



纳米盘技术在临床医学领域研究新进展*

黄储涵^{1)**} 张泽钰^{2,3)**} 施逸凡^{2,3)} 华茜^{1)***} 魏鹏^{2)***}⁽¹⁾ 北京中医药大学针灸推拿学院, 北京 100029; ⁽²⁾ 北京中医药大学中医学院, 北京 100029;⁽³⁾ 北京中医药大学第一临床医学院, 北京 100700)

摘要 膜蛋白功能广泛, 参与多种细胞活动, 如细胞增殖分化、信号转导、物质运输等, 近年来一直是生物医学领域研究热点之一。膜蛋白天然构象的稳定是维持其生物活性的关键因素, 新型纳米材料纳米盘技术采用两亲膜支架蛋白在水相中稳定磷脂分子, 进而自组装形成类似于天然磷脂双分子层的盘状结构, 为膜蛋白的研究提供了理想平台。与传统拟膜技术相比, 纳米盘具有可溶性强、稳定性佳、尺寸可控、生物相容性高、半衰期长等优点, 同时可精准设计选择性靶向, 应用优势巨大。本文介绍了纳米盘技术在膜蛋白结构与功能研究中的应用, 并重点综述其在临床医学领域中的研究新进展, 如纳米盘作为疏水性药物和抗肿瘤靶向治疗药物的运输载体, 具有载药率高、药物可控释、靶向运载能力等优势, 作为小分子蛋白质的拟膜环境对目标蛋白的亲合固定性和作为高密度脂蛋白的有效补充在心血管疾病中清除胆固醇具有高效性和可控性等。综上, 纳米盘技术能够为未来膜蛋白相关研究以及其他临床疾病的诊断与治疗提供新方法与新思路。

关键词 纳米盘, 膜蛋白, 靶向治疗, 疫苗制备, 心血管疾病

中图分类号 Q6, Q51

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0172

膜蛋白是能够结合或整合到细胞膜或细胞器膜上蛋白质的总称, 其在细胞中含量丰富, 是生物膜功能的主要执行者, 在细胞的增殖和分化、能量转换、信号转导及物质运输等方面具有重要功能。不同于水溶性蛋白, 膜蛋白体外很难获得稳定、均匀且正确维持膜蛋白生物构象的拟膜环境, 这极大地限制了天然膜蛋白的研究^[1], 而纳米盘技术则有望成为解决这些问题的有力工具^[2]。纳米盘采用两亲性的膜支架蛋白 (membrane scaffold proteins, MSP) 在水相中稳定磷脂分子从而形成盘状结构, 这类似于天然磷脂双分子层膜环境, 同时通过整合进入其中的膜蛋白, 可以在近似天然膜环境状态下保持膜蛋白生物活性。该体系具有良好的生物相容性及较长半衰期、可精准设计选择性靶向等优点^[3], 为膜蛋白结构与功能研究提供了良好平台。

纳米盘技术在膜蛋白纯化领域具有广泛应用, 如: 研究者将细胞色素 P450 (CYP450) 在昆虫细胞中过量表达, 再将其溶解在高浓度的胆酸钠溶液后, 加入 MSP, 通过去污剂胶束化去除胆酸钠, 得到含 CYP450 的纳米盘, 进一步通过镍离子亲和

层析和分子筛等技术进行纯化, 最终得到纯度高、构象天然、功能完整的目标膜蛋白^[4-5]。纳米盘在此纯化过程中, 既能够保证目标膜蛋白始终处于脂质双分子层中, 又能最大限度避免其天然活性结构与功能遭到去污剂的破坏。此外, 还有多个课题组通过类似研究方法纯化得到了多种功能膜蛋白, 如 CYP3A4 蛋白^[6]、CYP73A5 蛋白^[7]、用于结构蛋白研究的细胞色素 b5^[8]、人体重要铁还原酶 101F6^[8-9] 等, 这些膜蛋白经多种实验方法验证, 纳米盘技术可保持其结构和功能的完整性, 实验过程可靠且可复制。

纳米盘也可以在简单的无细胞反应中迅速组装为均质实体, 在这一过程中, 无需时刻关心溶液中脂质体与蛋白质的比例, 也无需通过大量实验找寻

* 国家自然科学基金(31800652)资助项目。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

魏鹏. Tel: 010-53912056, E-mail: weipeng@bucm.edu.cn

华茜. Tel: 010-53912203, E-mail: hqianz@aliyun.com

收稿日期: 2020-07-29, 接受日期: 2020-09-07

一种合适的去污剂来增溶、稳定膜蛋白后再进行纯化. 例如, 从哺乳动物细胞上提纯 ERBB 蛋白时, 纳米盘技术能够解决在传统去污剂环境下过度依赖融合标签、去污剂增溶等问题^[10-11], 纳米盘在此过程中发挥着其均质性、对低聚状态的控制优势, 而这种无细胞系统降低了相关污染物出现的可能性, 进一步确保了目标膜蛋白纯度^[12].

作为一种新型纳米生物材料, 纳米盘的应用范围因其自身性能特点不断拓展^[13], 已经从最初的膜蛋白纯化以及膜蛋白结构研究拓展到受体配体相互作用研究, 同时在生物医学临床研究领域也表现出巨大的潜力. 纳米盘作为药物载体, 可有效溶解水溶性差的药物, 并且能够装载一些低生物利用度药物, 有力推动药物诊断与治疗学研究的发展. 此外, 纳米盘在心血管疾病治疗、联合化疗免疫疗法的肿瘤治疗、疫苗制备等方面亦发挥重要作用. 本文基于近年纳米盘技术研究现状, 对其在膜蛋白结构与功能研究及临床医学中的应用进行重点梳理与综述.

1 纳米盘——一种新型拟膜技术

纳米盘是一种由磷脂和 MSP 自组装而成的盘状磷脂双分子层, 其中的 MSP 蛋白是一种类似

ApoA-1 蛋白的人工膜支架蛋白. ApoA-1 是人体中高密度脂蛋白 (high-density lipoprotein, HDL) 的重要组成部分, 在逆向胆固醇转运 (reverse cholesterol transport, RCT) 过程中发挥着重要作用. ApoA-1 由 243 个氨基酸残基组成, 将其 N 端的 43 个氨基酸残基切掉后可形成一种柔软而具有韧性的 MSP, 用于制备纳米盘^[14]. 制备纳米盘最常见的方式是通过适当摩尔比, 将 MSP 添加至去污剂稳定的磷脂当中, 然后选择合适的方法去除去污剂, 最终 MSP 会禁锢脂质体而形成一个盘状复合体, 即纳米盘. 其中, 应用最多的两种 MSP 颗粒分别是 MSP1D1 和 MSP1EE3D1. 通过这种方法制备的纳米盘能够在纯化膜蛋白时最大限度地保持其天然构象, 以便于进一步研究^[15].

当纳米盘技术与膜蛋白的纯化过程结合时, 主要有两种方式 (图 1). 其一, 首先利用去污剂或其他传统手段纯化得到目标膜蛋白, 然后将其与 MSP 以适量的摩尔比混合, 加入脂质, 通过自组装实现膜蛋白在纳米盘上的纯化; 其二, 直接将 MSP 引入膜蛋白混合物中, 同时加入过量脂质, 取得多种纳米盘结构, 其中有包含目标膜蛋白的、也有包含其他膜蛋白的或不包含膜蛋白的, 最后从纳米盘混合物中纯化得到含目标膜蛋白的纳米盘, 从而实现仅留下目标膜蛋白表达^[16].

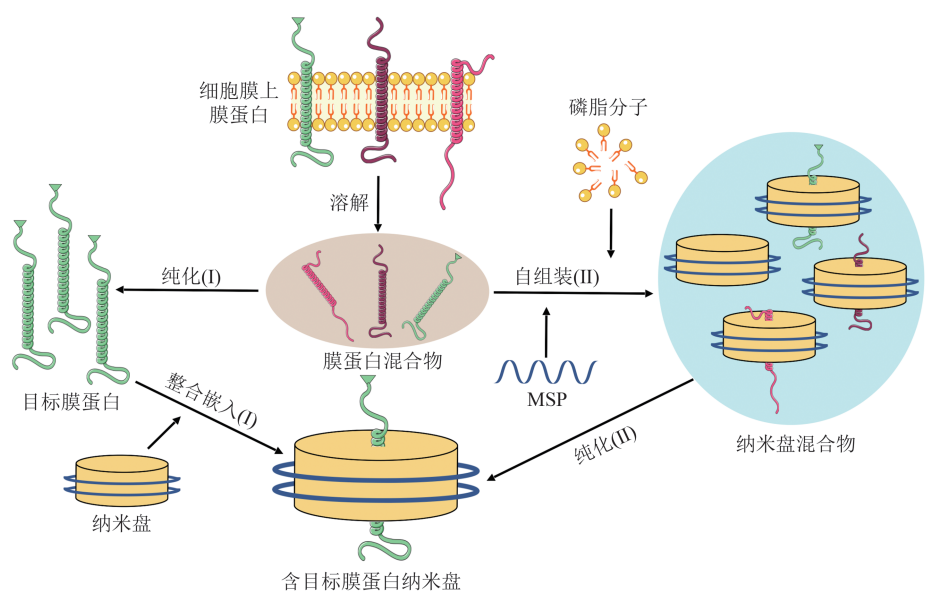


Fig. 1 Two different purification methods of target membrane protein by nanodiscs
图1 利用纳米盘纯化膜蛋白的两种途径

利用纳米盘纯化膜蛋白, 首先将细胞膜上膜蛋白溶解得到膜蛋白混合物, 之后可选用: (I) 在膜蛋白混合物中纯化目标膜蛋白后, 将目标膜蛋白整合嵌入纳米盘中, 得到含目标膜蛋白的纳米盘; 或 (II) 将磷脂分子和MSP加入膜蛋白混合物中, 使多种膜蛋白自组装成纳米盘混合物, 而后在此含有多种膜蛋白的纳米盘混合物中纯化得到含有目标膜蛋白的纳米盘.

纯化过程中纳米盘的大小还可以通过改变 MSP 颗粒的序列进行精准控制, Denisov 等^[17] 尝试用长短不一的 MSP 进行纳米盘的组装, 并通过小角度 X 射线散射 (small angle X-ray scattering) 数据拟合到圆柱模型来测量纳米盘的尺寸. 研究发现, 从 MSP1 序列 (直径为 9.8 nm 的纳米盘) 开始, 分别延长加入 1 个 (MSP1E1)、2 个 (E2)、3 个 (E3) 22 残基片段得到的不同 MSP, 可以制备出直径分别为 10.6、11.9 和 12.9 nm 不同大小的纳米盘.

综上, 纳米盘利用人工 MSP 与目标膜蛋白发生自组装, 从而实现目标膜蛋白的纯化. 这一方法能够大大减少膜蛋白纯化的步骤, 降低其纯化难度, 在未来膜蛋白的研究中大有可期; 同时由于其双分子层呈现出的天然性, 其制备的膜蛋白在结构上更加完整、不易受到去污剂的影响和破坏, 膜蛋白的功能也更加接近天然构象下的状态.

2 纳米盘技术——膜蛋白功能研究的理想平台

膜蛋白不仅可作为细胞膜的支架结构, 也在信号转导、物质运输等细胞进程中起到关键作用^[18-19]. 但由于其自身具有双亲性质, 难以直接纯化, 在过度表达的过程中容易产生细胞内毒性、蛋白质错误折叠、膜表面蛋白聚集等问题, 这些都极大地限制了天然膜蛋白的研究^[1], 而纳米盘技术则有望成为解决这些问题的有力工具之一.

7 跨膜螺旋 G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptors, GPCRs) 家族广泛介导细胞内外信号转导^[20], 参与嗅觉、味觉^[21] 和光线的感知, 一直是功能膜蛋白研究热点. Errey 等^[22] 利用十二烷基 j3-D-麦芽糖苷将在 HEK293 细胞中表达的 GPCRs 家族蛋白 β_2 AR 溶解, 并混合添加 MSP1 和胆酸盐溶解的 POPC, 随后去除去污剂得到 β_2 AR 纳米盘和过量的纳米盘, 然后通过 β_2 AR 蛋白 C 端的亲和标签将含有 β_2 AR 的纳米盘从游离纳米盘中分离, 得到高纯度目标蛋白 β_2 AR. 通过该方法得到的 β_2 AR 保留了其结合激动剂和拮抗剂的能力, 激动剂结合 β_2 AR 单体时引入了鸟嘌呤的快速交换, 与缺少 G 蛋白耦连时相比, G 蛋白直接诱导单体与高亲和力配体结合, 证明在激动剂结合后观察到的协同作用来自于 G 蛋白与受体单体的结合而非受体自身的寡聚^[23].

霍乱毒素 (cholera toxin) 通过与体内神经节

苷脂 GM1 的结合介导 A-亚基向细胞质的运输, 干扰 G 蛋白信号传导并导致离子通道开放从而导致人体失水, 同时有研究表明 GM1 头部可以诱导其发生寡聚, 从而影响其与霍乱毒素的亲合力活性^[24]. Borch 等^[25] 通过调节每个纳米盘上结合的神经节苷脂的数量来限制其低聚, 并经表面等离子体共振 (surface plasmon resonance) 分析发现每个纳米盘中神经节苷脂的数量与最大霍乱毒素 B 亚基的直接结合存在线性关系. 这验证了神经节苷脂即使在低掺入率下也可以在较长的距离中自由扩散并自聚. 但研究发现, 该结合过程的动力学和亲和力参数会随着纳米盘中插入的神经节苷脂数量变化而变化, 尤其是当神经节苷脂数量增加时, 解离率有所降低, 研究推测此结果与霍乱毒素 B 亚基的多价结合有关. 随着 CYPs 蛋白利用纳米盘表达纯化技术的日渐成熟, 其与不同配体结合过程中的协同结合特性、功能特性以及膜效应所产生影响的相关研究也得以开展. 研究显示, 睾酮分子与嵌入在纳米盘中的受体 CYP3A4 结合后, 能够显著提高同类配体在另一个结合点上的亲和性, 与传统拟膜技术实验结果相比, 受体嵌入纳米盘后与配体睾酮结合具有更强的同质协同结合性. 为了进一步探究这一特性, 实验将 CYP3A4 与它的电子供体 (cytochrome P450 reductase, CPR) 一起整合到纳米盘中, 用以提供固定大小的催化活性单位, 同时采用平衡底物滴定法和进行 NADPH 消耗的稳态动力学测量两种方法进行实验, 结果显示嵌入纳米盘的 CYP3A4 与单个睾酮分子及不同数目的睾酮分子复合物结合后具有显著功能差异^[26]. 此外, 在探究纳米盘膜效应对配体与受体结合过程影响的研究中发现, 嵌入纳米盘中的 CYP3A4 和溶液中未结合的 CYP3A4 相比, 其与各种配体亲和度的测量值均有显著升高^[4].

膜蛋白纳米盘在不同环境下表现不同功能, 这一特性在一项关于血凝块活化的临床研究中得到了很好的应用^[27]. 正常止血过程以及许多危及生命的血栓性疾病中, 凝血机制都是由血浆丝氨酸蛋白酶与组织因子整合膜蛋白^[28] 结合生成复合物后引发, 该复合物活性受其所在膜环境的强烈影响. 实验中将该复合物整合进入不同脂质构成的纳米盘后观察其在不同环境下的蛋白质水解活性, 结果显示在高浓度的阴离子磷脂中该复合物的活性最高, 这项研究对临床利用该复合物进行凝血治疗有重要指导意义.

然而值得注意的是, 当某些膜蛋白需要在膜两侧不同环境中进行功能重组时, 使用纳米盘模拟这种膜内外的环境差异仍是难以实现的, 这时纳米盘则不再适宜作为拟膜环境对该目标膜蛋白及其配体结合过程进行研究. 此外, 纳米盘大多为直径 10~15 nm 的颗粒, 而这一范围也限制了对跨膜片段较少的膜蛋白受体及其配体结合过程的探究^[29].

3 纳米盘技术在临床医学研究中的巨大潜力

3.1 药物载体

药物递送系统是采用多学科手段将药物有效地递送到目标部位, 通过调节药物的代谢动力学、药效、毒性、免疫原性和生物识别等特性, 使药物的治疗效应最大化的手段之一. 目前临床上已经投入使用的药物递送系统有长效缓释微球、口服缓释制剂和干粉吸入制剂等, 以纳米盘作为药物载体的递送系统则是最有应用前景的药物递送系统之一. Counsell 等^[30]早在 1982 年就提出脂蛋白有作为药物传递工具的潜能, 但碍于当时的技术发展水平, 这一研究没有继续^[30-31]. 直到 1993 年 Schouten 等^[32]开拓了 HDL 作为药物载体的新领域, 而现今随着纳米盘技术研究的深入, 更是推动了这一领域的新进展.

3.1.1 疏水性药物载体

据统计, 目前新发现的药物中约 40% 的化学药物都是脂溶性药物, 其较低的水溶性大大限制了其在生物学方面的研究进展. 在实际应用中, 尤其是静脉注射给药过程中常需要加入增溶剂提高其利用率, 然而这种处理方式很容易导致注射剂量大以及产生毒副作用的问题, 比如注射用紫杉醇在静脉注射体内后由于聚氧乙烯蓖麻油的使用易产生过敏性休克等副反应. 因此寻求一种安全有效的疏水药物载体以提高脂溶性药物的利用率是亟待解决的问题.

纳米盘模拟生物膜磷脂双分子层结构, 磷脂分子的亲水头部暴露在外侧, 亲脂长链位于纳米盘结构的内部, 装载的药物被包裹在内部亲脂长链中间, 目前有大量实验证明纳米盘材料对脂溶性药物具有较好的负载能力. 研究表明, 将广为使用的疏水性化疗药物阿霉素 (doxorubicin) 加入纳米盘中进行给药可引发癌细胞的免疫原性, 诱导癌细胞死亡以发挥其抗肿瘤作用^[33], 且过程中无明显的脱

靶副作用, 这种给药方式增强了 CT26 模型小鼠的免疫检查点阻断. 此外, 携带阿霉素的纳米盘进入体内可引起强大的抗肿瘤 CD8⁺T 细胞反应, 同时扩大对肿瘤相关抗原、肿瘤新生抗原和完整肿瘤细胞的表位识别^[34]. 据报道: 含脂溶性药物姜黄素的纳米盘可成功应用于肝细胞瘤、套细胞淋巴瘤以及多形性成胶质细胞瘤细胞系的靶向治疗研究中; 含胆固醇琥珀酸单酯 (cholesteryl hydrogen succinate) 修饰的紫杉醇纳米盘能够有效阻止该药物在肿瘤模型小鼠体内过早释放, 从而有望提高其抗肿瘤功效^[35]; 含 ApoE3 的纳米盘能有效减少 SAMP8 模型小鼠体内 β 淀粉样蛋白的沉积, 减少小胶质细胞的增生, 改善其神经功能变化, 从而挽救 SAMP8 模型小鼠的记忆缺陷^[36].

纳米盘作为药物载体除可以有效溶解一些水溶性差的药物之外, 研究还发现其装载的药物有较高的利用率及安全性, 如抗真菌化合物两性霉素 B. 采用纳米盘载体结合该药物后发现其在体内外均表现出强大的抗真菌活性, 且在治疗剂量下未观察到毒性. 此外, 随着纳米盘技术在药物载体方面的应用不断拓展, 其已广泛用于装载低生物利用度药物以治疗肿瘤^[37]、阿尔茨海默病^[38]等疾病, 目前均在动物实验阶段有良好的结果反馈.

3.1.2 肿瘤靶向药物载体

目前在肿瘤治疗过程中化学疗法的应用已取得了巨大进展, 但由于某些化疗药物产生非特异性毒性, 其疗效仍未达到最理想效果. 最近有研究提出, 以癌细胞中过度表达的膜受体为靶点, 设计靶向给药系统, 利用纳米颗粒进行药物载体化治疗, 是保证选择性有效载荷传递从而提高疗效的有效方法^[39], 这一思路为解决化学疗法过程中基本的临床问题提供了可能性.

作为研究热点之一的纳米递药系统构建的药物制剂因其尺寸小、粒径分布窄、表面修饰后可以进行靶向特异性定位达到药物靶向输送的目的, 并且还能保护药物分子、提高稳定性与生物相容性, 同时可将显像和治疗相结合, 实现疾病的诊断和治疗. 基于这些优点, 越来越多的研究者开始关注利用纳米载体用于药物输送的研究, 以克服肿瘤治疗中的困难.

最近, Kadiyala 等^[40]通过在 32~34 只小鼠纹状体内植入 GL26-cit 肿瘤, 构建 GL26 同基因小鼠胶质瘤模型, 以模拟人类多形性成胶质细胞瘤中的

组织病理学特征. 植入后第7天在肿瘤内注射经DiD荧光示踪剂标记后的载药纳米盘, 注射后24 h进行灌流, 并对大脑进行共焦成像处理, 实验结果表明荧光示踪剂信号与肿瘤微环境密切相关. 为了进一步评估载药纳米盘在体内的生物分布, 研究者将GL26-wt细胞植入C57BL6小鼠模型一侧大脑半球的纹状体内, 注射21 d后对荷瘤和非肿瘤小鼠模型再注射经DiR荧光示踪剂标记的载药纳米盘, 于注射后24 h灌流小鼠, 利用体内光学成像系统观察心脏、胸腺、肺、脾、肝、脑、肾等器官的荧光强度. 结果显示, DiR荧光示踪剂信号具有很强的肿瘤特异性, 荷瘤动物的肿瘤侧大脑半球可观察到较强的荧光示踪剂信号, 在荷瘤动物的肿瘤对侧半球或非肿瘤小鼠大脑中都没有观察到荧光信号, 且肝脏、胸腺、心脏、肺、肾脏和脾脏中的荧光信号均不明显, 这表明通过纳米盘作为载体的运输途径在治疗多形性胶质细胞瘤时可以到达并留在大脑内的靶组织中, 而不会在非靶器官系统中积聚, 从而可以提高其体内靶向效率, 显示了纳米盘作为多形性胶质细胞瘤治疗运载平台的应用潜力.

除此以外, 纳米盘给药技术在疫苗制备过程中也表现出良好的靶向应用潜力. 肿瘤疫苗利用肿瘤细胞相关抗原, 配合其他免疫刺激因子诱导机体激活特异性细胞免疫和体液免疫反应, 从而抑制肿瘤细胞的生长、转移和复发. 长期以来, 肿瘤抗原递呈的靶向性、有效性及安全性一直是肿瘤疫苗发展的重难点问题. Fang等^[41]将寡聚核酸佐剂分子嵌入纳米盘以模拟小鼠黑色素瘤细胞膜表面, 携带肿瘤细胞特异性抗原的纳米盘表面相对完整地保留了肿瘤细胞表面的组成成分和理化性质, 可以有效诱导抗原提呈细胞的成熟, 刺激T细胞的增殖和免疫应答, 并可靶向进入淋巴结, 增加纳米疫苗的血液循环时间, 进而克服了肿瘤抗原表达多样化、抗原突变率高的问题.

迄今为止, 纳米盘作为药物载体因其特殊的优越性, 如药物控释、靶向功能、高载药率等, 在应用研究方面已经取得了长足进展, 但目前仅限在动物模型中进行相关测试, 仍需进一步深入探究与验证才有望在临床使用当中更好发挥其优势.

3.2 成像技术

在临床研究中, 疾病诊断和对药物作用的观察是必不可少的, 而先进的成像技术能够使这一过程更加精确. 然而, 在现有的小分子成像技术中, 常

常存在因目标蛋白异常聚集、浑浊样品结晶困难而导致的观察桎梏. 引入纳米盘技术有助于实现亲和标签的固定, 使目标膜蛋白即使面临高浓度聚集情况时, 也能保持其天然构象、完整功能以及充分的流动性等特征.

X射线晶体衍射法(X-ray diffraction)能够以原子或接近原子水平的分辨率显示生物分子的三维结构. 在以往的研究中主要面临结晶困难的问题. 将纳米盘引入后, 观察者们可以通过设计MSP使其形成一个二维的结晶格^[42], 或使用特定的抗体为脂质双分子层提供更大的空间位置以便形成晶体的接触, 避免结晶困难等问题. 2020年, Josts等^[43]使用时间解析的小角度X射线散射法, 研究了在分离的核苷酸结合区(nucleotide-binding domains, NBDs)和脂质纳米盘中全长离子通道蛋白MsbA的背景下NBDs二聚化(ATP绑定时)的动力学和伴随的结构变化(ATP水解时), 该研究数据能够确定NBDs二聚体形成和分离的时间常数.

冷冻电镜(cryo-electron microscopy)通过对样品颗粒从不同角度拍摄最后进行叠加而得出分子结构影像, 这种方法对蛋白质样品的均一性有较高要求, 此外蛋白质样品中一些柔性结构也会对结构测定造成较大影响. 纳米盘均一性高的优势可用来分离膜蛋白以及膜蛋白复合物, 同时能够避免其异常聚集且使其保持天然构象和功能, 为目标膜蛋白的冷冻观测提供良好条件. Lee等^[44]将纳米盘与人类病原体柯萨奇病毒B3(CVB3)结合时发现在双分子层表面附近的电子密度扩展现象和病毒外壳表面通道形成, 取得了利用冷冻电镜方法捕获病毒侵入细胞研究的新突破.

核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)技术同样应用于高分辨率的结构生物学研究中^[45]. 2016年, Yao等^[46]利用NMR技术研究了BCL-2家族中一种重要抗癌药物靶点蛋白BCL-XL在纳米盘中的结构特征. 大部分BCL-2蛋白结构研究都通过去除其C端尾部提高其溶解性, 因此它们结合膜激活状态下的分子信息很少. 研究发现全长BCL-XL在纳米盘中由于C端尾部与膜的紧密结合, 相比去除C端尾部的BCL-XL具有更强的BH3配体结合活性.

此外, 由于纳米盘的单分散度高、分散性好, 在缺少膜蛋白完整的结构测定时, 纳米盘也可以用

于明确该种膜蛋白在拟膜环境下的长度和方向, 还可以用来定义膜蛋白在天然双层环境中的特定距离和方向^[47]. 相关研究包括配体与麦芽糖转运蛋白 MalFGK2 结合引起的构象和动力学变化^[48], 以及使用 DEER 光谱来检测纳米盘内 GPCRs 结合信号配体后的构象变化^[49], 为研究药物与体内靶点结合提供了新的结构学、动力学依据.

除此之外, 氧结合和自动氧化动力学在测量嵌入纳米盘中的膜蛋白单体过程中显示纯粹的指数图像, 这与传统的溶液聚集体不同, 能够有效避免在解释实验数据时产生的歧义, 通过这种方法解释了 CYP3A4 单体的功能性意义, 并对膜环境对配体结合的局部影响进行了精准而严格的评估^[50]. 使用放射性标记的纳米盘可以用正电子发射断层扫描成像技术 (positron emission tomography) 研究乳腺癌模型中相关巨噬细胞的定量, 显示出纳米盘在无创成像领域中的优势与潜力.

纳米盘还可以作为造影剂载体应用于临床诊断. 心血管疾病在早期发现后需要及时识别动脉粥样硬化病变类型以区分稳定性斑块和不稳定性斑块, 方便相应治疗. 纳米盘颗粒因其体积小可以穿透斑块, 并且已被证明可以在动脉粥样硬化中靶向进入载脂巨噬细胞, 而巨噬细胞浸润程度与病变进展、斑块大小和内膜厚度呈正相关, 这为病变类型的诊断提供巨大的优势. 据 Gurbel 等^[51] 报道, Apo E-/- 小鼠的主动脉弓粥样硬化病变中发现了放射性标记的纳米盘成分, 这一发现吸引了研究者的兴趣, 继续采用高密度脂蛋白 (HDL) 进行 NMR 增强扫描. 钆 (Gd) 基造影剂被纳入到由富含载脂蛋白的单一脂质成分重组而成的纳米盘中. 结果显示 NMR 成像和光学成像的双探针标记纳米盘可以在体内和体外进行多模态成像. 例如, 在注射后 24 h, 纳米盘颗粒在 Apo E-/- 小鼠主动脉斑块的巨噬细胞富集部位积聚, 表现出了显著增强的 NMR 信号. 鉴于以上实验研究, 未来将成像和治疗药物集成在一个纳米盘内应用于心血管及其他临床疾病研究中, 能够实现早期检测、成像诊断及同时运载治疗药物这一目标^[52].

3.3 心血管疾病的治疗

世界卫生组织统计报告显示, 心血管疾病目前已经成为全球的头号死因, 占全球死亡总数的 30% 以上, 是社会健康与经济的重要负担之一. 而动脉粥样硬化是心血管疾病中冠心病 (coronary heart disease, CHD) 发病和死亡的主要原因, 因此全面

防控患病危险因素, 控制胆固醇水平成为降低冠心病死亡率的关键.

脂蛋白是血液中脂肪或胆固醇等脂溶性化合物的内源性载体, 具有明确的结构和多种生物学功能, 在脂质代谢中起主导作用, 因而在动脉粥样硬化病变的预防和逆转中也有巨大的研究意义. HDL 颗粒是最小的一组脂蛋白颗粒, 主要具有抗动脉粥样硬化的保护作用, 其潜在的保护机制依赖于 HDL 可以在 ABCA1 (ATP-binding cassette transporter A1) 与 ABCG1 (ATP-binding cassette transporter G1) 依赖机制下从外周组织中去除多余胆固醇^[53]. 具体过程以充满脂质的巨噬细胞为例, ApoA-1 在肝脏和肠内以无脂形式合成, 通过肝细胞 ABCA1 转运蛋白与磷脂和胆固醇迅速脂化, 形成新生盘状 HDL. 在外周组织中, 新生的 HDL 颗粒通过巨噬细胞 ABCA1 和 ABCG1 转运蛋白吸收游离胆固醇, 经卵磷脂-胆固醇酰基转移酶 (lecithin cholesterol acetyltransferase, LCAT) 酯化形成球形 HDL3. 成熟的 HDL3 粒子形成, 可以转化为 HDL2 被肝脏吸收, 也可能被内皮或肝脂肪酶修饰^[52] (图 2), 上述生理过程明确后经进一步的脂质组学和蛋白质组学研究发现, 血液 HDL 水平与心血管疾病发生的风险呈负相关, 这使得人们普遍接受 HDL 血清浓度有助于预防心血管疾病的理论. 与这些发现相一致, 许多提高循环 HDL 水平的治疗方法一直是药理学研究的焦点. 然而, 很快研究者们发现仅仅增加循环中的 HDL 颗粒数量远远不足以显著治疗心血管疾病, 还应注重提高加入循环中 HDL 的功能性, 如 HDL 颗粒的大小和形态变化能力. 纳米盘的组成和物理化学参数可以很容易地进行化学调节和操纵, 通过反复实验调整其尺寸、均匀性, 使得清除胆固醇效率达到最佳状态, 从而能够有效减少动物模型中动脉粥样硬化改变, 并已在治疗心血管疾病的一些早期动物实验中得到验证^[54]. 例如, 在兔血管炎症模型中, 每日向血管中输注嵌入二棕榈酰基-磷脂酰胆碱 (dipalmitoyl-phosphatidylcholine, DPPC) 的纳米盘制剂成功地抑制了中性粒细胞浸润和黏附分子的表达, 进而减少炎症和致动脉粥样硬化的过程. 将磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, PS) 嵌入纳米盘对动脉粥样硬化小鼠模型进行输注, 检测结果显示血浆炎症生物标记 IL-6 与 TNF α 水平以及细胞间黏附分子水平均有降低, 另一方面也反映出纳米盘与 PS 特异性受体的相互作用可能间接有助于 PS 的抗炎作用.

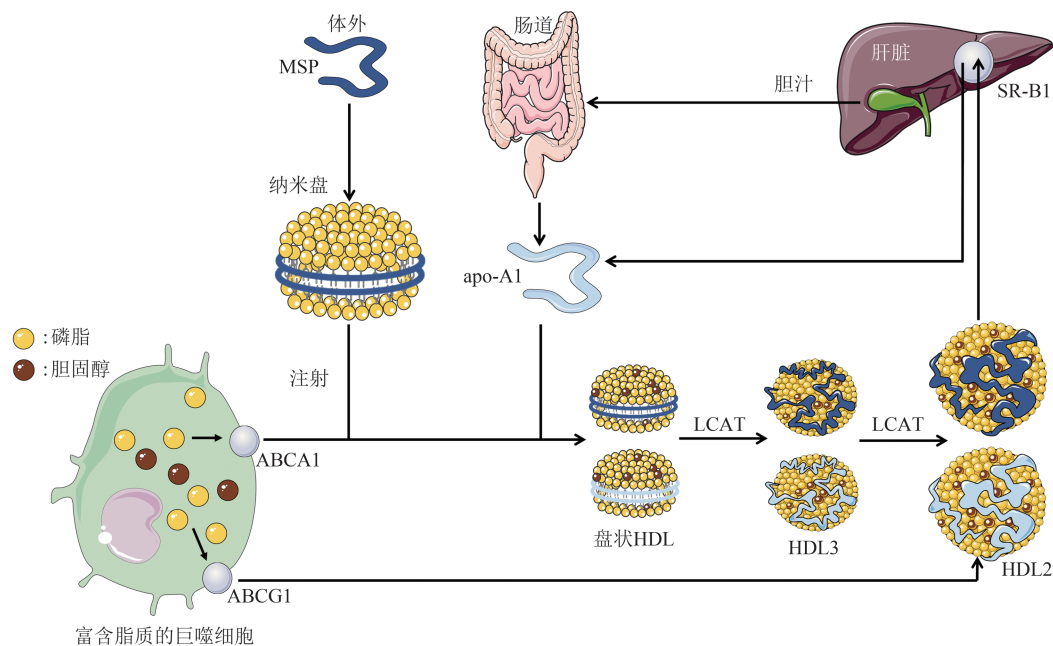


Fig. 2 Schematic diagram of high density lipoprotein (HDL) and nanodisc metabolism in the circulatory system

图2 循环系统高密度脂蛋白与纳米盘代谢示意图

ApoA-1在肝脏和肠道中以无脂形式合成，与磷脂和胆固醇迅速脂化形成盘状新生HDL. 在周围组织中，新生的HDL颗粒通过巨噬细胞ABCA1和ABCG1转运体吸收游离胆固醇. 游离胆固醇经卵磷脂-胆固醇酰基转移酶（LCAT）酯化形成胆固醇酯. 成熟的HDL3粒子形成，可以转化为HDL2，被肝脏通过SR-B1吸收. 纳米盘在体外装载完毕，注射进入体内后被重塑为球状HDL，参与循环过程.

目前，利用ApoA-1及脂质成分结合的纳米盘在抗动脉硬化方向的应用已经取得了一些有代表性的研究成果（表1）. Jomard等^[53]报道的几例最新研究显示，负载他汀类药物的纳米盘可将辛伐他汀传递到动脉粥样硬化斑块以抑制炎症. 在Apo E-/-小鼠动脉粥样硬化模型体内观察到，由于他汀类药物纳米盘的抗炎作用，巨噬细胞的存活率降低，在

一周高剂量治疗后，使用gd标记颗粒的NMR观察到炎症显著减少，而3个月低剂量治疗通过直接靶向斑块巨噬细胞能够抑制斑块炎症. 在另一个例子中，血管活性心脏保护药物丹参酮IIA（Tanshinone IIA）纳入圆盘状纳米盘中注射进入动脉粥样硬化新西兰兔模型后，进入体内的盘状纳米盘被酶解重塑为球形纳米盘，丹参酮IIA经纳米盘承载后能更

Table 1 Representative examples of various nanodiscs designed for the therapy of CVD

表1 纳米盘技术用于治疗心血管疾病的代表性举例

动物模型/受试人群	药物	纳米盘脂质成分	主要作用	参考文献
正常胆固醇血症兔急性动脉炎症模型		DPPC	中性粒细胞浸润↓ ROS ↓ 黏附分子 ↓	[55]
急性冠状动脉综合征患者		CSL-111	动脉粥样化体积 ↓	[56]
稳定动脉粥样硬化疾病2a期患者		CSL-112	ApoA-1 ↑ 胆固醇代谢排出 ↑	[57]
颈动脉疾病患者		CER-001	ApoA-1 ↑ 胆固醇代谢排出 ↑	[58]
apo E-/-鼠模型	辛伐他汀	Lyso-PC/DMPC	炎症反应 ↓	[59]
动脉粥样硬化新西兰兔模型	丹参酮 IIA	Soy-PC/CS	胆固醇代谢排出 ↑	[60]

DPPC: Dipalmitoyl-phosphatidylcholine; DMPC: Dimyristoyl-phosphatidylcholine; LysoPC: 1-Myristoyl-2-hydroxy-sn-glycero-3-phosphatidylcholine; Soy-PC: Soybean phosphatidylcholine; CS: Cholesterol.

加迅速地作用于动脉粥样硬化斑块内的泡沫细胞, 表现出较强的抗动脉粥样硬化作用. 这些结果表明使用纳米盘结合降脂药物的抗增生性治疗策略为动脉粥样硬化中的炎症打开了一个新的治疗窗口.

动物实验的良好结果促进研究人员进一步开展临床试验, 目前正在进行的几项早期试验结果显示, 患者对纳米盘制剂有很好的耐受性, 通过静脉注射可显著提高人血浆中HDL的水平, 从而抑制动脉粥样硬化壁的脂肪条纹形成和脂质沉积, 并减少动脉粥样硬化体积和斑块重塑的现象^[61]. 对于稳定的动脉粥样硬化患者, 一次性给予适量嵌入CSL-112的纳米盘制剂可显著增加ABCA1依赖性胆固醇的代谢外排, 并观察到纳米盘一旦进入循环, 就会迅速重塑为成熟的球形HDL, 比使用天然HDL进行输液治疗所达到的循环时间更长更具优势^[62]. Cerenis Therapeutics公司的CER-001是另一个进入临床试验II期的例子, 该试验将二棕榈酰基-磷脂酰甘油(dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphorylglycerol)组装进纳米盘并通过静脉注射进入血管内, 检测结果表明, 虽然该制剂对胆固醇代谢外排和减轻血管炎症有良好的作用, 但灌注CER-001后并没有观察到冠状动脉粥样硬化斑块体积的明显消退, 对急性冠脉综合征后高斑块负荷的状况没有产生预期的效果. 在此基础上值得思考的是, 在进行纳米盘输注疗法增加体内HDL颗粒数量时, 还必须对纳米盘模拟HDL结构和动力学进行更深刻的探讨与研究^[63].

在细胞和动物模型中, 纳米盘已经显示出其作为诊断和治疗实体的巨大潜力, 然而在临床试验开发的早期阶段, 为了满足体外、体内试验的各项标准, 一个主要的挑战是对其物理化学特性的精确控制, 制造技术、成分、浓度、辅料、盐、pH值或温度均会影响装配过程中的性能变化. 一旦建立了体外应用, 另一个需要关注的难点是制剂在体内的安全治疗剂量和药物传递系统的有效性. 纳米盘必须符合药物动力学的相关标准, 确定获得预期效果所需的最小治疗活性剂量, 以及脱靶效应导致毒性之前的最大耐受剂量, 以获得有益的治疗指标. 虽然纳米盘通常无毒且耐受性良好, 但表面修饰或化学成分修饰可能会引发免疫反应或炎症反应, 因此每一种新成分都需要进行单独的毒理学评估. 这些因素的限制导致目前只有少数试验进行到早期临床阶段.

4 结 语

纳米盘作为一种人工制备的新型拟膜结构, 为长期以来受结构不稳定、聚集不方便所影响的膜蛋白研究提供了更好的平台, 其大小可调, 能够适应不同尺寸目标膜蛋白的表达需求, 可提供长半衰期、强稳定性、高可溶性和精准靶向的优势拟膜环境, 已被广泛应用于膜蛋白的生产纯化、受体配体结合的药物靶点研究以及结构生物学等领域. 在临床医学领域^[64], 纳米盘已在药物载体、疫苗制备和多种疾病的预防与治疗中展现出巨大的潜力. 相信在不远的将来, 纳米盘能够在生物医疗领域为我们提供更多更加新颖、更加可靠的治疗方案.

值得注意的是, 纳米盘技术相关研究仍有待突破. 首先, 受限于颗粒直径范围, 它并不能作为跨膜片段较少膜蛋白的合适研究载体; 其次, 由于纳米盘两端环境的同一性, 在面对需要环境差异的膜蛋白研究中有明显的局限性, 这启发我们应对于适用性更强的纳米盘制备材料进行开发. 而在临床应用方面, 纳米盘的介入尚处于起步阶段, 应加强对其疗效特殊优势的研究. 因此, 纳米盘技术仍需要进一步开发和改进.

参 考 文 献

- [1] Wang L, Tonggu L. Membrane protein reconstitution for functional and structural studies. *Science China Life Sciences*, 2015, **58**(1): 66-74
- [2] Nasr M L. Large nanodiscs going viral. *Curr OpinStruc Biol*, 2020, **60**:150-156
- [3] Kuai R, Li D, Chen Y E, *et al*. High-density lipoproteins: Nature's multifunctional nanoparticles. *Acs Nano*, 2016, **10**(3): 3015-3041
- [4] Denisov I G, Sligari S G. Nanodiscs in membrane biochemistry and biophysics. *Chemical Reviews*, 2017, **117**(6): 4669-4713
- [5] Henninot A, Collins J C, Nuss J M. The current state of peptide drug discovery: back to the future?. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, **61**(4): 1382-1414
- [6] Davydov D R, Fernando H, Baas B J, *et al*. Kinetics of dithionite-dependent reduction of cytochrome P450 3A4: Heterogeneity of the enzyme caused by its oligomerization. *Biochemistry*, 2005, **44**(42): 13902-13913
- [7] Duan H, Civjan N R, Sligar S G, *et al*. Co-incorporation of heterologously expressed Arabidopsis cytochrome P450 and P450 reductase into soluble nanoscale lipid bilayers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2004, **424**(2): 141-153
- [8] Bai J, Wang J, Ravula T, *et al*. Expression, purification, and functional reconstitution of 19F-labeled cytochrome b5 in peptide nanodiscs for NMR studies. *Biochimica et Biophysica Acta*

- Biomembranes, 2020, **1862**(5): 183194-183194
- [9] El Behery M, Fujimura M, Kimura T, *et al.* Direct measurements of ferric reductase activity of human 101F6 and its enhancement upon reconstitution into phospholipid bilayer nanodisc. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 2020, **21**: 100730
- [10] Scharadin T M, He W, Yiannakou Y, *et al.* Synthesis and biochemical characterization of EGF receptor in a water-soluble membrane model system. *Plos One*, 2017, **12**(6): e0177761
- [11] Hu S, Sun Y, Meng Y C, *et al.* Molecular architecture of the ErbB2 extracellular domain homodimer. *Oncotarget*, 2015, **6**(3): 1695-1706
- [12] Qi Y F, Lee J, Klauda J B, *et al.* Nanodisc builder for modeling and simulation of various nanodisc systems. *Journal of Computational Chemistry*, 2019, **40**(7): 893-899
- [13] Wu Z Y, Auclair S M, Bello O, *et al.* Nanodisc-cell fusion: control of fusion pore nucleation and lifetimes by SNARE protein transmembrane domains. *Scientific Reports*, 2016, **6**: 27287
- [14] Munusamy S, Conde R, Bertrand B, *et al.* Biophysical approaches for exploring lipopeptide-lipid interactions. *Biochimie*, 2020, **170**: 173-202
- [15] Liu H, Wang R, Lu X, *et al.* A new approach to the prediction of transmembrane structures. *Chinese Science Bulletin*, 2008, **53**(7): 1011-1014
- [16] Denisov I G, Sligar S G. Nanodiscs for structural and functional studies of membrane proteins. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2016, **23**(6): 481-486
- [17] Denisov I G, Grinkova Y V, Lazarides A A, *et al.* Directed self-assembly of monodisperse phospholipid bilayer nanodiscs with controlled size. *Journal of the American Chemical Society*, **126**(11): 3477-3487
- [18] Vasseur L, Cens T, Wagner R, *et al.* Importance of the choice of a recombinant system to produce large amounts of functional membrane protein hERG. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, **20**(13): 3181
- [19] Wishart D S, Feunang Y D, Guo A C, *et al.* DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018. *Nucleic Acids Research*, 2018, **46**(D1): 1074-1082
- [20] Conn C E, Drummond C J. Nanostructured bicontinuous cubic lipid self-assembly materials as matrices for protein encapsulation. *Soft Matter*, 2013, **9**(13): 3449-3464
- [21] Moon D, Cha Y K, Kim S-O, *et al.* FET-based nanobiosensors for the detection of smell and taste. *Science China Life Sciences*, 2020, **63**(8): 1159-1167
- [22] Errey J C, Fiez-Vandal C. Production of membrane proteins in industry: the example of GPCRs. *Protein Expression and Purification*, 2020, **169**: 105569
- [23] Leitz A J, Bayburt T H, Barnakov A N, *et al.* Functional reconstitution of Beta2-adrenergic receptors utilizing self-assembling nanodisc technology. *Biotechniques*, 2006, **40**(5): 601-602, 604, 606
- [24] Owen M C, Karner A, Sachl R, *et al.* Force field comparison of gml in a DOPC bilayer validated with AFM and FRET experiments. *Journal of Physical Chemistry B*, 2019, **123**(35): 7504-7517
- [25] Borch J, Roepstorff P, Moller-Jensen J. Nanodisc-based co-immunoprecipitation for mass spectrometric identification of membrane-interacting proteins. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2011, **10**(7): O110.006775
- [26] Hargrove T Y, Wawrzak Z, Fisher P M, *et al.* Binding of a physiological substrate causes large-scale conformational reorganization in cytochrome P450 51. *Journal of Biological Chemistry*, 2018, **293**(50): 19344-19353
- [27] Huff H C, Maroutsos D, Das A. Lipid composition and macromolecular crowding effects on CYP2J2-mediated drug metabolism in nanodiscs. *Protein Science*, 2019, **28**(5): 928-940
- [28] Monroe D M, Key N S. The tissue factor-factor VIIa complex: procoagulant activity, regulation, and multitasking. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2007, **5**(6): 1097-1105
- [29] Dang A T, He W, Ivey D B, *et al.* Lipid and protein transfer between nanolipoprotein particles and supported lipid bilayers. *Langmuir*, 2019, **35**(37): 12071-12078
- [30] Counsell R E, Pohland R C. Lipoproteins as potential site-specific delivery systems for diagnostic and therapeutic agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1982, **25**(10): 1115-1120
- [31] Chen P H, Chen X Y, He X L. Platelet-derived growth factors and their receptors: Structural and functional perspectives. *Biochimica Et Biophysica Acta-proteins and Proteomics*, 2012, **1834**(10): 2176-2186
- [32] Schouten D, Vanderkooij M, Muller J, *et al.* Development of lipoprotein-like lipid particles for drug targeting: neo-high density lipoproteins. *Molecular Pharmacology*, 1993, **44**(2): 486-492
- [33] Guerin M V, Finisguerra V, Van Den Eynde B J, *et al.* Preclinical murine tumor models: a structural and functional perspective. *Elife*, 2020, **9**: e50740
- [34] Rodriguez-Ruiz M E, Vitale I, Harrington K J, *et al.* Immunological impact of cell death signaling driven by radiation on the tumor microenvironment. *Nature Immunology*, 2020, **21**(2): 120-134
- [35] Pedersbaek D, Jonsson K, Madsen D V, *et al.* A quantitative ex vivo study of the interactions between reconstituted high-density lipoproteins and human leukocytes. *Rsc Advances*, 2020, **10**(7): 3884-3894
- [36] Harilal S, Jose J, Parambi D G T, *et al.* Advancements in nanotherapeutics for Alzheimer's disease: current perspectives. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2019, **71**(9): 1370-1383
- [37] Patriarchi T, Shen A, He W, *et al.* Nanodelivery of a functional membrane receptor to manipulate cellular phenotype. *Scientific Reports*, 2018, **8**(1): 3556
- [38] Song Q, Song H, Xu J, *et al.* Biomimetic apoE-reconstituted high density lipoprotein nanocarrier for blood-brain barrier penetration and amyloid beta-targeting drug delivery. *Molecular Pharmaceutics*, 2016, **13**(11): 3976-3987
- [39] Anna C R, Angela I, Ester S, *et al.* Dual-action cancer therapy with targeted porous silicon nanovectors. *Small*, 2017, **13**(29): 1701201

- [40] Kadiyala P, Li D, Nunez F M, *et al.* High density lipoprotein-mimicking nanodiscs for chemo-immunotherapy against glioblastoma multiforme. *Acs Nano*, 2019, **13**(20): 1365-1384
- [41] Fang R H, Hu C M, Luk B T, *et al.* Cancer cell membrane-coated nanoparticles for anticancer vaccination and drug delivery. *Nano Letters*, 2014, **14**(4): 2181-2188
- [42] Thonghin N, Kargas V, Clews J, *et al.* Cryo-electron microscopy of membrane proteins. *Methods*, 2018, **147**: 176-186
- [43] Josts I, Gao Y, Monteiro D C F, *et al.* Structural kinetics of msba investigated by stopped-flow time-resolved small-angle x-ray scattering. *Structure*, 2020, **28**(3): 348-354
- [44] Lee H, Shingler K L, Organtini L J, *et al.* The novel asymmetric entry intermediate of a picornavirus captured with nanodiscs. *Science Advances*, 2016, **2**(8): e1501929
- [45] Liu C X, Wang Y J, Yu Z W, *et al.* Nuclear magnetic resonance technology for biological complex systems: opportunities and challenges. *Chinese Science Bulletin*, 2019, **64**(08): 773-787
- [46] Yao Y, Nisan D, Fujimoto L M, *et al.* Characterization of the membrane-inserted C-terminus of cytoprotective BCL-XL. *Protein Expression and Purification*, 2016, **122**: 56-63
- [47] Lloris-Garcera P, Klintner S, Chen L H, *et al.* DirectMX - One-Step reconstitution of membrane proteins from crude cell membranes into salipro nanoparticles. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2020, **8**: 215
- [48] Alvarez F J D, Orelle C, Huang Y, *et al.* Full engagement of liganded maltose-binding protein stabilizes a semi-open ATP-binding cassette dimer in the maltose transporter. *Molecular Microbiology*, 2015, **98**(5): 878-894
- [49] Kang Y Y, Zhou X E, Gao X, *et al.* Crystal structure of rhodopsin bound to arrestin by femtosecond x-ray laser. *Nature*, 2015, **523**(7562): 561-567
- [50] Bayburt T H, Vishnivetskiy S A, Mclean M A, *et al.* Monomeric rhodopsin is sufficient for normal rhodopsin kinase (GRK1) phosphorylation and Arrestin-1 binding. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, **286**(2): 1420-1428
- [51] Gurbel P A, Tantry U S, D'andrea D, *et al.* Evaluation of potential antiplatelet effects of CSL112 (Apolipoprotein A-I Human) in patients with atherosclerosis: results from a phase 2a study. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 2018, **45**(4): 469-476
- [52] Kornmueller K, Vidakovic I, Prassl R. Artificial high density lipoprotein nanoparticles in cardiovascular research. *Molecules*, 2019, **24**(15): 2829
- [53] Jomard A, Osto E. High density lipoproteins: metabolism, function, and therapeutic potential. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 2020, **7**: 39
- [54] Schwendeman A, Sviridov D O, Yuan W, *et al.* The effect of phospholipid composition of reconstituted HDL on its cholesterol efflux and anti-inflammatory properties. *Journal of Lipid Research*, 2015, **56**(9): 1727-1737
- [55] Wu Z, Gogonea V, Lee X, Wagner M A, *et al.* Double superhelix model of high density lipoprotein. *Biological Chemistry*, 2009, **284**(52): 36605-36619
- [56] Kontush A, Camon L, Lhomme M, *et al.* Phosphatidylserine: a key player in multiple biological activities of HDL. *Atherosclerosis*, 2014, **235**: e32
- [57] Darabi M, Kontush A. Phosphatidylserine in atherosclerosis. *Current Opinion in Lipidology*, 2016, **27**(4): 414-420
- [58] Gille A D, Andrea D, Tortorici M A, *et al.* CSL112 (Apolipoprotein A-I [Human]) enhances cholesterol efflux similarly in healthy individuals and stable atherosclerotic disease patients. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 2018, **38**(4): 953-963
- [59] Liu X, Suo R, Xiong S L, *et al.* HDL drug carriers for targeted therapy. *Clinica Chimica Acta*, 2013, **415**: 94-100
- [60] Raut S, Dasseux J L, Sabnis N A, *et al.* Lipoproteins for therapeutic delivery: recent advances and future opportunities. *Therapeutic Delivery*, 2018, **9**(4): 257-268
- [61] Gurbel P A, Tantry U S, D'andrea D, *et al.* Evaluation of potential antiplatelet effects of CSL112 (apolipoprotein A-I Human) in patients with atherosclerosis: results from a phase 2a study. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 2018, **45**(4): 469-476
- [62] Tardy C, Goffinet M, Boubekeur N, *et al.* HDL and CER-001 inverse-dose dependent inhibition of atherosclerotic plaque formation in apoe(-/-) mice: evidence of ABCA1 down-regulation. *Plos One*, 2015, **10**(9): e0137584
- [63] Rana J S, Liu J, Moffet H, *et al.* Ideal cardiovascular health and incidence of atherosclerotic cardiovascular disease in a large integrated health care system. *Circulation*, 2018, **137**: 145
- [64] Kai X I, Jinshun B I, Sandip M, *et al.* Total ionizing dose effects on graphene-based charge-trapping memory. *Science China Information Sciences*, 2019, **62**(12): 207-214

Research Progress of Nanodiscs in Biomedical Field*

HUANG Chu-Han^{1)**}, ZHANG Ze-Yu^{2,3)**}, SHI Yi-Fan^{2,3)}, HUA Qian^{1)***}, WEI Peng^{2)***}

⁽¹⁾*School of Acupuncture-Moxibustion and Tuina, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;*

⁽²⁾*School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;*

⁽³⁾*Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China)*

Abstract A major challenge in the research on membrane protein is to deal with the absence of the lipid bilayer environment, which requires a mimic “native-like” lipid bilayer. Nanodisc, using amphiphilic membrane scaffold proteins (MSPs) to stabilize phospholipid molecules in the aqueous phase, self-assembly forms a disc-like structure similar to the natural phospholipid bilayer membrane environment. As a cutting-edge technique, nanodiscs are reported to provide model membrane environment of water solubility, homogeneity, control of oligomerization state and size, composition and specific functional modification on nanometer scale as well. In this review, we introduced the reconstitution of MSPs and integral proteins into nanodiscs, followed by the applications in structural, functional and medical fields of membrane proteins. As for its medical applications, the high efficiency of delivery capacity as a carrier of hydrophobic drugs, and the targeting specificity of antineoplastic were particularly highlighted. Nanodisc technique also help to shed light on the structural resolution and functional characterization of membrane proteins in imaging technology. Moreover, nanodiscs are applied to cardiovascular disease to boost the efficiency and manoeuvrability of cholesterol transport. In summary, nanodisc technique provides new method and insight into membrane protein research in the future, for better diagnosis and treatment of clinical diseases.

Key words nanodiscs, membrane protein, targeted therapy, vaccine preparation, cardiovascular diseases

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0172

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (31800652).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

WEI Peng. Tel: 86-10-53912056, E-mail: weipeng@bucm.edu.cn

HUA Qian. Tel: 86-10-53912203, E-mail: hqianz@aliyun.com

Received: July 29, 2020 Accepted: September 7, 2020