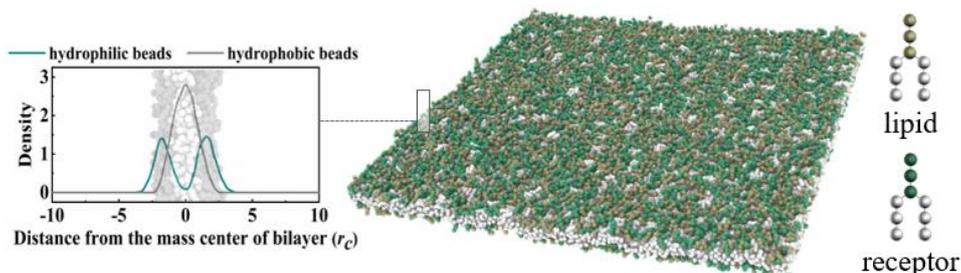


图 4-2 细胞膜中的亲水头基与疏水尾链沿垂直于细胞膜方向的密度分布及磷脂分子/受体的粗粒化模型和双分子层平衡结构

Figure4-2 Density profile of hydrophilic/hydrophobic beads of cell membrane in equilibrium state

为模拟配体-受体相互作用，部分磷脂分子模型的亲水头基与纳米颗粒间设置为相亲和的作用参数，详见下一章节。虽受现存模拟方法的局限，模拟中的受体与真实情况的受体存在一定差异，但先前模拟研究证明该模拟方法可以适当的复现纳米材料受体介导内吞的动态过程。根据先前的模拟研究，将细胞膜中的受体密度设置为 0-50%。为保证细

胞膜模型的合理性，在模拟中将双分子层的张力控制为 0，并对平衡状态下的细胞膜结构进行分析，平衡状态下细胞膜是完整且没有孔洞的，并且细胞膜两侧受力平衡，没有孔洞出现。在获得平衡合理的细胞膜结构后，将纳米颗粒放置于细胞膜上方的  $15r_c$  处，进行随后的模拟及分析。

纳米颗粒的亲疏水性会对显著影响纳米颗粒在输运过程中的协同效应。为探究仿病毒纳米颗粒亲疏水性对颗粒间协调行为的影响，建立了多颗粒模型进行模拟研究。如图 4-3 所示，在用以研究协同作用的模拟模型的初始结构中，三个仿病毒纳米颗粒平行放置于细胞膜上方  $15r_c$  的位置，相邻颗粒间的质心距离为  $12r_c$ 。同样首先对细胞膜进行模拟以获得平衡合理的细胞膜结构，随后对仿病毒纳米颗粒间的协同作用开展模拟研究。

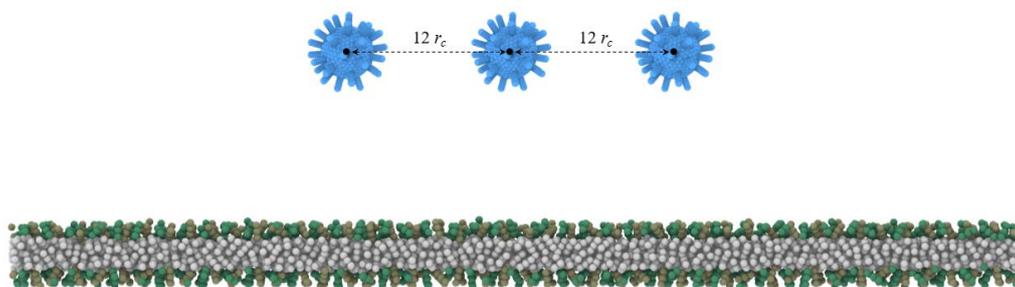


图 4-3 用以研究仿病毒纳米颗粒协同行为的模拟模型的初始结构

Figure 4-3 Initial configuration of simulation system for investigating cooperative effect

#### 4.2.3 模拟细节及相互作用参数的选取

本章中所有的模拟皆采用开源模拟软件 LAMMPS 完成。模拟中的耗散系数  $\gamma$  和随机力系数  $\sigma$  分别设置为 4.5 和 3，截断半径  $r_c$ 、珠子质量  $m$  和体系温度  $k_B T$  设置为 1。模拟中采用的盒子的大小为  $80r_c * 80r_c * 40r_c$ ，体系的数密度为 3，体系中共包含 768000 个珠子，在模拟体系的 XYZ 三个方向皆采用周期性边界条件。除纳米颗粒模型和双分子层模型中的珠子外，都用水珠子填充。模拟步长  $\Delta t = 0.015\tau$ ，每个体系的模拟步长不少于 1,000,000 步。为模拟纳米颗粒的亲水/疏水性质，构成纳米颗粒的亲水珠子（I）与水珠子（W）间的相互作用参数  $\alpha_{ij}$  设置为 25，构成纳米颗粒的疏水珠子（O）与水珠子（W）间的相互作用参数  $\alpha_{ij}$  设置为 100；为呈现配体-受体相互作用，根据先前报道的模拟文献将受体头基（R）与纳米颗粒中的珠子（I/O）间的相互作用参数  $\alpha_{ij}$  设置为 5；其余珠子间的相互作用参数设置源自先前报道的模拟文献，如表 4-1 所示，表中的 H 代表磷脂分子的亲水头基，T 代表磷脂分子的疏水尾链，L 代表受体的疏水尾链。已报道的模拟研究表明以此设置的珠子间的相互作用参数可以合理有效的模拟细胞膜结构以

及纳米颗粒与细胞膜间的配体-受体相互作用。在该部分的模拟中，通过调整受体分子的数量，将细胞膜中的受体密度调整为 0%、10%、20%、30%、40%、50% 六种情况。

表 4-1 水珠子 (W)、磷脂 (H/T)、受体 (R/L)、颗粒珠子 (I/O) 间相互作用参数  $\alpha_{ij}$   
Table4-1 Interaction parameters of bead-bead pairs  $\alpha_{ij}$  among water/lipid/receptor/nanoparticle

$\alpha_{ij}$	W	H	T	R	L	I	O
W	25	25	100	25	100	25	100
H	25	25	100	25	100	25	25
T	100	100	25	100	25	100	100
R	25	25	100	25	100	5	5
L	100	100	25	100	25	100	100
I	25	25	100	5	100	25	25
O	100	25	100	5	100	25	25

### 4.3 结果与分析

#### 4.3.1 亲疏水性质对颗粒与细胞膜间的相互作用状态的影响

为探究仿病毒纳米颗粒的亲疏水排布的影响，首先对具有不同仿病毒纳米颗粒与细胞膜间的相互作用状态进行了分析，如图 4-4 所示，在没有受体参与和有受体参与两种情况下，仿病毒纳米颗粒与细胞膜共存在三种相互作用模式：第一种是仿病毒纳米颗粒在细胞膜表面的粘附，在这种状态下细胞膜并未发生形变；第二种是仿病毒纳米颗粒被细胞膜部分包裹，在这种状态下细胞膜发生了形变但颗粒不能被完全包裹；第三种是仿病毒纳米颗粒的完全包裹，对应着仿病毒纳米颗粒内化能力的提升。

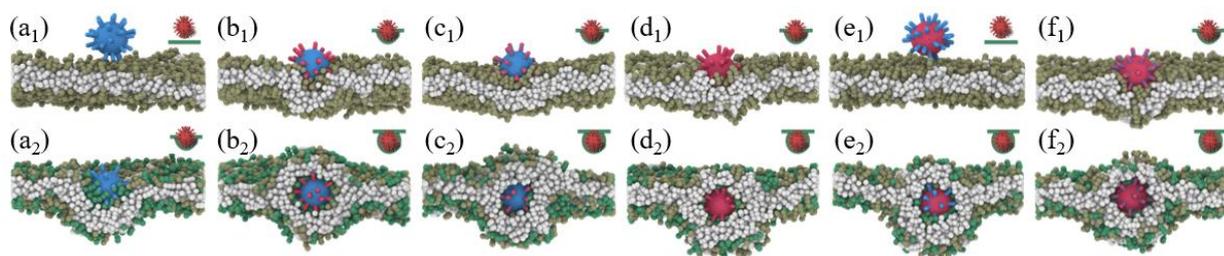


图 4-4 (a)  $VLP_{phil-phil}$ , (b)  $VLP_{phil-phob}$ , (c)  $VLP_{phil-amphi}$ , (d)  $VLP_{phob-phob}$ , (e)  $VLP_{phob-phil}$ , (f)  $VLP_{phob-amphi}$  与不存在和存在受体的细胞膜间的相互作用状态

Figure4-4 Representative snapshots of interaction states between (a)  $VLP_{phil-phil}$ , (b)  $VLP_{phil-phob}$ , (c)  $VLP_{phil-amphi}$ , (d)  $VLP_{phob-phob}$ , (e)  $VLP_{phob-phil}$ , (f)  $VLP_{phob-amphi}$  and membrane in the absence and presence of receptors

模拟结果表明仿病毒纳米颗粒的内化能力不仅受细胞膜成分的影响，还明显受到仿病毒纳米颗粒亲疏水排布的影响。在实际情况中，在纳米颗粒通过受体介导内吞的方式进入细胞的过程中还包括纳米颗粒最终脱离细胞膜等步骤，但仿病毒纳米颗粒只要被细胞膜完全包裹就有机会被转运至胞内，因此在模拟中认为被完全包裹的仿病毒纳米颗粒内化能力更强。具体来说，在没有配体-受体相互作用的情况下，无论仿病毒纳米颗粒内核的亲疏水性，只要刺突为亲水，仿病毒纳米颗粒便只能粘附在细胞膜表面不能与细胞膜发生有效的相互作用，如图 4-4 (a<sub>1</sub>) 和图 4-4 (e<sub>1</sub>) 所示，而随着刺突由亲水变为疏水和两亲的，仿病毒纳米颗粒的刺突部分得以嵌入细胞膜中并引起细胞膜的形变。以受体密度为 50% 的细胞膜模型为例，在存在配体-受体相互作用的情况下，除内核和刺突皆为亲水的仿病毒纳米颗粒外，其余仿病毒纳米颗粒都被细胞膜完全包裹，意味着内核和刺突皆为亲水性的仿病毒纳米颗粒受体介导内吞的效率最低。在先前的研究中，已分析证明这种刺突较长的亲水仿病毒纳米颗粒不易被完全包裹的原因是较长的亲水刺突可以扰乱细胞膜的结构并减少体系的构象熵因而不利于体系能量的下降，最终阻碍颗粒的完全包裹。该部分研究证明通过控制仿病毒纳米颗粒的亲疏水排布可以有效提升仿病毒纳米颗粒的内化能力，为进一步定量分析具有亲疏水排布对仿病毒纳米颗粒内化能力的影响，在下文中对不同仿病毒纳米颗粒的包裹率进行了分析。

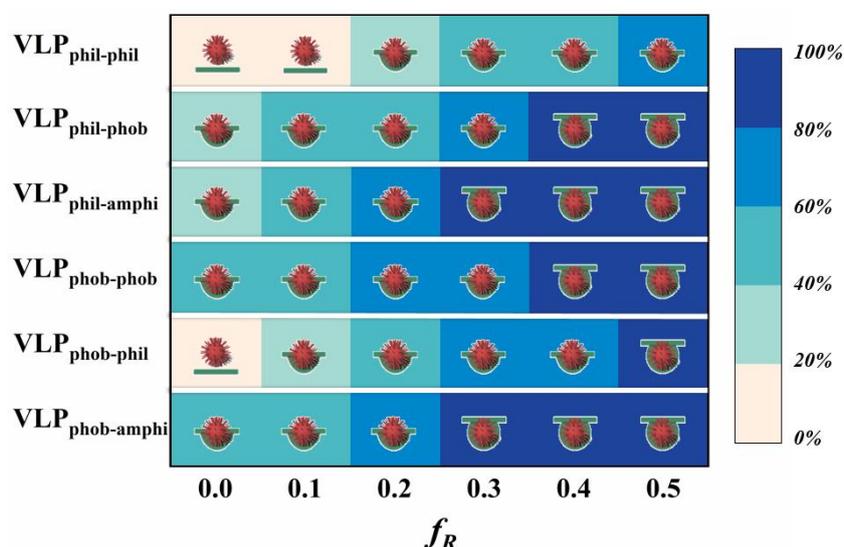


图 4-5 具有不同亲疏水排布的仿病毒纳米颗粒被具有不同受体密度的细胞膜包裹内化的概率

Figure 4-5 Phase diagram of interaction state between membrane and different VLPs as a function of receptor density

为考察不同仿病毒纳米颗粒的内化能力，建立了不同受体密度 ( $f_R$ ) 的细胞膜模型，并对仿病毒纳米颗粒被细胞膜包裹的程度进行了分析，在此部分的模拟研究中，仿病毒

纳米颗粒的包裹率由不同体系 5 次独立的模拟平均得出。如图 4-5 所示，随着受体密度的提升，不同仿病毒纳米颗粒被细胞膜包裹的程度都逐步提升，但在同样的受体密度条件下不同仿病毒纳米颗粒的包裹率差异较大，其中内核和刺突皆为亲水的仿病毒纳米颗粒的包裹率最低，内核疏水刺突亲水的仿病毒纳米颗粒其次，具有两亲刺突的仿病毒纳米颗粒的包裹率相对最高，意味着两亲刺突最有利于促进颗粒的内化，同时也可以看出，虽然总的来说疏水的内核稍微更有利于颗粒的包裹和内化，但相对与内核亲疏水性的影响，刺突亲疏水性对于颗粒与细胞膜间的相互作用的影响更强。

#### 4.3.2 亲疏水性对颗粒内吞效率的影响

仿病毒纳米颗粒的亲疏水排布对颗粒内吞的效率可以产生重要影响，即使同样可以达到完全包裹的状态，不同仿病毒纳米颗粒实现完全包裹的时间也存在较大差异，如图 4-6 所示，随着细胞膜中受体密度的增高，由于颗粒粘附能的增加导致仿病毒纳米颗粒实现完全包裹所需要的模拟时间逐步降低，但在相同的受体密度条件下，内核疏水刺突两亲的仿病毒纳米颗粒所需的模拟时间最少，其次为内核亲水刺突两亲的仿病毒纳米颗粒，再次为刺突疏水的仿病毒纳米颗粒，最次为刺突亲水的仿病毒纳米颗粒，证明刺突对仿病毒纳米颗粒内吞效率的有利度为两亲刺突>疏水刺突>亲水刺突，而内核的亲疏水性对仿病毒纳米颗粒内吞效率的影响较小。

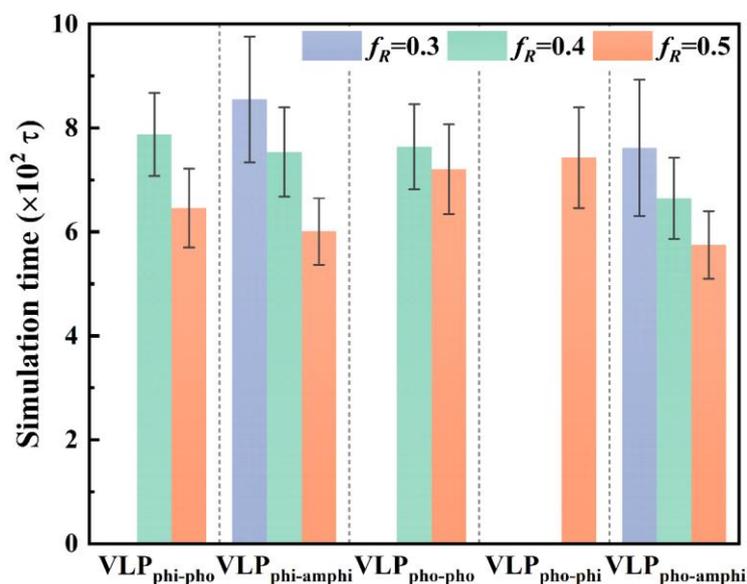


图 4-6 具有不同亲疏水排布的仿病毒纳米颗粒被完全包裹所需要的模拟时间  
Figure 4-6 Required simulation time to achieve full engulfment of VLPs

探究纳米颗粒内吞的动态过程对于纳米颗粒的设计优化具有重要意义。以受体密度为 50% 的情况为例，图 4-7 展示了具有不同亲疏水排布的仿病毒纳米颗粒内吞的动态过

程。如图所示在仿病毒纳米颗粒粘附到细胞膜表面后，都会通过募集受体来增强配体-受体相互作用强度，然而与普通的球形纳米颗粒内吞不一样的，仿病毒纳米颗粒的比表面积更大，更易接触和募集受体，从而有利于颗粒的包裹和内吞，关于这一现象的分析在第三章中进行了详细的论述。

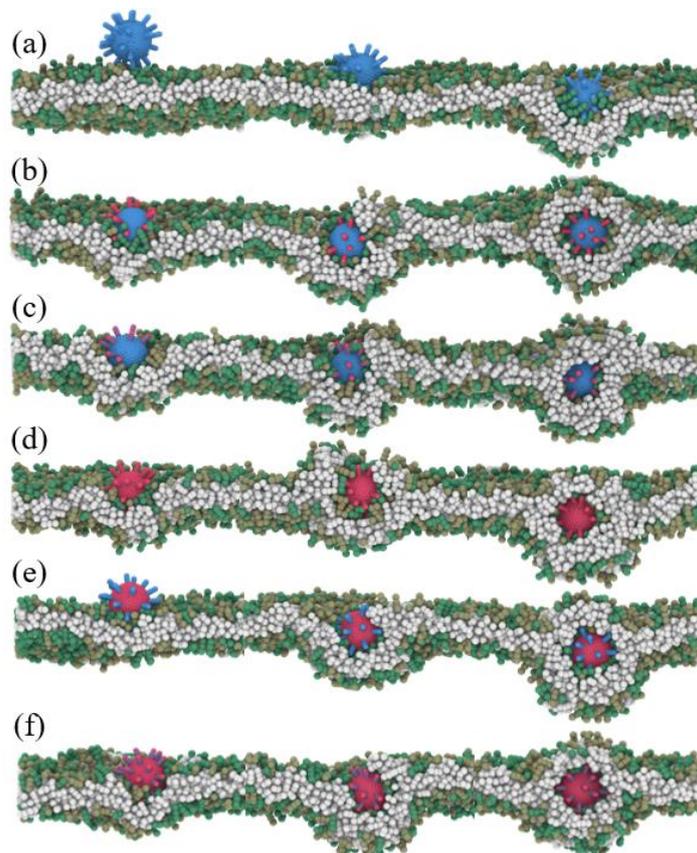


图 4-7 (a)  $VLP_{phil-phil}$ , (b)  $VLP_{phil-phob}$ , (c)  $VLP_{phil-amphi}$ , (d)  $VLP_{phob-phob}$ , (e)  $VLP_{phob-phil}$ , (f)  $VLP_{phob-amphi}$  六种仿病毒纳米颗粒内吞的动态过程

Figure4-7 Dynamic endocytosis processes of (a)  $VLP_{phil-phil}$ , (b)  $VLP_{phil-phob}$ , (c)  $VLP_{phil-amphi}$ , (d)  $VLP_{phob-phob}$ , (e)  $VLP_{phob-phil}$ , (f)  $VLP_{phob-amphi}$

值得指出的是，病毒可以通过内吞和非内吞的形式进入细胞中，而仿病毒纳米颗粒内吞的初始阶段与经典的病毒内吞模式较为类似，但是在现实情况中，真实病毒的刺突蛋白可以通过形变来促进病毒入侵，这与实验制备的刚性的仿病毒纳米颗粒存在区别。在颗粒内吞的后半部分，由于仿病毒纳米颗粒表面的粗糙度有助于磷脂/受体分子的扩散，可以使其有机会攀爬至仿病毒纳米颗粒的上部从而促进包裹过程。当仿病毒纳米颗粒的内核和刺突皆为亲水性时，仿病毒纳米颗粒仅能引起细胞膜的凹陷，不能被完全包裹，而在其他亲疏水排布的情况下，仿病毒纳米颗粒都通过非对称的包裹模式被细胞膜完全包裹。先前研究表明亲水纳米颗粒跨越细胞膜的过程中需要逾越较高的势垒，而疏

水纳米颗粒在跨越细胞膜的过程则非常容易陷入双分子层内部。相比之下，两亲刺突不仅不会像亲水颗粒一样阻碍颗粒接近细胞膜，也不会像疏水颗粒一样破坏细胞膜结构引起细胞膜疏水部分与水溶液的接触，从而有利于仿病毒纳米颗粒的完全包裹，以帮助仿病毒纳米颗粒实现更高的内吞效率。

#### 4.3.3 亲疏水性质对颗粒内化过程中协同行为的影响

纳米颗粒在内化过程中的协同效应被研究者们日益关注，已有研究表明，纳米颗粒的协同行为不仅影响纳米颗粒的递送效率，还与纳米颗粒的生物毒性密切相关。因此，深入理解纳米颗粒的在内化过程中的协同行为对于设计和优化递送系统有着实际意义。为探究仿病毒纳米颗粒的协同作用，建立了多颗粒与细胞膜相互作用模型，对具有不同亲疏水排布的仿病毒纳米颗粒在内化过程中的协同行为进行了研究。如图 4-8 所示，当仿病毒纳米颗粒的内核为亲水性时，仿病毒纳米颗粒在内化过程中的协同行为并不明显；当仿病毒纳米颗粒的内核和刺突皆为亲水性时，三个纳米颗粒分别单独粘附在细胞膜表面，在同一时刻，三个整体亲水的仿病毒纳米颗粒以相对较远的距离分别引起细胞膜不同程度的形变，但都不能被细胞膜完全包裹，在内化过程中不存在协同行为；当仿病毒纳米颗粒的内核仍为亲水但刺突由亲水变为疏水时，颗粒在内化过程中出现了一定程度的协同行为，在内吞过程中有两个纳米颗粒形成了聚集体，并以聚集体的形式共同被细胞膜完全包裹；当仿病毒纳米颗粒的内核仍为亲水但刺突变为两亲时，纳米颗粒的协同行为消失，如图所示的三个纳米颗粒分别处在靠近细胞膜、被细胞膜部分包裹以及被细胞膜完全包裹的过程中，在整个内吞过程中未出现明显的协同行为。然而，当仿病毒纳米颗粒的内核为疏水时，仿病毒纳米颗粒间出现了显著的协同作用：当仿病毒纳米颗粒的内核和刺突皆为疏水时，仿病毒纳米颗粒间的协同行为最为明显，三个纳米颗粒在内化过程中形成了聚集体，并以聚集体的形式被细胞膜包裹，然而这种协同作用并不利于颗粒的内吞，颗粒的聚集形态导致的尺寸效应增加了颗粒内吞所需的粘附能，如图所示，三个纳米颗粒作为一个整体只有其中一个纳米颗粒被细胞膜完全包裹，而另外两个纳米颗粒仅被细胞膜部分包裹，聚集体难以被细胞膜以整体形式完全包裹；当颗粒的刺突变为亲水性时，颗粒间的协同效应发生了下降，虽然三个颗粒在内吞过程中并未发生直接接触，但三个内核疏水刺突亲水的仿病毒纳米颗粒在内化过程中一直保持较为相近的距离，三个颗粒粘附在细胞膜的时间和被细胞膜包裹的程度接近；当内核为疏水刺突为两亲时，颗粒在内化过程中同样存在较为明显的协同行为，如图所示有两个颗粒以聚集体

的形式正在被细胞膜包裹，而另一个单独的颗粒已被细胞膜完全包裹，在这种情况下，颗粒间的聚集程度介于前两个体系之间。该部分的模拟研究表明，仿病毒纳米颗粒间的协同作用主要受内核亲疏水性的影响。

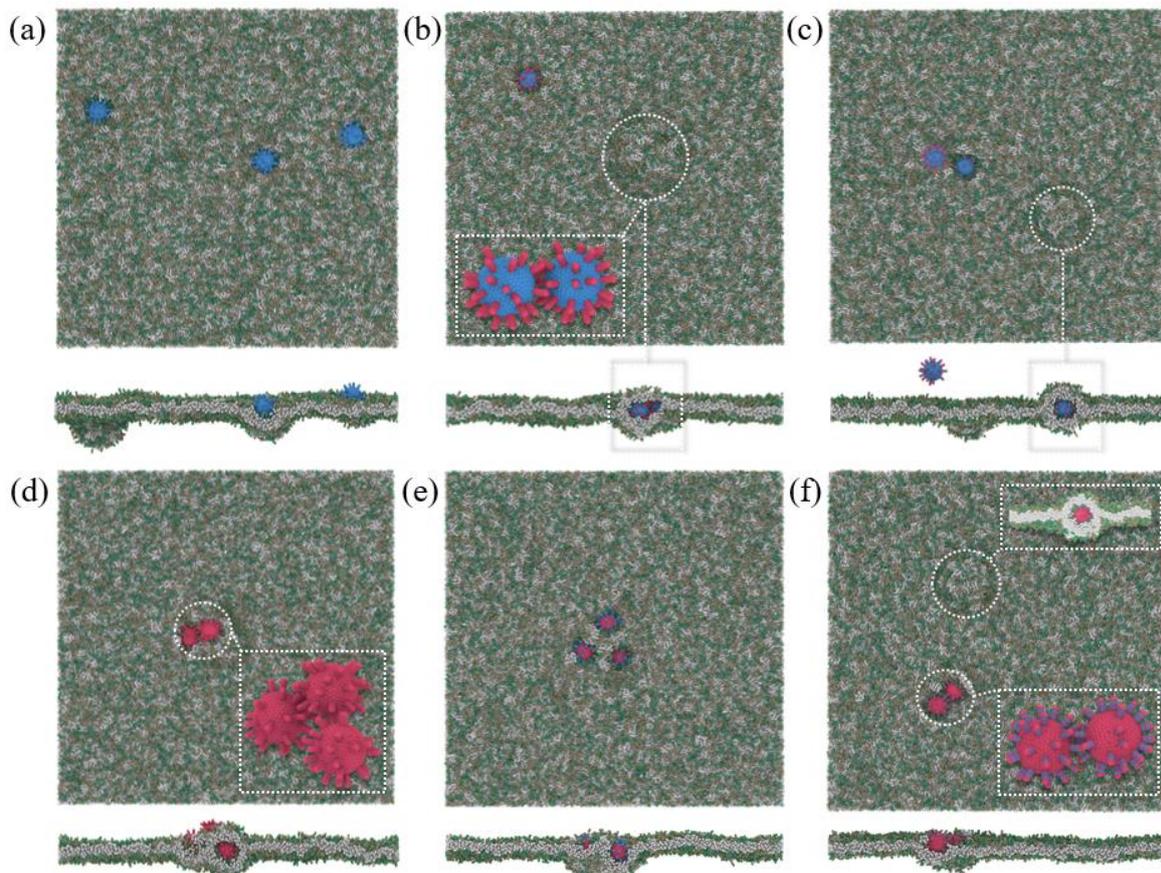


图 4-8 多个仿病毒纳米颗粒协同内化的过程

Figure 4-8 Representative snapshots of internalized multiple (a)  $VLP_{phil-phil}$ , (b)  $VLP_{phil-phob}$ , (c)  $VLP_{phil-amphi}$ , (d)  $VLP_{phob-phob}$ , (e)  $VLP_{phob-phil}$ , (f)  $VLP_{phob-amphi}$

为定量分析内核的亲疏水性对内吞过程中颗粒间协同行为的影响，对内吞过程中颗粒间的相对距离进行了统计分析。相对距离的计算过程如图 4-9 所示，由在内吞过程中三个颗粒间的两两距离累加获得。从相同的初始距离开始，纳米颗粒首先要在细胞膜表面进行粘附，而在粘附过程中颗粒间的相对距离变化较大。对比最明显的两个例子是内核和刺突皆为亲水的纳米颗粒间的相对距离不断上升，代表纳米颗粒的逐渐扩散；而内核和刺突皆为疏水的纳米颗粒间的相对距离不断下降，代表纳米颗粒间发生了显著的聚集。其他体系中的纳米颗粒间的相对距离不断波动，对应着颗粒间聚集程度在粘附过程中不断变化。随着纳米颗粒靠近并稳定粘附在细胞膜后，正式的内吞过程随之展开，在此阶段，颗粒间的相对距离不发生明显的变化和波动。但总体而言，在六个体系中，无

论刺突的亲疏水性，内核为疏水的仿病毒纳米颗粒在被细胞膜包裹过程中的相对距离皆小于内核为亲水的仿病毒纳米颗粒。

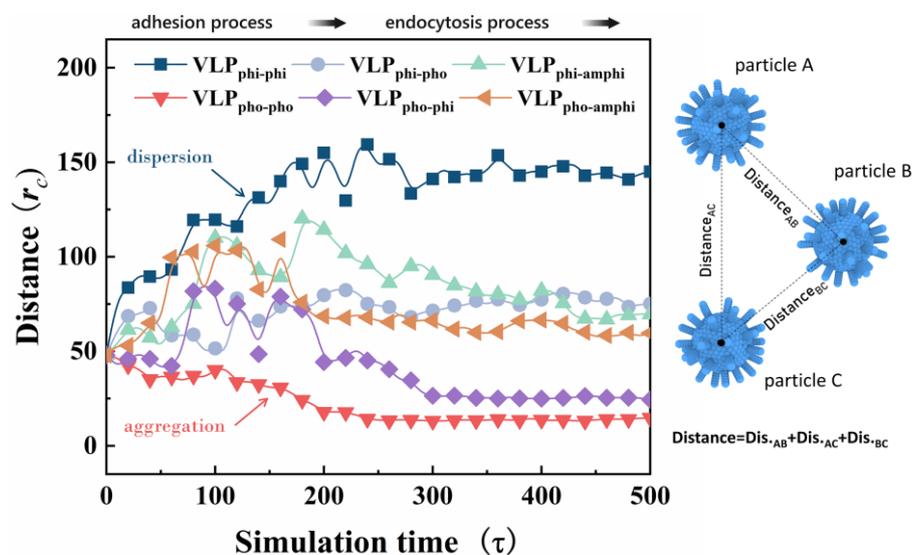


图 4-9 具有不同亲疏水排布的仿病毒纳米颗粒在内吞过程中的相对距离变化  
Figure4-9 Variation of distance between VLPs during internalization process

已有研究表明纳米颗粒的协同作用与纳米颗粒的毒性存在密切的关联，在仿病毒纳米颗粒的协同行为的研究中还值得注意的是内核和刺突皆为疏水的仿病毒纳米颗粒的协同作用可以引起的剧烈的细胞膜形变并导致细胞膜结构的显著破坏，如图 4-10 所示，随着仿病毒纳米颗粒内吞过程的进行，细胞膜结构出现明显的变化，甚至会引起细胞膜的破裂，Gao 等先前的实验与模拟研究表明这种细胞膜的机械形变可能会引起细胞凋亡<sup>[187]</sup>。疏水纳米颗粒的细胞毒性问题一直被研究者们广泛关注，而该部分的研究结果表明在仿病毒纳米颗粒的理性设计中，颗粒间的协同作用可以通过合理优化内核和刺突的亲疏水性质来实现有效调控。

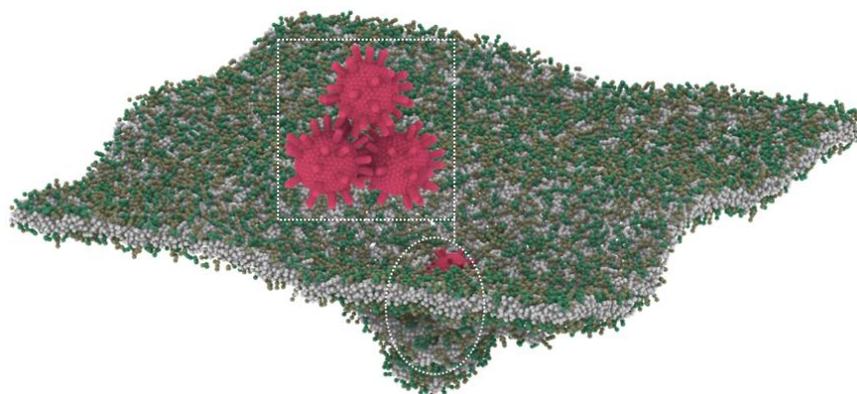


图 4-10 内核和刺突皆为疏水的仿病毒纳米颗粒的协同作用引起的细胞膜形变  
Figure4-10 Snapshot of dynamic endocytosis processes of multiple hydrophobic VLPs

#### 4.4 本章小结

通过耗散粒子动力学对具有不同亲疏水排布的仿病毒纳米颗粒与细胞膜间的相互作用开展模拟研究，发现仿病毒纳米颗粒与细胞膜间主要存在粘附、部分包裹和完全包裹三种相互作用模式，在相同的细胞膜条件下，具有不同亲疏水性质的仿病毒纳米颗粒与细胞膜间的相互作用模式以及内吞效率存在较大差别。模拟结果表明仿病毒纳米颗粒的刺突的亲疏水性质对颗粒内吞效率的影响要显著于内核的亲疏水性质的影响。在各种具有不同亲疏水排布的仿病毒纳米颗粒中，刺突和内核皆为亲水的仿病毒纳米颗粒的内吞效率最低，与亲水刺突相比，疏水刺突更有利于仿病毒纳米颗粒内化能力的提升，而两亲刺突提升效果更佳。疏水内核相较于亲水内核略微更有利于仿病毒纳米颗粒的内化，但影响相对次要。由于仿病毒纳米颗粒表面的粗糙度，具有不同亲疏水排布的仿病毒纳米颗粒可以通过非对称包裹模式来被细胞膜完全包裹。在亲疏水性质对颗粒内化过程中协同行为的影响方面，研究发现颗粒间的协同行为主要受仿病毒纳米颗粒内核亲疏水性的影响，在仿病毒纳米颗粒的粘附过程中，疏水内核易导致仿病毒纳米颗粒聚集成为团簇，从而降低纳米颗粒的内吞效率，影响细胞膜结构甚至导致细胞膜破裂。该部分的研究明确了仿病毒纳米颗粒的刺突和内核的亲疏水性质对仿病毒纳米颗粒内吞效率和协同行为的主要作用和影响规律，证明可以通过合理设计仿病毒纳米颗粒的亲疏水排布来调控颗粒间的协同作用以及提升颗粒的内化效率。

## 第五章 刺突形状对仿病毒纳米颗粒内化能力的影响研究

### 5.1 引言

仿病毒纳米颗粒相比传统纳米颗粒最明显的优势便是仿病毒纳米颗粒的内化能力显著较强。在已报道的关于以仿病毒纳米颗粒为载体进行药物或基因递送的研究中，通常以常规纳米颗粒为对照组，以此对比验证仿病毒纳米颗粒具有更强的内化能力。虽然众多研究已经充分证实纳米颗粒的表面拓扑结构可以显著影响纳米颗粒的递送效率，但很少有专门对比研究仿病毒纳米颗粒表面亚单元对仿病毒纳米颗粒内化能力影响的研究报道。其中一个比较经典的研究是由 Yu 等<sup>[215]</sup> 报道的一项以不同纳米颗粒为载体递送 DNA 的研究，在该研究中研究者们对比了三种表面拓扑结构的影响，发现表面具有刺状结构的纳米颗粒相较于表面具有半球形和碗型亚单元的纳米颗粒可以实现更高的转染效率，证明了刺突结构的优势。然而受实验研究成本和研究周期的限制，专门关注纳米颗粒表面亚单元影响纳米颗粒性能的研究还非常匮乏，开展相关理论模拟研究对于纳米颗粒的设计具有重要的实用价值。基于此，在本章中以实验研究报道的仿病毒纳米颗粒为基础建立了具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒模型，并对其渗透能力和受体介导内吞效率开展系统研究，以期对仿病毒纳米颗粒的优化提供一定的理论指导。

### 5.2 模型建立与计算方法

#### 5.2.1 仿病毒纳米颗粒模型的建立

受实验中所制备合成的具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒启发，建立了五种典型形状的刺突嫁接至球形内核表面用以研究刺突形状对颗粒与细胞膜间相互作用的影响。首先，通过 Matlab 软件对仿病毒纳米颗粒的球形内核进行建模，采用三角网格建成表面光滑的实心球状模型，并将球形内核的半径控制在  $2r_c$ 。在第二章和第三章中，已对刺突长度和刺突数目对仿病毒纳米颗粒内化能力的影响进行了考察，在此部分，刺突的数目固定为 30，刺突的长度固定为  $1.2r_c$ 。在获得表面光滑的球形内核后，将六个 DPD 珠子以  $0.2r_c$  的间距等距沿直线连接，随后根据质心嫁接在球形内核表面，以获得仿病毒纳米颗粒基础模型，随后通过调节刺突中 DPD 珠子的作用半径，来控制刺突的形状。对 DPD 珠子作用半径的控制目前经常见于一些两亲分子自组装的 DPD 模拟研究，通过调整 DPD 珠子的作用半径可以获得与实验结果更为接近的自组装结构。在该研究中，通过调

控构成刺突的 DPD 珠子的作用半径，获得五种典型刺突形状分别为：粗刺突（type A）、锥形刺突（type B）、不规则刺突（type C）、倒锥形刺突（type D）、细刺突（type E），如图 6-1 所示。同时根据仿病毒纳米颗粒的特点将整个纳米颗粒模型设置为刚体，珠子间具体的相互作用参数设置在后文中进行了详细的介绍。

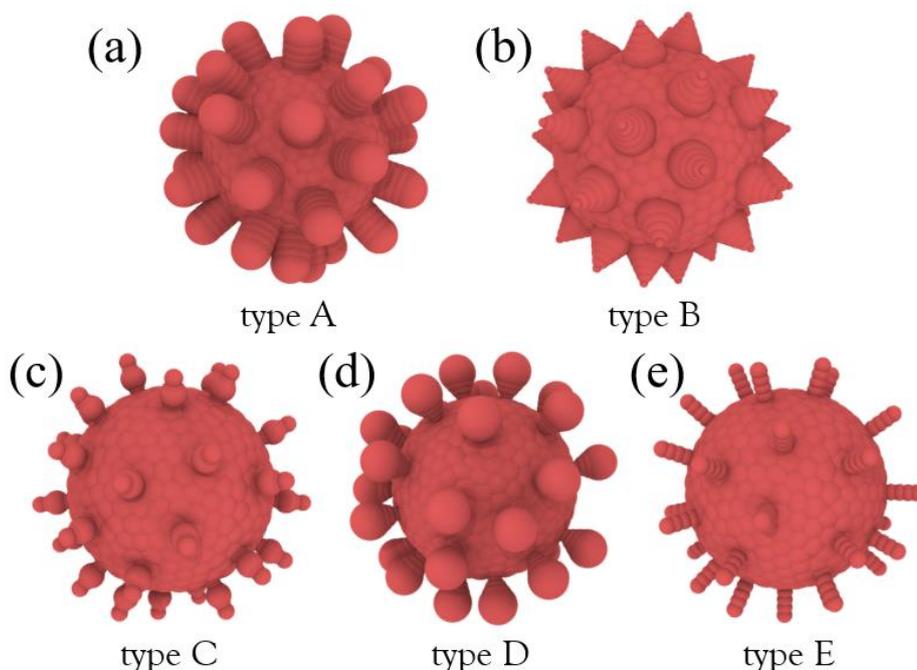


图 5-1 具体不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒模型

Figure5-1 VLP models with different spike shape in DPD simulation study

### 5.2.2 细胞膜及初始模型的构建

为建立结构和性质与真实细胞膜相近的细胞膜模型，选用经典的由三个亲水珠子和六个疏水珠子组成的磷脂分子粗粒化模型来构建细胞膜双分子层，磷脂分子具有双疏水尾链，磷脂分子模型中的珠子间的平衡长度为  $0.5r_c$ ，利用简谐弹簧势来连接相邻近的珠子，链接亲水珠子的弹簧弹性系数为 64，链接疏水珠子的弹簧弹性系数为 10。在仿病毒纳米颗粒的渗透穿膜能力研究中，细胞膜由磷脂分子组成。在仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞研究中，为模拟配体-受体相互作用，根据先前的模拟研究将部分磷脂分子模型的亲水头基与纳米颗粒间的相互作用设置为较为亲和的作用参数，具体参数请见下一小节。先前的模拟研究已证实该方法可以较好的复现受体介导内吞的特点与动态过程，参照已报道的模拟研究，将受体介导内吞研究中采用细胞膜中受体密度设置为 50%。在上述两部分的模拟研究中，双分子层的张力都被控制为 0。为获得合理的细胞膜双分子层结构，首先对细胞膜体系进行模拟，无受体存在和有受体存在的处于平衡状态的细胞膜

模型分别如图 5-2 (a) 和图 5-2 (b) 所示。经过能量最小化和动力学模拟, 所获得的平衡状态下的细胞膜结构是完整的, 且细胞膜两侧受力平衡, 没有孔洞出现, 如图 5-2 (c) 所示。随后将有待研究的仿病毒纳米颗粒放置于细胞膜上方的  $15 r_c$  处, 进行正式的模拟及分析。

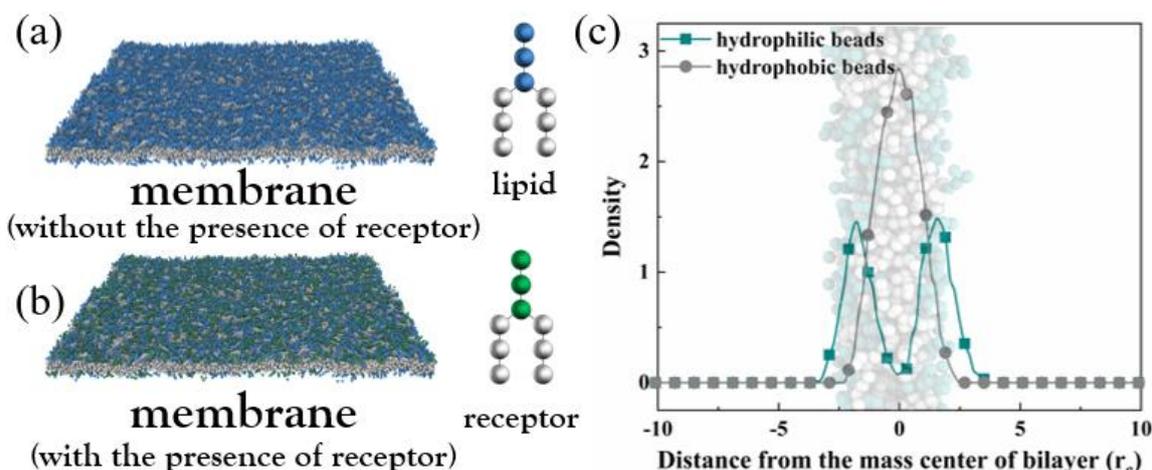


图 5-2 细胞膜中的亲水头基与疏水尾链沿垂直于细胞膜方向的密度分布及磷脂分子/受体的粗粒化模型和双分子层平衡结构

Figure 5-2 (a) Snapshot of balanced membrane without the presence of receptor (b) Snapshot of balanced membrane with the presence of receptor (c) Density profile of hydrophilic/hydrophobic beads of cell membrane in equilibrium state

### 5.2.3 模拟细节及相互作用参数的选取

本章中所有的模拟皆采用开源模拟软件 LAMMPS 完成。在仿病毒纳米颗粒穿膜和受体介导内吞的研究中都采用尺寸为  $80r_c * 80r_c * 40r_c$  的模拟盒子, 体系的数密度为 3, 因此体系中共包含 768000 个珠子, 在模拟体系的 XYZ 三个方向皆采用周期性边界条件。模拟中的耗散系数  $\gamma$  和随机力系数  $\sigma$  分别设置为 4.5 和 3, 珠子质量  $m$  和体系温度  $k_B T$  设置为 1。除纳米颗粒模型和双分子层模型中的珠子外, 都用水珠子填充。模拟步长  $\Delta t = 0.015\tau$ , 每个体系的模拟步长不少于 1,000,000 步。

在仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞研究中, 为呈现配体-受体相互作用根据先前报道的模拟文献将受体头基 (R) 与纳米颗粒中的珠子 (P) 间的相互作用参数  $\alpha_{ij}$  设置为 5; 其余珠子间的相互作用参数设置源自先前报道的模拟文献, 如表 6-1 所示, 表中的 W 代表水珠子, H 代表磷脂分子的亲水头基, T 代表磷脂分子的疏水尾链, L 代表受体的疏水尾链。已报道的模拟研究表明以此设置珠子间的相互作用参数可以合理有效的模拟纳米材料的受体介导内吞过程。在实验研究中, 目前刺突形状最易被调控的仿病毒纳米颗

粒为二氧化硅纳米颗粒，但与此同时基于其他材料的仿病毒纳米颗粒也在不断发展，因此在仿病毒纳米颗粒的渗透穿膜和受体介导内吞研究中，都还考察了仿病毒纳米颗粒整体亲疏水性对颗粒内化能力的影响，对纳米颗粒的珠子（P）与水溶液（W）间的相互作用参数  $\alpha_{PW}$  考察了 20、30、40、50 四种情况。

表 5-1 水珠子（W）、磷脂（H/T）、受体（R/L）、颗粒珠子（P）间相互作用参数  $\alpha_{ij}$   
Table5-1 Interaction parameters of bead-bead pairs  $\alpha_{ij}$  among water/lipid/receptor/nanoparticle

$\alpha_{ij}$	W	H	T	R	L	P
W	25	25	100	25	100	$\alpha_{PW}$
H	25	25	100	25	100	25
T	100	100	25	100	25	100
R	25	25	100	25	100	5
L	100	100	25	100	25	100
P	$\alpha_{PW}$	25	100	5	100	25

在仿病毒纳米颗粒的穿膜能力研究中，为合理检验纳米颗粒在穿膜过程中的受力过程，采用了弹簧力拉伸的方法来驱动仿病毒纳米颗粒穿膜。弹簧力的表达式为：

$$F = K((z_0 - vt) - z_{com}) \quad (5-1)$$

其中， $K$  是弹簧常数，在本研究中设置为  $0.01K_B T \cdot r_c^{-2}$ ， $z_0$  为纳米颗粒的初始位置， $v$  为拉伸参考点的速度， $t$  为模拟时间， $z_{com}$  为纳米颗粒的动态位置。也就是说，在非平衡态模拟中，虚拟点的位置随模拟时间的变化而匀速运动，而在此过程中，如果纳米颗粒与虚拟点之间的距离越大则施加在纳米颗粒上的驱动力则越大，以此驱使纳米颗粒沿一方向运动。受此弹簧力的驱动，纳米颗粒逐步靠近细胞膜，并跨越势垒穿越细胞膜。该方法的适用性在第二章中已进行了详细的验证。总的来说，采用弹簧力拉伸的主要原因是该方法一方面对纳米颗粒在穿膜过程中运动自由度的影响较小，另一方面该方法还有助于检验纳米颗粒在穿膜过程中的距离变化和受力过程。

### 5.3 结果与分析

#### 5.3.1 刺突形状对颗粒渗透穿膜能力的影响

基于弹簧力拉伸方法，首先对具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒的穿膜能力开展研究。如图 6-3 所示，不同仿病毒纳米颗粒的穿膜过程根据受力变化都可以分为三个阶段：在初始阶段，纳米颗粒与细胞膜距离较远，两者不存在相互作用；受弹簧力的驱动，

纳米颗粒不断靠近细胞膜，当细胞膜与纳米颗粒质心间的距离小于  $10r_c$  后，细胞膜阻碍了纳米颗粒继续运动，随着纳米颗粒继续靠近细胞膜，作用在纳米颗粒上的拉力越来越大，基本同细胞膜与颗粒间的距离呈现线性增长的关系；随着拉力继续增加，作用在纳米颗粒上的拉力驱使纳米颗粒最终成功穿越细胞膜，待纳米颗粒完全跨越细胞膜后作用在纳米颗粒上的驱动力也随之卸载，对应着纳米颗粒渗透穿膜过程的结束。

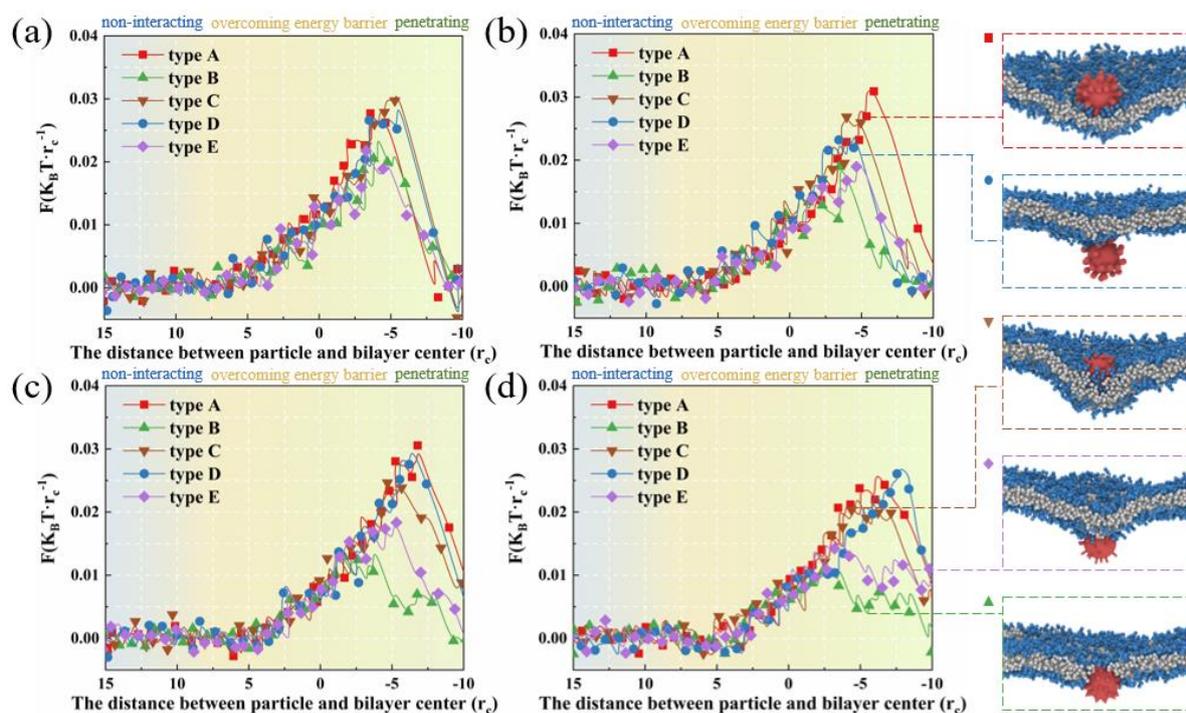


图 5-3 具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒在穿膜过程中的受力变化，(a)  $\alpha_{PW}=20$ ，(b)  $\alpha_{PW}=30$ ，(c)  $\alpha_{PW}=40$ ，(d)  $\alpha_{PW}=50$ ，右侧插图为具有不同刺突形状的纳米颗粒的穿膜过程图  
Figure 5-3 Profiles of pulling force on the beads of the particle with respect to the distance between the nanoparticle and the bilayer center, (a)  $\alpha_{PW}=20$ , (b)  $\alpha_{PW}=30$ , (c)  $\alpha_{PW}=40$ , (d)  $\alpha_{PW}=50$ . The snapshots are taken from the corresponding stage of translocation process

由不同仿病毒纳米颗粒跨膜过程中受力的变化和阈值可以看出，仿病毒纳米颗粒表面刺突的结构对颗粒的穿膜能力影响较大，并且不同仿病毒纳米颗粒之间穿膜能力的差异随着疏水性的增强而逐渐扩大。具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒受力曲线表明具有粗刺突、不规则刺突、倒锥形刺突的仿病毒纳米颗粒的穿膜能力较差，且在不同亲疏水性的情况下，具有上述三种刺突形状的仿病毒纳米颗粒穿膜能力较为接近。相比之下，具有锥形刺突和细刺突的仿病毒纳米颗粒穿膜能力较强。先前研究已表明疏水纳米颗粒相较于亲水纳米颗粒更易进入并穿越细胞膜，在本研究中，也同样证明纳米颗粒疏水性的增强有利于纳米颗粒跨膜能力的提升。更重要的是，模拟研究证明随着纳米颗粒疏水性的提升，在  $\alpha_{PW}=20$  逐渐变为  $\alpha_{PW}=50$  的过程中，具有锥形刺突和细刺突的仿病毒纳

米颗粒穿膜能力与具有粗刺突、不规则刺突、倒锥形刺突的仿病毒纳米颗粒穿膜能力间的差异逐渐扩大。在  $\alpha_{PW}=40$  和  $\alpha_{PW}=50$  的情况下，具有锥形刺突的仿病毒纳米颗粒的穿膜能力明显优于其他四种纳米颗粒，表明优化仿病毒纳米颗粒的刺突形状为锥形刺突有利于颗粒渗透穿膜能力的提升。

### 5.3.2 刺突形状对颗粒受体介导内吞的影响

相比与直接渗透，内吞作用同样是纳米颗粒进入细胞内部的重要途径。虽然纳米材料以内吞方式进入被转运至胞内相较于以直接渗透方式进去胞内有一些弊端，但适用于内吞作用的纳米材料的尺寸范围更加广泛，因此深入理解纳米材料的物化性质对内吞作用的影响对于生物医学用纳米材料的发展有着重要的意义。在实际应用中，尺寸较大的纳米颗粒更易以内吞方式进入到细胞膜中，而这一内化方式主要包括纳米颗粒的吸附、纳米颗粒的包裹以及纳米颗粒最终脱离细胞膜等步骤。在先前的实验和理论研究中，被最广泛研究的是纳米材料的受体介导内吞，通过先前的研究已充分证明纳米颗粒被细胞以内吞方式摄取时存在最优尺寸。但先前的研究中，专门针对纳米颗粒表面亚单元对纳米颗粒受体介导内吞的研究鲜有报道。为探索仿病毒纳米颗粒的刺突形状对仿病毒纳米颗粒受体介导内吞效率的影响，对具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒达到内吞的概率开展了模拟研究。在此我们对不同体系各进行五次分别单独的模拟，以纳米颗粒完全包裹的实现为依据，可以判断纳米颗粒的内吞概率，且以此考察仿病毒纳米颗粒的内吞效率。同时，在该部分也考察了纳米颗粒亲疏水性的影响。如图 5-4 所示，当纳米颗粒较为亲水时（ $\alpha_{PW}=20$  及  $\alpha_{PW}=30$ ），具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒都未能被细胞膜完全包裹，具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒都仅能在细胞膜表面粘附或被细胞膜部分包裹。在第三章中，已通过对仿病毒纳米颗粒受体介导内吞动态过程的研究证明不同长度的刺突会对颗粒的受体介导内吞产生两相作用，且相对较长的刺突会阻碍颗粒的内吞过程，不利于仿病毒纳米颗粒被细胞膜完全包裹。随着纳米颗粒疏水性的增强，纳米颗粒被细胞膜包裹内吞的概率逐渐增加，这一趋势与实验研究中所观察到的现象一致。但在相同的亲疏水条件下，不同仿病毒纳米颗粒的内化能力差异较大。在五种仿病毒纳米颗粒中，具有粗刺突、不规则刺突、倒锥形刺突的仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞效率相对较高且较为接近，而具有细刺突的仿病毒纳米颗粒的内吞效率较差，具有锥形刺突的仿病毒纳米颗粒的内吞效率最差。即使在细胞膜内受体密度较高的情况下，具有锥形刺突的仿病毒纳米颗粒依然难以被细胞膜完全包裹内吞。模拟研究结果表明刺突形状

对仿病毒纳米颗粒内吞效果的影响要强于对仿病毒纳米颗粒渗透能力的影响。为进一步剖析不同仿病毒纳米颗粒间内吞效率差异的机理，对仿病毒纳米颗粒受体介导内吞的动态过程继续进行了探究。

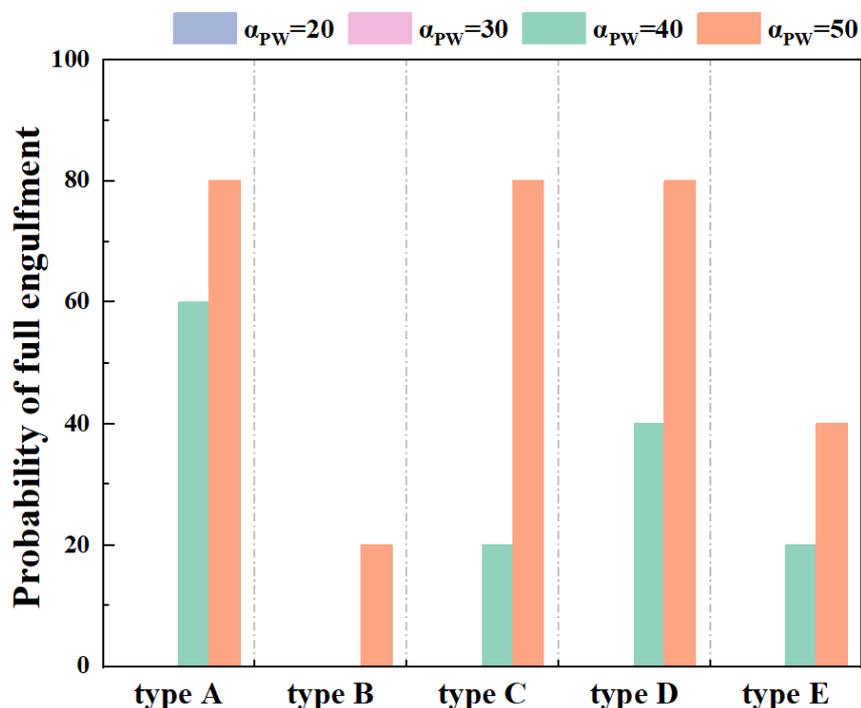


图 5-4 具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞概率  
Figure 5-4 Probability of receptor mediated endocytosis of VLPs

图 5-5 展示了具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞过程，以受体密度为 50% 的情况为例，如图所示具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒在粘附到细胞膜表面后会首先通过募集受体来增强纳米颗粒与细胞膜间的粘附作用，随着受体的扩散和聚集，纳米颗粒与细胞膜间的相互作用变强，从而弥补细胞膜的弯曲能并造成了细胞膜的凹陷。这一过程与真实病毒内吞模式的早期阶段较为类似，但实验合成的仿病毒纳米颗粒不能通过形变来促进纳米颗粒的内化，相比之下，真实病毒的刺突可以通过形变来促进病毒侵入细胞。在仿病毒纳米颗粒被细胞膜所部分包裹之后，由于仿病毒纳米颗粒表面的粗糙度增强了周围磷脂/受体分子的扩散性，从而使磷脂/受体分子有机会攀爬至仿病毒纳米颗粒的上部并触发不同于传统纳米颗粒的非对称包裹模式来促进仿病毒纳米颗粒被细胞膜所完全包裹，该现象产生的机理已在第三章中进行了详细的分析。在前文中，已证明这种由颗粒表面刺突所诱导发生的非对称包裹比表面平滑的传统纳米颗粒的对称包裹需要更低的细胞膜形变，并以此导致仿病毒纳米颗粒与传统纳米颗粒在受体介导内吞效率上的差异。从具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞过程中可

以看出，除具有锥形刺突的仿病毒纳米颗粒在粘附至细胞膜后最难触发非对称包裹模式外，其他四种仿病毒纳米颗粒都触发了较为明显的非对称包裹模式并实现颗粒的完全包裹，证明具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒的内吞效率差异不是由于包裹模式的显著差异所导致的。为进一步探究刺突形状影响仿病毒纳米颗粒内吞动态过程的微观机理，对具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒粘附到细胞膜后的扩散性能进行了统计和分析。

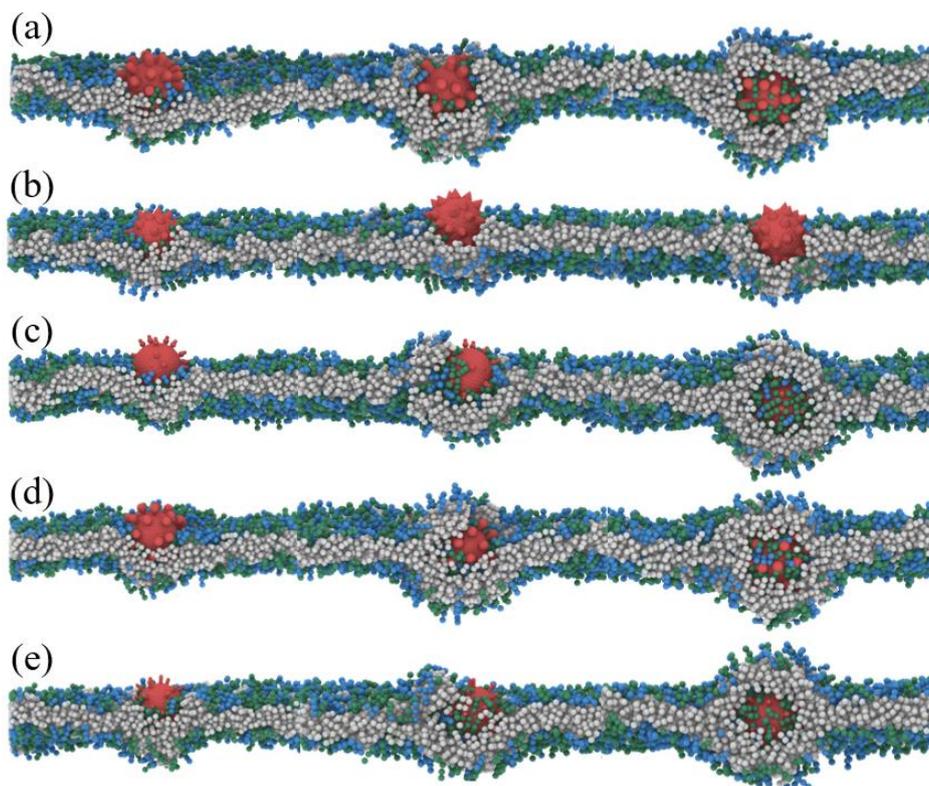


图 5-5 具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞过程  
Figure 5-5 Dynamic endocytosis processes of VLPs with different spike shape

为定量分析纳米颗粒粘附到细胞膜后的动力学行为，对纳米颗粒粘附到细胞膜后颗粒质心的均方位移进行了分析，并由均方位移计算得到的纳米颗粒的扩散系数  $D$ ，如图 5-6 所示。从扩散系数的分析可以看出刺突的形状会显著影响纳米颗粒黏附在细胞膜表面后的动力学行为，具体来说，具有三种有利于纳米颗粒内吞的刺突—粗刺突、不规则刺突、倒锥形刺突的仿病毒纳米颗粒在粘附至细胞膜后，纳米颗粒的扩散性相对较弱，意味着这三种纳米颗粒更加稳定地粘附在细胞膜表面。而具有锥形刺突和细刺突的仿病毒纳米颗粒在粘附至细胞膜后扩散系数相对较高，在细胞膜表面的移动性更强。

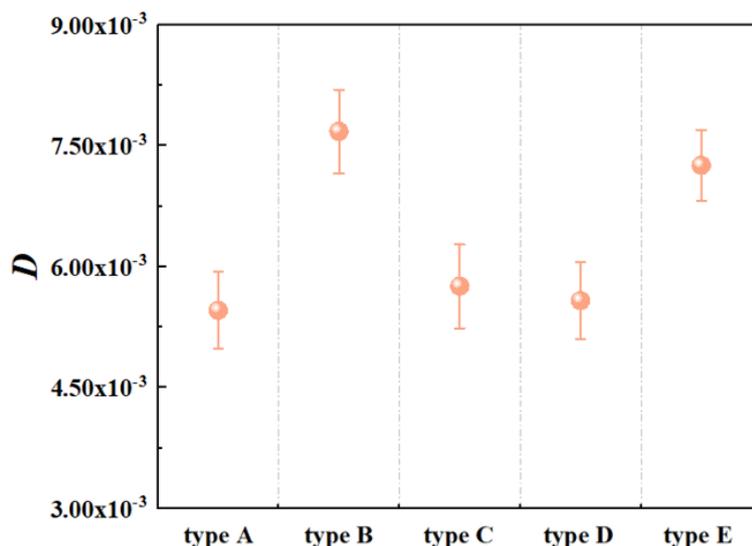


图 5-6 具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒的粘附到细胞膜后的扩散系数  
Figure 5-6 Diffusion coefficient  $D$  of VLPs after they adhere onto membrane

从图 5-7 所示的具有锥形刺突的仿病毒纳米颗粒粘附至细胞膜后的平面运动轨迹（比例尺为  $2r_c$ ）可以看出，纳米颗粒在粘附至细胞膜后存在侧向运动。由于细胞膜双分子层中的磷脂分子具有侧向流动性<sup>[216]</sup>，纳米材料在细胞膜表面的侧向运动被证实为一种广泛现象<sup>[217,218]</sup>。但随着刺突形状的变化，仿病毒纳米颗粒在细胞膜表面侧向运动的强度会发生变化。由于锥形刺突的结构特点，具有锥形刺突的仿病毒纳米颗粒难以稳定地钉扎进双分子层中，因此导致该种类型的仿病毒纳米颗粒在粘附至细胞膜后有更为明显的平面运动，导致其在细胞膜表面的粘附相对更不稳定。在这种情况下，虽然不同形状刺突都有机会触发非对称包裹模式，但相对强烈的平面运动对包裹过程产生了阻碍作用，不利于仿病毒纳米颗粒的内吞。

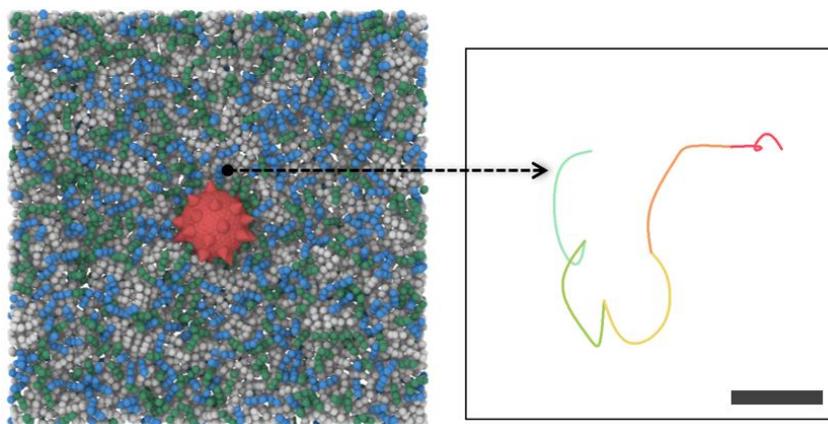


图 5-7 具有锥形刺突的仿病毒纳米颗粒粘附至细胞膜后的平面运动轨迹  
Figure 5-7 2D centroid trajectories of VLP with cone-shape spikes after it adhere onto membrane

除纳米颗粒在细胞膜表面的平动外，纳米颗粒在细胞膜表面的转动也是纳米颗粒跨膜过程中的一个普遍的现象，该现象的产生主要由细胞膜对纳米颗粒产生的拉力所导致，且纳米颗粒在细胞膜表面的旋转行为对于纳米颗粒的跨膜效果息息相关<sup>[219-221]</sup>。因此，对不同仿病毒纳米颗粒粘附至细胞膜表面后在相同时间（ $2\tau$ ）内的旋转进行了统计，如图 5-8 所示，研究发现具有锥形刺突和细刺突的仿病毒纳米颗粒相较于具有粗刺突、不规则刺突和倒锥形刺突的仿病毒纳米颗粒旋转行为更加剧烈，再次证明了具有锥形刺突和细刺突的仿病毒纳米颗粒在粘附至细胞膜表面后稳定性相对较差。总的来说，具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞效率区别不是由包裹模式的别产生的，而是由于刺突形状会影响颗粒粘附至细胞膜后的稳定性，进而影响纳米颗粒被细胞膜包裹的过程，并以此造成了不同仿病毒纳米颗粒内吞效率间的差异。

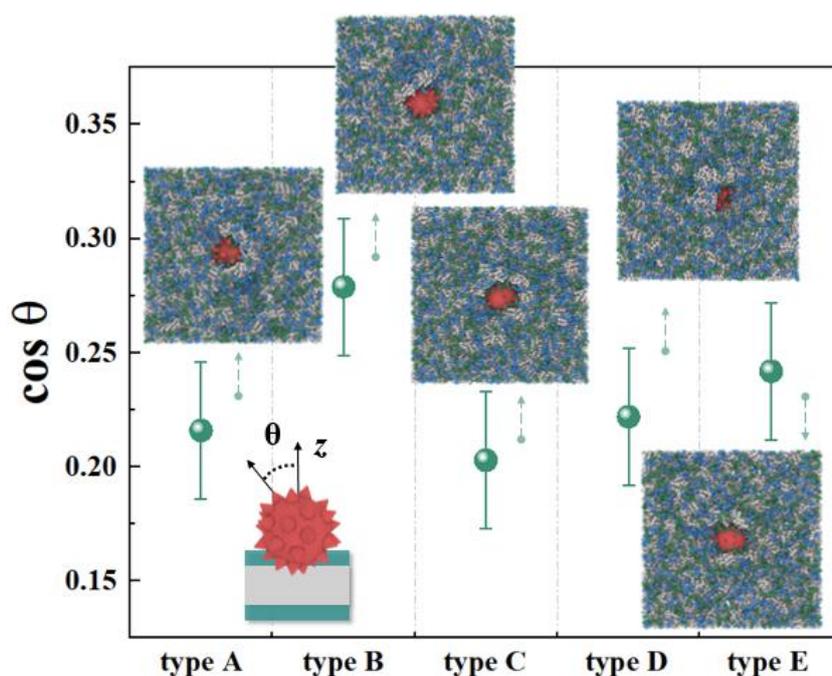


图 5-8 具有不同刺突形状的仿病毒纳米颗粒的粘附到细胞膜后的旋转角  
Figure 5-8 Diffusion coefficient  $D$  of VLPs after they adhere onto membrane

## 5.4 本章小结

采用耗散粒子动力学模拟研究，在本章中对仿病毒纳米颗粒表面的亚单元——即刺突形状对仿病毒纳米颗粒内化能力的影响开展了系统的模拟研究。首先基于弹簧力拉伸的方法对仿病毒纳米颗粒的穿膜能力进行研究，发现刺突形状对亲水仿病毒纳米颗粒穿膜能力的影响有限，但随着纳米颗粒疏水性的增强，刺突形状对纳米颗粒穿膜能力的影响增大。在没有配体-受体相互作用的情况下，具有锥形刺突和细刺突的仿病毒纳米颗粒穿

膜能力较强,而具有粗刺突、不规则刺突、倒锥形刺突的仿病毒纳米颗粒穿膜能力较弱,表明可以通过操控仿病毒纳米颗粒表面刺突形状来提升纳米颗粒的渗透能力。通过进一步研究仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞,发现刺突形状对纳米颗粒受体介导内吞效率的影响要强于对纳米颗粒渗透能力的影响。模拟结果表明具有粗刺突、不规则刺突、倒锥形刺突的仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞效率较高,而具有细刺突的仿病毒纳米颗粒的介导内吞效率次之,具有锥形刺突的仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞效率最低。对受体介导内吞动态过程的研究结果表明细刺突和锥形刺突不利于仿病毒纳米颗粒粘附到细胞膜后的稳定性,在具有这两种刺突的纳米颗粒粘附至细胞膜后平面运动和旋转运动更强,因而不利于纳米颗粒的包裹过程。该部分的研究证明可以通过合理调控仿病毒纳米颗粒的刺突的形状来实现对仿病毒纳米颗粒渗透能力及内吞效率的优化。该部分研究中的发现为生物医药用仿病毒纳米颗粒的进一步理性设计提供了理论基础。

## 结论与展望

### 1. 结论

仿病毒纳米颗粒相较于传统纳米颗粒具有细胞内化效率更高等诸多优点，为填补此新型纳米颗粒在生物界面理论研究方面的空白，本论文采用耗散粒子动力学模拟方法研究了仿病毒纳米颗粒与细胞膜间的相互作用，通过系统研究仿病毒纳米颗粒的内化过程以及影响仿病毒纳米颗粒内化的主控因素明确了病毒形貌可以帮助纳米颗粒提升内化效率的机理，揭示了刺突数目和刺突密度等主控因素的影响规律和影响机制。本论文的主要结论如下：

(1) 通过对比研究仿病毒纳米颗粒与传统纳米颗粒的穿膜过程发现，仿病毒纳米颗粒表面的刺突可以在不增加纳米颗粒穿膜过程中细胞膜垂直形变的情况下增加细胞膜的表面缺陷。通过这种在纳米颗粒粘附至细胞膜后对细胞膜结构的预扰动，提升了仿病毒纳米颗粒的渗透能力，同时刺突的扰动还导致了穿膜过程中周围磷脂分子的流体化，使其更易从膜内脱离完成穿膜过程。此外，通过大量对比具有不同刺突数目和刺突长度的仿病毒纳米颗粒的穿膜效率，证明较长且较稀疏的刺突更有利于提升仿病毒纳米颗粒的渗透能力。

(2) 通过系统研究不同刺突数目和刺突长度的仿病毒纳米颗粒的受体介导内吞过程及效率，证明不同长度的刺突可以对纳米颗粒的受体介导内吞产生双相作用，即较短的刺突可以促进纳米颗粒的内吞而较长的刺突则会抑制纳米颗粒的内吞，同时仿病毒纳米颗粒刺突数目的影响较为次要。对内吞动态过程的进一步分析表明纳米颗粒表面的刺突会显著影响纳米颗粒内吞过程中的包裹模式，当颗粒表面刺突较短时会对周围磷脂分子的扩散起到促进作用，而当颗粒表面刺突较长时不仅不利于周围磷脂分子的扩散还会增加细胞膜包裹纳米颗粒所需要的能量，因此导致具有较短刺突的仿病毒纳米颗粒会以非对称包裹模式更快实现颗粒的完全包裹，而较长刺突则会对纳米颗粒的内吞效率起到相反的阻碍作用。

(3) 根据实验研究由不同材料制备合成的仿病毒纳米颗粒设计了多种具有不同亲疏水性质的仿病毒纳米颗粒模型，并通过对这些纳米颗粒与细胞膜间的相互作用模式进行研究发现仿病毒纳米颗粒与细胞膜间主要存在粘附、部分包裹、完全包裹三种相互作用状态。仿病毒纳米颗粒的内化效率主要受刺突的亲疏水性的影响，而仿病毒纳米颗粒在

内化过程中的协同行为主要受内核亲疏水性的影响。通过对比研究发现两亲的刺突最有利于仿病毒纳米颗粒的内化，其次为疏水刺突，再次为亲水刺突。通过操控仿病毒纳米颗粒的亲疏水排布可以有效提升纳米颗粒的内化效率及其在内化过程中的协同作用。

(4)以实验研究为基础研究探索了仿病毒纳米颗粒刺突形状对颗粒渗透能力及内吞效率的影响，基于弹簧力拉伸方法的颗粒渗透能力研究表明锥形刺突和细刺突更有利于仿病毒纳米颗粒渗透能力的提升，且随着疏水性的增强这两种刺突的优势逐渐扩大。但在存在配体-受体相互作用的情况下，倒锥形刺突、不规则刺突、粗刺突则更有利于仿病毒纳米颗粒受体介导内吞效率的提升。对受体介导内吞动态过程的分析表明具有锥形刺突和细刺突的仿病毒纳米颗粒在粘附至细胞膜表面后的平动和转动更加强烈，从而阻碍了纳米颗粒被细胞膜包裹及内吞。

综上所述，通过对具有不同刺突长度、刺突数目、刺突形状和亲疏水性质的仿病毒纳米颗粒的渗透及内吞过程开展系统研究，深化了对纳米颗粒表面拓扑结构对纳米颗粒与细胞膜间相互作用影响的认识，希望本论文的研究内容与结论可为后续研究中生物医药领域纳米颗粒的理性设计提供基础数据和理论指导。

## 2. 展望

病毒经过漫长的进化成为了入侵细胞能力最强的实体，为纳米颗粒的优化提供了重要的借鉴，启发了仿病毒纳米颗粒的发展，与此同时人们对生物界面现象的理解也不断加深。在近年的生物界面研究中，分子模拟方法已成为重要的研究工具和研究手段。借助各种模拟方法，尤其是耗散粒子动力学模拟方法，研究者们对纳米颗粒在生物界面的动力学行为以及纳米颗粒的物理化学性质对纳米颗粒与生物界面相互作用的影响进行了深入而广泛的探究，为理解生物体内微观现象和纳米颗粒的设计优化提供了重要的理论支持。在本论文中，以近年来新发展的仿病毒纳米颗粒为基础，对纳米颗粒的表面拓扑结构如何影响纳米颗粒的细胞内化能力进行了分析研究。在后续的研究工作中，以下几个方面值得继续开展进一步研究：

(1) 建立更加精确的描述纳米颗粒与细胞膜相互作用的力场。目前全原子分子动力学力场的精度日趋完善，以 Martini 力场为代表的粗粒化分子动力学力场的适用性也在不断扩展，相比之下，虽然耗散粒子动力学更适用于较大尺度的研究体系，但近年来耗散粒子动力学力场的发展较为迟缓，虽然目前有一些学者利用全原子力场模拟得到的 Flory-Huggins 参数来优化耗散粒子动力学力场<sup>[222,223]</sup>，但一般仅适用于单独的体系，较

难进行推广，扩展性较差。所以目前仍缺少精度较高、适用性较广的专门用于生物界面研究的耗散粒子动力学力场。因此，如何有效提高耗散粒子动力学力场的精度是目前基于耗散粒子动力学方法进行生物界面现象研究的重点和难点。

(2) 仿病毒纳米颗粒的刚柔性对颗粒与细胞膜间相互作用的研究。在先前的研究中，研究者们采用实验、模拟、理论等研究方法对传统球形纳米颗粒的刚柔性对颗粒与细胞膜间相互作用的影响进行了系统的探究<sup>[224-227]</sup>。最近也有一些研究阐明了一些其他形状的纳米颗粒的刚柔性对纳米颗粒与细胞膜间相互作用的影响<sup>[228]</sup>，然而目前仍缺少专门针对仿病毒纳米颗粒刚柔性对纳米颗粒内化能力影响的研究报道。一方面来说，研究者们已研究证明真实病毒的刺突会在病毒入侵细胞时通过形变来促进病毒入侵；另一方面来说，目前实验报道的一些仿病毒纳米颗粒的内核和刺突由性质各异的材料组成，例如有些仿病毒纳米颗粒的内核为聚合物有些则为二氧化硅，有些仿病毒纳米颗粒的刺突为蛋白有些则为金纳米粒子，不同仿病毒纳米颗粒间刺突和内核的刚柔性差异较大。因此探究仿病毒纳米颗粒的内核和刺突的刚柔性如何影响仿病毒纳米颗粒的性能对于仿病毒纳米颗粒的优化具有实际意义。

(3) 多尺度模拟方法的结合。受目前模拟方法适用性的限制，本论文的研究仅采用了耗散粒子动力学模拟的方法，一定程度上简化了细胞膜组分的影响。目前跨尺度模拟方法不断发展，例如有一些量子化学计算与分子动力学计算结合的混合模拟技术被学者们发展和提出，但多尺度模拟方法的结合仍在发展的起步阶段，如何将多尺度模拟方法应用于纳米材料与细胞膜间相互作用的研究，以实现效率和精度的共同提升，值得进行更深入的探究。

(4) 外界环境的变化对纳米颗粒动力学行为影响的研究。细胞运输是一个多步骤的过程，包括细胞外运输和细胞内运输等，虽然纳米颗粒的跨膜是其中的重要一步，但在各种以纳米颗粒为平台诊疗应用中，其他步骤也与最终的诊疗效果密切相关。例如，在以纳米颗粒为载体进行药物运输时，纳米颗粒在跨越细胞膜后将携带的药物递送至细胞核才能发挥最终作用，因此深入理解胞内环境如何影响载体逃离内涵体乃至药物释放具有重要价值。此外，对于细胞外的环境对纳米材料靶向运输的影响同样较为匮乏。所以在后续的研究中，探究不同的外界环境以及环境的改变对纳米材料靶向运输的影响可以为运输效率的提高等问题提供重要的基础数据和理论基础。

随着模拟方法和计算机软硬件条件的不断发展，模拟技术能够帮助研究者们获得更多关于纳米材料与生物界面相互作用的有用信息，也会对生物医学用纳米材料的性能做

出更加精准的预测，以减小实验的成本和盲目性，最终实现功能性纳米材料的理性设计和定向设计。可以预见的是，随着模拟技术和合成方法的共同进步，模拟研究将为生物医学用纳米材料的研究和发展继续注入更大的动力。

## 参考文献

- [1] Chen G., Roy I., Yang C., et al. Nanochemistry and Nanomedicine for Nanoparticle-Based Diagnostics and Therapy[J]. *Chemical Reviews*, 2016, 116(5): 2826-2885.
- [2] Wang Y., Zhao Q., Han N., et al. Mesoporous Silica Nanoparticles in Drug Delivery and Biomedical Applications[J]. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2015, 11(2): 313-327.
- [3] Hou Z., Liu Y., Xu J., et al. Surface Engineering of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles by Polymer Grafting: Synthesis Progress and Biomedical Applications [J]. *Nanoscale*, 2020, 12(28): 14957-14975.
- [4] Li X., Wei J., Aifantis K. E., et al. Current Investigations into Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2016, 104(5): 1285-1296.
- [5] Croissant J. G., Fatieiev Y., Almalik A., et al. Mesoporous Silica and Organosilica Nanoparticles: Physical Chemistry, Biosafety, Delivery Strategies, and Biomedical Applications[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2018, 7(4): 1700831.
- [6] Zhang X. Gold Nanoparticles: Recent Advances in the Biomedical Applications[J]. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 2015, 72(3): 771-775.
- [7] Wei L., Lu J., Xu H., et al. Silver Nanoparticles: Synthesis, Properties, and Therapeutic Applications[J]. *Drug Discovery Today*, 2015, 20(5): 595-601.
- [8] Wang J., Ma Q., Wang Y., et al. Recent Progress in Biomedical Applications of Persistent Luminescence Nanoparticles[J]. *Nanoscale*, 2017, 9(19): 6204-6218.
- [9] Cabuzu D., Cirja A., Puiu R., et al. Biomedical Applications of Gold Nanoparticles[J]. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2015, 15(16): 1605-1613.
- [10] Wuttke S., Zimpel A., Bein T., et al. Validating Metal-Organic Framework Nanoparticles for Their Nanosafety in Diverse Biomedical Applications[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2017, 6(2): 1600818.
- [11] Soenen S. J., Parak W. J., Rejman J., et al. (Intra) Cellular Stability of Inorganic Nanoparticles: Effects on Cytotoxicity, Particle Functionality, and Biomedical Applications[J]. *Chemical Reviews*, 2015, 115(5): 2109-2135.

- [12] Shin S. W., Song I. H., Um S. H. Role of Physicochemical Properties in Nanoparticle Toxicity[J]. *Nanomaterials*, 2015, 5(3): 1351-1365.
- [13] Filippi C., Pryde A., Cowan P., et al. Toxicology of ZnO and TiO<sub>2</sub> Nanoparticles on Hepatocytes: Impact on Metabolism and Bioenergetics[J]. *Nanotoxicology*, 2015, 9(1): 126-134.
- [14] Hofmann A. M., Grainger D. W., Hofmann H. Nanoparticles in Medicine: Current Challenges Facing Inorganic Nanoparticle Toxicity Assessments and Standardizations[J]. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2015, 11(7): 1689-1694.
- [15] Behzadi S., Serpooshan V., Tao W., et al. Cellular Uptake of Nanoparticles: Journey Inside the Cell[J]. *Chemical Society Reviews*, 2017, 46(14): 4218-4244.
- [16] Gao H. Probing Mechanical Principles of Cell–Nanomaterial Interactions[J]. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 2014, 62: 312-339.
- [17] Li J., Mao H., Kawazoe N., et al. Insight into the Interactions between Nanoparticles and Cells[J]. *Biomaterials Science*, 2017, 5(2): 173-189.
- [18] Elsabahy M., Wooley K. L. Design of Polymeric Nanoparticles for Biomedical Delivery Applications[J]. *Chemical Society Reviews*, 2012, 41(7): 2545-2561.
- [19] Kinnear C., Moore T. L., Rodriguez L. L., et al. Form Follows Function: Nanoparticle Shape and its Implications for Nanomedicine[J]. *Chemical Reviews*, 2017, 117(17): 11476-11521.
- [20] Zhang C., Yan L., Wang X., et al. Progress, Challenges, and Future of Nanomedicine[J]. *Nano Today*, 2020, 35: 101008.
- [21] Ding J., Chen J., Gao L., et al. Engineered Nanomedicines with Enhanced Tumor Penetration[J]. *Nano Today*, 2019, 29: 100800.
- [22] Kong Y. L., Gupta M. K., Johnson B. N., et al. 3D Printed Bionic Nanodevices[J]. *Nano Today*, 2016, 11(3): 330-350.
- [23] Niu S., Li B., Mu Z., et al. Excellent Structure-Based Multifunction of Morpho Butterfly Wings: A Review[J]. *Journal of Bionic Engineering*, 2015, 12(2): 170-189.
- [24] Wu T., Yu S., Chen D., et al. Bionic Design, Materials and Performance of Bone Tissue Scaffolds[J]. *Materials*, 2017, 10(10): 1187.
- [25] Nasir A., Caetano A. G. A Phylogenomic Data-Driven Exploration of Viral Origins and Evolution[J]. *Science Advances*, 2015, 1(8): e1500527.

- [26] Song F., Shi N., Shan F., et al. Emerging 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) Pneumonia[J]. *Radiology*, 2020, 295(1): 210-217.
- [27] Lei J., Li J., Li X., et al. CT Imaging of the 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) Pneumonia[J]. *Radiology*, 2020, 295(1): 18-18.
- [28] Wang M., Cao R., Zhang L., et al. Remdesivir and Chloroquine Effectively Inhibit the Recently Emerged Novel Coronavirus (2019-nCoV) in Vitro[J]. *Cell Research*, 2020, 30(3): 269-271.
- [29] Niu Y., Yu M., Hartono S. B., et al. Nanoparticles Mimicking Viral Surface Topography for Enhanced Cellular Delivery[J]. *Advanced Materials*, 2013, 25(43): 6233-6237.
- [30] Lee C., Hwang H. S., Lee S., et al. Rabies Virus-Inspired Silica-Coated Gold Nanorods as a Photothermal Therapeutic Platform for Treating Brain Tumors[J]. *Advanced Materials*, 2017, 29(13): 1605563.
- [31] Zhang X., Xu X., Li Y., et al. Virion-like Membrane-breaking Nanoparticles with Tumor-Activated Cell-and-Tissue Dual-Penetration Conquer Impermeable Cancer[J]. *Advanced Materials*, 2018, 30(27): 1707240.
- [32] Wang W., Wang P., Tang X., et al. Facile Synthesis of Uniform Virus-Like Mesoporous Silica Nanoparticles for Enhanced Cellular Internalization[J]. *ACS Central Science*, 2017, 3(8): 839-846.
- [33] Gunsteren W. F., Daura X., Hansen N., et al. Validation of Molecular Simulation: an Overview of Issues[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2018, 57(4): 884-902.
- [34] Cao P., Short M. P., Yip S. Understanding the Mechanisms of Amorphous Creep Through Molecular Simulation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2017, 114(52): 13631-13636.
- [35] Ganti R., Liu Y., Frenkel D. Molecular Simulation of Thermo-Osmotic Slip[J]. *Physical Review Letters*, 2017, 119(3): 038002.
- [36] Ding H. M., Ma Y. Q. Theoretical and Computational Investigations of Nanoparticle–Biomembrane Interactions in cellular delivery[J]. *Small*, 2015, 11(9-10): 1055-1071.
- [37] Kabedev A., Hossain S., Hubert M., et al. Molecular Dynamics Simulations Reveal Membrane Interactions for Poorly Water-Soluble Drugs: Impact of Bile Solubilization and Drug Aggregation[J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2021, 110(1): 176-185.

- [38] Li Y., Yue T., Yang K., et al. Molecular Modeling of the Relationship between Nanoparticle Shape Anisotropy and Endocytosis Kinetics[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(19): 4965-4973.
- [39] Ding H. M., Ma Y. Q. Interactions between Janus Particles and Membranes[J]. *Nanoscale*, 2012, 4(4): 1116-1122.
- [40] Boholm M., Arvidsson R. A Definition Framework for the Terms Nanomaterial and Nanoparticle[J]. *NanoEthics*, 2016, 10(1): 25-40.
- [41] Maeda. H. Tumor-Selective Delivery of Macromolecular Drugs via the EPR Effect: Background and Future Prospects[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2010, 21(5): 797-802.
- [42] Azzopardi E. A., Ferguson E. L., Thomas D. W. The Enhanced Permeability Retention Effect: a New Paradigm for Drug Targeting in Infection[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2013, 68(2): 257-274.
- [43] Lee D. E., Koo H., Sun I. C., et al. Multifunctional Nanoparticles for Multimodal Imaging and Theragnosis[J]. *Chemical Society Reviews*, 2012, 41(7): 2656-2672.
- [44] Baetke S. C., Lammers T., Kiessling F. Applications of Nanoparticles for Diagnosis and Therapy of Cancer[J]. *The British Journal of Radiology*, 2015, 88(1054): 20150207.
- [45] Manzano M., Vallet R. M. Mesoporous Silica Nanoparticles for Drug Delivery[J]. *Advanced Functional Materials*, 2020, 30(2): 1902634.
- [46] Li T., Shi S., Goel S., et al. Recent Advancements in Mesoporous Silica Nanoparticles Towards Therapeutic Applications for Cancer[J]. *Acta Biomaterialia*, 2019, 89: 1-13.
- [47] Fornaguera C., Solans C. Methods for the in Vitro Characterization of Nanomedicines—Biological Component Interaction[J]. *Journal of Personalized Medicine*, 2017, 7(1): 2.
- [48] Elahi N., Kamali M., Baghersad M. H. Recent Biomedical Applications of Gold Nanoparticles: A Review[J]. *Talanta*, 2018, 184: 537-556.
- [49] Mohammed L., Gomaa H. G., Ragab D., et al. Magnetic Nanoparticles for Environmental and Biomedical Applications: A Review[J]. *Particuology*, 2017, 30: 1-14.
- [50] Mcnamara K., Tofail S. A. Nanoparticles in Biomedical Applications[J]. *Advances in Physics: X*, 2017, 2(1): 54-88.
- [51] Huang S. H, Juang R. S. Biochemical and Biomedical Applications of Multifunctional Magnetic Nanoparticles: a review[J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2011, 13(10): 4411-4430.

- [52] Dykman L., Khlebtsov N. Gold Nanoparticles in Biomedical Applications: Recent Advances and Perspectives[J]. *Chemical Society Reviews*, 2012, 41(6): 2256-2282.
- [53] Cardoso V. F., Francesko A., Ribeiro C., et al. Advances in Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2018, 7(5): 1700845.
- [54] Li Z., Barnes J. C., Bosoy A., et al. Mesoporous Silica Nanoparticles in Biomedical Applications[J]. *Chemical Society Reviews*, 2012, 41(7): 2590-2605.
- [55] Crozals G., Bonnet R., Farre C., et al. Nanoparticles with Multiple Properties for Biomedical Applications: A Strategic Guide[J]. *Nano Today*, 2016, 11(4): 435-463.
- [56] Dziadek M., Stodolak Z. E., Cholewa K. K. Biodegradable Ceramic-Polymer Composites for Biomedical Applications: A Review[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2017, 71: 1175-1191..
- [57] Daraee H., Eatemadi A., Abbasi E., et al. Application of Gold Nanoparticles in Biomedical and Drug Delivery[J]. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 2016, 44(1): 410-422.
- [58] Kumar A., Zhang X., Liang X. J. Gold Nanoparticles: Emerging Paradigm for Targeted Drug Delivery System[J]. *Biotechnology Advances*, 2013, 31(5): 593-606.
- [59] Nguyen D. T., Kim D. J., Kim K. S. Controlled Synthesis and Biomolecular Probe Application of Gold Nanoparticles[J]. *Micron*, 2011, 42(3): 207-227.
- [60] Cheng Y., Stakenborg T., Dorpe P., et al. Fluorescence Near Gold Nanoparticles for DNA Sensing[J]. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(4): 1307-1314.
- [61] Huang X., El-Sayed M. A. Gold Nanoparticles: Optical Properties and Implementations in Cancer Diagnosis and Photothermal Therapy[J]. *Journal of Advanced Research*, 2010, 1(1): 13-28.
- [62] Abadeer N. S., Murphy C. J. Recent Progress in Cancer Thermal Therapy Using Gold Nanoparticles[J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2016, 120(9): 4691-4716.
- [63] Singh S. P., Bhargava C., Dubey V., et al. Silver Nanoparticles: Biomedical Applications, Toxicity, and Safety Issues[J]. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2017, 4(2): 1-10.
- [64] Burdusel A. C., Gherasim O., Grumezescu A. M., et al. Biomedical Applications of Silver Nanoparticles: An Up-to-Date Overview[J]. *Nanomaterials*, 2018, 8(9): 681.

- [65] García-Barrasa J., López-De-Luzuriaga J. M., Monge M.. Silver Nanoparticles: Synthesis Through Chemical Methods in Solution and Biomedical Applications[J]. Central European Journal of Chemistry, 2011, 9(1): 7-19.
- [66] Tran N., Webster T. J. Magnetic Nanoparticles: Biomedical Applications and Challenges[J]. Journal of Materials Chemistry, 2010, 20(40): 8760-8767.
- [67] Hao R., Xing R., Xu Z., et al. Synthesis, Functionalization, and Biomedical Applications of Multifunctional Magnetic Nanoparticles[J]. Advanced Materials, 2010, 22(25): 2729-2742.
- [68] Nikiforov V. N., Filinova E. Y. Biomedical Applications of Magnetic Nanoparticles[J]. Magnetic Nanoparticles, 2009: 393-455..
- [69] Lu S. Z., Li M. C. Quantum Dot-Based Nanocomposites for Biomedical Applications[J]. Current Medicinal Chemistry, 2011, 18(23): 3516-3528.
- [70] He X., Ma N. An Overview of Recent Advances in Quantum Dots for Biomedical Applications[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2014, 124: 118-131.
- [71] Abbasi E., Kafshdooz T., Bakhtiary M., et al. Biomedical and Biological Applications of Quantum Dots[J]. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, 2016, 44(3): 885-891.
- [72] Jafari S., Derakhshankhah H., Alaei L., et al. Mesoporous Silica Nanoparticles for Therapeutic/Diagnostic Applications[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019, 109: 1100-1111.
- [73] Vivero-Escoto J. L., Huxford-Phillips R. C., Lin W. Silica-Based Nanoprobes for Biomedical Imaging and Theranostic Applications[J]. Chemical Society Reviews, 2012, 41(7): 2673-2685.
- [74] Tarn D., Ashley C. E., Xue M., et al. Mesoporous Silica Nanoparticle Nanocarriers: Biofunctionality and Biocompatibility[J]. Accounts of Chemical Research, 2013, 46(3): 792-801.
- [75] Gong H., Peng R., Liu Z. Carbon Nanotubes for Biomedical Imaging: the Recent Advances[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2013, 65(15): 1951-1963.
- [76] Miao P., Han K., Tang Y., et al. Recent Advances in Carbon Nanodots: Synthesis, Properties and Biomedical Applications[J]. Nanoscale, 2015, 7(5): 1586-1595.
- [77] Kruss S., Hilmer A. J., Zhang J., et al. Carbon Nanotubes as Optical Biomedical Sensors[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2013, 65(15): 1933-1950.

- [78] Kim S., Lim C. K., Na J., et al. Conjugated Polymer Nanoparticles for Biomedical in Vivo Imaging[J]. *Chemical Communications*, 2010, 46(10): 1617-1619.
- [79] Tang Z., He C., Tian H., et al. Polymeric Nanostructured Materials for Biomedical Applications[J]. *Progress in Polymer Science*, 2016, 60: 86-128.
- [80] Patel H., Patel P. Dendrimer Applications—A Review[J]. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2013, 4(2): 454-463.
- [81] Svenson S., Tomalia D. A. Dendrimers in Biomedical Applications—Reflections on the Field[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012, 64: 102-115.
- [82] Panahi Y., Farshbaf M., Mohammadhosseini M., et al. Recent Advances on Liposomal Nanoparticles: Synthesis, Characterization and Biomedical Applications[J]. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 2017, 45(4): 788-799.
- [83] Grijalvo S., Mayr J., Eritja R., et al. Biodegradable Liposome-Encapsulated Hydrogels for Biomedical Applications: A Marriage of Convenience[J]. *Biomaterials Science*, 2016, 4(4): 555-574.
- [84] Sercombe L., Veerati T., Moheimani F., et al. Advances and Challenges of Liposome Assisted Drug Delivery[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2015, 6: 286.
- [85] Rideau E., Dimova R., Schwille P., et al. Liposomes and Polymersomes: a Comparative Review Towards Cell Mimicking[J]. *Chemical Society Reviews*, 2018, 47(23): 8572-8610.
- [86] Bozzuto G., Molinari A. Liposomes as Nanomedical Devices[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2015, 10: 975.
- [87] Cobo I., Li M., Sumerlin B. S., et al. Smart Hybrid Materials by Conjugation of Responsive Polymers to Biomacromolecules[J]. *Nature Materials*, 2015, 14(2): 143-159.
- [88] Zhao F., Yao D., Guo R., et al. Composites of Polymer Hydrogels and Nanoparticulate Systems for Biomedical and Pharmaceutical Applications[J]. *Nanomaterials*, 2015, 5(4): 2054-2130.
- [89] Peynshaert K., Manshian B. B., Joris F., et al. Exploiting Intrinsic Nanoparticle Toxicity: the Pros and Cons of Nanoparticle-Induced Autophagy in Biomedical Research[J]. *Chemical Reviews*, 2014, 114(15): 7581-7609.
- [90] Chapman S., Dobrovolskaia M., Farahani K., et al. Nanoparticles for Cancer Imaging: The Good, the Bad, and the Promise[J]. *Nano Today*, 2013, 8(5): 454-460.

- [91] Krug H. F. Nanosafety Research—Are We on the Right Track?[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2014, 53(46): 12304-12319.
- [92] Khlebtsov N., Dykman L. Biodistribution and Toxicity of Engineered Gold Nanoparticles: a Review of in Vitro and in Vivo Studies[J]. *Chemical Society Reviews*, 2011, 40(3): 1647-1671.
- [93] Liu G., Gao J., Ai H., et al. Applications and Potential Toxicity of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles[J]. *Small*, 2013, 9(9-10): 1533-1545.
- [94] Ou L., Song B., Liang H., et al. Toxicity of Graphene-Family Nanoparticles: a General Review of the Origins and Mechanisms[J]. *Particle and Fibre Toxicology*, 2016, 13(1): 1-24.
- [95] Bahadar H., Maqbool F., Niaz K., et al. Toxicity of Nanoparticles and an Overview of Current Experimental Models[J]. *Iranian Biomedical Journal*, 2016, 20(1): 1.
- [96] Maeda H., Nakamura H., Fang J. The EPR Effect for Macromolecular Drug Delivery to Solid Tumors: Improvement of Tumor Uptake, Lowering of Systemic Toxicity, and Distinct Tumor Imaging in Vivo[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2013, 65(1): 71-79.
- [97] Sharma A., Madhunapantula S. V., Robertson G. P. Toxicological Considerations When Creating Nanoparticle-Based Drugs and Drug Delivery Systems[J]. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 2012, 8(1): 47-69.
- [98] Muhamad N., Plengsuriyakarn T., Na-Bangchang K. Application of Active Targeting Nanoparticle Delivery System for Chemotherapeutic Drugs and Traditional/Herbal Medicines in Cancer Therapy: a Systematic Review[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2018, 13: 3921.
- [99] Li J., Liu J., Chen C.. Remote Control and Modulation of Cellular Events by Plasmonic Gold Nanoparticles: Implications and Opportunities for Biomedical Applications[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(3): 2403-2409.
- [100] Zarschler K., Rocks L., Licciardello N., et al. Ultrasmall Inorganic Nanoparticles: State-of-the-Art and Perspectives for Biomedical Applications[J]. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2016, 12(6): 1663-1701.
- [101] Raliya R., Singh C. T, Haddad K., et al. Perspective on Nanoparticle Technology for Biomedical Use[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2016, 22(17): 2481-2490.
- [102] Zhao P., Xu Q., Tao J., et al. Near Infrared Quantum Dots in Biomedical Applications:

- Current Status and Future Perspective[J]. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2018, 10(3): e1483.
- [103] Zare Y., Shabani I. *Polymer/Metal Nanocomposites for Biomedical Applications*[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2016, 60: 195-203.
- [104] Chen Z., Zhao P., Luo Z., et al. Cancer Cell Membrane–Biomimetic Nanoparticles for Homologous-Targeting Dual-Modal Imaging and Photothermal Therapy[J]. *ACS Nano*, 2016, 10(11): 10049-10057.
- [105] Luk B. T., Zhang L. Cell Membrane-Camouflaged Nanoparticles for Drug Delivery[J]. *Journal of Controlled Release*, 2015, 220: 600-607.
- [106] Palchetti S., Digiacomo L., Pozzi D., et al. Nanoparticles-Cell Association Predicted by Protein Corona Fingerprints[J]. *Nanoscale*, 2016, 8(25): 12755-12763.
- [107] Tang H., Ye H., Zhang H., et al. Wrapping of Nanoparticles by the Cell Membrane: the Role of Interactions between the Nanoparticles[J]. *Soft Matter*, 2015, 11(44): 8674-8683.
- [108] Messerschmidt C., Hofmann D., Kroeger A., et al. On the Pathway of Cellular Uptake: New Insight into the Interaction between the Cell Membrane and Very Small Nanoparticles[J]. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 2016, 7(1): 1296-1311.
- [109] Nel A. E., Mädler L., Velegol D., et al. Understanding Biophysicochemical Interactions at the Nano–Bio Interface[J]. *Nature Materials*, 2009, 8(7): 543-557.
- [110] Huang G., Li F., Zhao X., et al. Functional and Biomimetic Materials for Engineering of the Three-Dimensional Cell Microenvironment[J]. *Chemical Reviews*, 2017, 117(20): 12764-12850.
- [111] Nakayama K. H., Shayan M., Huang N. F. Engineering Biomimetic Materials for Skeletal Muscle Repair and Regeneration[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2019, 8(5): 1801168.
- [112] Shen Y. X., Saboe P. O., Sines I. T., et al. Biomimetic Membranes: A Review[J]. *Journal of Membrane Science*, 2014, 454: 359-381.
- [113] Jian Y., Handschuh W. S., Zhang J., et al. Biomimetic Anti-Freezing Polymeric Hydrogels: Keeping Soft-Wet Materials Active in Cold Environments[J]. *Materials Horizons*, 2021, 8(2): 351-369.
- [114] Perepelkin N. V., Borodich F. M., Kovalev A. E., et al. Depth-Sensing Indentation as a Micro- and Nanomechanical Approach to Characterisation of Mechanical Properties of Soft,

- Biological, and Biomimetic Materials[J]. *Nanomaterials*, 2020, 10(1): 15.
- [115] Han X., Wu J., Zhang X., et al. Special Issue on Advanced Corrosion-Resistance Materials and Emerging Applications. The Progress on Antifouling Organic Coating: from Biocide to Biomimetic Surface[J]. *Journal of Materials Science & Technology*, 2021, 61: 46-62.
- [116] Yuan H., Zhan Y., Rowan A. E., et al. Biomimetic Networks with Enhanced Photodynamic Antimicrobial Activity from Conjugated Polythiophene/Polyisocyanide Hybrid Hydrogels[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2020, 59(7): 2720-2724.
- [117] Zhao Y., Yang X., Yan L., et al. Biomimetic Nanoparticle-Engineered Superwettable Membranes for Efficient Oil/Water Separation[J]. *Journal of Membrane Science*, 2021, 618: 118525.
- [118] Wang D., Peng H., Yu B., et al. Biomimetic Structural Cellulose Nanofiber Aerogels with Exceptional Mechanical, Flame-Retardant and Thermal-Insulating Properties[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 389: 124449.
- [119] Shafiq Z., Cui J., Pastor-Pérez L., et al. Bioinspired Underwater Bonding and Debonding on Demand[J]. *Angewandte Chemie*, 2012, 124(18): 4408-4411.
- [120] Kirschner C. M., Brennan A. B. Bio-Inspired Antifouling Strategies[J]. *Annual Review of Materials Research*, 2012, 42: 211-229.
- [121] Damodaran V. B., Murthy N. S. Bio-Inspired Strategies for Designing Antifouling Biomaterials[J]. *Biomaterials Research*, 2016, 20(1): 1-11.
- [122] Du T., Ma S., Pei X., et al. Bio-Inspired Design and Fabrication of Micro/Nano-Brush Dual Structural Surfaces for Switchable Oil Adhesion and Antifouling[J]. *Small*, 2017, 13(4): 1602020.
- [123] Park R. J., Meldrum F. C. Synthesis of Single Crystals of Calcite with Complex Morphologies[J]. *Advanced Materials*, 2002, 14(16): 1167-1169.
- [124] Sugawara A., Ishii T., Kato T. Self-Organized Calcium Carbonate with Regular Surface-Relief Structures[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2003, 42(43): 5299-5303.
- [125] Aizenberg J., Muller D. A., Grazul J. L., et al. Direct Fabrication of Large Micropatterned Single Crystals[J]. *Science*, 2003, 299(5610): 1205-1208.
- [126] Li H., Wang X., Song Y., et al. Super-"Amphiphobic" Aligned Carbon Nanotube Films[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2001, 40(9): 1743-1746.

- [127] Fürstner R., Barthlott W., Neinhuis C., et al. Wetting and Self-Cleaning Properties of Artificial Superhydrophobic Surfaces[J]. *Langmuir*, 2005, 21(3): 956-961.
- [128] Woodward I., Schofield W., Roucoules V., et al. Super-Hydrophobic Surfaces Produced by Plasma Fluorination of Polybutadiene Films[J]. *Langmuir*, 2003, 19(8): 3432-3438.
- [129] Lau K. K., Bico J., Teo K. B., et al. Superhydrophobic Carbon Nanotube Forests[J]. *Nano Letters*, 2003, 3(12): 1701-1705.
- [130] Greber U. F., Way M. A Superhighway to Virus Infection[J]. *Cell*, 2006, 124(4): 741-754.
- [131] Yadav A. R., Mohite S. K. A Review on Zika Virus Infection[J]. *Research Journal of Pharmaceutical Dosage Forms and Technology*, 2020, 12(4): 295-297.
- [132] Das S. K. The Pathophysiology, Diagnosis and Treatment of Corona Virus Disease 2019 (COVID-19)[J]. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2020, 35: 385-396..
- [133] Harris A., Cardone G., Winkler D. C., et al. Influenza Virus Pleiomorphy Characterized by Cryoelectron Tomography[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, 103(50): 19123-19127.
- [134] Belouzard S., Millet J. K., Licitra B. N., et al. Mechanisms of Coronavirus Cell Entry Mediated by the Viral Spike Protein[J]. *Viruses*, 2012, 4(6): 1011-1033.
- [135] Li F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins[J]. *Annual Review of Virology*, 2016, 3: 237-261.
- [136] Jaimes J. A., Whittaker G. R. Feline Coronavirus: Insights into Viral Pathogenesis Based on the Spike Protein Structure and Function[J]. *Virology*, 2018, 517: 108-121.
- [137] Wannasarit S., Wang S., Figueiredo P., et al. A Virus-Mimicking pH-Responsive Acetalated Dextran-Based Membrane-Active Polymeric Nanoparticle for Intracellular Delivery of Antitumor Therapeutics[J]. *Advanced Functional Materials*, 2019, 29(51): 1905352.
- [138] Liu S., Yang J., Jia H., et al. Virus Spike and Membrane-Lytic Mimicking Nanoparticles for High Cell Binding and Superior Endosomal Escape[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2018, 10(28): 23630-23637.
- [139] Zhang W., Zhai Z., Huang S., et al. Morphological and Constituent Viral-Mimicking Self-Assembled Nanoparticles Promote Cellular Uptake and Improve Cancer Therapeutic Efficiency in Vivo[J]. *Giant*, 2020, 3: 100026.
- [140] Ni R., Chau Y. Structural Mimics of Viruses Through Peptide/DNA Co-Assembly[J]. *Journal*

- of the American Chemical Society, 2014, 136(52): 17902-17905.
- [141] Zhang P., Chen Y., Zeng Y., et al. Virus-Mimetic Nanovesicles as a Versatile Antigen-Delivery System[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2015, 112(45): E6129-E6138.
- [142] Sun X., Li M., Yang Y., et al. Carrier-Free Nanodrug-Based Virus-Surface-Mimicking Nanosystems for Efficient Drug/Gene Co-Delivery[J]. Biomaterials Science, 2018, 6(12): 3300-3308.
- [143] Xu X., Yuan H., Chang J., et al. Cooperative Hierarchical Self-Assembly of Peptide Dendrimers and Linear Polypeptides into Nanoarchitectures Mimicking Viral Capsids[J]. Angewandte Chemie, 2012, 124(13): 3184-3187.
- [144] Xu X., Jian Y., Li Y., et al. Bio-Inspired Supramolecular Hybrid Dendrimers Self-Assembled from Low-Generation Peptide Dendrons for Highly Efficient Gene Delivery and Biological Tracking[J]. ACS Nano, 2014, 8(9): 9255-9264.
- [145] Zhang Z., Zhang X., Xu X., et al. Virus-Inspired Mimics Based on Dendritic Lipopeptides for Efficient Tumor-Specific Infection and Systemic Drug Delivery[J]. Advanced Functional Materials, 2015, 25(33): 5250-5260.
- [146] Liu X., Xiang J., Zhu D., et al. Fusogenic Reactive Oxygen Species Triggered Charge-Reversal Vector for Effective Gene Delivery[J]. Advanced Materials, 2016, 28(9): 1743-1752.
- [147] Bitar A., Ahmad N. M., Fessi H., et al. Silica-Based Nanoparticles for Biomedical Applications[J]. Drug Discovery Today, 2012, 17(19-20): 1147-1154.
- [148] Song H., Ahmad N. Y., Yu M., et al. Silica Nanopollens Enhance Adhesion for Long-Term Bacterial Inhibition[J]. Journal of the American Chemical Society, 2016, 138(20): 6455-6462.
- [149] Fu J., Gu Z., Liu Y., et al. Bottom-Up Self-Assembly of Heterotrimeric Nanoparticles and Their Secondary Janus Generations[J]. Chemical Science, 2019, 10(44): 10388-10394.
- [150] Wang W., Wang P., Chen L., et al. Engine-Trailer-Structured Nanotrucks for Efficient Nano-Bio Interactions and Bioimaging-Guided Drug Delivery[J]. Chem, 2020, 6(5): 1097-1112.
- [151] Taylor P. K. M., Della R. J., Huxford R. C., et al. Hybrid Nanomaterials for Biomedical Applications[J]. Chemical Communications, 2010, 46(32): 5832-5849.
- [152] Gaharwar A. K., Peppas N. A., Khademhosseini A. Nanocomposite Hydrogels for Biomedical Applications[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2014, 111(3): 441-453.

- [153] Park J. H., Maltzahn V. G., Ruoslahti E., et al. Micellar Hybrid Nanoparticles for Simultaneous Magnetofluorescent Imaging and Drug Delivery[J]. *Angewandte Chemie*, 2008, 120(38): 7394-7398.
- [154] Fathi M., Zangabad P. S., Barar J., et al. Thermo-Sensitive Chitosan Copolymer-Gold Hybrid Nanoparticles as a Nanocarrier for Delivery of Erlotinib[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 106: 266-276.
- [155] Jeong H. H., Choi E., Ellis E., et al. Recent Advances in Gold Nanoparticles for Biomedical Applications: from Hybrid Structures to Multi-Functionality[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2019, 7(22): 3480-3496.
- [156] Jia H. Z., Chen W. H., Wang X., et al. Virus-Surface-Mimicking Surface Clustering of AuNPs onto DNA-Entrapped Polymeric Nanoparticle for Enhanced Cellular Internalization and Nanocluster-Induced NIR Photothermal Therapy[J]. *Advanced Science*, 2015, 2(12): 1500108.
- [157] Chen X., Zhang Q., Li J., et al. Rattle-Structured Rough Nanocapsules with in-situ Formed Gold Nanorod Cores for Complementary Gene/Chemo/Photothermal Therapy[J]. *ACS Nano*, 2018, 12(6): 5646-5656.
- [158] Blanco E., Shen H., Ferrari M. Principles of Nanoparticle Design for Overcoming Biological Barriers to Drug Delivery[J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33(9): 941.
- [159] Thomas O. S., Weber W. Overcoming Physiological Barriers to Nanoparticle Delivery—Are We There Yet?[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2019, 7: 415.
- [160] Cao J., Huang D., Peppas N. A. Advanced Engineered Nanoparticulate Platforms to Address Key Biological Barriers for Delivering Chemotherapeutic Agents to Target Sites[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2020, 167: 170-188.
- [161] Lazarovits J., Chen Y. Y., Sykes E. A., et al. Nanoparticle–Blood Interactions: the Implications on Solid Tumour Targeting[J]. *Chemical Communications*, 2015, 51(14): 2756-2767.
- [162] Lundqvist M., Augustsson C., Lilja M., et al. The Nanoparticle Protein Corona Formed in Human Blood or Human Blood Fractions[J]. *PloS One*, 2017, 12(4): e0175871.
- [163] Chen M., Zeng G., Xu P., et al. How do Enzymes ‘Meet’ Nanoparticles and Nanomaterials?[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2017, 42(11): 914-930.

- [164] Engin A. B., Nikitovic D., Neagu M., et al. Mechanistic Understanding of Nanoparticles' Interactions with Extracellular Matrix: the Cell and Immune System[J]. *Particle and Fibre Toxicology*, 2017, 14(1): 1-16.
- [165] O'brien J. S. Cell Membranes—Composition, Structure, Function[J]. *Journal of Theoretical Biology*, 1967, 15(3): 307-324.
- [166] He B., Sui X., Yu B., et al. Recent Advances in Drug Delivery Systems for Enhancing Drug Penetration into Tumors[J]. *Drug Delivery*, 2020, 27(1): 1474-1490.
- [167] Nicolson G. L. The Fluid—Mosaic Model of Membrane Structure: Still Relevant to Understanding the Structure, Function and Dynamics of Biological Membranes After More Than 40 Years[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2014, 1838(6): 1451-1466.
- [168] Nagle J. F., Nagle T. S. Structure of Lipid Bilayers[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Biomembranes*, 2000, 1469(3): 159-195.
- [169] Contini C., Schneemilch M., Gaisford S., et al. Nanoparticle–Membrane Interactions[J]. *Journal of Experimental Nanoscience*, 2018, 13(1): 62-81.
- [170] Lin J., Miao L., Zhong G., et al. Understanding the Synergistic Effect of Physicochemical Properties of Nanoparticles and Their Cellular Entry Pathways[J]. *Communications Biology*, 2020, 3(1): 1-10.
- [171] Rascol E., Devoisselle J. M., Chopineau J. The Relevance of Membrane Models to Understand Nanoparticles–Cell Membrane Interactions[J]. *Nanoscale*, 2016, 8(9): 4780-4798.
- [172] Ding H. M., Ma Y. Q. Role of Physicochemical Properties of Coating Ligands in Receptor-Mediated Endocytosis of Nanoparticles[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(23): 5798-5802.
- [173] Ekkabut W. J., Baoukina S., Triampo W., et al. Computer Simulation Study of Fullerene Translocation Through Lipid Membranes[J]. *Nature nanotechnology*, 2008, 3(6): 363.
- [174] Donahue N. D., Acar H., Wilhelm S. Concepts of Nanoparticle Cellular Uptake, Intracellular Trafficking, and Kinetics in Nanomedicine[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2019, 143: 68-96.
- [175] Lane L. A. Physics in Nanomedicine: Phenomena Governing the in Vivo Performance of Nanoparticles[J]. *Applied Physics Reviews*, 2020, 7(1): 011316.

- [176] Gunsteren W. F., Dolenc J., Mark A. E. Molecular Simulation as an Aid to Experimentalists[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2008, 18(2): 149-153.
- [177] Düren T., Bae Y. S., Snurr R. Q. Using Molecular Simulation to Characterise Metal–Organic Frameworks for Adsorption Applications[J]. *Chemical Society Reviews*, 2009, 38(5): 1237-1247.
- [178] Scheraga H. A., Khalili M., Liwo A. Protein-Folding Dynamics: Overview of Molecular Simulation Techniques[J]. *Annual Review of Physical Chemistry*, 2007, 58: 57-83.
- [179] Smith W. R., Nezbeda I., Kolafa J., et al. Recent Progress in the Molecular Simulation of Thermodynamic Properties of Aqueous Electrolyte Solutions[J]. *Fluid Phase Equilibria*, 2018, 466: 19-30.
- [180] Dai X., Bai J., Yuan P., et al. The Application of Molecular Simulation in Ash Chemistry of Coal[J]. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2020, 28(11): 2723-2732.
- [181] Xia Y., Zhang R., Cao Y., et al. Role of Molecular Simulation in Understanding the Mechanism of Low-Rank Coal Flotation: A Review[J]. *Fuel*, 2020, 262: 116535.
- [182] Nunes A. A., Kokh D. B., Wade R. C. Recent Progress in Molecular Simulation Methods for Drug Binding Kinetics[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2020, 64: 126-133.
- [183] Vácha R., Veracoechea M. F. J., Frenkel D. Intracellular Release of Endocytosed Nanoparticles Upon a Change of Ligand–Receptor Interaction[J]. *ACS Nano*, 2012, 6(12): 10598-10605.
- [184] Gupta R., Rai B. Molecular Dynamics Simulation Study of Translocation of Fullerene C<sub>60</sub> Through Skin Bilayer: Effect of Concentration on Barrier Properties[J]. *Nanoscale*, 2017, 9(12): 4114-4127.
- [185] Nakamura H., Sezawa K., Hata M., et al. Direct Translocation of Nanoparticles Across a Model Cell Membrane by Nanoparticle-Induced Local Enhancement of Membrane Potential[J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2019, 21(35): 18830-18838.
- [186] Vácha R., Veracoechea M. F. J., Frenkel D. Receptor-Mediated Endocytosis of Nanoparticles of Various Shapes[J]. *Nano letters*, 2011, 11(12): 5391-5395.
- [187] Zhu W., Bussche V. D. A., Yi X., et al. Nanomechanical Mechanism for Lipid Bilayer Damage Induced by Carbon Nanotubes Confined in Intracellular Vesicles[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016, 113(44): 12374-12379.

- [188] Ge C., Du J., Zhao L., et al. Binding of Blood Proteins to Carbon Nanotubes Reduces Cytotoxicity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011, 108(41): 16968-16973.
- [189] Hoogerbrugge P., Koelman J. Simulating Microscopic Hydrodynamic Phenomena with Dissipative Particle Dynamics[J]. *Europhysics Letters*, 1992, 19(3): 155.
- [190] Groot R. D., Warren P. B. Dissipative Particle Dynamics: Bridging the Gap between Atomistic and Mesoscopic Simulation[J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1997, 107(11): 4423-4435.
- [191] Lu Z. Y., Wang Y. L. An Introduction to Dissipative Particle Dynamics[J]. *Biomolecular Simulations*, 2013: 617-633.
- [192] Serrano M., Fabritiis D. G., Español P., et al. A Stochastic Trotter Integration Scheme for Dissipative Particle Dynamics[J]. *Mathematics and Computers in Simulation*, 2006, 72(26): 190-194.
- [193] Groot R. D. Electrostatic Interactions in Dissipative Particle Dynamics—Simulation of Polyelectrolytes and Anionic Surfactants[J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2003, 118(24): 11265-11277.
- [194] Maiti A., Mcgrother S. Bead–Bead Interaction Parameters in Dissipative Particle Dynamics: Relation to Bead-Size, Solubility Parameter, and Surface Tension[J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2004, 120(3): 1594-1601.
- [195] Chu X., Yu X., Greenstein J., et al. Flow-Induced Shape Reconfiguration, Phase Separation, and Rupture of Bio-Inspired Vesicles[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(7): 6661-6671.
- [196] Liu Z., Guo R., Xu G., et al. Entropy-Mediated Mechanical Response of the Interfacial Nanoparticle Patterning[J]. *Nano Letters*, 2014, 14(12): 6910-6916.
- [197] Wang J., Fang T., Li J., et al. Precise Mesoscopic Model Providing Insights into Polymerization-Induced Self-Assembly[J]. *Langmuir*, 2020, 36(27): 8009-8016.
- [198] Salib I., Yong X., Crabb E. J., et al. Harnessing Fluid-Driven Vesicles to Pick Up and Drop off Janus Particles[J]. *ACS Nano*, 2013, 7(2): 1224-1238.
- [199] Feng Y. H., Zhang X. P., Zhao Z. Q., et al. Dissipative Particle Dynamics Aided Design of Drug Delivery Systems: a Review[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2020, 17(6): 1778-1799.
- [200] Guo R., Mao J., Yan L. T. Unique Dynamical Approach of Fully Wrapping Dendrimer-Like

- Soft Nanoparticles by Lipid Bilayer Membrane[J]. *ACS Nano*, 2013, 7(12): 10646-10653.
- [201] Liang J., Chen P., Dong B., et al. Ligand–Receptor Interaction-Mediated Transmembrane Transport of Dendrimer-Like Soft Nanoparticles: Mechanisms and Complicated Diffusive Dynamics[J]. *Biomacromolecules*, 2016, 17(5): 1834-1844.
- [202] Yang K., Ma Y. Q. Computer Simulation of the Translocation of Nanoparticles with Different Shapes Across a Lipid Bilayer[J]. *Nature Nanotechnology*, 2010, 5(8): 579-583.
- [203] Ding H. M., Tian W. D., Ma Y. Q. Designing Nanoparticle Translocation Through Membranes by Computer Simulations[J]. *ACS Nano*, 2012, 6(2): 1230-1238.
- [204] Ding H. M., Ma Y. Q. Design Strategy of Surface Decoration for Efficient Delivery of Nanoparticles by Computer Simulation[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 1-10.
- [205] Li Y., Li X., Li Z., et al. Surface-Structure-Regulated Penetration of Nanoparticles Across a Cell Membrane[J]. *Nanoscale*, 2012, 4(12): 3768-3775.
- [206] Li Y., Kröger M., Liu W. K. Shape Effect in Cellular Uptake of PEGylated Nanoparticles: Comparison between Sphere, Rod, Cube and Disk[J]. *Nanoscale*, 2015, 7(40): 16631-16646.
- [207] Gupta R., Rai B. Penetration of Gold Nanoparticles Through Human Skin: Unraveling its Mechanisms at the Molecular Scale[J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2016, 120(29): 7133-7142.
- [208] Barnoud J., Rossi G., Monticelli L. Lipid Membranes as Solvents for Carbon Nanoparticles[J]. *Physical Review Letters*, 2014, 112(6): 068102.
- [209] Shimizu K., Nakamura H., Watano S. MD Simulation Study of Direct Permeation of a Nanoparticle Across the Cell Membrane Under an External Electric Field[J]. *Nanoscale*, 2016, 8(23): 11897-11906.
- [210] Lehn V. R. C., Ricci M., Silva P. H., et al. Lipid Tail Protrusions Mediate the Insertion of Nanoparticles into Model Cell Membranes[J]. *Nature Communications*, 2014, 5(1): 1-11.
- [211] Deserno M. Elastic Deformation of a Fluid Membrane Upon Colloid Binding[J]. *Physical Review E*, 2004, 69(3): 031903.
- [212] Deserno M., Bickel T. Wrapping of a Spherical Colloid by a Fluid Membrane[J]. *Europhysics Letters*, 2003, 62(5): 767.
- [213] Verma A., Stellacci F. Effect of Surface Properties on Nanoparticle–Cell Interactions[J]. *Small*, 2010, 6(1): 12-21.

- [214] Hui Y., Yi X., Wibowo D., et al. Nanoparticle Elasticity Regulates Phagocytosis and Cancer Cell Uptake[J]. *Science Advances*, 2020, 6(16): eaaz4316.
- [215] Song H., Yu M., Lu Y., et al. Plasmid DNA Delivery: Nanotopography Matters[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2017, 139(50): 18247-18254.
- [216] Falck E., Róg T., Karttunen M., et al. Lateral Diffusion in Lipid Membranes Through Collective Flows[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2008, 130(1): 44-45.
- [217] Urban A. S., Fedoruk M., Horton M. R., et al. Controlled Nanometric Phase Transitions of Phospholipid Membranes by Plasmonic Heating of Single Gold Nanoparticles[J]. *Nano Letters*, 2009, 9(8): 2903-2908.
- [218] Yu Y., Gao Y., Yu Y. “Waltz” of Cell Membrane-Coated Nanoparticles on Lipid Bilayers: Tracking Single Particle Rotation in Ligand–Receptor Binding[J]. *ACS Nano*, 2018, 12(12): 11871-11880.
- [219] Sanchez L., Patton P., Anthony S. M., et al. Tracking Single-Particle Rotation During Macrophage Uptake[J]. *Soft Matter*, 2015, 11(26): 5346-5352.
- [220] Gao Y., Yu Y. How Half-Coated Janus Particles Enter Cells[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2013, 135(51): 19091-19094.
- [221] Gao Y., Yu Y. Macrophage Uptake of Janus Particles Depends upon Janus Balance[J]. *Langmuir*, 2015, 31(9): 2833-2838.
- [222] Luo Z., Li Y., Wang B., et al. pH-Sensitive Vesicles Formed by Amphiphilic Grafted Copolymers with Tunable Membrane Permeability for Drug Loading/Release: A Multiscale Simulation Study[J]. *Macromolecules*, 2016, 49(16): 6084-6094.
- [223] Zhang Y., Li J., Yan Y. Molecular Dynamics Study of the Migration of Bisphenol A from Polycarbonate into Food Simulants[J]. *Chemical Physics Letters*, 2020, 741: 137125.
- [224] Yi X., Shi X., Gao H. Cellular Uptake of Elastic Nanoparticles[J]. *Physical Review Letters*, 2011, 107(9): 098101.
- [225] Zhang L., Feng Q., Wang J., et al. Microfluidic Synthesis of Hybrid Nanoparticles with Controlled Lipid Layers: Understanding Flexibility-Regulated Cell–Nanoparticle Interaction[J]. *ACS Nano*, 2015, 9(10): 9912-9921.
- [226] Shen Z., Ye H., Li Y. Understanding Receptor-Mediated Endocytosis of Elastic Nanoparticles Through Coarse Grained Molecular Dynamic Simulation[J]. *Physical Chemistry Chemical*

Physics, 2018, 20(24): 16372-16385.

[227] Shen Z., Ye H., Yi X., et al. Membrane Wrapping Efficiency of Elastic Nanoparticles During Endocytosis: Size and Shape Matter[J]. ACS Nano, 2018, 13(1): 215-228.

[228] Liu N., Becton M., Zhang L., et al. Mechanism of Coupling Nanoparticle Stiffness with Shape for Endocytosis: From Rodlike Penetration to Wormlike Wriggling[J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2020, 124(49): 11145-11156.

## 攻读博士学位期间取得的研究成果

## 发表的学术论文

- [1] **Jiawei Li**#, Junfeng Wang#, Qiang Yao, Youguo Yan, Zhen Li,\* Jun Zhang\*. Manipulating Hybrid Nanostructures by the Cooperative Assembly of Amphiphilic Oligomers and Triblock Janus Nanoparticles[J]. The Journal of Physical Chemistry Letters. 2020, 11, 3369–3375.
- [2] **Jiawei Li**, Junfeng Wang, Qiang Yao, Tao Li, Youguo Yan, Zhen Li,\* Jun Zhang\*. Why the Synthetic Virus-Like Nanoparticles can Achieve Higher Cellular Uptake Efficiency?[J]. Nanoscale. 2020, 12, 14911-14918.
- [3] **Jiawei Li**#, Junfeng Wang#, Qiang Yao, Kai Yu, Youguo Yan\*, Jun Zhang\*. Cooperative Assembly of Janus Particles and Amphiphilic Oligomers: The Role of Janus Balance[J]. Nanoscale. 2019, 11, 7221–7228.
- [4] **Jiawei Li**, Junfeng Wang, Qiang Yao, Yan Zhang, Youguo Yan\*, Jun Zhang\*. The Biphasic Effect of ABA Triblock Copolymer on Self-assembly of Surfactant: Insight from Dissipative Particle Dynamics[J]. Molecular Systems Design & Engineering. 2019, 4, 921-928.
- [5] **Jiawei Li**, Junfeng Wang, Youguo Yan, Zhen Li\*, Jun Zhang\*. Manipulating the Interactions between Lipid Bilayer and Triblock Janus Nanoparticle: Insight from Dissipative Particle Dynamics[J]. Molecular Systems Design & Engineering. 2021, 6, 156-162.
- [6] **Jiawei Li**, Junfeng Wang, Youguo Yan, Jun Zhang, Zhen Li\*. Understanding the Role of Hydrophobicity Arrangement in Cellular Uptake of Synthetic Virus-like Nanoparticles[J]. Chemical Physics Letters. 2021, 766, 138336.
- [7] Yingnan Zhang#, **Jiawei Li**#, Zhipeng Yin, Jun Zhang, Wenyue Guo\*, Muhan Wang\*. Quantum Chemical Study of the Carbon Dioxide-Philicity of Surfactants: Effects of Tail Functionalization[J]. Langmuir. 2020, 36, 50, 15352–15361.
- [8] Bing Liu\*, **Jiawei Li**, Chao Qi, Xiaoqi Li, Tingyi Mai, Jun Zhang\*. Mechanism of Asphaltene Aggregation Induced by Supercritical CO<sub>2</sub>: Insights from Molecular Dynamics

- Simulation[J]. RSC Advances. 2017, 7, 50786-50793.
- [9] Tao Li, **Jiawei Li**, Meng Yan, Lishu Zhang, Chengrui Fu, Ying Ruan, Hui Li\*. Investigation of Triple-Coalescence Behaviors for Comprehensively Understanding the Structural Evolution of Coalesced TiAl Droplets from an Atomic-Level View[J]. Journal of Alloys and Compounds. 2020, 157791.
- [10] Junfeng Wang, **Jiawei Li**, Muhan Wang, Qiang Yao, Youguo Yan, Jun Zhang\*. Composite Nanotube Ring Structures Formed by Two-Step Self-Assembly for Drug Loading/Release[J]. Langmuir. 2019, 35, 8, 3108–3115.
- [11] Junfeng Wang, **Jiawei Li**, Qiang Yao, Xiaoli Sun, Youguo Yan, Jun Zhang\*. One-Pot Production of Porous Assemblies by PISA of Star Architecture Copolymers: A Simulation Study[J]. Physical Chemistry Chemical Physics. 2018, 20, 10069-10076.
- [12] Yifan Zhang, **Jiawei Li**, Youguo Yan\*. Molecular Dynamics Study of the Migration of Bisphenol A from Polycarbonate into Food Simulants[J]. Chemical Physics Letters. 2020, 741, 137125.
- [13] Junfeng Wang, Timing Fang, **Jiawei Li**, Zhen Li\*, Jun Zhang\*. A Precise Mesoscopic Model Providing Insights into Polymerization-Induced Self-Assembly[J]. Langmuir. 2020, 36, 27, 8009–8016.
- [14] Timing Fang, Muhan Wang, **Jiawei Li**, Bing Liu, Yue Shen, Youguo Yan\*, Jun Zhang\*. Study on the Asphaltene Precipitation in CO<sub>2</sub> Flooding: A Perspective from Molecular Dynamics Simulation[J]. Industrial & Engineering Chemistry Research. 2018, 57, 3, 1071-1077.
- [15] Jun Zhang, Yan Zhang, **Jiawei Li**, Pan Wang, Xiaoli Sun\*, Youguo Yan\*. Effect of Organic Salt on the Self-Assembly of Ammonium Gemini Surfactant: An Experiment and Simulation Study[J]. Colloids and Surfaces A. 2018, 548, 198-205.
- [16] Muhan Wang, Timing Fang, Hong Zhong, **Jiawei Li**, Youguo Yan, Jun Zhang\*. Optimal Aggregation Number of Reverse Micelles in Supercritical Carbon Dioxide: a Theoretical Perspective[J]. Soft Matter. 2019, 15, 16, 3323-3329.
- [17] 孙浩玉, 张琰, 高阳, **李嘉伟**, 张英男, 燕友果\*, 张军. NaSal/2SHNC 对 R<sub>14</sub>HTAB 体系自组装行为的影响机制[J]. 中国石油大学学报（自然科学版）. 2019, 43, 06, 171-176.

## 发表会议论文

- [1] **Jiawei Li**, Youguo Yan. One-Pot Production of Porous Assemblies by PISA of Star Architecture Copolymers: A Simulation Study[C]. 第九届国际分子模拟与信息技术应用学术会议, 太原, 2018.05
- [2] **Jiawei Li**, Jun Zhang, Youguo Yan. The Dual Effect of ABA Triblock Copolymer on Self-Assembly of Surfactant[C]. 中俄工科大学联盟学术会议, 广州, 2018.11

## 参与或主持的科研项目

- [1] 项目名称: 基于分子模拟的 CO<sub>2</sub> 分离用二维材料支撑离子液体膜优化设计  
项目编号: 5207130395 (学生第一参与者)  
项目来源: 国家自然科学基金面上项目  
研制时间: 2021 年 01 月-2024 年 12 月
- [2] 项目名称: 基于分子动力学模拟的深部储层原油赋存特征研究  
项目编号: 51874332 (学生第三参与者)  
项目来源: 国家自然科学基金面上项目  
研制时间: 2019 年 01 月-2022 年 12 月
- [3] 项目名称: 基于共聚诱导自组装方法的聚丙烯腈基碳材料的可控制备及其电容性能研究  
项目编号: 21801251 (学生第三参与者)  
项目来源: 国家自然科学基金青年科学基金  
研制时间: 2019 年 01 月-2021 年 12 月

## 致谢

时光荏苒，研究生生涯即将结束，回首过去，思绪万千。在此，我想对在求学阶段所有指导和帮助过我的老师、同学和家人表示最诚挚的感谢。

首先，衷心感谢我的导师张军教授，本论文是在导师张军教授的悉心指导下完成的。回想研究生生活伊始，我对研究课题和模拟软件知之甚少，是张老师六年来耐心的指导和帮助才使我的学习与研究逐渐步入了正轨。从研究的开展，到论文的撰写，再到科研项目的申报与完成，我在硕博连读期间任何点滴的成长都离不开张老师的指导。在研究生期间，张老师对我的批评和教诲不仅是我完成学业的最有力保障，也是我终身受益的精神财富。在这六年中，张老师不仅培养了我的认知水平和思辨能力，还锻炼了我的综合能力。恩师对我的影响之大难以言尽，我希望我能将张老师给予我的知识和善意继续传递下去。在论文完成之际，衷心感谢张老师在我的研究生期间给予我的教育和关怀，在此谨向张老师致以最诚挚的敬意和感谢！感谢在新加坡国立大学化学与生物分子工程系的联合培养导师姜建文教授，姜老师无比严谨的科研态度给我留下了深刻的印象，在新加坡跟随姜老师学习的一年使我受益匪浅，在此感谢姜老师对我科研的指导和帮助。不管在学术上还是生活上，两位老师都是我一生学习的榜样。

感谢课题组燕友果老师、李振老师、王晓老师多年来的指导和帮助，不管是研究思路的设计、具体工作的开展还是论文的修改和投稿，两位老师都给予了我许多重要的帮助。感谢郭文跃老师、徐海老师、徐加放老师、王鹏老师、鲁效庆老师、王继乾老师等专家和教授在百忙之中抽出时间评阅论文及参加答辩，并对该博士论文的思路设计和工作开展提出的极其宝贵的建议。

感谢材料多尺度模拟课题组中的每一位毕业和在读的成员。感谢王攀师兄、李文师兄、王慕涵师兄、房体明师兄、张英男师兄、钟杰师兄、郑鑫师兄、刘志斌师兄、李传勇师兄在软件、硬件以及其他各方面给予我的帮助；感谢王俊峰多年来的信任和支持，青山不老，兄弟情谊长存；感谢同级的硕士同学裴帅、董子晗、李小琪在校期间的陪伴；感谢李力文、王文森、李顺顺、谭嘉林、梁绍祥、张立来、朱泊锦、么强、马睿、钟宏、侯全刚、李汝传、巩克、尹志鹏、祁凯、李淑军、于顺昌、万挺、王一宁、张魁元、齐自强、魏琦、郝喜顺、郝羽健、王自力、付海强等所有师弟师妹们的支持和鼓励。

感谢我的母校中国石油大学（华东）对我的培养，“惟真惟实”的校训我将永远铭记于心，祝愿母校不断发展并培养更多栋梁之才。感谢材料科学与工程学院和理学院对我

的培育。感谢在我求学阶段的每一位授课老师的传道、授业、解惑，以及张琰老师、王佳老师等辅导员老师的帮助。感谢国家留学基金委在联合培养期间的资助。感谢中国驻新加坡大使馆的关心和照顾，尤其是疫情期间对留学生们无微不至的帮助。感谢党和国家，以及所有为国内的莘莘学子们创造美好学习环境的人。

特别感谢我的父母，谢谢你们的养育和无私的关爱，同样特别感谢我的爱人多年来的爱和包容，你们是最坚实的后盾。感谢每一位家人，谢谢你们。

## 作者简介

李嘉伟，男，汉族，中共预备党员，1992年4月出生于山东省淄博市。2015年进入中国石油大学（华东）理学院物理学专业学习；2017年获得硕博连读资格进入中国石油大学（华东）材料科学与工程学院，攻读材料科学与工程专业博士学位；2019年8月至2020年8月受国家留学基金委资助赴新加坡国立大学进行联合培养。在攻读博士学位期间，获评中国石油大学（华东）“学术十杰”、博士研究生国家奖学金、校优秀研究生等荣誉称号。