

基于 β -折叠结构的肽水凝胶的设计与应用研究

陈号东, 陈文静, 陈 静, 赵东欣*

河南工业大学化学化工学院, 河南 郑州

收稿日期: 2025年3月7日; 录用日期: 2025年4月7日; 发布日期: 2025年4月22日

摘 要

肽基水凝胶作为生物活性材料在药学、纳米材料化学、组织工程等领域受到广泛关注。肽水凝胶的设计往往遵循自下而上的思路, 即基于分子自组装的方法, 以微观结构为基础扩展到宏观结构的形成。这种从微观角度出发的方法缺乏具体的模型阐述, 初学者往往难以上手。因此, 我们根据以 β -折叠为基本自组装结构的肽基水凝胶的研究, 总结了氨基酸对于肽自组装行为以及凝胶结构与应用的影响, 期望可以帮助研究者在设计多肽序列时可以尽快地找到切入点, 开发出具有特殊功能的肽基水凝胶材料。

关键词

氨基酸序列, β -折叠, 肽水凝胶, 自组装机理, 分子设计

Study on Design and Application of Peptide Hydrogels Based on the β -Sheet Structure

Haodong Chen, Wenjing Chen, Jing Chen, Dongxin Zhao*

School of Chemistry and Chemical Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou Henan

Received: Mar. 7th, 2025; accepted: Apr. 7th, 2025; published: Apr. 22nd, 2025

Abstract

As bioactive materials, peptide-based hydrogels have attracted extensive attention in the fields of pharmacy, nanomaterial chemistry, tissue engineering, etc. The design of hydrogels often follows the bottom-up approach, that is the method based on molecular self-assembly, extending from microstructure to the formation of macrostructure. But this method from the micro-perspective lacks specific model elaboration, making it difficult to get started for beginners. Therefore, based on some studies on peptide-based hydrogels with β -sheet as the basic self-assembly structure, we summarized the influence of different amino acid sequences on peptide self-assembly behavior, and the structure and application of gel, hoping to help researchers find the entry point as soon as possible

*通讯作者。

文章引用: 陈号东, 陈文静, 陈静, 赵东欣. 基于 β -折叠结构的肽水凝胶的设计与应用研究[J]. 材料科学, 2025, 15(4): 726-734. DOI: 10.12677/ms.2025.154077

when designing peptide sequences, and design and develop peptide-based hydrogel materials with special functions.

Keywords

Amino Acid Sequence, β -Sheet, Peptide Hydrogel, Self-Assembly Mechanism, Molecular Design

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

水凝胶是一类能形成稳定网络结构, 并可以截留大量水的软材料。肽作为纳米材料的构建模块已有数年的研究历史, 由于其侧链具有功能各异的基团, 使得肽可以利用氢键、静电相互作用、疏水相互作用、范德华力和 π - π 堆积作用有效地实现分子自组装, 形成高度有序和功能性的结构, 从而激起了科学家研究肽自组装水凝胶的兴趣[1]-[3]。而肽又是生物物质, 具有良好的生物相容性、生物降解性和低细胞毒性等特点, 从而使得肽水凝胶在药物运输、细胞培养、组织再生等方面具有广阔的应用潜力[4]-[6]。

目前, 基于多肽的二级结构进行了大量的凝胶结构与功能的设计, 其中具有 β -折叠结构的肽由于具有易于设计、结构稳定、溶解性好等特点, 成为设计肽自组装凝胶的重要构建基元[7]-[9]。如 Nguyen 等就基于 β -折叠结构设计获得了可促进牙髓干细胞再生, 相比于传统根管治疗效果更佳的肽水凝胶[10]; 而 Zarzhitsky 等设计的两亲性 β -折叠肽与阿霉素(DOX)的混合水凝胶, 很好地克服了 DOX 在体内降解速率过快的缺点, 可以达到两周以上的长效治疗作用[11]。

虽然性能优异的肽水凝胶的种类日渐增多, 但肽自组装的行为方式和形成凝胶的结构仍然存在较多的偶然性。虽然可以通过分析生物体内活性物质的氨基酸序列或已有的具有优异性能的肽凝胶序列, 概括出具有自组装性能的肽的序列特点, 但是通过突变氨基酸位点设计肽的结构, 控制肽自组装行为和自组装体的结构, 依然存在不小的挑战[9][12]-[14]。因此, 我们根据以 β -折叠为基本自组装结构的肽凝胶的研究, 简要总结了不同氨基酸残基对于肽自组装行为、凝胶结构与应用的影响, 期望可以帮助研究者更好地理解氨基酸残基在肽凝胶形成过程中的作用, 在设计多肽序列时可以尽快地找到切入点, 形成结构设计思路; 并了解一些外界因素对肽凝胶化的影响, 为更好地设计和开发出具有特殊功能的肽凝胶材料提供基础。

2. β -折叠结构对肽自组装的影响

肽自组装过程中 β -折叠是肽形成规则聚集体前要先形成的规则结构单元之一。 β -折叠结构的肽链近线性排布, 但不是平面的, 而是呈锯齿状。其内部作用力主要是肽段上肽键间的氢键作用, 相邻肽链通过羰基与亚氨基之间的氢键作用力形成平行或反平行方式排列的折叠片, 氢键方向近乎垂直于肽链长轴。形成 β 片层结构的肽通常由带电荷的氨基酸残基和疏水性氨基酸残基交替的排列组成, 所得的有规律的折叠片层又会相互结合, 进一步自组装形成宏观上能截留大量水分子的水凝胶[15][16]。Cao 等为了研究分子间力对于 β -折叠肽组装的控制, 设计了一系列主要含有芳香族氨基酸与脂肪族氨基酸的四肽, 系统研究了 π - π 堆积和疏水相互作用在驱动 β -折叠结构形成中的作用。结果表明, 芳香-芳香相互作用将肽驱动成 β -折叠, 而疏水效应决定了 β -折叠肽的组装速度[17]。

β -折叠肽分子间以及分子内的多种非共价作用力均会驱动其自组装过程, 造成了其自组装过程对于外界变化的响应较为灵敏[18]。如董昊课题组通过动力学模拟, 预测两亲型七肽 Ac-IHIHIQI-NH₂ 在从强

酸到强碱的 pH 范围内均可以自组装成有序结构。而实验结果也证实了该序列在不同 pH 条件下均可维持其 β 折叠片自组装结构,但其自组装形态在不同 pH 环境中存在显著差异,这与肽链的局部电荷分布及与环境的相互作用相关。模拟结果与实验数据的高度一致性,充分说明这种基于“计算驱动 + 实验验证”的计算驱动方法在研究多肽自组装体结构与功能关系方面的有效性,也从原子层面揭示了 pH 变化如何精细调控多肽的自组装过程。也为深入解析肽层级自组装复杂过程中各因素间的相互作用关系,深化对环境因素调控多肽自组装行为的认识提供了更为有效的研究方法[19]。

下面将根据氨基酸在 β -折叠结构的形成及其自组装中的贡献,对其进行分类介绍,希望能为理解 β -折叠肽的自组装行为和为肽水凝胶的结构设计提供帮助。

3. 氨基酸对于肽 β -折叠结构及自组装的影响

3.1. 脂肪族氨基酸

脂肪族氨基酸丙氨酸(Ala)、缬氨酸(Val)、亮氨酸(Leu)和异亮氨酸(Ile)的侧链都带有非极性疏水基团,可提供疏水相互作用力驱动肽的自组装。富含 β -折叠的多肽通过侧链之间的疏水相互作用单体可聚集形成寡聚体,进而再逐渐生长成纳米纤维。Xu 等比较研究两亲肽 L₃K 与 I₃K 时发现,即便是具有相同分子式的 Ile 与 Leu,在肽序中的相互替换也使得肽自组装体的微观形貌差异显著, L₃K 自组装成纳米球,而 I₃K 形成了长纳米管。而且它们在各自的纳米结构中形成的二级结构不同, L₃K 主要形成无规则卷曲,而 I₃K 形成反平行 β -折叠结构。这是由于两种氨基酸残基侧链排布方式的不同,导致了分子间形成的氢键存在差异所导致的[20]。而 Han 等通过增加 L₃K 中脂肪族氨基酸残基数量,造成分子疏水相互作用力的变化,增大了 β -折叠肽的自组装倾向,从而实现肽自组装体由胶束到长纤维的转化[21]。因此,脂肪族氨基酸对于微观形貌的调控丰富了肽自组装体作为纳米材料的应用潜力,也在肽序设计上给予了我们更丰富的想象空间。

3.2. 带电荷氨基酸

在设计多肽序列时,谷氨酸(Glu)、天冬氨酸(Asp)、精氨酸(Arg)、赖氨酸(Lys)与组氨酸(His)这些带电荷氨基酸残基的引入,使得可以通过改变溶液的 pH 来对肽的静电相互作用进行动态调节。并且酸性氨基酸(Glu、Asp)与碱性氨基酸(Arg、Lys、His)带有异种电荷,异电荷氨基酸残基的有规律排列,还可以增强肽分子排布的规律性,促进多肽自组装凝胶的形成。这类肽水凝胶被称为离子互补型肽水凝胶。

离子互补型肽 RADA16、EAK16 和 KLD 及其衍生物的水凝胶在许多方面都得到了不错的应用[22][23]。它们的肽序中规律排列的异电荷氨基酸残基,在适当的溶液环境下通过残基侧链间的静电相互作用,首先促使肽分子形成稳定的 β -折叠结构,但静电相互作用具有显著的 pH 依赖性,使得肽段在不同条件下会组装成不同的、分层组织的纳米纤维结构[24]。如 Hong 等在 EAK16 序列的基础上,设计了两种肽 EAK16-II (AEAEAKAKAEAEAKAK)和 EAK16-IV (AEAEAEAEAKAKAKAK)。pH 条件就明显影响 EAK16-IV 的自组装结构,当 pH 值在 6.5 以下或 7.5 以上时,从球形结构转变为纤维结构。而 EAK16-II 则没有结构转变,仍形成纤维组装体。

3.3. 芳香族氨基酸

π - π 堆积也是肽自组装的一种主要驱动力,它主要来源于芳香族氨基酸残基侧链中芳环之间带有部分异种电荷碳氢原子间的吸引力。芳环间稳定的堆积结构主要有两种:一种是错位面对面堆积(平行交错堆积),这种堆积方式中两个芳环体系平行,但环的质心不重合;另一种是边对面堆积(T 型堆积),这种堆积方式两个芳环平面互相垂直[25]。 π - π 堆积对空间构象要求较高,但会使肽自组装具有方向性,可以形成

棒、丝带、管等规则的结构[26] [27]。

以芳香族氨基酸侧链基团为主要驱动力的自组装行为很常见, 组装体也具有极高的物理和化学稳定性, 及良好的力学、光学和压电性能[28]。Jayawarna 等就以 Fmoc-苯丙氨酸二肽为起点, 设计获得了一系列 β -折叠结构形成的肽水凝胶作为细胞支架, 该支架能够支持软骨细胞在二维和三维中的细胞培养[29]。而杨志谋课题组在用酶促自组装方法研究化学组成相同的系列人工酯酶(三个磷酸化肽 Nap-pYYYH、Nap-YpYYH 和 Nap-YYpYH)时发现, 酪氨酸(Y)上具有不同的磷酸化位点时, 去磷酸化的前后, 三个化合物的结构与自组装性能均存在差异。去磷酸化前, Nap-pYYYH 和 Nap-YpYYH 为无规则卷曲构象, 形成无定形和离散的组装体; Nap-YYpYH 则为 α -螺旋构象, 形成短纤维。但去磷酸化后, Nap-pYYYH 为 α -螺旋构象, Nap-YpYYH 和 Nap-YYpYH 则为 β -sheet 构象, 形成纤维状的微观结构, 但纤维簇的厚度和密度变化明显。这说明磷酸根的位置与有无不仅可以调节肽的结构, 也调控了具有相同化学成分的肽的组装能力, 同时也说明肽的自组装是多种因素协调作用的结果[30]。

3.4. 其他氨基酸

脯氨酸(Pro)是基本氨基酸中唯一的亚氨基酸, 在肽链中其独特的环状结构使它具有构象刚性, 同时也会影响附近肽链的二级结构, 将肽链骨架的二面角 φ 角度锁定在约 -65° , 使得 Pro 处于肽序列中部时通常会阻碍 β -折叠结构的形成, 而 β -折叠结构的肽中脯氨酸通常存在于肽的边缘[31]。

Gly 具有最小的侧链, 这使其成为唯一一种不具有手性、无明显亲疏水性的氨基酸[32]。小而柔韧是 Gly 在蛋白质中的特点, 例如胶原蛋白的非常规三螺旋构象, 导致每三个连接的氨基酸必须有一个 Gly, 否则会造成过大的空间位阻; 蛋白质两个结构域之间的连接往往需要 Gly 提供构象灵活性。同样, 在设计 β -折叠结构的多肽时, 如果连续引入侧链基团较大的氨基酸, Gly 可以穿插其中, 从而减少空间位阻, 降低多肽的不规则聚集倾向, 推进多肽的自组装进程。Bowerman 等人设计的 β -折叠多肽 Ac-C(FKFE)₂CG-NH₂ 便将 Gly 置于 C 端防止半胱氨酸 Cys 外消旋化, 并利用 Gly 的构象灵活性配合 Cys 形成分子内二硫键对肽链进行环化, 通过添加还原剂解除环化实现可控自组装[33]。

虽然肽的合成便利, 但其序列组成过于多样, 自组装过程又涉及多种因素的协同作用, 目前仍然很难对其自组装特性进行全面系统的研究, 进而优化自组装多肽的设计。但现代计算技术的发展, 为预测多肽的自组装特性提供了强力的工具。如李文彬课题组就基于 Transformer 的回归网络, 对百亿种多肽的自组装特性进行了预测, 并得到了不同位置的氨基酸对多肽自组装的影响[34]。人工智能技术的发展为自组装多肽的研究提供了全新的可能性。

4. β -折叠结构的肽序列的设计

4.1. 氨基酸残基的替换

为了找出在分子间缔合和自组装中起关键作用的氨基酸残基, 将肽序列中每个位点的氨基酸残基进行变换, 是常见的设计结构的方法。Tang 等就将 C 端酰胺化的 β -折叠五肽 KYFIL 中的氨基酸残基进行了替换。通过对获得的 7 条肽的研究发现, Phe 和 Leu 的存在是该系列肽自组装成水凝胶的关键。当位于肽 C 端时, Leu 较长的烷基链既增大了肽链的碰撞概率, 疏水相互作用又使肽链空间结构相对稳定, 使侧链残基上的苯环彼此靠得更近, 苯环间的 π - π 堆积进一步稳定了肽的空间结构, 并引发了肽的自组装, 形成三维网络结构, 即在宏观下倒置不流动的水凝胶[35]。

4.2. 特定氨基酸残基的位置变化

前面我们就提到过 Pro 位于肽链不同位置时会影响多肽的二级结构以及自组装结构, 因此在了解多

肽形成确定的二级结构过程中的氨基酸偏好的基础上, 固定关键位点来进行多肽序列的精细设计, 也是常见的多肽结构设计方法。如 Frederix 等为明确氨基酸残基调控肽自组装的位置偏好, 采用计算方法从 8000 种末端未保护的三肽(C 端保留羧基, N 端保留氨基)中筛选出具有优异自组装倾向的肽, 再通过模拟实验用聚集倾向(AP)为指标进行了比较分析[36]。筛选出的具有优异自组装倾向的肽段多数具有 β -折叠结构, 且芳香族氨基酸(Phe、Tyr 和 Trp)位于中间和 C 端更易形成水凝胶, Glu 和 Asp (带负电荷的氨基酸)放置在 C 端明显提高了水凝胶的形成概率, 带正电荷的氨基酸(Lys, Arg)和氢键供体氨基酸(Ser、Thr)位于 N 端时促进自组装。同时也有其他研究表明, Tyr, Phe 和 Asp 这三种在模拟结果中具有相同 C 端偏好性的氨基酸组成三肽时, Phe 和 Tyr 位于 C 端的肽具有更好的胶凝性能[37]。

而 Deng 等研究了具有相同氨基酸组成的短肽 I₄K₂ 和 KI₄K 的自组装结构[38]。发现氨基酸残基位点的变化虽然不会明显改变肽形成 β -折叠的强烈倾向, 但却会显著影响肽的组装形态。KI₄K 比 I₄K₂ 具有更强的沿侧链方向堆叠的倾向, 较大的层间疏水相互作用又导致更多的层堆积, 因而形成更宽的带状自组装体。这一差异证明了短肽自组装中静电作用、疏水作用和氢键作用之间的微妙平衡。

此外, 缩短或延长氨基酸序列、改变疏水性残基或亲水性残基的数目、修饰序列的 N 或 C 端等方式都会对肽的性质、结构及组装性能产生影响, 也使多肽的研究与应用具有更广阔的发展空间。

5. 外部因素对 β -折叠型肽基水凝胶自组装过程的调控

由氨基酸侧链引发的各种分子内和分子间相互作用, 如氢键、疏水相互作用、静电相互作用、 π - π 堆积作用以及溶剂环境变化(如温度、光照、pH 波动)都会影响肽的自组装过程与水凝胶的形成。这些因素对于肽自组装行为的影响总结较多, 这里就不再重复叙述, 下面只针对当前的一些研究热点进行了简单总结。

5.1. 酶促反应

酶作为反应的催化剂有着诸多优点。酶促反应除了具有催化效率高、反应速率快、副产物少、反应条件温和和反应专一性高的特点外, 酶促自组装在调控组装体的结构、形态和功能上也显示出了很大优势。由于酶具有高的生物相容性, 而通过酶催化所得水凝胶往往具有均质性, 因此酶促触发也逐渐成为了肽自组装的引发条件之一[39] [40]。前面所提到的杨志谋课题组在研究磷酸化肽 Nap-pYYYH、Nap-YpYYH 和 Nap-YYpYH 时, 除了发现磷酸根位置的变化可以调节肽的组装状态外, 还利用酶促反应去磷酸化, 并促使肽自组装制备出了微观结构和形貌不一样的纳米纤维以及催化性能不同的人工酯酶, 为构建具有最佳催化活性的人工酶提供了思路与方法[30]。

研究者们还发现很多酶在体外也能实现组装, 如磷酸化酶、脂肪酶、枯草芽孢杆菌蛋白酶等。如 Cheng 等将葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶与 D-葡萄糖结合, 通过 D-葡萄糖转化为葡萄糖酸导致溶液 pH 值的减小, 从而通过 D-葡萄糖的浓度变化控制肽的自组装[41]。这种方法对 pH 的调节更为精确, 所得的水凝胶显示出更高的机械稳定性和较低的凝胶化浓度。而梁高林课题组利用 Nap-FF 自组装单元开发了一系列纳米药物。其中将 Nap-FF 与六肽 IRLRFK 偶联后能精准识别受体酪氨酸激酶(AXL), 并原位自组装形成纳米纤维网络, 阻止其与配体 GAS6 的结合, 从而抑制 AXL 激酶及其下游信号通路激活, 最终诱导癌细胞凋亡, 实现对卵巢癌的高效治疗[42] [43]。

5.2. pH 变化

pH 响应性凝胶因通过非共价作用力形成, 其在受到高应变后能够恢复其机械性能, 从而在组织工程、可注射递送载体和 3D 打印应用方面具有良好前景, 也一直是新型凝胶材料的研究热点[44]。

这类水凝胶的核心是质子化和去质子化。质子化是原子、分子或离子获得质子(H^+)的过程。去质子化则是从分子中去除 H^+ 的过程。如 Clarke 等构建了以 Ile 和 Asp 为骨架的五肽, 并通过调节溶液的 pH 形成了高度坚固, 有实际应用潜力的 β -折叠水凝胶[45]。在中性溶液或碱性溶液中 Asp 侧链上独有的羧基会去质子化, 增加肽的水溶性; 而逐渐降低 pH 值时, 质子化使静电斥力逐渐减小, 产生聚集趋势让分散在水相中的肽相互靠近, 同时借助 Ile 的疏水相互作用力, 肽分子间进行有规律的自组装, 形成水凝胶。

5.3. 超声诱导的自组装

RADA16-I 是经典的富含 β -折叠结构, 从实验室走向临床的肽凝胶材料, 其优异的性能与市场潜力激励了大量相关研究的进行, 为多肽研究领域的进步做出了突出贡献[14][46]。RADA16-I 的氨基酸选择有较强的规律性, Ala 维持主要骨架, Asp 和 Arg 交替穿插。这种结构在肽侧链发生相互作用时会产生两种完全不同的结果: 第一种是 Asp 和 Arg 侧链基团通过离子相互作用, 彼此吸引促进自组装; 第二种是相同的侧链基团相遇, 静电排斥使肽彼此远离, 抑制自组装。而超声波使肽链间发生相对滑动, 第一种成为了主导作用, 即带有相反电荷的残基侧链相互吸引, 推动 RADA16 分子相互靠近, 自组装形成稳定结构[47][48]。

超声波主要是通过破坏非共价键作用来调节肽自组装的结构形貌, 虽然在肽自组装方向上的研究还处于发展阶段, 但也有助于开发新的制造具有新结构和功能的肽基材料的策略。如张等设计了一种超短肽(SESSE), 先通过肽的自组制备肽纳米纤维, 然后将海藻酸钙水凝胶与纳米纤维原位合成为水凝胶。在超声刺激下, 这些纳米纤维可以以时间依赖性方式从水凝胶中释放出来, 激活线粒体糖酵解代谢和三羧酸循环, 抑制活性氧的产生, 并增强 M2 巨噬细胞极化。这种模块化设计的仿生超短肽纳米纤维水凝胶为重建骨修复的成骨免疫微环境提供了一种新策略[49]。

6. 小结

近年来对于肽自组装体的结构调控, 一直是新型材料的研究热点。本文从氨基酸的性质出发, 结合以 β -折叠为基本自组装结构的肽基水凝胶的研究, 总结了不同氨基酸残基对于肽自组装行为、凝胶结构与应用的影响。虽然, 性能优异的多肽水凝胶种类日渐增多, 但肽基自组装水凝胶仍面临许多等待解决的问题。首先, 自组装往往是在多种驱动力的共同作用下发生的, 这使得我们很难准确分析自组装的原因。其次, 自组装过程对环境敏感, 形成的水凝胶同样对环境变化的适应性不足, 而且与自然界中高度有序、复杂的自组装结构相比, 目前的水凝胶形成的微结构还不够精细, 无法应用于高精度领域。但随着研究的进展, 科技手段以及方法的快速发展, 相信我们将会对肽自组装体的结构与性能有更为深入的认识, 从而设计和开发出具有特定功能和实用性的肽基水凝胶材料。

致 谢

本研究受河南省高等教育教学改革研究与实践项目(2023SJGLX041Y)资助。

参考文献

- [1] Kumar, V.B., Ozguney, B., Vlachou, A., Chen, Y., Gazit, E. and Tamamis, P. (2023) Peptide Self-Assembled Nanocarriers for Cancer Drug Delivery. *The Journal of Physical Chemistry B*, **127**, 1857-1871. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.2c06751>
- [2] Li, H., Shi, X. and Li, J. (2022) Self-Assembled Peptide Hydrogel for Biomedical Applications. *Progress in Chemistry*, **34**, 568-579.
- [3] Li, Q., Wang, Y., Zhang, G., Su, R. and Qi, W. (2023) Biomimetic Mineralization Based on Self-Assembling Peptides. *Chemical Society Reviews*, **52**, 1549-1590. <https://doi.org/10.1039/d2cs00725h>
- [4] Ghosh, C., Ali, L.M.A., Bessin, Y., Clément, S., Richeter, S., Bettache, N., *et al.* (2024) Self-Assembled Porphyrin-

- Peptide Cages for Photodynamic Therapy. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **22**, 1484-1494. <https://doi.org/10.1039/d3ob01887c>
- [5] Dodd-o, J., Roy, A., Siddiqui, Z., Jafari, R., Coppola, F., Ramasamy, S., *et al.* (2024) Antiviral Fibrils of Self-Assembled Peptides with Tunable Compositions. *Nature Communications*, **15**, Article No. 1142. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45193-3>
 - [6] Gomes, V., Veloso, S.R.S., Carvalho, A., Hilliou, L., Coutinho, P.J.G., Moura, C., *et al.* (2024) Multifunctional Magneto-plasmonic Lipogel Based on Peptide Hydrogel for Application in Combined Cancer Therapy. *Journal of Peptide Science*, **31**, e3650. <https://doi.org/10.1002/psc.3650>
 - [7] Medini, K., Mansel, B.W., Williams, M.A.K., Brimble, M.A., Williams, D.E. and Gerrard, J.A. (2016) Controlling Gelation with Sequence: Towards Programmable Peptide Hydrogels. *Acta Biomaterialia*, **43**, 30-37. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.07.021>
 - [8] Lu, L., Morrison, D. and Unsworth, L.D. (2020) A Controlled Nucleation and Formation Rate of Self-Assembled Peptide Nanofibers. *Nanoscale*, **12**, 8133-8138. <https://doi.org/10.1039/d0nr02006k>
 - [9] Smith, A.M., Williams, R.J., Tang, C., Coppo, P., Collins, R.F., Turner, M.L., *et al.* (2007) Fmoc-Diphenylalanine Self Assembles to a Hydrogel via a Novel Architecture Based on π - π Interlocked β -Sheets. *Advanced Materials*, **20**, 37-41. <https://doi.org/10.1002/adma.200701221>
 - [10] Nguyen, P.K., Gao, W., Patel, S.D., Siddiqui, Z., Weiner, S., Shimizu, E., *et al.* (2018) Self-Assembly of a Dentinogenic Peptide Hydrogel. *ACS Omega*, **3**, 5980-5987. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b00347>
 - [11] Zarzhitsky, S. and Rapaport, H. (2011) The Interactions between Doxorubicin and Amphiphilic and Acidic β -Sheet Peptides Towards Drug Delivery Hydrogels. *Journal of Colloid and Interface Science*, **360**, 525-531. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2011.04.091>
 - [12] Mahler, A., Reches, M., Rechter, M., Cohen, S. and Gazit, E. (2006) Rigid, Self-Assembled Hydrogel Composed of a Modified Aromatic Dipeptide. *Advanced Materials*, **18**, 1365-1370. <https://doi.org/10.1002/adma.200501765>
 - [13] Worthington, P., Langhans, S. and Pochan, D. (2017) β -Hairpin Peptide Hydrogels for Package Delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **110**, 127-136. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.02.002>
 - [14] Wen, Y., Roudebush, S.L., Buckholtz, G.A., Goehring, T.R., Giannoukakis, N., Gawalt, E.S., *et al.* (2014) Coassembly of Amphiphilic Peptide EAK16-II with Histidinylated Analogues and Implications for Functionalization of β -Sheet Fibrils *in vivo*. *Biomaterials*, **35**, 5196-5205. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.03.009>
 - [15] Braun, G.A., Ary, B.E., Dear, A.J., Rohn, M.C.H., Payson, A.M., Lee, D.S.M., *et al.* (2020) On the Mechanism of Self-Assembly by a Hydrogel-Forming Peptide. *Biomacromolecules*, **21**, 4781-4794. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.0c00989>
 - [16] Brown, N., Lei, J., Zhan, C., Shimon, L.J.W., Adler-Abramovich, L., Wei, G., *et al.* (2018) Structural Polymorphism in a Self-Assembled Tri-Aromatic Peptide System. *ACS Nano*, **12**, 3253-3262. <https://doi.org/10.1021/acsnano.7b07723>
 - [17] Cao, H., Wang, Y., Gao, Y., Deng, X., Cong, Y., Liu, Y., *et al.* (2019) Molecular Design of β -Sheet Peptide for the Multi-Modal Analysis of Disease. *Angewandte Chemie International Edition*, **58**, 1626-1631. <https://doi.org/10.1002/anie.201809716>
 - [18] Zhao, F., Liu, M., Guo, H., Wang, Y., Zhang, Y., He, M., *et al.* (2025) Stimuli-Responsive Hydrogels Based on Protein/Peptide and Their Sensing Applications. *Progress in Materials Science*, **148**, Article 101355. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2024.101355>
 - [19] Wang, X., Yang, Y., Yang, H. and Dong, H. (2024) The Intrinsic Fluorescence of Peptide Self-Assemblies across pH Levels. *Angewandte Chemie International Edition*, **64**, e202420567. <https://doi.org/10.1002/anie.202420567>
 - [20] Xu, H., Wang, Y., Ge, X., Han, S., Wang, S., Zhou, P., *et al.* (2010) Twisted Nanotubes Formed from Ultrashort Amphiphilic Peptide I₃K and Their Templating for the Fabrication of Silica Nanotubes. *Chemistry of Materials*, **22**, 5165-5173. <https://doi.org/10.1021/cm101019p>
 - [21] Han, S., Cao, S., Wang, Y., Wang, J., Xia, D., Xu, H., *et al.* (2011) Self-Assembly of Short Peptide Amphiphiles: The Cooperative Effect of Hydrophobic Interaction and Hydrogen Bonding. *Chemistry—A European Journal*, **17**, 13095-13102. <https://doi.org/10.1002/chem.201101970>
 - [22] Gelain, F., Luo, Z. and Zhang, S. (2020) Self-Assembling Peptide EAK16 and RADA16 Nanofiber Scaffold Hydrogel. *Chemical Reviews*, **120**, 13434-13460. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00690>
 - [23] Lv, X., Sun, C., Hu, B., Chen, S., Wang, Z., Wu, Q., *et al.* (2020) Simultaneous Recruitment of Stem Cells and Chondrocytes Induced by a Functionalized Self-Assembling Peptide Hydrogel Improves Endogenous Cartilage Regeneration. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **8**, Article 864. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00864>
 - [24] Hong, Y., Legge, R.L., Zhang, S. and Chen, P. (2003) Effect of Amino Acid Sequence and pH on Nanofiber Formation of Self-Assembling Peptides EAK16-II and EAK16-IV. *Biomacromolecules*, **4**, 1433-1442.

- <https://doi.org/10.1021/bm0341374>
- [25] McGaughey, G.B., Gagné, M. and Rappé, A.K. (1998) Π -Stacking Interactions. *Journal of Biological Chemistry*, **273**, 15458-15463. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.25.15458>
 - [26] Hoffmann, W., Folmert, K., Moschner, J., Huang, X., von Berlepsch, H., Koks, B., *et al.* (2017) NFGAIL Amyloid Oligomers: The Onset of Beta-Sheet Formation and the Mechanism for Fibril Formation. *Journal of the American Chemical Society*, **140**, 244-249. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b09510>
 - [27] Yang, X., Wang, Y., Qi, W., Zhang, J., Zhang, L., Huang, R., *et al.* (2018) Photo-Induced Polymerization and Reconfigurable Assembly of Multifunctional Ferrocene-Tyrosine. *Small*, **14**, Article ID: 1800772. <https://doi.org/10.1002/smll.201800772>
 - [28] Yan, X., Zhu, P. and Li, J. (2010) Self-Assembly and Application of Diphenylalanine-Based Nanostructures. *Chemical Society Reviews*, **39**, 1877-1890. <https://doi.org/10.1039/b915765b>
 - [29] Jayawarna, V., Ali, M., Jowitt, T.A., Miller, A.F., Saiani, A., Gough, J.E., *et al.* (2006) Nanostructured Hydrogels for Three-Dimensional Cell Culture through Self-Assembly of Fluorenylmethoxycarbonyl-Dipeptides. *Advanced Materials*, **18**, 611-614. <https://doi.org/10.1002/adma.200501522>
 - [30] Chen, Y., Zhang, W., Ding, Y., Liang, C., Shi, Y., Hu, Z., *et al.* (2021) Preorganization Boosts the Artificial Esterase Activity of a Self-Assembling Peptide. *Science China Chemistry*, **64**, 1554-1559. <https://doi.org/10.1007/s11426-021-1029-x>
 - [31] Morris, A.L., MacArthur, M.W., Hutchinson, E.G. and Thornton, J.M. (1992) Stereochemical Quality of Protein Structure Coordinates. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, **12**, 345-364. <https://doi.org/10.1002/prot.340120407>
 - [32] Duan, J., Chen, L., Tu, J., Cao, L. and Xiao, X. (2022) Folate-Grafted Glycyl-Glycine-Melphalan Conjugate Self-Assembled Amphiphilic Nanomicelles Augmented Drug Delivery, Cytotoxicity and Cellular Uptake in Human Ovarian Cancer Cells. *Journal of Microencapsulation*, **39**, 197-209. <https://doi.org/10.1080/02652048.2020.1714764>
 - [33] Bowerman, C.J. and Nilsson, B.L. (2010) A Reductive Trigger for Peptide Self-Assembly and Hydrogelation. *Journal of the American Chemical Society*, **132**, 9526-9527. <https://doi.org/10.1021/ja1025535>
 - [34] Wang, J., Liu, Z., Zhao, S., Xu, T., Wang, H., Li, S.Z., *et al.* (2023) Deep Learning Empowers the Discovery of Self-Assembling Peptides with over 10 Trillion Sequences. *Advanced Science*, **10**, Article ID: 2301544. <https://doi.org/10.1002/advs.202301544>
 - [35] Tang, J.D., Mura, C. and Lampe, K.J. (2019) Stimuli-Responsive, Pentapeptide, Nanofiber Hydrogel for Tissue Engineering. *Journal of the American Chemical Society*, **141**, 4886-4899. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b13363>
 - [36] Frederix, P.W.J.M., Scott, G.G., Abul-Haija, Y.M., Kalafatovic, D., Pappas, C.G., Javid, N., *et al.* (2014) Exploring the Sequence Space for (tri-)Peptide Self-Assembly to Design and Discover New Hydrogels. *Nature Chemistry*, **7**, 30-37. <https://doi.org/10.1038/nchem.2122>
 - [37] Lampel, A., McPhee, S.A., Park, H., Scott, G.G., Humagain, S., Hekstra, D.R., *et al.* (2017) Polymeric Peptide Pigments with Sequence-Encoded Properties. *Science*, **356**, 1064-1068. <https://doi.org/10.1126/science.aal5005>
 - [38] Deng, L., Zhou, P., Zhao, Y., Wang, Y. and Xu, H. (2014) Molecular Origin of the Self-Assembled Morphological Difference Caused by Varying the Order of Charged Residues in Short Peptides. *The Journal of Physical Chemistry B*, **118**, 12501-12510. <https://doi.org/10.1021/jp506385j>
 - [39] Gao, J., Zhan, J. and Yang, Z. (2019) Enzyme-Instructed Self-Assembly (EISA) and Hydrogelation of Peptides. *Advanced Materials*, **32**, Article ID: 1805798. <https://doi.org/10.1002/adma.201805798>
 - [40] Zhou, J. and Xu, B. (2015) Enzyme-Instructed Self-Assembly: A Multistep Process for Potential Cancer Therapy. *Bioconjugate Chemistry*, **26**, 987-999. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5b00196>
 - [41] Cheng, W. and Li, Y. (2016) Peptide Hydrogelation Triggered by Enzymatic Induced pH Switch. *Science China Physics, Mechanics & Astronomy*, **59**, Article No. 678711. <https://doi.org/10.1007/s11433-016-0083-4>
 - [42] Gao, G., Jiang, Y., Zhan, W., Liu, X., Tang, R., Sun, X., *et al.* (2022) Trident Molecule with Nanobrush-Nanoparticle-Nanofiber Transition Property Spatially Suppresses Tumor Metastasis. *Journal of the American Chemical Society*, **144**, 11897-11910. <https://doi.org/10.1021/jacs.2c05743>
 - [43] Yin, H., Hua, Y., Feng, S., Xu, Y., Ding, Y., Liu, S., *et al.* (2024) In Situ Nanofiber Formation Blocks AXL and GAS6 Binding to Suppress Ovarian Cancer Development. *Advanced Materials*, **36**, Article ID: 2308504. <https://doi.org/10.1002/adma.202308504>
 - [44] Farsheed, A.C., Thomas, A.J., Pogostin, B.H. and Hartgerink, J.D. (2023) 3D Printing of Self-Assembling Nanofibrous Multidomain Peptide Hydrogels. *Advanced Materials*, **35**, Article ID: 2210378. <https://doi.org/10.1002/adma.202210378>
 - [45] Clarke, D.E., Parmenter, C.D.J. and Scherman, O.A. (2018) Tunable Pentapeptide Self-Assembled β -Sheet Hydrogels. *Angewandte Chemie International Edition*, **57**, 7709-7713. <https://doi.org/10.1002/anie.201801001>

-
- [46] Gelain, F., Luo, Z. and Zhang, S. (2020) Self-Assembling Peptide EAK16 and RADA16 Nanofiber Scaffold Hydrogel. *Chemical Reviews*, **120**, 13434-13460. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00690>
 - [47] Mason, T.O., Chirgadze, D.Y., Levin, A., Adler-Abramovich, L., Gazit, E., Knowles, T.P.J., *et al.* (2014) Expanding the Solvent Chemical Space for Self-Assembly of Dipeptide Nanostructures. *ACS Nano*, **8**, 1243-1253. <https://doi.org/10.1021/nn404237f>
 - [48] Bardelang, D., Camerel, F., Margeson, J.C., Leek, D.M., Schmutz, M., Zaman, M.B., *et al.* (2008) Unusual Sculpting of Dipeptide Particles by Ultrasound Induces Gelation. *Journal of the American Chemical Society*, **130**, 3313-3315. <https://doi.org/10.1021/ja711342y>
 - [49] Zhang, F., Lv, M., Wang, S., Li, M., Wang, Y., Hu, C., *et al.* (2024) Ultrasound-Triggered Biomimetic Ultrashort Peptide Nanofiber Hydrogels Promote Bone Regeneration by Modulating Macrophage and the Osteogenic Immune Microenvironment. *Bioactive Materials*, **31**, 231-246. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2023.08.008>