为什么要设计酶催化活体自组装?

赵小小^{1,2}, 李莉莉^{1*}, 王浩^{1,2*}

1. 国家纳米科学中心, 中国科学院纳米生物效应与安全性重点实验室, 中国科学院纳米科学卓越创新中心, 北京 100190;

2. 中国科学院大学中丹学院, 北京 100049

* 联系人, E-mail: lill@nanoctr.cn; wanghao@nanoctr.cn

2018-02-06 收稿, 2018-03-23 修回, 2018-03-27 接受, 2018-04-17 网络版发表

国家杰出青年科学基金(51725302)、国家自然科学基金创新研究群体项目(11621505)、国家自然科学基金(51573032, 31671028)和中国科学院青年创新促进会(2017053)资助

摘要 自组装纳米材料在药物递送方面的应用具有巨大的潜能. 其尺寸的可调控性、病理环境响应性等物理化学行为, 使得自组装纳米载体可以通过改进主动靶向、被动靶向、血液长循环等方面来提高药物递送能力. 然而, 相对于大量基础研究的投入, 目前的临床转化依然面临着巨大的挑战. 其中除了药物研发固有的高风险特征外, 其主要原因还包括自组装纳米材料在体的稳定性、递送效率以及代谢毒性等问题. 由此, 我们从自然的自组装过程中得到启发, 率先发展了活体自组装(*in vivo self-assembly*)的策略. 它是指通过将外源性的分子引入到特定的生理和病理环境下, 在细胞、组织甚至活体生物内进行自组装, 形成可控的高级有序结构. 通过调控其在复杂生物环境下时空可控的组装, 从而实现特定的功能. 体内自组装纳米药物具有组装诱导滞留(*assembly induced retention, AIR*)效应, 能够显著增强药物在靶点病灶部位的富集和滞留, 增强递送效率, 提高药物利用率, 同时降低药物在肝肾部位的蓄积, 降低了毒性副作用, 为癌症等重大疾病的诊断和治疗提供了新思路和新策略.

关键词 活体自组装, 酶催化, 多肽, 长效滞留

小分子造影剂或药物在临床成像和治疗中面临的主要问题是到达疾病部位的效率较低, 很快就会被机体代谢, 并且会对其他器官造成不可避免的副作用. 研究人员构建了自组装的药物递送体系, 例如, 纳米颗粒、纳米囊泡、药物聚合物的复合体等, 旨在将小分子包裹在载体之内, 递送到疾病部位^[1]. 这些载体在增强效率、降低副作用上取得了一定效果, 然而受到过高的间质压力、内源血管状态不好以及过分的粗结缔组织生成的影响, 这些载体的递送能力十分有限. 研究人员进一步通过化学或者物理的方法构建响应的纳米递送体系, 将造影剂或抗癌药物递送到特定疾病部位^[2-7]. 这些技术进一步提高了小分子造影剂诊断的特异性和灵敏性, 提高了药物的

利用率并降低了药物的副作用. 然而, 受到递送效率、稳定性和生物安全性的限制, 纳米药物递送体系研究的高潮却并没有带来临床治疗的进展^[8]. 经过了50多年的研究努力, 仍然只有少数纳米载体, 例如脂质体^[9]、聚乳酸羟基乙酸共聚物^[10]、气凝胶^[11]被应用在特定疾病的临床治疗上. 因此, 我们需要发展新方法来应对提高药物递送效率这一难题. 自组装是指在没有人外力干预的条件下, 组分自发地形成有序的模式或结构的过程^[12,13]. 从遗传物质的形成和转录到多种蛋白的表达, 从细胞分裂到组织、器官的形成, 自组装过程都伴随其中. 生物体离不开高效、特异的酶催化过程和组装的进行, 其中蛋白和多肽的自组装起着重要的作用. 研究特定的酶催化活体

引用格式: 赵小小, 李莉莉, 王浩. 为什么要设计酶催化活体自组装? 科学通报, 2018, 63: 1088–1094

Zhao X X, Li L L, Wang H. Enzyme-catalysed *in vivo* self-assembly (in Chinese)? Chin Sci Bull, 2018, 63: 1088–1094, doi: 10.1360/N972018-00148

组装过程,有利于我们利用生物体本身的特性来设计材料,来达到对疾病的增效增敏的诊断和治疗^[14,15]。

1 生物体内的酶促自组装

生物体中多肽和蛋白的自组装离不开酶的催化作用,它们共同参与维持了机体的功能和结构^[15]。细胞外基质和细胞骨架中的结构蛋白是由多肽自组装形成的,例如细胞骨架蛋白微管是由 α -微管蛋白和 β -微管蛋白的二聚体在鸟嘌呤核苷酸(guanosine 5'-triphosphate, GTP)的催化作用下自组装形成的长纤维^[16],细胞基质或者结缔组织中含有丰富的胶原蛋白纤维,它通常是由三股甘氨酸-脯氨酸-羟脯氨酸的多肽重复序列螺旋形成胶原,并在酶的催化作用下自组装形成纤维^[17]。一些疾病也与蛋白自组装密切相关。淀粉样是一种长且无支链的蛋白纤维,许多神经退行性疾病都与蛋白聚集组装形成淀粉样纤维有关^[18],例如,阿尔兹海默症患者脑中发现的淀粉样纤维,它是由淀粉样前蛋白(amyloid precursor protein, APP)在相关酶的剪切下形成的 $A\beta_{42}$ 自组装形成的^[19]。受到体内自组装的启发,我们从小分子多肽的设计出发,并利用生物体内酶的特异性表达和其中某些多肽片段的自组装特性,可以实现酶响应自组装,并用这种策略来监测和干预复杂的生物过程,提高了材料的富集和滞留,从而提高了材料的利用效率。研究生物中的多肽蛋白自组装有利于我们利用体内的酶构建生物相容的响应纳米材料用于增强成像或提高药物递送能力,检测酶活性,调控细胞命运等。因此,酶催化多肽类材料活体自组装,形成超分子聚集体,成为现代纳米医药的前沿性研究方向。

2 活体自组装的材料设计

自组装的材料是由几个到几万个分子的组成,它们在摩尔质量的尺度上是类似于聚合物的超分子体系。与共价连接的聚合物不同的是,它们之间是通过偶极-偶极相互作用、疏水相互作用、静电相互作用、氢键相互作用,以及非特异性范德华相互作用等非共价相互作用来维持组装体的结构和形貌的^[12,20-22]。如上文所述,自然中多种成分和功能都是由蛋白和多肽的自组装体来维持的,因此研究人员对多肽的材料设计和性能展开了充分的研究。多肽既可以来源于20种非必需氨基酸,又可以通过必需

氨基酸合成,氨基酸的侧链的活性基团也可提供许多修饰位点,所以多肽的设计具有许多的可能性。并且,小分子多肽材料合成方便、效率高,能够有效实现高通量筛选并且生物相容性好。所以,它成为了最有潜力的活体自组装的材料之一,合理地设计多肽序列可以达到实践的需要。设计自组装的多肽分子既可以查找已有的生物信息库和结晶图谱,又可以通过计算机模拟来了解多肽的组装特性。实验中筛选出合适的多肽序列通常有两种方法:噬菌体展示和高通量多肽固相合成^[23]。

一些多肽序列的组装行为已经有深入研究。据报道,苯丙氨酸(F)是最少可以组装的氨基酸。最小多肽组装序列是二苯丙氨酸(FF)。这是因为苯丙氨酸侧链的芳香基团之间的 π - π 相互作用可以增强氢键的作用,促进组装结构的形成。从而,有芳香残基的色氨酸、酪氨酸同样能加速形成有序的纤维结构^[24,25]。Adler-Abramovich和Gazit^[26]综述了芳香氨基酸组装体的纳米结构和形貌。在改变溶液浓度、有机相、pH的情况下,含芳香氨基酸的短链多肽及其衍生物能够实现从球体、纤维、纳米管、水凝胶到纳米片层的多种组装形貌,例如苄甲氧羰基-苯丙氨酸-脯氨酸、半胱氨酸-苯丙氨酸-苯丙氨酸等。某些常见的短肽也能发生自组装,例如苄甲氧羰基-精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸。徐兵课题组^[27,28]报道了亲水的短肽在酶的作用下转变成疏水的水凝胶因子最终形成水凝胶,并探究了它的生物应用。磷酸酶是一种容易获得并且效率高的水解酶,磷酸化苄甲氧羰基酪氨酸会被磷酸酶水解,失去侧基磷酸,从而成为疏水的水凝胶因子并发生自组装,形成了水凝胶。进一步实验证明,将 α 氨基酸换成 β 氨基酸的时候,形成的水凝胶有更加长效的生物稳定性。Ulji课题组^[29]报道了嗜热菌蛋白酶能将苄甲氧羰基-丙氨酸/缬氨酸/亮氨酸/苯丙氨酸/脯氨酸和二苯丙氨酸共价连接并形成凝胶。除了侧链含有芳香基团的氨基酸容易形成组装结构之外,另外一些侧链较小的氨基酸之间的氢键作用比较强,它们之间组合起来也容易形成组装体,例如甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸等。

多肽和亲疏水的链段组合成两亲的分子也能够自组装形成多种结构和形貌。Stupp课题组^[30]研究了多肽两亲性分子的设计与组装形貌。一个典型的多肽两亲性分子由4个单元组成,疏水区域、 β 折叠区域(或者其他组装驱动区域)、带电区域和功能区域。其

中疏水区域通常为长链烷烃, 功能区域可设计为RGDS, IKVAV, DGEA等功能多肽. 通常多肽双亲性分子会形成纤维或者纤维束, 这些形成的超分子组装体就能起到控制黏附、增殖、迁移、分化等作用. 这种多肽双亲性分子在蛋白激酶的作用下, 发生侧链磷酸化并失去了组装能力, 再经过碱性磷酸酶的处理, 又能脱去磷酸基团, 恢复组装形貌^[31].

除了短链多肽可用于自组装材料的设计之外, 多肽聚合物及多肽与聚合物的复合物也能形成组装体. Deming课题组^[32]报道了双亲性二嵌段聚合多肽能自组装形成耐热耐压的水凝胶, 例如, 中性亲水的聚-L-赖氨酸氢溴酸盐和聚-L-谷氨酸钠盐与中性疏水的聚-L-亮氨酸和聚-L-缬氨酸能分别组合成嵌段聚多肽 $K_{160}L_{40}$, $K_{160}V_{80}$, $E_{160}L_{40}$ 等. 本课题组^[33]首次实现了在胞内原位聚合并构筑了不同的拓扑结构, 从而形成无规卷曲、纳米颗粒和纳米凝胶等可控形貌. 细

胞内酶催化多肽聚合构建可控的拓扑结构, 通过合理地设计多肽聚合单体, 可以调控聚多肽的理化性质. 并且, 我们进一步在组织水平证实了这一原位聚合组装过程. 这一研究为功能化纳米生物材料的精准设计提供基础(图1). 同时本课题组^[34]也构建了快速简便地筛选自组装聚合物多肽库的策略. 对于多肽不同的反应基团, 可以选择不同的迈克尔加成的方法, 从而将治疗或者靶向多肽与聚合物连接起来并自动形成球形组装体. 这种策略既不损害多肽活性又不需要多余的分离纯化步骤, 通过调节聚合度和修饰接枝比例, 我们可以方便地调节组装体的大小和功能.

除了实验的结果可以帮助设计多肽序列之外, 我们也可以从自然的组装序列之中得到启示. 如上文所述, 胶原蛋白的形成离不开三股 α 螺旋长链缠绕, 并在酶的催化作用下相互连接在一起. Koide课

图1 (网络版彩色)胞内转谷氨酰胺酶催化聚合和原位可控构建纳米结构. 多肽单体由弹性蛋白重复单元、一对或者两对聚合活性位点和功能性的分子组成. 转谷氨酰胺酶将赖氨酸和谷氨酰胺的侧链位点连接形成异肽键, 从而催化聚合. 多肽单体扩散到胞内, 然后在胞内聚合形成拓扑可控的一维(1D)类弹性蛋白无规卷曲结构、三维(3D)类弹性蛋白纳米颗粒和三维类弹性蛋白水凝胶. 这些不同的类弹性蛋白结构展现出多样的生物功能^[33]

Figure 1 (Color online) Schematic illustration of intracellular TGase-catalyzed polymerization and *in situ* controllable construction of nanostructures. The peptide monomer was composed of active sites, and a functional molecule. The TGase-instructed polymerization was performed via formation of isopeptide bond between the side chains of glutamine and lysine. Peptide monomers diffused into cells, and then polymerized intracellularly to form topology-controlled 1D elastin-like polypeptide (ELP) random coil, 3D ELP nanoparticle, and 3D ELP gel. These structure-differentiated ELPs exhibited diverse biological functions^[33]

课题组^[35]模拟胶原蛋白多肽序列,将部分羟脯氨酸替换成精氨酸,使得整个序列带正电,并在多肽链上引入半胱氨酸,三条 α 螺旋链之间通过二硫键连接,三条螺旋链组装形成了细胞穿膜肽。淀粉样 β 中有一段可以组装成 β 折叠二级结构的多肽,即赖氨酸-亮氨酸-缬氨酸-苯丙氨酸-苯丙氨酸(KLVFF),以双苄为疏水聚集作用,KLVFF为成纤维组装驱动力,本课题组^[36]通过分子设计,实现了肿瘤区域pH调控组装结构从球到纤维的转变,并发展了一系列的体内组装形貌调控手段。

从实践和自然中获得了许多启发,有利于我们设计目标功能的序列。同时高通量的多肽合成也使得它的价格更易于接受。多肽是一种生物相容性十分好的材料,多肽用于疾病的诊疗的安全性好、副作用小。因此,多肽材料组装的生物应用取得了许多的经验和进步。

3 活体自组装的在疾病诊断和治疗中的研究进展

肿瘤部位会出现某些特异性或者高表达的酶,通过设计酶响应的单分子,实现酶切响应后的组装,组装体会滞留在病灶部位,这种策略能够明显提高影像分子的敏感度、提高药物分子的功效^[36-39]。饶江宏课题组^[40]报道了利用小分子探针原位自组装实现活体检测caspase酶活性。在一个异种移植的肿瘤模型上,通过化学治疗导致肿瘤细胞凋亡。当出现肿瘤细胞凋亡时,caspase3/7的表达被激活,C-SNAF上的

多肽DEVD能够被激活的caspase剪切掉,从而分子内发生环化并原位聚集,探针分子的滞留增强并显现出荧光。肿瘤细胞没有凋亡的时候,caspase酶出于未激活状态,C-SNAF进入细胞并显示出较低的荧光信号。这一方法可以被用于检测肿瘤活体治疗的效果。梁高林课题组^[41]将这一分子环化后聚集的策略成功地应用于胞内蛋白酶活性的成像。除了成像上的应用之外,梁高林课题组^[42]还报道过利用多肽小分子在细胞内的自组装来克服肿瘤细胞的多药耐药性的研究。CBT-Taxol是紫杉醇衍生物,其分子主链六肽序列中含有精氨酸-缬氨酸-精氨酸-精氨酸(RVRR),这一穿膜肽的使用不仅能增加了药物摄取同时提高了水溶性和生物相容性。胞内酶促紫杉醇纳米颗粒的形成增加了药物浓度同时也增强了循环时间。因此这种多肽载药、胞内释放聚集的策略是一种有效的克服多药耐药性的途径。闫学海课题组^[43]设计了一个卟啉连接多肽的分子,该分子会自发组装形成J型纳米点,在光照的时候,纳米点的荧光完全淬灭、不产生单线态氧、并将光转换成热,因此具有优异的光热、光声成像和光热治疗效果。

本课题组^[44]设计了一个小分子P18-PLGVRGRGD(图2),它可以在肿瘤部位被明胶酶剪切之后,由P18驱动组装形成纤维,这种方法和小分子相比,把P18的滞留量提高了7倍,并显示出明显增强的光声信号和治疗效果,并将这种策略用在细菌的检测和治疗上^[37,39]。另外,Maruyama课题组^[45]报道胞内酶促多肽组装形成水凝胶能够诱导细胞死亡,实现了无药

图2 (网络版彩色)P18-PLGVRGRGD的结构。它在肿瘤部位响应性自组装形成纳米纤维,并显示出组装滞留效果(assembly induced retention, AIR),从而增强了光声成像效果和肿瘤治疗效果^[44]

Figure 2 (Color online) Schematic illustration of the structure of P18-PLGVRGRGD and it responsively self-assembled into nanofibers in tumor sites that exhibited the AIR effect for improving PA imaging signal and tumor therapeutic efficacy^[44]

治疗的效果,克服了药物给身体带来的副作用.这种酶促组装增强肿瘤区域滞留的方法,有效地利用了体内酶环境的特点,实现酶促多肽类分子在体内原位自组装,组装体比小分子在体内代谢更加缓慢,从而这一策略也提高了小分子在肿瘤区域的富集和滞留,因此可以用于增效增敏的肿瘤诊疗.

4 总结与展望

对癌症进行方便快捷的诊断成像以及提高癌症的治愈能力并降低副作用一直都是现代医学的研究

重点. 纳米生物学提出的载药策略为癌症的诊疗研究提供了多种有效的技术方法,然而临床转化遇到许多困难. 我们拓展了这一策略并提出了酶催化活体自组装的方法. 在肿瘤诊疗上,它能进一步提高传统载药策略的效率,同时,以多肽聚合物为自组装的载体材料,也具有好的生物相容性,成为了热门的材料研究领域. 因此,推动多肽聚合物的酶催化活体自组装体系,将能进一步提高肿瘤成像特异性和灵敏性,增强肿瘤治疗分子的利用率和生物相容性,并为推向临床应用带来新希望.

参考文献

- 1 Wang L, Li L L, Fan Y S, et al. Host-guest supramolecular nanosystems for cancer diagnostics and therapeutics. *Adv Mater*, 2013, 25: 3888–3898
- 2 Mura S, Nicolas J, Couvreur P. Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery. *Nat Mater*, 2013, 12: 991–1003
- 3 Du X Z. Controlled assemblies of stimuli-responsive mesoporous silica drug delivery systems for controlled release of drugs (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2017, 62: 519–531 [杜学忠. 刺激响应介孔氧化硅纳米载药系统的可控组装及控制释放性能. 科学通报, 2017, 62: 519–531]
- 4 Wang P, Liu Y G, Wang S B. Research progress of layer-by-layer self-assembled nanocarriers for cancer treatment (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2017, 62: 1233–1240 [王沛, 刘源岗, 王士斌. 层层自组装纳米药物载体在癌症治疗中的研究进展. 科学通报, 2017, 62: 1233–1240]
- 5 Liu Y, Du J J, Choi J S, et al. A high-throughput platform for formulating and screening multifunctional nanoparticles capable of simultaneous delivery of genes and transcription factors. *Angew Chem Int Ed*, 2016, 55: 169–173
- 6 Liu Y, Zhang D, Qiao Z Y, et al. A peptide-network weaved nanoplatform with tumor microenvironment responsiveness and deep tissue penetration capability for cancer therapy. *Adv Mater*, 2015, 27: 5034–5042
- 7 Zhang K, Yang P P, Zhang J P, et al. Recent advances of transformable nanoparticles for theranostics. *Chin Chem Lett*, 2017, 28: 1808–1816
- 8 Leroux J C. Editorial: Drug delivery: Too much complexity, not enough reproducibility? *Angew Chem Int Ed*, 2017, 56: 15170–15171
- 9 Allen T M, Cullis P R. Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, 65: 36–48
- 10 Lu J M, Wang X, Marin-Muller C, et al. Current advances in research and clinical applications of PLGA-based nanotechnology. *Expert Rev Mol Diagn*, 2009, 9: 325–341
- 11 Dolovich M B, Dhand R. Aerosol drug delivery: Developments in device design and clinical use. *Lancet*, 2011, 377: 1032–1045
- 12 Whitesides G M, Grzybowski B. Self-Assembly at all scales. *Science*, 2002, 295: 2418–2421
- 13 Li Z T. How far can we push chemical self-assembly? A personal interpretation (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2016, 61: 2872–2875 [黎占亭. 化学自组装之路: 我们能够走多远? 科学通报, 2016, 61: 2872–2875]
- 14 Yuan Y, Ding Z, Qian J, et al. Casp3/7-instructed intracellular aggregation of Fe₃O₄ nanoparticles enhances T2 MR imaging of tumor apoptosis. *Nano Lett*, 2016, 16: 2686–2691
- 15 Athamneh A I, Barone J R. Enzyme-mediated self-assembly of highly ordered structures from disordered proteins. *Smart Mater Struct*, 2009, 18: 625–628
- 16 Carlier M F, Pantaloni D. Kinetic-analysis of guanosine 5'-triphosphate hydrolysis associated with tubulin polymerization. *Biochemistry*, 1981, 20: 1918–1924
- 17 Kadler K E, Holmes D F, Trotter J A, et al. Collagen fibril formation. *Biochem J*, 1996, 316: 1–11
- 18 Riek R, Eisenberg D S. The activities of amyloids from a structural perspective. *Nature*, 2016, 539: 227–235
- 19 Ross C A, Poirier M A. Protein aggregation and neurodegenerative disease. *Nat Med*, 2004, 10(Suppl): 10–17
- 20 Yagai S, Iwai K, Yamauchi M, et al. Photocontrol over self-assembled nanostructures of pi-pi stacked dyes supported by the parallel conformer of diarylethene. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53: 2602–2606
- 21 Whitesides G M, Mathias J P, Seto C T. Molecular self-assembly and nanochemistry: A chemical strategy for the synthesis of nanostructure.

- Science, 1991, 254: 1312–1319
- 22 Wang J, Liu K, Xing R, et al. Peptide self-assembly: Thermodynamics and kinetics. *Chem Soc Rev*, 2016, 45: 5589–5604
 - 23 Roveri M, Bernasconi M, Leroux J C, et al. Peptides for tumor-specific drug targeting: State of the art and beyond. *J Mater Chem B*, 2017, 5: 4348–4364
 - 24 Zheng W, Gao J, Song L, et al. Surface-induced hydrogelation inhibits platelet aggregation. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 266–271
 - 25 Gao J, Wang H M, Wang L, et al. Enzyme promotes the hydrogelation from a hydrophobic small molecule. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 11286–11287
 - 26 Adler-Abramovich L, Gazit E. The physical properties of supramolecular peptide assemblies: From building block association to technological applications. *Chem Soc Rev*, 2014, 43: 6881–6893
 - 27 Yang Z, Liang G, Xu B. Enzymatic hydrogelation of small molecules. *Acc Chem Res*, 2008, 41: 315–326
 - 28 Gao Y, Zhao F, Wang Q, et al. Small peptide nanofibers as the matrices of molecular hydrogels for mimicking enzymes and enhancing the activity of enzymes. *Chem Soc Rev*, 2010, 39: 3425–3433
 - 29 Toledano S, Williams R J, Jayawarna V, et al. Enzyme-triggered self-assembly of peptide hydrogels via reversed. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 1070–1071
 - 30 Boekhoven J, Stupp S I. 25th anniversary article: Supramolecular materials for regenerative medicine. *Adv Mater*, 2014, 26: 1642–1659
 - 31 Webber M J, Newcomb C J, Bitton R, et al. Switching of self-assembly in a peptide nanostructure with a specific enzyme. *Soft Matter*, 2011, 7: 9665–9672
 - 32 Andrew P N, Victor B, Lisa P, et al. Rapidly recovering hydrogel scaffolds from self-assembling diblock copolypeptide amphiphiles. *Nature*, 2002, 417: 424–428
 - 33 Li L L, Qiao S L, Liu W J, et al. Intracellular construction of topology-controlled polypeptide nanostructures with diverse biological functions. *Nat Commun*, 2017, 8: 1–12
 - 34 Qiao Z Y, Lin Y X, Lai W J, et al. A General strategy for facile synthesis and *in situ* screening of self-assembled polymer-peptide nanomaterials. *Adv Mater*, 2016, 28: 1859–1867
 - 35 Chisato M Y, Ikuniko N, Hiroyuki E, et al. Collagen-like cell-penetrating peptides. *Angew Chem Int Ed*, 2013, 52: 5497–5500
 - 36 Yang P P, Luo Q, Qi G B, et al. Host materials transformable in tumor microenvironment for homing theranostics. *Adv Mater*, 2017, 29: 1605869
 - 37 Li L L, Ma H L, Qi G B, et al. Pathological-condition-driven construction of supramolecular nanoassemblies for bacterial infection detection. *Adv Mater*, 2016, 28: 254–262
 - 38 Huang P, Gao Y, Lin J, et al. Tumor-specific formation of enzyme-instructed supramolecular self-assemblies as cancer theranostics. *ACS Nano*, 2015, 9: 9517–9527
 - 39 Li L L, Qi G B, Yu F, et al. An adaptive biointerface from self-assembled functional peptides for tissue engineering. *Adv Mater*, 2015, 27: 3181–3188
 - 40 Ye D, Shuhendler A J, Cui L, et al. Bioorthogonal cyclization-mediated *in situ* self-assembly of small-molecule probes for imaging caspase activity *in vivo*. *Nat Chem*, 2014, 6: 519–526
 - 41 Ye D, Liang G, Ma M L, et al. Controlling intracellular macrocyclization for the imaging of protease activity. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 2275–2279
 - 42 Yuan Y, Wang L, Du W, et al. Intracellular self-assembly of taxol nanoparticles for overcoming multidrug resistance. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54: 9700–9704
 - 43 Zou Q, Abbas M, Zhao L, et al. Biological photothermal nanodots based on self-assembly of peptide-porphyrin conjugates for antitumor therapy. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 1921–1927
 - 44 Zhang D, Qi G B, Zhao Y X, et al. *In situ* formation of nanofibers from purpurin18-peptide conjugates and the assembly induced retention effect in tumor sites. *Adv Mater*, 2015, 27: 6125–6130
 - 45 Tanaka A, Fukuoka Y, Morimoto Y, et al. Cancer cell death induced by the intracellular self-assembly of an enzyme-responsive supramolecular gelator. *J Am Chem Soc*, 2015, 137: 770–775

Summary for “为什么要设计酶催化活体自组装?”

Enzyme-catalysed *in vivo* self-assembly?

Xiaoxiao Zhao^{1,2}, Lili Li^{1*} & Hao Wang^{1,2*}

¹ CAS Key Laboratory for Biomedical Effects of Nanomaterials & Nanosafety, CAS Center for Excellence in Nanoscience, National Center for Nanoscience and Technology (NCNST), Beijing 100190, China;

² Sino-Danish College, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

* Corresponding authors, E-mail: lili@nanoctr.cn; wanghao@nanoctr.cn

Traditional strategy for specific drug delivering is by constructing a responsive nanocarrier, which prove to effective in increasing drug efficiency and decreasing side effects. Various research can improve delivery efficiency by introducing active targeting, passive targeting and long-term circulation motif to molecular design. Whereas, impute efforts do not correlate with clinical transform.

Researchers are enlightened by self-assembly process in nature, which is happening all the time and all the where, and plays both positive and negative roles in the body. Self-assembly tells that many components will aggregate into specific pattern or structure without other intervening forces. Herein, our strategy is going to construct *in vivo* self-assembly, by instructing molecules to self-assembly into highly-ordered structures under specific biological and pathological sites in terms of cells, tissues and even animals. These assemblies show higher accumulation and longer retention *in-situ*. Therefore, it is promising to achieve enhanced theranostic effect. Enzyme is a widely spread and specific catalyst, it is promising to manipulate enzyme triggered peptide self-assembly in specific disease site.

Peptide self-assembly have been widely researched. Phenylalanine and diphenylalanine are reported minimum self-assembled amino acid and dipeptides. Some self-assembled short peptides and their derivative are rich in aromatic group, e.g., Fmoc-Phe-Arg, Cys- Phe- Phe. Some phosphorylated short peptides are hydrophilic, which would turn into hydrophobic and then self-assemble into hydrogel after phosphatase cleaving phosphate group. Peptide amphiphiles can self-assembled into multi-morphologies and have showed widespread application in regenerative medicine, which also showed enzymatic-controllable self-assembly. Polypeptides, peptide-polymer complexes and nature-derived peptides are also applicable for constructing self-assemble system. Some enzymes are overexpressed in disease site, so we can design enzyme triggered self-assembly, therefore increasing imaging sensitivity and efficiency of chemotherapy, and also showed decreased toxicity duo to biocompatible peptides used. In a word, *in vivo* self-assembly is of great potential to explore its application in disease theranostics.

***in vivo* self-assembly, enzyme catalyzed, peptides, long-term retention**

doi: 10.1360/N972018-00148