

手性二苯丙氨酸组装体的纳米结构研究

石嘉丽^{1,2} 侯养谦² 朱中杰³ 武玉² 赵红卫³ 张益^{2,3}

1(上海理工大学 上海 200093)

2(中国科学院上海应用物理研究所 上海 201800)

3(中国科学院上海高等研究院 上海 201210)

摘要 手性作为多肽分子的基本属性,已被证明可以用于调控多肽超分子体系的结构和性能,但目前关于手性对分子到超分子层次的作用机制的影响仍知之甚少。本文以 β -淀粉样蛋白(Amyloid- β protein, A β)的核心识别序列二苯丙氨酸(Diphenylalanine, $_L$ -Phe- $_L$ -Phe)为研究对象,探索了 $_L$ -Phe- $_L$ -Phe(FF)与对映体 $_D$ -Phe- $_D$ -Phe(ff)的自组装体和共组装体的纳米结构变化,并对其分子间相互作用方式进行了分析。结果表明:FF和ff自组装形成了相似的纳米纤维结构,其手性主要影响肽分子间以及肽分子与水分子间的相互作用;相比于自组装,在FF和ff的共组装体中,X射线衍射(X-ray Diffraction, XRD)分析证实了新的晶相形成。上述研究对理解淀粉样纤维的形成机制和多肽超分子材料的设计有很好的借鉴意义。

关键词 二苯丙氨酸, 自组装, 共组装, X射线衍射, 纳米结构

中图分类号 TL99

DOI: 10.11889/j.0253-3219.2023.hjs.46.110504

Nanostructures of self-assembled and co-assembled chiral diphenylalanine

SHI Jiali^{1,2} HOU Yangqian² ZHU Zhongjie³ WU Yu² ZHAO Hongwei³ ZHANG Yi^{2,3}

1(University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

2(Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China)

3(Shanghai Advanced Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201210, China)

Abstract [Background] As a fundamental property of peptide molecules, chirality has been demonstrated to play an important role in controlling the structures and characteristics of peptide supramolecular systems. However, the mechanism through which chirality takes effect has not been clarified. [Purpose] This study aims to examine the self- and co-assembled nanostructures and analyze the intermolecular interactions that drive the assembly by employing diphenylalanine (FF), along with the core recognition sequence of Amyloid- β protein (A β) and its enantiomer $_D$ -Phe- $_D$ -Phe (ff), in a model system. [Methods] A series of structural and morphological analyses were conducted in the experiments. First, the scanning electron microscopy (SEM) and atomic force microscopy (AFM) images of the assembled nanostructures were obtained to observe the microscopic morphology and topological structure of the assembled FF and ff. Subsequently, circular dichroism (CD) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) were employed to characterize the secondary structures of peptides in the nanostructures. Finally, fluorescence emission spectrum and X-ray diffraction (XRD) analyses revealed the intermolecular interactions between peptide and solvent

国家自然科学基金(No.11975297, No.62075225)资助

第一作者: 石嘉丽, 女, 1997年出生, 2020年毕业于浙江工业大学, 现为硕士研究生, 研究领域为纳米生物材料

通信作者: 张益, E-mail: zhangyi@sinap.ac.cn

收稿日期: 2023-08-30, 修回日期: 2023-09-19

Supported by National Natural Science Foundation of China (No.11975297, No.62075225)

First author: SHI Jiali, female, born in 1997, graduated from Zhejiang University of Technology in 2020, master student, focusing on nanobiomaterials

Corresponding author: ZHANG Yi, E-mail: zhangyi@sinap.ac.cn

Received date: 2023-08-30, revised date: 2023-09-19

molecules. **[Results]** The findings demonstrate that FF and ff self-assemble into similar fibrous nanostructures, and their chirality primarily affects the interactions between peptide molecules, as well as those between peptide and water molecules. Furthermore, the formation of new crystalline phases for the co-assembly of FF and ff was confirmed by XRD. **[Conclusions]** Our results may facilitate the understanding of the formation mechanism of amyloid fibers and design of peptide supramolecular materials.

Key words Diphenylalanine, Self-assembly, Co-assembly, XRD, Nanostructures

多肽具有易合成、易修饰以及生物相容性好等优势,已成为超分子材料的重要构建单元,在药物递送、生物催化和光电器件等领域具有广阔的应用前景^[1-3]。在多肽序列中,由于氨基酸侧链的立体阻碍,手性会影响多肽的分子构象,进而引起其自组装的超分子体系的纳米结构、尺寸和功能等发生不同程度的变化^[4-7]。近年来,多肽和其对映体肽的共组装也成为调控超分子结构和性能的重要策略^[8-10]。

β -淀粉样蛋白(Amyloid- β protein, A β)聚集成的寡聚体会破坏神经突触功能,被认为是神经退行性疾病阿尔茨海默症(Alzheimer's Disease, AD)的标志物^[11]。已有研究者利用多肽与A β 的共组装,设计了多种基于D型氨基酸的淀粉样蛋白抑制剂,可以抑制A β 寡聚体的形成^[12-15]。二苯丙氨酸作为A β 的最短的核心识别序列,可自组装形成与A β 相似的淀粉样纤维结构,其分子内及分子间相互作用研究对揭示A β 聚集机制、结构和毒性间的关系具有重要意义^[16-17]。

本文研究了手性异构体二苯丙氨酸 $_L$ -Phe- $_L$ -Phe(FF)和 $_D$ -Phe- $_D$ -Phe(ff)的自组装和共组装行为。采用多种光谱^[18]、X射线衍射(X-ray Diffraction, XRD)、扫描电镜(Scanning Electron Microscopy, SEM)、原子力显微镜(Atomic Force Microscopy, AFM)等表征方法,探讨分子间相互作用,旨在揭示短肽分子手性对自组装纳米结构的影响。此外,通过将FF和ff以不同的比例进行共组装,实现了对共组装体微观结构的调控,并观察到与单一组分自组装体不同的全新晶相形成。

1 实验材料与方法

1.1 材料

$_L$ -Phe- $_L$ -Phe(FF)、 $_D$ -Phe- $_D$ -Phe(ff)(纯度>98%)购买自上海强耀生物科技有限公司;二甲亚砜(DMSO)购买自Sigma-Aldrich公司;溶液配制使用超纯水(18.2 M Ω ·cm)。

1.2 多肽溶液的配制及组装

将FF和ff粉末分别溶解在DMSO溶液中,得到浓度为200 mg·mL⁻¹的储备溶液;在一定量的储备溶

液中加入超纯水,获得终浓度为2 mg·mL⁻¹的多肽溶液^[19]。放置在37 °C、300 r·min⁻¹环境下孵育3 d。

1.3 组装体的成像

扫描电镜(Scanning Electron Microscope, SEM):取10 μ L上述孵育后的多肽溶液滴在洁净的硅片表面,并冷冻干燥。测试前利用离子溅射镀膜仪对样品进行喷金处理,使用LEO 1530VP(Zeiss)扫描电子显微镜观察组装体的微观形貌。

原子力显微镜(Atomic Force Microscope, AFM):取10 μ L上述孵育后的多肽溶液滴加在洁净的新鲜剥离的云母表面,静置吸附3 min后去除多余溶液,自然晾干。通过Multimode 8(Bruker)扫描探针显微镜观察组装体的微观拓扑结构。使用名义悬臂弹性系数为7 N·m⁻¹的XSC-11(MIKROMASCH)探针,选择PeakForce QNM in Air扫描模式进行成像。

1.4 光谱表征

圆二色光谱(Circular Dichroism, CD):使用Chirascan(Applied Photophysics)圆二色光谱仪对多肽组装体的二级结构进行测量。多肽溶液用超纯水稀释至0.5 mg·mL⁻¹,选择比色皿光程为1 mm,收集扫描波长范围为200~260 nm的数据,带宽为1.0 nm,采集数据点间隔为1.0 nm,以超纯水的光谱作为基线。使用CDNN 2.1程序分析组装体中多肽的二级结构含量。

傅里叶变换红外光谱(Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR):将多肽溶液通过冷冻干燥技术获得固体粉末,与干燥的KBr粉末一起研磨、混合均匀并压片。使用傅里叶变换红外光谱仪TENSOR 27(Bruker)测试多肽的红外光谱,收集波数范围为1 800~1 200 cm⁻¹的数据,采集数据点间隔为4 cm⁻¹,扫描次数为64次,以KBr作背景。

荧光发射光谱(Fluorescence Emission Spectrum):取200 μ L、2 mg·mL⁻¹多肽储备溶液或孵育后的多肽溶液加入比色皿中。使用FS 5(Edinburgh Instruments)荧光光谱仪进行PL光谱扫描,设置激发波长为259 nm,收集波长范围为270~

320 nm的数据,采集数据点间隔为1 nm,扫描次数为3次。

1.5 X射线粉末衍射(Particle X-ray Diffraction, PXRD)分析

将多肽溶液冷冻干燥获得固体粉末,研磨均匀。使用D8 Advance(Bruker)X射线衍射仪测量多肽自组装体的X射线粉末衍射谱,采用Cu K α 射线, $\lambda=0.154\ 05\ \text{nm}$,收集扫描 2θ 范围为 $5^\circ\sim 14^\circ$ 的数据,采集数据点间隔为 0.02° 。

2 结果与讨论

2.1 手性二苯丙氨酸的自组装

如SEM图像(图1(a,b))所示,FF和ff分别自组装形成的纳米纤维是多尺寸的,其中较大的纤维由较小的纤维相互缠绕而成。使用AFM对溶液体系中最小尺寸的纳米纤维进行了观察,从不同图像中随机选择一定数量的纳米纤维进行测量,发现两者的高度与半高宽存在差异(图1(c,d))。其中,FF自组装纳米纤维的高度为 $(5.2\pm 0.8)\ \text{nm}$,半高宽为 $(31.2\pm 12.3)\ \text{nm}$;而ff自组装纳米纤维的高度为 $(11.1\pm 1.0)\ \text{nm}$,半高宽为 $(102.3\pm 18.0)\ \text{nm}$ 。

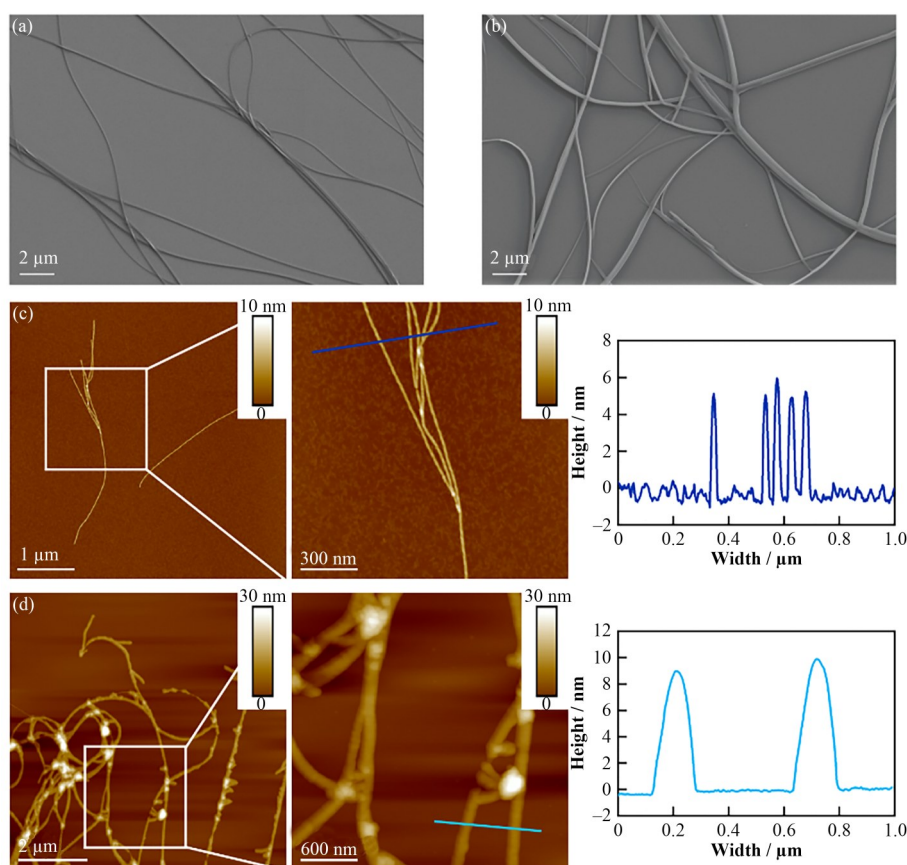


图1 FF和ff自组装微观结构
(a, b) FF (a)及ff (b)的自组装微观结构的SEM图像,(c, d) FF (c)及ff (d)自组装纳米纤维的AFM图像(左)和AFM图像中线条所示位置的线性剖面图(右)

Fig.1 Nanostructures of self-assembled FF and ff

(a, b) SEM images of self-assembled nanostructures of FF (a) and ff (b), (c, d) AFM images (left) of self-assembled nanofibers of FF (c) and ff (d), and linear profiles (right) of the lines shown in AFM images

为了探讨造成FF和ff自组装体微观形貌差异的原因,我们利用光谱学和XRD技术进行了深入分析。图2(a)表示的是FF与ff的CD谱,使用CDNN 2.1程序对CD谱进行分析,结果表明,两者主要的二级结构为 β -折叠和 β -转角,但占比略有区别(图2(b))。FTIR谱(图2(c))中FF和ff在 $1\ 665\ \text{cm}^{-1}$ 和

$1\ 694\ \text{cm}^{-1}$ 的特征峰进一步证实了两者的二级结构以 β -折叠和 β -转角为主^[20-21]。我们推测FF和ff自组装纳米纤维上的差异与多肽二级结构相对含量的差异相关,分子手性影响二苯丙氨酸侧链苯环的空间取向,使其以更稳定地排列形成超分子结构。如荧光发射光谱所示,当激发波长为259 nm时,自组装

后的FF和ff在281 nm处有一个发射峰(图2(d)),而且两者发射谱几乎重合。与DMSO中游离的FF相比,发射峰无明显移动但峰型略有变化。我们知道,溶解在DMSO中FF和ff的芳香残基间存在 π - π 堆积作用但无疏水相互作用,没有形成纳米结构,而水中的FF和ff间除了芳香残基间 π - π 堆积作用外还存在疏水相互作用;因此,FF和ff的自组装应该主要是由疏水相互作用驱动的。同时,XRD图谱表明FF和ff在水中自组装后衍射峰位置与自组装前完全不同(比较图2(e)和(f)),说明多肽分子与溶剂分子间的相互作用导致了多肽分子规则的排列,形成了高度有序的自组装微观结构,导致晶型变化。我

们发现,FF和ff衍射峰的峰型基本相同,且与FF单晶结构模拟的衍射图有相似的峰位置^[22],说明FF和ff在各自组装体中分子排列方式较为相似。其中,在 $2\theta=8.4^\circ$ 处的衍射峰强度较弱,可能与本实验条件下形成纳米纤维,而不是之前研究者报道的纳米管等微观结构相关^[23]。此外,XRD图谱中FF自组装体的衍射峰位置相比ff略向低角度偏移,推测它们的晶格参数略有不同。上述结果表明,分子手性引起的二苯丙氨酸侧链苯环的空间取向会影响自组装纳米结构的分子间距离,故形成不同尺寸的纳米纤维。

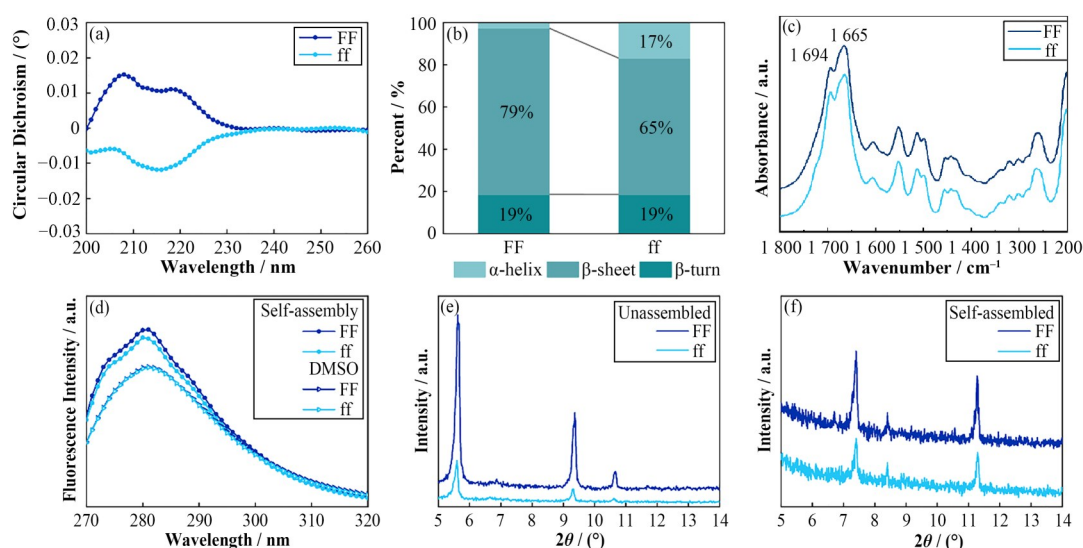


图2 FF和ff自组装体的CD谱(a)、二级结构含量分布(b)、FTIR谱(c)、荧光发射光谱($\lambda_{\text{excitation}}=259$ nm)(d)、未组装肽的XRD图谱(e)和自组装肽的XRD图谱(f)(彩图见网络版)

Fig.2 CD spectra (a), ratios of secondary structures (b), FTIR spectra (c), fluorescence emission spectra ($\lambda_{\text{excitation}}=259$ nm) (d), XRD patterns of unassembled peptide powders (e), and XRD patterns (f) of self-assembled FF and ff peptides (color online)

2.2 不同手性二苯丙氨酸的共组装

我们将不同比例的FF和ff(FF:ff=3:1、1:1、1:3)混合,在与之前相同的实验条件下进行多肽共组装,观察共组装体的微观形貌。如SEM图像(图3)所示,3:1和1:3比例的FF和ff共组装体系形成了大量的纳米纤维结构;两种比例的多肽共组装而成的纳米纤维之间的缠绕相比自组装体系更为紧密。AFM图像(图3)也证实3:1和1:3比例的FF和ff共组装形成了大量纤维束,其纳米纤维束的高度大多在数十纳米的范围内。而FF和ff以1:1比例共组装的SEM和AFM图像则显示其形成了排列较为均匀的束状微观结构,分支由纳米纤维组成^[24]。形态迥异的组装体结构表明不同比例FF和ff的共组装策略提供了淀粉样纤维聚集体研究新的思路。

CD谱(图4(a、b))表明,FF和ff混合体系中也

形成了以 β -折叠和 β -转角为主的二级结构。相比于1:1比例的FF和ff,3:1和1:3非等比共组装体系中多肽的 β -折叠和 β -转角二级结构含量更高,这可能是造成不同比例共组装超分子体系微观结构存在差异的原因。红外光谱(图4(c))在 1603 cm^{-1} 、 1665 cm^{-1} 、 1694 cm^{-1} 的特征峰也表明了混合体系中多肽的二级结构主要为 β -折叠和 β -转角,与CD光谱中反映的二级结构相一致。

我们也利用荧光发射光谱和XRD技术对FF和ff共组装体系进行了探讨。荧光发射光谱(图4(d))表明,当激发波长为259 nm时,不同比例FF和ff在水中组成的共组装体系均在281 nm处显示出一个发射峰,与DMSO中FF和ff混合溶液的荧光发射光谱相比,没有明显的峰值移动,峰型稍有变化。这个结果与FF或ff自组装的荧光发射光谱相一致,说明FF和ff发生共组装的驱动力与自组装相似,以疏水

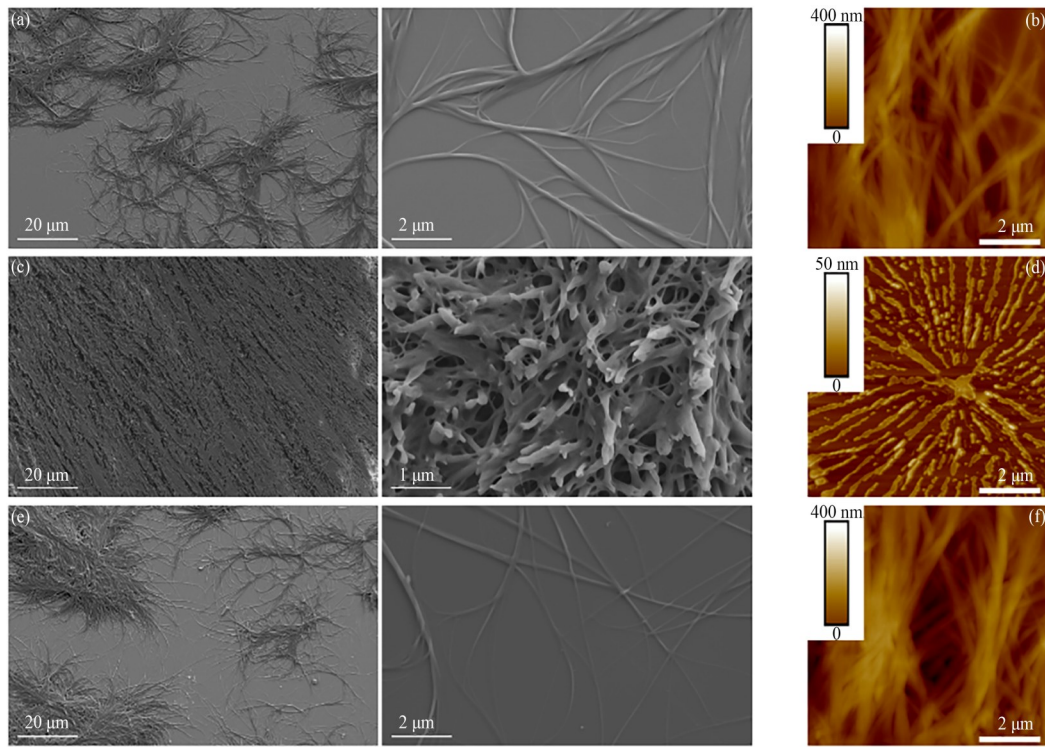


图3 不同比例FF和ff共组装结构的微观结构
FF和ff共组装体系的SEM图像(a, c, e)和AFM图像(b, d, f), FF和ff的混合比例分别为3:1 (a, b)、1:1 (c, d)、1:3 (e, f)
SEM images (a, c, e) and AFM images (b, d, f) of co-assemblies formed by FF and ff at ratios of 3:1 (a, b), 1:1 (c, d), 1:3 (e, f)

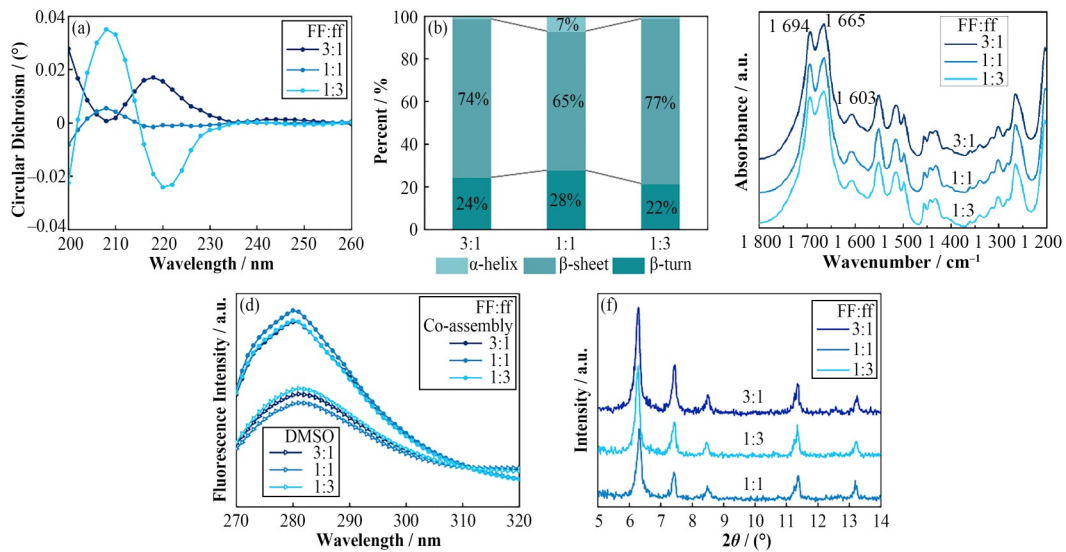


图4 不同比例FF和ff的共组装体系的谱学分析
(a) CD谱, (b) 二级结构含量分析, (c) FTIR谱, (d) 荧光发射光谱($\lambda_{\text{excitation}} = 259 \text{ nm}$), (e) 共组装体系的XRD图谱
Fig.4 Spectroscopic analysis of co-assembled FF and ff with various ratios
(a) CD spectra, (b) Ratios of secondary structures, (c) FTIR spectra, (d) Fluorescence emission spectra ($\lambda_{\text{excitation}} = 259 \text{ nm}$),
(e) XRD patterns of co-assembled FF and ff

相互作用为主。不同比例FF和ff的共组装体系的XRD图谱(图4(e))与FF或ff自组装体系的衍射图谱类似(图2(f));但是,FF和ff的共组装体系在更小的角度($2\theta=6.29^\circ$)出现了一个新的衍射峰,说明

共组装形成了新的晶相。FF和ff以1:1共组装体系中新的衍射峰位置相比非等比例共组装体系中新的衍射峰位置角度略高,推测两者的晶格参数略有不同。这个不同可能最终反映在共组装体系的微观结

构上的差异(图3)。

3 结语

本文利用多种实验技术研究了手性多肽FF和 β 的自组装和共组装行为,对多肽的二级结构、组装体系的微观结构、分子间相互作用进行了表征与分析。结果表明,FF和 β 氨基酸侧链上苯环的空间取向的不同在一定程度上影响了肽分子间、肽分子与水分子间的相互作用,进而造成了自组装体及共组装体的微观结构上的差异。XRD结果显示,不同比例的FF和 β 混合体系出现新的衍射峰,表明多肽共组装行为会形成新的晶相。我们的研究揭示了多肽的手性和共组装策略对组装体纳米结构和分子间相互作用方式的影响,为调控多肽超分子微观结构提供了新的参考。一方面有望促进淀粉样纤维的形成和抑制机制的理解,另一方面可以用于设计结构、功能多样化的多肽超分子纳米材料,为未来其更广泛应用提供了新的思路。

致谢 感谢上海同步辐射光源BL06B、BL17B线站工作人员在实验方面的帮助和讨论。

作者贡献声明 石嘉丽完成实验和撰写文稿;侯养谦协助指导实验;侯养谦、朱中杰、武玉、赵红卫指导数据分析和协助文稿修改;张益构思文稿思路并指导文稿修改。

参考文献

- 1 Yu S J, Wang C, Yu J C, *et al.* Injectable bioresponsive gel depot for enhanced immune checkpoint blockade[J]. *Advanced Materials*, 2018, **30**(28): e1801527. DOI: [10.1002/adma.201801527](https://doi.org/10.1002/adma.201801527).
- 2 Lee K S, Parquette J R. A self-assembled nanotube for the direct aldol reaction in water[J]. *Chemical Communications*, 2015, **51**(86): 15653 - 15656. DOI: [10.1039/C5CC06142C](https://doi.org/10.1039/C5CC06142C).
- 3 Tao K, Makam P, Aizen R, *et al.* Self-assembling peptide semiconductors[J]. *Science*, 2017, **358**(6365): eaam9756. DOI: [10.1126/science.aam9756](https://doi.org/10.1126/science.aam9756).
- 4 Zheng Y F, Yu L L, Zou Y M, *et al.* Steric dependence of chirality effect in surface-mediated peptide assemblies identified with scanning tunneling microscopy[J]. *Nano Letters*, 2019, **19**(8): 5403 - 5409. DOI: [10.1021/acs.nanolett.9b01904](https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.9b01904).
- 5 Ozawa Y, Sato H, Kayano Y, *et al.* Self-assembly of tripeptides into γ -turn nanostructures[J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2019, **21**(21): 10879 - 10883. DOI: [10.1039/c9cp00233b](https://doi.org/10.1039/c9cp00233b).
- 6 Wang M, Zhou P, Wang J Q, *et al.* Left or right: how does amino acid chirality affect the handedness of nanostructures self-assembled from short amphiphilic peptides? [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2017, **139**(11): 4185 - 4194. DOI: [10.1021/jacs.7b00847](https://doi.org/10.1021/jacs.7b00847).
- 7 Marchesan S, Easton C D, Kushkaki F, *et al.* Tripeptide self-assembled hydrogels: unexpected twists of chirality [J]. *Chemical Communications*, 2012, **48**(16): 2195 - 2197. DOI: [10.1039/C2CC16609G](https://doi.org/10.1039/C2CC16609G).
- 8 Swanekamp R J, DiMaio J T M, Bowerman C J, *et al.* Coassembly of enantiomeric amphipathic peptides into amyloid-inspired rippled β -sheet fibrils[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, **134**(12): 5556 - 5559. DOI: [10.1021/ja301642c](https://doi.org/10.1021/ja301642c).
- 9 Nagy K J, Giano M C, Jin A, *et al.* Enhanced mechanical rigidity of hydrogels formed from enantiomeric peptide assemblies[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, **133**(38): 14975 - 14977. DOI: [10.1021/ja206742m](https://doi.org/10.1021/ja206742m).
- 10 Bera S, Xue B, Rehak P, *et al.* Self-assembly of aromatic amino acid enantiomers into supramolecular materials of high rigidity[J]. *ACS Nano*, 2020, **14**(2): 1694 - 1706. DOI: [10.1021/acsnano.9b07307](https://doi.org/10.1021/acsnano.9b07307).
- 11 Pinheiro L, Faustino C. Therapeutic strategies targeting amyloid- β in Alzheimer's disease[J]. *Current Alzheimer Research*, 2019, **16**(5): 418 - 452. DOI: [10.2174/1567205016666190321163438](https://doi.org/10.2174/1567205016666190321163438).
- 12 Sievers S A, Karanicolas J, Chang H W, *et al.* Structure-based design of non-natural amino-acid inhibitors of amyloid fibril formation[J]. *Nature*, 2011, **475**(7354): 96 - 100. DOI: [10.1038/nature10154](https://doi.org/10.1038/nature10154).
- 13 Kumar J, Sim V. D-amino acid-based peptide inhibitors as early or preventative therapy in Alzheimer disease[J]. *Prion*, 2014, **8**(1): 119 - 124. DOI: [10.4161/pri.28220](https://doi.org/10.4161/pri.28220).
- 14 Raskatov J A, Foley A R, Louis J M, *et al.* Constraints on the structure of fibrils formed by a racemic mixture of amyloid- β peptides from solid-state NMR, electron microscopy, and theory[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2021, **143**(33): 13299 - 13313. DOI: [10.1021/jacs.1c06339](https://doi.org/10.1021/jacs.1c06339).
- 15 Wiesehan K, Stöhr J, Nagel-Steger L, *et al.* Inhibition of cytotoxicity and amyloid fibril formation by a d-amino acid peptide that specifically binds to Alzheimer's disease amyloid peptide[J]. *Protein Engineering, Design and Selection*, 2008, **21**(4): 241 - 246. DOI: [10.1093/protein/gzm054](https://doi.org/10.1093/protein/gzm054).

- 16 Bao Y X, Yuan M, Du Q, *et al.* *In situ* AFM investigation of dual-mode self-assembling peptide[J]. Nuclear Science and Techniques, 2019, **30**(8): 117. DOI: [10.1007/s41365-019-0645-8](https://doi.org/10.1007/s41365-019-0645-8).
- 17 Kour A, Dube T, Kumar A, *et al.* Anti-amyloidogenic and fibril-disaggregating potency of the levodopa-functionalized gold nanoroses as exemplified in a diphenylalanine-based amyloid model[J]. Bioconjugate Chemistry, 2022, **33**(2): 397 - 410. DOI: [10.1021/acs.bioconjchem.2c00007](https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.2c00007).
- 18 鄢朋, 霍庚阳, 储新星, 等. 氧化石墨烯纳米片对淀粉样蛋白纤维的影响[J]. 核技术, 2019, **42**(9): 090501. DOI: [10.11889/j.0253-3219.2019.hjs.42.090501](https://doi.org/10.11889/j.0253-3219.2019.hjs.42.090501).
YAN Peng, HUO Gengyang, CHU Xinxing, *et al.* The effect of graphene oxide nanosheets on the dissociation of amyloid fibers[J]. Nuclear Techniques, 2019, **42**(9): 090501. DOI: [10.11889/j.0253-3219.2019.hjs.42.090501](https://doi.org/10.11889/j.0253-3219.2019.hjs.42.090501).
- 19 Zhao C C, Wang Y Y, Shi B F, *et al.* Domination of H-bond interactions in the solvent-triggering gelation process [J]. Langmuir, 2022, **38**(26): 7965 - 7975. DOI: [10.1021/acs.langmuir.2c00677](https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.2c00677).
- 20 Brauner J W, Flach C R, Mendelsohn R. A quantitative reconstruction of the amide I contour in the IR spectra of globular proteins: from structure to spectrum[J]. Journal of the American Chemical Society, 2005, **127**(1): 100 - 109. DOI: [10.1021/ja0400685](https://doi.org/10.1021/ja0400685).
- 21 鲁瑶, 彭蔚蔚, 吉特, 等. 基于红外纳米谱学技术的人类头发黑素体研究[J]. 核技术, 2022, **45**(4): 040101. DOI: [10.11889/j.0253-3219.2022.hjs.45.040101](https://doi.org/10.11889/j.0253-3219.2022.hjs.45.040101).
LU Yao, PENG Weiwei, JI Te, *et al.* Apply infrared nanospectroscopy to the study of human hair melanosomes[J]. Nuclear Techniques, 2022, **45**(4): 040101. DOI: [10.11889/j.0253-3219.2022.hjs.45.040101](https://doi.org/10.11889/j.0253-3219.2022.hjs.45.040101).
- 22 Görbitz C H. The structure of nanotubes formed by diphenylalanine, the core recognition motif of Alzheimer's β -amyloid polypeptide[J]. Chemical Communications, 2006(22): 2332 - 2334. DOI: [10.1039/B603080G](https://doi.org/10.1039/B603080G).
- 23 Li Q, Jia Y, Dai L R, *et al.* Controlled rod nanostructured assembly of diphenylalanine and their optical waveguide properties[J]. ACS Nano, 2015, **9**(3): 2689 - 2695. DOI: [10.1021/acs.nano.5b00623](https://doi.org/10.1021/acs.nano.5b00623).
- 24 Vasudev M C, Koerner H, Singh K M, *et al.* Vertically aligned peptide nanostructures using plasma-enhanced chemical vapor deposition[J]. Biomacromolecules, 2014, **15**(2): 533 - 540. DOI: [10.1021/bm401491k](https://doi.org/10.1021/bm401491k).