

• 综述 •

非天然生物大分子超材料的构建与应用

郭靖, 吴钰周*

(华中科技大学化学与化工学院, 生物医用与防护材料湖北省工程研究中心, 武汉 430074)

摘要:非天然生物大分子超材料是一种具有独特化学结构和功能特性的材料,其功能可能超越自然界中存在的生物大分子,已成为高分子科学领域的研究前沿。这类材料可以被人为地设计与改造,通过(动态)化学修饰、基因工程和超分子自组装技术制备而得,从而拥有超常的光学、电子和机械性能,以及优异的灵活性、响应性、可控性和多样性。因此,非天然生物大分子超材料在生物、医学和材料等领域具有广阔的应用前景。基于此,本文综述了非天然生物大分子超材料的设计及合成方法,并总结了它们在生物传感、催化、医药和纳米材料等多个领域的具体应用,着重强调了它们在解决不同领域复杂问题中的重要性。

关键词:生物大分子 蛋白 核酸 非天然功能 超材料

The Construction and Application of Unnatural Biomacromolecular Metamaterials

GUO Jing, WU Yu-zhou*

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Huazhong University of Science and Technology;
Biomedical and Protective Materials Hubei Engineering Research Center, Wuhan 430074, China)

Abstract: Unnatural biomacromolecule metamaterials are materials with unique chemical structure and functional properties, whose functions can surpass biomacromolecules in nature. It is a new research frontier in the field of polymer science. Such materials can be artificially engineered and modified through (dynamic) chemical modification, genetic engineering, and supramolecular self-assembly, resulting in exceptional optical, electronic, and mechanical properties, as well as excellent flexibility, responsiveness, controllability, and diversity. Therefore, unnatural biomacromolecular metamaterials have broad application prospects in the fields of biology, medicine and materials. Based on the above, this review narrates the design and synthesis methods of unnatural biomacromolecule metamaterials, and summarizes their applications in biosensing, catalysis, medicine, nanomaterials and other fields, emphasizing their importance in solving complex problems in different fields.

Keywords: Biomacromolecule; Protein; Nucleic acid; Biological functionalization; Metamaterial

1999 年, Walser 教授首次提出了一种不同于自然界常规材料的新物质——超材料(Metamaterial),这是一种具有独特物理结构的新型人工复合材料,被认为是深度融合信息科学、材料化学和生物医学等高新技术的研究前沿,具有巨大的发

展空间^[1]。随后这一新颖的概念逐渐延伸至可超越自然界生物材料固有属性的“生物超材料”。与传统生物材料相比,生物超材料可在微观尺度上对材料特性进行人工设计和调控,从而具有超常的工程化微体系结构,表现出灵活性好、响应性快

收稿:2023-07-04;修回:2023-08-09

基金项目:国家重点研发计划合成生物学重点专项(2018YFA0903500);湖北省重点研发计划(2021BAA168)资助

* 通讯联系人:吴钰周, E-mail: wuyuzhou@hust.edu.cn

doi:10.14028/j.cnki.1003-3726.2023.11.010

和可控性高等的特点,是一种极具潜力的生物工程材料,广泛适用于生物传感、生物催化、纳米医学和信息存储等热点领域^[2]。

蛋白、核酸、多糖等生物大分子具有来源广泛、可再生、可降解、结构灵活性强和生物相容性好等特点,但其结构保守,使应用多样化受限,阻碍了其作为“生物大分子超材料”的发展^[3]。随着近年来,化学生物学和合成生物学的快速发展,通过人为地设计和改造生物大分子的结构,可以按需定制具有特定功能的非天然生物大分子,这极大地扩充了它们作为超材料的功能性和应用性。非天然生物大分子超材料结构灵活可调、应用丰富多样的特性,高度依赖于其在设计中引入的非天然模块的结构,以及非天然模块与原始模块自组装过程中,在内部产生的多重相互作用和复杂的结构-功能关系,从而创造出天然生物大分子超材料所不具备的化学结构和功能特性^[4]。

目前,制备非天然生物大分子超材料主要有以下 3 个方法:(1)(动态)化学修饰,其利用蛋白质、核酸和多糖侧链的化学反应性实现修饰过程中的精细调控,同时,借助多样化的修饰位点、多态化的修饰种类、机动化的时空特异性与双向可逆性的反应特性,使动态修饰后的生物大分子的结构多变性和功能复杂性大大增加;(2)基因工程,通过该技术可对天然生物大分子的基因进行改造,以引入新颖的结构-功能特性。特别是基因密码子扩展技术,可直接将功能性的非天然氨基酸、非天然核苷酸或非天然糖碱基定向引入天然生物大分子的结构中,赋予它们新的光、热稳定性、催化活性和传感能力等;(3)超分子自组装,通常情况下,在人为构筑的超常结构中,通过设计和控制各组成元件之间产生超分子相互作用,从而在集成组装后获得特殊的功能,这种作用力依赖于疏水效应、氢键、静电相互作用、主-客体相互作用,以及 pH、酶和聚合方式等因素。然而,与此同时,构建非天然生物大分子超材料也存在一些挑战:(1)生物大分子结构与功能的关系及其自组装过程机制并不清晰,使得设计具有非天然功能的生物大分子更加困难;(2)非天然生物大分子内部结构中人为引入的功能结构或模块与生物大分子之间难以实现完美协同,导致无法获得具有最佳结构稳定性、生物活性、理化性质或功能增强性的超材料;(3)非天然生物材料的设计、开发和测试

仍受限于目前的技术方法和表征手段,并不能实现高时效、高产量和高纯度的制备过程。总而言之,成功构建非天然生物大分子超材料需要对材料设计背后的基础化学、物理、生物学和材料学有深刻理解,同时通过巧妙设计和迭代探索最终获得所需特性。

基于此,本文从非天然生物大分子超材料的构建方法出发,综述了包含(动态)化学修饰、基因工程和超分子自组装等的普适性构筑策略,并根据这些策略自身特点分析其存在的优势与挑战。此外,全面概述了基于蛋白质、肽、核酸和多糖的非天然生物大分子超材料的不同设计,以及在生物传感、催化、医药和纳米材料等多个领域的具体应用(图 1)。最后,就非天然生物大分子超材料在设计、可控制备以及应用探究等方面面临的机遇与挑战做出了展望。

1 非天然大分子超材料的构建策略

由于生物大分子特有的可修饰性和可编码性,在分子层面构建非天然生物大分子超材料可通过对生物大分子的侧链进行(动态)化学修饰来构建,以及利用基因工程技术实现重组表达,从而创造出个性化的非天然生物大分子超材料。其次,在超分子层面,随着生物大分子三维纳米结构构建技术的不断精进,自组装技术和原位矿化也是构建非天然生物大分子超材料的重要研究方法。这些方法可用于构建结构灵活且功能多样的非天然生物大分子超材料。在本节中,将依次介绍上述方法。

1.1 (动态)化学修饰——生物大分子侧链修饰

通过(动态)化学修饰,利用生物大分子的侧链化学反应性构建非天然生物大分子超材料的方法包括以下三种:(1)开发修饰天然生物大分子的生物正交反应,进而在天然生物大分子结构中引入非天然官能团;(2)用人工构筑或非自然的酶或短肽标签标记天然氨基酸或核苷酸,再通过酶的位点特异性修饰构建非天然生物大分子;(3)通过配体导向标记化学在生物系统中选择性标记内源性天然生物大分子,以构建半合成的功能性非天然生物大分子。然而,天然生物大分子存在于复杂的细胞环境中,其分子结构对化学修饰异常敏感,所以,对其进行直接的(动态)化学修饰,需考虑在温和条件下(如接近生理 pH 值和温度的水

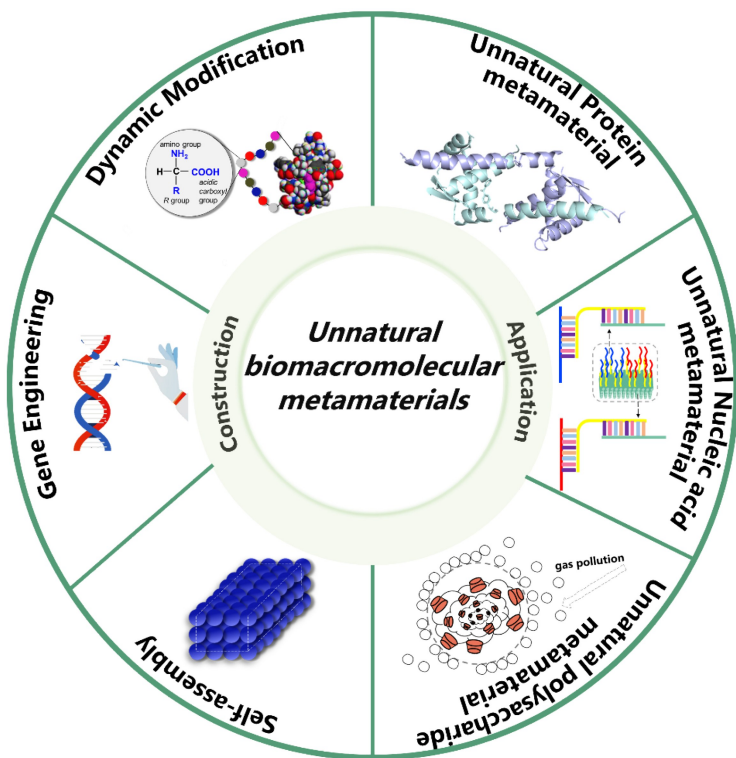


图1 非天然生物大分子超材料的构建策略及应用

Figure 1 Constructing strategies and applications of unnatural biomacromolecule metamaterials

溶液中)和在低浓度(亚毫摩尔)下也能快速反应的方法。另外,对生物大分子进行修饰的反应还应与细胞环境中存在的所有天然物质兼容,包括蛋白质、核酸、碳水化合物和各种代谢物等。

1.1.1 通过生物正交反应构建非天然生物大分子

在化学生物学领域,生物正交反应通常利用“点击化学”的原理在生物体内发生化学反应,这类点击化学反应可在不干扰自身生化反应的情况下,在生物学环境中对生物大分子进行位点特异性修饰,引入非天然化学转化,而且高效率、高选择性和高产率地合成新分子。此外,通常还将点击化学反应与高通量实验技术结合,以在同一时间下开展大量化学反应,实现高通量筛选,可大大加速点击化学反应的实验研究进程^[5]。

就构建非天然生物大分子超材料而言,Cu(I)催化叠氮-炔烃[3+2]环加成反应(CuAAC)和张力驱动的[3+2]环加成反应(SPAAC)是最具有代表性的点击化学反应。2003年,Meldal和Sharpless独立报道了在一价铜盐的催化下,基于叠氮-炔烃的Huisgen 1,3-偶极子环加成反应速率常数可以提高 10^6 倍,这是因为形成了炔铜和双核一价铜中间体,使反应效率大大提高^[6]。CuAAC反应不仅在水相中快速进行,而且能兼

容多数官能团且不会生成副产物。Finn等利用CuAAC反应获得了用非天然荧光染料修饰的Cowpea Mosaic病毒颗粒(CPMV)^[7]。Sharpless等为研究乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AchE),利用CuAAC反应将两类分子片段连接,成功构建了一种具有高活性的AchE抑制剂^[8]。然而,在CuAAC反应中,Cu(I)催化剂是具有细胞毒性的,导致该反应仅能在体外实验中应用。为了解决这一问题,Bertozzi等提出了环张力促进的炔-叠氮[3+2]环加成反应(SPAAC),以完全避免使用Cu(I)催化剂,其采用具有高张力七元环/八元环的炔烃,使该反应仅依靠张力的释放即可完成,无需任何额外的催化剂,即可满足在体内应用的需求^[9]。后来,该团队利用SPAAC反应成功对细胞膜表面的多糖进行荧光修饰,且未对细胞造成任何生理上的损伤^[10]。在此基础上,科学家们又发展了其他的无铜催化反应体系,代表性的是Diels等提出的逆电子需求的Diels-Alder反应^[11](inverse-electron-demand-diels-alder reaction, iEDDA)。利用iEDDA技术,Weissleder等成功实现了对微管蛋白(来源于袋鼠肾组织的肾细胞)的荧光标记^[12]。

以上这三种反应(CuAAC、SPACC、iEDDA)

均具有反应速率高、反应效率高以及立体选择性高的优点,可根据实际的需求与成本限制选择不同的合成方法(图 2a)^[13]。

1. 1. 2 通过酶对生物大分子的位点特异性修饰构建非天然生物大分子

生物酶催化方法可实现生命系统中精准、高效、温和地对生物大分子进行特异性修饰,为非天然生物大分子超材料的构建提供了新的思路(图 2b)^[14]。这种特异性修饰表现在酶可选择性地作用于生物大分子的特定位点(氨基酸残基、糖基、核苷酸等),以实现对生物大分子的修饰;其次,酶对生物大分子的修饰方式多种多样,可通过人为添加化学基团、去除化学基团、改变结构构象等方式实现多种不同类型的修饰反应,扩展修饰的范围和可能性。同时,通过在反应过程中对底物浓度、酶活性、细胞信号通路等的调控,

可使酶更灵活地在指定的条件和环境中对生物大分子进行修饰,以构建出更多样的非天然生物大分子,更好地满足设定的需求。此外,酶对生物大分子的位点特异性修饰反应还具有可逆性,被修饰的生物大分子可通过其他酶的作用或者环境条件的改变恢复到原始状态,如此可以被逆转或调整的修饰过程为非天然生物大分子的构建提供了更大的灵活性和可控性。然而,就酶本身而言,不同的酶存在着各个方面的差异性,所以,在决定使用哪种酶进行特异性修饰时,须考虑到以下这些差异:(1)不同的酶对不同的底物存在特异性差异;(2)不同的酶在进行靶向时,所需的标签大小、修饰位置,以及产生结合动力学存在较大差异。

Anna 等通过酶催化的方法选择性地保护胰胰岛素上的氨基,使其可与任何感兴趣的分子(如

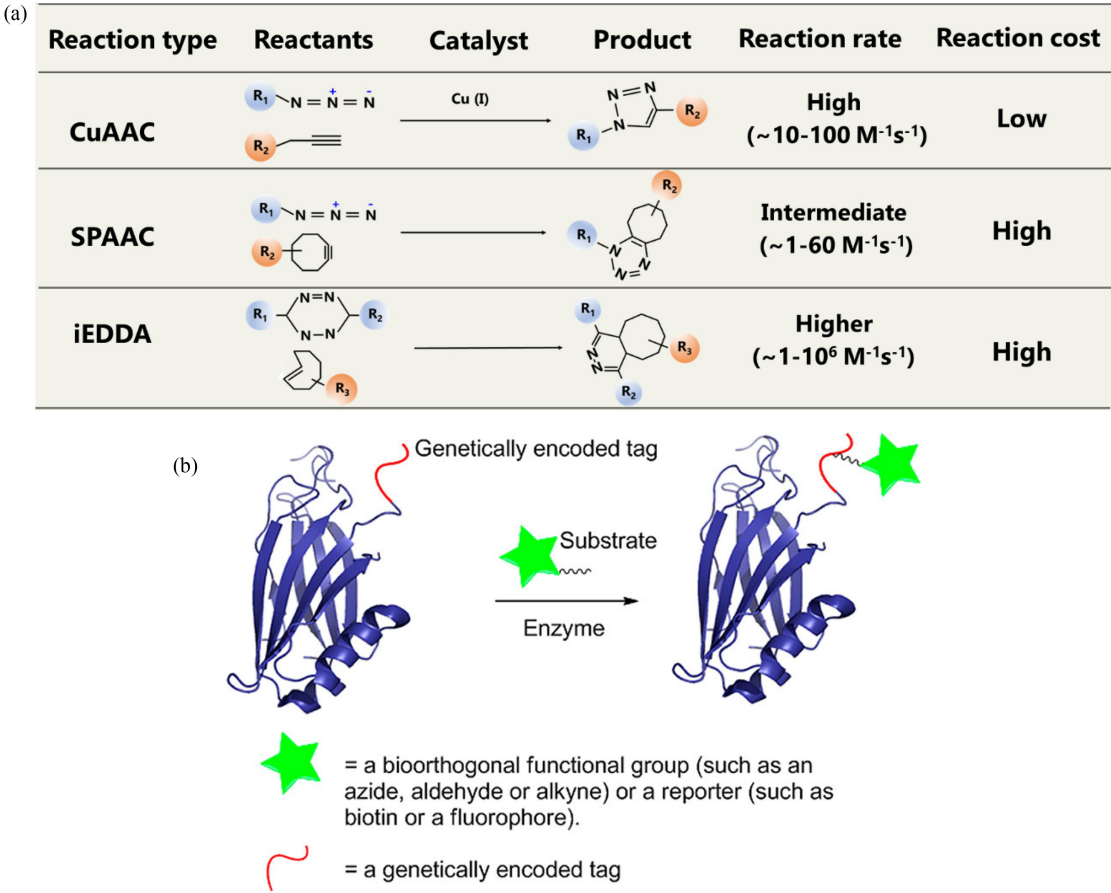


图 2 (a) 三类常见生物正交性环加成反应方法^[13] (2020 Cell Press 版权许可);(b) 基于酶的位点特异性对生物大分子进行修饰的方法^[14] (2013 American Chemical Society 版权许可)

Figure 2 (a) Three general biological orthogonality cycladdition reaction methods (Reprinted with permission from Ref. [13]; Copyright 2020 Cell Press); (b) Enzymatic labeling of proteins: techniques and approaches (Reprinted with permission from Ref. [14]; Copyright 2013 American Chemical Society)

糖、聚乙二醇、多肽)进行位点选择性结合,高效合成了多种修饰化的新型胰岛素及其衍生物^[15]。Neal 等利用筛选的 tRNA 鸟嘌呤转糖基酶(TGT),催化 tRNA 反密码子环状结构区(loop)特定位置的鸟嘌呤(guanine, G)与 7-脱氮鸟嘌呤衍生物发生交换,实现了对单链 DNA 和 RNA 底物的位点特异性共价标记。在此基础上,他们用 TGT 酶识别最小的 loop 结构并将其结合到感兴趣的 RNA 中,使催化目标 G 碱基与可结合功能基团(荧光团或亲和配体)的非天然底物发生交换,开发了 RNA-TAG。对 TGT 底物序列再进一步精进,实现了单链 DNA 的特定定位点共价标记,并成功开发了相应的 DNA-TAG,其能一步实现快速标记几个 DNA 寡核苷酸^[16]。然而,针对目前通过酶的位点特异性修饰构建非天然生物大分子也存在一定的问题,例如酶的浓度要求高,仅能适用于特定的生物大分子序列等。因此,还需要开发更多适用性广、易于操作、反应效率高的酶促特异性生物大分子标记方法。

1.1.3 通过配体导向化学修饰构建非天然生物大分子

为了实现化学方法对生物大分子的选择性修饰,尤其是在细胞内复杂环境中的特异性修饰,利用生物大分子的特异性配体进行导向是一种巧妙的策略。其中,Hamachi 等基于小分子配体与蛋白质间的相互作用,开发了一种配体导向标记(ligand-directed to synthesize, LDT)的化学修饰方法。他们通过人工设计,拉近小分子上的亲电基团与蛋白质上亲核性氨基酸残基的距离,以邻近驱动效应通过共价交联反应,成功地合成了标记型蛋白质^[17]。具体而言,LDT 是利用配体定向甲苯磺酸盐的策略,苯基磺酸段与蛋白质表面靠近配体结合位点的谷氨酸、天冬氨酸、组氨酸、酪氨酸和半胱氨酸残基之间发生双分子亲核取代反应,从而标记反应过程中释放的配体片段,且保留蛋白质的活性,以实现“无痕迹标记”天然生物大分子^[18]。此外,通过配体导向不同分子的化学修饰方法也可对细胞内生物大分子进行化学标记,包括:(1)配体导向酰基咪唑(ligand-directed acylimidazole, LDAI)化学,该方法使用反应性中等的烷基氧酰基咪唑作为蛋白质酰化的反应基团,在活细胞表面上表现出更快速和有效的膜结合叶酸受体标记^[19];(2)配体导向苯甲酸二溴苯酯(lig-

and-directed di-bromophenylbenzoate, LDBB)化学,采用位阻方法使反应基对酶催化的敏感性降低,以避免靶向细胞内源性蛋白质时,被细胞内酶(如酯酶、蛋白酶)降解的问题^[20];(3)配体导向 N-磺酰基吡啶酮(ligand-directed N-sulfonylpyridone, LDSP)化学可快速标记细胞内蛋白和膜蛋白;(4)配体导向 N-酰基-N-烷基磺酰胺(ligand-directed N-acyl-N-alkyl sulfonamide, LDNASA)化学被证明是所有检测的 LD 化学物质(LDT, LDAI, LDBB)中,具有最快反应速率的方法,其二级速率常数达到 $\sim 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ^[21](图 3)。近期,吴钰周等发展了光驱动时空可控的配体导向化学修饰策略,设计了含 2-硝基苯丙氧羰基和 3-羟甲基-2-萘酚组合的多官能光响应桥连片段,分别连接蛋白识别配体和荧光分子,光照下可快速切断连接基团并释放具有高亲电性的邻萘醌-荧光分子片段,从而实现对目标蛋白的选择性修饰^[22]。

1.2 基因工程

基于天然生物大分子的超材料始终存在着由于天然结构导致的可控性差、耐受性低、受限性大的问题,所以常常难以满足超材料设计的复杂需求。尽管前文已经介绍了利用天然生物大分子的(动态)化学修饰方法可改进其用于超材料开发时的弊端,但这种化学反应式的修饰易于导致天然生物大分子变性失活或修饰不充分,而源于基因工程的一系列技术可实现从头改造生物大分子,通过对基因序列的再设计构建出更加理性化的非天然生物大分子。

1.2.1 非天然氨基酸的引入

基因密码子拓展技术(genetic code expansion, GCE)可将具有 20 种天然氨基酸中不存在的结构和功能的非天然氨基酸(unnatural amino acids, UAA)精准引入到蛋白质中,利用与宿主生物正交的氨酰 tRNA 合成酶(aminoacyl-tRNA synthetase, aaRS)/tRNA 对识别 UAA,再通过琥珀型终止密码子 UGA 将 UAA 编码到目标蛋白的特定位点上,由此创造出具有新特性的蛋白质^[23,24]。UAA 的种类多达 200 余种,而且其结构骨架上还携带着各种不同的化学基团(如烯基、卤代烷烃、磺酰基、炔基、叠氮、醌甲基、喹啉基、磷酸基、乙酰基等),再借助不同的化学反应(如亲核取代、光激活、点击化学等)最终完成新蛋白表达的过程。正是由于这些技术中多变的元件,才使非

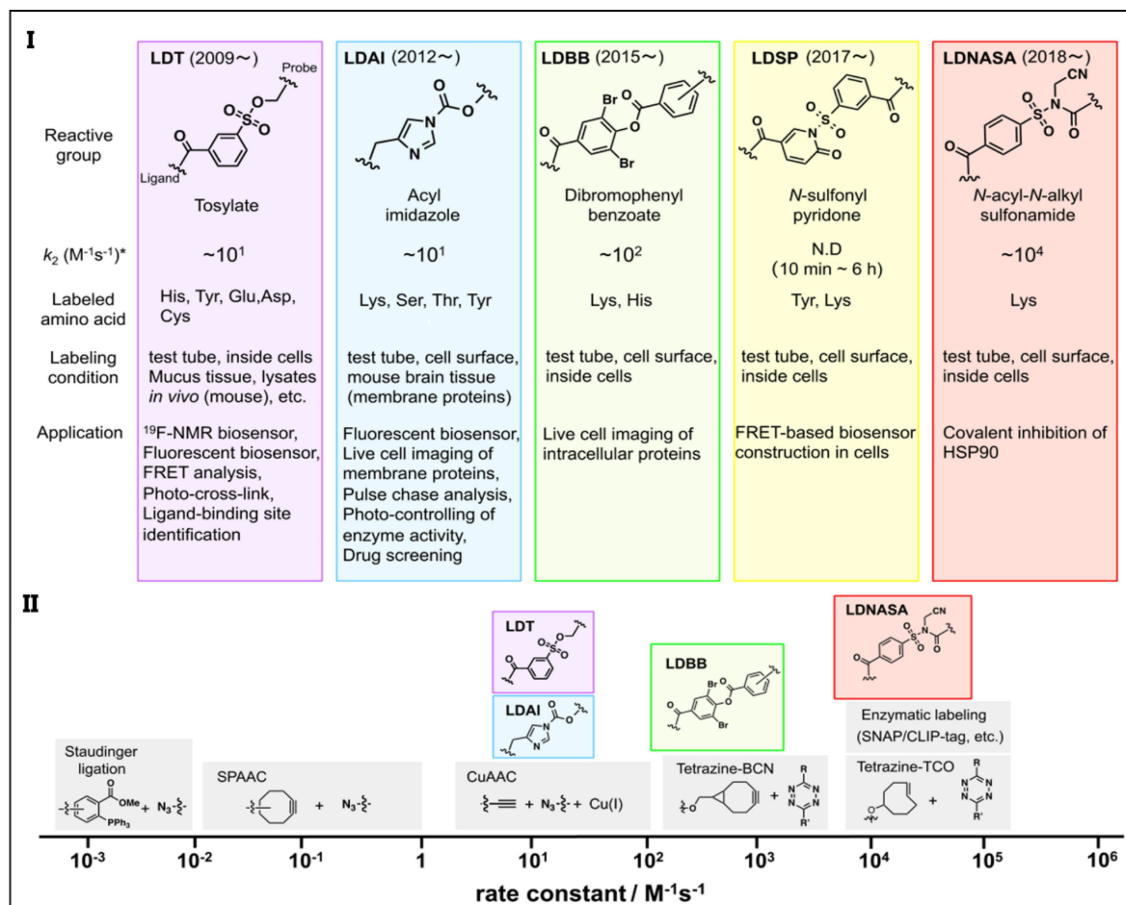


图3 五类常见的配体导向化学方法对比^[21] (2018 American Chemical Society 版权许可)

Figure 3 Chemistry for covalent modification of endogenous/native proteins; from test tubes to complex biological systems (Reprinted with permission from Ref. [21]; Copyright 2018 American Chemical Society)

天然蛋白质超材料的设计和构建具有无限的可能^[25] (图4)。

利用 GCE 技术, Chin 等在大肠埃希菌表达系统中, 将光交联型 UAA-pBpa (p-benzoyl-L-phenylalanine) 特异性地引入到蛋白质中, 构建了独特的光敏蛋白质并研究了它的蛋白功能^[26]。基于此, 研究人员逐渐构建了很多含有 UAA-pBpa 的蛋白质超材料, 例如新型抗癌药物、响应性生物传感器等。另外, 唐娟等通过将荧光型 UAA-Acd (acridone) 结构中的羰基替换成硫代羰基得到 UAA-SAc, 再利用 GCE 技术在大肠杆菌系统中将 UAA-SAc 引入至绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP)、单链抗体片段 (single chain antibody fragment, scFv) 和纤维蛋白原 (fibrinogen, FB) 中。其中, 含有 SAc 的蛋白质经可见光 (470/60 nm, $0.4 \mu W \cdot cm^{-2}$) 照射后逐渐活化, 表现出增强型的荧光特征。以 FB 蛋白为例 (FB-H19SAc), 蓝光照射后, 该蛋白荧光增强了

11 倍^[27]。

此外, 利用 GCE 技术还可以将 UAA 插入到天然酶中, 不仅可用于调节天然酶的活性, 还可提供带有辅助性的催化作用 (例如提供一/几个的金属结合位点), 创造出具有新特性的人工设计酶^[28]。

1. 2. 2 非天然碱基对的插入

非天然核酸超材料可通过在天然核酸的基因序列中插入非天然碱基对 (unnatural base pair, UBP) 来构建。例如, 疏水性 UBP 可增加 DNA 适配体对靶蛋白的亲和力; 被修饰的 UBP 可赋予 DNA 和 RNA 分子荧光标记或其他新的功能。目前, 研究人员已开发出一系列 UBPs 来扩展基因字母表, 其 dNaM-dTPT3、dNaM-d5SICS、dP-dZ 和 dDs-dPx 最为典型^[29] (图5)。

Romesberg 团队通过筛选测试了 3600 个疏水性 UBP, 成功获得理想的碱基对 MMO2-5SICS, 因为 5SICS 的甲基可阻止副反应 5sic-5SICS 自配对的发生, 通过进一步优化 MMO2 的结构, 设计合

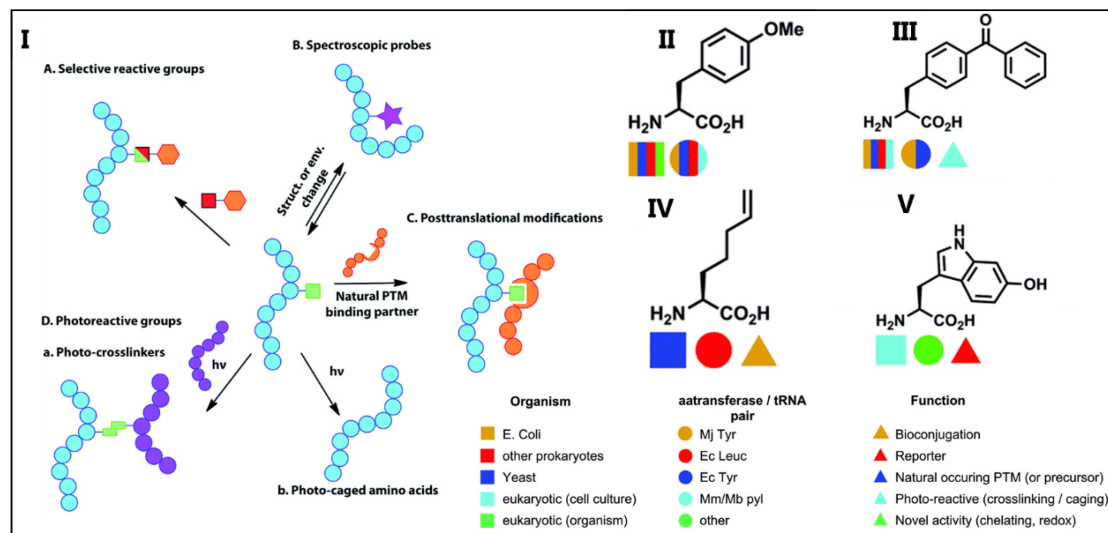


图4 编码非天然氨基酸侧链的主要用途示意图,包括选择性反应基团、光谱探针、自然翻译后修饰和光反应基团(光交联剂和光笼氨基酸)^[25](2015 The Royal Society of Chemistry 版权许可)

Figure 4 Schematic representation of the major uses of genetically encoded UAA side chains, including selectively reactive groups, spectroscopic probes, natural post-translational modifications or mimics and photo-reactive-groups (photo-crosslinkers and photo-caged amino acids) (Reprinted with permission from Ref. [25]; Copyright 2015 The Royal Society of Chemistry)

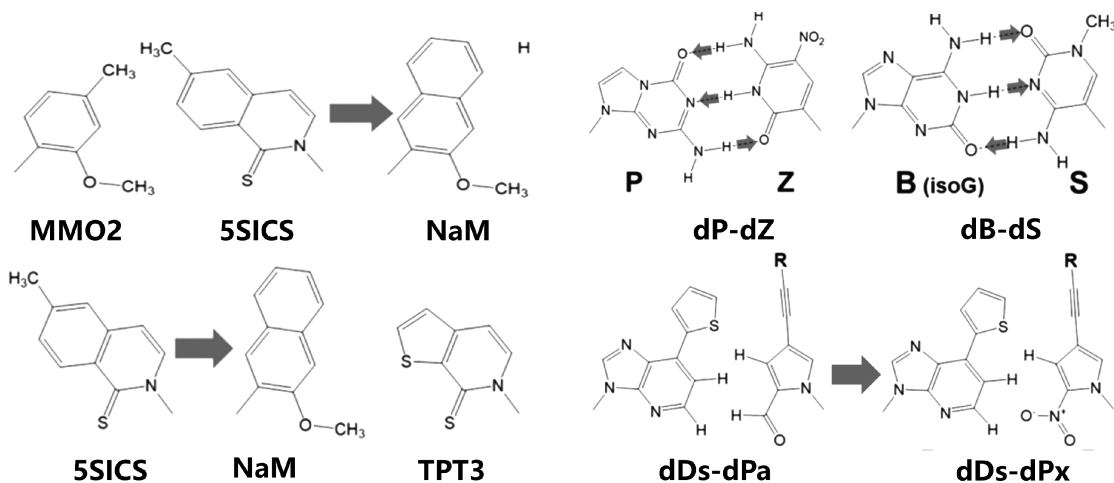


图5 常见非天然碱基对的化学结构^[29](2020 The Royal Society of Chemistry 版权许可)

Figure 5 Chemical structure of common unnatural base pairs (Reprinted with permission from Ref. [29]; Copyright 2020 The Royal Society of Chemistry)

成了更适合与 5SICS 配对的碱基对 dNaM-d5SICS。之后又继续优化 5SICS 的结构,开发出了目前具有高保真 DNA 复制活性的 UBPs 代表——dNaM-dTPT,也是唯一实现在半合成生物体(semi-synthetic organism, SSO)进行蛋白质高效翻译的人工碱基对^[30]。Benner 等设计构建了基于氢键结合的 dZ-dP 碱基对,并将其引入到 DNA 中,研发了一系列六碱基核酸适配体,通过

再次增加一种碱基对 dS-dB,创造了八碱基双链 DNA,这是科学家首次创造出一种合成的“八字母”遗传信息,其分子结构和功能与天然 DNA 相似,但信息存储的能力是天然核酸的 2 倍,极大地扩展了核酸的信息密度,存在着广阔的生物技术应用前景^[31]。Hirao 等筛选出了在聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)系统中,具有高保真度的第一个 UBP——Ds-Pa,后对结构进行

优化,得到了特异性配对的 Ds-Px,其与模板中天然碱基的错配率约小于 0.01% (在每周每 bp 的范围内)^[32]。在 PCR 中,碱基 Px 还能被各种基团修饰,例如用染料偶联 Px 得到 Cy3-hx-dPxTP,再经 PCR 扩增、整合,进入至 DNA 扩增子,生成的 DNA Oligo 具有显著增强的荧光强度^[33]。

1.2.3 蛋白质的设计与定向进化

近年来,随着定向进化、AI 蛋白质设计等技术的发展,通过对生物大分子的基因序列进行设计和进化,从而构建具有非天然功能的蛋白质已经成为新的发展趋势。这些策略在非天然酶的构建中已经展现出了巨大的潜力。通过对天然酶的基因序列再设计与合成,可改造天然酶并构建新型非天然酶,这样的人工酶具有催化效率高、选择性好、可控调节性强、稳定性好且可重复使用的优势,在生物催化、药物合成、环境修复等领域发挥着至关重要的作用。2018 年,Frances 凭借在定向进化技术方面取得的成就获得了诺贝尔化学奖,该技术已在非天然酶的构建领域获得了广泛应用^[34]。酶定向进化技术主要涉及两个方面:(1)基因突变库的建立,这要求尽可能多地在酶蛋白基因水平上人为造成随机突变或重组,再通过基因表达技术获得相应的酶蛋白突变体,以形成庞大的基因突变体库;(2)高通量筛选,将酶蛋白突变体置于人工模拟或特定环境下,定向筛选出高活性、高选择性和高稳定性等的具备理想性状的酶蛋白突变体,再从筛选出的突变体中提取基因作为母本,进入下一轮酶基因突变库的建立,最终实现酶的进化^[35]。

此外,随着人工智能 (artificial intelligence, AI) 的高速发展,科学家们开始通过构建计算机模型设计新材料,并借助数值模拟等方法来预测新材料的结构、性质和功能。以蛋白质为例,在设计和构建非天然蛋白质超材料时,通过联用蛋白质工程技术和 AI 技术,可定制氨基酸序列和折叠模式,产生新的功能基团和结构支架,继而创造出理性化甚至智能化的人造蛋白质^[36]。2017 年,Baker 及其团队在 Rosseta 蛋白结构预测的基础上结合宏基因组数据开发了 Gremlin 软件,不仅能同时对比基因序列,而且可呈现所有可能的同时进化的氨基酸对,该软件被证明适用于 4700 个蛋白质家族^[37](图 6a)。在此基础上,最近他们又开发了一种基于强化学习的蛋白质设计软件,并证明了

其有能力创造有功能的蛋白质^[38](图 6b)。目前,Baker 等借助其团队首创的一系列技术,已成功构建了众多纳米笼形式的非天然蛋白质超材料并实现了大量应用,具体内容将在非天然蛋白质超材料章节讲述。

总的来说,通过在蛋白、核酸、多糖中引入非天然氨基酸或非天然核苷酸,并结合定向进化与 AI 生物大分子设计,能够极大地扩展生物大分子的化学改造空间,可在分子层面重塑天然生物大分子,使其具有更优越、更稳定的性能与功能,以及更广泛的应用场所。同时,也为精准设计和开发高度可操控的、高度工程化的非天然生物大分子超材料带来了超乎想象的可能性。

1.3 超分子自组装

利用超分子自组装策略构建非天然生物大分子超材料的方法主要是通过引入非天然功能模块,设计改造原始天然生物大分子的结构,使新结构中的不同层级间产生新的相互作用和化学反应,并以超分子自组装作用力连接集成各分层,最终形成具有特定功能的结构。为使新的结构表现出最佳的所需性能,可以通过调整自组装过程中的条件(如温度、pH 值和浓度等)进一步优化得到的新结构,以及利用计算机模拟设计超材料的自组装过程,预测超材料在不同条件下的行为。

1.3.1 基于分子间相互作用的蛋白/多肽自组装

超分子自组装技术的组装原理主要是通过非共价相互作用(包括氢键、范德华力、静电相互作用、疏水相互作用、 π -共轭作用以及主-客体相互作用等)将分子组装成特定的结构或功能单元。例如,人为设计并通过固相合成法制备而得的肽材料,不但具有类似于胶原蛋白的三螺旋结构,还可利用分子间氢键等相互作用力自组装成纳米纤维或水凝胶,表现出超越天然胶原的生物相容性,已被广泛应用于组织工程^[39]。若在上述非共价相互作用的体系中,引入金属配位,使这两种相互作用共存,可增强材料的动态特性,有助于制造稳定性好且加工性高的多功能软材料。目前已开发了多种金属诱导的人造组装体。例如,Hosahudya 等利用金属配位聚合,成功构建了具有 12 螺旋结构的 α - γ - α 短杂化螺旋肽,该肽在金属驱动下可进一步凝胶化形成肽基水凝胶,而其结构中的 3D 多孔金属螺旋网络可作为下一步构建具有不同侧链和肽长的功能性金属螺旋肽基超材料的起点^[40]。

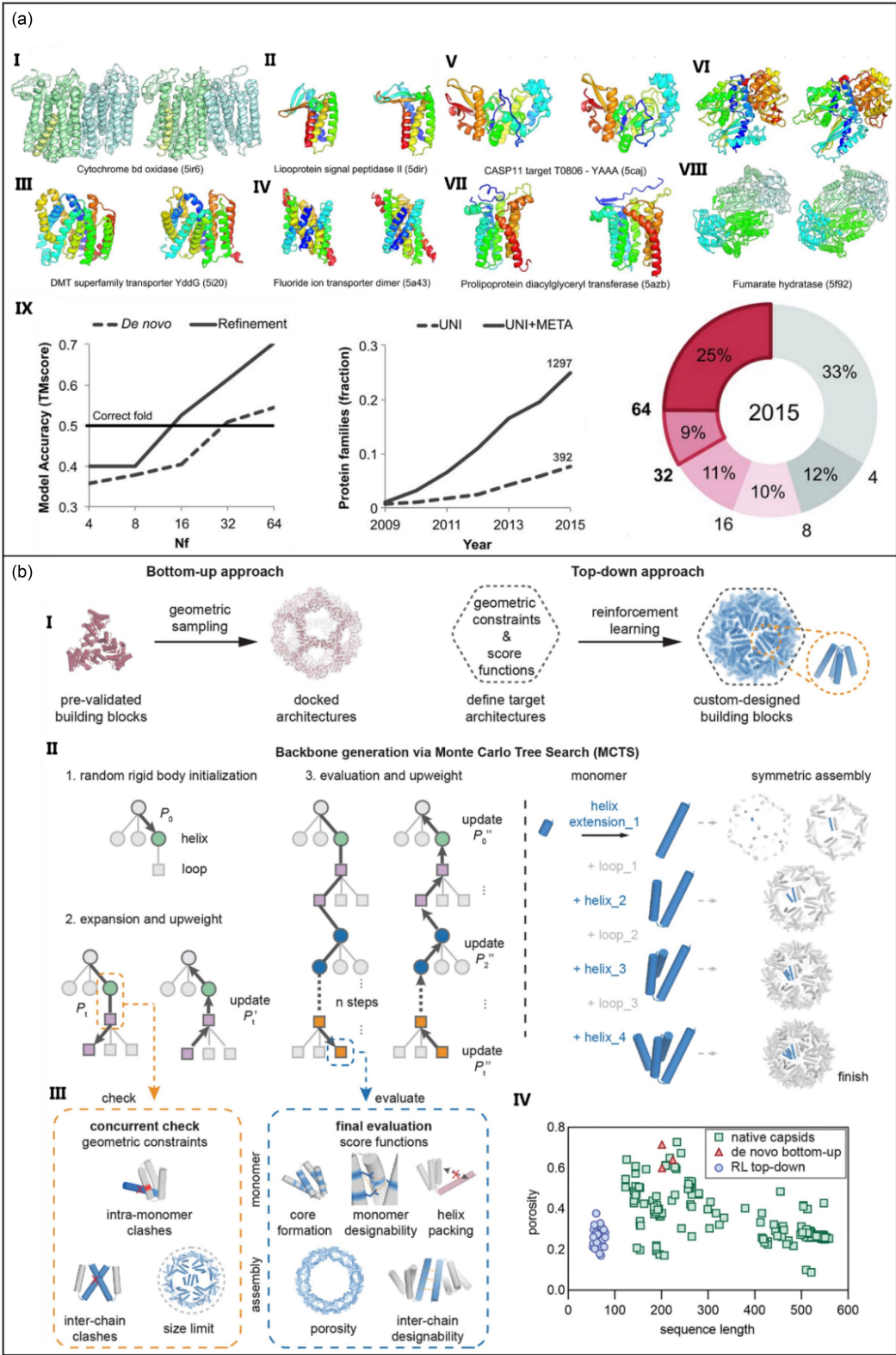


图 6 (a)Rosetta 模型(左)与已开源晶体结构(右)的对比,以及建模结构的精确比例^[37](2017 Science 版权许可);(b)基于强化学习的以自上而下的方式对蛋白质结构进行设计^[38](2023 Science 版权许可)

Figure 6 (a) Comparison of rosetta models (left) to subsequently published crystal structures (right) and metagenome data greatly increased fraction of structures that can be accurately modeled (Reprinted with permission from Ref. [37]; Copyright 2017 Science); (b) Top-down design of protein architectures with reinforcement learning (Reprinted with permission from Ref. [38]; Copyright 2023 Science)

与此同时,利用分子内共价键实现的超分子自组装也可用于设计非天然生物大分子超材料的结构骨架。通过对多肽、核碱基或糖分子进行化学修饰,引入不对称键、手性或者其他活性基团,促使这些大分子自我驱动折叠成预定的二级结构,以产生新性能^[41]。Samuel 等基于天然肽的结构,设计了一种新的非天然生物大分子-合成肽两亲物,在其结构中,亲水域和疏水域间相互作用产生 β -折叠,使此处氨基酸之间的“氢键结合”和尾部的“疏水塌陷”相结合,而后自发组装,形成一种有高光径比的纳米纤维。此外,这种合成肽两亲物还可被设计组装成类似于胶束、囊泡和水凝胶等更大的装配体^[42]。近期,他们通过进一步调控肽序列,在 β -折叠形成于烷基尾部附近的氨基酸之间,发现新设计的结构分子组装成了具有高纵横比的圆柱形和带状纳米纤维,这样的纳米结构表面会显示出高密度的生物信号,可用于靶向和激活某些特定的通路^[43](图 7a)。

此外,超分子自组装技术还可将多个分子组装成具有特定催化活性的结构,以用于构建具有酶活性的人工酶^[44]。而且,通过调控体系中的非共价相互作用,可调节人工酶的结构和稳定性,从而调控其催化活性。例如,王振刚、王会等利用超分子组装将核苷酸、苄氧基羰基修饰的氨基酸和金属铜组装成人工酶模型,展现出类似于铜簇依赖性氧化酶的催化功能,且催化活性超越了迄今为止报道的人工配合物^[45]。通常情况下,通过调节超分子组装体系中的溶剂、温度、酸碱度、光照等条件,可调控人工酶的催化活性和选择性,但在活细胞内对人工酶的催化活性进行调控是具有挑战性的。王树等将含有组氨酸的多肽引入至季戊四醇四巯基丙酸酯,使组氨酸中的咪唑基团作为酯水解酶时的活性催化位点,并且巯基可通过细胞内活性氧引起的氧化交联形成二硫键,最终实现活细胞内的原位组装,形成具有活性氧响应性的人工酶聚集体。当该人工酶处于癌细胞中时,因肿瘤微环境具有较高的活性氧浓度,会表现出更加显著的组装效果并同时激活人工酶的催化活性,使酯水解以释放荧光素,可成功对癌细胞和正常细胞实现选择性荧光成像^[46]。在此基础上,超分子自组装还可将多个不同的功能单元(催化剂、辅酶和底物分子等)组装在一起,构建具有多步骤催化功能的人工酶系统。

1.3.2 核酸自组装纳米技术

具有高度可编程性和动态自组装特性的 DNA 和 RNA 也可作为基石,用于构建具有纳米尺度新结构和复杂功能的核酸超材料。DNA 通过碱基互补配对形成双螺旋结构,通过巧妙的序列设计即可构建出复杂的二维和三维结构。DNA 纳米技术起源于 Seeman 等将十字叉状的 DNA 分子作为 DNA 自组装的材料,构建了“DNA 瓦片”自组装技术,以用于合成纳米尺度的结构和器件。该技术是将 2 条及以上的 DNA 双链的粘性末端和分支结构按自下而上的方式自组装形成一维或二维的 DNA 纳米结构^[47~49]。2006 年,Rothenmund 等进一步提出了“DNA 折纸术”的概念,以一条长单链 DNA 为模板,在数百条短单链 DNA 的辅助下,按自上而下的方式自组装成具有特定尺寸和形貌的二维或三维“折纸结构”,成功构建了矩形、三角形、五角星、六边形和笑脸等多种平面 DNA 图形^[50]。相较于 DNA 瓦片自组装技术,DNA 折纸术不但操作简易高效,对各组分的浓度比例要求低,而且产物的结构复杂程度大大增加。随着 DNA 折纸术的进一步优化和发展,一系列复杂的 DNA 纳米结构被构建出来,例如,不对称的“中国地图”、“蒙娜丽莎的微笑”和“公鸡”^[51,52],以及具有动态小尾巴的“海豚”^[53],展示了这一技术在高精度纳米结构构建方面的突出优势。

除此之外,尹鹏等在 2012 年又提出了一种“DNA-砖块”自组装技术,可用于构建具有超级复杂结构的 DNA 纳米结构,这为进一步扩展用于构建复杂功能化非天然生物大分子超材料的方法提供了新的可能。在该技术中,32 个碱基长的单链 DNA 可折叠成一块单独的 DNA 砖,且每块 DNA 砖与最多 4 个邻居相连,通过不断叠加的方式,可搭建 DNA 三维结构。如今,在该技术的不断优化下,新的 DNA 砖已被构建为具有高度复杂性和稳定性的纳米几何结构,例如,由 3.3 万个 DNA 砖块、170 万个核苷酸组成的大型 DNA 纳米结构,以及由上万个单链砖块组成的“泰迪熊”DNA 纳米图案等^[54]。

在核酸分子中,尽管 RNA 的化学稳定性不如 DNA,但 RNA 也可通过 RNA 纳米技术,自组装形成一维、二维和三维的纳米结构。另外,由于细胞可生产、加工、运输、定位和降解单链 RNA,而

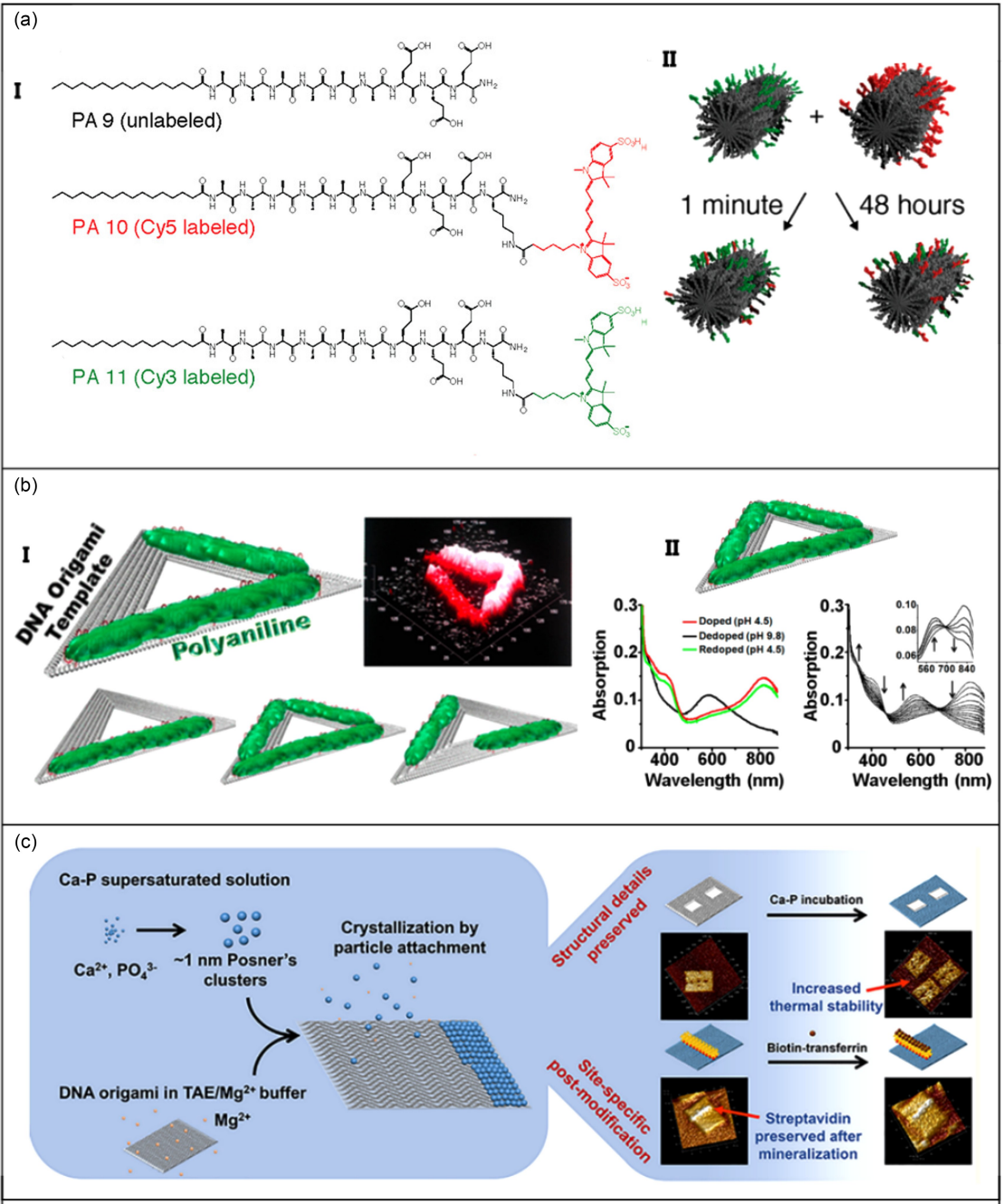


图 7 (a) 基于肽两亲物超分子自组装过程^[43] (2017 American Chemical Society 版权许可); (b) 在平面 DNA 模板上对导电聚合物进行形状控制的纳米编制^[61] (2013 American Chemical Society 版权许可); (c) 以自下而上自组装方式制备磷酸钙-DNA 纳米复合材料^[64] (2021 American Chemical Society 版权许可)

Figure 7 (a) Supramolecular self-assembly process based on peptide amphiphiles (Reprinted with permission from Ref. [43]; Copyright 2017 American Chemical Society); (b) Shape control of conductive polymers on a planar DNA template (Reprinted with permission from Ref. [61]; Copyright 2013 American Chemical Society); (c) Calcium phosphate-DNA nanocomposites were prepared by bottom-up self-assembly (Reprinted with permission from Ref. [64]; Copyright 2021 American Chemical Society)

缺乏生产单链 DNA 的细胞机制,所以 RNA 纳米结构比 DNA 纳米结构更有希望在活细胞内构建和应用。RNA 纳米技术的出现可追溯到 1987 年,Guo 等受到 Seeman 等首创的 DNA 纳米技术的启发,在枯草芽孢杆菌噬菌体 $\varphi 29$ 中发现 6 个单链 RNA 可通过手牵手相互作用,自组装形成六

聚体 RNA 环^[55]。此外,他们还证明了细胞中天然的 RNA 二聚体、三聚体、四聚体和多聚体可按照自下而上的方式实现自组装过程^[56]。随后,Jaeger 等提出了由三级相互作用介导 RNA 自组装的“RNA Tectonics (tecto-RNA) 技术”,该技术类似于 DNA 折纸术,可使多个 RNA 分子通过互补配对和结构约束的相互作用,形成具有特定形状和功能的 RNA 纳米机器和纳米颗粒^[57]。然而,tecto-RNA 技术中的 RNA 组分链是通过固相合成方法合成的,存在合成率随序列长度的增加而显著降低和难以规模化生产的问题。2006 年,Seyhan 等开发了一种更有效生产高质量 RNA 自组装体的方法—滚环转录(rolling circle transcription, RCT)技术,其能够体外转录出可重复性的长 RNA 单链。在 RCT 技术中,通过模拟和设计环状模板可引入各类功能单元,同时调控转录条件,即可高效合形成貌和大小可控、结构致密且稳定的 RNA 自组装纳米结构^[58]。Hammond 等利用 RCT 技术,已成功构建了基于 RNA 的纳米线、纳米膜、纳米花、纳米胶囊和 RNA 水凝胶等^[59]。另外,使 RNA 结合其他化学偶联或引入外源性功能结构,形成杂化自组装过程可有望进一步提高 RNA 自组装体的力学性能、稳定性和致密性,例如,巯基修饰的 RNA 单链通过二硫键实现自组装可提高 RNA 纳米结构的致密性^[60]。

如今,科研工作者为更灵活地制备可编程、分子识别精准和特定生理活性的生物大分子超材料,多将这些技术与其他合成材料相结合进行特定设计。例如,丁宝全、王振刚等已将金、银纳米颗粒和导电聚合物成功组装至 DNA 纳米结构中。他们将一种具有 HRP-mimicking DNAzyme 序列的导电聚合物引入至 DNA 折纸模板表面,以实现共同组装,获得的组装体具备在模板表面成功定位的能力,以此解决了 PANI 形状不可调的问题^[61](图 7b)。另外,樊春海课题组建立了在 DNA 折纸结构的模板上进行精确可控氧化硅矿化的方法,能够依据 DNA 模板形貌的不同,制备出具有精细纳米结构的二维及三维的氧化硅纳米材料,其中 DNA 模板上设计的几纳米的精细孔洞均能够很好地保留,充分说明了该方法的可控性和超高精度^[62]。吴钰周等利用原位聚合策略,建立了 DNA 模板法制备复杂形貌高分子纳米超材料的方法,能够实现不同电荷、不同亲疏水性高分

子纳米材料的精细制备,甚至能够在纳米尺寸灵活制备出高分子“数字”^[63]。同时,吴钰周等借助颗粒附着工艺,以自下而上的自组装方式,设计并制造了可定制功能化的高精度磷酸钙-DNA 纳米复合材料,构建了能够在单分子精度进行可控修饰的无机复合材料^[64](图 7c)。

总的来说,构建非天然生物大分子自组装超材料依赖于对分子构建块的化学组成和分子间动力学的适当控制,从而产生理想的结构。其中,精确的控制通常是一个挑战,因为这可能会影响结构稳定性、组件之间的相互作用或最终材料系统的物理形式。但不难发现,自组装方法在创造具有独特性能和功能的非天然生物大分子超材料方面有重要潜力,为开发从化学到工程和医学等研究领域的相关材料开辟了新的途径。

2 非天然蛋白质超材料

蛋白质是构成细胞、组织和器官的基础物质,是生命体的重要组成部分,参与各类生命活动的过程,包括细胞代谢(如酶催化反应、激素调节等)、信号传导(如受体等信号传导分子)和免疫防御(如抗体、补体等免疫分子)等,被认为是最重要的“生命基石”之一。与此同时,蛋白质还具有高级的层次结构、优异的可编辑性和可设计性、良好的水溶性和生物相容性,所以,基于蛋白质的非天然生物大分子超材料在许多领域都有着巨大的应用潜力,如生物医用多功能材料的开发、智能型封装和递送系统的构建、组织工程、生物催化、生物传感、人工光收集系统的模拟等^[65]。基于蛋白质的非天然生物大分子超材料,通常表现出良好的生物相容性和较低的细胞毒性,被认为非常适合用于药物的高效包封和从生物体中精准释放^[66]。前面已介绍了 Baker 团队在人工设计蛋白质结构方面首创的一些技术,利用这些技术,他们构建了一系列理性化非天然蛋白质超材料并实现了优异的递送效果^[67]。例如,他们通过计算设计,构建了由三聚体蛋白质构建块自组装形成的 25 nm 大小的二十面体纳米笼。随后将 GFP 分子的 120 个副本聚合到该笼子上,由此构建了一种可通过组织内移动的高荧光来帮助研究表征的“纳米灯笼”。然后,将设计的蛋白质五聚体放置在二十面体纳米笼每个面的中心,即可调节笼的入口/出口通道的大小,可用于高度可控的靶向药物输送和疫苗设计^[68]。此外,他们还设计构建了多种十分

灵活的“抗体纳米笼”,与游离抗体相比,其可以精确地将任意抗体同时组装到几何形状可控的纳米笼中,以同时结合多个表面抗原,增强信号激活效应。而且,组装进 CD3 抗体、CD28 抗体和 CD40 抗体的纳米笼产生的共刺激信号可发挥与多抗或者嵌合抗原受体的 T 细胞免疫疗法类似的作用,产生更好的激活效应,这意味着该方法极大地增强了抗体在细胞系统中信号传导时的生物活性,可被深入应用于科学研究和医学应用^[69]。

目前,在热点研究领域“生物催化”中,科研工作者们正致力于构建将蛋白质作为基础组成部分的多酶复合物和人工酶,以突破天然酶的屏障和局限,实现非一般的催化效果,这是非天然蛋白质超材料的重要应用之一^[70]。夏江等提出了一种可通用的自组装策略,成功构建了基于天然蛋白质骨架的多种纳米人工多酶复合物,实现了不同的催化活性。他们以弹性蛋白为连接体,人为设计地将 SpyCatcher 结构域、各种酶的结合结构域和 SpyTag 肽按顺序串联在一起,构建了分级组装的交联型蛋白质支架和离散的环状蛋白质支架,其分别在不同程度上提高了整体的催化活性^[71]。人工酶因可在蛋白质中灵活设计令人满意的高效催化性能和催化反应性而备受关注与期待。近期,吴钰周等构建的人工设计三重态光酶催化 $[2+2]$ 环加成的工作,揭示了一种新型光敏人工酶的设计路线,突破了天然酶热催化机制的局限,从根本上拓展了生物催化的反应类型。团队利用 GCE 技术,将合成的二苯甲酮光敏剂定点插入到选定蛋白的手性空腔中,构建了含非天然催化活性中心的人工光酶 TPe。同时,对光酶进行定向优化,经历四轮突变建立突变体文库,不断迭代并优化酶的氨基酸残基和反应空腔结构,最终获得优异的突变体 TPe4.0。该光酶能高效催化吡啶衍生物的分子内 $[2+2]$ 光环加成反应,所获得的环丁烷并吡啶类产物具备优异的底物普适性和手性选择性(可以获得大于 99% 的单一手性异构体)^[72]。在最新的工作中,团队借助 GCE 技术,重构开发了含化学光催化剂的人工光敏脱卤酶(RPDase),其可通过捕获光子能量来驱动广谱性芳香卤化物的脱卤氢/氧化。与金属辅因子依赖性的天然脱卤酶不同,RPDase 通过完全非天然的光致电子转移催化机制进行,能利用外源性甲酸钠为终端还原剂,以避免天然脱卤酶对还原性辅

酶 NADPH 的依赖。同时,首次展示了在大肠杆菌表达系统中,RPDase 酶进行的全细胞光生物催化,但由于该体系仍依赖于紫外光,所以未来对 RPDase 的生物相容性和潜在的体内应用价值还需进一步提升和探索^[73~75](图 8a)。以上这些应用都利用 GCE 技术人工设计改造天然酶,构建的新型人工酶充分利用了酶的高效选择性和光催化的高反应性,极大地拓展了酶可催化的底物范围,这是天然酶所无法实现的。

借助非天然蛋白质超材料构建人工光捕获系统也是一项重要的应用。太阳能可捕获和转移光,而蛋白质和色素相互作用可形成捕光复合物,因此我们可以充分利用太阳能,借助蛋白质来构建人工光捕获系统,这对利用自然界光合作用,探索类似的仿生工作具有重要意义^[76]。刘俊秋等通过对蛋白质结构中引入的发色团进行精确排列,生动地模拟了天然光捕获系统中色素的排列方式,并以此开发了一种基于可控蛋白质纳米结构的可切换“开-关”人工光捕获系统,他们以环状的热稳定蛋白 SP1 为基元设计了 SP1S98C 突变体,通过动态共价自组装策略构筑了具有氧化还原响应的二维 SP1 蛋白质纳米片层;进一步锚定光催化中心 EY,保证两种碳量子点(CD1 和 CD2)之间的连续能量转移。在该系统中,转移到 EY 中心的效率最高可达 84%^[77](图 8b)。

3 非天然核酸超材料

非天然核酸超材料是具有非天然骨架、碱基或键的人工核酸基构建体,其利用碱基间互补配对识别组装成 2D 或 3D 结构,如智能 DNA 纳米机器人、DNA 马达等,这些材料的发展有助于扩大核酸在生物医用、组织工程、生物传感和纳米科学等领域中应用的多效用性和多功能性^[78]。

非天然核酸超材料具有定制的物理化学性质,通过自组装技术可形成水凝胶和组织工程支架,展现独特的功能和应用。丁宝全等针对活体中传统核酸水凝胶原位成胶速率慢的问题,设计制备了新型的人工核酸水凝胶,他们先对核酸的支链进行化学修饰,再将其作为引物,经核酸末端转移酶催化延伸,构建了长序列共价支链核酸结构,该结构可自发共组装并在 10 s 内在活体伤口处形成水凝胶。同时,新构建的核酸水凝胶表现出良好的装载化疗药物的能力,进一步靶向识别和捕获活体肿瘤细胞,从而高效地抑制了肿瘤的

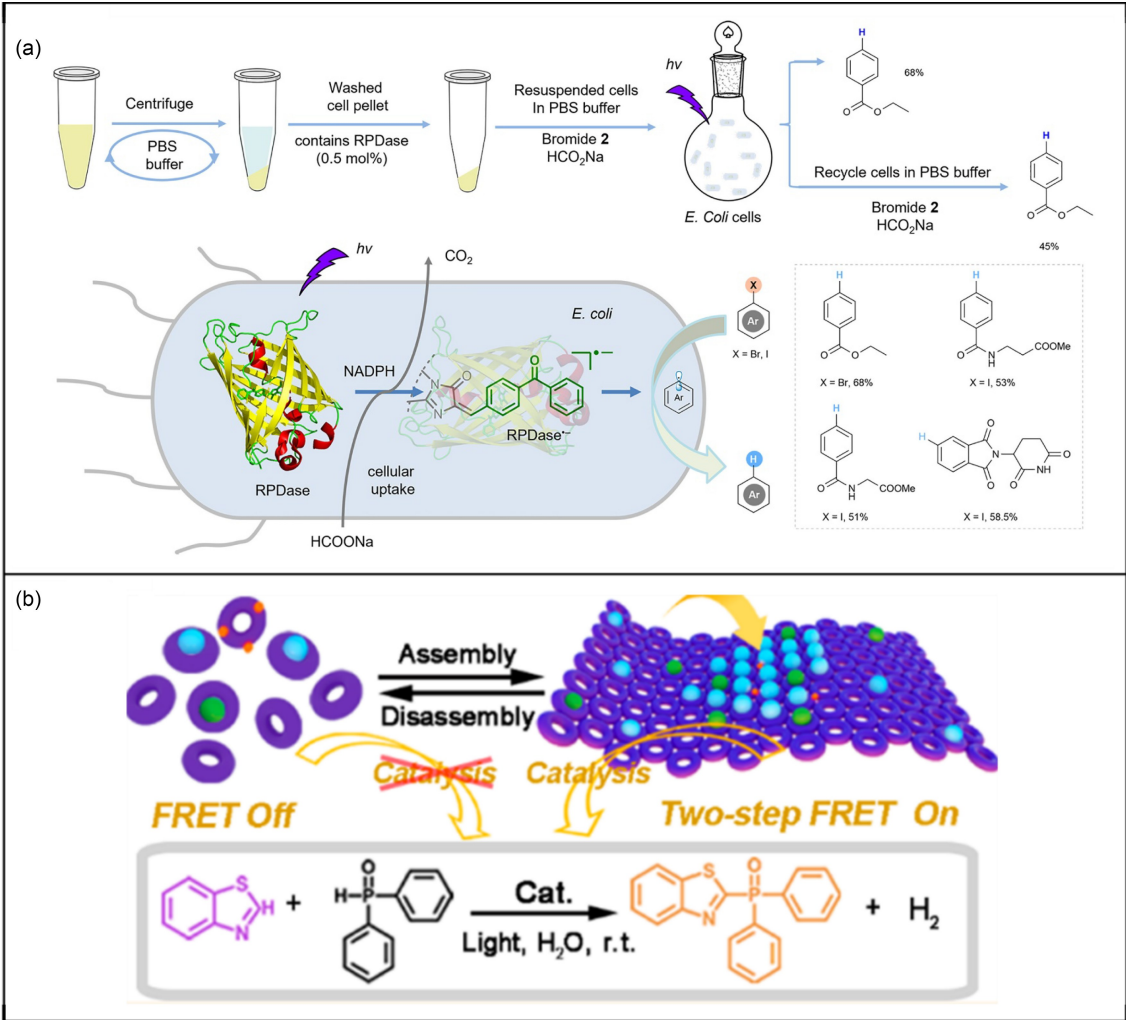


图 8 (a)含有非天然氨基酸的光敏蛋白质吸收光能可驱动卤代芳烃经化脱卤反应^[75]；(2023 American Chemical Society 版权许可)；(b)基于可控蛋白质纳米片的光催化“开/关”可调控的光收集系统^[77]；(2022 American Chemical Society 版权许可)

Figure 8 (a) The absorption of light energy by photosensitive proteins containing unnatural amino acids can drive the hydroxylation dehalogenation of halogenated aromatic hydrocarbons (Reprinted with permission from Ref. [75]; Copyright 2023 American Chemical Society); (b) “ On/Off ” switchable sequential light-harvesting systems based on controllable protein nanosheets for regulation of photocatalysis (Reprinted with permission from Ref. [77]; Copyright 2022 American Chemical Society)

术后复发。除化疗药物外,该水凝胶也能用于装载如核酸药物和抗体蛋白等其他治疗性组分^[79](图 9a)。董原辰等利用 DNA 序列的可设计性,也构筑了一系列智能型核酸超分子水凝胶并已用于检测紫外线辐射和炎症治疗等^[80~82]。此外,具有其他特定自组装纳米结构的人工核酸超材料也可作为装载体高效搭载任意药物分子,并精准靶向细胞表面或胞内的生物标志物,最终成功实现目标分子的可控递送。例如,用 RNA 干扰剂(RNA interference, RNAi)诱导鸡尾酒功能化

的核酸纳米颗粒(nucleic acid nanoparticles, NANPs)已被证明可同时靶向 HIV-1 基因组的多个区域,包括 BS-基质、衣壳、蛋白酶、逆转录酶等^[83]。同时,许多治疗药物诸如紫杉醇、姜黄素、喜树碱等,均已借助核酸纳米载体实现装载和递送,并在癌症治疗中表现出显著的抗肿瘤作用^[84]。纳米载药材料的表面电荷对于其细胞摄取效率和体内分布有着重要影响,为了能够更加系统地研究这一现象,吴钰周等利用前述 DNA 模板法高分子纳米结构合成技术,构建了一系列具有各向异

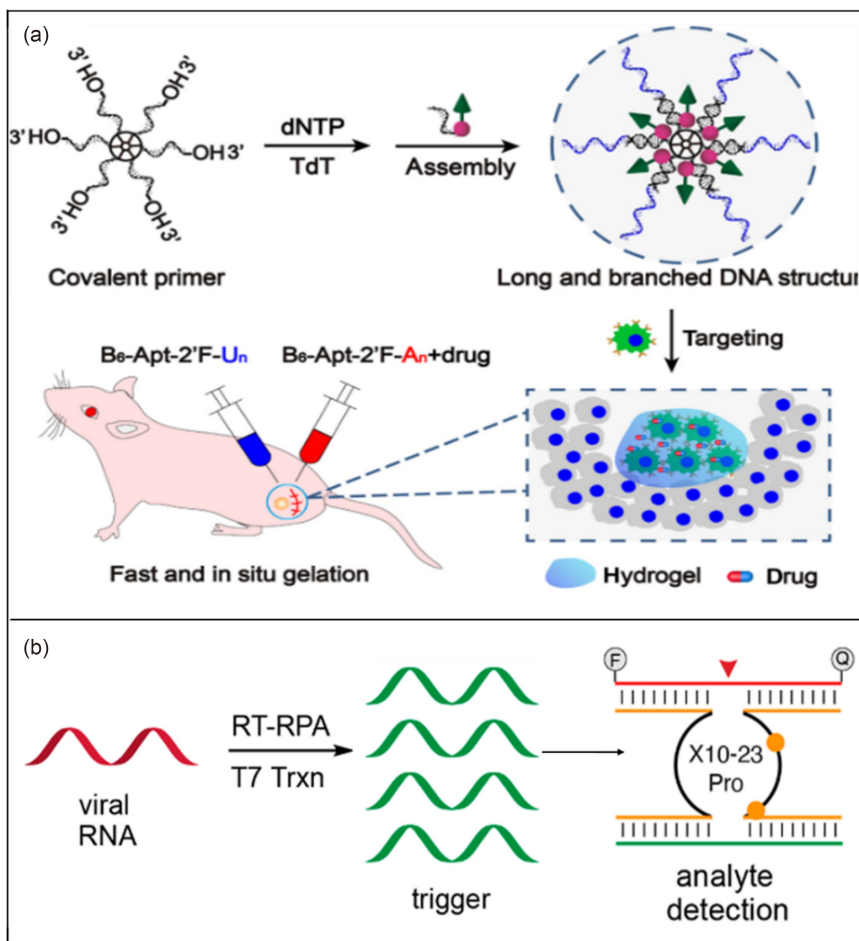


图 9 (a)长序列共价支链核酸结构可在活体中实现快速原位成胶并用于抑制术后肿瘤的复发^[79] (2023 Chinese Chemical Society 版权许可); (b) SARS-CoV-2 多组分核酸检测系统的设计与建立^[87] (2021 American Chemical Society 版权许可)

Figure 9 (a) Long sequence covalent branched nucleic acid structure can achieve rapid in situ gluing in vivo and can be used to inhibit postoperative tumor recurrence (Reprinted with permission from Ref. [79]; Copyright 2023 Chinese Chemical Society); (b) A multicomponent XNAzyme-based nucleic acid detection system for SARS-CoV-2 (Reprinted with permission from Ref. [87]; Copyright 2021 American Chemical Society)

性电荷分布的 DNA-高分子超材料,用于研究细胞摄取对带电量 and 不同电荷分布的偏好。结果发现细胞可能是通过细胞膜内陷依赖的方式对纳米结构进行摄取,而且,对带有相同电荷量的不同纳米结构,通过分隔电荷的方式将有助于获得更高的细胞摄取率。该工作对纳米载药材料的设计和 optimization 具有指导意义^[85]。

此外,非天然核酸超材料也可用于疾病的检测和治疗,目前一系列基于核酸的诊断-治疗纳米器件已得到了广泛的应用。例如,吴钰周等利用 DNA 折纸术构建的低丰度点突变富集纳米机器人,可在癌症早期诊断中检测肿瘤标志物,其对合成 DNA 样本和临床基因样本的检出限分别为

0.1% 和 1%,同时可满足重置性的需求。与传统富集方法相比,该方法操作简单,成本低廉且检测高效^[86]。John 等基于新发现的用非天然核酸修饰的脱氧核酶 X10-23,构建了一个高灵敏度脱氧核酶检测平台 REVEALR (RNA-encoded viral-nucleic acid analyte reporter),其通过将待分析物的预扩增与 X10-23 介导的切割反应结合起来实现检测功能。传统荧光下试纸的侧流条结果分析表明,该平台的检测限可达 20 aM (~10 copies/ μ L),总时间为 1 h,其已被用于检测 SARS-CoV-2 新冠病毒,对比新冠病毒其他的检测方法表现出灵敏、高效且准确的显著优势^[87] (图 9b)。于涵洋等在先前的工作中,通过体外筛选,获得了第一个

具有 RNA 连接酶活性的含非天然糖环的苏糖核酸(threose nucleic acid, TNA)分子 T8-6, 也为 TNA 被视为 RNA 前遗传物质提供了实验证据, 并将该 TNA 成功开发为一种可在核酸化学研究中应用的新分子工具——含 2'-5' 连接的 RNA^[88]。同时, 他们利用毛细管分离技术, 经四轮筛选, 开发了多条含非天然糖环的苏糖核酸适配体, 用于靶向细胞程序性死亡-配体 1(PD-L1)蛋白, 以实现肿瘤免疫治疗, ELISA 竞争实验结果显示, 具有最优阻断效果的 TNA 适体可阻断 PD-1/PD-L1 一半以上的相互作用, 从而使动物实验中小鼠模型的先天性免疫反应被激活, 并且富集在小鼠结肠癌肿瘤部位的 TNT 适体显著抑制了肿瘤生长^[89]。除此以外, 功能性的 NANPs 也可用于调节免疫反应, 提供可控和微调的免疫刺激, 继而实现免疫治疗。Kevin 等利用 NANPs 调节免疫系统以协助癌症治疗, 他们构建的 NANPs 可产生作为刺激因子的 I 型 IFNs 和促炎因子作用于癌症免疫周期, 发生抗癌免疫反应终止癌细胞扩增, 同时增强抗癌效果, 这为 NANPs 用于癌症免疫疗法奠定了基础^[90]。

4 非天然多糖超材料

非天然多糖超材料因具备自然界常规糖类不具备的特性而为许多富有挑战性的研究带来了新的机遇。

在多种需要高性能材料的领域中, 非天然超材料因具有特殊的光电性能、机械性能、传感性能和生物活性, 表现出了巨大的应用潜力。在设计先进的可植入材料方面, Majumdar 等筛选了不同大小和化学功能的环糊精, 并将其添加到胶原蛋白中, 因环糊精和疏水性胶原蛋白的相互作用会影响其组装和纤维结构, 所以可产生与原生角膜相似排列的纤维和片晶材料同时实现高承载和高透光的功能, 这样的设计为先进结构和功能特性的角膜模仿替代品提供了新的策略^[91](图 10a)。在生物传感方面, 陈小元等设计了 β -环糊精包裹的金纳米颗粒(Au NPs)与 1-金刚烷乙酸或四(4-羧基苯基)卟啉之间的主客体识别, 并将其应用于试纸测试区域 Au NPs 的逐层自组装, 实现了在纸基纳米生物传感器上开发一种智能超分子自组装介导的信号放大策略, 并完成了对生物标志物(如加标血清、癌胚抗原、HIV-1 衣壳 p24 抗原等)的灵敏和定制化检测^[92](图 10b)。

由于基于纤维素衍生物的超材料可复制光子结构, 所以在光电学领域得到了广泛且深入的应用^[93]。例如, Caligiuri 等利用纯纤维素和农业废弃物制备了具有微尺度光子结构和纳米尺度超表面的聚合物薄膜。这种纤维素薄膜的折射率和透明度可比拟在可见-近红外光谱中工作的光子结构的特性。进一步在纳米结构的纤维素薄膜上覆盖金, 可形成二维等离子体盘孔矩阵^[94]。Santos 等通过将低分子量的向列型液晶、40-(己氧基)-4-联苯碳腈和细菌纤维素纳米晶体结合在一起, 构建了一种具有手性向列组织的新型的热/电响应光子复合薄膜, 其特点是集虹彩、导电和热性能于一体。该材料的开发对智能窗、光学传感器、显示器件等热光电学器件的发展具有重要的意义^[95]。另外, 非天然多糖超材料还具有特殊的吸附、分离和催化等功能, 可用于环境治理。William 等利用芳香基团使 β -环糊精交联耦合, 得到了一种比表面积高达 $250 \text{ m}^2/\text{g}$ 的 3D 介孔 β -环糊精高分子, 其能与有机物形成主-客体分子的复合物进而吸附有机污染物, 其去除效果超越了活性炭, 该材料对多种有机污染物的吸附速率常数是活性炭的 15~200 倍, 且使用成本可降低至常用炭过滤器价格的一半, 易于工业化制备和应用^[96]。

与此同时, 非天然多糖超材料也被广泛应用于生物医学领域, 例如可用于识别和结合疾病细胞表面的特定受体而发挥治疗作用, 就癌症治疗而言, 其可靶向识别癌细胞和抑制癌细胞扩散, 从而达到抗肿瘤的作用。刘瑞源等基于生物正交反应的靶向策略, 设计构建了一种含有叠氮基的非天然糖, 可高效特异性标记肿瘤细胞^[97]。类似地, 蔡林涛等设计并合成了三种双环[6.1.0]壬炔(BCN)修饰的糖(甘露糖 Ac4ManN-BCN、半乳糖 Ac4GalN-BCN 和葡萄糖 Ac4GluN-BCN), 他们选用 Ac4ManN-BCN 结合肿瘤细胞、Ac4GalNAz 结合 T 淋巴细胞, 并成功为各细胞膜表面分别引入了 BCN 基团和叠氮基团(N3), 由于 N3 与 BCN 间的生物正交点击反应显著增强了 T 淋巴细胞对肿瘤细胞的特异性靶向识别和迁移, 继而使 T 淋巴细胞对不同种类肿瘤细胞的杀伤能力提高了 2~4 倍。此外, 该 T 淋巴细胞还具有作为嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T)用于杀伤 Raji 淋巴瘤细胞的能力^[98](图 11)。还有一些研究工作将非天然多糖超材料用于干扰病毒与宿主细胞间的相互

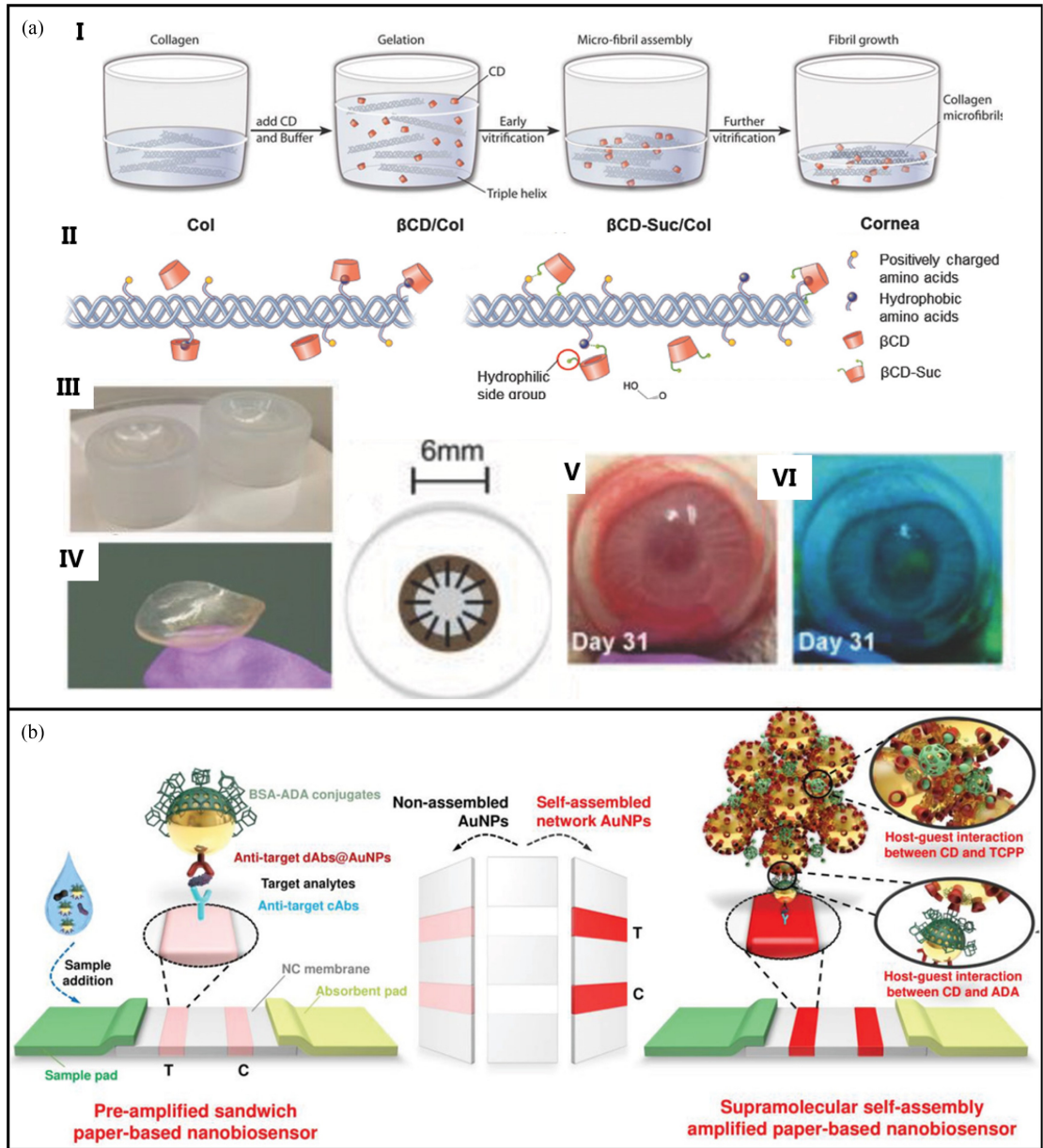


图 10 (a)环糊精和 I 型胶原自组装形成仿生角膜植入物^[91](2018 Wiley 版权许可);(b)超分子识别介导的逐层自组装金纳米颗粒在纸基条带纳米生物传感器中具备可定制化的灵敏度^[92](2019 Wiley 版权许可)

Figure 10 (a) Cyclodextrin modulated type I collagen self-assembly to engineer biomimetic cornea implants (Reprinted with permission from Ref. [91]; Copyright 2018 Wiley); (b) Supramolecular recognition-mediated layer-by-layer self-assembled gold nanoparticles for customized sensitivity in paper-based strip nanobiosensors (Reprinted with permission from Ref. [92]; Copyright 2019 Wiley)

作用,以抑制病毒的入侵和复制,从而起到抗病毒的作用,以及用于调节免疫系统中发挥保护作用,如在器官移植过程中可保护器官免受免疫系统的攻击^[99]。

5 总结与展望

对非天然生物大分子超材料的不断探索,极

大地满足了研究人员对开发具有灵活性结构和特殊功能超材料的需求。与此同时,由于非天然生物大分子超材料的结构具有超常的物理、化学和生物特性,以及良好的生物可降解性、生物相容性和易于成型加工性等,这些显著特征可使非天然生物大分子超材料在生物传感、催化、医学、工程和纳米材料等领域发挥重要作用。

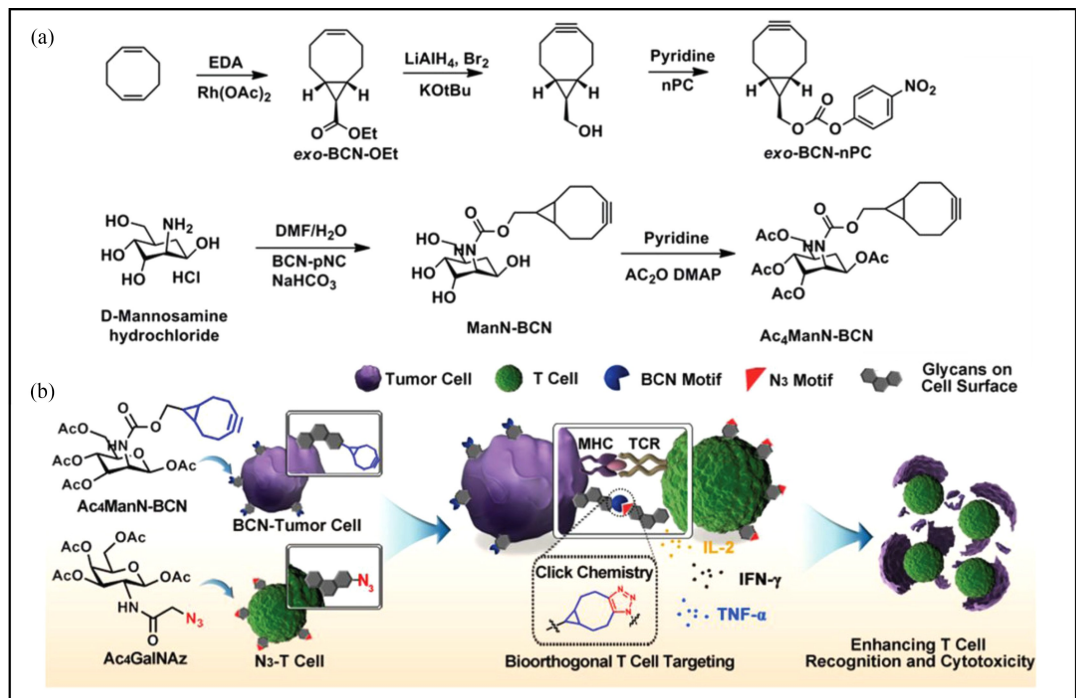


图 11 BCN 改性天然糖 Ac₄ManN-BCN 并通过生物正交乙二醇介导的通用 T 细胞靶向策略增强 T 细胞对肿瘤细胞的识别和细胞毒性^[98] (2019 Wiley 版权许可)

Figure 11 Bio-orthogonal T cell targeting strategy for robustly enhancing cytotoxicity against tumor cells (Reprinted with permission from Ref. [98]; Copyright 2019 Wiley)

在所有的非天然生物大分子材料中,需要特别强调的是非天然蛋白质超材料和非天然核酸超材料,此二者具有高度可设计性和定制性,是创造超常功能材料的新工具。研究人员通过对蛋白和核酸的基因序列、分子结构和功能特性进行人为编程和组合,可获得各种设定的特性,如特异性相互作用、高度亲和力、生物正交性、特殊荧光性,以及生物捕获、催化、传感和治疗等的能力;另一方面, AI 智能技术与非天然蛋白质超材料或非天然核酸超材料的各类构筑技术的联合使用,将为非天然生物大分子超材料的开发和优化提供更加新颖和强大的设计可能性。

如今,非天然生物大分子超材料已在多个领域展现出了强大的应用力。但由于生物大分子结构和功能的复杂性,根据应用需求精准定制非天然生物大分子超材料仍然面临非常大的挑战。现有的生物大分子超材料的构建大多还是在生物大分子天然性质和功能基础上的衍生,而随着人们对生物大分子结构和功能的深入理解,从头设计和定制具有特定功能的非天然生物大分子材料必然会成为未来发展的趋势。丰富多样的生物大分子精准修饰和改造策略为非天然生物大分子超材

料的设计带来更多的灵活性。与此同时,将生物大分子材料与更多丰富的非天然合成材料进行精准复合,并实现天然性能与非天然功能的高效协同,也将进一步拓展非天然生物大分子材料的性能和应用领域。可以预见,非天然生物大分子超材料将在材料科学的各个领域展现出越来越广阔的应用前景,而合成生物学相关产业的快速发展也将为非天然生物大分子超材料的产业转化奠定重要基础。

参考文献:

[1] Zhang, J.; Shao, L.; Li, Z.; Zhang, C.; Zhu, W. Graphene-based optically transparent metasurface capable of dual-polarized modulation for electromagnetic stealth. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2022**, 14(27), 31075-31084.

[2] Sreekanth, K. V.; Alapan, Y.; ElKabbash, M.; Ilker, E.; Hinczewski, M.; Gurkan, U. A.; Luca, A. D.; Strangi, G. Extreme sensitivity biosensing platform based on hyperbolic metamaterials. *Nat. Mater.*, **2016**, 15(6), 621-627.

[3] Cobo, I.; Li, M.; Sumerlin, B. S.; Perrier, S. Smart hybrid materials by conjugation of responsive polymers to biomacromolecules. *Nat. Mater.*,

- 2015**, 14, 143-159.
- [4] Xiong, Y.; Li, N.; Che, C.; Wang, W.; Barya, P.; Liu, W.; Liu, L.; Cunningham, B. T. Microscopies enabled by photonic metamaterials. *Sensors*, **2022**, 22(3), 1086.
- [5] Wang, C.; Yang, J.; Lu, Y. Click chemistry as a connection tool: grand opportunities and challenges. *Chin. J. Catal.*, **2023**, 49, 8-15.
- [6] Rostovtsev, V. V.; Green, L.; Fokin, V.; Sharpless, K. A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective 'ligation' of azides and terminal alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2002**, 41, 2596-2599.
- [7] Barglow, K. T.; Cravatt, B. F. Discovering disease-associated enzymes by proteome reactivity profiling. *Chem. Biol.*, **2004**, 11(11), 1523-1531.
- [8] Krasinski, A.; Radic, Z.; Manetsch, R.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K. B.; Kolb, H. C. *In situ* selection of lead compounds by click chemistry: target-guided optimization of acetylcholinesterase inhibitors. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127(18), 6686-6692.
- [9] Agard, N. J.; Prescher, J. A.; Bertozzi, C. R. A strain-promoted [3+2] azide-alkyne cycloaddition for covalent modification of biomolecules in living systems. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126(46), 15046-15047.
- [10] Chang, P. V.; Prescher, J. A.; Sletten, E. M.; Bertozzi, C. R. Copper-free click chemistry in living animals. *PNAS*, **2010**, 107(5), 1821-1826.
- [11] Blackman, M. L.; Royzen, M.; Fox, J. M. Tetrazine ligation: fast bioconjugation based on inverse-electron-demand Diels-Alder reactivity. *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130, 13518-13519.
- [12] Devaraj, N. K.; Hilderbrand, S.; Upadhyay, R.; Mazitschek, R.; Weissleder, R. Bioorthogonal turn-on probes for imaging small molecules inside living cells. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, 49(16), 2869-2872.
- [13] Parker, C. G.; Pratt, M. R. Click chemistry in proteomic investigations. *Cell*, **2020**, 180(4), 605-632.
- [14] Rashidian, M.; Dozier, J. K.; Distefano, M. D. Enzymatic labeling of proteins: techniques and approaches. *Bioconjug. Chem.*, **2013**, 24(8), 1277-1294.
- [15] Fryszkowska, A.; An, C.; Alvizo, O.; Banerjee, G.; Canana, K.; Cao, Y.; Demong, D.; Devine, P. N.; Duan, D.; Zhong, W. A chemoenzymatic strategy for site-selective functionalization of native peptides and proteins. *Science*, **2022**, 376, 1321-1327.
- [16] Tota, E. M.; Devaraj, N. K. Site-specific covalent labeling of DNA substrates by an RNA transglycosylase. *J. Am. Chem. Soc.*, **2023**, 145(14), 8099-8106.
- [17] Nakata, E.; Koshi, Y.; Koga, E.; Katayama, Y.; Hamachi, I. Double-modification of lectin using two distinct chemistries for fluorescent ratio-metric sensing and imaging saccharides in test tube or in cell. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 13253-13261.
- [18] Tsukiji, S.; Wang, H.; Miyagawa, M.; Tamura, T.; Takaoka, Y.; Hamachi, I. Quenched ligand-directed tosylate reagents for one-step construction of turn-on fluorescent biosensors. *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 9046-9054.
- [19] Fujishima, S.; Yasui, R.; Miki, T.; Ojida, A.; Hamachi, I. Ligand-directed acyl imidazole chemistry for labeling of membrane-bound proteins on live cells. *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134(9), 3961-3964.
- [20] Ghosh, I.; Marzo, L.; Das, A.; Shaikh, R.; König, B. Visible light mediated photoredox catalytic arylation reactions. *Acc. Chem. Res.*, **2016**, 49(8), 1566-1577.
- [21] Tamura, T.; Hamachi, I. Chemistry for covalent modification of endogenous/native proteins: from test tubes to complex biological systems. *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, 141(7), 2783-2799.
- [22] Yu, H.; Wang, S.; Huang, J.; Fu, Y.; Wagner, M.; Weil, T.; Zhong, F.; Zhao, W.; Wu, Y. Light-controlled traceless protein labeling via decaging thio-*o*-naphthoquinone methide chemistry. *Org. Lett.*, **2022**, 24, 6816.
- [23] Willis, J. C. W.; Chin, J. W. Mutually orthogonal pyrrolysyl-tRNA synthetase/tRNA pairs. *Nat. Chem.*, **2018**, 10(8), 831-837.
- [24] Link, A. J.; Mock, M. L.; Tirrell, D. A. Non-canonical amino acids in protein engineering. *Curr. Opin. Biotech.*, **2003**, 14(6), 603-609.
- [25] Dumas, A.; Lercher, L.; Spicer, C. D.; Davis, B. G. Designing logical codon reassignment-expanding the chemistry in biology. *Chem. Sci.*, **2015**, 6(1), 50-69.
- [26] Davis, L.; Chin, J. W. Designer proteins: appli-

- cations of genetic code expansion in cell biology. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2012**, 13(3), 168-182. doi:10.1038/nrm3286.
- [27] Tang, J.; Yu, C.; Lored, A.; Chen, Y.; Xiao, H. Site-specific incorporation of a photoactivatable fluorescent amino acid. *ChemBioChem*, **2020**, 22(3), 501-504.
- [28] Drienovská, I.; Roelfes, G. Expanding the enzyme universe with genetically encoded unnatural amino acids. *Nat. Catal.*, **2020**, 3(3), 193-202.
- [29] Kimoto, M.; Hirao, I. Genetic alphabet expansion technology by creating unnatural base pairs. *Chem. Soc. Rev.*, **2020**, 49, 7602-7626.
- [30] Malyshev, D. A.; Dhimi, K.; Lavergne, T.; Chen, T.; Dai, N.; Foster, J. M.; Corrêa, I. R.; Romesberg, F. E. A semi-synthetic organism with an expanded genetic alphabet. *Nature*, **2014**, 509(7500), 385-388.
- [31] Hoshika, S.; Leal, N. A.; Kim, M.-J.; Kim, M.-S.; Karalkar, N. B.; Kim, H. J.; Bates, A. M.; Watkins Jr, N. E.; SantaLucia, H. A.; Meyer, A. J.; DasGupta, S.; Piccirilli, J. A.; Ellington, A. D.; SantaLucia Jr, J.; Georgiadis, M. M.; Benner, S. A. Hachimoji DNA and RNA: a genetic system with eight building blocks. *Science*, **2019**, 363(6429), 884-887.
- [32] Yamashige, R.; Kimoto, M.; Okumura, R.; Hirao, I. Visual detection of amplified DNA by PCR using a genetic alpha-bet expansion system. *J. Am. Chem. Soc.*, **2018**, 140(43), 14038-14041.
- [33] Qiao, M.; Li, B.; Ji, Y.; Lin, L.; Linhardt, R.; Zhang, X. Synthesis of selected unnatural sugar nucleotides for biotechnological applications. *Crit. Rev. Biotechnol.*, **2021**, 41(1), 47-62.
- [34] Chen, K.; Arnold, F. H. Tuning the activity of an enzyme for unusual environments: sequential random mutagenesis of subtilisin E for catalysis in dimethylformamide. *PNAS*, **1993**, 90, 5618-5622.
- [35] Longwell, C. K.; Labanieh, L.; Cochran J. R. High-throughput screening technologies for enzyme engineering. *Curr. Opin. Biotech.*, **2017**, 48, 196-202.
- [36] David C. Miller, D. C.; Athavale, S. V.; Arnold, F. H. Combining chemistry and protein engineering for new-to-nature biocatalysis. *Nat. Synth.*, **2022**, 1, 18-23.
- [37] Ovchinnikov, S.; Park, H.; Varghese, N.; Huang, P.-S.; Pavlopoulos, G. A.; Kim, D. E.; Kamisetty, H.; Kyrpides, N. C.; Baker, D. Protein structure determination using metagenome sequence data. *Science*, **2017**, 355(6322), 294-298.
- [38] Lutz, I. D.; Wang, S.; Norn, C.; Courbet, A.; Borst, A. J.; Zhao, Y. T.; Dosey, A.; Cao, L.; Xu, J.; Leaf, E. M.; Treichel, C.; Litvicov, P.; Li, Z.; Goodson, A. D.; Rivera-Sánchez, P.; Maria, A. M.; Bratovianu, Baek, M.; King, N. P.; Ruohola-Baker, H.; Baker, D. Top-down design of protein architectures with reinforcement learning. *Science*, **2023**, 380(6642), 266-273.
- [39] Kumar Pal, V.; Roy, S. Cooperative calcium phosphate deposition on collagen-inspired short peptide nanofibers for application in bone tissue engineering. *Biomacromolecules*, **2023**, 24, 2, 807-824.
- [40] Dey, S.; Misra, R.; Saseendran, A.; Pahan, S.; Gopi, H. N. Metal-coordinated supramolecular polymers from the minimalistic hybrid peptide foldamers. *Angew Chem. Int. Ed.*, **2021**, 60, 9863-9868.
- [41] Kim, J.; Dey, J.; Umar, A.; Ha, J. M.; Lee, S. J.; Kim, J.; Choi, S. M. Highly stable nanoparticle supercrystals formed by the aldol reaction in conjunction with slow solvent evaporation. *Chem. Mater.*, **2022**, 34, 15, 6744-6752.
- [42] Hartgerink, J. D.; Beniash, E.; Stupp, S. I. Self-assembly and mineralization of peptide-amphiphile nanofibers. *Science*, **2001**, 294, 1684-1688.
- [43] Hendricks, M. P.; Sato, K.; Palmer, L. C.; Stupp, S. I. Supramolecular assembly of peptide amphiphiles. *Acc. Chem. Res.*, **2017**, 50, 2440-2448.
- [44] Dong, Z.; Luo, Q.; Liu, J. Artificial enzymes based on supramolecular scaffolds. *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, 41, 7890-7908.
- [45] Xu, S.; Wu, H.; Liu, S.; Du, P.; Wang, H.; Yang, H.; Xu, W.; Chen, S.; Song, L.; Li, J.; Shi, X.; Wang, Z. G. A supramolecular metalloenzyme possessing robust oxidase-mimetic catalytic function. *Nat. Commun.*, **2023**, 14, 4040.
- [46] Di, Y.; Zhang, E.; Yang, Z.; Shen, Q.; Fu, X.; Song, G.; Zhu, C.; Bai, H.; Huang, Y.; Lv, F.; Liu, L.; Wang, S. Selective fluorescence imaging of cancer cells based on ROS-triggered in-

- tracellular cross-linking of artificial enzyme. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2022**, 61 (14), e202116457.
- [47] Seeman, N. C. Nucleic acid junctions and lattices. *J. Theor. Biol.*, **1982**, 99(2), 237-247.
- [48] Fu, T. J. ; Seeman, N. C. DNA double-crossover molecules. *Biochemistry*, **1993**, 32, 3211-3220.
- [49] Winfree, E. ; Liu, F. ; Wenzler, L. A. ; Seeman, N. C. Design and self-assembly of two-dimensional DNA crystals. *Nature*, **1998**, 394 (6693), 539-544.
- [50] Rothmund, P. W. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. *Nature*, **2006**, 440 (7082), 297-302.
- [51] Qian, L. ; Wang, Y. ; Zhang, Z. ; Zhao, J. ; Pan, D. ; Zhang, Y. ; Liu, Q. ; Fan, C. ; Hu, J. ; He, L. Analogic China map constructed by DNA. *Chin. Sci. Bull.*, **2006**, 51, 2973-2976.
- [52] Tikhomirov, G. ; Petersen, P. ; Qian, L. Fractal assembly of micrometre-scale DNA origami arrays with arbitrary patterns. *Nature*, **2017**, 552, 67-71.
- [53] Andersen, E. S. ; Dong, M. ; Nielsen, M. M. ; Jahn, K. ; Lind-Thomsen, A. ; Mamdouh, W. ; Gothelf, K. V. ; Besenbacher, F. ; Kjems, J. DNA origami design of dolphin-shaped structures with flexible tails. *ACS Nano*, **2008**, 2(6), 1213-1218.
- [54] Ong, L. L. ; Hanikel, N. ; Yaghi, O. K. ; Grun, C. ; Strauss, M. T. ; Bron, P. ; Lai-Kee-Him, J. ; Schueder, F. ; Wang, B. ; Wang, P. F. ; Kishi, J. Y. ; Myhrvold, C. ; Zhu, A. ; Jungmann, R. ; Bellot, G. ; Ke, Y. G. ; Yin, P. Programmable self-assembly of three-dimensional nanostructures from 10,000 unique components. *Nature*, **2017**, 552(7683), 72-77.
- [55] Guo, P. ; Erickson, S. ; Anderson, D. A small viral RNA is required for *in vitro* packaging of bacteriophage ϕ 29 DNA. *Science*, **1987**, 236, 690-694.
- [56] Guo, P. ; Zhang, C. ; Chen, C. ; Garver, K. ; Trottier, M. Inter-RNA interaction of phage ϕ 29 pRNA to form a hexameric complex for viral DNA transportation. *Mol. Cell.*, **1998**, 2, 149-155.
- [57] Jaeger, L. ; Leontis, N. B. ; Tecto-RNA; one-dimensional self-assembly through tertiary interactions. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 39, 2521-2524.
- [58] Seyhan, A. A. ; Vlassov, A. V. ; Johnston, B. H. RNA interference from multimeric shRNAs generated by rolling circle transcription. *Oligonucleotides*, **2006**, 16(4), 353-363.
- [59] Ma, X. ; Zhang, Y. ; Huang, K. ; Zhu, L. ; Xu, W. Multifunctional rolling circle transcription-based nanomaterials for advanced drug delivery. *Biomaterials*, **2023**, 301, 122241.
- [60] Yoo, H. ; Jung, H. ; Kim, S. A. ; Mok, H. Multivalent comb-type aptamer-siRNA conjugates for efficient and selective intracellular delivery. *Chem. Commun.*, **2014**, 50(51), 6765-6767.
- [61] Wang, Z. G. ; Zhan, P. ; Ding, B. Self-assembled catalytic DNA nanostructures for synthesis of para-directed polyaniline. *ACS Nano*, **2013**, 7 (2), 1591-1598.
- [62] Liu, X. ; Zhang, F. ; Jing, X. ; Pan, M. ; Liu, P. ; Li, W. ; Zhu, B. ; Li, J. ; Chen, H. ; Wang, L. ; Lin, J. ; Zhao, D. ; Yan, H. ; Fan, C. Complex silica composite nanomaterials templated with DNA origami. *Nature*, **2018**, 559 (7715), 593-598.
- [63] Zhang, M. ; Wang, S. ; Li, L. ; Li, M. ; Cheng, X. ; Shi, Y. ; Wu, Y. Digital numbers constructed by fine patterned polydopamine on DNA templates. *Macromol. Rapid Commun.*, **2021**, 42 (21), 2100441.
- [64] Wu, S. ; Zhang, M. ; Song, J. ; Weber, S. ; Liu, X. ; Fan, C. ; Wu, Y. Fine customization of calcium phosphate nanostructures with site-specific modification by DNA templated mineralization. *ACS Nano*, **2021**, 15(1), 1555-1565.
- [65] Cestellos-Blanco, S. ; Zhang, H. ; Kim, J. M. ; Shen, Y. ; Yang, P. Photosynthetic semiconductor biohybrids for solar-driven biocatalysis. *Nat. Catal.*, **2020**, 3(3), 245-255.
- [66] Liu, Q. ; Shaukat, A. ; Kyllönen, D. ; Kostianen, M. A. Polyelectrolyte encapsulation and confinement within protein cage-inspired nanocompartments. *Pharmaceutics*, **2021**, 13(10), 1551.
- [67] Bale, J. B. ; Gonen, S. ; Liu, Y. ; Sheffler, W. ; Ellis, D. ; Thomas, C. ; Cascio, D. ; Yeates, T. O. ; Gonen, T. ; King, N. P. ; Baker, D. Accurate design of megadalton-scale two-component icosahedral protein complexes. *Science*, **2016**, 353 (6297), 389-394.
- [68] Hsia, Y. ; Bale, J. B. ; Gonen, S. ; Shi, D. ; Sheffler, W. ; Fong, K. K. ; Natterman, U. ; Xu, C. ; Haung, P. S. ; Ravichandran, R. ; Yi, S. ;

- Davis, T. D. ; Gonen, T. ; King, N. P. ; Baker, D. Design of a hyperstable 60-subunit protein icosahedron. *Nature*, **2016**, 535(7610), 136-139.
- [69] Divine, R. ; Dang, H. V. ; Ueda, G. ; Fallas, J. A. ; Vulovic, I. ; Sheffler, W. ; Saini, S. ; Zhao, Y. ; Raj, I. X. ; Morawski, P. A. ; Jennewein, M. F. ; Homad, L. J. ; Wan, Y. H. ; Tooley, M. R. ; Seeger, F. ; Etemadi, A. ; Fahning, M. L. ; Lazarovits, J. ; Roederer, A. ; Walls, A. C. ; Stewart, L. ; Mazloomi, M. ; King, N. P. ; Campbell, D. J. ; McGuire, A. T. ; Stamatas, L. ; Ruohola-Baker, H. ; Mathieu, J. ; Veesler, D. ; Baker, D. Designed proteins assemble antibodies into modular nanocages. *Science*, **2021**, 372, eabd9994.
- [70] Liu, M. ; Song, Y. ; Zhang, Y. -H. P. J. ; You, C. Carrier-free immobilization of multi-enzyme complex facilitates *in vitro* synthetic enzymatic biosystem for biomanufacturing. *ChemSusChem*, **2023**, 16(6), e202202153.
- [71] Liu, Z. ; Cao, S. ; Liu, M. ; Kang, W. ; Xia, J. Self-assembled multienzyme nanostructures on synthetic protein scaffolds. *ACS Nano*, **2019**, 13, 10, 11343-11352.
- [72] Sun, N. ; Huang, J. ; Qian, J. ; Zhou, T. ; Guo, J. ; Tang L. ; Zhang, W. ; Deng, Y. ; Zhao, W. ; Wu, G. ; Liao, R. ; Chen, X. ; Zhong, F. ; Wu, Y. Enantioselective [2+2]-cycloadditions with triplet photoenzymes. *Nature*, **2022**, 611, 715-720.
- [73] Fu, Y. ; Huang, J. ; Y. ; Wu, Liu, X. ; Zhong, F. ; Wang, J. Biocatalytic cross-coupling of aryl halides with a genetically engineered photosensitizer artificial dehalogenase. *J. Am. Chem. Soc.*, **2021**, 143, 2, 617-622.
- [74] Guo, H. ; Sun, N. ; Guo, J. ; Zhou, T. ; Tang, L. ; Zhang, W. ; Deng, Y. ; Liao, R. ; Wu, Y. ; Wu, G. ; Zhong, F. Expanding the promiscuity of a copper-dependent oxidase for enantioselective cross-coupling of indoles. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2023**, 62(16), e202219034.
- [75] Fu, Y. ; Liu, X. ; Xia, Y. ; Guo, X. ; Guo, J. ; Zhang, J. ; Zhao, W. ; Wu, Y. ; Wang, J. ; Zhong, F. Whole-cell-catalyzed hydrogenation/deuteration of aryl halides with a genetically repurposed photodehalogenase. *Chem*, **2023**, 9, 1897-1909.
- [76] Guo, S. ; Song, Y. ; He, Y. ; Hu, X. Y. ; Wang, L. Highly efficient artificial light-harvesting systems constructed in aqueous solution based on supramolecular self-assembly. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, 130(12), 3163-3167.
- [77] Li, Y. ; Xia, C. ; Tian, R. ; Zhao, L. ; Hou, J. ; Wang, J. ; Luo, Q. ; Xu, J. ; Wang, L. ; Hou, C. ; Yang, B. ; Sun, H. ; Liu, J. "On/Off" switchable sequential light-harvesting systems based on controllable protein nanosheets for regulation of photocatalysis. *ACS Nano*, **2022**, 16, 5, 8012-8021.
- [78] Yang, K. ; Li, J. ; Lamy de la Chapelle, M. ; Huang, G. ; Wang, Y. ; Zhang, J. ; Xu, D. ; Yao, J. ; Fu, W. A terahertz metamaterial biosensor for sensitive detection of microRNAs based on gold-nanoparticles and strand displacement amplification. *Biosens. Bioelectron.*, **2021**, 175, 112874.
- [79] Lu, X. ; Wang, W. ; Chen, R. ; Wu, T. ; Wu, X. ; Shang, Y. ; Wang, Y. ; Tang, W. ; Liu, D. ; Liu, J. ; Ding, B. Long and covalently conjugated branched DNA structures for *in situ* gelation *in vivo*. *CCS Chem.*, **2023**, 5(9), 2125-2139.
- [80] Ding, Y. ; Li, Y. ; Yang, B. ; Pan, Y. ; Cheng, J. ; Meng, S. ; Liu, D. ; Xu, L. ; Dong, Y. Preparation of photo-responsive DNA supramolecular hydrogels and their application as UV radiometers. *Chem. Res. Chin. Univ.*, **2023**, 39, 115-120.
- [81] Yan, B. ; Zhou, B. ; Li, C. ; Li, X. ; Shi, Z. ; Li, Y. ; Zhu, C. ; Li, X. ; Hua, Y. ; Pan, Y. ; He, J. ; Cao, T. ; Sun, Y. ; Ge, W. ; Yang, Y. R. ; Dong, Y. ; Liu, D. A biostable L-DNA hydrogel with improved stability for biomedical applications. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2022**, 61 (30), e202202520.
- [82] Jin, Y. ; Song, S. ; Ding, Y. ; Dong, Y. ; Lu, Y. ; Liu, D. ; Zhang, C. DNA supramolecular hydrogel as a biocompatible artificial vitreous substitute. *Adv. Mater. Interfaces*, **2022**, 9 (5), 2101321.
- [83] Low, J. T. ; Knoepfel, S. A. ; Watts, J. M. ; ter Brake, O. ; Berkhout, B. ; Weeks, K. M. Shape-directed discovery of potent shRNA inhibitors of HIV-1. *Mol. Ther.*, **2012**, 20(4), 820-828.
- [84] Ashrafizadeh, M. ; Zarrabi, A. ; Hushmandi, K. ; Hashemi, F. ; Rahmani Moghadam, E. ; Raei, M. ; Kalantari, M. ; Tavakol, S. ; Mohammadinejad, R. ; Najafi, M. ; Tay, F. R. ; Makvandi, P. Progress in natural compounds/siRNA co-delivery employing nanovehicles for cancer therapy. *ACS Comb. Sci.*, **2020**, 22, 12, 669-700.

- [85] Shi, Y.; Xu, X.; Yu, H.; Lin, Z.; Zuo, H.; Wu, Y.; Defined positive charge patterns created on DNA nanostructures determine cellular uptake efficiency. *Nano Lett.*, **2022**, 22, 5330.
- [86] Li, L.; Dong, K.; Wang, X.; Zhang, M.; Li, J.; Nussler, A. K.; Xiao, X.; Wang, H.; Wu, Y. DNA origami-based nano-hunter enriches low-abundance point mutations by targeting wild-type gene segments. *Chin. Chem. Lett.*, **2022**, 33(4), 2052-2056.
- [87] Yang, K.; Chaput, G. C. A multicomponent XNAzyme-based nucleic acid detection system for SARS-CoV-2. *J. Am. Chem. Soc.*, **2021**, 143, 24, 8957-8961.
- [88] Wang, Y.; Wang, Y.; Song, D.; Sun, X.; Zhang, Z.; Li, X.; Li, Z.; Yu, H. A threose nucleic acid enzyme with RNA ligase activity. *J. Am. Chem. Soc.*, **2021**, 143, 8154-8163.
- [89] Li, X.; Li, Z.; Yu, H. Selection of threose nucleic acid aptamers to block PD-1/PD-L1 interaction for cancer immunotherapy. *Chem. Commun.*, **2020**, 56, 14653-14656.
- [90] Chen, D. S.; Mellman, I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity*, **2013**, 39(1), 1-10.
- [91] Majumdar, S.; Wang, X.; Sommerfeld, S. D.; Chae, J. J.; Athanasopoulou, E. N.; Shores, L. S.; Duan, X.; Amzel, L. M.; Stellacci, F.; Schein, O.; Guo, Q.; Singh, A.; Elisseeff, J. H. Cyclodextrin modulated type I collagen self-assembly to engineer biomimetic cornea implants. *Adv. Funct. Mater.*, **2018**, 28(41), 1804076.
- [92] Huang, X.; Zhou, Y.; Ding, L.; Yu, G.; Leng, Y.; Lai, W.; Xiong, Y.; Chen, X. Supramolecular recognition-mediated layer-by-layer self-assembled gold nanoparticles for customized sensitivity in paper-based strip nanobiosensors. *Small*, **2019**, 15 (51), 1903861.
- [93] Torres-Huerta, A. L.; Antonio-Pérez, A.; García-Huante, Y.; Alcázar-Ramírez, N. J.; Rueda-Silva, J. C. Biomolecule-based optical metamaterials: design and applications. *Biosensors*, **2022**, 12 (11), 962.
- [94] Caligiuri, V.; Tedeschi, G.; Palei, M.; Miscuglio, M.; Martin-Garcia, B.; Guzman-Puyol, S.; Hedayati, M. K.; Kristensen, A.; Athanasios, A.; Cingolani, R.; Sorger, V.; Salerno, M.; Bonaccorso, F.; Krahne, R.; Heredia-Guerrero, J. A. Biodegradable and insoluble cellulose photonic crystals and metasurfaces. *ACS Nano*, **2020**, 14, 9502-9511.
- [95] Santos, M. V.; Tercjak, A.; Gutierrez, J.; Barud, H. S.; Napoli, M.; Nalin, M.; Ribeiro, S. J. Optical sensor platform based on cellulose nanocrystals (CNC)-4'-(hexyloxy)-4-biphenylcarbonitrile (HOBC) bi-phase nematic liquid crystal composite films. *Carbohydr. Polym.*, **2017**, 168, 346-355.
- [96] Alsaiee, A.; Smith, J. B.; Xiao, L.; Ling, Y.; Helbling, D. E.; Dichtel, W. R. Rapid removal of organic micropollutants from water by a porous β -cyclodextrin polymer. *Nature*, **2016**, 529, 190-194.
- [97] Wang, L.; Xia, Q.; Hou, M.; Yan, C.; Xu, Y.; Qu, J.; Liu, R. A photostable cationic fluorophore for long-term bioimaging. *J. Mater. Chem. B*, **2017**, 5(46), 9183-9188.
- [98] Li, W.; Pan, H.; He, H.; Meng, X.; Ren, Q.; Gong, P.; Jiang, X.; Liang, Z.; Liu, L.; Zheng, M.; Shao, X.; Ma, Y.; Cai, L. Bio-orthogonal T cell targeting strategy for robustly enhancing cytotoxicity against tumor cells. *Small*, **2019**, 15(4), 1804383.
- [99] Kapoor, N.; Uchiyama, S.; Pill, L.; Bautista, L.; Sedra, A.; Yin, L.; Regan, M.; Chu, E.; Rabara, T.; Wong, M.; Davey, P.; Fairman, J.; Zizet, V. Non-native amino acid click chemistry-based technology for site-specific polysaccharide conjugation to a bacterial protein serving as both carrier and vaccine antigen. *ACS Omega*, **2022**, 7, 28, 24111-24120.