

ZIF-8 递送生物大分子的研究进展

李亚红, 王 剑, 罗 锋

(四川大学华西口腔医院, 四川 成都 610041)

摘要: 类沸石咪唑酯骨架-8 (zeolitic imidazolate framework-8, ZIF-8) 是一种由 Zn^{2+} 和 2-甲基咪唑组成的新型金属有机骨架材料, 它具有孔隙率高、比表面积大、化学和热稳定性好、表面性质可调及 pH 诱导生物降解性等优点, 这些优点赋予了 ZIF-8 多种功能, 使其能广泛应用于气体吸附与分离、催化、药物传递等领域。近年来, 研究人员通过原位合成的方法使 ZIF-8 可包封蛋白质、酶、核酸等生物大分子, 生物大分子主要通过交联、键合与 ZIF-8 骨架结合, 并包埋在 ZIF-8 晶体内部或位于其表面。ZIF-8 作为运载体可递送蛋白质和酶以保持其生物学活性, 提高其功能表现和稳定性; 同时, ZIF-8 亦可负载核酸药物使其在胞内表达用于基因治疗。综述了这些方面的研究进展和应用, 并对 ZIF-8 在相关生物医学领域的应用进行了展望。

关键词: 类沸石咪唑酯骨架-8 (ZIF-8); 药物递送; 生物大分子; 蛋白质; 酶; 核酸; 原位合成

中图分类号: R318.08 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-3962(2022)06-0458-08

引用格式: 李亚红, 王剑, 罗锋. ZIF-8 递送生物大分子的研究进展[J]. 中国材料进展, 2022, 41(6): 458-465.

LI Y H, WANG J, LUO F. Research Progress on Zeolitic Imidazolate Framework-8 for Biomacromolecules Delivery[J]. Materials China, 2022, 41(6): 458-465.

Research Progress on Zeolitic Imidazolate Framework-8 for Biomacromolecules Delivery

LI Yahong, WANG Jian, LUO Feng

(West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: Zeolitic Imidazolate Framework-8 (ZIF-8), a novel metal-organic framework, is composed of zinc ions and 2-methylimidazole. It possesses advantages including high porosity, large specific surface area, good chemical and thermal stability, adjustable surface properties as well as pH-induced biodegradability. These advantages equip ZIF-8 with multiple functions, making it widely be used for gas adsorption and separation, catalysis, drug delivery and other fields. Recently, biomacromolecules such as proteins, enzymes and nucleic acids, can be encapsulated by ZIF-8 through *in-situ* synthesis to form composites. Biomacromolecules are embedded into ZIF-8 crystals or adhered to their surface through cross-linking and covalent bonding. ZIF-8 could serve as a carrier to deliver proteins and enzymes to maintain their biological activities, improving their functional performances and stability. Also, ZIF-8 could transmit nucleic acids, assisting them to express in cells for gene therapy. Therefore, this article reviews the recent research progress of ZIF-8 for biomacromolecules delivery on above issues, and prospects its application in related biomedical fields.

Key words: zeolitic imidazolate framework-8 (ZIF-8); drug delivery; biomacromolecule; protein; enzyme; nucleic acid; *in-situ* synthesis

1 前 言

金属有机骨架材料 (metal organic frameworks, MOFs)

收稿日期: 2020-10-20 修回日期: 2021-01-11

基金项目: 四川大学华西口腔医院基础与应用基础研究项目
(RD-02-201910)

第一作者: 李亚红, 女, 1997 年生, 硕士研究生

通讯作者: 罗 锋, 男, 1988 年生, 讲师, 助理研究员,
Email: luofeng0122@scu.edu.cn

DOI: 10.7502/j.issn.1674-3962.202010006

是由金属离子(簇)和有机配体通过配位作用形成的, 是具有无限网络框架的晶体材料^[1, 2]。类沸石咪唑酯骨架材料 (zeolitic imidazolate frameworks, ZIFs) 是 MOFs 的一个亚类, 主要由锌或钴与咪唑配体反应形成。ZIFs 具有较大的比表面积、高孔隙率、可调节的表面性质、优异的机械性能以及良好的化学和热稳定性^[3], 近来广泛应用于气体捕获^[4]、分离^[5]、化学传感器^[6]、药物输送^[7-9]和催化^[10]领域。目前已报道了 90 余种 ZIFs 结构, ZIF-8 是其中代表性结构之一。

2006 年, Huang 等^[11]首次通过水热法、利用 Zn^{2+} 和

2-甲基咪唑合成了具有类沸石拓扑结构的 MOFs, 并命名为 ZIF-8。ZIF-8 独特的结构特点(类沸石结构)和优异的性能使其可作为运载体运输各种客体物质, 如抗肿瘤药物和抗菌药物^[12]、蛋白质^[13]、酶^[14]、光敏剂^[15]以及成像剂和光热剂^[16]。以往, 主要将 ZIF-8 作为药物载体构建载药体系, 近年来, 将蛋白质、核酸等生物大分子封存在 ZIF-8 中用于生物催化和生物医学工程引起了科研人员广泛的兴趣。本文综述了 ZIF-8 负载生物大分子如蛋白质、酶、核酸等的优势和应用研究, 并对其在相关生物医学领域的应用进行了展望。

2 ZIF-8 的结构特点和合成方法

ZIFs 是 MOFs 的一个子类, 是一种新型的结晶型多孔材料, 它结合了沸石和 MOFs 的优良性能, 如高结晶度、高孔隙率、高比表面积以及优异的热稳定性和化学稳定性。ZIFs 化合物与沸石的骨架结构非常相似, 沸石中的 $T-O-T$ 桥($T=Si, Al, P$)被 $M-Im-M$ 桥($M=Zn, Co$)所取代, 且两种结构的键角均为 145° (图 1)^[3]。ZIF-8 的晶体结构模型如图 2 所示^[17], 为核壳结构, 具有直径为 11.6 \AA 的大孔, 大孔与周围直径为 3.4 \AA 的小孔相通, 并且 ZIF-8 属于立方空间群, 晶胞尺寸为 16.32 \AA ^[18]。

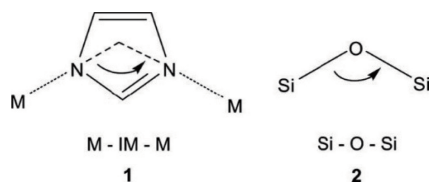


图1 金属咪唑(1)和沸石(2)的键角^[3]

Fig.1 Bonding angles in metal imidazoles (IMs)(1) and zeolites (2)^[3]

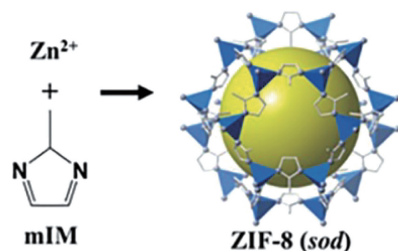


图2 ZIF-8 的晶体结构(Zn 用三棱锥多面体表示, N 用球表示, C 用线表示)^[17]

Fig.2 Crystal structure of ZIF-8(Zn is represented by polyhedrals, N is represented by spheres, and C is represented by lines)^[17]

ZIFs 的合成方法有很多, 如一锅法、胶体化学合成法、溶剂热反应法、微波反应法、声化学法、机械化学法、干胶法和微流体法等。其中, 经典的合成方法是一锅法, 该方法是将六水硝酸锌 $[Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O]$ 溶解在

甲醇中形成锌基溶液, 然后将 2-甲基咪唑和甲醇组成的溶液添加到锌基溶液中, 剧烈搅拌即可合成 ZIF-8^[19]。

3 ZIF-8 负载生物大分子的机理

3.1 一锅法(one-pot embedding)合成 ZIF-8@生物大分子复合体

ZIF-8 大孔直径为 11.6 \AA , 小孔直径为 3.4 \AA , 多数生物大分子体积较大, 无法通过扩散进入 ZIF-8 的孔隙中。因此, 常通过一锅法合成 ZIF-8@生物大分子复合体。一锅法是将 ZIF-8 的前体(即 2-甲基咪唑和 Zn^{2+})和生物大分子, 有时加入其他促进生物包埋过程的功能性添加剂(如聚乙烯吡咯烷酮, PVP), 混合在一起搅拌加热, 在该反应过程中, ZIF-8 的结晶成核和对生物大分子固定是同步进行的, 这也被称为“原位包埋”策略, 通常包括共沉淀和生物矿化 2 个过程^[20]。生物大分子固定化可以发生在 ZIF-8 的内部和表面, 通常伴随着交联。此合成方法多在温和条件下发生, 以保证被包埋大分子在固定化过程中保持良好的活性。

3.2 ZIF-8 负载的客体分子入胞及释放机制——内体逃逸机制

内吞途径是生物制剂(如 DNA、siRNA 和蛋白质)主要的摄取机制。这些颗粒通过内吞作用入胞, 胞膜包裹颗粒形成囊泡, 囊泡在向溶酶体移动的过程中, 依次形成早期内体(early endosome, pH 为 $5.5 \sim 6.5$)和晚期内体(late endosome, pH 为 $4.5 \sim 5.5$), 最终进入溶酶体, 在溶酶体中发生活跃的酶降解过程^[21]。在此过程中, 这些粒子若实现内体逃逸, 则可进入细胞质或者细胞核中发挥作用, 反之, 则被溶酶体的酶降解^[22], 如图 3 所示。因此, 实现有效生物治疗的重要步骤是促进内体逃逸和确保药物的胞质输送。

目前, 主流的内体逃逸学说有质子化效应(proton sponge effect, 也称为 pH 缓冲效应)、内膜孔形成、内膜融合、内质体膜的光化学破坏^[23]。ZIF-8 中含有咪唑基, 可以通过质子化效应介导内体逃逸。通常内体的酸性环境是由腺苷三磷酸酶(adenosine triphosphatase, ATPase)介导的, 该酶可将质子从细胞质中主动转运到内体。ZIF-8 中的咪唑基会缓冲内体的酸性, 阻止其酸化, 因此, ATPase 将更多的质子输送到内体以维持所需的 pH 值, 这种质子的流入伴随着大量氯离子的涌入。内体的高离子浓度最终会导致水从细胞质中进入, 从而引起渗透性肿胀和内体破裂, 从而将复合物释放到细胞质中。

3.3 ZIF-8 pH 敏感的原理

ZIF-8 在中性条件下稳定, 降解速率很低。有研究表明, 将 ZIF-8 置于 pH 为 7.4 的中性磷酸缓冲盐溶液

(phosphate buffer saline, PBS) 储存 11 d 后, 溶液中不存在 Zn^{2+} , 其负载的客体大分子也不会被释放出来。通过向该体系中添加稀释的 HCl, 将 PBS 的 pH 值从 7.4 逐渐酸化至 5.0, 发现短时间内溶液中 Zn^{2+} 浓度迅速增加(超过 98% 的 Zn^{2+} 被释放), 包裹的客体分子释放, 该过程模拟了从血液循环到内体和溶酶体部分的转移过程^[24]。ZIF-8 pH 敏感的原理是, 酸性环境破坏锌和咪唑酸盐之间的配位键, ZIF-8 结构崩解, 客体物质被释放。

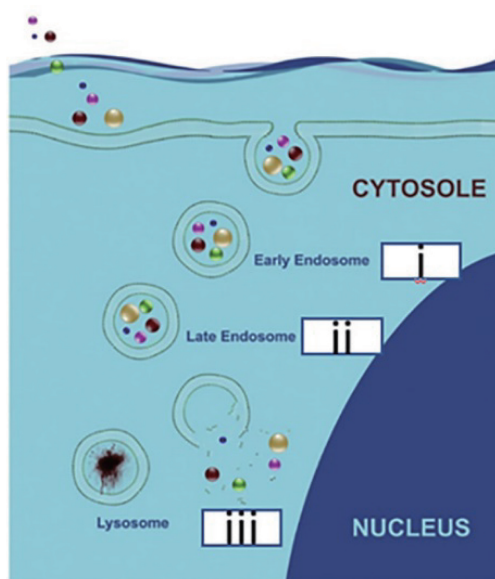


图 3 治疗性药物通过内吞入胞及后续的内体逃逸示意图^[22]: (i) 早期内体由囊泡组成, 囊泡中含有来自细胞表面的治疗药物; (ii) 晚期内体接受从早期内体中内化的物质; (iii) 在内吞途径的最后一步, 溶酶体含有水解酶, 可消化晚期内体的内容物, 因此, 在被溶酶体介导消化之前, 治疗药物需要从内体中释放出来

Fig. 3 An artistic representation depicting the internalization of therapeutics into the cell through endocytosis and subsequent endosomal escape^[22]: (i) early endosomes consisted of vesicles containing therapeutics coming from cell surface; (ii) late endosomes which are thought to mediate a final set of sorting events prior to interaction with lysosomes, receive the internalized materials from early endosomes; (iii) lysosomes as the last part of the endocytic pathway contain hydrolytic enzymes which digest the contents of late endosomes, therefore, the endosomal release of the therapeutics is necessary before lysosome mediated digestion of the therapeutics

4 ZIF-8 负载蛋白质保持蛋白质的生物学活性

蛋白质作为构成生物体至关重要的生物大分子, 在生物体中发挥多种功能, 如运动功能、运输功能、机械支持和保护功能、免疫和防御功能等。然而, 蛋白质结

构灵活, 对环境应激源敏感, 在各种刺激因素作用下, 构象易改变, 不仅导致其生物活性降低, 甚至可能引起不利的免疫反应^[25]。因此, 如何高效保存蛋白质的生物活性成为亟待解决的问题。近来研究表明, ZIF-8 作为一种纳米多孔 MOFs, 可负载多种蛋白质进而保持其生物学活性^[26]。通常情况下, 由于蛋白分子的尺寸较大, 无法直接将其包裹在 ZIF-8 的小孔隙中, 因此常通过原位合成(一锅法)的方式, 将蛋白质包裹在 ZIF-8 内部形成结晶中心, 从而保护蛋白质免受各种刺激的干扰。

4.1 ZIF-8 负载治疗蛋白

治疗蛋白因其高度特异性在生物医药领域受到广泛关注, 在癌症、代谢紊乱、自身免疫性疾病、心血管疾病防治领域应用广泛, 而且还可作为蛋白信号分子参与各种信号转导和免疫应答^[27]。研究证实, ZIF-8 可用于负载各种难以处理、储存、运输的治疗蛋白。例如, 胰岛素作为一种治疗蛋白, 临床应用广泛, 但其储存条件为 2~8 °C, 这一要求限制了其在资源有限的环境中的应用。Wang 等^[26]通过将胰岛素溶液与 2-甲基咪唑和乙酸锌的水溶液混合(图 4a), 在温和的水热条件下将胰岛素封装到 ZIF-8 晶体中(图 4b), 使胰岛素可以免受高温、有机溶剂和机械搅拌的影响(图 4c 和 4d)。体内实验也证实, 胰岛素保持了良好的生物学活性。此外, 也有学者证实, ZIF-8 还可负载各种生物流体中的蛋白。例如, Wang 等^[28]使用尿液 NGAL 和血清/血浆 CA-125 作为模型蛋白质生物标志物, 实验表明 ZIF-8 可以在室温下负载尿液、血清、血浆和血液中的蛋白质生物标志物, 且具有与制冷方法(在 -20 °C 下冷冻液体样品)相当的保存效果。Peng 等^[13]开创性地将稳定性较差的血红蛋白(Hb)包裹在 ZIF-8 中, 与游离的血红蛋白相比, ZIF-8 包裹的血红蛋白在碱性、氧化、高温或酶环境中均表现出显著的稳定性, 可以更好地用于各种氧相关疾病的治疗。

此外, ZIF-8 具有 pH 响应性, 酸性环境下其结构会崩解, 负载的客体物质被释放, 这一性质与肿瘤的酸性微环境相匹配。近期研究表明, ZIF-8 可负载各种蛋白协同抗癌治疗。例如, 溶细胞肽蜂毒素(MLT)是一种重要的抗癌药物, 然而, 由于其溶血等非特异性毒性, 临床应用受到严重限制。Li 团队^[29]构建了负载 MLT 的 ZIF-8 (MLT@ZIF-8) 纳米粒子, 形成的 MLT@ZIF-8 纳米粒子能有效抑制 MLT 的溶血生物活性。酸性条件下, MLT 在肿瘤细胞中被释放出来从而杀伤肿瘤。同时, 也有研究证实, 以抗癌药物阿霉素(DOX)/牛血清白蛋白(BSA), 可增强 DOX 和 ZIF-8 之间的亲和力)纳米颗粒作为核心, 在其外表面上涂覆 ZIF-8 层形成 DOX@BSA@ZIF-8 复合体, 该复合体与纯 DOX 相比, 可显著提高抗肿瘤效果^[30]。

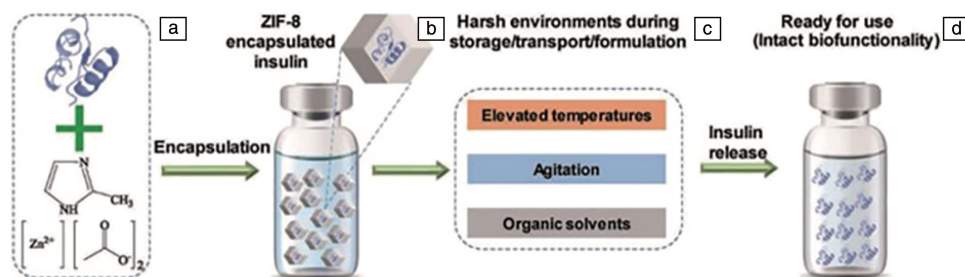


图4 使用 ZIF-8 封装胰岛素以抵抗各种环境应激源对胰岛素结构和生物学活性的影响^[26]: (a)将胰岛素溶液与 2-甲基咪唑和乙酸锌的水溶液混合; (b)将胰岛素包埋在 ZIF-8 中, 形成悬浮液; (c)悬浮液经过高温、搅拌或有机溶剂处理; (d)保存的胰岛素可以在 1 min 内从 ZIF-8 晶体中释放出来

Fig. 4 Schematic illustration depicting the use of ZIF-8 encapsulation for preserving insulin structure and bioactivity against various environmental stressors^[26]: (a) mixing insulin solution with aqueous solutions of 2-methylimidazole and zinc acetate; (b) embedding insulin in ZIF-8; (c) the suspension of insulin-embedded ZIF-8 was subjected to elevated temperatures, agitation, and organic solvent; (d) the preserved insulin can be released from ZIF-8 crystals within 1 min

还有研究通过将葡萄糖氧化酶(GOx)和天然血红蛋白包裹在 ZIF-8 中, 实现了基于芬顿(Fenton)疗法和饥饿疗法的联合肿瘤治疗^[31]。

4.2 ZIF-8 负载蛋白信号分子参与免疫应答

ZIF-8 除了可以负载一些治疗蛋白外, 还可以运载蛋白信号分子, 参与免疫应答。CpG 寡核苷酸(ODNs)是一种蛋白信号分子, 通过刺激 Toll 样受体 9(TLR9)激活免疫系统, 诱导 Th1 应答。因此, CpG ODNs 已经成为治疗包括癌症、过敏和感染在内的各种疾病的免疫疗法必须

用药物。然而, 由于 CpG ODNs 容易被 DNA 酶降解, 细胞摄取效率低下, 其应用在很大程度上受到了限制。为了突破该限制, Zhang 等^[32]首次将 CpG ODNs 包裹到 ZIF-8 纳米颗粒中, 构建了一种新型 CpG ODNs 递送系统。该递送系统在生理环境下稳定, 在酸性条件下 CpG ODNs 被有效释放, 与 TLR9 定位的内溶酶体相对应, 激活免疫应答。

这里将以上提到的 ZIF-8 负载蛋白的应用总结在表 1 中。

表 1 ZIF-8@ 蛋白质复合体的优异性能和应用

Table 1 Improved performances and applications of ZIF-8@ protein composites

Protein	Improved performance & application	References
Insulin	Keep insulin active in harsh conditions (such as elevated temperatures, agitation and organic solvents)	[26]
NGAL(in urine) and CA-125(in serum)	Delivery of biological samples in blood and urine, etc. at room temperature, and have the same preservation effect as the refrigeration method (freezing liquid samples at -20 °C)	[28]
Hemoglobin (Hb)	Offer a high-stable and long-circulating oxygen carrier platform	[13]
MLT	Increase the therapeutic effect of MLT for tumors, and can effectively inhibit the hemolytic biological activity of MLT	[29]
DOX and BSA (bovine serum albumin)	Increase the effect of antitumor drugs	[30]
GOx(glucose oxidase) and Hb	Realize the combination of Fenton and starvation cancer therapies	[31]
CpG ODNs	Activate immune response	[32]

5 ZIF-8 负载酶使其固定化, 提高其催化性能

酶作为广泛存在于动植物和微生物中的生物大分子催化剂, 可促进生物物质在生命系统中的生物转化^[33]。

酶的不稳定性导致其在高温、机械应力、过度酸碱、不相容的有机溶剂、变性剂或表面活性剂等极端条件下失去催化性能^[34, 35]。为了解决游离酶的上述缺点, 固定化、人工修饰、蛋白质和酶工程、溶剂工程等方法被广

泛采用,其中酶固定化已被证明是一种简单而有效的策略。酶固定化法是指将酶通过吸附、键合、交联或包埋等方式定向固定或包埋在所选择载体的特定区域,并保持其催化活性以进行有效催化^[36]。研究表明,酶固定化可以提高酶的活性、稳定性和选择性,从而实现酶在生化工业实践中的成功应用。ZIF-8 作为新型酶固定化载体,因其具有高孔隙率、高比表面积和孔体积、较高的化学/热/机械稳定性等独特性质而受到越来越多的关注。

5.1 原位合成 ZIF-8@酶复合物

2014 年, Lyu 等首次利用原位合成法实现了细胞色素 c (cytochrome c, Cyt c) 在 ZIF-8 中的固定化^[14]。在经典合成过程中, 将 PVP 修饰的 Cyt c 的水溶液与含有六水硝

酸锌和 2-甲基咪唑的甲醇溶液混合, 然后探针超声 1 min, 室温孵育 24 h (图 5a)。PVP 作为功能性添加剂不仅可以促进 Cyt c 在甲醇溶液中的悬浮和稳定, 还有助于触发 Cyt c@ZIF-8 复合物的形成, 控制其大小和形状^[37]。TEM 结果表明, Zn^{2+} 和 2-甲基咪唑前驱体首先形成絮体或棒状 (图 5b), 最后形成菱形十二面体晶体 (图 5c)。这种原位组装的 Cyt c@ZIF-8 纳米复合材料具有与原始 ZIF-8 相同的微观形貌。蛋白质负载量计算结果表明, 制备的纳米复合材料中 Cyt c 的质量分数约为 8%, 包封率为 82.3%。煅烧实验结合 TEM 和 SEM 图像证实, 大多数酶固定在 ZIF-8 底物的表面, 而不是嵌入到内部。在相同的酶浓度下, 原位固定化 Cyt c 的比活力比游离的 Cyt c 高 10 倍。

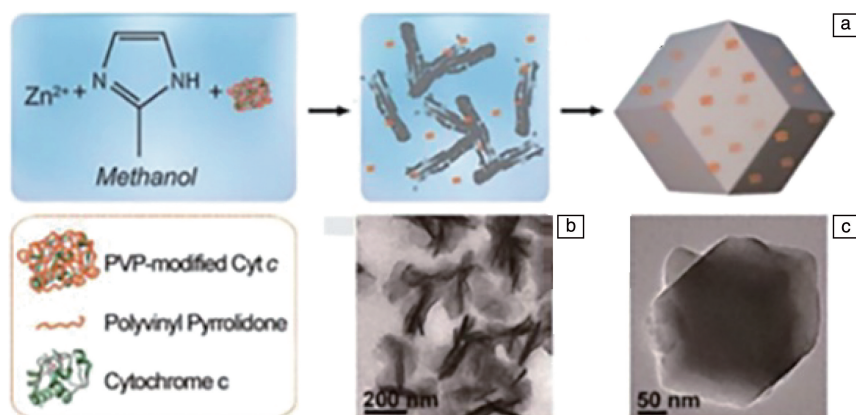


图 5 ZIF-8 固定细胞色素 c (cytochrome c, Cyt c) 的策略^[14]: (a) Cyt c@ZIF-8 复合材料的合成示意图; (b) 反应 5 min 后得到的 Cyt c@ZIF-8 复合材料的 TEM 照片, (c) 反应 24 h 后得到的 Cyt c@ZIF-8 复合材料的 TEM 照片

Fig. 5 Strategy for immobilization of Cyt c by ZIF-8^[14]: (a) a schematic showing the synthesis of Cyt c@ZIF-8 composite; (b) TEM image of Cyt c@ZIF-8 composite obtained after reaction for 5 min, (c) TEM image of Cyt c@ZIF-8 composite obtained after reaction for 24 h

此外, ZIF-8 具有酸性环境下 pH 响应性, 该性能使其可负载一些对 pH 敏感的酶, 在酸性环境下, ZIF-8 崩解, 里面负载的酶被释放出来发挥作用。例如, Zhong 等^[38] 合成了氧化铁@ZIF-8@胰蛋白酶复合物, 在 pH 为 9.4 的反应体系中, ZIF-8 在氧化铁周围生长, 与胰蛋白酶的固定化同时发生, 被包埋胰蛋白酶的活性显著提高。此外, 氧化铁@ZIF-8@胰蛋白酶可作为固定化酶微反应器快速高效地消化蛋白质和复杂的人血清样品, 在蛋白质组学分析中具有广阔的应用前景。

5.2 ZIF-8 包埋酶的优势

5.2.1 增强催化活性

在过去几年里, 许多报道表明, 在选定的条件下, ZIF-8 固定化酶比游离状态的酶表现出更好的催化活性, 这通常表现为底物转化率的提高^[39]。在许多情况下, 固定化酶可以在一定程度上避免酶聚集或构象变化。在相同的酶浓度下, 如 Lyu 等所报道的, ZIF-8 固定化 Cyt c 的

活性比溶液中的游离 Cyt c 高 10 倍^[14], 这可能是因为 ZIF-8 固定化 Cyt c 对过氧化氢分子具有更好的底物亲和力, 而合适的微环境也可能有助于底物亲和力的提高。此外, 有研究表明, 包埋方式会影响 ZIF-8 中酶的生物活性。Chen 等^[40] 研究表明, 当 ZIF-8 被酶触发快速成核时, 酶可以保持较高的活性; 而当 ZIF-8 对酶的包埋是由缓慢的共沉淀驱动, 且酶不参与 ZIF-8 的成核时, 由于配体 2-甲基咪唑在水中质子化, 使环境呈强碱性, 从而导致酶趋于失活。

5.2.2 增强稳定性和可回收性

ZIF-8@酶复合物稳定性依赖于 ZIF-8 载体的内在稳定性, 包括化学稳定性、热稳定性和机械稳定性^[3]。金属和有机连接物、配位键合强度、界面的亲水性和疏水性、拓扑结构和表面结构、实际操作环境等多种因素都对 ZIF-8 的稳定性有重要影响。Liao 等^[41] 将过氧化氢酶 (CAT) 包埋到 ZIF-8 中, 然后将包埋的 CAT 和游离的

CAT 均暴露在变性剂(即尿素)和高温(80 ℃)下, 结果发现, 包埋型 CAT 在尿素和 80 ℃ 下仍能保持生物学功能, 而游离 CAT 未检测到活性。也有研究证实, ZIF-8 负载 GOx 使酶活力保存率高达 50%^[42]。此外, 与游离状态相比, 固定化酶更容易从底物或产物中分离出来, 有利于回收操作。

5.2.3 增强底物选择性

ZIF-8 因具有特定的大小和孔结构, 可以对底物产生尺寸选择效应, 能够排斥大尺寸底物, 从而提高固定化酶的底物专一性。Chen 等^[40]合成了 ZIF-8@GOx, 用于快速监测葡萄糖, 他们发现, 这个检测系统对其他类似的单糖, 如果糖、甘露糖和半乳糖无反应, 表明在葡萄糖检测中具有优越的选择性。另外, 对葡萄糖检测可用

GOx & HRP 复合酶: 葡萄糖氧化酶 GOx 将葡萄糖转化为葡萄糖酸, 并产生过氧化氢, 过氧化氢作为辣根过氧化物酶 HRP 的底物, 通过反应可生成一种可在 415 nm 波长光下检测到的物质, GOx & HRP 检测体系对葡萄糖也表现出较高的选择性^[43]。

总之, 通过原位合成的方法构建 ZIF-8@酶复合体对酶进行固定化, 可以提高酶的催化活性, 增强其稳定性和可重复利用性, 还可以提高其对底物的选择性。而且, 由于原位包埋对固定化酶的大小没有限制, 直径大于 ZIF-8 孔径的酶也可被封存, 这大大扩大了固定化酶的选择范围。同时需要注意的是, 在合成 ZIF-8@酶复合体时, 反应条件应较温和以保持酶的结构和活性。这里将文中提到的 ZIF-8 负载酶的应用总结在表 2 中。

表 2 ZIF-8@酶复合材料的优异性能和应用

Table 2 Improved performances and applications of ZIF-8@enzyme composites

Enzyme	Improved performance	Application	References
Cyt c	Tenfold increased activity	Detection of highly explosive organic peroxides	[14]
CAT	Improved stability and catalytic activity	Protect cells from H ₂ O ₂ poison	[41]
GOx	High stability and reusability	Glucose detection	[42]
GOx & HRP	Improved stability and selectivity	Glucose detection	[43]
Trypsin	High catalytic activity	Digest protein quickly, it can be used in proteomics analysis	[38]

6 ZIF-8 负载核酸实现基因治疗

基因治疗是指将外源正常基因导入靶细胞, 以纠正或补偿缺陷和异常基因的表达, 从而达到治疗各种遗传病、恶性肿瘤和心血管疾病的目的^[44]。常见的核酸药物包括质粒 DNA、小分子量干扰 RNA (si-RNA) 和反义寡核苷酸 (ASOs) 等。然而在生理条件下, 细胞膜表面的磷脂双分子层仅允许带低电荷或者不带电的疏水小分子通过, 因此分子量巨大甚至带有高电荷的核酸药物在没有其他条件协助下, 很难通过细胞膜转染进入细胞^[45]。近来有研究表明, ZIF-8 作为一种运载体, 可负载核酸药物转染入胞并通过内体逃逸使基因得以表达^[46]。

2019 年, Poddar 等^[46]首次把整个质粒 DNA (6.5 kb 碱基对) 成功封装在 ZIF-8 中, 该质粒携带编码绿色荧光蛋白 (GFP) 的基因, 可用于后续检测。实验证实, ZIF-8 作为载体可成功携带质粒 DNA 穿过细胞膜, 在核摄取之前完成内体逃逸以表达基因。也有其他学者证实, 通过仿生矿化和共沉淀法, 将质粒 DNA 包埋到 ZIF-8 和 ZIF-8 聚合物载体中, 可实现质粒 DNA 高效率的基因表达^[47]。

此外, ZIF-8 还可用于酶和 RNA 的共传递。CRISPR/Cas9 作为基因组编辑平台, 包括两个功能性生物大分子,

一个是 Cas9 重组酶, 另一个是示踪剂/单引导 RNA (sgRNA)。自 2012 年 CRISPR/Cas9 基因组编辑平台在实验室出现以来, 如何将 CRISPR 组件输送到生物体内成为了首要问题。2018 年, Alsaiani 团队^[48]首次合成了由 ZIF-8 包裹的 CRISPR/Cas9 (ZIF-8 @ CRISPR/Cas9, 简称 CC-ZIFs), 其可以控制完整的 Cas9 蛋白和 sgRNA 的共传递 (图 6)。2020 年, 该团队^[50]在原有基础上, 用人乳腺癌细胞膜包封 ZIF-8@CRISPR/Cas 体系, 使之可以只被特定癌细胞摄取, 而健康细胞的摄取忽略不计, 实现了细胞特异性靶向递送。此外, 也有研究表明, ZIF-8 还可有效负载 si-RNA 使其成功转染入胞, 并保护 siRNA 免受核酸酶的降解^[50]。上述研究为 ZIFs 负载核酸提供了参考。总之, ZIF-8 作为运载体, 可包封 DNA、RNA 等核酸大分子, 转染入细胞后并通过内体逃逸释放至胞浆或者进入细胞核内发挥作用。现将文中提到的 ZIF-8 负载核酸的应用总结在表 3 中。

7 结 语

ZIF-8 作为 MOFs 的一个子类, 具有孔径大、稳定性好、比表面积大等优点, 有作为运载体的潜力, 能够装载蛋白质、酶、核酸等生物大分子, 一般通过一锅法 (原

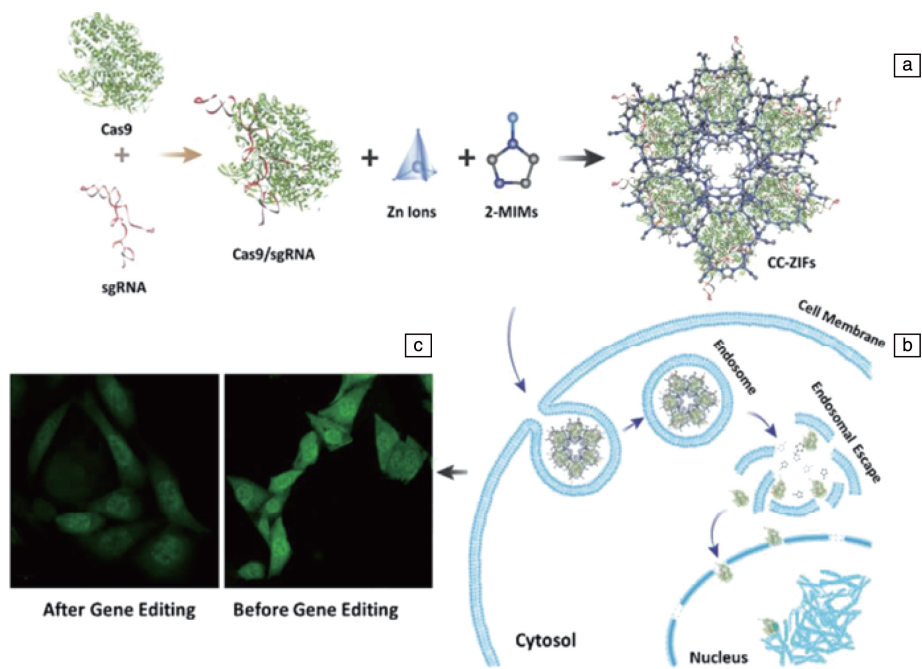


图 6 ZIF-8@CRISPR/Cas9 (CC-ZIF) 的制备、胞溶递送和基因编辑^[48]: (a) 将带负电的 Cas9/sgRNA 包裹在带正电的 ZIF-8 中, 形成 CC-ZIFs, (b) CC-ZIFs 的内体逃逸, (c) CC-ZIFs 处理前后细胞的共聚焦激光扫描显微 (confocal laser scanning microscopy, CLSM) 照片

Fig. 6 Preparation, cytosolic delivery and gene editing of ZIF-8@CRISPR/Cas9^[48]: (a) encapsulating the negatively charged Cas9/sgRNA within positively charged ZIF-8 to form CC-ZIFs, (b) endosomal escape of CC-ZIFs, (c) CLSM images of cells before and after treatment with CC-ZIFs

表 3 ZIF-8 @核酸复合体的优异性能和应用

Table 3 Improved performances and applications of ZIF-8@nucleic acid composites

Nucleic acid	Improved performance & application	References
Plasmid DNA+ GFP	Gene therapy	[46]
Plasmid DNA	Gene therapy	[47]
CRISPR/Cas9	Gene editing	[48]
si-RNA	Protect siRNAs from degradation by ribonuclease	[50]

位合成) 将生物大分子包埋到 ZIF-8 中。本文综述了 ZIF-8 负载、递送生物大分子的应用研究, 如 ZIF-8 封装蛋白质并在体内完成释放, 使其发挥生物学功能; 封装酶使其能够抵抗强酸、强碱、高温等恶劣条件的影响, 增强其催化活性、稳定性、选择性和可回收性; 封装核酸使其能够转染入细胞, 并在核摄取之前实现内体逃逸以表达基因。

尽管 ZIF-8 在负载生物大分子领域有显著的优势, 但这一新兴领域仍处于发展不成熟阶段, 还存在许多问题需要研究和解决, 例如 ZIF-8 的生物相容性较差, 需通过多种途径对其进行改进; 对 ZIF-8 与生物大分子之

间确切的相互作用机理的认识局限阻碍了 ZIF-8@生物大分子的合理设计。但不可否认的是, ZIF-8 及其复合物作为新型运载递送系统, 已表现出良好的应用前景。在未来的研究中, 可更多地探索 ZIF-8 运载不同类型的蛋白质、酶和核酸药物, 并使其在生物体内发挥功能, 实现在医药领域的应用。

参考文献 References

[1] PATTERSON J P, ABELLAN P, DENNY M S, *et al.* Journal of the American Chemical Society[J], 2015, 137(23): 7322-7328.

[2] YAGHI O M, O'KEEFFE M, OCKWIG N W, *et al.* Nature[J], 2003, 423(6941): 705-714.

[3] PARK K S, NI Z, CÔTÉ A P, *et al.* Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America[J], 2006, 103(27): 10186-10191.

[4] BANERJEE R, FURUKAWA H, BRITT D, *et al.* Journal of the American Chemical Society[J], 2009, 131(11): 3875-3877.

[5] LI Y S, LIANG F Y, BUX H, *et al.* Angewandte Chemie International Edition[J], 2010, 49(3): 548-551.

[6] LU G, HUPP J T. Journal of the American Chemical Society[J], 2010, 132(23): 7832-7833.

[7] YANG J, YANG Y W. Small[J], 2020, 16(10): 1906846.

[8] YANG J, YANG Y W. View[J], 2020, 1(2): e20.

- [9] WU M X, YANG Y W. *Advanced Materials* [J], 2017, 29(23): 1606134.
- [10] CHIZALLET C, LAZARE S, BAZER-BACHI D, *et al.* *Journal of the American Chemical Society* [J], 2010, 132(35): 12365–12377.
- [11] HUANG X C, LIN Y Y, ZHANG J P, *et al.* *Angewandte Chemie International Edition* [J], 2006, 45(10): 1557–1559.
- [12] SAVA GALLIS D F, BUTLER K S, AGOLA J O, *et al.* *ACS Applied Materials & Interfaces* [J], 2019, 11(8): 7782–7791.
- [13] PENG S, LIU J, QIN Y, *et al.* *ACS Applied Materials & Interfaces* [J], 2019, 11(39): 35604–35612.
- [14] LYU F J, ZHANG Y F, ZARE R N, *et al.* *Nano Letters* [J], 2014, 14(10): 5761–5765.
- [15] 李璟, 彭倩, 王丽姣, 等. *激光生物学报* [J], 2019, 28(5): 421–430.
- LI J, PENG Q, WANG L J, *et al.* *Acta Laser Biology Sinica* [J], 2019, 28(5): 421–430.
- [16] 唐祝兴, 赵鑫, 田颖, 等. *精细化工* [J], 2018, 35(5): 758–763.
- TANG Z X, ZHAO X, TIAN Y, *et al.* *Fine Chemicals* [J], 2018, 35(5): 758–763.
- [17] BANERJEE R, PHAN A, WANG B, *et al.* *Science* [J], 2008, 319(5865): 939–943.
- [18] VENNA S R, JASINSKI J B, CARREON M A. *Journal of the American Chemical Society* [J], 2010, 132(51): 18030–18033.
- [19] LEE Y R, JANG M S, CHO H Y, *et al.* *Chemical Engineering Journal* [J], 2015, 271: 276–280.
- [20] LIANG K, COGHLAN C J, BELL S G, *et al.* *Chemical Communications* [J], 2016, 52(3): 473–476.
- [21] GRUENBERG J, van der GOOT F G. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [J], 2006, 7(7): 495–504.
- [22] VARKOUHI A K, SCHOLTE M, STORM G, *et al.* *Journal of Controlled Release* [J], 2011, 151(3): 220–228.
- [23] SHETE H K, PRABHU R H, PATRAVALE V B. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* [J], 2014, 14(1): 460–474.
- [24] ZHENG H Q, ZHANG Y N, LIU L F, *et al.* *Journal of the American Chemical Society* [J], 2016, 138(3): 962–968.
- [25] 李向荣, 陈得军, 杨海艳, 等. *中国科学: 化学* [J], 2010, 40(9): 1415–1421.
- LI X R, CHEN D J, YANG H Y, *et al.* *Scientia Sinica (Chimica)* [J], 2010, 40(9): 1415–1421.
- [26] WANG C, SUDLOW G, WANG Z, *et al.* *Advanced Healthcare Materials* [J], 2018, 7(22): e1800950.
- [27] BAEHR A, UMANSKY K B, BASSAT E, *et al.* *Circulation* [J], 2020, 142(9): 868–881.
- [28] WANG C Z, SUN H C, LUAN J Y, *et al.* *Chemistry of Materials* [J], 2018, 30(4): 1291–1300.
- [29] LI Y, XU N, ZHU W, *et al.* *ACS Applied Materials & Interfaces* [J], 2018, 10(27): 22974–22984.
- [30] LIANG Z Z, YANG Z Y, YUAN H T, *et al.* *Dalton Transactions* [J], 2018, 47(30): 10223–10228.
- [31] RANJI-BURACHALOO H, REYHANI A, GURR P A, *et al.* *Nanoscale* [J], 2019, 11(12): 5705–5716.
- [32] ZHANG H, CHEN W, GONG K, *et al.* *ACS Applied Materials & Interfaces* [J], 2017, 9(37): 31519–31525.
- [33] LIU D M, CHEN J, SHI Y P. *TrACTrends in Analytical Chemistry* [J], 2018, 102: 332–342.
- [34] LIAN X, FANG Y, JOSEPH E, *et al.* *Chemical Society Reviews* [J], 2017, 46(11): 3386–3401.
- [35] ALTINKAYNAK C, TAVLASOGLU S, ÖZDEMİR N, *et al.* *Enzyme and Microbial Technology* [J], 2016, 93/94: 105–112.
- [36] KRASNOVA T N, SAMOKHODSKAYA L M, IVANITSKY L V, *et al.* *Terapevticheski Arkhiv* [J], 2015, 87(6): 40–44.
- [37] LU G, LI S, GUO Z, *et al.* *Nature Chemistry* [J], 2012, 4(4): 310–316.
- [38] ZHONG C, LEI Z X, HUANG H, *et al.* *Journal of Materials Chemistry B* [J], 2020, 8(21): 4642–4647.
- [39] LI Q, PAN Y, LI H, *et al.* *ACS Applied Materials & Interfaces* [J], 2020, 12(37): 41794–41801.
- [40] CHEN G, KOU X, HUANG S, *et al.* *Angewandte Chemie International Edition* [J], 2020, 59(7): 2867–2874.
- [41] LIAO F S, LO W S, HSU Y S, *et al.* *Journal of the American Chemical Society* [J], 2017, 139(19): 6530–6533.
- [42] BELL D J, WIESE M, SCHÖNBERGER A A, *et al.* *Angewandte Chemie International Edition* [J], 2020, 59(37): 16047–16053.
- [43] WU X, GE J, YANG C, *et al.* *Chemical Communications* [J], 2015, 51(69): 13408–13411.
- [44] JULIANO R L. *Nucleic Acids Research* [J], 2016, 44(14): 6518–6548.
- [45] DOWDY S F. *Nature Biotechnology* [J], 2017, 35(3): 222–229.
- [46] PODDAR A, CONESA J J, LIANG K, *et al.* *Small* [J], 2019, 15(36): 1902268.
- [47] LI Y T, ZHANG K, LIU P, *et al.* *Advanced Materials* [J], 2019, 31(29): 1901570.
- [48] ALSAIARI S K, PATIL S, ALYAMI M, *et al.* *Journal of the American Chemical Society* [J], 2018, 140(1): 143–146.
- [49] ALYAMI M Z, ALSAIARI S K, LI Y, *et al.* *Journal of the American Chemical Society* [J], 2020, 142(4): 1715–1720.
- [50] PAN Q S, CHEN T T, NIE C P, *et al.* *ACS Applied Materials & Interfaces* [J], 2018, 10(39): 33070–33077.

(编辑 惠琼)