

蛋白质-聚合物缀合物化学及其生物材料应用进展

颜 静, 张 雪, 李学装, 钟丰磷, 张秋禹, 闫 毅*

(西北工业大学理学院应用化学系, 西安 710129)

摘要:蛋白质-聚合物缀合物是通过非共价作用或共价键对蛋白质进行修饰得到的, 可以有效调控蛋白质的稳定性和功能性。由于聚合物结构的可设计性和蛋白质功能的多样性, 蛋白质-聚合物缀合物在生物材料方面有着广泛的应用前景。本文主要总结了蛋白质-聚合物缀合物的制备方法, 并基于近年来国内外的相关文献综述了其研究新进展。

关键词:生物缀合物; 蛋白质; 聚合物; 生物材料

引言

蛋白质的化学修饰, 尤其是蛋白质的聚合物修饰是一种便捷高效地制备新型生物材料的方法^[1, 2]。这类生物材料在保持高分子可调的物理化学性质和蛋白质特殊生物活性的同时, 还可以实现对其生物活性和功能的精准调控^[3]。例如, 美国食品药品监督管理局(FDA)已经批准了一批聚乙二醇(PEG)修饰的蛋白质用于癌症、肝炎、糖尿病的治疗^[4]。一般而言, 蛋白质的聚合物修饰有三种方法, 即:(A)非共价键作用^[5]; (B)表面引发接枝(grafting from); (C)接枝到表面(grafting to)^[1, 6](如图 1 所示)。由于蛋白质表面基团的多样性, 通过常规方法制备的蛋白质-聚合物缀合物中, 蛋白质与聚合物链之间的作用位点通常是无规的或非选择性的。非选择性会导致所制备的蛋白质-聚合物缀合物分离提纯困难, 最终产率较低。

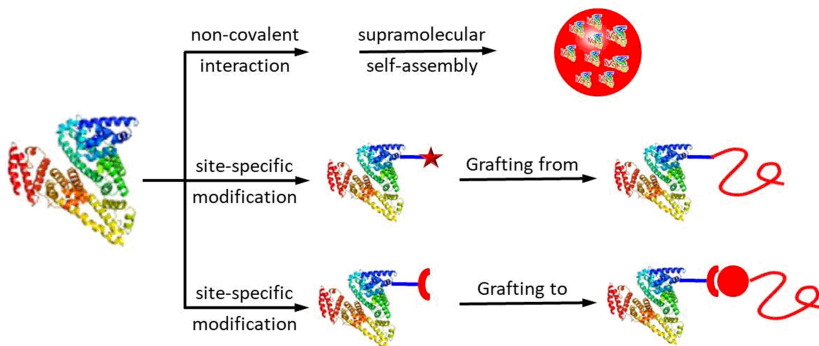


图 1 制备蛋白质-聚合物缀合物的三种策略: 非共价键作用、表面引发接枝(grafting from)和接枝到表面(grafting to)

Figure 1 Three different strategies to prepare protein-polymer bioconjugates: non-covalent interaction, surface-initiated grafting (grafting from), grafting to surface (grafting to)

近年来, 蛋白质表面定位修饰化学^[2, 7]和“活性”/可控自由基聚合技术^[8~10]的发展, 为高效制备蛋白质-聚合物缀合物提供了一种新策略^[6]。“活性”/可控自由基聚合可以有效控制聚合物的分子量和多分

10.14028/j.cnki.1003-3726.2019.10.012

收稿: 2019-06-19; 修回: 2019-08-05;

基金项目: 国家自然科学基金(21975205, 21504068), 中央高校基本科研业务费(3102017jc01001, 3102018jcc040, 310201911cx031), 太仓市科技发展计划(TC2018JC01)资助, 陕西省自然科学基金项目(2019JQ-416);

作者简介: 颜静(1986-), 女, 博士, 研究方向为高分子材料的生物医学应用;

* 通讯联系人, E-mail: yanyi@nwpu.edu.cn.

散性,进而可以有效调控所制备的蛋白质-聚合物缀合物的结构和生物活性。

本文主要总结了近年来蛋白质-聚合物缀合物三种制备方法的主要进展,重点介绍了定位制备蛋白质-聚合物缀合物的相关进展,并介绍了所制备的缀合物在生物材料方面的应用。由于蛋白质的聚乙二醇化技术和应用已经十分成熟,在相关综述中已经系统归类总结^[11, 12],本文不再做详细介绍。

1 非共价方法修饰蛋白质

蛋白质等天然生物大分子表面丰富的氨基、羧基以及其可调控的电性,为通过非共价键作用制备蛋白质-聚合物缀合物提供了可能。

南卡罗莱纳大学 Wang 课题组以病毒,尤其是以烟草花叶病毒为模型,利用高分子自组装策略实现了多种类型生物纳米粒子(Bionanoparticle, BNP)的制备。如图 2 所示,利用聚 4-乙烯基吡啶(P4VP)与豇豆花叶病毒之间丰富的氢键和静电相互作用,可以制备出类似于树莓状的核壳型 BNP^[13]。从图 2B 可以看出,球型的豇豆花叶病毒可以与 P4VP 形成稳定的核壳型组装体,并且在其表面均匀分布。这种组装现象普遍存在于病毒或者蛋白质中,比如棒状的烟草花叶病毒(如图 2C)和球型的铁蛋白(来源于马脾脏, Horse spleen ferritin)均可以与 P4VP 形成树莓状的核壳结构。

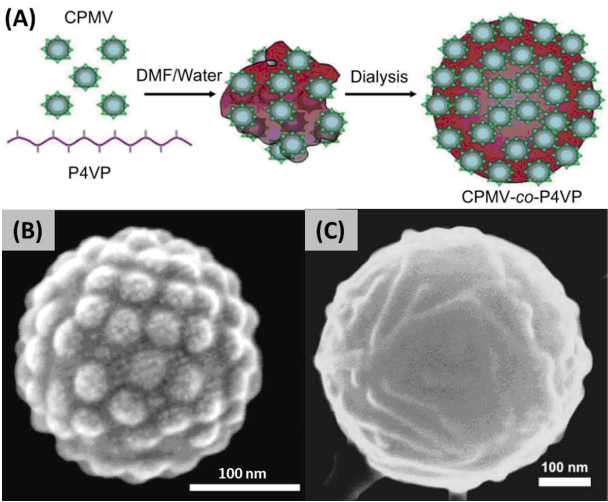


图 2 (A)通过非共价键相互作用制备蛋白质-聚合物缀合物的示意图,(B)和(C)分别是豇豆花叶病毒-P4VP 缀合物和烟草花叶病毒-P4VP 缀合物的扫描电镜照片^[13]

Figure 2 (A) Schematic illustration for the preparation of protein-polymer bioconjugates through non-covalent interaction; (B) and (C) are the corresponding SEM images for cowpea mosaic virus (CMV)-polymer bioconjugate and tobacco mosaic virus (TMV)-P4VP bioconjugates, respectively^[13]

为了系统研究这类树莓状组装体的细微结构,Wang 等以铁蛋白-P4VP 组装体为例,通过非染色的超薄切片透射电镜技术进行了详细表征^[14]。这一组装体在透射电镜下为黑白分布不均匀的环形结构,可以看出,对比度较暗的为铁蛋白中的铁元素,浅色部分为 P4VP。这一结果被相应的 X 射线能量色散谱(EDS)所证实。此结果再次证实了通过氢键和静电作用构筑的 BNP 具有均匀的核壳型结构。

蛋白的生物功能在 BNP 中得到了很好的保持,甚至改善。例如,P4VP 与芳胺加氧酶(arylamine N-oxygenase CmII)所形成的 BNP 对于对氨基苯酚和对氨基苯甲酸的氧化表现出优异的催化效果^[15]。催化效率的提高可以归因于 BNP 中更加有效的电子转移过程。

这种组装方式的普适性,还表现在其可以实现多种蛋白的同时组装。例如,利用 P4VP 与葡萄糖氧化酶(GOX)和辣根过氧化物酶(HRP)的共组装,可以在同一个 BNP 上负载两种酶。这样一个 GOX/HRP-P4VP BNP 体系比简单的自由酶混合物活性提高了至少 20%^[16]。

不仅仅是 P4VP,其它含有吡啶基团的聚合物也可以与病毒或者蛋白质通过氢键、静电等作用形成类似的树莓状结构。例如,通过后修饰方法制备的侧链含有吡啶基团的聚己内酯嵌段聚合物也可以用来制备类似结构。Wang 等通过 $P(\text{CL-}g\text{-Py})\text{-}b\text{-PCL}$ 与转铁蛋白的组装,成功构筑了核壳型 BNP。该 BNP 不仅保持了转铁蛋白的生物功能,还有效改善了转铁蛋白的稳定性;可以用于负载抗癌药阿霉素(DOX),而且对于转铁蛋白受体过表达的人乳腺癌细胞(MCF7)有着特异性的靶向作用^[17]。

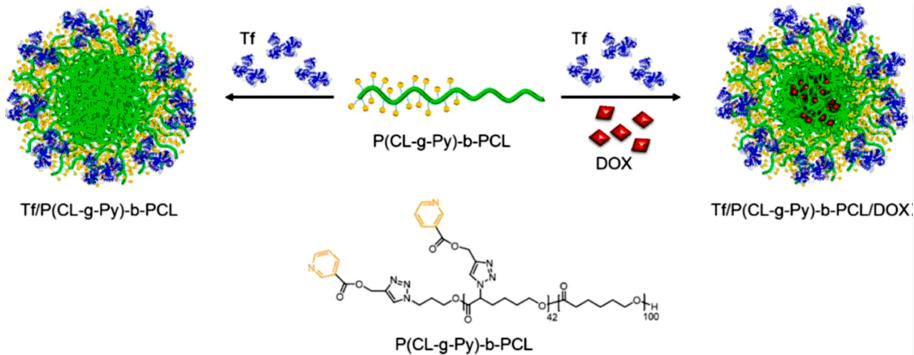


图 3 $P(\text{CL-}g\text{-Py})\text{-}b\text{-PCL}$ -转铁蛋白组装体制备过程及药物释放过程示意图^[17]

Figure 3 Schematic illustration for the preparation of $P(\text{CL-}g\text{-Py})\text{-}b\text{-PCL}$ -transferrin BNP and delivery of DOX^[17]

类似地,侧链含有吡啶基团的聚己内酯还可以与抗原形成 BNP。小鼠实验表明,这种 BNP 可以有效提高抗体的效价。这种免疫增强效果有可能归因于在 BNP 组装体中抗体与免疫系统的有效接触^[18]。

除了氢键、静电等相互作用,配位作用也可以用来构筑蛋白质-聚合物缀合物^[19]。Wang 等通过可逆加成-断裂链转移自由基(RAFT)聚合制备了侧链为三羧基的聚合物,进而通过其与 Ni^{2+} 、组氨酸标记的纤维素酶之间的配位作用,构筑了核壳结构的人工纤维小体(如图 4 所示)。该 BNP 表现出优异的催化活性,催化水解纤维素的效果较简单的组氨酸镍胶束提高了至少 2 倍。

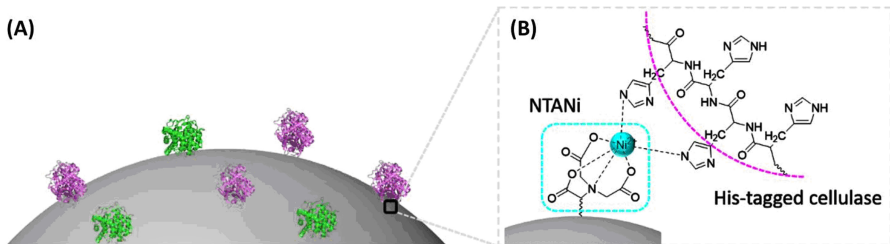


图 4 通过配位作用制备纤维素酶 BNP 的过程示意图^[19]

Figure 4 Schematic illustration for the preparation of cellulose-based BNP^[19]

南开大学史林启团队围绕生物体内的特殊蛋白“分子伴侣”开展了深入的研究工作。“分子伴侣”是一类特殊的蛋白质,其能够识别并结合不完整折叠或装配的蛋白质,帮助这些多肽正确折叠、转运或防止其聚集。如图 5 所示,他们以聚乳酸-*b*-聚乙二醇(PLA-*b*-PEG)和聚乳酸-*b*-聚(*N*-异丙基丙烯酰胺)(PLA-*b*-PNIPAM)构筑复合胶束,其中 PEG 有着良好的生物相容性,PNIPAM 则具有温度响应性。高温下,此胶束表面的疏水 PNIPAM 区域可以有效结合非折叠的蛋白质,从而阻止其聚集失活。降温时,PNIPAM 转变为亲水状态,从而可以释放出非折叠的蛋白质,该蛋白可以在 PEG 存在下自发地实现重新折叠,从而复性。以碳酸酐酶 B(Carbonic anhydrase B)为模型,在此杂化胶束的辅助下,经过高温 70℃-低温处理,约 93% 的酶活性得到恢复^[20]。这种杂化胶束的人工分子伴侣对多种酶都有良好的热保护效果,应用潜力巨大。以溶菌酶为模型蛋白,通过调整人工分子伴侣表面的电荷和疏水性,他们利用分子自组装实现了变性蛋白的高效率复性(复性率高达 97%)^[21]。

他们还发现,该复合胶束可以有效抑制 β 淀粉样多肽(amyloid β peptides, $\text{A}\beta$)的产生和聚集,从而有

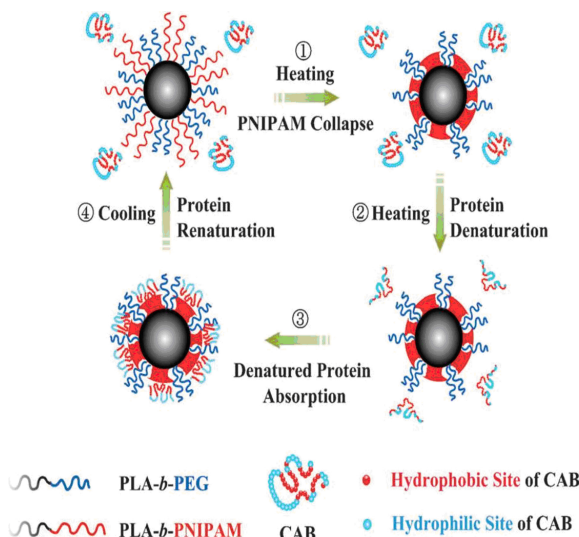


图 5 人工分子伴侣 PLA-b-PEG, PLA-b-PNIPAM 杂化胶束辅助热变性蛋白质复性的示意图^[20]

Figure 5 Schematic illustration for the renaturation of thermal denatured protein aided by artificial molecular chaperon PLA-b-PEG, PLA-b-PNIPAM hybrid micelle^[20]

效降低 A β 的含量,并降低 A β 相关的细胞毒性^[22]。该复合胶束与 γ -分泌酶抑制剂形成的组装体是一类双功能化的阿尔兹海默症抑制剂,可以同时抑制 A β 的产生和聚集,从而有效降低患者脑内 A β 的含量,达到增强治疗效果的目的。与此同时,通过在其表面修饰具有神经元靶向功能的 RVG29 多肽,该体系能够特异地靶向神经细胞,进一步提高治疗效果并降低对于正常细胞的副作用^[23]。

尽管通过非共价键作用制备蛋白质-聚合物缀合物是一种十分便捷有效的方法,但是非共价键的非选择性和非特异性导致结合位点难以控制,在一定程度上无法深入阐释蛋白质-聚合物缀合物的构效关系。

2 共价方法修饰蛋白质

相比于非共价键作用的可逆性和非选择性,共价键修饰的优势在于可以实现定点定位的修饰。随着近年来蛋白质定位修饰化学和“活性”/可控自由基聚合的发展,越来越多的课题组开始关注蛋白质表面的共价修饰。就合成方法而言,通过共价键方式合成蛋白质-聚合物缀合物主要有以下两种策略:(1)表面引发接枝(grafting from):先在蛋白表面的某些位置通过共价键定位修饰接枝可聚合的活性位点,然后进行“活性”/可控自由基聚合。这些活性的位点既可以是原子转移自由基聚合(ATRP)的引发剂,也可以是 RAFT 试剂等;(2)接枝到表面(grafting to):在这个策略中,首先通过聚合反应制备出末端为活性基团的聚合物,然后通过这些活性基团与蛋白表面的活性位点之间的高效反应进行接枝。这里常用到的高效反应,包括铜催化的点击反应、硫醇-烯反应、主客体化学、生物素-亲和素作用等。如前所述,蛋白质的聚乙二醇化就是 grafting to 策略的一个成功应用。

2.1 定位修饰

蛋白质表面的基团非常丰富,如何实现定位修饰极具挑战性,也是实现位置选择性蛋白质-聚合物缀合物制备的关键。最常用的方法是 N-端修饰和半胱氨酸修饰^[24]。此外,近年来还发展了 C-端修饰^[25]、组氨酸标记修饰^[26]、双硫键修饰^[27]、主客体作用^[28]等方法。除了上述方法,高效的正交偶联反应也被用于蛋白质的定位修饰。常用的正交偶联反应如图 6 所示^[1]。

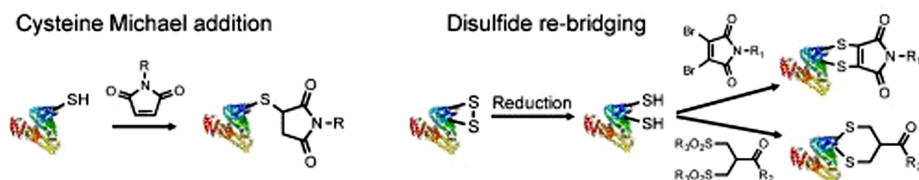
2.2 Grafting from

如图 1 所示,表面引发接枝(grafting from)需要先在蛋白质表面通过定位修饰接枝可用于可控自由

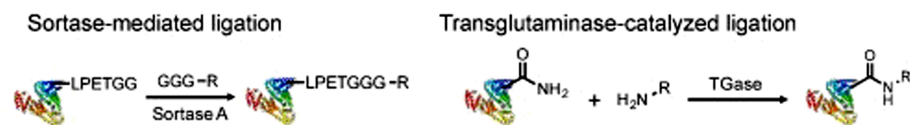
Oxime/hydrazone formation



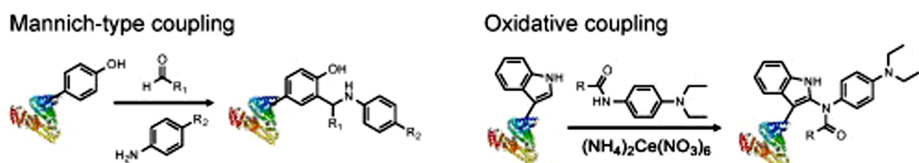
Thiol-based coupling



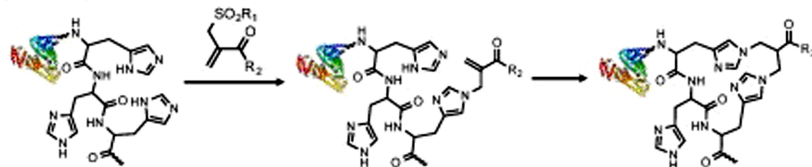
Enzyme-mediated ligation reactions



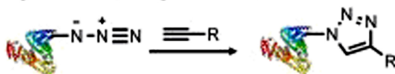
Aromatic-based coupling



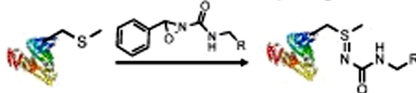
Bis-alkylation



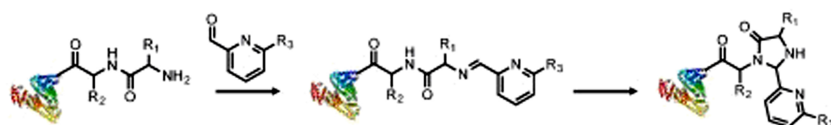
Alkyne-azide cycloaddition



Oxaziridine-based coupling



2-pyridinecarboxaldehyde-based coupling



Noncovalent interaction

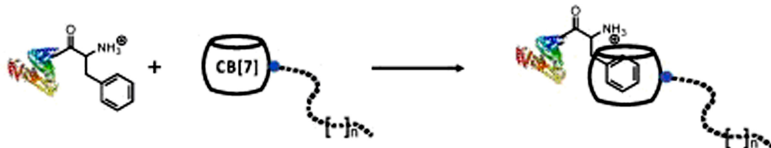


图6 常见的用于蛋白质定位修饰的正交偶联反应^[1]

Figure 6 Orthogonal coupling reactions used in the site-selective modification of protein^[1]

基聚合的引发位点,再在温和的聚合条件制备蛋白质-聚合物缀合物。图 7 给出了几种常见的可控自由基聚合的聚合机理。可控自由基聚合可以有效控制目标聚合物的分子量、多分散性和端基官能团。美国卡内基梅隆大学的 Alan J. Russell、Krzysztof Matyjaszewski 和佛罗里达大学的 Brent S. Sumerlin、英国华威大学的 Sébastien Perrier 在利用可控自由基聚合制备蛋白质-聚合物缀合物方面做出了开创性的工作^[29, 30]。

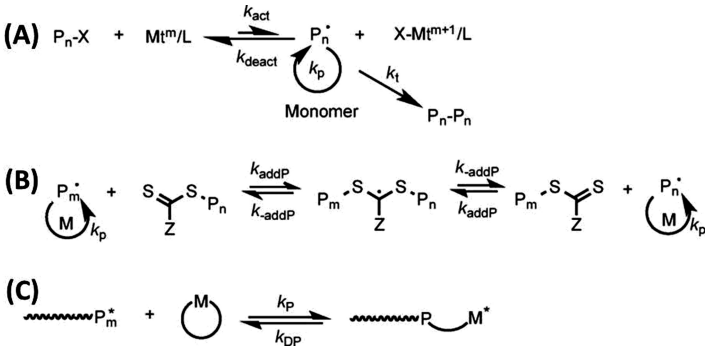


图 7 常见的可控聚合机理^[1]: (A) ATRP; (B) RAFT; (C) ROMP

Figure 7 Mechanism of conventional controlled polymerization^[1]: (A) ATRP; (B) RAFT; (C) ROMP

Russell 和 Matyjaszewski 合作报道了第一例通过 ATRP 制备的蛋白质-聚合物缀合物^[31]。以糜蛋白酶为模型,通过对其表面氨基进行酰胺化,接枝 ATRP 引发剂,进而通过 ATRP 在其表面可以实现非离子型、阴离子型、阳离子型单体的聚合。由于 ATRP 的良好可控性,所制得的蛋白质-聚合物缀合物几乎是单分散的,多分散系数仅为 1.05。由于聚合物链在蛋白质外围的保护作用,该缀合物的生物活性保留了原始酶活性的 50%~86%,而且稳定性得到大大改善。

Wang 课题组通过在球型铁蛋白(来源于马脾脏)表面引入 ATRP 引发剂制备了大分子引发剂,进而通过该引发剂在室温下成功在铁蛋白表面接枝了聚(甲基丙烯酰氧乙基磷酸胆碱)(poly(methacryloyloxyethyl phosphorylcholine), (polyMPC))和聚甲基丙烯酸聚乙二醇酯(poly(PEG methacrylate), (polyPEGMA))。ATRP 的活性特征可以实现对这些聚合物分子量的有效控制。所制得的蛋白质-聚合物缀合物在有机溶剂中溶解性良好,其外围的聚合物壳层可以有效避免抗体识别。将该缀合物与聚苯乙烯-*b*-聚氧乙烯嵌段共聚物进行共组装,可以选择性地将聚氧乙烯基团组装到嵌段共聚物形成的微相分离结构中,从而实现蛋白质的图案化^[32]。此外,他们还用同样的方式实现了去铁蛋白(apoferritin)-聚合物缀合物的制备^[33]。

高卫平课题组在干扰素 α(IFN-α)外围原位引入了 ATRP 引发中心,并成功实现了 2-甲基-2-丙烯酸-2-(2-甲氧基乙氧基)乙酯的 ATRP(见图 8)^[34]。无论是凝胶电泳实验,还是凝胶渗透色谱数据,都显示目标干扰素-聚(2-甲基-2-丙烯酸-2-(2-甲氧基乙氧基)乙酯)缀合物(IFN-PDEGMA)的成功制备。此缀合物表现出良好的温敏特性:当温度低于 22℃时,IFN-PDEGMA 处于溶解状态;当温度高于 22℃时,IFN-PDEGMA 则会发生聚集。生物体体温普遍高于 22℃,因此 IFN-PDEGMA 可以更好地聚集在肿瘤处,从而达到更长效的治疗。

高卫平课题组在蛋白质表面定点原位接枝了具有 pH 响应性的高分子链,该缀合物在生长过程中可自组装为胶束,他们将该策略称为定点原位生长诱导自组装技术。如图 9 所示,他们以人血清白蛋白为模型蛋白,在其表面定点原位接枝具有 pH 响应性的聚甲基丙烯酸 2-(异丙基氨基)乙酯(PDPA)聚合物^[35]。在中性或碱性条件下,该缀合物可自组装成胶束,当 pH 降到 6.6 以下时,其中的 PDPA 被质子化,缀合物解体。利用这一过程可以实现肿瘤部位靶向成像:将近红外荧光分子吲哚菁绿(ICG)负载至该缀合物后,ICG 由于在胶束核内富集而发生荧光聚集猝灭。当到达肿瘤部位时,由于肿瘤微环境的弱酸性,胶束解体,ICG 被释放出来而恢复其荧光。同时由于 PDPA 质子化带正电,有利于其吸附在细胞表

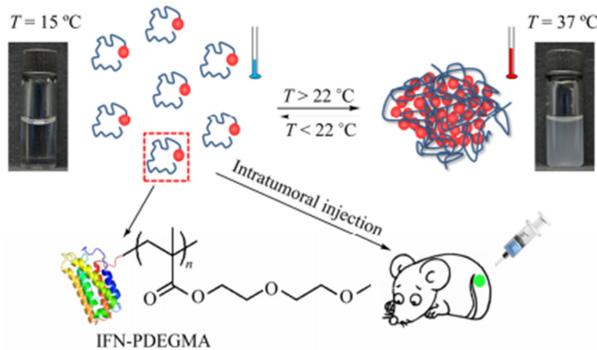


图 8 IFN-PDEGMA 缀合物温度响应示意图^[34]

Figure 8 Schematic illustration for the thermal responsive property of IFN-PDEGMA bioconjugate^[34]

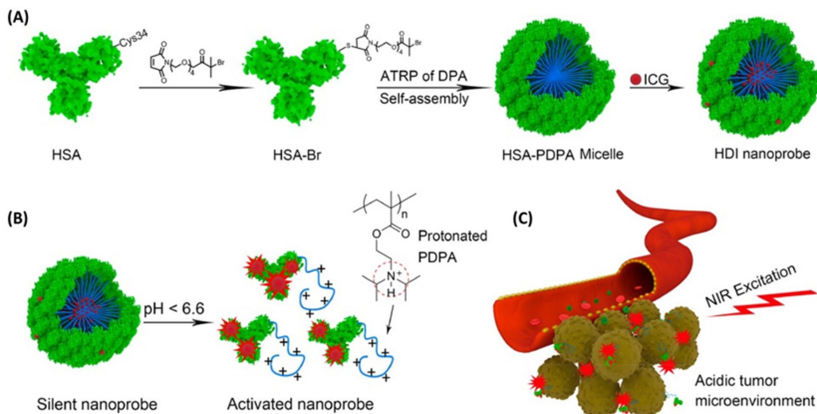


图 9 原位制备 HAS-PDPA 缀合物示意图及其用于 pH 响应荧光成像的机理^[35]

Figure 9 Schematic illustration for the in-situ preparation of HAS-PDPA bioconjugate and coresponding pH responsive fluorescence imaging^[35]

面以及细胞内吞。

Sumerlin 系统评述了 ATRP 在制备蛋白质-聚合物缀合物中的应用^[36]。他指出,虽然 ATRP 是制备蛋白质-聚合物缀合物的有效方法,但是其催化剂铜盐始终是生物应用的一个隐患。近年来发展起来的电子转移产生催化剂引发原子转移自由基(activators generated by electron transfer (AGET))^[37]、引发剂持续再生催化剂原子转移自由基聚合(initiators for continuous activator regeneration (ICAR))^[38]和电子转移再生催化剂引发原子转移自由基聚合(activators regenerated by electron transfer (ARGET))^[39]等技术可以有效降低催化剂使用量,使得通过 ATRP 方法制备蛋白质-聚合物缀合物更加有效。

相比于 ATRP,RAFT 聚合在制备蛋白质-聚合物缀合物方面使用得更加普遍。Sumerlin 课题组将 NHS 活化的 RAFT 试剂定位接枝到溶菌酶表面(见图 10),通过连续的 RAFT 聚合制备了溶菌酶-聚(*N*-异丙基丙烯酰胺)-*b*-聚(*N,N*-二甲基丙烯酰胺)嵌段共聚物^[40]。该缀合物表现出良好的温敏特性,通过控制聚合物的聚合度和嵌段比例,可以对其临界溶解温度进行调控。除了 NHS 活化方法在蛋白质表面接枝 RAFT 试剂,他们还开发了硫醇-烯点击化学的方法在蛋白质表面引入 RAFT 试剂^[41]。为了进一步提高 RAFT 聚合的效率,他们还开发了水相光诱导电子转移可逆加成-断裂链转移(photoinduced electron/energy transfer-reversible addition-fragmentation chain transfer)聚合来制备蛋白质-聚合物缀合物^[42]。该方法更加温和,聚合时间也大大缩短,可以适用于大多数蛋白质-聚合物缀合物的制备。通过

RAFT 聚合,他们还制备了温敏性的蛋白质-聚合物缀合物,并发现聚合物的可逆温敏特性可以用来调控酶的活性^[43]。

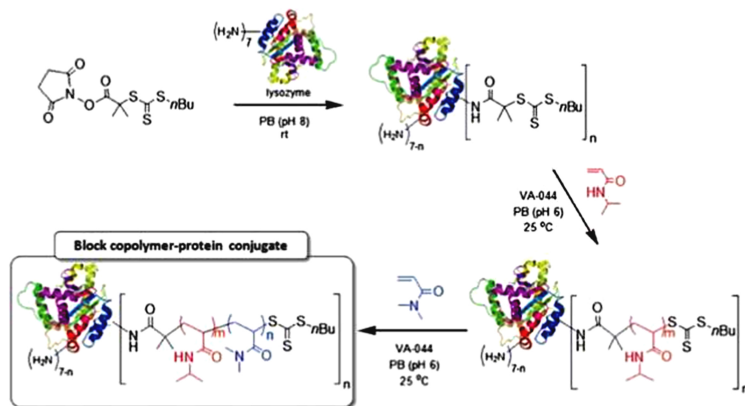


图 10 通过 RAFT 聚合制备蛋白质-聚合物缀合物示意图^[40]

Figure 10 Schematic illustration for the preparation of protein-polymer bioconjugate through RAFT process^[40]

2.3 Grafting to

不同于 grafting from 策略,grafting to 策略制备蛋白质-聚合物缀合物的关键在于聚合物末端活性基团与蛋白质上的活性位点之间反应的高效性。Wang 课题组通过高效的铜催化点击反应实现了烟草花叶病毒表面的修饰^[44]。他们首先采用重氮化反应对烟草花叶病毒表面的酪氨酸残基进行定量修饰,从而引入炔基,再通过铜催化点击反应将多种叠氮修饰的功能分子接枝到烟草花叶病毒表面。

Sumerlin 课题组在利用 grafting to 策略合成蛋白质-聚合物缀合物方面做出了重要贡献^[45]。如图 11 所示,他们首先使用羧基封端的 RAFT 试剂合成聚合物,然后通过水合肼对链末端的双硫酯进行还原得到一端为羧基、一端为巯基的聚合物(见图 11A),进而通过末端的硫醇-烯点击反应将荧光基团接枝到聚合物末端(见图 11B),通过 NHS 活化羧基制成一端为荧光基团、一端为 NHS 活化酯的聚合物(见图 11C),最后通过其与蛋白质表面的氨基进行酰胺化制得目标缀合物(见图 11D)^[46]。为了验证该缀合物的生物活性,他们选用了骨保护蛋白(osteoprotegerin,OPG)。通常情况下,OPG 可以通过阻止破骨细胞前体细胞形成成熟破骨细胞来抑制骨吸收,但是很容易被肝脏摄取。OPG-聚合物缀合物有效提高了 OPG 的有效性,体外实验表明该缀合物保留了对破骨细胞的生物活性。

此外,通过两步连续的硫醇-烯点击化学也可以实现蛋白质-聚合物缀合物的有效制备。Sumerlin 课题组利用图 11A 的步骤制备了一端为羧基、一端为巯基的聚(*N*-异丙基丙烯酰胺),通过其与双马来酰亚胺封端的聚乙二醇进行一次定量的点击化学,而另一端未反应的马来酰亚胺再与蛋白质上裸露的硫醇基团反应,最后完成了目标蛋白质-聚合物缀合物的制备^[47]。

除了上述的可控自由基聚合外,北京大学吕华课题组还发展了聚氨基酸与蛋白质 *N*-端特异偶联方法^[48~50]。他们以干扰素(IFN)为模型蛋白,构建了三种干扰素聚氨基酸缀合物,分别是螺旋聚氨基酸-IFN 缀合物、无规线团聚氨基酸-IFN 缀合物以及经典的聚乙二醇-IFN 缀合物。生物学实验表明,螺旋聚氨基酸-IFN 缀合物所引起的免疫反应远远小于其它两类缀合物,它在体内刺激产生的抗干扰素与抗聚氨基酸的抗体滴度显著低于其它两个缀合物^[51]。这一设计为新一代低免疫源性蛋白质药物提供了新思路。

3 结语

高分子科学是一个相对年轻的学科,蛋白质-聚合物化学更是处在其发展的初期。在过去的几十年

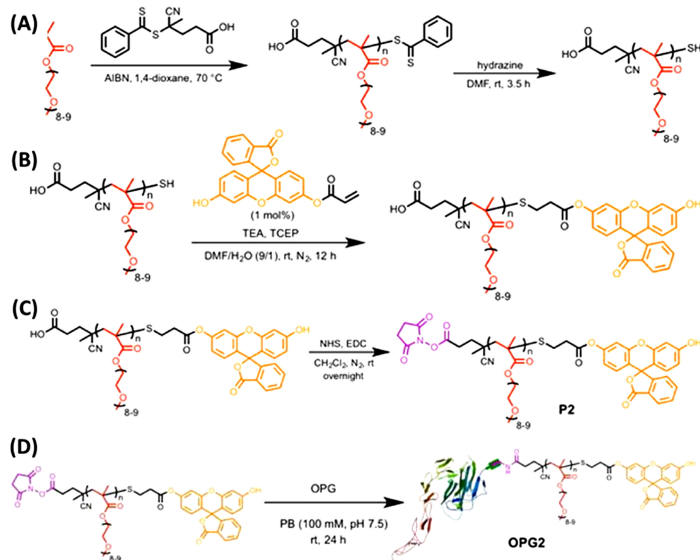


图 11 通过 RAFT 聚合,利用 grafting to 制备蛋白质-聚合物缀合物示意图^[46]

Figure 11 Schematic illustration for the preparation of protein-polymer bioconjugate through RAFT process via grafting to strategy^[46]

中,蛋白质-聚合物缀合物已经取得了非常大的进步和发展,无论是从其合成方法学、结构表征,还是生物材料应用方面都建立了相对行之有效的方法。尤其是近年来,蛋白质定位修饰化学和“活性”/可控自由基聚合技术的研究进展,更是极大地推动了这一领域的快速发展。但是,由于蛋白质结构的复杂性和多样性,目前这一领域还面临着制备效率低、结构表征困难等问题。如何实现温和条件下快速、高效地制备蛋白质-聚合物缀合物,如何实现更加精准、快速的结构表征,蛋白质-聚合物缀合物与其生物学效应之间的构效关系的揭示依然是这一领域面临的巨大挑战,也是未来研究的重点^[30]。

参考文献:

- [1] Liu X, Sun J, Gao W. *Biomaterials*, 2018, 178: 413~434.
- [2] Boutureira O, Bernardes G J L. *Chem Rev*, 2015, 115: 2174~2195.
- [3] Pelegri-O'Day E M, Lin E W, Maynard H D. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 14323~14332.
- [4] Alconcel S N S, Baas A S, Maynard H D. *Polym Chem*, 2011, 2: 1442~1448.
- [5] Li T, Niu Z, Suthiwangcharoen N, Li R, Prevelige P E, Wang Q. *Sci China Chem*, 2010, 53: 71~77.
- [6] Pelegri-O'Day E M, Maynard H D. *Acc Chem Res*, 2016, 49: 1777~1785.
- [7] ElSohly A M, Francis M B. *Acc Chem Res*, 2015, 48: 1971~1978.
- [8] Moad G, Rizzardo E, Thang S H. *Acc Chem Res*, 2008, 41: 1133~1142.
- [9] Patten T E, Matyjaszewski K. *Acc Chem Res*, 1999, 32: 895~903.
- [10] Hawker C J. *Acc Chem Res*, 1997, 30: 373~382.
- [11] Roberts M J, Bentley M D, Harris J M. *Adv Drug Deliver Rev*, 2002, 54: 459~476.
- [12] Harris J M, Chess R B. *Nat Rev Drug Discov*, 2003, 2: 214~221.
- [13] Li T, Niu Z, Emrick T, Russell T P, Wang Q. *Small*, 2008, 4: 1624~1629.
- [14] Wu L, Li T, Blo D, Zhao J, Ghoshroy S, Wang Q. *Microsc Res Tech*, 2011, 74: 636~641.
- [15] Zhang L, Xu Y, Makris T M, Wang Q. *Biomacromolecules*, 2018, 19: 918~925.
- [16] Suthiwangcharoen N, Li T, Wu L, Reno H B, Thompson P, Wang Q. *Biomacromolecules*, 2014, 15: 948~956.
- [17] Lu L, Yuan L, Yan J, Tang C, Wang Q. *Biomacromolecules*, 2016, 17: 2321~2328.
- [18] Zhang X, Zhao X, Luckanagul J A, Yan J, Nie Y, Lee L. A, Wang Q. *ACS Macro Lett*, 2017, 6: 442~446.
- [19] Lu L, Zhang L, Yuan L, Zhu T, Chen W, Wang G, Wang Q. *ChemBioChem*, 2019, 20: 1394~1399.

- [20] Liu X, Liu Y, Zhang Z, Huang F, Tao Q, Ma R, An Y, Shi L. *Chem-Eur J*, 2013, 19: 7437~7442.
- [21] Ma F H, An Y, Wang J, Song Y, Liu Y, Shi L. *ACS Nano*, 2017, 11: 10549~1557.
- [22] Huang F, Wang J, Qu A, Shen L, Liu J, Liu J, Zhang Z, An Y, Shi L. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53: 8985~8990.
- [23] Huang F, Qu A, Yang H, Zhu L, Zhou H, Liu J, Long J, Shi L. *ACS Macro Lett*, 2018, 7: 983~989.
- [24] Molineux G. *Curr Pharm Design*, 2004, 10: 1235~1244.
- [25] Esser-Kahn A P, Francis M B. *Angew Chem Int Ed*, 2008, 120: 3811~3814.
- [26] Cong Y, Pawlisz E, Bryant P, Balan S, Laurine E, Tommasi R, Singh R, Dubey S, Peciak K, Bird M, Sivasankar A, Swierkosz J, Muroi M, Heidelberger S, Farys M, Khayrzad F, Edwards J, Badescu G, Hodgson I, Heise C, Somavarapu S, Liddell J, Powell K, Zloh M, Choi J W, Godwin A, Brocchini S. *Bioconjugate Chem*, 2012, 23: 248~263.
- [27] Shaunak S, Godwin A, Choi J W, Balan S, Pedone E, Vijayarangam D, Heidelberger S, Teo I, Zloh M, Brocchini S. *Nat Chem Biol*, 2006, 2: 312~313.
- [28] Webber M J, Appel E A, Vinciguerra B, Cortinas A B, Thapa L S, Jhunjunwala S, Isaacs L, Langer R, Anderson D G. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 14189~14194.
- [29] Cobo I, Li M, Sumerlin B S, Perrier S. *Nat Mater*, 2014, 14: 143~147.
- [30] Russell A J, Baker S L, Colina C M, Figg C. A, Kaar J L, Matyjaszewski K, Simakova A, Sumerlin B S. *AIChE J*, 2018, 64: 3230~3230.
- [31] Lele B S, Murata H, Matyjaszewski K, Russell A J. *Biomacromolecules*, 2005, 6: 3380~3387.
- [32] H Y, Samanta D, Parelkar S S, Hong S W, Wang Q, Russell T P, Emrick T. *Adv Funct Mater*, 2010, 20: 3603~3612.
- [33] Zeng Q, Li T, Cash B, Li S, Xie F, Wang Q. *Chem Commun*, 2007, 14: 1453~1455.
- [34] 刘欣宇, 胡瑾, 郭建文, 王贵林, 高卫平. *高分子学报*, 2018, 1: 90~98.
- [35] Li P, Sun M, Xu Z, Liu X, Zhao W, Gao W. *Biomacromolecules*, 2018, 19: 4472~4479.
- [36] Sumerlin B S. *ACS Macro Lett*, 2012, 1: 141~145.
- [37] Jakubowski W, Matyjaszewski K. *Macromolecules*, 2005, 38: 4139~4146.
- [38] Matyjaszewski K, Jakubowski W, Min K, Tang W, Huang J, Braunecker W A, Tsarevsky N V. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 15309~15314.
- [39] Jakubowski W, Matyjaszewski K. *Angew Chem Int Ed*, 2006, 45: 4482~4486.
- [40] Li H, Li M, Yu X, Bapat A P, Sumerlin B S. *Polym Chem*, 2011, 2: 1531~1535.
- [41] Li M, Li H, De P, Sumerlin B S. *Macromol Rapid Commun*, 2011, 32: 354~359.
- [42] Tucker B S, Coughlin M L, Figg C A, Sumerlin B S. *ACS Macro Lett*, 2017, 6: 452~457.
- [43] De P, Li M, Gondi S R, Sumerlin B S. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 11288~11289.
- [44] Bruckman M A, Kaur G, Lee L A, Xie F, Sepulveda J, Breitenkamp R, Zhang X, Joralemon M, Russell T P, Emrick T, Wang Q. *ChemBioChem*, 2008, 9: 519~523.
- [45] Li H, Bapat A P, Li M, Sumerlin B S. *Polym Chem*, 2011, 2: 323~327.
- [46] Tucker B S, Stewart J D, Aguirre J I, Holliday L S, Figg C A, Messer J G, Sumerlin B S. *Biomacromolecules*, 2015, 16: 2374~2381.
- [47] Li M, De P, Li H, Sumerlin B S. *Polym Chem*, 2010, 1: 854~859.
- [48] Yuan J, Sun Y, Wan, J, Lu H. *Biomacromolecules*, 2016, 17: 891~896.
- [49] Hou Y, Yuan J, Zhou Y, Yu J, Lu H. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 10995~11000.
- [50] Hou Y, Zhou Y, Wang H, Wang R, Yuan J, Hu Y, Sheng K, Feng J, Yang S, Lu H. *J Am Chem Soc*, 2018, 140: 1170~1178.
- [51] Hou Y, Zhou Y, Wang H, Sun J, Wang R, Sheng K, Yuan J, Hu Y, Chao Y, Liu Z, Lu H. *ACS Central Sci*, 2019, 5: 229~236.

Recent Progress in Protein-polymer Bioconjugates and Their Applications as Biomaterials

YAN Jing, ZHANG Xue, LI Xue-zhuang, ZHONG Feng-lin, ZHANG Qiu-yu, YAN Yi *

(Department of Applied Chemistry, School of Natural and Science, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710129, China)

Abstract: Protein-polymer conjugates are obtained by modifying proteins through non-covalent interactions and covalent bonds, which can effectively regulate the stability and functionality of proteins. Due to the design flexibility of polymer structures and the diversity of protein functions, protein-polymer conjugates have broad application prospects in the field of biological materials. In this paper, the preparation methods and the latest progress of protein-polymer conjugates are reviewed based on the related literatures at home and abroad in recent years.

Key words: Bioconjugates; Proteins; Polymers; Biomaterials