

DOI: 10.13376/j.cblls/2019045

文章编号: 1004-0374(2019)03-0316-07

· 技术与应用 ·

噬菌体展示技术鉴定软物质肽适体的研究进展

李玉波, 袁 鸣, 巩 培*

(内蒙古农业大学生命科学学院, 纳米生物医学研究中心, 呼和浩特 010010)

摘 要: 噬菌体展示是筛选高亲和性短肽适体的有效技术, 其最初主要用于鉴定蛋白质的适体, 但目前该技术被越来越多地用于鉴定选择性结合多种高亲和性底物的适体, 这些底物包括天然聚合物、合成聚合物以及各种有机小分子。经此鉴定出的肽适体具有强选择性、高亲和性结合目的底物的能力, 且可调节与底物界面间的相互作用。现在对利用噬菌体展示技术鉴定出的与软物质底物结合的不同肽适体进行综述。

关键词: 噬菌体展示; 软物质; 肽配体

中图分类号: Q782 **文献标志码:** A

Progress on the identification of soft matter-peptide ligands using phage display

LI Yu-Bo, YUAN Ming, GONG Pei*

(Nano Biomedical Research Center, College of Life Science,
Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010010, China)

Abstract: Phage display is an effective technology for the selection of short peptide ligands with high affinity. While it was originally used for the identification of ligands to proteins, phage display technology nowadays has been also increasingly applied to identify ligands that selectively bind with high affinity to a broad range of other substrates including natural and biological polymers as well as a variety of low molecular weight organic molecules. The peptide ligands have strong selectivity, high affinity to bind to the substrate of interest, and facilitates interactions at materials interfaces. This article provided an overview of the identified different peptide ligands that bind to these soft matter targets by using phage display technology.

Key words: phage display; soft matter; peptide ligands

受到自然界生化过程中高度特异性适体与底物相互作用的启发, 噬菌体展示技术被用于鉴定与目标底物高亲和性和选择性结合的短肽序列已有超过30年的时间^[1-2]。1985年, Smith^[3]首次成功实现该技术后, 噬菌体展示已经发展为一种筛选无数生物底物(酶^[4-6]、毒素^[7-8]、受体^[9-10]和结构蛋白^[11-12])的天然或新型肽适体的有效方法。通过表位作图法已证明噬菌体展示技术能够十分有效地鉴定蛋白质结合位点^[13-15]。尽管噬菌体展示技术最初主要用于鉴定生物基质肽配体方面, 但迄今为止该技术的应用范围已显著扩大。目前噬菌体展示技术被越来越多地用于鉴定与固体底物结合的短肽序列^[16-17], 这些固体底物包括金属^[18-19]、陶瓷^[20-23]、碳基材料^[24-25]、

合成或天然聚合物^[26]以及有机小分子^[27]等。这些短肽可与生物分子、合成聚合物底物或纳米颗粒缀合使底物选择性功能化, 或调节底物表面性能。未来噬菌体展示技术在传感器开发^[28-29]、模板矿化^[30-32]等研究方面具有广阔的应用前景。同时, 利用该技术鉴定与软物质表面高亲和性和选择性结合的短肽序列具有无限潜能。本文以举例方式对已利用噬菌体展示技术鉴定出的软物质肽配体进行综述。

收稿日期: 2018-07-09; 修回日期: 2018-08-21

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目(2015MS-0806)

*通信作者: E-mail: gongpei@imau.edu.cn

1 鉴定软物质肽配体的研究进展

本文将依次介绍已经通过噬菌体展示技术鉴定出与合成聚合物、有机小分子和天然聚合物底物结合的肽配体。噬菌体展示技术的第一次应用实例可以追溯到1985年用于对合成聚合物底物肽配体的研究^[3], 其应用于有机小分子合成软物质底物、天然聚合物底物配体的鉴定陆续被报道。

1.1 合成聚合物肽适体的研究进展

本文所讨论的3类底物中, 大部分已被报道的是使用噬菌体展示技术来鉴定合成聚合物的肽适体。表1列出部分被鉴定的不同底物肽适体的序列与选择条件。

1995年, Adey等^[33]首次发现与聚苯乙烯(PS)和聚氯乙烯(PVC)表面结合的肽序列。同年, Caparon等^[34]在寻找链霉素和素结合配体时, 发现了一组“滋扰肽”, 即共识序列WHWWXW, 该序列源于与PVC底物结合的噬菌体。自此, 许多富含色氨酸的多肽序列, 如WXW或WXXW等逐渐被发现。Sanghvi等^[35]利用噬菌体展示技术鉴定出

导电掺杂聚吡咯(PPyCl)表面的肽适体。这些肽适体与细胞黏附序列GRGDS融合, 可促进细胞黏附到PPyCl底物上。在过去的十年里, 聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)^[36]、 α -聚(L-丙交酯)(α -PLLA)^[37]、含偶氮苯的聚甲基丙烯酸酯^[38-39]、聚(2-甲氧基-5-丙氧基磺酸酯-1,4-苯基亚乙烯基)(mpsPPV)^[40]、聚(亚苯基亚乙烯基)(PPV)^[40]的肽适体相继被鉴定。以上研究均表明, 聚合物的立构规整性、体系结构性、结晶性以及其侧链功能基团的构象都可以导致不同肽的富集, 从而鉴定出某聚合物的肽适体。同时, 以无规结构和间同结构的PMMA作为底物进行噬菌体展示技术, 分离出了完全不同的肽序列。Matsuno等^[37]研究显示, 对于选择性结合表面, 具有最高亲和性的肽其表观结合常数比该肽对其他表面的结合常数高6~10倍。他们鉴定出的 α -PLLA肽适体为QLMHDYR序列, 而该序列对 β -PLLA的亲和力十分低, 这表明了肽适体的强专一性。2017年, 噬菌体展示鉴定的合成聚合物肽适体不仅仅用来单独介导底物表面固定化, 还用来合成属性可调

表1 噬菌体展示技术鉴定肽适体的合成聚合物底物

目的底物	肽适体序列	选择条件
PS	SSRLAYDHYFSPWRSYIFW	孵育: 10^{11} 噬菌体/mL + 0.1% PBS + 0.1% BSA (pH 7.4); 洗涤: $5 \times$ PBS; 洗脱: 50 mmol/L Gly HCl (pH 2.0); 循环数: 1
PVC	MQSWYYHWGGGETFPIR	孵育: 10^{11} 噬菌体/mL + 0.1% PBS + 0.1% BSA (pH 7.4); 洗涤: $5 \times$ PBS; 洗脱: 50 mmol/L Gly HCl (pH 2.0); 循环数: 1
PPyCl	THRTSTLDYFVI	孵育: 噬菌体 + 0.1% TBST (pH 7.5); 洗涤: $3 \times 0.1\%$ TBST; 洗脱: Gly HCl (pH 2.2); 循环数: 5
it-PMMA	ELWRPTRQLQKYPARRHLSFTLHLSA	孵育: 4×10^{11} 噬菌体/mL + 0.1% TBST; 洗涤: $5 \times 0.1\%$ TBST; 洗脱: 500 mmol/L Gly HCl (pH 2.2); 循环数: 5
st-PMMA	HKPDANRHPVHPHRLPPWQRQHPRWHTP	孵育: 4×10^{11} 噬菌体/mL + 0.1% TBST; 洗涤: $5 \times 0.1\%$ TBST; 洗脱: 500 mmol/L Gly HCl (pH 2.2); 循环数: 5
st-PS	YLTMPFPFSWEAFAGETRARLGETQCAA	孵育: 3.3×10^{11} 噬菌体/mL + 0.1% TBST; 洗涤: $5 \times 0.1\%$ TBST; 洗脱: 500 mmol/L Gly HCl (pH 2.2); 循环数: 4
α -PLLA	QLMHDYRLSQLTR-RACSKDAANTLRSP	孵育: 4×10^{11} 噬菌体/mL + 0.1% TBST; 洗涤: $3 \times$ TBS; 洗脱: 100 mmol/L Gly HCl (pH 2.2) + 1 mg/mL BSA; 循环数: 4
mpsPPV	HNAYWHWPPSMTHWDPFSL SAYFP	孵育: 3.3×10^{11} 噬菌体/mL + 0.1% TBST; 洗涤: 0.1% TBST + $4 \times$ PBS; 洗脱: 100 mmol/L Gly HCl (pH 2.2); 循环数: 5
PPV	HTDWRLGTWHHS (hyperbranched PPV); ELWSIDTSAHRK (linear PPV)	孵育: 3.3×10^{11} 噬菌体/mL + 0.1% TBST; 洗涤: 0.1% TBST + $4 \times$ PBS; 洗脱: 100 mmol/L Gly HCl (pH 2.2) + 1 mg/mL BSA; 循环数: 5
PDMS	LSNNNRLQPRANF	孵育: 噬菌体 + 0.1%~0.5% TBST (pH 7.5); 洗涤: $3 \times 0.1\%$ TBST; 洗脱: Gly HCl (pH 2.2); 循环数: 3

α -PLLA, α -聚L-丙交酯; BSA, 牛血清白蛋白; it, 全同立构; mpsPPV, 聚2-甲氧基-5-丙氧基磺酸盐-1,4-亚苯基亚乙烯基; PBS, 磷酸盐缓冲盐溶液; PDMS, 聚二甲基硅氧烷; PMMA, 聚甲基丙烯酸甲酯; PPV, 聚亚苯基亚乙烯基; PPyCl, 掺杂聚吡咯; PS, 聚苯乙烯; PVC, 聚氯乙烯; st, 间规立构; TBS, Tris-HCl缓冲盐溶液; 0.1% TBST, Tris-HCl缓冲盐溶液中加入0.1% tween20。

的合成聚合物表面^[41]。Ejima等^[42]已鉴定出水溶性聚(2-甲氧基-5-丙氧基磺酸酯-1,4-亚苯基亚乙炔基)(mpsPPV)的肽适体。他们发现,在水溶液中这类肽与mpsPPV的结合会引起荧光强度的变化,即荧光强度会随着肽量的增加而增强。在水溶液中加入嗜热菌蛋白酶(一种降解肽的酶)后荧光消失,证明以上结论的正确性。此外,Chen等^[38]证明,通过UV照射将偶氮苯基团的构象从顺式转化为反式后,利用噬菌体展示鉴定出已结合到有顺式构象偶氮苯基团的PMMA基底上的肽适体会立即脱落。Swaminathan和Cui^[40]确定了环氧树脂和聚二甲基硅氧烷(PDMS)的肽适体,并提出肽适体在各自底物某些特定区域的微结构区上,其高亲和和选择性结合位点会增加。

1.2 有机小分子肽适体的研究进展

研究表明,有机小分子越来越多地应用于合成

软物质凝胶中^[43-44],鉴定有机小分子肽适体对设计具有理想结构和物理化学性质的凝胶至关重要。利用噬菌体展示技术鉴定选择性结合有机小分子的肽适体,可调节荧光团的荧光强度、选择性检测爆炸物和多环烃以及底物表面图案化。有机小分子可直接以固晶的形式固定在球形珠上或平面基底上,用作噬菌体展示的底物^[45]。表2总结了在噬菌体展示中用作靶标底物的多种有机小分子,并列出了已经鉴定出的相应肽适体。

最初,Rozinov和Nolan^[46]使用多种荧光基团,如Texas Red、Oregon Green 514和荧光素作为底物来鉴定肽适体。他们将已鉴定出的噬菌体进行定点诱变克隆,然后再进一步分选出与各自靶标底物选择性结合的噬菌体,由此得到的新序列与最初鉴定出的序列相比,其对有机小分子具有更高的亲和力。实验证明,这些新序列与荧光团(特别是Texas

表2 噬菌体展示技术鉴定肽适体的有机小分子底物

目的底物	肽适体序列	选择条件
Texas Red	KHVQYWTQMFYSKPVQYWTQMFYT	孵育: 6.0×10^{10} 噬菌体/mL + 0.1% TBST (pH 7.4); 洗涤: 0.1% TBST; 洗脱: 200 mmol/L Gly HCl (pH 2.2) + 1 mg/mL BSA; 循环数: 3~4
Oregon Green514	HGWDYYWDWTAWHEWEYYWDETAW	孵育: 6.0×10^{10} 噬菌体/mL + 0.1% TBST (pH7.4); 洗涤: 0.1% TBST; 洗脱: 200 mmol/L Gly HCl (pH 2.2) + 1 mg/mL BSA; 循环数: 3~4
荧光素	YPNEFDWWDYYY	孵育: 6.0×10^{10} 噬菌体/mL + 0.1% TBST (pH7.4); 洗涤: 0.1% TBST; 洗脱: 200 mmol/L Gly HCl (pH 2.2) + 1 mg/mL BSA; 循环数: 3~4
三硝基甲苯	WHWQRPLMPVSI	孵育: 3.9×10^9 噬菌体/mL + 0.1% TBST + 1 mg/mL BSA; 洗涤: $10 \times 0.1\%$ TBST; 洗脱: 200 mmol/L Gly HCl (pH 2.2) + 1 mg/mL BSA; 循环数: 3~4
2,4-二硝基甲苯	HPNFSKYILHQR	孵育: 3.9×10^9 噬菌体/mL + 0.1% TBST + 1 mg/mL BSA; 洗涤: $10 \times 0.1\%$ TBST; 洗脱: 200 mmol/L Gly HCl (pH 2.2) + 1 mg/mL BSA; 循环数: 3~4
辛基三甲氧基硅烷	SILPYPYHAIYPRHTTYSRFPQILAFNS	孵育: 7.0×10^{11} 噬菌体/mL + 0.1% TBST; 洗脱: 200 mmol/L Gly HCl (pH 2.2); 洗涤: $6 \times 0.05\%$ PBST; 循环数: 6
多氯联苯	DSNKLSPELSFAADRT	孵育: 1.7×10^{10} 噬菌体/mL + 0.1% PBS; 洗涤: $6 \times 0.05\%$ PBST; 洗脱: 100 mmol/L Gly HCl (pH 2.2) + 1 mg/mL BSA + 0.1 mg/mL 酚红; 循环数: 4
噻虫嗪	ASTLPKAHIPVTSALTPTPPQPQVPDA	孵育: 1×10^{10} 噬菌体/mL + 0.1% TBST; 洗涤: 多次 $\times 0.1\%$ TBST; 洗脱: 100 mmol/L Gly HCl (pH 2.2) + 1 Mol/L BSA; 循环数: 3
2,4-二硝基甲苯	DYAMSAISYDGGSKRDAVTPTSTTTT-SYNNAMDV-TGSSSNIGSNSVTDDN-QAAWDASLSG	孵育: 1.5×10^{13} scFV噬菌体/mL + TBS或0.2% TBST; 洗涤: $5 \times TBS$ 或0.2% TBST; 洗脱: 0.1 mL三乙胺-硼烷; 循环数: 4
萘	HFTFPQQPPRPTLTDPAYRPHRYKL-HISKDHI-YPTKNVDHDMATFARG	孵育: 8.0×10^{11} 噬菌体/mL + 0.1% TBST; 洗涤: $5 \times 0.1\%$ TBST; 洗脱: 200 mmol/L Gly HCl (pH 2.2); 循环数: 5

Red) 间的高度仿射作用, 可用于调节该类有机小分子的激发和发射光谱范围。多个研究小组已证明通过噬菌体展示实现爆炸物鉴定, 如 1,3,5- 三硝基苯 (TNB)、2,4- 二硝基甲苯 (DNT) 和 2,4,6- 三硝基甲苯 (TNT) [47-48] 等常见爆炸物分子的选择性肽适体的检测。Jaworski 等 [47] 已经鉴定出选择性识别 TNT 和 DNT 的序列。他们通过寡乙二醇将鉴定的肽共价连接到金芯片上, 然后用顶空分析法在气相中选择性地检测到爆炸物成分。在另一项研究中, Na 等 [49] 从噬菌体文库中选择单链抗体可变片段 scFv, 将其转载到 M13 噬菌体上, 实现了 DNT 肽适体的鉴定。

利用噬菌体展示技术鉴定有机分子肽适体, 除检测爆炸物外, 也可在遥感应用和表面图案化方面发挥作用。如已鉴定出辛基三甲氧基硅烷 (OTMS) 的肽适体, 并通过微接触印刷和影印技术在含硅的 OTMS 表面绘制图案。通过荧光检测表明与 OTMS 表面结合的噬菌体定位在表面固定微区中。Vodnik 等 [50] 分离出两种肽, 可以选择性地识别两种不同的多氯联苯 (PCBs), 研究表明多氯联苯是一类可以在组织中积累的致癌物质。Wilke 等 [51] 鉴定出一种萘选择性结合肽 (HFTFPQQPPRP), 研究证明该序列对包括葱和茈在内的任何其他简单芳香烃没有选择特异性。

1.3 天然聚合物肽适体的研究进展

噬菌体展示技术也应用于鉴定多糖、抗体、抗原表位、核酸、蛋白质等肽适体。例如 Buzatti 等 [52]

利用噬菌体展示库绘制出绵羊血矛线虫多克隆抗体。本部分将以多糖 (如纤维素衍生物和几丁质) 肽适体的鉴定作为噬菌体展示鉴定的标志性天然聚合物肽适体进行列举介绍。这些肽适体及其相关信息如表 3 所示。

Fukusaki 等 [53] 利用随机噬菌体文库鉴定得到一种两端半胱氨酸残基通过二硫键连接而成的环状肽序列 (CSRTTRTRC), 即几丁质肽适体。实验证明, 该短肽只有在环状构象时才能识别几丁质, 还原为线性衍生物后便不能识别。后来, Khouab 等 [54] 鉴定出了一种线性几丁质肽配体, 将其加入到 0.5% 的胶态几丁质水溶液中会形成多孔几丁质 - 肽网络。这种生物相容性网络可作为组织工程的支架材料。研究表明, 多种纤维素衍生物可被用作识别肽适体的靶向底物。Serizawa 等 [55] 使用微晶纤维素作为底物确定了多种七肽适体。根据其氨基酸残基组成为两类: 第一类是肽链第一位和第五位是碱性氨基酸 (S,T,Y), 第七位是酸性氨基酸 (H,R,K); 第二类肽配体主要由脂肪族氨基酸残基组成。最初这两类肽配体间的差异被认为是由于不同基团对结晶结构和无定形结构域的亲和力不同所导致的, 或者不同肽与结晶纤维素互作模式不同。后来, Guo 等 [56] 发现了一种结晶纤维素的纳米晶须结合肽 (WHWTYYW), 其主要由芳香族氨基酸残基组成。他们采用多种技术研究该肽的每个氨基酸残基对纤维素纳米晶须 (CNW) 的作用状态, 如噬菌体 ELISA、等温滴定量热法 (ITC)、荧光猝灭、核磁

表3 噬菌体展示技术鉴定肽适体的天然聚合物底物

目的底物	肽适体序列	选择条件
几丁质	CSRTTRTRC	孵育: 10^{10} 噬菌体/mL + PBS:EtOH 1:1; 洗涤: $15 \times$ PBS:EtOH 1:1; 洗脱: PBS:EtOH 1:1 + 50 mg/mL N-乙酰葡萄糖胺; 循环数: 5
纤维素	HAIYPRHSHTLSAKTQMTSPRYAGPYQH	孵育: 5×10^9 噬菌体/mL + 0.1% TBST; 洗涤: $5 \times 0.1\%$ TBST 或 $5 \times 0.1\%$ TBST + 不同量的纤维二糖; 洗脱: 500 mmol/L Gly HCl (pH 2.2) 或 0.1% TBST + 1 mg/mL BSA; 循环数: 5
碳黑	FHENWPSMPPPLMQWHLSPVPLPT	孵育: 2×10^{11} 噬菌体/mL + 0.1% TBST + 1 mg/mL BSA; 洗涤: $6 \times 0.1\%$ TBST; 洗脱: 200 mmol/L Gly HCl (pH 2.2) + 1 mg/mL BSA; 循环数: 4
几丁质	EGKGVEAVGDGRGEVGEQEKARVG	孵育: 10^{10} 噬菌体/mL + 0.1% PBST; 洗涤: $5 \times 0.1\%$ TBST; 洗脱: 500 mmol/L Gly HCl (pH 2.0); 循环数: 3
纤维素纳米晶须	WHWRAWYWHWTYYW	孵育: 2×10^{11} 噬菌体/mL + 0.1% TBST; 洗涤: $10 \times 0.1\%$ TBST; 洗脱: 未注明; 循环数: 3
纤维素	THKTSTQRLLAKCCYVNVGSVFS	孵育: 2×10^{11} 噬菌体/mL + 0.1% TBST + 1 mg/mL BSA; 洗涤: $6 \times 0.1\%$ TBST; 洗脱: 200 mmol/L Gly HCl (pH 2.2) + 1 mg/mL BSA; 循环数: 4

共振 (NMR) 和建立分子模型。以上研究均表明肽适体的亲和选择性是受到弯曲构象的影响, 即第 5 位酪氨酸残基的 π 键与纤维素葡萄糖环的氢键产生了 CH- π 堆积作用。后来, Qi 等^[57] 使用噬菌体展示确定了纤维素和炭黑的肽配体, 他们发现纤维素-肽适体-炭黑混合后, 炭黑颗粒能够分散附着在纤维素纸表面上, 利用该技术鉴定的纤维素肽适体可用于激光打印。

2 挑战

本文旨在表明运用噬菌体展示技术鉴定各种软物质底物的肽适体的可行性, 这些肽适体可以用来促进细胞黏附到聚合物表面、调节有机分子或聚合物的荧光、影响支架形成、选择性地检测爆炸物以及应用在印刷中。但是, 该技术的适用性和所鉴定的软物质结合肽适体的使用可能面临一些挑战。

2.1 如何提高软物质结合肽的亲和力

与生物底物如酶和蛋白质不同, 合成聚合物膜或有机晶体通常不具有以非常高的亲和力被相应配体结合的特定位置。所以, 软物质结合肽的结合常数通常在 10^4 ~ 10^6 L/mol 这样相对较低的范围内。在实际应用上, 必须要增强这些配体的结合强度, 这可以通过探索多价适体来实现。与单价适体相比, 多价适体有几个数量级的结合常数, 这可以通过使用存在目的肽配体作为支架设计出多价结构 (聚合物、颗粒等) 来实现^[58]。比如, 常使用的 M13 噬菌体中每个肽段含有五个副本, 这五个副本的存在大大增加了该肽段与目的底物的结合常数。同时, 为克服噬菌体与肽序列产生亲缘性结合的影响, 要在最终亲和选择实验中, 保证噬菌体展示平台只显示单一多肽片段^[59]。

如何阐明通过噬菌体展示鉴定的肽的结合机制也是挑战之一。近期的一些研究已经使用 NMR 技术与计算模拟相结合探索结合在固体表面上的多肽分子结构^[60]。然而, 这些技术不适用于更复杂的靶标, 如结构不均匀的聚合物薄膜。这也说明了建立明确的肽适体序列-底物属性关系是十分艰巨的任务。

本文介绍的大部分例子都使用了市售的线性 7-12-mer M13 噬菌体文库, 除此之外, 许多其他的噬菌体展示形式, 也可以用来筛选和鉴定与软物质底物结合的配体。例如与柔性线性序列相比, 使用展示构象受限的环状序列的噬菌体文库可以分离出具有更高亲和力的环状肽结合剂。除肽噬菌体展示

外, 还有其他可用于鉴定软物质肽适体的技术。例如已经使用抗体噬菌体展示来鉴定与软物质底物结合的短肽序列或大抗体^[61-62]。与短柔性肽相比, 单链可变片段 (scFv) 抗体噬菌体展示可以鉴定出具有更高结合强度的软物质结合蛋白。例如, 计算出的最强的 DNT 结合抗体的结合常数 (10^8 L/mol) 比先前通过肽噬菌体展示鉴定的 DNT 结合肽 (10^7 L/mol) 高一个数量级。然而, 由于与短肽相比具有较低的稳定性和较高的成本, 所以在杂交缀合物中使用抗体可能会是一种挑战。

2.2 如何阐明软物质与肽的结合机制

本综述中引用的大多数噬菌体展示实验不产生完全相同序列, 但存在部分共有基序, 它们不具有相似的生化性质。如果分别分析序列中每个氨基酸对相应底物的作用, 还可能需要在亲和选择之后对更多数量的克隆进行测序以鉴定未检测到的结合物, 虽然可以使用高通量测序技术, 但这依然是十分耗时的任务。此外, 聚合物底物在结构上通常是不均匀的, 它们具有不同的立构规整度、结构和侧链官能团, 这更增加了结合机制的复杂性。同时, 这也表明了建立明确的肽配体序列-底物属性关系是十分艰巨的任务。

3 结语

随着噬菌体展示技术应用范围的迅速扩大, 其已经发展为可以识别底物特异性肽适体的有效方法, 如合成或天然的底物, 包括合成聚合物、有机小分子以及天然大分子。这些肽配体为功能化和界面化生物材料开辟了新的途径。尽管可以使用许多实验技术定量评估噬菌体和肽与软物质底物的亲和力, 但精确的分子水平表征仍然不能完成。将先进的分子建模、计算机模拟与磁共振、下一代测序等技术相结合, 可为日后明确噬菌体-肽适体与其底物之间的相互作用铺平道路。

[参 考 文 献]

- [1] Pande J, Szewczyk MM, Grover AK. Phage display: concept, innovations, applications and future. *Biotechnol*, 2010, 28: 849-58
- [2] He B, Jiang L, Duan Y, et al. Biopanning data bank 2018: hugging next generation phage display. *Database (Oxford)*, 2018, 2018: bay032
- [3] Smith G. Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. *Science*, 1985, 228: 1315-7
- [4] Ridgway JB, Ng E, Kern JA, et al. Identification of a

- human anti-CD55 single-chain Fv by subtractive panning of a phage library using tumor and nontumor cell lines. *Cancer Res*, 2013, 59: 2718-23
- [5] Hyde-DeRuyscher R, Paige LA, Christensen DJ, et al. Detection of small molecule enzyme inhibitors with peptides isolated from phage-displayed combinatorial peptide libraries. *Chem Biol*, 2000, 7: 17-25
- [6] Dennis MS, Eigenbrot C, Skelton NJ. Peptide exosite inhibitors of factor VIIa as anticoagulants. *Nature*, 2000, 404: 465-70
- [7] Petrenko VA, Vodyanoy VJ. Phage display for detection of biological threat agents. *J Microbiol Methods*, 2003, 53: 253-62
- [8] Patke S, Boggara M, Maheshwari R, et al. Design of monodisperse and well-defined polypeptide-based polyvalent inhibitors of anthrax toxin. *Angew Chem*, 2014, 53: 8037-40
- [9] Deshayes K, Schaffer ML, Skelton NJ, et al. Rapid identification of small binding motifs with high-throughput phage display: discovery of peptidic antagonists of IGF-1 function. *Chem Biol*, 2002, 9: 495-505
- [10] Koolpe M, Burgess R, Dail M, et al. EphB receptor-binding peptides identified by phage display enable design of an antagonist with ephrin-like affinity. *J Biol Chem*, 2005, 280: 17301-11
- [11] Zou Q, Yang KL. Identification of peptide inhibitors of penicillinase by using phage display library. *Anal Biochem*, 2016, 494: 4-9
- [12] Helms BA, Reulen SW, Nijhuis S, et al. High-affinity peptide-based collagen targeting using synthetic phage mimics: from phage display to dendrimer display. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 11683-5
- [13] Abe K, Yoshida W, Terada K, et al. Screening of peptide ligands for pyrroloquinoline quinone glucose dehydrogenase using antagonistic template-based biopanning. *Int J Mol Sci*, 2013, 14: 23244-56
- [14] Perschinka H, Wellenzohn B, Parson W. Identification of atherosclerosis-associated conformational heat shock protein 60 epitopes by phage display and structural alignment. *Atherosclerosis*, 2007, 194: 79-87
- [15] Fack F, Hügle-Dörr B, Song D, et al. Epitope mapping by phage display: random versus gene-fragment libraries. *J Immunol Methods*, 1997, 206: 43-52
- [16] Sarikaya M, Tamerler C, Jen AK, et al. Molecular biomimetics: nanotechnology through biology. *Nat Mater*, 2003, 2: 577-85
- [17] Baneyx F. Selection and analysis of solid-binding peptides. *Biotechnology*, 2007, 18: 312-7
- [18] Naik RR, Stringer SJ, Agarwal G, et al. Biomimetic synthesis and patterning of silver nanoparticles. *Nat Mater*, 2002, 1: 169-72
- [19] Sano KI, Shiba K. A hexapeptide motif that electrostatically binds to the surface of titanium. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 14234-5
- [20] Whaley SR, Barbara PF, Belcher AM. Selection of peptides with semiconductor binding specificity for directed nanocrystal assembly. *Nature*, 2000, 405: 665-8
- [21] Artzy SA, Zahavi E, Yeger H, et al. Antibody molecules discriminate between crystalline facets of a gallium arsenide semiconductor. *Nano Lett*, 2006, 6: 1870-74
- [22] Chen H, Su X, Neoh KG, et al. QCM-D analysis of binding mechanism of phage particles displaying a constrained heptapeptide with specific affinity to SiO₂ and TiO₂. *Anal Chem*, 2006, 78: 4872-9
- [23] Nam KT, Kim DW, Yoo PJ, et al. Virus-enabled synthesis and assembly of nanowires for lithium ion battery electrodes. *Science*, 2006, 312: 885-8
- [24] Wang S, Humphreys ES, Chung SY, et al. Peptides with selective affinity for carbon nanotubes. *Nat Mater*, 2003, 2: 196-200
- [25] Cui Y, Kim SN, Jones SE, et al. Chemical functionalization of graphene enabled by phage displayed peptides. *Nano Lett*, 2010, 10: 4559-65
- [26] Niels TB, Patrick W. Identification of functional peptide sequences to lead the design of precision polymers. *Macromol Rapid Commun*, 2017, 38: 24
- [27] Serizawa T, Fukuta H, Date T. Affinity-based release of polymer-binding peptides from hydrogels with the target segments of peptides. *Chem Commun*, 2016, 52: 2241-4
- [28] Goldman ER, Medintz IL, Whitley JL, et al. A hybrid quantum dot-antibody fragment fluorescence resonance energy transfer-based TNT sensor. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 6744-51
- [29] Souza GR, Christianson DR, Staquicini FI, et al. Networks of gold nanoparticles and bacteriophage as biological sensors and cell-targeting agents. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 1215-20
- [30] Merzlyak A, Lee SW. Phage as templates for hybrid materials and mediators for nanomaterial synthesis. *Curr Opin Chem Biol*, 2006, 10: 246-52
- [31] Naik RR, Jones SE, Murray CJ, et al. Peptide templates for nanoparticle synthesis derived from polymerase chain reaction-driven phage display. *Adv Funct Mater*, 2004, 14: 25-30
- [32] Sano KI, Sasaki H, Shiba K. Specificity and biomineralization activities of Ti-binding peptide-1 (TBP-1). *Langmuir*, 2005, 21: 3090-5
- [33] Adey NB, Mataragnon AH, Rider JE, et al. Characterization of phage that bind plastic from phage-displayed random peptide libraries. *Gene*, 1995, 156: 27-31
- [34] Caparon M, Ciechi P, Devine C, et al. Analysis of novel streptavidin-binding peptides, identified using a phage display library, shows that amino acids external to a perfectly conserved consensus sequence and to the presented peptides contribute to binding. *Mol Divers*, 1995, 1: 241-6
- [35] Sanghvi AB, Miller KPH, Belcher AM, et al. Biomaterials functionalization using a novel peptide that selectively binds to a conducting polymer. *Nat Mater*, 2005, 4: 496-502
- [36] Serizawa T, Sawada T, Matsuno H, et al. A peptide motif recognizing a polymer stereoregularity. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 13780-1
- [37] Matsuno H, Sekine J, Yajima H, et al. Biological selection

- of peptides for poly(L-lactide) substrates. *Langmuir*, 2008, 24: 6399-403
- [38] Chen J, Serizawa T, Komiyama M. Peptides recognize photoresponsive targets. *Angew Chem Int*, 2009, 48: 2917-20
- [39] Chen J, Serizawa T, Komiyama M. Binding analysis of peptides that recognize preferentially *cis*-azobenzene groups of synthetic polymers. *J Pept*, 2011, 17: 163-8
- [40] Swaminathan S, Cui Y. Recognition of poly (dimethylsiloxane) with phage displayed peptides. *RSC Adv*, 2012, 2: 12724-7
- [41] Guenay K, Benczedi D, Herrmann A. Peptide-enhanced selective surface deposition of polymer-based fragrance delivery systems. *Adv Funct Mater*, 2017, 27: 2
- [42] Ejima H, Matsuno H, Serizawa T. Biological identification of peptides that specifically bind to poly(phenylene vinylene) surfaces: recognition of the branched or linear structure of the conjugated polymer. *Langmuir*, 2010, 26: 17278-85
- [43] Abdallah DJ, Weiss RG. Organogels and low molecular mass organic gelators. *Adv Mater*, 2010, 12 : 1237-47
- [44] Canrinus TR, Carpentier FJ, Feringa BL, et al. Remarkable solvent isotope dependence on gelation strength in low molecular weight hydrogelators. *Chem Commun*, 2017, 53: 1719
- [45] Van Dorst B, Mehta J, Rouah-Martin E. Selection of PCB binding phages as potential biorecognition elements for food and environmental monitoring. *Anal Methods*, 2011, 3: 1865-71
- [46] Rozinov MN, Nolan GP. Evolution of peptides that modulate the spectral qualities of bound, small-molecule fluorophores. *Chem Biol*, 1998, 5: 713-28
- [47] Jaworski JW, Raorane D, Huh JH, et al. Evolutionary screening of biomimetic coatings for selective detection of explosives. *Langmuir*, 2008, 24: 4938-43
- [48] Goldman ER, Pazirandeh MP, Charles PT. Selection of phage displayed peptides for the detection of 2,4,6-trinitrotoluene in seawater. *Anal Chim Acta*, 2002, 457: 13-9
- [49] Na JH, Joo MS, Lee WK, et al. Development of a single chain antibody using a phage display cloning method for the detection of 2,4-dinitrotoluene. *Bull Korean Chem Soc*, 2013, 34: 460-4
- [50] Vodnik M, Zager U, Strukelj B, et al. Phage display: selecting straws instead of a needle from a haystack. *Molecules*, 2011, 16: 790-817
- [51] Wilke P, Abt D, Grosse S. Selective functionalization of laser printout patterns on cellulose paper sheets coated with surface-specific peptides. *J Mater Chem A*, 2017, 5: 31
- [52] Buzatti A, Fernandez AD, Arenal A, et al. Sheep polyclonal antibody to map *Haemonchus contortus* mimotopes using phage display library. *Rev Bras Parasitol Vet*, 2018, 27: 183-90
- [53] Fukusaki E, Ogawa K, Okazawa A, et al. A chitin-oligomer binding peptide obtained by screening of a phage display random peptide library and its affinity modulation corresponding to oxidation-reduction state. *J Mol Catal B Enzym*, 2004, 28: 181-4
- [54] Khoushab F, Jaruseranee N, Tanthanuch W, et al. Formation of chitin-based nanomaterials using a chitin-binding peptide selected by phage-display. *Int J Biol Macromol*, 2012, 50: 1267-74
- [55] Serizawa T, Iida K, Matsuno H, et al. Cellulose-binding heptapeptides identified by phage display methods. *Chem Lett*, 2007, 36: 988-9
- [56] Guo J, Catchmark JM, Mohamed MN, et al. Identification and characterization of a cellulose binding heptapeptide revealed by phage display. *Biomacromolecules*, 2013, 14: 1795-805
- [57] Qi M, Brien JP, Yang JJ. A recombinant triblock protein polymer with dispersant and binding properties for digital printing. *Biopolymers*, 2008, 90: 28-36
- [58] Giebel LB, Cass R, Milligan DL, et al. Screening of cyclic peptide phage libraries identifies ligands that bind streptavidin with high affinities. *Biochemistry*, 1995, 34: 15430-5
- [59] Sawada T. Filamentous virus-based soft materials based on controlled assembly through liquid crystalline formation. *Polymer J*, 2017, 49: 639-47
- [60] Mirau PA, Naik RR, Gehring P. Structure of peptides on metal oxide surfaces probed by NMR. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 18243-8
- [61] Shaw WJ. Solid-state NMR studies of proteins immobilized on inorganic surfaces. *Solid State Nucl Mag Reson*, 2014, 70: 1-14
- [62] Sawada T, Serizawa T. Filamentous viruses as building blocks for hierarchical self-assembly toward functional soft materials. *Bull Chem Soc Japan*, 2018, 91: 455-66