

· 综述 ·

类胶原蛋白多肽：从结构设计到性质调控

王乐天¹ 唐晨鸣¹ 李少魁² 吕华^{1*}

(¹北京大学化学与分子工程学院 北京分子科学国家研究中心 高分子化学与物理教育部重点实验室 北京 100871)

(²北京瑞颜生物科技有限公司 北京 102629)

摘要 胶原蛋白具有独特的三螺旋结构，是哺乳生物体内重要的结构和功能性蛋白。类胶原多肽(CMPs)可模拟天然胶原蛋白结构和功能，具有结构明确、易于调控等优点，可通过固相合成或基因工程制备。本文综述了CMPs研究进展，重点探讨其结构设计、性质调控及应用潜力；深入分析序列结构对CMPs稳定性的影响；介绍了在CMPs结构设计中，基于GPO序列衍生以及部分氨基酸替换等策略。最后展望了类胶原蛋白聚氨基酸的发展前景，提出通过高分子聚合方法解决CMPs工业化量产难题。

关键词 胶原蛋白；三螺旋；类胶原多肽；GPO序列；聚氨基酸

引用：王乐天, 唐晨鸣, 李少魁, 吕华. 类胶原蛋白多肽：从结构设计到性质调控. 高分子学报, 2026, 57(3), 621-635.

Citation: Wang, L. T.; Tang, C. M.; Li, S. K.; Lu, H. Collagen mimetic peptide: from structural design to property modulation. *Acta Polymerica Sinica* (in Chinese), 2026, 57(3), 621-635.

胶原蛋白是一种重要的生物高分子蛋白，广泛存在于动物结缔组织中，是哺乳动物体内含量最多、分布最广的功能性蛋白，占蛋白质总量的25%~30%^[1,2]。它主要由氨基酸组成，具有独特的三股螺旋结构，该结构赋予其高强度和高拉伸性。胶原蛋白在皮肤、骨骼、肌肉等组织中起支撑和保护作用，能够增强皮肤弹性、促进骨骼健康、维持关节灵活性。

胶原蛋白可以分为胶原域和非胶原域，其中，胶原域由多条原胶原交联而成，而每条原胶原由3条 α -肽链通过氢键螺旋缠绕，形成稳定的3股螺旋结构^[3-6]。按3条 α -肽链是否全同可以将胶原蛋白分为同三螺旋和异三螺旋，这种结构是胶原蛋白特有的，也是其高强度和稳定性的基础。原胶原每条 α -肽链由1000多个氨基酸残基组成，这些氨基酸残基通过肽键连接在一起，形成长而细的链状结构。每条 α -肽链都具有特定的二级结构，

即聚脯氨酸II型(PPII)螺旋结构。在这些氨基酸残基中，甘氨酸(Gly, G)含量最高，约占1/3^[7-9]，且每隔2个其他氨基酸残基(Xaa, Yaa)就出现一个甘氨酸，形成了(Gly-Xaa-Yaa)_n的周期性重复序列。其中，Xaa和Yaa通常是脯氨酸(Pro, P)和羟脯氨酸(Hyp, O)，这2种氨基酸在胶原蛋白中的含量分别15%和14%^[7]，对维持三股螺旋结构的稳定性起重要作用(图1)。

胶原蛋白的应用非常广泛，覆盖了市场以及科研的诸多领域，尤其在医药健康领域中备受关注^[10-16]。在医美行业中，胶原蛋白被广泛应用于注射填充、水光针、医用敷料等产品中，因其作为皮肤组织的主要成分，具有保湿、滋养、修复和抗皱等功效，能够有效改善皮肤质地、减少皱纹、促进伤口愈合等。随着人们对美容需求的增加，胶原蛋白在医美市场的应用前景日益广阔。而在医疗应用层面，胶原蛋白还表现出良好的止

2025-10-15收稿，2025-12-14录用，2026-01-29网络出版。

* 通信联系人，E-mail: chemhualu@pku.edu.cn

doi: 10.11777/j.issn1000-3304.2025.25262; CSTR: 32057.14.GFZXB.2025.7536

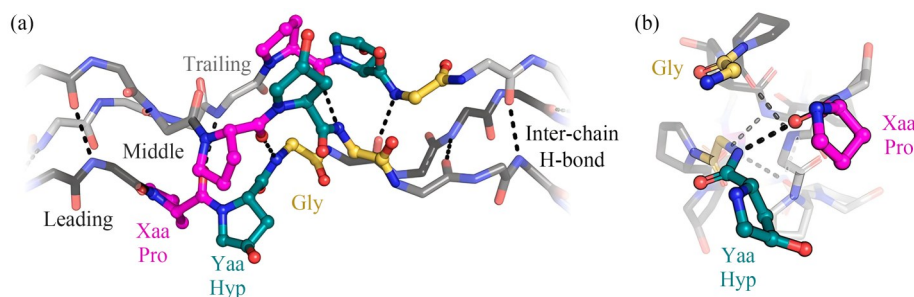


Fig. 1 Triple helix structures. (a) Looking lengthwise with the *N*-terminus oriented to the left, the Gly-Xaa-Yaa triplet motif can be observed; (b) Looking down the helix from the *N*-terminus, a single cross-section can be observed containing Xaa, Yaa, and Gly positions. The Xaa proline hydrogen bond is formed with the glycine in the following cross-section (Reproduced with permission from Ref. [35]; Copyright (2022) American Chemical Society).

血性能,可作为创面敷料用于控制出血,尤其适用于外科手术和慢性伤口护理^[17-19]。此外在食品工业中,胶原蛋白还可作为食品添加剂,通过吸水溶胀不仅能改善食品质地,还可以增加营养价值^[20]。胶原蛋白同样在科研领域也备受青睐。例如在组织工程中,凭借其良好的生物相容性和生物降解性,胶原蛋白的三维多孔结构及生物学特性为细胞黏附、增殖与分化提供了理想的支架环境^[11,21,22],广泛应用于再生医学及相关研究中。

目前,胶原蛋白的规模化生产主要依赖动物组织提取法。该工艺一般包括原料选择、预处理、提取、纯化、浓缩及干燥等环节^[23-25]。在提取与纯化阶段,维持胶原蛋白的天然三螺旋结构是关键技术难点之一,高温、强酸或强碱等条件易导致其空间构象破坏,从而引起生物活性降低甚至丧失。此外,提取效率的提升亦面临挑战,涉及原料预处理方式、提取方法的选择与工艺优化,以及各项提取参数的精准控制。另一种具有前景的生产方式为重组胶原蛋白技术^[26-29]。该方法基于DNA重组技术,通过构建特定基因序列,能够在宿主细胞中表达结构与功能可控的胶原蛋白。由于重组胶原蛋白的氨基酸序列可与人体胶原蛋白高度一致,其在生物相容性与安全性方面具备显著优势。然而,该技术在实际应用中仍存在多重瓶颈。例如,实现高效基因表达是生产的关键环节,需对基因序列进行优化、筛选适宜的表达载体与宿主细胞,并系统调控发酵条件,这些步骤均对技术水平和成本提出较高要求^[30,31]。同时,重组胶原蛋白的下游纯化过程复杂且成本高昂,需彻底去除内毒素、外源性杂质等杂质,以实现产品的高值化应用。此外,天然胶原蛋白的分子量通常高达约100 kDa^[32],而重组表达体系常难以实

现全长的天然胶原蛋白表达,多通过截取功能片段进行异源表达^[33];并且,多数表达系统缺乏脯氨酸羟化酶等后修饰机制,导致羟脯氨酸残基的形成受限,进而影响最终产物的结构与稳定性。

类胶原多肽(collagen mimetic peptides, CMPs)是一种模拟天然胶原蛋白组成、结构和功能的仿生材料^[34,35]。CMP通过特定的氨基酸序列设计来模仿天然胶原蛋白的结构与自组装特性,从而实现类似胶原蛋白的物理化学性质乃至生物学功能。CMPs通常由重复的Gly-X-Y序列单元构成(其中Xaa、Yaa常为Pro和Hyp),这一序列模式高度保守,是实现胶原样二级结构和高级超分子组装的基础。

与天然胶原蛋白相比,CMPs具有分子量小、结构明确且易于调控、合成可控性强等特点。它们既可通过固相合成法精准制备,也可利用基因工程系统进行生物合成,从而实现对接链长度、化学修饰和物理性质的精细调控。这一特性使CMPs在材料构建中表现出优越的模块化设计与功能可编程性。类胶原多肽在制备工艺、结构可控性、生物活性和安全性等方面,相比提取自天然和重组胶原蛋白更具优势。CMPs避免了天然胶原提取过程中可能遇到的病毒残留、免疫原性和批次间差异等问题,同时在结构层面,其序列的可定制性允许研究者引入特定功能域,从而增强材料的功能多样性。此外,CMPs还显示出良好的生物相容性和较低的免疫原性,在组织工程、药物递送、生物传感和仿生涂层等领域展现出广阔的应用前景。因此,类胶原多肽不仅作为理解胶原蛋白结构-功能关系的重要模型体系,更因其可定制性强、安全性高和易于规模化制备等优势,成为新一代胶原基生物材料的有力

替代品.

本综述将围绕类胶原多肽的结构设计展开, 依次介绍胶原蛋白中的关键的GPO序列, 基于GPO序列的衍生物以及序列中P或O的替换, 此外, 我们还将视野拓展至更广阔的一类胶原蛋白聚氨基酸材料, 旨在系统梳理类胶原多肽的研究体系, 为该领域的未来发展提供清晰的设计思路与创新视角.

1 胶原蛋白的关键序列: Gly-Pro-Hyp (GPO)序列

前文提到, 胶原蛋白的每条 α -肽链由1000多个氨基酸残基组成, 这些氨基酸残基遵循着(Gly-Xaa-Yaa) $_n$ 的周期性重复序列, 其中, Xaa和Yaa通常是Pro和Hyp. 每条 α -肽链都具有特定的二级结构, 即聚脯氨酸II型(PPII)螺旋结构,

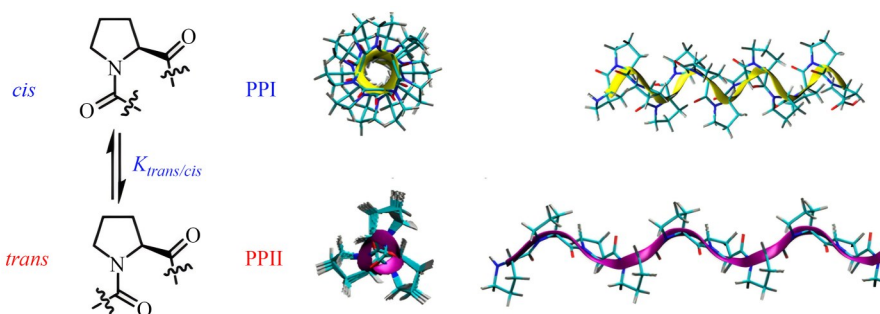


Fig. 2 Cis-trans isomerism of amide bonds and the corresponding PPI/PPII helical structures (Reproduced with permission from Ref. [36]; Copyright (2014) American Chemical Society).

随着对于PPII螺旋二级结构研究的深入, 研究者发现影响PPII结构稳定性的关键因素为四号位的取代基电子效应和位阻效应. 当四号位的取代基与酰胺呈反式并且为小位阻吸电子基团时(例如-OH, -F), 五元环会由于Gauche效应而更倾向于采取 exo 构象. 此时更容易出现酰胺氧孤对电子到另一酰胺羰基 π 键反键轨道的 $n \rightarrow \pi^*$ 相互作用, 此情况下酰胺键为反式构型, 因此可以形成PPII螺旋构象(图3). 因此四号位具有反式羟基

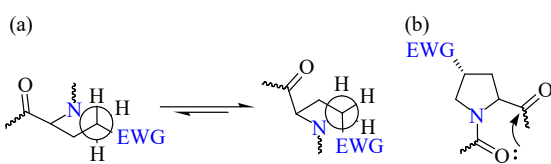


Fig. 3 (a) The stereoelectronic stabilization of the triple helix structure^[1]; (b) The $n \rightarrow \pi^*$ interaction in the triple helix; EWG = electron-withdrawing group.

它不同于常见的 α 螺旋或 β 折叠等蛋白质二级结构, 是一种左手 3_1 螺旋结构. 三螺旋结构的稳定与PPII螺旋结构稳定有较强的相关性.

聚脯氨酸II型螺旋是胶原蛋白多肽链采取的二级结构, 是研究和合成类胶原蛋白多肽的重要模型. 脯氨酸是20种常见氨基酸中唯一的一个环状二级胺, 其均聚所构成的聚脯氨酸具有独特的二级结构, 即聚脯氨酸I型螺旋和II型螺旋结构(PPI和PPII)^[36]. 二级酰胺的顺反异构决定了聚脯氨酸为PPI或PPII螺旋(图2). 在除乙酸之外的常见有机溶剂中, 酰胺键为顺式, 聚脯氨酸为PPI螺旋结构. 该结构中酰胺键被包裹在内, 整体较为致密. 在水、乙酸、六氟异丙醇等具有强氢键给体的溶剂中, 酰胺键为反式, 聚脯氨酸会形成PPII螺旋结构, 这使得酰胺键暴露在外, 与溶剂形成氢键从而使结构稳定^[37,38].

的羟脯氨酸在胶原中大量存在, 它相比脯氨酸具有更高的PPII螺旋倾向, 可以稳定胶原单链的PPII构象, 从而增强胶原的整体结构稳定性^[1].

羟脯氨酸是由脯氨酸通过脯氨酰-4-羟化酶介导翻译的后修饰产物, 它几乎只存在于胶原蛋白中. 研究表明, 若胶原蛋白中羟脯氨酸的含量不足, 则会首先破坏胶原蛋白单链的PPII螺旋二级结构的稳定性, 部分片段会异构成PPI结构, 进而导致三条螺旋链之间结合不紧密, 最终导致蛋白质结构的解体. 而甘氨酸是位阻最小的氨基酸^[39], 可以最小程度地影响PPII二级结构稳定性. 甘氨酸形成的酰胺结构具有活泼氢, 可以与链间的脯氨酸的羰基形成氢键网络^[35,40], 三条多肽链以右手螺旋的方式紧密缠绕在一起, 形成三螺旋结构. 这种结构不仅赋予胶原蛋白极高的拉伸强度, 还能承受巨大的张力和压力^[41-44].

2 基于GPO序列的衍生物

2.1 (GPO)_n低聚物

CMPs 最早的研究集中于研究(GPO)_n低聚物的合成与构效关系。(GPO)_n低聚物一般都由固相多肽合成所得(图4),研究发现,(GPO)_n重复序列($n > 6$)无需交联即可自组装形成稳定三螺旋,且热稳定性随三肽单元数量增加而提升^[45]。例如,(GPO)₆三螺旋的熔解温度(T_m)仅为10 °C,而(GPO)₁₀可达68 °C。(GPP)_n重复序列虽也能形成三螺旋,但热稳定性显著降低,例如(GPP)₁₀的 T_m 仅约27 °C,远低于同长度(GPO)₁₀序列的熔点^[46,47]。

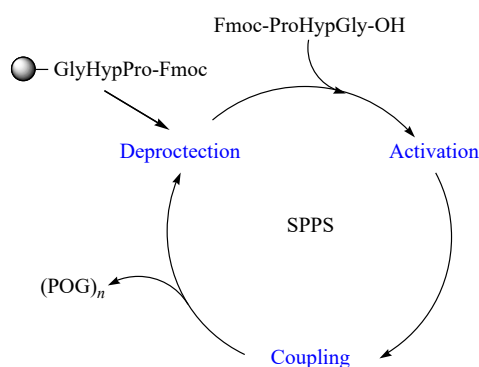


Fig. 4 Schematic diagram of the solid-phase peptide synthesis process for (GPO)_n oligomers.

随着技术发展,目前可稳定合成21~50个残基的胶原模拟肽。为提高稳定性,常在N端和/或C端引入2~4个(GPO)_n或(GPP)_n重复单元^[4,48]。研究表明,这些末端重复序列还能作为成核域,促进3条链正确组装^[49~51]。

N端和/或C端封端修饰会影响三螺旋的稳定性^[52~55]。当两端同时封端(N端乙酰化、C端酰胺化)时,可消除3个N端质子化氨基与3个C端羧酸根之间的电荷排斥,从而提升三螺旋的热稳定性(以 T_m 值衡量)。但研究发现,N端与C端电荷对稳定性的影响存在差异:带负电的羧酸根影响较小,而带正电的铵离子影响更显著^[56]。

通过选择性标记从N端到C端的三肽单元,研究者揭示了CMPs形成三螺旋的结构特征^[57]。对(POG)₁₀同源三聚体的NMR分析显示,其核心区域折叠良好,而N端和C端各2个三肽单元呈现无序状态。在计算CMPs稳定性时,必须考虑末端解旋效应:相较于螺旋核心区域的残基替换,末端修饰对稳定性的影响较弱。由于天然胶原蛋白链长远超CMPs,其末端电荷或解旋效应可忽略不计,因此这些特征是CMPs模型特有的。

由于固相多肽合成(SPPS)制备的CMPs长度有限,为了进一步模拟胶原蛋白的规模,2005年,Tanihara等^[58]先用SPPS合成了POG、(POG)₅、(POG)₁₀的短肽,再将其通过缩聚的方式缩合得到序列为(POG)_n的高分子(图5(a))。随后他们使用圆二色谱证明通过缩聚合成的序列为(POG)_n高分子,具有胶原蛋白特征的三螺旋结构,且当温度升至80 °C时,聚合物的三螺旋未发生明显的解螺旋,在透射电镜(TEM)的观察下,(POG)_n高分子存在纳米纤维状聚集结构(图5(b)),单根纳米纤维直径约为10 nm,相当于约30条三螺旋链聚集形成的束状结构;这些聚集体的平均直径约为5.5 μm。

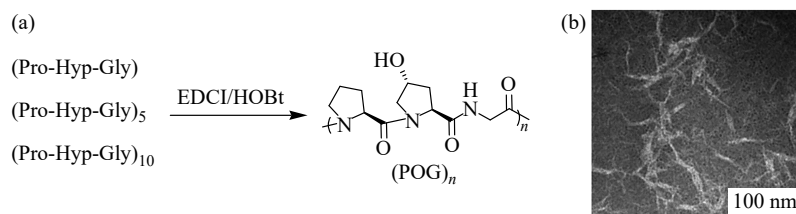


Fig. 5 Synthetic route (a) and TEM image (b) of (POG)_n (Reproduced with permission from Ref. [58]; Copyright (2005) Wiley-VCH).

2.2 GPO序列衍生物

非天然氨基酸的应用既提升了胶原三螺旋的热稳定性,也为解析其组装机制提供了新视角。其中,脯氨酸类似物^[59]的研究尤为关键,它能区分脯氨酸与羟脯氨酸对三螺旋稳定的具体贡献。

通过系统比较不同类似物,可分离立体电子效应、氢键作用和空间位阻效应,从而深入理解经典(GPO)_n结构的稳定性机制,并为设计具有pH响应等特殊功能的CMPs提供理论依据。

例如,氟代脯氨酸(Flp)的引入首次实现了立

体电子效应与氢键作用的解耦, 氟原子虽与羟基同为吸电子基团, 但氢键形成能力显著较弱^[60-63]. 研究发现, 氟代脯氨酸能显著提高三螺旋稳定性, 表明氟原子的诱导吸电子形成的立体电子效应比氢键贡献更为关键. 这一现象可从前文提到的酰胺键顺反异构化反应解释: 脯氨酸衍生物的顺反比例受吡咯烷环折叠构象(C γ -endo 或 C γ -exo)调控. 当4R位引入吸电子基团时, 邻位交叉效应(gauche effect)会驱动环采取 C γ -exo 构象. 反之, 若吸电子基团位于4S位, 则邻位交叉效应会稳定 C γ -endo 构象——该构象的二面角更符合 Xaa 位残基的立体要求.

脯氨酸衍生物的持续研究不仅深化了对三螺旋

组装机制的认知, 更为基于该结构基序的功能材料开发提供了新思路. 通过引入这类非天然氨基酸, 可设计出热稳定性超越经典 POG 序列的合成 CMPs, 并赋予其特殊功能特性(如 pH 响应性基团), 从而拓展材料应用范围.

4R-氨基脯氨酸(Amp, 化学结构见表1)在碱性 pH 下呈现 C γ -endo 环折叠构象, 而在酸性/中性 pH 下转为 C γ -exo 构象; 4S-氨基脯氨酸则表现出相反行为^[64,65]. 这与 Xaa/Yaa 位点对吡咯烷环构象的需求一致: 碱性条件下, 4R-Amp 最适配 Xaa 位, 而 4S-Amp 更稳定于 Yaa 位. 但在酸性/中性 pH 下, 质子化的 Amp 会显著降低三螺旋稳定性.

Table 1 Types of CMPs derivatives.

Hyp derivatives				Pro derivatives			Gly derivatives
Flp	Amp	Aop	γ -azPro	(5R/S)-CF ₃ - ψ Pro	Aze	Pip	azGly

γ -氮杂脯氨酸(γ -azPro, γ 位碳被氮取代)及其烷基化衍生物因能实现 pH 响应折叠且避免立体中心复杂性而受到关注^[66,67]. 中性 pH 下, 带电的 γ -氮原子会与羰基氧形成氢键, 迫使环采取 C γ -endo 构象并产生非典型二面角, 导致 PPII 螺旋不稳定. 与 Amp 相比, γ -azPro 的 pH 响应性不受位置与立体化学限制, 且其 pK_a 差异显著: Amp 在中性 pH 即带电, 而 γ -azPro 需在酸性条件下质子化. 因此, γ -azPro 可灵活嵌入 CMP 任意位点构建 pH 响应性材料.

Miclet 等^[68]首次在氧杂脯氨酸残基 C(5)位引入三氟甲基(-CF₃), 设计出新型氟化胶原模拟肽. 通过圆二色谱(CD)、核磁共振(NMR)和分子动力学(MD)模拟分析, 证实该修饰能稳定三螺旋结构, 且三氟甲基朝向外侧而不影响螺旋核心. 这一发现拓展了胶原模拟肽的化学修饰方法, 为开发功能化生物材料及药物递送系统提供了新思路.

通过比较四元环氮杂环丁烷(Aze)与六元环哌啶(Pip)发现环尺寸对三螺旋结构亦存在影响^[69]: Aze 的酰胺键反式/顺式比例不利而 Pip 的 ϕ/ψ 二面角偏离理想值, 二者在 Xaa/Yaa 位的取代均导致(PPG)_n三螺旋 T_m值降低 10 °C, 证实脯氨酸的五元环结构在维持酰胺键构象与二面角方

面具有不可替代性.

氮杂甘氨酸(azGly)被发现可以稳定三螺旋: 将 Gly 的 α -碳 CH₂ 替换为 NH 的 azGly 可使三螺旋 T_m 值提升 10 °C 并加速折叠动力学^[70-72]. 由于 azGly 的 NH 能与相邻链的两个酰胺羰基形成交叉氢键提供了额外的氢键网络^[71,73], 以及通过异头效应(anomeric effect)稳定 Gauche 构型, 完美匹配 Gly 位点需求^[70].

除了单点非天然氨基酸的引入, 在 GPO 序列的基础上化学后修饰也是实现三螺旋结构增强的重要策略. 这种增强作用一般通过 Hyp 的衍生化策略, 后修饰上可以发生物理或化学共价作用的基团, 从而实现三螺旋整体稳定性的增强(图6).

Wennemers 等^[74]详细探究了利用脲连接技术实现化学交联增强的胶原蛋白三螺旋结构(图6(a)). 该研究团队通过深入分析 4-氨基脯氨酸(Aop)的构象特性及其在交联胶原三螺旋中的作用, 设计并合成了氨基与醛官能团形成的脲共价交联, 实现了三螺旋间的共价连接. 实验结果显示, 这种交联方法不仅增强了三螺旋的稳定性, 还显著提升了其机械强度. 除了化学交联, 物理交联也可增强三螺旋稳定性. Wennemers 等^[75]利用(4S)-氨基脯氨酸(Amp)和天冬氨酸(Asp)之间的侧链盐桥, 成功实现了 ABC 型胶原异源三聚体

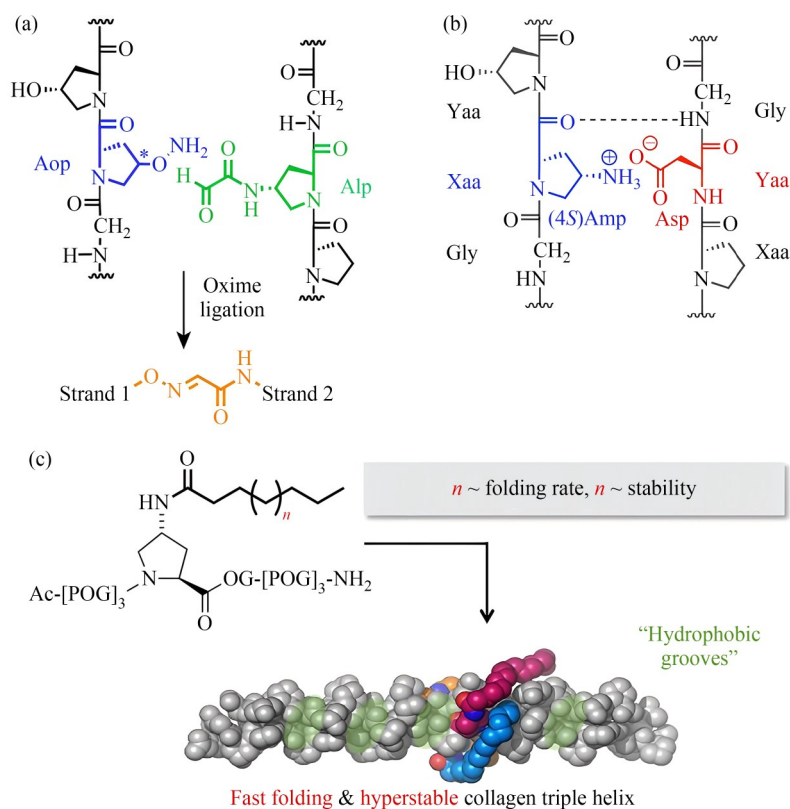


Fig. 6 (a) Cross-linked collagen triple helix structure *via* oxime linkage (Reproduced with permission from Ref. [74]; Copyright (2017) American Chemical Society); (b) Collagen triple helix structure stabilized by salt bridges (Reproduced with permission from Ref. [75]; Copyright (2020) American Chemical Society); (c) Collagen triple helix structure stabilized by hydrophobic interactions (Reproduced with permission from Ref. [76]; Copyright (2021) American Chemical Society).

的特异性组装(图6(b)). 他们通过精确设计多肽链中的 Amp 和 Asp 位置, 仅需3个盐桥即可稳定24肽形成的三聚体, 为胶原结构的设计提供了新方法. Wennemers等^[76]还研究了不同长度和类型的脂肪酸对胶原蛋白三螺旋折叠速率和热稳定性的影响(图6(c)). 实验和分子动力学模拟表明, 更长、更灵活的脂肪酸链提高了三螺旋的稳定性和折叠速率, 通过与三螺旋凹槽的疏水相互作用起到“疏水胶”的作用.

3 GPO序列中P/O的部分替换

3.1 替换策略的设计原则

通过宿主-客体肽系统, Brodsky等系统考察了20种天然氨基酸及羟脯氨酸在 Xaa/Yaa 位点的取代效应^[77-83]: 最稳定单元为(Gly-Pro-Hyp)三肽, 其中宿主肽(Gly-Pro-Hyp)₈在中性缓冲液中 T_m 达47.3 °C. 肽段中部Pro被取代时, T_m 降低2~15 °C (取决于残基类型), Y位Hyp被取代可导致 T_m 降幅达0~21 °C.

研究者们为了拓展CMP中(Gly-Xaa-Yaa)_n序

列的种类, 通过理论计算和实验验证了多种序列的可能的三螺旋结构^[84,85], 从轴向与横向来看通过静电、氢键、阳离子- π 、酰胺- π 作用等可能形成稳定的三螺旋结构(图7).

单个Glu/Asp/Arg/Lys通常会降低三螺旋结构的稳定性, 但当KGE/KGD成对出现时, 因其形成链间盐桥可使 T_m 提升15.4~17.5 °C. 因此通过链间盐桥(离子型氢键)的理性设计可显著稳定异三聚体^[79,81,83]: 正向策略为在相邻链上定向引入带相反电荷的残基对(如Lys-Asp), 负向策略为未配对的带电残基通过电荷排斥抑制非目标构象.

Hartgerink等^[86-90]通过30肽系统揭示了静电相互作用的轴向取向规律. 研究表明, 携带5个以上同种电荷的肽段(如(DOG)₁₀/(PKG)₁₀)因强排斥无法自组装. 而当带正负电的肽段与(POG)₁₀以1:1:1混合时, 可形成由轴向电荷对稳定的ABC异三聚体. NMR显示: 领先链Lys与中间链Glu/Asp、中间链Lys与拖尾链Glu/Asp形成特异性相互作用, 其中Lys-Asp盐桥强度尤为显著. Zheng等^[91]

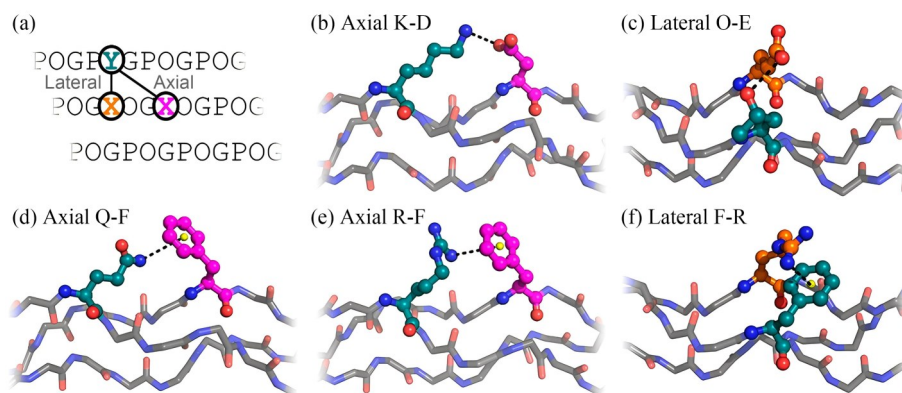


Fig. 7 Paired interactions in the triple helix structure. (a) Sequence arrangements required for different interaction geometries: lateral interactions occur between Yaa (turquoise) and Xaa (orange) within the same tripeptide site, while axial interactions occur between Yaa and Xaa (purple); (b) Lysine-aspartic acid (K-D) electrostatic interaction; (c) Lateral hydroxyproline-glutamic acid (O-E) hydrogen bonding; (d) Axial amide- π interaction between glutamine and phenylalanine (Q-F); (e) Axial interaction model of arginine-phenylalanine (R-F); (f) Lateral interaction model of phenylalanine-arginine (F-R) (Reproduced with permission from Ref. [35]; Copyright (2022) American Chemical Society).

的晶体结构证实了上述轴向 Lys-Asp 盐桥的存在. 基于这种定向链间电荷配对机制, Hartgerink 等^[92]后续研究成功开发了超长螺旋结构材料.

除了盐桥静电作用外, 研究较多的还有阳离子- π 相互作用体系. Hornig 等^[78]在一系列能够形成同三聚体的肽中研究了阳离子- π 相互作用, 重点探讨了不同轴向配对所赋予的稳定性. 研究发现, 当阳离子位于 Y 位置且芳香 π 系统位于 X 位置时: 以精氨酸作为阳离子比赖氨酸的相互作用更稳定; 苯丙氨酸的 π 系统比酪氨酸或色氨酸更具稳定性. 值得注意的是, 当苯环上引入吸电子基团氟时, 阳离子- π 相互作用的稳定性降低; 相反, 供电子基团甲基则会略微增强该相互作用的稳定性^[93]. 这些发现拓展了 CMPs 设计中可利用的相互作用类型, 并证明通过调节阳离子类型和 π 系统的取代基可精准调控阳离子- π 相互作用的强度.

此外, 在设计稳定异源三聚体时, 抑制竞争性组装是至关重要的考量因素. 研究表明^[94], 基于链间电荷相互作用的原始 ABC 异源三聚体虽具有显著稳定性 ($T_m > 56^\circ\text{C}$), 但仍无法完全抑制 (POG)₁₀ 同源三聚体的形成 ($T_m = 58^\circ\text{C}$), 导致混合体系中存在异源/同源三聚体共存现象.

3.2 典型氨基酸替换案例

Hartgerink 等^[95]构造了 (Pro-Lys-Gly)₄(Pro-Hyp-Gly)₄(Asp-Hyp-Gly)₄ 的序列, 利用赖氨酸和天冬氨酸之间的盐桥键稳定三螺旋结构, 实现了从肽链到三螺旋、纳米纤维, 再到水凝胶的完整自组装过程. 由于链间盐桥显著的稳定效应, 在比天

然胶原多肽短 30 倍下, 该序列的多肽水凝胶仍能与天然来源的凝胶有相近的储能模量 (约为 900 Pa). 更进一步, Raines 等^[96]受到几何镶嵌的启发, 也通过静电相互作用设计了能够形成具有完美对称性的长三螺旋结构, 具有显著的热稳定性.

2021 年, Hartgerink 等^[97]首次报道了一种无电荷但具有稳定作用的成对相互作用—酰胺- π 相互作用稳定的 CMPs, 即芳香 π 系统接受侧链酰胺的氢键 (图 8). 研究发现, 谷氨酰胺-苯丙氨酸 (Q-F) 的轴向相互作用可适度稳定三螺旋结构, 而相同残基的横向相互作用则具有去稳定效应, 这种双向特性使得 Q-F 既能通过增强目标结构等正向设计又能通过抑制非目标折叠等负向设计精确调控异源三聚体的链排列, 从而显著提升特异性. 相比之下, 天冬酰胺-苯丙氨酸 (N-F) 的轴向相互作用对三螺旋稳定性几乎无影响. 随后 Hartgerink

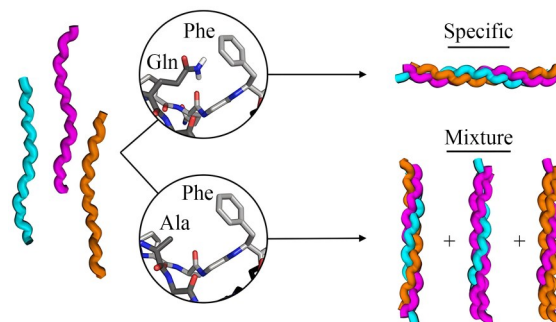


Fig. 8 Heterotrimer design via glutamine-phenylalanine interaction (Reproduced with permission from Ref. [97]; Copyright (2021) American Chemical Society).

团队进一步将酰胺- π 相互作用整合到ABC异源三聚体设计中,充分验证了该成对相互作用在异源三聚体设计中的实用性.

4 类胶原蛋白聚氨基酸

目前CMPs虽然能够模拟天然胶原蛋白的部分结构与功能,但仍存在一些不足:首先,其分子量通常较低,难以形成稳定结构,导致物理与力学性能较差,通常无法形成水凝胶;此外,传统多肽固相合成技术以及缩聚聚合方案存在合成效率低、生产成本高等弊端,规模化生产面临挑战.聚氨基酸(poly(amino acid), 又称聚多肽)是一类由同一种或多种氨基酸N-羧基内酸酐(NCA)通过开环聚合制备、以酰胺键(肽键)连接的仿生高分子,分子量可达数万至百万道尔顿.随着近年来可控聚合方法的蓬勃发展,聚氨基酸的分子量、分散度、端基保真度和拓扑结构调控日益改善^[98-103],聚氨基酸的应用也覆盖了多个领域^[104-106].

通过活性开环聚合的方式通常难以制备确定序列的类胶原多肽,但是合成具有PPII螺旋构象的聚脯氨酸(PPro)和聚羟脯氨酸(PHyp)等均聚物有助于研究者加深对于胶原蛋白构象的进一步理解,也为通过开环聚合反应开发类胶原蛋白聚氨基酸奠定了基础.1953年Berger等^[107]首次合成了脯氨酸NCA(Pro-NCA)单体,并且尝试了其在本体以及二氧六环中的聚合,1958年Katchalski等^[108]首次通过先乙酰基保护,聚合后脱保护的方法合成了聚羟脯氨酸,这些早期的研究中对于所得聚氨基酸的分子量、分散度、端基等表征受

限,并不准确.2021年,Kramer等^[109]通过Ni和Co催化剂实现了Pro和乙酰羟脯氨酸NCA的聚合.他们通过水解聚乙酰羟脯氨酸得到了PHyp,CD的结果表明,四号位羟基的取代可以促进PPI到PPII的转变.

Lu等^[110]在2022年报道了Pro-NCA开环聚合中反常的“水加速”现象,在乙腈-水混合溶剂中以普通一级胺为引发剂即可实现超快且可控的聚合(图9(a)),反应在30 s到5 min内即可完成,聚合度最高达到200.机理实验与密度泛函理论(DFT)计算共同表明水在聚合过程中扮演了质子梭的角色,帮助了决速步的质子转移过程,从而将反应能垒降低了7.1 kcal/mol,显著加速了聚合反应进程.由于反应条件温和、操作简便、易于提纯,他们进一步利用蛋白质赖氨酸残基引发了Pro-NCA开环聚合,获得原位生长的蛋白质-聚脯氨酸偶联物.以药物蛋白门冬酰胺酶为引发剂,该方法一步即可制备门冬酰胺酶-聚脯氨酸偶联物(图9(b)).该偶联物相较野生型蛋白可以增加其抵抗极端环境的能力、显著延长血液循环时间并降低药物的免疫原性,展示了广阔的药用前景.在2025年,他们通过原位引发的方式制备了尿酸氧化酶-聚脯氨酸偶联物,通过电镜观察到了偶联物的“纳米海胆”结构^[111].该偶联物相比与尿酸氧化酶-聚乙二醇偶联物具有更优异的稳定性以及更低的免疫原性.由于脯氨酸是胶原蛋白中富含的氨基酸成分,而聚脯氨酸的PPII螺旋结构也类似胶原蛋白,未来聚脯氨酸及其共聚物还有望用于食品、医美、医疗器械等领域.

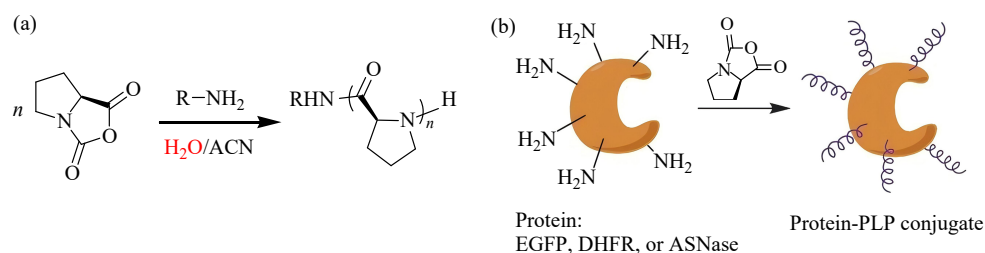


Fig. 9 (a) Water-assisted ring-opening polymerization of Pro-NCA; (b) Preparation of protein-polyproline conjugates *via in situ* protein-initiated polymerization of Pro-NCA (Reproduced with permission from Ref. [110]; Copyright (2022) Science Press).

Lu等^[112]在2021年通过引入环氧化物作为酸淬灭剂,实现了羟基无保护的羟脯氨酸-NCA(Hyp-NCA)的首次制备.他们随后报道了Hyp-NCA的开环聚合^[113].该研究通过水辅助的超快聚合技术,实现了对未保护的Hyp-NCA的开环聚合,

从而能够一步合成具有线型拓扑结构的PHyp.此外,该研究还开发了一种在DMSO中通过有机碱催化触发的一步聚合法,制备了分子量高达438 kDa的支化PHyp(B-PHyp),其分子量是之前报道的PHyp的约40倍(图10).他们还探究了

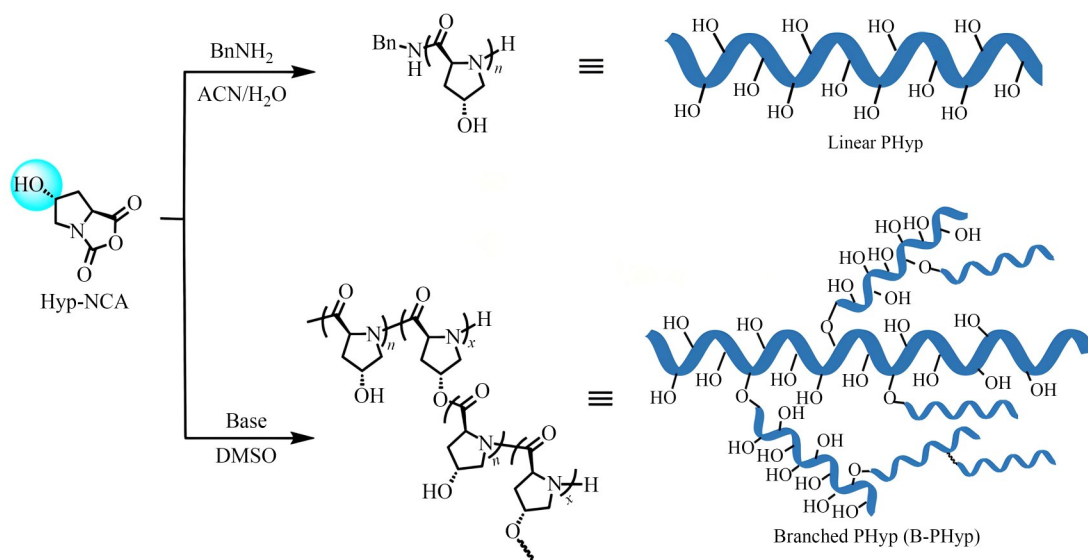


Fig. 10 Ring-opening polymerization of Hyp-NCA for the synthesis of PHyp with linear and branched structures (Reproduced with permission from Ref. [113]; Copyright (2025) Chinese Chemical Society).

B-PHyp 的后修饰反应，简便的原位乙酰化修饰使 B-PHyp 能够在低固含量下形成物理水凝胶，可通过注射器挤出。这些聚合物具有独特的 PPII 螺旋结构，在药物递送、伤口愈合和医美等生物医学应用中展现出广阔的前景。

5 总结与展望

CMPs 整体参考了胶原蛋白中的关键序列 GPO，通过合成具有重复 GPO 单元及其衍生结构的多肽，成功模拟了类胶原蛋白结构，并使其展现出部分胶原蛋白的生物学性质。其策略大致可分为 GPO 序列中结构相似的非天然氨基酸引入、侧链修饰以及部分 P 或 O 的氨基酸替换。这些工作详细探究了 GPO 序列中部分结构变化导致的稳定性及性质变化，同时也加深了研究者对于胶原蛋白中构象和相互作用力的理解。然而受限于多肽固相合成的高成本、低效率和低分子

量，导致其模拟胶原蛋白的工业化进程受阻。目前 Pro-NCA 和 Hyp-NCA 的高效开环聚合反应均已实现，未来通过高分子共聚合方法有望合成具有类似胶原蛋白功能的聚氨基酸高分子，解决 CMPs 合成成本高、无法工业化量产的问题。NCA 的开环聚合可通过引入胶原蛋白关键性单体(如脯氨酸、羟脯氨酸及甘氨酸等)或调控聚合条件、优化聚氨基酸的序列规整性，增强其自组装能力，从而在分子链段间形成稳定的三螺旋结构。此外，共聚合可引入其他生物相容性单体，改善材料的力学性能和降解可控性。相较于传统多肽合成，高分子聚合方法具有以下优势：(1)反应条件温和，易于规模化生产；(2)可通过共聚单体调节材料的亲疏水性、机械强度和生物活性，实现产品性能的快速迭代升级；(3)能够形成更高分子量的仿生材料，更接近天然胶原蛋白的性能。



作者简介：吕华，男，1983年生，北京大学教授。2006年获得北京大学化学学院学士学位，2011年获美国伊利诺伊大学香槟分校材料学博士学位，2011~2014年在 Scripps 研究所从事博士后研究，2014年起任北京大学化学与分子工程学院研究员，后晋升为教授、博雅特聘教授。曾获国家优秀青年科学基金、国家杰出青年科学基金、中国化学会-英国皇家化学会青年化学奖、药明康德生命化学研究奖学者奖等。现为美国化学会期刊 *Biomacromolecules* 副主编。研究方向为高分子化学、生物医用高分子材料、生物偶联、生物医药工程等。

REFERENCES

- 1 Shoulders, M. D.; Raines, R. T. Collagen structure and stability. *Annu. Rev. Biochem.*, **2009**, 78, 929–958.
- 2 Bielajew, B. J.; Hu, J. C.; Athanasiou, K. A. Collagen: Quantification, biomechanics, and role of minor subtypes in cartilage. *Nat. Rev. Mater.*, **2020**, 5(10), 730–747.
- 3 Brodsky, B.; Ramshaw, J. A. M. The collagen triple-helix structure. *Matrix Biol.*, **1997**, 15(8–9), 545–554.
- 4 Brodsky, B.; Persikov, A. V. *Advances in Protein Chemistry: Molecular structure of the collagen triple helix. Vol. 70*. San Diego: Academic Press, **2005**. 301–339.
- 5 Engel, J.; Bächinger, H. P. Structure, stability and folding of the collagen triple helix. *Collagen*. Berlin, Heidelberg: Springer, **2005**, 7–33.
- 6 Kirkness, M. W.; Lehmann, K.; Forde, N. R. Mechanics and structural stability of the collagen triple helix. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2019**, 53, 98–105.
- 7 Eastoe, J. E. The amino acid composition of mammalian collagen and gelatin. *Biochem. J.*, **1955**, 61(4), 589–600.
- 8 Li, P.; Wu, G. Y. Roles of dietary glycine, proline, and hydroxyproline in collagen synthesis and animal growth. *Amino Acids*, **2018**, 50(1), 29–38.
- 9 Ramshaw, J. A. M.; Shah, N. K.; Brodsky, B. Gly-X-Y tripeptide frequencies in collagen: a context for host-guest triple-helical peptides. *J. Struct. Biol.*, **1998**, 122(1–2), 86–91.
- 10 He, L. R.; Theato, P. Collagen and collagen mimetic peptide conjugates in polymer science. *Eur. Polym. J.*, **2013**, 49(10), 2986–2997.
- 11 Zheng, M. H.; Wang, X. C.; Chen, Y. N.; Ouyang, Y.; Bai, Z. X.; Cui, B. Q.; Jiang, H. E.; Liu, X. H. A review of recent progress on collagen-based biomaterials. *Adv. Healthc. Mater.*, **2023**, 12(16), 2202042.
- 12 Sionkowska, A.; Adamiak, K.; Musiał, K.; Gadomska, M. Collagen based materials in cosmetic applications: a review. *Materials*, **2020**, 13(19), 4217.
- 13 Sionkowska, A.; Skrzyński, S.; Śmiechowski, K.; Kołodziejczak, A. The review of versatile application of collagen. *Polym. Adv. Technol.*, **2017**, 28(1), 4–9.
- 14 Shekhter, A. B.; Fayzullin, A. L.; Vukolova, M. N.; Rudenko, T. G.; Osipycheva, V. D.; Litvitsky, P. F. Medical applications of collagen and collagen-based materials. *Curr. Med. Chem.*, **2019**, 26(3), 506–516.
- 15 Dong, C. J.; Lv, Y. G. Application of collagen scaffold in tissue engineering: recent advances and new perspectives. *Polymers*, **2016**, 8(2), 42.
- 16 Lee, C. H.; Singla, A.; Lee, Y. Biomedical applications of collagen. *Int. J. Pharm.*, **2001**, 221(1–2), 1–22.
- 17 Ann, F.; Simman, R. Modern collagen wound dressings: Function and purpose. *J. Am. Coll. Certif. Wound Specialists*, **2010**, 2(3), 50–54.
- 18 Brett, D. A review of collagen and collagen-based wound dressings. *Wounds*, **2008**, 20(12), 347–356.
- 19 Ge, L. M.; Xu, Y. B.; Li, X. Y.; Yuan, L.; Tan, H.; Li, D. F.; Mu, C. D. Fabrication of antibacterial collagen-based composite wound dressing. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **2018**, 6(7), 9153–9166.
- 20 Tang, C.; Zhou, K.; Zhu, Y. C.; Zhang, W. D.; Xie, Y.; Wang, Z. M.; Zhou, H.; Yang, T. T.; Zhang, Q.; Xu, B. C. Collagen and its derivatives: from structure and properties to their applications in food industry. *Food Hydrocoll.*, **2022**, 131, 107748.
- 21 Hu, X.; Wu, Z. L.; Zhang, Z.; Yao, H.; Wang, D. A. Type II collagen scaffolds for tissue engineering. *Commun. Mater.*, **2024**, 5, 149.
- 22 Rezvani Ghomi, E.; Nourbakhsh, N.; Akbari Kenari, M.; Zare, M.; Ramakrishna, S. Collagen-based biomaterials for biomedical applications. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, **2021**, 109(12), 1986–1999.
- 23 Coppola, D.; Oliviero, M.; Vitale, G. A.; Lauritano, C.; D’Ambra, I.; Iannace, S.; de Pascale, D. Marine collagen from alternative and sustainable sources: extraction, processing and applications. *Mar. Drugs*, **2020**, 18(4), 214.
- 24 Ahmed, M.; Verma, A. K.; Patel, R. Collagen extraction and recent biological activities of collagen peptides derived from sea-food waste: a review. *Sustain. Chem. Pharm.*, **2020**, 18, 100315.
- 25 Matinong, A. M. E.; Chisti, Y.; Pickering, K. L.; Haverkamp, R. G. Collagen extraction from animal skin. *Biology*, **2022**, 11(6), 905.
- 26 Wang, T. Y.; Lew, J.; Premkumar, J.; Poh, C. L.; Win Naing, M. Production of recombinant collagen: state of the art and challenges. *Eng. Biol.*, **2017**, 1(1), 18–23.

- 27 Olsen, D.; Yang, C. L.; Bodo, M.; Chang, R.; Leigh, S.; Baez, J.; Carmichael, D.; Perälä, M.; Hämäläinen, E. R.; Jarvinen, M.; Polarek, J. Recombinant collagen and gelatin for drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2003**, 55(12), 1547–1567.
- 28 Báez, J.; Olsen, D.; Polarek, J. W. Recombinant microbial systems for the production of human collagen and gelatin. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2005**, 69(3), 245–252.
- 29 Yang, C. L.; Hillas, P. J.; Báez, J. A.; Nokelainen, M.; Balan, J.; Tang, J.; Spiro, R.; Polarek, J. W. The application of recombinant human collagen in tissue engineering. *BioDrugs*, **2004**, 18(2), 103–119.
- 30 Rutschmann, C.; Baumann, S.; Cabalzar, J.; Luther, K. B.; Hennen, T. Recombinant expression of hydroxylated human collagen in *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2014**, 98(10), 4445–4455.
- 31 An, B.; Kaplan, D. L.; Brodsky, B. Engineered recombinant bacterial collagen as an alternative collagen-based biomaterial for tissue engineering. *Front. Chem.*, **2014**, 2, 40.
- 32 Bou-Gharios, G.; de Crombrughe, B. Type I collagen structure, synthesis, and regulation. In *Principles of Bone Biology*, 3rd ed.; Bilezikian, J. P., Raisz, L. G., Martin, T. J., Eds.; San Diego: Academic Press, **2008**; pp 285–318.
- 33 Shi, J. J.; Ma, X. X.; Gao, Y.; Fan, D. D.; Zhu, C. H.; Mi, Y.; Xue, W. J. Hydroxylation of human type III collagen alpha chain by recombinant coexpression with a viral prolyl 4-hydroxylase in *Escherichia coli*. *Protein J.*, **2017**, 36(4), 322–331.
- 34 Xu, Y. J.; Kirchner, M. Collagen mimetic peptides. *Bioengineering*, **2021**, 8(1), 5.
- 35 Hulgán, S. A. H.; Hartgerink, J. D. Recent advances in collagen mimetic peptide structure and design. *Biomacromolecules*, **2022**, 23(4), 1475–1489.
- 36 Shi, L. Q.; Holliday, A. E.; Shi, H. L.; Zhu, F. F.; Ewing, M. A.; Russell, D. H.; Clemmer, D. E. Characterizing intermediates along the transition from polyproline I to polyproline II using ion mobility spectrometry-mass spectrometry. *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, 136(36), 12702–12711.
- 37 Forsythe, K. H.; Hopfinger, A. J. The influence of solvent on the secondary structures of poly(L-alanine) and poly(L-proline). *Macromolecules*, **1973**, 6(3), 423–437.
- 38 Steinberg, I. Z.; Harrington, W. F.; Berger, A.; Sela, M.; Katchalski, E. The configurational changes of poly-L-proline in solution. *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82(20), 5263–5279.
- 39 Kodr, D.; Fiala, T.; Wennemers, H. The irreplaceable glycine: glycine homologs destabilize the collagen triple helix. *Tetrahedron Lett.*, **2024**, 138, 154964.
- 40 Yang, J. Y.; Kojasoy, V.; Porter, G. J.; Raines, R. T. Pauli exclusion by $n \rightarrow \pi^*$ interactions: implications for paleobiology. *ACS Cent. Sci.*, **2024**, 10(10), 1829–1834.
- 41 Fratzl, P.; Misof, K.; Zizak, I.; Rapp, G.; Amenitsch, H.; Bernstorff, S. Fibrillar structure and mechanical properties of collagen. *J. Struct. Biol.*, **1998**, 122(1–2), 119–122.
- 42 Wenger, M. P. E.; Bozec, L.; Horton, M. A.; Mesquida, P. Mechanical properties of collagen fibrils. *Biophys. J.*, **2007**, 93(4), 1255–1263.
- 43 Kato, Y. P.; Christiansen, D. L.; Hahn, R. A.; Shieh, S. J.; Goldstein, J. D.; Silver, F. H. Mechanical properties of collagen fibres: a comparison of reconstituted and rat tail tendon fibres. *Biomaterials*, **1989**, 10(1), 38–42.
- 44 Couppe, C.; Hansen, P.; Kongsgaard, M.; Kovanen, V.; Suetta, C.; Aagaard, P.; Kjaer, M.; Magnusson, S. P. Mechanical properties and collagen cross-linking of the patellar tendon in old and young men. *J. Appl. Physiol.*, **2009**, 107(3), 880–886.
- 45 Sakakibara, S.; Inouye, K.; Shudo, K.; Kishida, Y.; Kobayashi, Y.; Prockop, D. J. Synthesis of (Pro-Hyp-Gly)_n of defined molecular weights evidence for the stabilization of collagen triple helix by hydroxyproline. *Biochim. Biophys. Acta BBA Protein Struct.*, **1973**, 303(1), 198–202.
- 46 Sutoh, K.; Noda, H. Conformational change of the triple-helical structure. IV. Kinetics of the helix-folding of (Pro-Pro-Gly)_n ($n=10, 12, \text{ and } 15$). *Biopolymers*, **1974**, 13(12), 2477–2488.
- 47 Fields, G. B.; Prockop, D. J. Perspectives on the synthesis and application of triple-helical, collagen-model peptides. *Biopolymers*, **1996**, 40(4), 345–357.
- 48 Brodsky, B.; Thiagarajan, G.; Madhan, B.; Kar, K. Triple-helical peptides: an approach to collagen conformation, stability, and self-association. *Biopolymers*, **2008**, 89(5), 345–353.
- 49 Buevich, A. V.; Silva, T.; Brodsky, B.; Baum, J. Transformation of the mechanism of triple-helix peptide folding in the absence of a C-terminal nucleation domain and its implications for mutations in collagen disorders. *J. Biol. Chem.*, **2004**, 279(45), 46890–46895.
- 50 Hyde, T. J.; Bryan, M. A.; Brodsky, B.; Baum, J. Sequence dependence of renucleation after a Gly mutation in model collagen peptides. *J. Biol. Chem.*, **2006**, 281(48), 36937–36943.

- 51 Xu, Y. J.; Bhate, M.; Brodsky, B. Characterization of the nucleation step and folding of a collagen triple-helix peptide. *Biochemistry*, **2002**, 41(25), 8143–8151.
- 52 Egli, J.; Erdmann, R. S.; Schmidt, P. J.; Wennemers, H. Effect of N- and C-terminal functional groups on the stability of collagen triple helices. *Chem. Commun.*, **2017**, 53(80), 11036–11039.
- 53 Qi, Y. Y.; Zhou, D. N.; Kessler, J. L.; Qiu, R. M.; Yu, S. M.; Li, G.; Qin, Z.; Li, Y. Terminal repeats impact collagen triple-helix stability through hydrogen bonding. *Chem. Sci.*, **2022**, 13(42), 12567–12576.
- 54 Fiala, T.; Barros, E. P.; Heeb, R.; Riniker, S.; Wennemers, H. Predicting collagen triple helix stability through additive effects of terminal residues and caps. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2023**, 62(3), e202214728.
- 55 Fiala, T.; Barros, E. P.; Ebert, M. O.; Ruijsenaars, E.; Riniker, S.; Wennemers, H. Frame shifts affect the stability of collagen triple helices. *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, 144(40), 18642–18649.
- 56 Chiu, H. S.; Horng, J. C. Modulating the stability of collagen triple helices by terminal charged residues. *J. Phys. Chem. B*, **2021**, 125(27), 7351–7358.
- 57 Acevedo-Jake, A. M.; Jalan, A. A.; Hartgerink, J. D. Comparative NMR analysis of collagen triple helix organization from N- to C-termini. *Biomacromolecules*, **2015**, 16(1), 145–155.
- 58 Kishimoto, T.; Morihara, Y.; Osanai, M.; Ogata, S. I.; Kamitakahara, M.; Ohtsuki, C.; Tanihara, M. Synthesis of poly(Pro-Hyp-Gly)_n by direct poly-condensation of (Pro-Hyp-Gly)_n, where n=1, 5, and 10, and stability of the triple-helical structure. *Biopolymers*, **2005**, 79(3), 163–172.
- 59 Kubyshkin, V.; Rubini, M. Proline analogues. *Chem. Rev.*, **2024**, 124(13), 8130–8232.
- 60 Holmgren, S. K.; Taylor, K. M.; Bretscher, L. E.; Raines, R. T. Code for collagen's stability deciphered. *Nature*, **1998**, 392(6677), 666–667.
- 61 Bretscher, L. E.; Jenkins, C. L.; Taylor, K. M.; DeRider, M. L.; Raines, R. T. Conformational stability of collagen relies on a stereoelectronic effect. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123(4), 777–778.
- 62 DeRider, M. L.; Wilkens, S. J.; Waddell, M. J.; Bretscher, L. E.; Weinhold, F.; Raines, R. T.; Markley, J. L. Collagen stability: insights from NMR spectroscopic and hybrid density functional computational investigations of the effect of electronegative substituents on prolyl ring conformations. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124(11), 2497–2505.
- 63 Hodges, J. A.; Raines, R. T. Stereoelectronic effects on collagen stability: the dichotomy of 4-fluoroproline diastereomers. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125(31), 9262–9263.
- 64 Egli, J.; Siebler, C.; Maryasin, B.; Erdmann, R. S.; Bergande, C.; Ochsenfeld, C.; Wennemers, H. pH-responsive aminoproline-containing collagen triple helices. *Chem.*, **2017**, 23(33), 7938–7944.
- 65 Siebler, C.; Erdmann, R. S.; Wennemers, H. Switchable proline derivatives: tuning the conformational stability of the collagen triple helix by pH changes. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, 53(39), 10340–10344.
- 66 Aronoff, M. R.; Egli, J.; Menichelli, M.; Wennemers, H. γ -azaproline confers pH Responsiveness and functionalizability on collagen triple helices. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, 58(10), 3143–3146.
- 67 Aronoff, M. R.; Egli, J.; Schmitt, A.; Wennemers, H. Alkylation of γ -azaproline creates conformationally adaptable proline derivatives for pH-responsive collagen triple helices. *Chemistry*, **2020**, 26(22), 5070–5074.
- 68 Terrien, A.; Rahgoshay, K.; Renaglia, E.; Lensen, N.; Jacquot, Y.; Marquant, R.; Brigaud, T.; Loison, C.; Chaume, G.; Miclet, E. Inviting C5-trifluoromethylated pseudoproline into collagen mimetic peptides. *Biomacromolecules*, **2023**, 24(4), 1555–1562.
- 69 Egli, J.; Schnitzer, T.; Dietschreit, J. C. B.; Ochsenfeld, C.; Wennemers, H. Why proline? Influence of ring-size on the collagen triple helix. *Org. Lett.*, **2020**, 22(2), 348–351.
- 70 Harris, T.; Chenoweth, D. M. Sterics and stereoelectronics in aza-glycine: impact of aza-glycine preorganization in triple helical collagen. *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, 141(45), 18021–18029.
- 71 Zhang, Y. T.; Malamakal, R. M.; Chenoweth, D. M. Aza-glycine induces collagen hyperstability. *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, 137(39), 12422–12425.
- 72 Zhang, Y. T.; Herling, M.; Chenoweth, D. M. General solution for stabilizing triple helical collagen. *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, 138(31), 9751–9754.
- 73 Kasznel, A. J.; Zhang, Y. T.; Hai, Y.; Chenoweth, D. M. Structural basis for aza-glycine stabilization of collagen. *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, 139(28), 9427–9430.
- 74 Hentzen, N. B.; Smeenk, L. E. J.; Witek, J.; Riniker, S.; Wennemers, H. Cross-linked collagen triple helices by oxime ligation. *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, 139(36), 12815–12820.

- 75 Hentzen, N. B.; Islami, V.; Köhler, M.; Zenobi, R.; Wennemers, H. A lateral salt bridge for the specific assembly of an ABC-type collagen heterotrimer. *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, 142(5), 2208–2212.
- 76 Egli, J.; Esposito, C.; Müri, M.; Riniker, S.; Wennemers, H. Influence of lipidation on the folding and stability of collagen triple helices: an experimental and theoretical study. *J. Am. Chem. Soc.*, **2021**, 143(15), 5937–5942.
- 77 Malcor, J. D.; Ferruz, N.; Romero-Romero, S.; Dhingra, S.; Sagar, V.; Jalan, A. A. Deciphering the folding code of collagens. *Nat. Commun.*, **2025**, 16(1), 2702.
- 78 Chen, C. C.; Hsu, W.; Hwang, K. C.; Hwu, J. R.; Lin, C. C.; Horng, J. C. Contributions of cation- π interactions to the collagen triple helix stability. *Arch. Biochem. Biophys.*, **2011**, 508(1), 46–53.
- 79 Persikov, A. V.; Xu, Y. J.; Brodsky, B. Equilibrium thermal transitions of collagen model peptides. *Protein Sci.*, **2004**, 13(4), 893–902.
- 80 Persikov, A. V.; Ramshaw, J. A. M.; Brodsky, B. Prediction of collagen stability from amino acid sequence. *J. Biol. Chem.*, **2005**, 280(19), 19343–19349.
- 81 Persikov, A. V.; Ramshaw, J. A. M.; Kirkpatrick, A.; Brodsky, B. Electrostatic interactions involving lysine make major contributions to collagen triple-helix stability. *Biochemistry*, **2005**, 44(5), 1414–1422.
- 82 Persikov, A. V.; Ramshaw, J. A.; Kirkpatrick, A.; Brodsky, B. Amino acid propensities for the collagen triple-helix. *Biochemistry*, **2000**, 39(48), 14960–14967.
- 83 Persikov, A. V.; Ramshaw, J. A. M.; Kirkpatrick, A.; Brodsky, B. Peptide investigations of pairwise interactions in the collagen triple-helix. *J. Mol. Biol.*, **2002**, 316(2), 385–394.
- 84 Chen, L. W.; Cai, S. T.; Lim, J.; Lee, S. S.; Lee, S. G. Elucidating pH-dependent collagen triple helix formation through interstrand hydroxyproline-glutamic acid interactions. *ChemBioChem*, **2015**, 16(3), 407–410.
- 85 Kramer, R. Z.; Venugopal, M. G.; Bella, J.; Mayville, P.; Brodsky, B.; Berman, H. M. Staggered molecular packing in crystals of a collagen-like peptide with a single charged pair 1. *J. Mol. Biol.*, **2000**, 301(5), 1191–1205.
- 86 Fallas, J. A.; Hartgerink, J. D. Computational design of self-assembling register-specific collagen heterotrimers. *Nat. Commun.*, **2012**, 3, 1087.
- 87 Fallas, J. A.; Lee, M. A.; Jalan, A. A.; Hartgerink, J. D. Rational design of single-composition ABC collagen heterotrimers. *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134(3), 1430–1433.
- 88 Jalan, A. A.; Demeler, B.; Hartgerink, J. D. Hydroxyproline-free single composition ABC collagen heterotrimer. *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, 135(16), 6014–6017.
- 89 O’Leary, L. E. R.; Fallas, J. A.; Hartgerink, J. D. Positive and negative design leads to compositional control in AAB collagen heterotrimers. *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133(14), 5432–5443.
- 90 Russell, L. E.; Fallas, J. A.; Hartgerink, J. D. Selective assembly of a high stability AAB collagen heterotrimer. *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, 132(10), 3242–3243.
- 91 Zheng, H. N.; Lu, C.; Lan, J.; Fan, S. L.; Nanda, V.; Xu, F. How electrostatic networks modulate specificity and stability of collagen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2018**, 115(24), 6207–6212.
- 92 Jalan, A. A.; Sammon, D.; Hartgerink, J. D.; Brear, P.; Stott, K.; Hamaia, S. W.; Hunter, E. J.; Walker, D. R.; Leitinger, B.; Farndale, R. W. Chain alignment of collagen I deciphered using computationally designed heterotrimers. *Nat. Chem. Biol.*, **2020**, 16(4), 423–429.
- 93 Zheng, H. N.; Liu, H.; Hu, J. Y.; Xu, F. Using a collagen heterotrimer to screen for cation- π interactions to stabilize triple helices. *Chem. Phys. Lett.*, **2019**, 715, 77–83.
- 94 Gauba, V.; Hartgerink, J. D. Surprisingly high stability of collagen ABC heterotrimer: evaluation of side chain charge pairs. *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129(48), 15034–15041.
- 95 O’Leary, L. E. R.; Fallas, J. A.; Bakota, E. L.; Kang, M. K.; Hartgerink, J. D. Multi-hierarchical self-assembly of a collagen mimetic peptide from triple helix to nanofibre and hydrogel. *Nat. Chem.*, **2011**, 3(10), 821–828.
- 96 Tanrikulu, I. C.; Forticaux, A.; Jin, S.; Raines, R. T. Peptide tessellation yields micrometre-scale collagen triple helices. *Nat. Chem.*, **2016**, 8(11), 1008–1014.
- 97 Walker, D. R.; Alizadehmojarad, A. A.; Kolomeisky, A. B.; Hartgerink, J. D. Charge-free, stabilizing amide- π interactions can be used to control collagen triple-helix self-assembly. *Biomacromolecules*, **2021**, 22(5), 2137–2147.
- 98 Rasines Mazo, A.; Allison-Logan, S.; Karimi, F.; Chan, N. J.; Qiu, W. L.; Duan, W.; O’Brien-Simpson, N. M.; Qiao, G. G. Ring opening polymerization of α -amino acids: advances in synthesis, architecture and applications of polypeptides and their hybrids. *Chem. Soc. Rev.*, **2020**, 49(14), 4737–4834.

- 99 Lu, H.; Wang, J.; Song, Z. Y.; Yin, L. C.; Zhang, Y. F.; Tang, H. Y.; Tu, C. L.; Lin, Y.; Cheng, J. J. Recent advances in amino acid *N*-carboxyanhydrides and synthetic polypeptides: chemistry, self-assembly and biological applications. *Chem. Commun.*, **2014**, 50(2), 139–155.
- 100 Deming, T. J. Polypeptide and polypeptide hybrid copolymer synthesis *via* NCA polymerization. in *Peptide Hybrid Polymers*. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, **2006**, 1–18.
- 101 Hadjichristidis, N.; Iatrou, H.; Pitsikalis, M.; Sakellariou, G. Synthesis of well-defined polypeptide-based materials *via* the ring-opening polymerization of α -amino acid *N*-carboxyanhydrides. *Chem. Rev.*, **2009**, 109(11), 5528–5578.
- 102 Yu, X. Y.; Wang, Y.; Dong, Y. T.; Zhao, N.; Zhang, L. F.; Xuan, S. T.; Zhang, Z. B. Efficient synthesis of *N*-methyl polypeptides by organic acid promoted controlled ring-opening polymerization of *N*-methyl- α -amino acids *N*-carboxyanhydrides. *Macromolecules*, **2023**, 56(21), 8899–8911.
- 103 Liu, X. L.; Huang, J.; Wang, J. Q.; Sheng, H. N.; Yuan, Z.; Wang, W. Y.; Li, W. B.; Song, Z. Y.; Cheng, J. J. Accelerated and controlled polymerization of *N*-carboxyanhydrides assisted by acids. *CCS Chem.*, **2025**, 7(9), 2769–2780.
- 104 漆李矜, 黄琪杨, 高晴好, 韩笛, 廖馨茹, 张先正, 程巴雪. 氨基酸基材料在基因与药物传递领域的应用. *高分子学报*, **2025**, 56(1), 1–25.
- 105 滕润鑫, 范震, 杜建忠. 肿瘤诊疗多肽/聚氨基酸自组装纳米材料. *高分子学报*, **2023**, 54(6), 853–869.
- 106 张冲, 吕华. 蛋白质-聚氨基酸偶联物的高效合成与应用. *高分子学报*, **2018**, (1), 21–31.
- 107 Berger, A.; Kurtz, J.; Katchalski, E. Poly-*L*-proline. *J. Am. Chem. Soc.*, **1954**, 76(21), 5552–5554.
- 108 Kurtz, J.; Fasman, G. D.; Berger, A.; Katchalski, E. Poly-hydroxy-*L*-proline. *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, 80(2), 393–397.
- 109 Detwiler, R. E.; Schlirf, A. E.; Kramer, J. R. Rethinking transition metal catalyzed *N*-carboxyanhydride polymerization: polymerization of pro and AcOPro *N*-carboxyanhydrides. *J. Am. Chem. Soc.*, **2021**, 143(30), 11482–11489.
- 110 Hu, Y. L.; Tian, Z. Y.; Xiong, W.; Wang, D. D.; Zhao, R. C.; Xie, Y.; Song, Y. Q.; Zhu, J.; Lu, H. Water-assisted and protein-initiated fast and controlled ring-opening polymerization of proline *N*-carboxyanhydride. *Natl. Sci. Rev.*, **2022**, 9(8), nwac033.
- 111 Zhao, R. C.; Zhang, Y. M.; Ruan, B. L.; Zhang, H. R.; Lv, N. N.; Li, J. Y.; Yang, Y. R.; Luo, X. Z.; Lu, H. Nanourchin-like uricase-poly(*L*-proline) conjugate with retained enzymatic activity, mitigated immunogenicity, and sustained efficacy upon repeated administrations. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2025**, 64(20), e202425559.
- 112 Tian, Z. Y.; Zhang, Z. C.; Wang, S.; Lu, H. A moisture-tolerant route to unprotected α/β -amino acid *N*-carboxyanhydrides and facile synthesis of hyperbranched polypeptides. *Nat. Commun.*, **2021**, 12(1), 5810.
- 113 Wang, L. T.; Wang, W. C.; Zhu, X. Y.; Tang, C. M.; Jing, X. D.; He, Y. H.; Amengual, J.; Lin, Y.; Yu, Z. X.; Lu, H. Ring-opening polymerization of unprotected hydroxyproline *N*-carboxyanhydride for the facile synthesis of linear and branched poly-*L*-hydroxyproline. *CCS Chem.*, **2025**, 7(12), 3807–3822.

Review

Collagen Mimetic Peptide: From Structural Design to Property Modulation

Le-tian Wang¹, Chen-ming Tang¹, Shao-kui Li², Hua Lu^{1*}

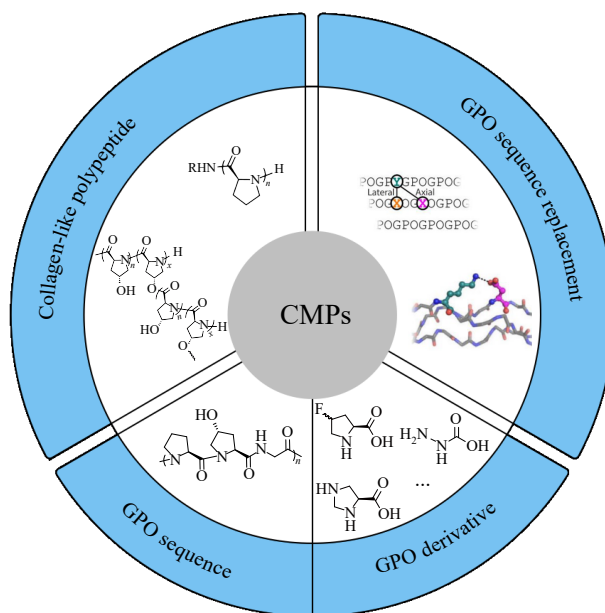
⁽¹⁾Beijing National Laboratory for Molecular Sciences, Key Laboratory of Polymer Chemistry and Physics of Ministry of Education, College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871)

⁽²⁾Beijing Ruiyan Biotechnology Co., Ltd., Beijing 102629)

Abstract Collagen, a vital functional protein in mammals, possesses a unique triple helical structure. Collagen mimetic peptides (CMPs) can mimic the structure and function of natural collagen, offering advantages such as well-defined structures and ease of modification. They can be synthesized *via* solid-phase peptide synthesis or genetic engineering. This review summarizes the recent advances in CMP research, focusing on structural design, property modulation, and potential applications. It provides an in-depth analysis of how sequence structures influence the stability of CMPs and introduces design strategies based on GPO sequence derivatization and partial amino acid substitutions. Finally, the review presents the development of collagen-like poly(amino acids),

* Corresponding author: Hua Lu, E-mail: chemhualu@pku.edu.cn

proposing (co)polymerization approaches as a solution to the challenges of industrial-scale production of CMPs.



Keywords Collagen; Triple helix; Collagen mimetic peptides; GPO sequence; Poly(amino acid)