

植物凝集素在生物医用领域中的应用

谈浩琪^{1,2}, 张楚楚^{1,2}, 屈 雪^{1,2*}, 刘昌胜^{1,2*}

(1. 华东理工大学超细材料教育部重点实验室, 上海 200237;

2. 华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室, 上海 200237)

摘要:对植物凝集素在生物医用功能材料中的应用进行了综述。介绍了植物凝集素的发现历程、分类, 详细阐述了植物凝集素在靶向性药物载体、刺激响应性药物载体、靶向及刺激响应性药物载体、生物传感器、医用高分子聚合物材料方面的研究进展。最后对植物凝集素运用于生物功能材料的优势和面临的挑战进行总结, 对其进一步的发展方向作出了展望。

关键词:植物凝集素; 糖结合蛋白; 生物医用功能材料

引言

植物凝集素是一类从植物体内提取、可与糖结合的活性蛋白; 具有一个或多个可以与糖分子或碳水化合物发生特异可逆结合的非催化结构, 却不改变糖类的结构。

其最早发现于 1888 年, 由俄国 Dorpat 大学的 Stillmark 在蓖麻(*Ricinus communis*) 籽萃取物中发现了一种细胞凝集因子, 该凝集素可以特异性结合 *N*-乙酰氨基葡萄糖胺(GalNac)等, 具有凝集红细胞的作用, 因此具有极强的毒性, 又被称为植物血凝集素^[1]。Sumner 和 Howell 于 1936 年首次从洋刀豆种子中纯化了一种名为刀豆蛋白 Concanavalin A (Con A) 的凝集素, 并随后发现 Con A 能结合和沉淀糖原和淀粉等多糖。1975 年, Becker 等开始探索了刀豆蛋白的三级结构, 从而揭开了研究植物凝集素分子结构和功能的序幕^[2,3]。

目前所发现的植物凝集素近千种, 可以称的上是一个庞大的异种蛋白家族。根据其亚基的结构特征, 可以分为 4 种类型: 部分凝集素、全凝集素、嵌合凝集素、超凝集素; 根据糖结合特异性, 可分为 *N*-乙酰氨基半乳糖胺凝集素(GalNac)、*D*-甘露糖/*D*-葡萄糖凝集素(Man/Glc)、*N*-乙酰氨基葡萄糖胺凝集素(GlcNac)、*D*-半乳糖凝集素(Gal)、*L*-岩藻糖凝集素(*L*-Fuc)及 *N*-乙酰神经氨酸(唾液酸(Sia))凝集素。根据氨基酸序列的同源性及其在进化上的相互关系, 传统的植物凝集素可分为 7 个家族, 但随着新的植物凝集素不断地被发现, 植物凝集素家族越来越丰富, 目前可分为 12 个家族, 分别是豆科家族(Legume lectin)、几丁质酶相关蛋白家族(CRA)、具有赖氨酸基序的蛋白(Lysin motif)、木菠萝家族(Jacalins)、蓖麻毒蛋白-B 家族(Ricin-B families)、苋科植物家族(Amaranthin)、蓝藻凝集素家族(Cyanovirin)、卫欧矛家族(*Euonymus europaeus*)、雪花莲家族(*Galanthus nivalis agglutinin*)、橡胶蛋白家族(Hevein)、双孢蘑菇家族(ABA)、烟草凝集素家族(Nictaba)^[1]。

利用植物凝集素与游离的单糖、糖蛋白、糖脂中的糖基、细胞膜上的碳水化合物等结合的特异性, 或同种凝集素对不同类型糖分子的结合力差异、以及某些植物凝集素自身特有的 pH 响应性、温度敏感等特性, 凝集素已作为生物材料中重要的组成部分, 被用于药物输送、生物检测、组织修复等方面, 并表现出一些非常有趣和新颖的功能。本文就植物凝集素在生物功能材料中的应用展开综述。

10.14028/j.cnki.1003-3726.2016.05.009

收稿: 2015-08-31; 修回: 2015-10-07;

基金项目: 国家重大科学研究计划(2012CB933600); 国家自然科学基金(51573047); 上海市“青年科技启明星”人才计划(14QA1401000);

* 通讯联系人, E-mail: liucs@ecust.edu.cn; quxue@ecust.edu.cn.

1 植物凝集素在靶向性药物载体中的应用

开发出具有像 Ehrlich 所称“魔法子弹”那样,能对特定病灶部位精准打击的药物一直是人类的理想^[4],而靶向性载体材料的出现正式向这一理想迈进。靶向性载体是能将药物输送到特定的病灶部位进行释放,从而极大地减少药物对人体的毒副作用的一类材料。随着在不同细胞中越来越多的凝集素结合位点被发现,许多研究工作已经利用偶联于纳米生物材料上的不同植物凝集素作为靶头,引导材料与特定的细胞结合。

1.1 对黏膜上皮细胞的靶向给药

众所周知,一般的内服药物微粒是通过与小肠、鼻腔等黏膜非特异性结合,再而被吸收利用的,但药物易于从粘膜上脱落或快速地被粘液纤毛清除,导致这种黏附只能持续很短的时间,从而影响药物利用效率。而大多数哺乳动物的粘膜细胞表面的蛋白和脂质体是糖基化的,将药物装进表面修饰了特定凝集素的药物载体中或直接给药物修饰上凝集素,利用“植物凝集素-膜表面糖基”生物特异性相互作用产生生物性结合,同时利用某些药物载体的缓释效果,延长了药物在目标部位的作用时间,提高了口服药物的吸收效率和转运效率。除此之外,材料表面的凝集素能诱导上皮细胞对材料进行内吞甚至帮助材料穿越细胞,使得某些需静脉注射的药物还可以通过口服、鼻腔喷射等外部方式达到给药目的^[5,6]。

早在 2004 年 Gabor 等就讨论了用修饰有凝集素的药物前体或药物载体与细胞表面的糖基化结构结合,调节药物在小肠上皮细胞的黏附、胞吞,协助药物穿越小肠上皮细胞^[6],如图 1 所示。Liu 等将聚乙烯醇(PVA)脂质体表面修饰醛基功能基团(-CHO),再通过酰胺反应将麦胚凝集素(WGA)共价固定在脂质体表面,经过 WGA 修饰后的脂质体纳米颗粒经小鼠口服后在胃黏膜的黏附明显增加。小鼠体内的药效学研究表明,脂质体运载的疏水性药物的利用率被提高了 2.7 倍^[7,8]。Gao 等将硫醇化的 WGA 共价结合马来酰亚胺基团修饰过的聚乙二醇-聚乳酸共聚物(PEG-PLA)纳米粒子。结果表明,修饰过的纳米载药粒子可以加强和皮腔粘膜的结合作用以及被鼻腔粘膜上皮细胞吸收,从而进一步提高皮腔给药之后药物的摄取量^[9]。

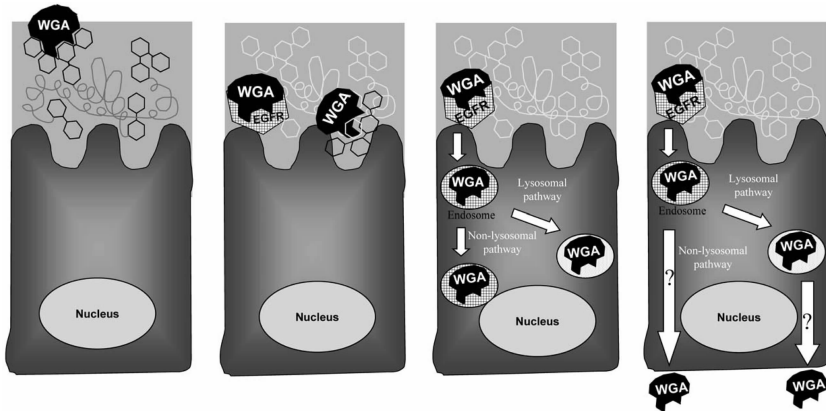


图 1 以麦胚凝集素为例,植物凝集素介导药物交付于小肠上皮细胞的可能途径

Figure 1 Possible pathways for lectin-mediated drug delivery to enterocytes as exemplified by WGA

1.2 对癌细胞的靶向给药

目前在癌症治疗过程中,多数的癌症化疗药物都没有专一性,药物很难准确地进入到病灶部位,从而较难在肿瘤内部达到有效浓度,且药物分布全身易致系统性毒副反应。故在抗癌药物载体中设计主动靶向癌细胞的结构就显得极其重要。相对于正常细胞,癌变细胞会发生一个糖基化结构的转变^[10],同时不同的癌变细胞会在细胞膜表面表达不同的聚糖序列。大量研究表明,特定的凝集素对特定的癌细胞具有识别、定位、结合的能力,同时某些植物凝集素又具有诱导癌细胞凋亡的功能^[11~16],这就使得结合了植物

凝集素的给药系统既增强了抗肿瘤活性,同时又降低了抗癌药物在正常细胞中的分布,因此植物凝集素在癌细胞靶向药物载体的设计中越来越具有吸引力。

Neutsch 团队一直从事使用麦胚凝集素(WGA)特定生物黏附膀胱癌细胞的研究,通过酰胺反应将 WGA 共价固定在聚乳酸羟基乙酸共聚物(PLGA)微球上形成稳定的靶向抗癌药物载体,引导载药微球稳定黏附在膀胱癌细胞表面,起到加强抗癌药物在癌细胞中的富集、滞留,同时介导癌细胞对 PLGA 载药微粒的内吞作用,增强抗癌药物的药效^[17-20]。Sakuma 等通过聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)在被聚苯乙烯(PS)包裹的显影剂纳米微球表面共价固定花生凝集素(PNA)时,用 WGA 作为对比,得出 PNA 能与结肠癌细胞表面的糖结构发生特异性识别,达到靶向结肠癌细胞的效果^[21]。Corem-Salkmon 等又用氧化铁纳米粒子(IO)表面带上红外荧光标记物,再在其表面覆盖一层人血清白蛋白(IO-HSA),用聚乙二醇衍生物(NHS-PEG-NHS)修饰变成(IO-HSA-PEG-NHS),再在其表面修饰了花生凝集素(PNA)形成(IO-HSA-PEG-PNA)纳米粒,使该纳米粒子特异性靶向结肠癌细胞,同时被结肠癌细胞特异性识别和胞吞,从而达到对结肠癌细胞的可视化探测的目的^[22]。Li 等对 ConA 对癌症细胞的靶向识别和抗增殖特性进行了机理探究,得出 ConA 通过自我吞噬、细胞凋亡和抗血管生成三种途径介导癌细胞程序性死亡,同时还提出 ConA 能促进正常细胞的免疫能力,生成免疫记忆,抵抗相同基因型的癌细胞^[23],如图 2 所示。Shao 等利用 ConA 结合的 PLGA 纳米粒子运载药物靶向交付颈部淋巴结^[24]。Chen 等利用带有 ConA 硅碳空心球靶向识别结合肝癌细胞,再用近红外辐射激光辐射的热消融治疗癌症^[25]。

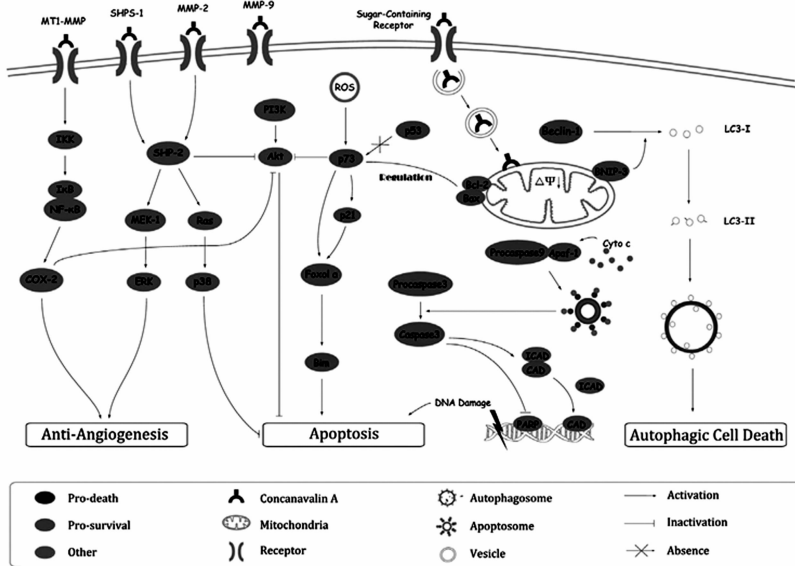


图 2 伴刀豆球蛋白 A(ConA):一个通过细胞程序性死亡和抗血管生成作用的潜在抗癌药物
在 ConA 作用过程中,具有促存活(绿色)或促死亡(红色)的蛋白对包括细胞凋亡、细胞的自吞噬死亡、
抗血管生成起到了诱发或促进的作用。

Figure 2 Concanavalin A; A potential anti-tumor drug targeting programmed cell death and anti-angiogenic pathways
The proteins with pro-survival (green) or pro-death (red) roles act as causative or contributing role on
ConA treatment, including apoptosis, autophagic cell death, and anti-angiogenesis.

1.3 对血脑屏障的靶向给药

血脑屏障(blood brain barrier/BBB)是由通过复杂的细胞间紧密连接构成的脑毛细血管、内皮细胞和神经胶质膜构成,存在于血液和脑组织间的一层动态屏障系统,它对于维系恒定脑内环境、防止血液中的有害物质进入十分重要,但同时血脑屏障(BBB)也限制了治疗性药物向脑部病变细胞的转运,成为了治疗性药物进入脑组织发挥治疗作用的主要屏障。鼻脑通路的存在为难以通过血脑屏障的多肽、蛋白类

药物的脑内应用提供了一条捷径,但由于多肽、蛋白类药物的透膜性差,易受鼻腔中酶系统的降解和鼻纤毛的清除,所以经鼻入脑的药量仍然很低。而药物载体通过植物凝集素修饰,特别是麦胚凝集素(WGA),能增加给药系统和大脑毛细血管的密切关系,介导其穿越血管内壁细胞,从而突破血脑屏障^[26]。

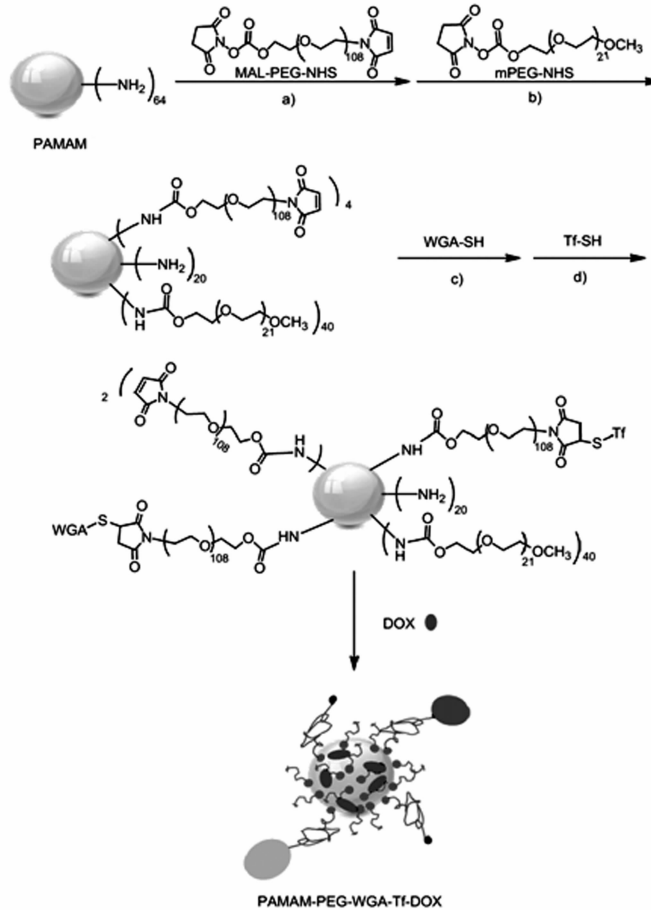


图3 双靶向药物载体 PAMAM-PEG-WGA-Tf-DOX 的合成步骤

试剂和条件:(a) H₂O, rt, 15min; (b) H₂O, rt, 30min; (c) H₂O, rt, 2h; (d) H₂O, rt, 2h rt=室温。

Figure 3 The synthetic route of dual-targeting drug carrier of PAMAM-PEG-WGA-Tf-DOX

Reagents and conditions: (a) H₂O, rt, 15min; (b) H₂O, rt, 30min; (c) H₂O, rt, 2h; (d) H₂O, rt, 2h rt=room temperature.

He 等首先利用迈克尔加成将聚酰胺树状大分子纳米载体(PAMAM)外围的氨基和马来酰亚胺-聚乙二醇-琥珀酰亚胺/甲氧基-聚乙二醇-琥珀酰亚胺中琥珀酰亚胺基团共价结合,再将 PAMAM 上的马来酰亚胺基团和硫醇化的 WGA 和转铁蛋白(Tf)共价结合,形成双靶向树状大分子药物载体,修饰过的药物载体(PAMAM-PEG-WGA-Tf)可以很好地穿越血脑保护屏障(BBB)和脑部中的肿瘤细胞特异性结合,达到脑部肿瘤的治疗效果^[27],如图3所示。

2 植物凝集素在刺激响应性药物载体中的应用

刺激响应型药物载体是一类依据病灶部位的微环境而设计,能在特定物理、生物或化学信号刺激下产生如形状、组成结构、渗透速率或表面能等理化性质变化,继而引发药物释放的载体类型。利用植物凝集素作为刺激响应元,调节药物的释放,使药物在必要的时间和特定部位释放出所需的有效剂量,实现药物的定点、定时、定量控制释放,已成生物材料的一个研究热点。目前基于凝集素生理功能的刺激响应性

药物释放载体已有 pH 响应型、葡萄糖和 pH 双重响应两类。

2.1 葡萄糖响应性释放药物

众所周知糖尿病人的血液内具有较高的血糖含量,而胰岛素可用于糖尿病的治疗。它是一类能促进全身组织细胞对葡萄糖的摄取和利用,并抑制糖原的分解和糖原异生,从而降低血糖的蛋白激素。由于胰岛素是多肽类药物,如果注射给药,药物在体内代谢较快,利用率低,且多次注射会增加糖尿病人痛苦和治疗费用;而口服给药易被胃蛋白酶消化,难以到达病灶。利用带有凝集素响应单元的材料构建药物载体,可通过体液环境中葡萄糖竞争结合载药材料中的凝集素,来改变载体的渗透率和孔隙率等,实现胰岛素释放。这种依据体内葡萄糖浓度水平调控药物按需释放的材料设计思路,非常新颖。

Ye 等利用聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(NIPAM)与 Con A 间酰胺基的氢键作用,制备了具有葡萄糖响应性的 Con A/聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(NIPAM)半互穿纳米凝胶^[28],如图 4 所示。Yin 等通过迈克尔加成反应将氧基葡萄糖丙烯酸酯(GEA)对壳聚糖(CS)改性得到 CS-GEA,加入 ConA 后得到了葡萄糖响应性 Con A/CS-GEA 微凝胶^[29]。Kawamura 等首先对 ConA 进行丙烯酸酯化改性,改性后的 ConA 和 2-乙氧基葡萄糖基甲基丙烯酸甲酯(GEMA)生物性结合得到交联剂(ConA-GEMA),利用该交联剂制备了以 DEAEEMA(甲基丙烯酸二乙胺乙酯)为疏水核,GEMA-PEGDMA(2-乙氧基葡萄糖基甲基丙烯酸酯-二甲基丙烯酸聚乙二醇酯)为亲水性壳的葡萄糖响应性凝胶粒子,用于胰岛素的控释^[30],如图 5 所示。Zhu 等以碳酸钙微粒为模板,通过层层自组装技术和模板去除法制备了中空的 Con A-糖原微胶囊,对葡萄糖、甘露糖、葡聚糖和果糖具有特异性识别能力,能够作为载体包覆聚苯乙烯-丙烯酸(PS-*b*-PAA)微胶粒,进行胰岛素等的糖响应性释放^[31]。Yin 等利用甲基丙烯酸缩水甘油酯(GMA)对葡聚糖(Glu)进行改性得到(Dex-G)、利用乙二醇甲基丙烯酸酯(EGAMA)对 Con A 进行改性得到(Con A-E),制备出了 Dex-G/Con A-E 微水凝胶能够对不同的葡萄糖浓度作出可逆响应^[32~34]。其又利用壳聚糖、Con A 和葡聚糖合成葡聚糖响应性载胰岛素复合微粒微粒应用于自调节胰岛素给药系统^[35]。Tanna 等分别对葡聚糖和 Con A 进行丙烯酸改性,光聚合制备葡萄糖响应性材料,材料在葡萄糖存在的条件下黏度低于无葡萄糖存在时,有望用于胰岛素的控释^[36,37]。

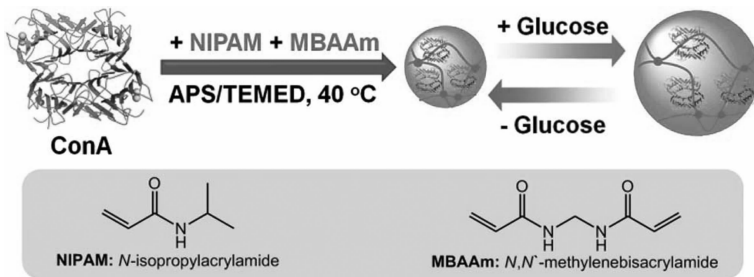


图 4 基于伴刀豆凝集素 A 合成的葡萄糖响应型纳米凝胶示及其关键组成部分的化学结构示意图
Figure 4 Schematic illustration of the synthesis of the glucoseresponsive nanogels based on ConA,
and the chemical structures of the key components

2.2 葡萄糖和 pH 双重响应释放药物

人体内某些组织具有区别于正常体液的 pH 值环境。例如,因发生病变形成的肿瘤组织呈弱酸性,而正常的胃部环境 pH 值则更低,因此在这些部位定点给药时,可以利用其特殊的 pH 环境,设计 pH 响应性释放药物的载体材料。

凝集素具有 pH 响应解聚的特征,如 ConA 在中性 pH 条件下以四聚体的形式存在,包含四个糖结合位点,而在酸性条件下(pH 5.0~6.7),ConA 由四聚体变为二聚糖,糖结合位点由 4 个变成 2 个,继续降低 pH 值,将丧失糖结合生理功能。因此修饰了这类凝集素的载体材料,除了能对糖刺激产生响应以外,还能同时对微环境中 pH 的改变作出相应的变化,故将植物凝集素用于葡萄糖和 pH 双重响应的智能药物释放体系具有很大潜力。

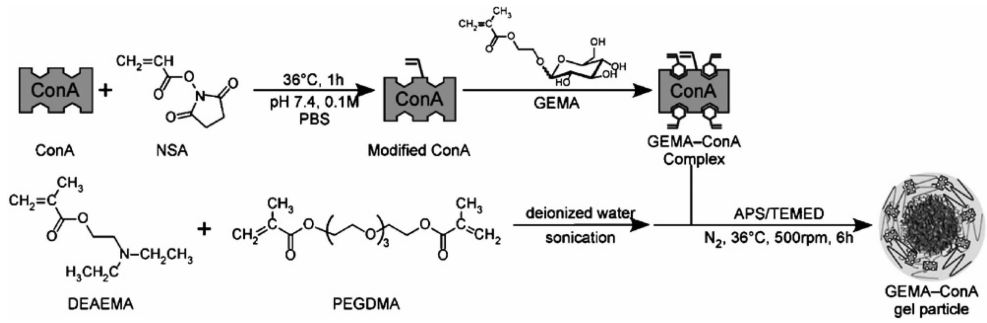


图 5 通过无表面活性剂参与剂乳液聚合的方法,合成包含 GEMA-ConA 复合物的生物性结合凝胶粒子
 Figure 5 Synthesis of bioconjugated gel particles containing GEMA-ConA complexes by surfactant-free emulsion polymerization

Wu 等首先通过点击化学的方法将末端修饰了巯基的甘露糖(Mannose-SH)和末端带有烯烃基的硅烷偶联剂(alkenyl-terminated silanes)共价结合,并修饰于介孔二氧化硅表面(MCM-41-type MSNs),再通过加入的 ConA 和 Mannose 特异性结合封堵介孔二氧化硅孔道出口,限制所载药物的泄露,利用 ConA 的特性,构建出葡萄糖和 PH 双重响应药物释放载体^[38]。

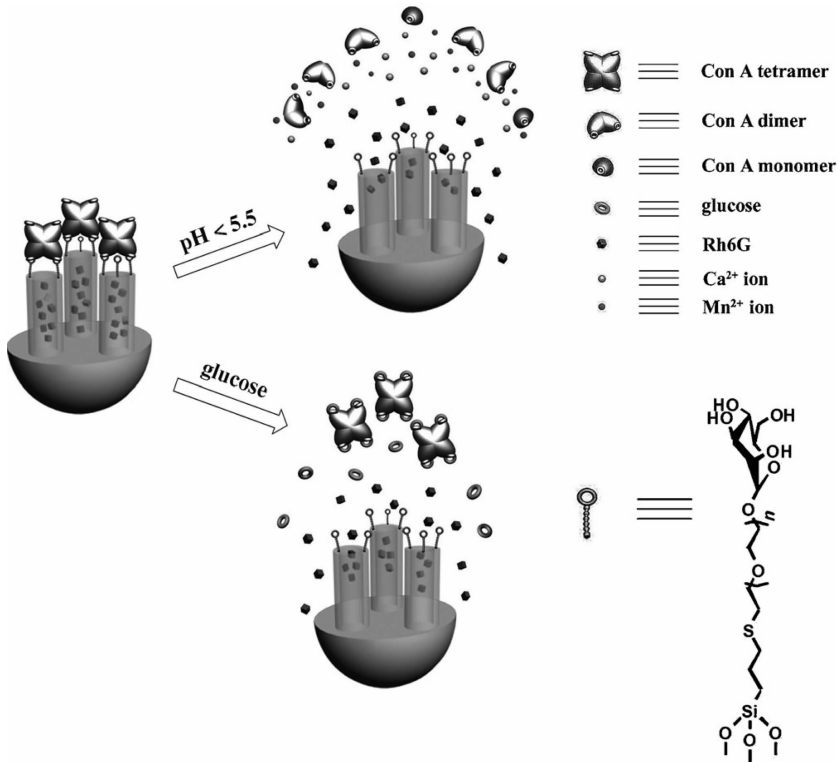


图 6 用伴刀豆凝集素 A 封堵经甘露糖修饰过的介孔二氧化硅纳米载体的孔口,从而在 pH 和葡萄糖浓度条件改变下控制药物释放示意图。

Figure 6 Illustration of the controlled release of cargo from Con A gated mannose-functionalized MSN nanocontainers in response to changes in pH value and glucose concentration.

3 植物凝集素在靶向及刺激响应性药物载体中的应用

具备靶向和响应性双重特征的智能药物载体是药物控释的更高级形态。将药物特异性地传输到

病灶部位,并对其特殊的生理环境做出响应,刺激药物释放,可以使药物集中作用于病灶部位,缓解对其它正常组织的副作用。本课题组利用凝集素的生理功能组装此类载体结构,取得了一些初步的成果。

Li 等首先在介孔氧化硅纳米粒(MSN)表面利用层层自组装技术,以 Con A 和大分子多糖糖元(Gly, glycogen)为组装单元,利用 ConA 的糖结合生理功能组装了蛋白超分子多层膜。该膜在正常体细胞环境中 $\text{pH}=7.4$ 条件下能稳定将药物包封在 MSN 纳米粒中,当 pH 降低到癌细胞环境中($\text{pH}=4.0\sim 6.0$),Con A-糖元超分子膜发生分解,使抗肿瘤药物释放。同时利用转铁蛋白糖链和刀豆球蛋白间的生物特异性结合在超分子膜最外层修饰转铁蛋白,使得该体系能够特异性的靶向肿瘤细胞^[39],如图 7 所示。

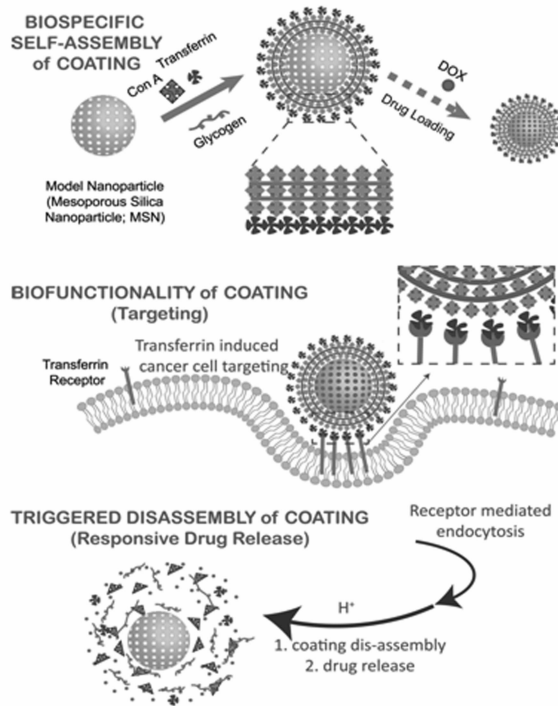


图 7 生物学作为一种用于功能化涂层的材料和机制来源。通过生物特异性作用来自组装纳米颗粒表面涂层、赋予其生物性功能,从而使得这个响应型涂层在相关生物信号刺激下解散。

Figure 7 Biology as a source of materials and mechanisms for functional coatings

Biospecific interactions are used to self-assemble a nanoparticle coating and incorporate biofunctionality, while the coating's responsive properties allow its disassembly to be triggered by biologically relevant cues.

类似的,在 MSN 表面层层组装了 Con A-糖原多层超分子膜结构,进一步在最外层通过 ConA 对甘露糖主链的特异性结合,组装半乳甘露聚糖(GM),再利用自由的半乳糖侧基靶向肝组织细胞。形成生物相容性优良的具有肝细胞靶向和 pH 响应性的载药体系^[40],如图 8 所示。

4 植物凝集素在生物传感器中的应用

生物传感器技术是现代功能生物材料的前沿技术之一,渗透到临床医学、生物学、以及药物分析和环境监测等领域,而随着生物技术的迅速发展,生物传感器的研究速度、规模和种类令人瞩目。生物传感器的基本原理是将识别分子和目标分析物结合产生的生物信号转换为可检测的光、电、热等离子等信号。故利用植物凝集素的糖结合生理功能,对细胞、细菌或糖蛋白进行特异性识别,通过适当的方法将其进行信号转换,就形成了一种具有快速、灵敏、稳定和低成本的凝集素生物传感材料。

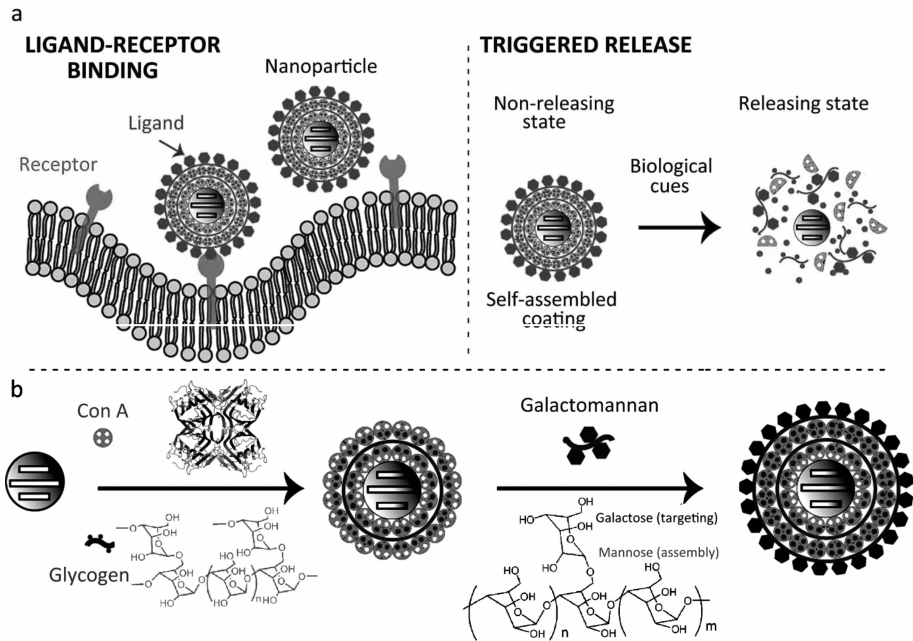


图 8 (a) 靶向型纳米颗粒交付涂层可通过非共价的形式实现与受体的相互作用和涂层的组装与解散；
(b) 在本次研究中的自组装纳米颗粒多层涂层。

Figure 8 (a) Targeted nanoparticle delivery coating can use non-covalent interactions for receptor-binding and for coating assembly/dis-assembly; (b) Self-assembly of the nanoparticle multi-layer coating in this study.

4.1 在电化学生物传感器中的应用

电化学生物传感器由生物识别原件(一般修饰在电极表面的敏感层材料)与电化学转换器两部分构成,根据将生物信号转化为电信号的不同,可分为电流型、电位型、交流阻抗型等。而在电化学传感器中,将植物凝集素修饰在传感器中的识别原件中,去特定检测分析物已变得十分普及。如在被检测的糖分子上修饰电活性分子,可以通过该分析物与修饰层中特定凝集素的结合造成非电活性修饰层改变;或反之敏感层通过与非电活性分析物特异性相互结合,导致电活性修饰层的改变,最终通过体系检测电流、交流阻抗等的改变,从而实现对糖或细胞等的检测,以及相互作用的研究。相对于其它电化学传感器具有高亲和性和高选择性的优势。

Qian 等基于三电极体系,首先将 CDs 量子点包裹在聚酰胺树状分子中,再将其电沉积在钢锡氧化物基质表面,其目的是为了增加纳米复合膜的光电流,减小表面缺陷和提供氨基基团。再在复合膜表面接上 ConA,通过 ConA 和 SMMC-7721 人肝癌细胞表面的甘露糖基团的特异性结合,减少光敏薄膜表面的光生电流数,从而达到特定细胞定量检测的目的^[41]。Luna 等首先让金电极表面黏附一层脂质体薄膜(二棕榈酰磷脂酰胆碱),减少电活化粒子对生物传感器的干预,放大信号,同时为蛋白的固定创造一个自然的环境。再将改性得到后的电极表面吸附一层 ConA。由于早期感染登革热病毒的病人血清中的糖蛋白会超表达,故利用糖蛋白和 ConA 的特异性识别,使其吸附于电极表面,导致电极表面的阻抗增加,同时造成阻抗谱和循环伏安曲线的变化,从而达到对登革热病毒的进行早期诊断^[42]。Silva 利用类似的方法,通过 ConA 和细菌毒素表面的糖结构结合之后,电极表面的阻抗增加,从而达到细菌毒素检测的目的^[43]。Xue 等通过碳化二亚胺偶联反应将二茂铁基基团和 ConA 共价结合起来形成一种电化学敏感性探针,用来检测红 K526 人血病细胞。当细胞通过薄膜表面的聚糖和 ConA 结合后,使溶液中的自由的 FC-ConA 探针减少,从而产生一个与细胞数量相应的电化学响应^[44]。Huang 利用 ConA 的 pH 敏感性和葡萄糖与葡聚糖同刀豆蛋白的竞争反应实现对葡萄糖含量的检测。利用石墨烯氧化物作为传感器表

面电荷转移的增强界面,先将 ConA 固定于电极表面的石墨烯上,pH 值在 5 以上的时候 ConA 与探针 $\text{Fe}(\text{CN})_6$ 同时带负电,使两者静电排斥,使得传感器处于“关”的状态。当体系 $\text{pH}=8$ 时候,葡萄糖的加入,竞争结合 ConA,使得 ConA 脱离传感器表面,使得表面的负电荷减少,此时,探针 $\text{Fe}(\text{CN})_6$ 重新可以和电极表面进行电子的通信,使得传感器又处于“开”的状态,达到检测溶液中葡糖含量的目的^[45],如图 9 所示。

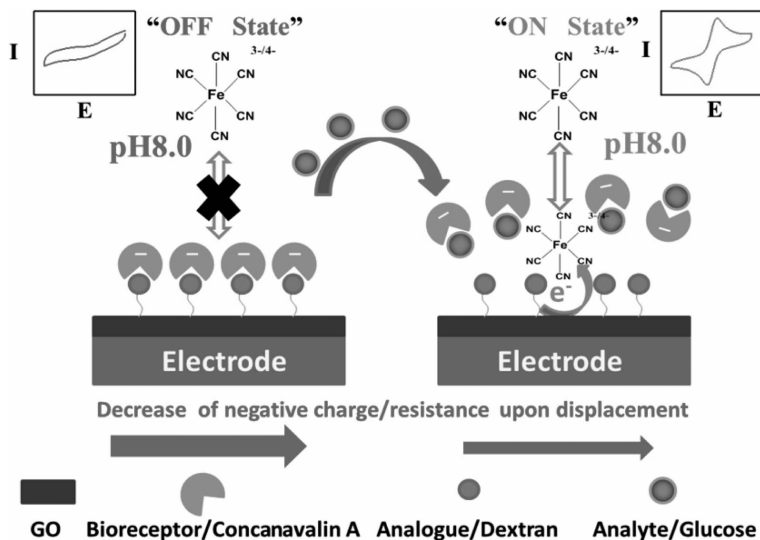


图 9 基于电化学亲和力的生物传感器,通过基团取代实现在葡萄糖加入前后进行开关转换
Figure 9 Switching of the displacement-based electrochemical affinity biosensor between“OFF”and “ON”states before and after addition of glucose.

4.2 在光学生物传感器中的应用

光学生物传感器同样是由生物识别原件与光学转换器两部分构成,根据将生物信号转化为光信号的不同可分为吸收、反射、发光、散射和折射等不同类型。凝集素类的光学生物传感器则利用凝集素作为识别原件的生物识别层,特异性识别结合糖类(特别是葡萄糖)、糖蛋白、细胞等,产生识别原件性质的改变,继而通过光信号转换、放大处理等操作进行生物量有关的分析。值得注意的是,在这一大类中,荧光凝集素生物传感芯片技术是一门新兴的生物传感技术,凝集素芯片可灵活地应用于生物医学的诊断,用来破译细胞表面的糖编码从而来诊断疾病。相对于其它生物传感器,光学生物传感器主要的优势是响应快、可实时检测、成本低等特点。

Tang 等设计组装了一种基于 CdTe 量子点(QDs)和金纳米粒子(AuNPs)之间的荧光共振能量转移(FRET)原理的纳米生物传感器(QDs-ConA- β -CDs-AuNPs)实现血清中葡萄糖的直接测定。该传感方法是首先 QDS 连接上 ConA 作为能量受体,将 β -环糊精标记过的金纳米粒子作为能量供体。当能量供体和能量受体通过 ConA 弱的相互结合作用靠的很近时,金纳米粒子将量子点的荧光猝灭,而当葡萄糖存在时,葡萄糖与 β -环糊精(β -CDs)竞争结合 ConA 的结合位点,AuNPs- β -CDs 逐渐脱离 QDs,QDs 的荧光逐渐恢复,从而达到检测的目的^[46],如图 10 所示。Peng 等用同样的方法设计组装了一种转换发光体(UCPs)取代了 QDS,使得检测的分辨率所有提高^[47]。Hsu 将多种凝集素按照一定空间距离排列成特定的序列通过共价(-CHO/-NH₂ 等)或生物亲和(亲和素/生物素等)方法固定在玻片或金表面,再在上滴加标记过(荧光等)的需检测的细胞或糖蛋白试样,孵育后清洗,再通过荧光扫描等手段分析芯片上的各点的荧光强度,从而分析其糖链的组成^[48,49]。

5 植物凝集素在生物医用高分子材料的应用

蛋白-聚合物复合物^[50~52]将蛋白的生理特性和高分子的优异的力学特性有机结合^[53,54],在纳米医药

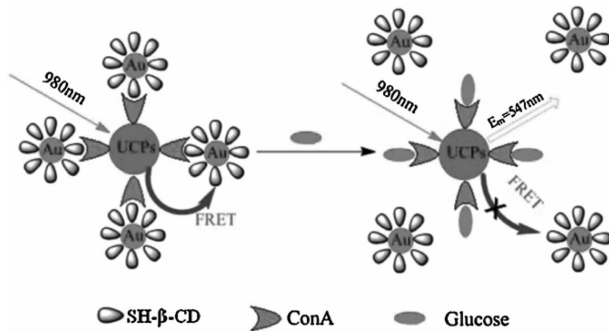


图 10 基于 UC-FRET 的葡萄糖生物传感器原理示意图

Figure 10 Schematic illustration of the principle of the glucose biosensor based on UC-FRET

及其它生物相关的技术领域发挥了重要作用。

Wei 等先以 β -环糊精(β -CD)和 α -吡喃甘露糖苷(α -Man)共价形成具有双分子识别作用的“生物交联剂” β -CD-Man,此交联剂中的 β -环糊精(β -CD)能够与 PEG 一端修饰的金刚烷(Ada)结合,而 α -吡喃甘露糖苷(Man)与 Con A 结合,形成了 Con A-PEG 四臂星型低聚物。进一步加入 α -环糊精(α -CD),由于 α -CD 能够选择性地被 PEG 链贯穿,从而将 PEG 另一端交联,形成 Con A-PEG 自组装网络状水凝胶或纳米粒^[55],如图 11 所示。

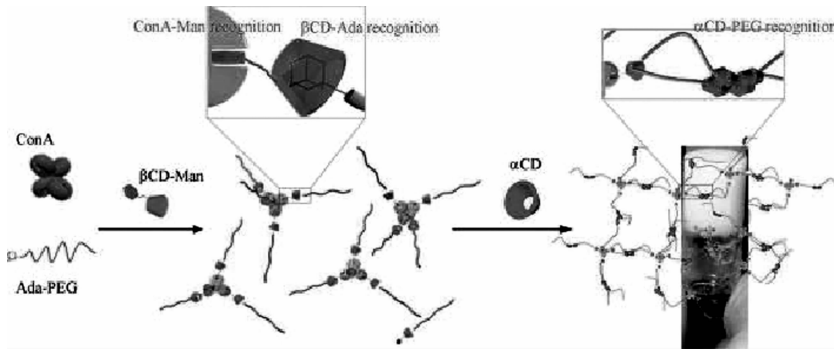


图 11 在伴刀豆凝集素 A 和合成的聚合物 PEG(聚乙二醇)之间的超分子结合原理示意图

Figure 11 Schematic illustration of supramolecular conjugation between native protein concanavalin A (ConA) and synthetic polymer PEG (polyethylene glycol)

6 总结与展望

植物凝集素由于具有能够与单糖、多糖和糖蛋白等发生特异性结合等优点,已在医学、生物学、材料学、农学等领域发挥着巨大的作用和价值,同时将植物凝集素用于智能生物材料能够满足某些其它物质所不能代替的特定要求,为智能生物材料的设计和制造提供了新思路和新方法。但该类生物材料目前多数仍停留在实验室研究阶段,要实现临床应用仍面临很多问题,如体系内中凝集素的生物相容性和毒性、凝集素在材料中功能单一、复杂的人体环境对凝集素的影响,以及凝集素体系对体内环境的响应以及对药效的影响等,因而还需要科技工作者的进一步努力。虽然该类体系的进一步发展是一个极大的挑战,但是,可以预见,随着越来越多的植物凝集素被发现,以及对其结构和功能的探索变的越加清晰和人们对载体制剂理论和技术的不断发展和完善,将植物凝集素应用于智能生物材料的制备将为生物材料领域开辟新的天地。

参考文献

- [1] Jiang S, Ma Z, Ramachandran S. *Bmc Evolutionary Biology*, 2010, 10: 79~103.
- [2] Banerjee N, Sengupta S, Roy A, Ghosh P, Das K, Das S. *Plos One*, 2011, 6: e18593.
- [3] Malik A, Lee J, Lee J. *Plos One*, 2014, 9: e95480.
- [4] Strebhardt K, Ullrich A. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8: 473~480.
- [5] Bies C, Lehr C, Woodley J. *Adv Drug Deliver Rev*, 2004, 56: 425~435.
- [6] Gabor F, Bogner E, Weissenboeck A, Wirth M. *Adv Drug Deliver Rev*, 2004, 56: 459~480.
- [7] Liu Y, Wang P F, Sun C, Feng N P, Zhou W X, Yang Y, Tan R, Chen ZQ, Wu S, Zhao JH. *Int J Pharm*, 2010, 397: 155~163.
- [8] Liu Y, Wang P F, Sun C, Sun C, Zhao J H, Du Y, Shi F, Feng N P. *Int J Pharm*, 2011, 419: 260~265.
- [9] Gao X, Tao W, Lu W, Zhang Q, Zhang Y, Jiang X, Fu S. *Biomaterials*, 2006, 27: 3482~3490.
- [10] Singhal A, Hakomori S. *Bioessays*, 1990, 12:223~230.
- [11] Liu B, Li C, Bian H, Min M, Chen L, Bao J. *Arch Biochem Biophys*, 2009, 482: 1~6.
- [12] Liu Z, Liu B, Zhang Z T, Zhou T T, Bian H J, Min M W, Liu Y H, Chen J, Bao J K. *Phytomedicine*, 2008, 15: 867~875.
- [13] Lei H, Chang C. *Autophagy*, 2007, 3:402~404.
- [14] Lei H Y, Chang C P. *J Biomed Sci*, 2009, 16:10~22.
- [15] Chang C P, Yang M C, Liu H S, Lin Y S, Lei H Y. *Hepatology*, 2007, 45: 286~296.
- [16] Liu B, Cheng Y, Bian H J, Bao J K. *Autophagy*, 2009, 5: 253~255.
- [17] Neutsch L, Wambacher M, Wirth E M, Spijker S, Kahlig H, Wirth M, Gabor F. *Int J Pharm*, 2013, 450: 163~176.
- [18] Neutsch L, Wirth E M, Spijker S, Pichl C, Kahlig H, Gabor F, Wirth M. *J Control Release*, 2013, 169: 62~72.
- [19] Neutsch L, Eggenreich B, Herwig E, Marchetti-Deschmann M, Allmaier G, Gabor F, Wirth M. *Pharm Res*, 2014, 31: 819~832.
- [20] Wang X Y, Koller R, Wirth M, Gabor F. *Int J Pharm*, 2012, 436: 738~743.
- [21] Sakuma S, Higashino H, Oshitani H, Masaoka Y, Kataoka M, Yamashita S, Hiwatari K, Tachikawa H, Kimura R, Nakamura K, Kumagai H, Gore J C, Pham W. *Eur J Pharm Biopharm*, 2011, 79: 537~543.
- [22] Corem-Salkmon E, Perlstein B, Margel S. *Int J Nanomed*, 2012, 7: 5517~5527.
- [23] Li W W, Yu J Y, Xu H L, Bao J K. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 414: 282~286.
- [24] Shao X, Liu Q, Zhang C, Zheng X, Chen J, Zha Y, Qian Y, Zhang X, Zhang Q, Jiang X. *J Microencapsul*, 2013, 30: 780~786.
- [25] Chen Y C, Chiu W T, Chen J C, Chang C S, Hui-Ching Wang L, Lin H P, Chang H C. *J Mater Chem B*, 2015, 3: 2447~2454.
- [26] Banks W A, Kastin A J. *J Neurosci Res*, 1998, 54: 522~529.
- [27] He H, Li Y, Jia X R, Du J, Ying X, Lu W L, Lou J N, Wei Y. *Biomaterials*, 2011, 32: 478~487.
- [28] Ye T, Yan S, Hu Y, Ding L, Wu W. *Polym Chem*, 2014, 5: 186~194.
- [29] Yin R, Wang K, Du S, Chen L, Nie J, Zhang W. *Carbohydr Polym*, 2014, 103: 369~376.
- [30] Kawamura A, Hata Y, Miyata T, Urugami T. *Colloid Surface B*, 2012, 99: 74~81.
- [31] Zhu Y, Tong W J, Gao C. *Soft Matter*, 2011, 7: 5805~5815.
- [32] Yin R, Tong Z, Yang D, Nie J. *Carbohydr Polym*, 2012, 89: 117~123.
- [33] Yin R, Wang K, Han J, Nie J. *Carbohydr Polym*, 2010, 82: 412~418.
- [34] Yin R, Tong Z, Yang D, Nie J. *Int J Biol Macromol*, 2011, 49: 1137~1142.
- [35] Yin R, Han J, Zhang J. *Colloid Surface B*, 2010, 76: 483~488.
- [36] Tanna S, Taylor M J, Sahota T S, Sawicka K. *Biomaterials*, 2006, 27: 1586~1597.
- [37] Tanna S, Sahota T S, Sawicka K, Taylor M J. *Biomaterials*, 2006, 27: 4498~4507.
- [38] Wu S, Huang X, Du X. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2013, 52: 5580~5584.
- [39] Li J, Qu X, Payne G F, Zhang C, Zhang Y, Li J B, Ren J, Hong H, Liu C. *Adv Funct Mater*, 2015, 25: 1404~1417.
- [40] Zhang C, Qu X, Li J, Hong H, Li J B, Ren J, Payne G F, Liu C. *Adv Healthc Mater*, 2015, 13:1972~1981.
- [41] Qian Z, Bai H J, Wang G, Xu J, Chen H. *Biosens Bioelectron*, 2010, 25: 2045~2050.
- [42] Luna D M, Oliveira M D, Nogueira M L, Andrade C A. *Chem Phys Lipids*, 2014, 180: 7~14.
- [43] da Silva J S, Oliveira M D, de Melo C P, Andrade C A. *Colloid Surface B*, 2014, 117: 549~554.
- [44] Xue Y, Ding L, Lei J, Ju H. *Biosens Bioelectron*, 2010, 26: 169~174.
- [45] Huang J, Zhang L, Liang R, Qiu J. *Biosens Bioelectron*, 2013, 41: 430~435.
- [46] Chen Q, Wei W, Lin J. *Biosens Bioelectron*, 2011, 26: 4497~4502.

- [47] Peng J, Wang Y, Wang J, Zhou X, Liu Z. *Biosens Bioelectron*, 2011, 28: 414~420.
- [48] Hsu K L, Pilobello K T, Mahal L K. *Nat Chem Biol*, 2006, 2: 153~157.
- [49] Hsu K L, Gildersleeve J C, Mahal L K. *Mol Biosyst*, 2008, 4: 654~662.
- [50] Gauthier M A, Klok H A. *Polym Chem*, 2010, 1: 1352~7133.
- [51] Heredia K L, Maynard H D. *Org Biomol Chem*, 2007, 5: 45~53.
- [52] Thordarson P, Le Droumaguet B, Velonia K. *Appl Microbiol Biot*, 2006, 73: 243~254.
- [53] Jain A, Jain S K. *Crit Rev Ther Drug*, 2008, 25: 403~447.
- [54] Broyer R M, Grover G N, Maynard H D. *Chem Commun*, 2011, 47: 2212~2226.
- [55] Wei K, Li J, Chen G, Jiang M. *ACS Macro Lett*, 2013, 2: 278~283.

The Application of Plant Lectins in the Field of Biomedicine

TAN Hao-qi^{1,2}, ZHANG Chu-chu^{1,2}, QU Xue^{1,2*}, LIU Chang-sheng^{1,2*}

(1. *Key Laboratory for Ultrafine Materials of Ministry of Education, School of Materials Science and Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China;*

2. *The State Key Laboratory of Bioreactor Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China*)

Abstract: This paper reviewed the application of plant lectins as biomedical materials. The discovery history of plant lectins and its classification were firstly introduced. Then we clearly summarized their applications in targeting drug carrier, stimuli-responsive drug carrier, targeting and stimuli-responsive drug carrier, biological sensors and polymer materials. The advantages as well as the challenges for using plant lectins as bio-function materials were also addressed.

Key words: Plant lectins; Carbohydrate-binding protein; Biomedical materials