

Kendiliğinden Montajlı Peptidler ve Kullanım Alanları

Şeyma Aydın¹ , Zülal Kesmen^{1*} 

ÖZET

Moleküler kendiliğinden montaj, moleküllerin kovalent olmayan etkileşimler yoluyla bir araya gelerek supramoleküler yapılar oluşturduğu doğal bir mekanizmadır. Doğada mevcut olan nano ve mikro yapıdaki kendiliğinden montaj mekanizmalarının taklit edilmesiyle, istenilen özellikte çeşitli materyallerin tasarlanması mümkündür. Bu nanoyapılar, karbonhidrat, nükleik asitler ve peptidler gibi yapı taşlarının kendiliğinden montajıyla oluşmakla birlikte bunlar arasında kendiliğinden montajlı peptidler biyouyumluluk, biyobozunurluk ve kimyasal çeşitlilik yönünden en umut verici olanıdır. Peptidlerin kendiliğinden montaj özelliklerinden yararlanılarak, nanotüpler, nano lifler, nano küreler, nano kapsüller ve hidrojeller gibi çok sayıda nanoyapı elde edilmiştir. Kendiliğinden montajlı peptid nanoyapılarının işlevi, uygun peptid bloklarının tasarımı ile ayarlanırken stabilite ve aktivitesi sıcaklık, pH, ışık ve elektriksel kuvvet gibi dış uyarıcılar kullanılarak değiştirilebilmektedir. Bugüne kadar peptidlerin kendiliğinden montaj mekanizması kullanılarak çok sayıda işlevsel materyal tasarlanmış ve bu materyaller birçok alanda uygulama imkanı bulmuştur. Bunlar arasında en çok öne çıkanlar, ilaç salınımı ve doku mühendisliği uygulamalarıdır. Bu derlemede, kendiliğinden montajlı peptid yapı blokları, kendiliğinden montaj mekanizması ve kendiliğinden montajlı peptid nanoyapıların uygulama alanları üzerinde durulmuştur.

MAKALE GEÇMİŞİ

Geliş

3 Şubat 2020

Kabul

23 Mayıs 2020

ANAHTAR KELİMELELER

Kendiliğinden montajlı peptidler, ilaç salınımı, doku mühendisliği, enkapsülasyon, antimikrobiyal uygulamalar

Self-Assembled Peptides and Their Applications

ABSTRACT

Molecular self-assembly is a natural mechanism by which molecules come together through non-covalent interactions to form supramolecular structures. It is possible to design various materials with the desired properties by mimicking the self-assembling mechanisms in the nano and micro structures present in nature. Although these nanostructures are formed by self-assembly of building blocks such as carbohydrates, nucleic acids and peptides, self-assembled peptides are the most promising in terms of biocompatibility, biodegradability and chemical diversity. By utilizing the self-assembly properties of peptides, many nanostructures such as nanotubes, nanofibers, nanospheres, nanocapsules and hydrogels have been produced. The function of the self-assembled peptide nanostructures can be adjusted by the design of suitable peptide blocks, while the stability and activity can be altered using external stimulants such as temperature, pH, light and electrical force. To date, a large number of functional materials have been designed using the self-assembly mechanism for peptides and they have been applied in many areas. The most prominent of these are drug release and tissue engineering applications. In this review, self-assembled peptide building blocks, the self-assembly mechanism and the application areas of self-assembled peptide nanostructures have been discussed.

ARTICLE HISTORY

Received

3 February 2020

Accepted

23 May 2020

KEY WORDS

Self-assembled peptides, drug release, tissue engineering, encapsulation, antimicrobial applications

¹ Erciyes University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Kayseri/ Turkey

*Corresponding Author: Zülal Kesmen, e-mail: zkesmen@erciyes.edu.tr

Giriş

Doğada bulunan bazı yapıların (hücre zarlarının, hücre iskelet yapılarının ve hücre dışı matriksin) oluşumunda kendiliğinden montaj mekanizması önemli bir rol oynamaktadır. Son zamanlarda doğadaki bu üretim mekanizmasını taklit eden çeşitli malzemelerin tasarımı üzerine yoğun çalışmalar yapılmış ve biyolojik sistemleri taklit eden kendiliğinden montajlı yapay sistemler geliştirilmiştir.

Moleküler kendiliğinden montaj, termodinamik denge koşulları altında bir dizi kovalent olmayan etkileşimler (H-bağı, hidrofobik, elektrostatik, vander Waals etkileşimleri, π - π istifleme etkileşimi gibi) sonucunda moleküllerin kendiliğinden bir araya gelerek düzenli ve oldukça kararlı yapılar oluşturmasıdır. Kendiliğinden montaj, aşağıdan yukarıya doğru (bottom up) gerçekleşen bir moleküler organizasyondur ve nano malzeme üretiminde önemli bir yöntemdir [1, 2, 3]. Peptidler, yağ asitleri ve nükleik asitler, kendiliğinden birleşebilen biyolojik moleküllerdir. Bu moleküller içerisinde, sekansa özgü modifikasyonlara izin veren, yapısına antikorlar, enzimler, manyetik parçacıklar veya flüoresan bileşikler eklenerek ilave işlevsellik kazandırılabilen ve özellikleri, ortam koşulları (örneğin, pH, iyonik kuvvet, ışık ve sıcaklık) modifiye edilerek değiştirilebilen peptidler, en dikkat çekici yapı bloklarıdır [2]. Amino asitlerin sayısı, türü ve dizisi değiştirilerek istenilen yapı ve fonksiyonlara sahip kendiliğinden montajlı peptidler (KMP)'i tasarlamak mümkündür. Peptidlerin kendiliğinden montajı, amino asit kalıntılarının belirli bir düzene göre gerçekleşen etkileşimleri ile ilgilidir. Bu nedenle amino asit dizisini dikkatlice seçip düzenleyerek istediğimiz ikincil yapıdaki bir peptid ve bunların kendiliğinden montajı ile yüksek stabilite ve fonksiyonelliğe sahip çeşitli nanoyapılar oluşturulabilir. Halkasal peptidler, amfifilik peptidler, kopolipeptidler, yüzey aktif madde benzeri oligopeptidler ve aromatik dipeptidler gibi bir çok peptid yapı bloğu, nanoveziküller, nanotüpler ve nanomiseller gibi supramoleküler yapıların üretilmesi ve bunların potansiyel uygulamalarının araştırılması için tasarlanmıştır [4]. KMP'lerin uygulama alanları incelendiğinde, bu yapıların ilaç salınımı, doku mühendisliği, antibakteriyel etkinlik, biyosensör vb. gibi uygulamalarda önemli bir role sahip olduğu görülmüştür.

Kendiliğinden Montajlı Peptidler

Bugüne kadar yapı blokları ve montaj mekanizmalarına göre farklı KMP sınıfları tanımlanmıştır. Bunlar içerisinde en fazla araştırılan KMP sınıfları aşağıda açıklanmıştır.

Amfifilik peptidler

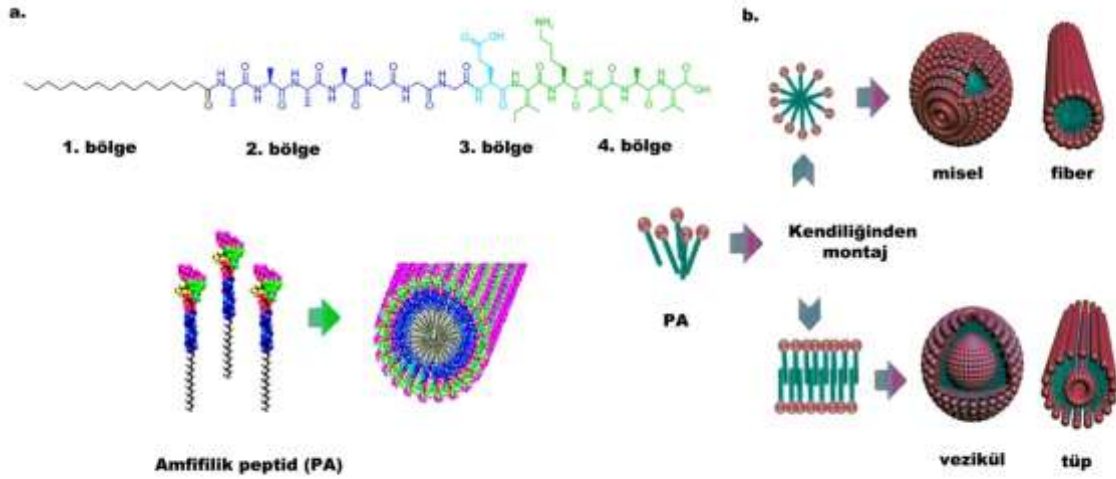
Amfifilik peptidler içerisinde, lineer peptidler, iyonik tamamlayıcı peptidler, uzun zincirli alkilenmiş peptidler, peptid fosfolipitler ve peptid bazlı kopolimerler yer alır [5]. Bu peptidler, hem kimyasal özellikleri (peptid dizisi, yük, konsantrasyon vb.) ve hem de fiziksel özelliklerine (boyut, şekil vb.) bağlı olarak kendiliğinden bir araya gelebilirler [6,7]. Amfifilik peptidler, genellikle hidrofilik peptid baş grupları ile çeşitli ikincil ve üçüncül konformasyonlar oluşturan hidrofobik kuyruklar içerir [8, 9].

Hidrofobik kuyruklu ve hidrofilik başlıklı doğrusal peptidler, kendiliğinden bir araya gelerek farklı nanoyapılar oluştururlar. Hidrofobik kuyruk içinde glisin (G), alanin (A), valin (V), lösin (L), izolösin (I) ve fenilalanin (F) gibi amino asitler, hidrofilik alanlarda ise aspartat (D), lizin (K), glutamat (E), arjinin (R) ve histidin (H) gibi amino asit kalıntıları bulunur [10]. Örneğin, A₆D, V₆D, G₄DD, G₆DD, G₈DD, A₆K ve KA₆ dizilerine sahip yüzey aktif özellik gösteren lipid benzeri peptidler kritik toplanma konsantrasyonuna (CAC) ulaşıldığında (örneğin, A₆D için CAC, 1.6 mM; A₆K için ise 1.5 mM) kendiliğinden montajlı nanoyapılar oluştururlar [11, 12, 13].

Tipik bir peptid amfifil (PA) molekülünün dört temel bölgeden oluşan kimyasal yapısı, sırasıyla; hidrofobik interaksiyonlar oluşturmak için tasarlanmış uzun bir alkil zincirinden oluşan bir hidrofobik kuyruk (1. bölge), moleküller arası hidrojen bağlarının oluşumunu sağlayan kısa bir peptid sekansı (2. bölge), yüksek seviyede çözünürlük sağlayan ve pH veya tuz konsantrasyonuna bağlı olarak kendiliğinden montajı indükleyen yüklü gruplar (3. bölge), hücreler veya biyomoleküller ile etkileşime girecek şekilde tasarlanmış oligopeptid dizilerden (4. bölge) oluşur (Şekil 1a).

Amfifilik peptidlerin sulu ortamda kendiliğinden birleşmesi en az üç ana kuvvet tarafından yönetilir. Bunlar: 1. alkil kuyruklarının hidrofobik etkileşimi, 2. yüklü gruplar arasındaki elektrostatik etkileşim ve 3. peptidler arasındaki hidrojen bağıdır. PA'nın kendiliğinden montaj yapısı bu kuvvetlerden her birinin dengeli bir katkısını yansıtır [14]. PA ünitelerinin kendiliğinden montajı, pH, sıcaklık, konsantrasyon ve diğer faktörlerin kontrolü ile de ayarlanabilmektedir. Bu durum, birçok faktöre karşı

duyarlı biyomalzemelerin üretimine imkan sağlamaktadır [5, 15, 16]. Biyolojik fonksiyonları yüzey aktif özellikler sayesinde artırılmış amfifil peptidlerin, tek tabakalı (ör., miseller) veya çok tabakalı (ör., veziküller) tasarımları büyük ilgi görmektedir (Şekil 1b).



Şekil 1 PA molekülünün kimyasal yapısı. a.1. bölge: hidroforik kuyruk, 2. bölge: β-tabaka oluşturan segment, 3. bölge: yükli gruplar, 4. bölge: biyoaktif epitop b. PA molekülünün tek tabakalı (misel) ve çok tabakalı (vezikül) tasarımları [14, 17]

İyonik-tamamlayıcı kendiliğinden montajlı peptidler

Nanolif oluşturan kendiliğinden montajlı iyonik-tamamlayıcı peptid ailesinin ilk üyesi EAK16 (n-AEAEAKAKAEAEAKAK-c)'dir. Bu peptid, yükli ve hidroforik yan gruplara sahiptir. Sulu ortamda, yükli taraf dışarıya, hidroforik taraf ise, nanoliflerin içine doğru yönelir [18, 19]. Bu arada, periyodik olarak tekrarlanan pozitif ve negatif yüklere sahip peptid dizileri, iyonik-tamamlayıcı kuvvetlerin etkisiyle stabil bir yapı oluşturur, daha sonra kendiliğinden birleşerek tipik β-tabaka şeklindeki agregatlara dönüşür ve nihayetinde bu β-tabaka'ların daha ileri derecede agregasyonu ile nanoliflerden oluşan bir hidrojel ağı meydana gelir [20, 21]. Bu hidrojeller, hidrojen bağları ve iyonik kuvvet nedeniyle geniş bir pH, sıcaklık ve organik çözücü aralığında oldukça kararlı olabilirler [22].

İyonik tamamlayıcılığa sahip olmak için, yüklerin dağılımı belirli düzende olmalıdır. Farklı tiplerde sıralama gösteren yük dağılımlarının tekrarlanması ile çok sayıda iyonik-tamamlayıcı peptid tasarlamak mümkündür [23, 24, 25]. İyonik tamamlayıcı peptidlerin en önemli özelliği yük dağılımlarının basit moleküler tasarımlarla değiştirilebilmesidir.

Bu sayede, ardışık tekrarlanan yüklere sahip peptid tipleri (Tip I, II ve IV) dışında, peptidlerin VE20, RF20 ve EHK16'da olduğu gibi tamamen negatif, tamamen pozitif veya düzensiz olacak şekilde tasarlanması da mümkün olabilmektedir [26]. Farklı iyonik-tamamlayıcı kendinden-montajlı peptid tiplerine aşağıda örnekler verilmiştir:

Tip I: - + - + - + - + (örneğin, peptid RADA16-I: n-RADARADARADARADA-c),

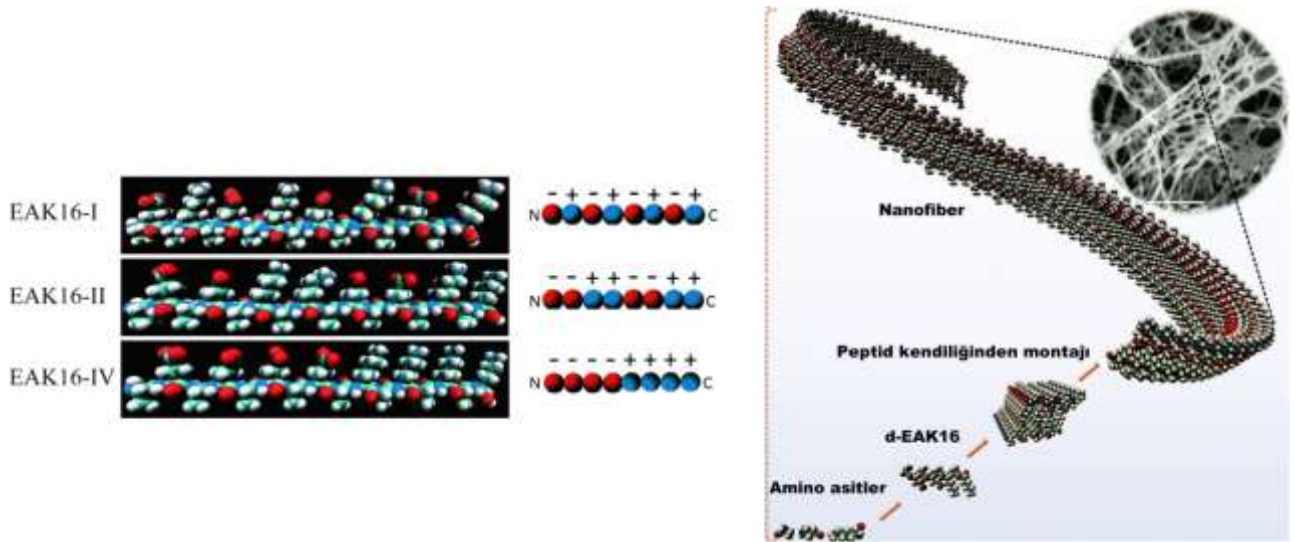
Tip II: - - ++ - - ++ (örneğin, peptid RADA16-II: n-RARADADARARADADA-c),

Tip IV: ----++++ (örneğin, peptid EAK16-IV: n-AEAEAEAEAKAKAKAK-c)

İyonik tamamlayıcı peptidlerin ikinci önemli özelliği, aynı yük dağılımının farklı amino asit kalıntıları kullanılarak elde edilebilmesidir. Örneğin, EAK peptidinin yapısındaki glutamik asit (E) ve lizin (K) kalıntılarının sırasıyla aspartik asit (D) ve arginin (R) ile değiştirilmesiyle DAR peptidi türetilir. Benzer şekilde, EAK'nın yapısındaki alanin (A) hidrofobik kalıntısının fenilalanin (F) veya lösin (L) ile değiştirilmesiyle, sırasıyla EFK ve ELK iyonik-tamamlayıcı peptidleri üretilebilir. Böylece, iyonik tamamlayıcı peptidlerin içsel özellikleri bu basit değişikliklerle kontrol edilerek, istenen supramolekülleri oluşturma eğilimi artırılabilir. İyonik tamamlayıcı peptidlerin üçüncü özelliği de, iyonik tamamlamanın belirli sayıda aminoasitle mümkün olmasıdır. Örneğin; Tip IV peptidlerini oluşturmak için gerekli olan minimum aminoasit sayısı 16 iken, Tip I ve Tip II peptidlerin oluşturulması için sırasıyla dört ve sekiz aminoasit kalıntısı gerekmektedir [26].

İyonik-tamamlayıcı peptidlerin son derece önemli olan bir özelliği de sulu çözeltilerde karakteristik β -tabakalar oluşturmalarıdır. Kısa amino asit sekanslarına sahip peptidler rastgele bobin yapıları oluşturma eğilimi gösterirken, Tip IV dağılımına sahip olanlar α -/ β -konformasyonel değişikliklerine karşı yüksek bir eğilim gösterir. İyonik tamamlayıcı peptidlerin oluşturduğu β -tabakalar, membran benzeri supramoleküller oluşturabilir. Fizyolojik koşullar altında son derece kararlı olan bu β -tabakalar, denatüre edici ajanlara bile dayanıklıdır. Örneğin, EAK16-II membranları, % 1 sodyum dodesil sülfat (SDS) çözeltilinde 4 saatten fazla süreyle 90°C'ye kadar yüksek sıcaklıklara dayanabilir. Ayrıca, tripsin, α -kimotripsin, papain, proteaz K ve pronaz gibi birçok proteaza karşı dirençlidirler. Membranlar mekanik olarak da oldukça kararlıdır ve katı bir destek vasıtasıyla bir çözeltiliden diğerine transfer edilebilir. Membranın bu olağanüstü stabilitesinin, kararlı β -tabakalarından kaynaklandığı düşünülmektedir [26].

Yüklü peptidler hücre tanıma ve biyolojik moleküllere bağlanma mekanizmalarında önemli bir rol oynarlar. İyonik-tamamlayıcı peptidlerin iki üyesi, EAK16-II ve RAD16-II'nin, memeli hücrelerinin yapışmasını destekleyen matrisler oluşturduğu bildirilmiştir. Çeşitli memeli hücre tipleri, hem RAD16 hem de EAK16 membran matrislerine bağlanabilir. Bu matrisler, *in vitro* hücre bağlanma mekanizmalarını analiz etmek için deneysel bir sistem oluşturduğu gibi doku yenilenmesi, doku nakli ve yara iyileşmesine yönelik *in vivo* çalışmalarda da kullanım potansiyeline sahiptir [20]. Ayrıca, iyonik tamamlayıcı KMP'lerin, kemik, kıkırdak, damar, kalp ve sinir sistemi dahil olmak üzere çeşitli dokularda hücre büyümesi ve farklılaşmasını destekleme amacıyla kullanılabilirliği gösterilmiştir [27, 28]. Örneğin, RADA16-I'in ticari formu olan PuraMatrix hücre büyümesini ve doku yenilenmesini desteklemek için kullanılmaktadır [24].

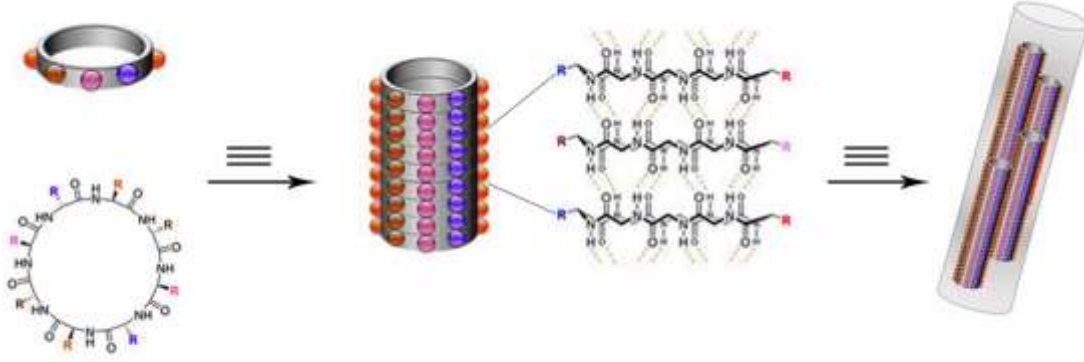


Şekil 2 İyonik-tamamlayıcı peptidlerin kendiliğinden montajı [29]

Halkasal peptidler

Tipik halkasal peptidler, ardışık tekrarlanan D, L tipi α -amino asitler, ardışık tekrarlanan α - ve β -amino asitler, ardışık tekrarlanan α -ve γ -amino asitler gibi kendiliğinden montaj olabilecek amino asitleri içerir [30, 31, 32, 33]. De Santis ve ark. [34] teorik olarak, ardışık tekrarlanan D- ve L-amino asitlerini içeren halkasal peptidlerin kendiliğinden nanotüpler halinde birleşebileceğini göstermişlerdir. Daha sonraki yıllarda Ghadiri ve

ark. [30] ilk kendiliğinden montajlı halkasal peptid olan siklo-(L-Gln-D-Ala-L-Glu-D-Ala)₂'yi sentezlemişlerdir. Araştırmacılar, bu heterokiral halkasal peptidlerin, birbirlerinin üstüne istiflenmesiyle içi boş nanosilindirler elde etmişlerdir. Kendiliğinden montaj, asidik ortamda tetiklenmiş ve halka şeklindeki oktapeptid birimlerinin hidrojen bağı etkileşimleriyle belirli bir çapa sahip nanotüp yapıları oluşturduğu gözlenmiştir [4].



Şekil 3 Halkasal D, L- α peptidinin kendiliğinden montajlı nanotüplerinin şematik gösterimi [35]

Aynı amino asit kalıntılardan oluşan doğrusal ve halkasal peptidlerin, kendiliğinden montaj sırasında farklı davranışlar gösterdiği belirtilmiştir. Yapılan bir çalışmada, triptofan ve arginin kalıntılarını içeren doğrusal peptidlerin düzensiz morfolojiler gösterdiği, halkasal muadilinin ise, küresel nanoyapılar oluşturduğu bildirilmiştir [36]. Başka bir çalışmada ise, [FR]₄, [FK]₄, [WK]₅, [CR]₄, [AK]₄ ve [WR]₄'ü içeren bir dizi halkasal peptidin kendiliğinden montaj davranışları kapsamlı olarak araştırılmıştır (F = fenilalanin, R = arginin, K = lisin, W = triptofan, C = sistein, A = alanin). Buna göre, kendiliğinden montajlı nanoyapıların, sulu çözelti içinde, optimum hidrofobiklik ve yük dengesi koşullarında molekül içi ve/veya moleküller arası etkileşimler yoluyla oluşabileceğini bildirmişlerdir. Tasarlanan [WR]₄ peptidi, belirli bir inkübasyon süresinden sonra oda sıcaklığında kendiliğinden montajlı nanoyapılar üretmiştir. [WR]₄'teki triptofanın indol halkasının, potansiyel hidrofobik etkileşimler oluşturarak kendiliğinden montaj işleminde kritik bir rol oynadığı bildirilmiştir. Ayrıca, arginindeki pozitif yüklü guanidin grubunun, hidrojen bağı etkileşimlerine katıldığı bulunmuştur. Bununla birlikte, geriye kalan 5 halkasal peptidin, muhtemelen hidrofobik ve pozitif yüklü kalıntıların uygun olmayan kombinasyonundan dolayı kendiliğinden montajlı nanoyapılar oluşturamadığı belirtilmiştir. Kendiliğinden montaj işlemi üzerine halka

büyükliğünün rolünü araştırmak için, [WR]₄'ün türevleri, [WR]₃ ve [WR]₅ tasarlanmış ve test edilmiştir. TEM sonuçlarına göre tüm peptidlerin veziküler yapı gösterdiği halka büyüklüğü arttıkça boyutunun da büyüdüğü gözlenmiştir. Sonuçta, bu halkasal peptidlerin kendiliğinden montaj işlemini etkileyen başlıca üç faktörün; hidrofobik güç, kısmi β- yapılar arasındaki hidrojen bağları ve/veya triptofan kalıntıları arasındaki π-π etkileşimleri olduğu bildirilmiştir [37].

Hibrit peptidler

Peptidler; lipitler, polimerler, nükleikasitler, sakkaritler, aromatik gruplar, halojen elementler gibi çeşitli kimyasal gruplar ile birlikte hibrit peptid sistemlerini oluşturmaktadır. Peptidler, sadece aminoasit sekansları değiştirilerek değil, aynı zamanda N- veya C- ucuna bir cap molekülü ekleyerek veya peptid domainlerinin arasına bir linker yerleştirilerek de modifiye edilebilir. Bu modifikasyonlar, peptidlerin kendiliğinden montaj mekanizmalarını araştırmak ve peptid nanoyapıların yapısal özelliklerini kontrol etmek için kullanılmıştır [38, 39].

Tang ve ark. [40] fenilalanin ve glisin kalıntısının kombinasyonundan oluşan Fmoc-dipeptidlerin kendiliğinden montaj davranışlarını incelemiş ve yapının esneklik ve konformasyonun, amino asit tipi ve sekansından etkilendiğini ortaya koymuşlardır. Fmoc (floretilmetiloksikarbonil) grubu dışında, naftalin [41], fenotiyazin [42], piren [43], karboksibenzil [44], azobenzen [45, 46], naproksen [47] ve benzimidazol [48] grupları da, kendiliğinden montajı kolaylaştırmak için aromatik bir cap olarak N-ucuna eklenmektedir. Taurin ve naftalinin, FF dipeptidi (naftalin-FF-taurin) ile birleştirilmesi, sıcaklık, sonikasyon ve pH gibi montaj koşullarına bağlı olarak nanotüp, nanolif veya nanoribon oluşumuna yol açmıştır [41]. Başka bir çalışmada ise, fenotiyazinle konjuge edilmiş tetrapeptidlerin (-GFFY), 25 nm çapında uniform nanolifler oluşturduğu gözlenmiştir [42]. Ayrıca C- ucunun hidrofobikliği ve hidrojen bağlama kapasitesinin, bu uçtaki karboksilik asitin yerine, amid ve metil ester türevleri getirilerek ayarlanabileceği bildirilmiştir [49].

Kendiliğinden Montajlı Peptidlerin Kullanım Alanları

Bugüne kadar, kendiliğinden montaj mekanizmasını daha iyi anlayabilmek ve KMP nanoyapılarını, doku rejenerasyonu, ilaç salınımı ve biyosensörler gibi çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanabilmek amacıyla çok sayıda araştırma yapılmıştır.

KMP'lerin esnek tasarım özellikleri, bu yapıların birçok alanda çeşitli amaçlarla kullanımına imkan tanımaktadır. Bu uygulamalardan bazılarında aşağıda yer verilmiştir.

İlaç salınımı

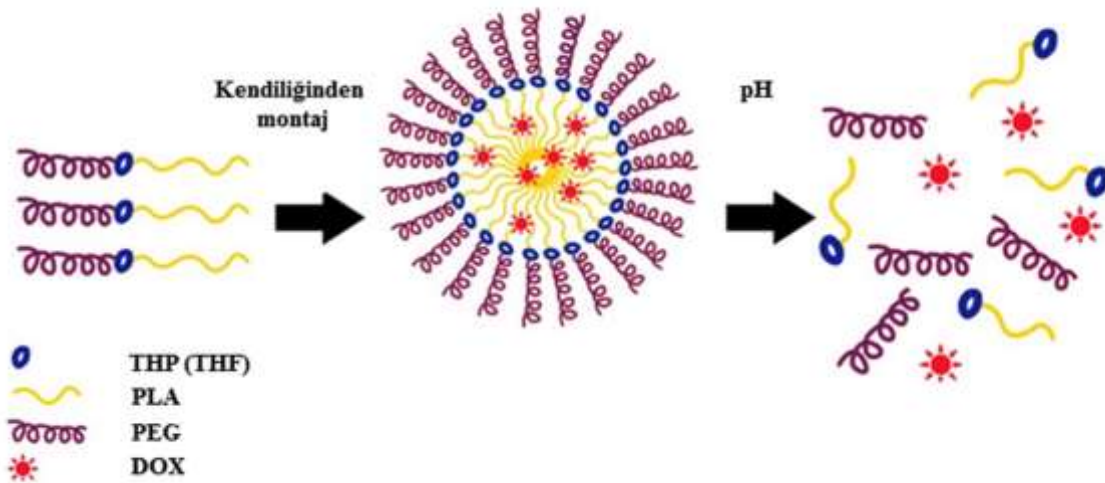
Geleneksel ilaçlarda karşılaşılan düşük çözünürlük, hızlı biyolojik bozunma, spesifik olmayan salınım gibi dezavantajlar, kontrollü ilaç salınım sistemlerine duyulan ihtiyacı artırmıştır. Terapötik ajanları içine hapseden bu sistemler, molekülleri, bozulmaya karşı korumakta, kontrollü ve uzun süreli salınımlara izin vererek ilacın etkinliğini arttırabilmektedir [50, 51, 52, 53]. İlaç dağıtım sistemi için geliştirilen akıllı nano taşıyıcıların, birçok hastalığın tedavisinde kullanım potansiyeli bulunmaktadır. Webber ve ark. [54] anti-enflamatuar ilaç olan deksametazonu (Dex), uzun süreli ilaç salınımı elde etmek için bir amfifil peptid (C₁₆-V₂A₂E₂) ile konjuge etmişlerdir. *In vitro* çalışmalarda uzun süreli ve lokalize ilaç salınımı sağlamak için jel ağları oluşturan bu materyalin enjeksiyon bölgesinde sitoprotektif ve antiinflamatuar özellikler gösterdiği tespit edilmiştir. Bu nanofiber jeller, fizyolojik ortamda bir ay boyunca Dex'in sürekli salınımı sağlamıştır. Ayrıca faredeki *in vivo* çalışmalar, bu amfifil peptidin sistemik immün baskılama olmaksızın lokal akut enflamasyonunu büyük ölçüde azalttığını göstermiştir.

KMP nanoyapılar, mükemmel biyobozunurluk ve biyoyumlulukları nedeniyle, antikanser ilaç salınım uygulamalarında büyük bir ilgi görmüş ve bu yapılar sayesinde kanser tedavisinde ilerleme kaydedilmiştir. Enjekte edilebilir özellikte hidrojel oluşturan KMP nanolifler, kemoterapötik ilaçların hedeflenen kanser dokularına daha yüksek konsantrasyonlarda ulaşmasını sağlamaktadır. Ayrıca bu peptid hidrojeller, yavaş salınım hızlarından dolayı daha güvenli bulunmaktadır. Kendiliğinden montajlı peptid nanoyapılara yüklenmiş doksorubisin (DOX), kurkumin, fluorourasil ve paklitaksel gibi birçok antikanser ajanın, kanser tedavisindeki başarısı prelinik veya klinik deneylerde test edilmiştir [55, 56, 57].

Zhua ve ark. [58] tarafından yapılan bir çalışmada, pH'ya duyarlı tetrahidropiran (THP) veya tetrahidrofuran (THF) bağlantısı içeren bir amfifilik blok kopolimer tasarlanmıştır. Kapsüllenmiş ilaçların salınım hızının, pH değerine bağlı olduğu bulunmuştur. PLA-THP-PEG miseller için DOX salınım miktarı pH 5'de % 62 iken pH 7.4'te bu değerden yaklaşık dört kat daha yüksek olduğu bulunmuştur. Aynı koşullar altında PLA-THF-PEG miselleri için salınım oranı ise, PLA-THP-PEG misellerininkinden biraz daha

yüksek bulunmuştur. Hücresel alım çalışması, DOX yüklü misellerin hücelere kolayca girebildiğini ve istenen farmakolojik etkiyi üretebildiğini ayrıca serbest DOX'un olumsuz etkisinin en aza indirildiğini göstermiştir. Bu bulgular, THP ve THF bağlı diblok kopolimer misellerinin, ilaç taşıyıcı bir aday olarak öne çıktığını göstermektedir (Şekil 4).

Hücre penetran peptidler (CPP'ler), lizinler ve /veya argininler bakımından zengin küçük (tipik olarak <20 amino asit) bir katyonik peptid sınıfıdır. Çoğu durumda, CPP destekli taşıma sisteminde, ilaç, hücre içinde zamanla salınmasına izin veren parçalanabilir bir bağlayıcı (linker) vasıtasıyla CPP'ye kimyasal olarak konjuge edilmiştir. Örneğin, insan bağışıklık yetmezliği virüsünden (HIV) türetilen ilk CPP, transkripsiyon transaktivatör (TAT) peptidi, küçük moleküller, peptidler, proteinler, oligonükleik asitler, nanopartiküller ve çeşitli tıropatik moleküllere membran penetrasyonlarını artırmak için konjuge edilen moleküler salınım aracıdır [59].



Şekil 4 KMP nanoyapıların ilaç salınım mekanizması. THP: tetrahidropiran, THF: tetrahidrofuran, PLA: polilaktikasit, PEG: poli etilen glikol, DOX: doksorubisin [58]

Zhang ve ark. [60] tarafından yapılan bir çalışmada, biyoaktif Tat peptidine hidrokarbon kuyruklar konjuge edildiğinde, β -tabakalı bir sekonder yapı kazandığı ve böylece 1D nanoyapıların oluşumuna yol açtığı rapor edilmiştir. Çalışmada farklı sayıda oktanoik asit (C8) kuyruğu taşıyan 3 Tat konjugatı (qC8-Tat, dC8-Tat ve mC8-Tat) sentezlenmiştir. Bu tasarımda kısa hidrofobik kuyrukların bir araya gelmesiyle hidrofobik alanın genişlemesi ve daha az kristalleşmesini sağlayarak ilaç yükleme kapasitesinin (DLC) artırılması amaçlanmıştır. Yumurtalık, meme ve diğer kanser

türleri için kullanımı onaylanmış hidrofobik bir ilaç olan paklitakselin (PTX) suda çözünürlüğünün zayıf olması nedeniyle genellikle nano ölçekli salınım araçları kullanılarak uygulanmaktadır. Moleküler yapı ünitesi olarak Tat'ın kullanıldığı supramoleküler nanolifler, PXT'in enkapsülasyonunda kullanılmış ve ilaç yükleme kapasitesinin yükseldiği tespit edilmiştir. İncelenen Tat peptidleri arasında 4 adet C8 kuyruğu taşıyan qC8-Tat'ın pH 7.4'te sulu çözelti içerisinde nanotüpler oluşturan, enkapsülasyon etkinliği en yüksek peptid olduğu bildirilmiştir.

Doku mühendisliği

Doku rejenerasyonu uygulamalarında kullanılan nanotüp veya nanolif yapıdaki KMP'ler, hasarlı bölgelerde, üç boyutlu bir geometride hücre üretimi ve hücre dışı matriks (ECM) oluşumu için bir iskele oluşturabilmektedir [51, 61, 62]. Yapılan bir çalışmada, kırıkta rejenerasyonunu artırmak için, KLD12 peptidi (KLDLKLKLDL) tarafından oluşturulan bir hidrojel iskelesi geliştirilmiş ve birincil sığır kondrositleri ile birlikte 4 hafta kültüre alınmıştır. Bu süreçte peptid hidrojelinde kültürlenmiş kondrositlerin morfolojik yapılarını korudukları ve proteoglikanlarca zengin kırıkta benzeri ECM ve stabil bir kondrosit fenotipinin göstergesi olan tip II kollajen ürettikleri gözlemlenmiştir. ECM'nin zamana bağlı olarak biriktikçe yeni dokunun mekanik olarak işlevselliğini gösteren materyal sertliğinin de arttığı bulunmuştur. Bu sonuçlar, kendiliğinden montajlı KLD12 peptid hidrojelinin, kırıkta dokusu onarımında, kırıkta benzeri ECM'nin sentezi ve birikimi için bir iskele olarak kullanılabileceğini göstermiştir [63].

Hosseinkhani ve ark. [64] mezenkimal kök hücrelerin çoğalması ve farklılaşmasını, peptid amfifil (PA) moleküllerinin kendiliğinden montajı ile oluşturulan üç boyutlu (3D) bir nanolif ağı içerisinde incelemiştir. Bu amaçla katı faz kimyası ile sentezlenmiş PA'lara, evrensel hücre tanıma motifi arginin-glisin-aspartik asit (RGD) dizisi eklenmiştir. Sonuçta kendiliğinden monte edilmiş PA nanoliflerinin, mezenkimal kök hücrelerin bağlanması, çoğalması ve osteojenik farklılaşmasını pozitif yönde etkilediği ve doku rejenerasyonunda kullanım potansiyelinin olduğu bildirilmiştir.

Bu gibi doku mühendisliği uygulamalarına yönelik biyomalzemelerin geliştirilmesinde bazı spesifik peptid motiflerinin önemli bir rol oynadığı ve peptid amfifillerinin bu alanda yüksek bir potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir [65, 16]. Örneğin, Hartgerink ve ark. [66] yapay kemik sentezi için ümit verici bir peptid-amfifil tasarlamışlardır. Beş

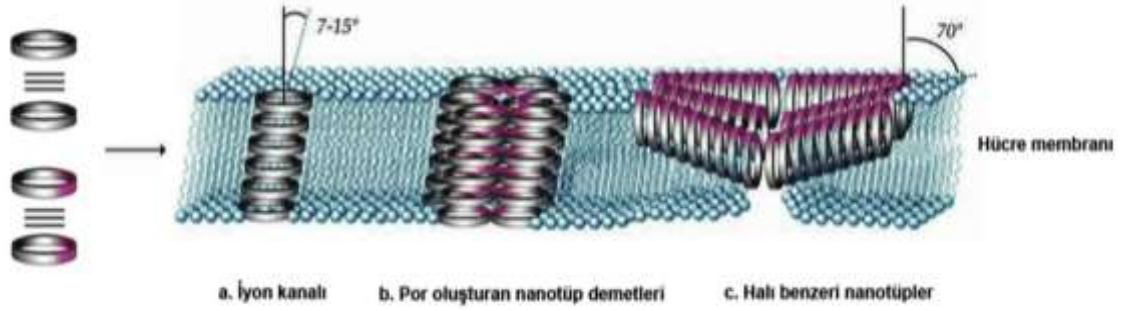
bölgeden oluşan bu amfifil peptid sırasıyla; (1) moleküle hidrofobik karakter kazandıran 16 karbonlu bir alkil kuyruğu; (2) nanoyapıları disülfid bağları vasıtasıyla stabilize eden dört sistein kalıntısından oluşan bir dizi; (3) esnek bir bağlantı sağlayan üç glisin kalıntısı; (4) hidroksiapatitin biomineralizasyonu için fosforile edilmiş tek bir serin kalıntısı; ve (5) bir hücre adezyon grubu olan RGD'yi içermektedir. Molekülün peptid ucu, biomineralizasyonu düzenlemek için tasarlanmıştır. Kemik oluşumunda mineralizasyon olarak bilinen işlemde hidroksiapatit kristalleri kalsiyum ve fosfat iyonlarının birikmesi ile oluşmaktadır. Fosforile edilmiş bir serin sentetik amfifilik peptid kompleksi ile birleştirildiğinde, hidroksiapatit kristalleri oluşturmak için kalsiyum ve fosfat iyonlarını çekme ve düzenleme işlevi görmektedir. Araştırmacılar ayrıca, peptidin C-terminaline bir hücre adezyon motifi olan arginin-glisin-aspartik asit (RGD) ekleyerek sentetik amfifilik peptid kompleksini işlevselleştirmişlerdir. Bu peptid-amfifil moleküllerin kendiliğinden birleşmesiyle oluşturdukları nanolifler, hidroksiapatit kristallerinin büyümesi için kemik dokusundaki kollajen liflerini taklit eden bir ortam sağlamaktadır [67].

Kendinden montajlı sentetik amfifiller ve peptid hidrojelilerin, titanyum yüzeyler üzerinde osteoblastların düzenlemesi ve kontrol edilmesi amacıyla kullanılabileceği bildirilmiştir. Moleküler tasarım yoluyla yüksek oranda biyoaktif özellik kazandırılan PA nanolifler, inert bir titanyum köpüğünün potansiyel olarak biyoaktif bir implanta dönüştürülmesinde kullanılabilir. Örneğin dental implantlarda biyoaktif implant yüzeyleri oluşturmak amacıyla gözenekleri PA nanolifler ile doldurulmuş Ti-6Al-4V köpüğünden oluşan bir hibrid implant materyali hazırlanmıştır. Taramalı elektron mikroskopu (SEM) ve konfokal mikroskop kullanarak, PA'ların metal köpük içinde kendiliğinden birleşerek nanolif yapısında bir matriks oluşturduğu ve köpüğün gözeneklerini tamamen doldurduğu gözlenmiştir. Ayrıca, bu yapının, hücrelerin biyoaktif matriks içinde enkapsülasyonuna izin verdiği ve uygun koşullar altında nanoliflerin, Ca:P oranına bağlı olarak hidroksiapatitin başlangıç çekirdeklenmesine katkı sağladığı bildirilmiştir. Sonuçta, PA-Ti hibrid stratejisinin, mineralleşmeyi başlatmak ve konak dokudan gözenekli implantlara hücresel yanıtı yönlendirmek ve böylece implantların fiksasyonunu, osteointegrasyonu ve uzun süreli stabilitesini arttırmak için potansiyel bir yöntem olarak kullanılabileceği rapor edilmiştir [68].

Antimikrobiyal uygulamalar

Doğal savunma sisteminin bir parçası olarak, antimikrobiyal peptidler farklı organizma türlerinde yaygın olarak bulunmuştur. Antimikrobiyal peptidler, prokaryotlardan insanlara kadar hemen hemen tüm canlılar tarafından doğal olarak üretilen, mikroorganizmalara karşı inhibitör etkili bileşiklerdir. Antimikrobiyal peptidler genellikle, bakteri hücre membranıyla etkileşerek hücre geçirgenliğinin bozulmasına ve böylece hücrenin ölümüne sebep olmaktadır. Antimikrobiyal peptidlerin (AMP) bakteriyel membranlarla etkileşimlerinde, peptid dizisinin büyüklüğünün, hidrofobikliğinin, amfifilikliğinin, net yükünün ve ikincil yapısının etkili olduğu gösterilmiştir [69, 70, 71, 72]. Bugüne kadar AMP'lerle ilgili yapılan araştırmalar monomerik AMP'lerin bakteriyel membranlarla olan etkileşimi ve membranların selektif olarak deformasyonuna yönelik peptid dizaynı üzerinde yoğunlaşmıştır [73]. Ancak, son yıllarda yapılan araştırmalar, AMP'lerin, antimikrobiyal aktivitesinde kendiliğinden montaj mekanizmasının da etkili olduğunu göstermektedir. Örneğin, Schnaider ve ark. [74] antibakteriyel supramoleküler polimer oluşturmak için minimal motif olarak kullandıkları difenilalaninin antibakteriyel aktivitesini araştırmışlardır. Kendiliğinden montajlı difenilalanin nano yapılarının bakteri morfolojisinde önemli derecede bozulmaya yol açtığı, membran geçirgenliği ve depolarizasyonuna neden olduğu ve bakteriyel gelişmeyi tamamen inhibe ettiği gösterilmiştir.

Antimikrobiyal peptidlerin etki mekanizmalarını açıklamak için çeşitli modeller mevcut olmakla birlikte “namlu gözenek” ve “halı benzeri” mekanizma öne çıkmaktadır. Namlu gözenek mekanizmasında peptidler, hidrofilik bir por oluşturan küçük demetler halinde transmembranal olarak yerleşirken, halı benzeri mekanizmada, membran yüzeyine paralel uzanırlar ve böylece membran özelliklerini değiştirirler. Bunların dışında toroidal gözenek veya düzensiz toroidal gözenek gibi bazı ek modeller de önerilmiştir, ancak bunlar yukarıda belirtilen iki mekanizmanın ara modelleri olarak kabul edilmiştir. Şekil 5'de gösterilen lipit çift tabakasındaki nanotüp organizasyonu, halkasal peptidin yapısına bağlıdır. Amfipatik yapıdaki peptidin non-polar kalıntıları, lipit çift tabakasındaki fosfolipidlerin hidrokarbon zincirleri ile etkileşime girerken, katyonik ve hidrofilik kalıntıları fosfolipidlerin baş kısmı veya sulu ortam ile etkileşim içerisindedir [75].



Şekil 5 Halkasal peptidlerin lipit çift tabakasında nanotüp organizasyonu. Hidrofilik bölgeler mor ve hidrofobik bölgeler ise gri renkte gösterilmiştir. a. iyon kanalı, b. por oluşturan nanotüpler (namlu-gözenek modeli), c. halı benzeri modelde nanotüplerin membrana yerleşimi [75]

Peptid nanotüpler, tübüler yapıya sahip supramoleküler nanobiyomalzemelerdir. Halkasal peptidlerin kendiliğinden montajı, membranlardaki iyon kanallarını taklit eden transmembran gözenekler oluşturabilirler. Membran üzerindeki nanotüp oryantasyonu, halkasal peptidin yapısına bağlıdır. Öyleki, tüm hidrofobik halkasal peptidler, membrana dik şekilde yönlendirilmiş nanotüpler oluşturarak lipit tabaklarla van der Waals etkileşimlerini en üst düzeye çıkarmaya çalışırken, amfifilik halkasal peptidler ise, membrana paralel uzanan nanotüpler oluşturur. Yapılan deneyler, sub-letal konsantrasyonlardaki peptidlere uzun süre maruz kaldıktan sonra bile *S. aureus*'un direnç geliştirmediklerini göstermiştir. Bu durum peptidlerin bakteri membranının birden fazla bileşeni ile etkileşime girmesi ile açıklanmıştır [75].

Veiga ve ark. [72] kendiliğinden montajlı arjinince zengin β -hairpin peptidlerinden oluşan hidrojelleri incelemiş ve bunların çoklu ilaca dirençli *Pseudomonas aeruginosa* dahil olmak üzere hem Gram-negatif ve hem de Gram-pozitif bakterilere karşı kuvvetli antimikrobiyal aktivite gösterdiklerini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada, 8 arjinin kalıntısı içeren PEP8R hidrojeli, mükemmel antibakteriyel özelliğe sahip olmakla birlikte, insan kırmızı kan hücrelerine (hRBC) de litik aktivite gösterdiğinden, arjinin kalıntıları lizin ile değiştirilerek üç peptid (PEP6R, PEP4R ve PEP2R) daha tasarlanmıştır. Hücre bazlı deneyler, arjinin içeriğinin azaltılmasının hemolitik aktivitede belirgin, antibakteriyel aktivitede ise hafif bir düşüşe yol açtığını göstermiştir. Bunlardan PEP6R (VKVRVRVRV^DPPTRVRVRVKV) peptidinden oluşan PEP6R jelinin, bakterilere karşı yüksek antimikrobiyal etki gösterirken, insan eritrositleri ve

memeli mezenkimal kök hücrelerine karşı sito-uyumlu olduğu ve reolojik olarak enjekte edilebilir özellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Benzer şekilde, Salick ve ark. [76] MAX1 (VKVKVKVK(dV)PPTKVKVKVKV-NH₂) peptidinin kendiliğinden birleşmesinden elde edilen hidrojelleri araştırmışlar ve sonuçta bu jellerin Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı geniş spektrumlu bir aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir. Membran geçirgenlik analizleri ve canlı-ölü testleri, MAX1 hidrojellerinin bakteriyel membran bozulmasına neden olduğu ancak memeli fibroblastlarına veya insan eritrositlerine karşı düşük toksisite sergilediğini göstermiştir. Başka bir çalışmada ise Salick ve ark. [77] MAX1 ve MARG1 (VKVKVRVK(dV)PPTKVKVRVKV-NH₂) peptidlerinin kendiliğinden birleşmesiyle oluşturulan hidrojelleri karşılaştırmış ve her iki peptidin de metisiline duyarlı *S. aureus*'a (MSSA) karşı etkili olduğu, ancak sadece MARG1'in metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA)'a karşı güçlü antimikrobiyal etki gösterdiğini bulmuşlardır. Bu durum, arginin kalıntılarının lizin kalıntılarına kıyasla daha güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.

Lombardi ve ark. [78] tarafından yapılan bir çalışmada, bir AMP dizisinin antibakteriyel etkinliklerini arttırmak için kendiliğinden montajlı antimikrobiyal peptidler tasarlanmıştır. Bu amaçla sıradışı bir deniz canlısı olan hagfish'in epidermal mukusundan izole edilen miksinidin'in bir türevi olan, antibakteriyel WMR peptidi (13-amino-asitlik peptid: NH₂-WGIRRLKYGKRS-CONH₂), bir peptid amfifili (WMR-PA) elde etmek için lipidik bir kuyruk (C₁₉H₃₈O₂) içeren ve alifatik kalıntılardan (AAAAAAA) oluşan bir peptid segmentine bağlanmıştır. Kendiliğinden montajlı WMR-PA'ların antibiyofilm aktivitesi incelenmiş ve WMR ile karşılaştırılmıştır. Çalışma kapsamında ayrıca hidrofobik kuyruk içeren ancak AMP dizisini içermeyen daha kısa PA'lar tasarlanmış ve WMR peptidi ile karşılaştırılmıştır. PA'ların, stabil nanolif yapılar şeklinde kendiliğinden toplandıkları ve bu nanomontajların, *P. aeruginosa* (Gram-negatif bakteriler) ve *C.albicans*'ın biyofilm oluşumunu WMR peptidine kıyasla önemli ölçüde inhibe ettiği ve hali hazırda oluşturulmuş biyofilmleri de yok ettiği görülmüştür. Medikal implantlarda bakteriyel tutunma ve biyofilm oluşumundan kaynaklanan enfeksiyonlarda özellikle antibiyotiklere karşı bakteri direncinin ortaya çıkmasıyla yaşanan ciddi zorluklar düşünüldüğünde, antibakteriyel

aktiviteye sahip peptid bazlı supramoleküler yapıların biyomedikal uygulamalar için yenilikçi bir strateji oluşturduğu sonucuna varılmıştır.

Liu ve ark. [79] tarafından, hidrofilik kısmı bir TAT peptidi ile birlikte altı arginin ve üç glisin kalıntısından oluşan ve hidrofobik kısmı ise kolesterol içeren kısa bir amfifilik peptid (CG3R6TAT) tasarlanmıştır. Tasarlanan amfifilik peptidin kendiliğinden montajı ile oluşan ve merkezinde kolesterol bulunan çekirdek-kabuk yapıları nanopartiküllerin antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Bu nanopartiküllerin, çoklu ilaç dirençli bakteriler dahil olmak üzere çeşitli gram pozitif bakteriler ile bazı küf ve maya türlerinin gelişmesini etkili bir şekilde inhibe eden geniş bir antimikrobiyal etki spektrumuna sahip olmakla birlikte nispeten düşük hemolitik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Antimikrobiyal etkinin, pozitif yüklü nanopartiküllerin, elektrostatik çekimler yoluyla mikrobiyal yüzeylerle kolayca etkileşime girerek, hücre duvarına zarar vermesi veya hücre duvarı sentezini inhibe etmesi neticesinde oluştuğu bildirilmiştir.

Hidrojeller

Hidrojeller, bünyesine yüksek oranda su alarak “şişme” özelliği gösterebilen çapraz bağlı polimerik ağı yapıları olarak tanımlanır. Hidrojel oluşumu sıcaklığa, pH'ya, polimer veya tuz konsantrasyonuna bağlıdır. Hidrojeller, homopolimerler, kopolimerler veya çoklu polimer ağları kullanılarak doğal dokuya benzer mekanik özelliklerde tasarlanabilirler [80].

Kendiliğinden montajlı peptid hidrojelleri, mükemmel biyoyumluluk ve biyobozunurluk gibi çeşitli avantajları nedeniyle ilaç salınımı, doku mühendisliği ve antitümör tedavisi gibi uygulamalarda öne çıkmıştır. Peptidlerin, hidrojen bağı, hidrofobik veya elektrostatik etkileşimler, polimer-nanopartikül (NP) etkileşimleri gibi kovalent olmayan etkileşimler yoluyla kendi kendine montajı, esnek mekanik özellikte fonksiyonel hidrojellerin geliştirilmesine neden olmuştur [16].

Poli-L-lisin, (PLL), mükemmel biyoyumluluğa sahip katyonik bir biyomakromoleküldür. Genellikle hücre zarlarından (negatif yüklü) penetrasyonun artırılması için kullanılır. Fibröz hidrojeller şeklinde kendiliğinden monte olabilen, ancak zayıf mekanik özellikleri nedeniyle enjeksiyon uygulamalarında kullanımı sınırlı olan negatif yüklü dipeptid N-florenilmetoksikarbonil difenilalanin (Fmoc-FF) ile pozitif yüklü PLL arasındaki elektrostatik etkileşimler, istenen reolojik özelliklere sahip enjekte edilebilir hidrojellerin oluşumuna yol açmıştır. Böylece supramoleküler

organizasyon ve mükemmel viskoelastik davranışlar sergileyen yeni enjekte edilebilir malzemelerin tasarımı ve üretimi için alternatif bir yaklaşım geliştirilmiştir [81].

Hücre kültürü çalışmalarında Fmoc-RGD hidrojellerinin, fibroblastları desteklemek için kullanılabileceği gösterilmiştir. Bu amaçla kullanılan peptid hidrojelileri, hücre dışı matriksi taklit etmeli ve peptid yapışma motiflerini içermelidir. RGD, bu amaçla kullanılan en yaygın peptid dizilerinden biridir. Yapılan bir çalışmada, bir Fmoc-RGD peptidinin β -tabaka sekonder yapı oluşturduğu ve amiloid fibriller şeklinde kendiliğinden toplandığı gösterilmiştir. Bu Fmoc-RGD hidrojelinin, hücreleri tutabildiği ve fibroblastları destekleyebildiği tespit edilmiştir [82].

Naftalen ile konjuge edilmiş kendiliğinden montajlı bir antimikrobiyal peptid (naftalen-2-1) -asetil-difenilalanin-dilisin-OH (NapFFKK-OH) hidrojelinin klinik kaynaklı Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin planktonik hücre ve biyofilm formlarına karşı antibakteriyel etki gösterdiği kanıtlanmıştır [83]. Burada aromatik hidrojelatör olarak Fmoc yerine daha güvenli olduğu düşünülen naftalen kullanılmıştır. Ayrıca yapılan bir çalışmada NapFFKK-OH'ın geniş bir spektrumdaki klinik fungal (*Aspergillus niger*, *Candida glabrata*, *C. albicans*, *Candida parapsilosis* and *Candida dubliniensis*) suşlar üzerinde etkili, antifungal hidrojel oluşturma özelliğine sahip olduğu gösterilmiştir. Böylece, NapFFKK-OH'ın enfekte olmuş bölgelere uygulanacak antifungal ilacın konsantrasyonunu düşürerek tedavide mantar izolatlarının direnç geliştirme riskini azaltacağı bildirilmiştir [84].

Sıcaklık, pH, enzim, iyonik kuvvet, elektrik ve manyetik alanlar ve ışık gibi dış uyarılarla kontrol edilebilen geri dönüşümlü kendiliğinden montajlı peptid bazlı hidrojel biyomedikal uygulamalar için büyük bir potansiyele sahiptir. Verma ve ark. [85] veziküler mikro yapılar oluşturan bir tetrapeptid, PWWPn'in kendiliğinden monte olduğunu ve veziküllerin rhodamin B boya moleküllerini tutabildiğini ancak KCl'nin (0.25 mM) eklenmesi ile veziküller yapının bozulduğunu bildirmiştir. Tine ve ark. [86] sıcaklığın RWDW peptidinin kendi kendine montajı üzerindeki etkisini incelemiş ve sıcaklık artışı ile daha küçük çaplı nanolifler oluştuğunu bulmuştur. AFM sonuçları, bu peptidin 15°C'de kendiliğinden bir araya gelmesi ile yoğun bir nanolif ağı oluşurken, 35°C'de seyrek küresel ve fibriler yapılar şeklinde toplandıklarını göstermiştir.

Enkapsülasyon

Nanometrik boyuttaki moleküler kapsüllerin ortaya çıkışı, kimya, nanoteknoloji ve malzeme bilimi alanları için devrim niteliğinde bir gelişmedir. Bu kendiliğinden montajlı nanokapsüller, küçük alt ünitelerin birleşmesiyle üretilen boş yapılar olup konuk moleküller bu kapalı yapının iç boşluğuna hapsedilir. İyonik-tamamlayıcı KMP'lerin peptid sekansındaki hidrofilik ve hidrofobik kalıntılar arasındaki denge değiştirilerek yükleme ve boşaltma kapasitesini arttırmak mümkün olabilmektedir. Bu nedenle KMP'ler, ilaç ve gen terapisi uygulamalarında etkili bir biyo-uyumlu koloidal stabilizatör olarak işlev görebilmektedir. Ayrıca bu yapılar sıcaklık, pH, enzim, iyonik kuvvet, elektrik ve manyetik alanlar ve ışık gibi dış uyarılarla kontrol edilebilmeleri nedeniyle de biyomedikal uygulamalar için büyük bir potansiyele sahiptirler [26, 87].

İyonik-tamamlayıcı peptidlerin, hidrofobik bileşikler kolayca kapsüllediği ve sulu ortamdaki çözünürlüklerini arttırdığı gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada piren, düşük çözünürlüğü ve iyi karakterize edilmiş floresans özelliği nedeniyle model bir hidrofobik ilaç molekülü olarak kullanılmıştır. Kendinden montajlı EAK16-II peptidinin, sulu çözelti içerisinde piren ile kararlı kompleksler oluşturduğu ve çözünürlük kapasitesini 10.000 kat kadar artırdığı tespit edilmiştir. Sonuçta bu çalışma kendinden montajlı EAK16-II'nin sulu çözeltide hidrofobik bir ilaç molekülünü stabilize ederek lipofilik bir ortama salabileceğini ve transfer hızının da peptid/piren oranı ayarlayarak düzenlenebileceğini göstermiştir [26, 88].

Kapsüllenmiş bir ilaç, peptid matriks içinde dağılmış moleküller şeklinde olabileceği gibi bir peptid kılıf ile kaplanmış mikro kristal şeklinde de bulunabilmektedir. Kapsüllenmiş ilacın bu yapısal formu, ilacın aktivitesini etkilemektedir. Kristal formunda kapsüllenen ilaçlar, kristal içindeki lokal konsantrasyonun yüksek olması nedeniyle, daha yüksek aktivite gösterirler [26, 89].

Supramoleküler kapsüllerin montajında esas olarak hidrojen bağı, metalloporfirin koordinasyonu ve hidrofobik etkileşimler gibi stratejiler kullanılmaktadır. Ozores ve ark. [87] tarafından yapılan bir çalışmada β - tabaka yapılı iki halkasal peptidin kendiliğinden montajına dayanan bir moleküler kapsül tanımlanmıştır. Zn-porfirin kapaklar taşıyan kendiliğinden montajlı bu α, γ -halkasal peptid dimerinin oluşturduğu supramoleküler kapsül, uygun büyüklükte bipiridin bazlı ligandları tanıyabilmekte ve

kapsülleyebilmektedir. Bu yapıdaki dinamik hidrozon bağlarının tersinirliği sayesinde kapsüllenmiş ligandlar serbest bırakılabilmektedir.

Sulu ortamdaki peptid amfifillerinin (PA) hidrofobik çekirdekli, yüksek en-boy oranlı silindirik nano lifleri oluşturduğu bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada hidrofobik blok olarak kolesterol veya palmitik asit, hidrofilik blok olarak da biyolojik adhezyon epitopu RGDS kullanılarak, kendiliğinden toplanan PA nanoliflerin içinde küçük bir hidrofobik molekül olan pirenin kapsüllemesi incelenmiştir. Supramoleküler yapıların oluşumunu karakterize etmek için dairesel dikroizm (CD) ve transmisyon elektron mikroskopu (TEM) kullanılmış ve sonuçta pirenin hidrofobik çekirdekler içinde kapsüllendiği ve biriktiği gösterilmiştir [90].

Başka bir çalışmada, bir antikanser ilaç olan kurkumin, kemik kanseri hücrelerini (MG-63 osteosarkomu) seçici olarak inhibe etmek amacıyla kendiliğinden birleşebilen bir peptid olan "C18GR7RGDS" ile enküpsüle edilmiştir. Fourier transform infrared, kızılötesi ve X ışını kırınım spektroskopik analizleri, kurkuminin, peptid nanopartiküllerinin hidrofobik çekirdeğinde kapsüllenmiş olduğunu göstermiştir. Ayrıca, sağlıklı kemik hücrelerine kıyasla kurkumin yüklü peptid nanopartikülleri, kemik kanseri hücrelerine karşı seçici sitoksisite göstermiştir [91].

Nanosensörler

Kendiliğinden monte edilen peptidlerin, biyomoleküller veya metalik nanoparçacıklar ile birleştirilmesiyle oluşan nanotüpler, yüksek hassasiyet ve seçiciliği olan biosensörler olarak görev yapabilir. Örneğin, metal iyonlarını tespit etmek amacıyla, lineer veya dallanmış alkil zincirler (sırasıyla 1 veya 2) içeren ve kendiliğinden monte olabilen, histidin bakımından zengin peptidler (HGGHGHGGGHH, HG12) piren ile etiketlenmiştir. Peptidlerin her iki formu da (1 veya 2) sulu ortamda nanolif oluşturma eğilimi göstermiştir. Her iki peptidin oluşturduğu supramoleküller, metal iyonlarına karşı farklı afinite göstermişlerdir. Histidinle (HG12 sekansı) kaplanmış nanolifler Cu^{+2} 'ya spesifik olarak bağladığından floresans ışımaya bloke edilmiştir. Öte yandan, Ag^{+} 'nin saptamasında ışıkla indüklenen elektron transferinin (PET) inhibisyonu nedeniyle, dallanmış alkil zincirler içeren peptidlerin (2. grup) düşük konsantrasyonunda bile floresan ışımaya gözlenmiştir. Bu sonuçlar nanoliflerin hücre içi görüntüleme çalışmalarında kullanılabileceğini göstermiştir [92].

Sonuç

Peptid bazlı supramoleküler nanoyapılar son yıllarda mükemmel biyouyumlulukları ve fonksiyonel özellikleri nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Bu amaçla, aromatik dipeptidler, yüzey aktif madde benzeri peptidler ve halkasal peptidler dahil olmak üzere pek çok peptid bazlı yapı bloğu tasarlanmış ve supramoleküler nanoyapıların oluşturulmasında kullanılmıştır. Bu çok yönlü nano ölçekli yapılar yeni bir nanomalzeme sınıfı olup çok sayıda araştırmacıya, biyonanoteknoloji, doku mühendisliği, rejeneratif tıp ve diş hekimliği gibi alanlarda ilham kaynağı olmuştur. Bu peptidlerin biyomateryaller olarak cazip seçenekler sunmasında; kolayca sentezlenebilmeleri ve çeşitli bileşikler eklenerek ilave işlevsel özellikler kazandırılabilmesi etkili olmuştur. Kendinden montajlı moleküler sistemlerin, bazı karmaşık ve önceden saptanamayan biyolojik olayları incelemek için de yeni fırsatlar sunacağı düşünülmektedir. Sonuç olarak genel bir yaklaşımla değerlendirildiğinde başta peptidler olmak üzere biyolojik yapı taşlarının yeniden tasarım ve kendiliğinden montajına dayanan moleküler mühendisliğin, gelecekte farklı disiplin ve sektörlerdeki sorunların çözümüne yönelik yenilikçi yaklaşımlar geliştireceğine ve yaşamımızı kolaylaştıracak yeni olanaklar sunacağına inanılmaktadır.

Kısaltmalar

CD: Dairesel Dikroizm; CPP: Hücre penetran peptidler; Dex: Deksametazon; DOX: Doksorubisin; ECM: Hücre dışı matriks; Fmoc: Florenilmetiloksikarbonil; hRBC: İnsan kırmızı kan hücreleri; KMP: Kendiliğinden montajlı peptidler; MRSA: Metisiline dirençli *S. aureus*; MSSA: Metisiline duyarlı *S. Aureus*; Nap: Naftalen; PA: Peptid amfifilleri; PEG: Poli etilen glikol; PLA: Polilaktik asit; PTX: Paklitakselin; RGD: Arginin-glisin-aspartik asit; SEM: Taramalı Elektron mikroskobu; SDS: Sodyum dodesil sülfat; TAT: Transkripsiyon transaktivatör; TEM: Transmisyon elektron mikroskobu; THF: Tetrahidrofuran; THP: Tetrahidropiran.

Kaynaklar

1. Whitesides, G., J. Kriebel, and B. Mayers, Self-assembly and nanostructured materials. In Nanoscale Assembly. editör: Springer, Boston, MA., 2005. p. 217–238.
2. Habibi, N., et al., Self-assembled peptide-based nanostructures: Smart nanomaterials toward targeted drug delivery. Nano Today, 2016. 11(1): p. 41–60. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2016.02.004>.
3. Ateş, H., ve E. Bahçeci, Nano Malzemeler için Üretim Yöntemleri. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi Part C: Tasarım ve Teknoloji, 2015. 3(2): p. 483-499. <<https://dergipark.org.tr/tr/pub/gujsc/issue/7467/98323>>.
4. Mandal, D., A.N. Shirazi, and K. Parang, Self-Assembly of Peptides to Nanostructures. Organic and Biomolecular Chemistry, 2014. 12(22). doi: 10.1039/c4ob00447g. Epub 2014 Apr 23.
5. Lowik, D., and J.C.M. Van Hest, Peptide based amphiphiles. Chemical Society Reviews, 2004. 33(4): p. 234–245. DOI: 10.1039/b212638a.

6. Antonietti, M., and S. Forster, Vesicles and liposomes: a self-assembly principle beyond lipids. *Advanced Materials* Deerfield, 2003. 15(16): p. 1323–1333. DOI: 10.1002/adma.200300010.
7. Liu, L., et al., The role of self-assembling polypeptides in building nanomaterials. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2011. 13(39): p. 17435–17444. DOI: 10.1039/c1cp21338e.
8. Gore, T, et al., Self-assembly of model collagen peptide amphiphiles. *Langmuir*, 2001. 17(17): p. 5352–5360. <https://doi.org/10.1021/la010223i>.
9. Tu, R.S., and M. Tirrell, Bottom-up design of biomimetic assemblies. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2004. 56(11): p. 1537–1563. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.10.047>.
10. Caplan, M.R., et al., Lauffenburger DA. Control of self-assembling oligopeptide matrix formation through systematic variation of amino acid sequence. *Biomaterials*, 2002. 23(1): p. 219–227. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(01\)00099-0](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00099-0).
11. Vauthey, S., et al., Molecular self-assembly of surfactant-like peptides to form nanotubes and nano-vesicles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002. 99(8): p. 5355–5360. <https://doi.org/10.1073/pnas.072089599>.
12. Von Maltzahn, G., et al., Positively charged surfactant-like peptides self-assemble into nanostructures. *Langmuir*, 2003. 19(10): p. 4332–4337. <https://doi.org/10.1021/la026526+>.
13. Hosseinkhani, H., P.D. Hong, and D.S. Yu, Self-assembled proteins and peptides for regenerative medicine. *Chemical Reviews*, 2013. 113(7): p. 4837–4861. <https://doi.org/10.1021/cr300131h>.
14. Cui, H., M.J. Webber, and S.I. Stupp, Self-assembly of peptide amphiphiles: from molecules to nanostructures to biomaterials. *Biopolymers*, 2010. 94(1): p. 1–18. <https://doi.org/10.1002/bip.21328>.
15. Dehsorkhi, A., V. Castelletto, and I.W. Hamley, Self-assembling amphiphilic peptides. *Journal of Peptide Science*, 2014. 20: p. 453–467. <https://doi.org/10.1002/psc.2633>.
16. Edwards-Gayle, C.J.C., and I.W. Hamley, Self-assembly of bioactive peptides, peptide conjugates, and peptide mimetic materials. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 2017. 15: p. 5867. <https://doi.org/10.1039/c7ob01092c>.
17. Song, Z., et al., Self-assembly of peptide amphiphiles for drug delivery: the role of peptide primary and secondary structures. *Biomaterial Science*, 2017. 5(12): p. 2369–2380. DOI:10.1039/c7bm00730b.
18. Zhang, S., et al., Spontaneous assembly of a self-complementary oligopeptide to form a stable macroscopic membrane. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993. 90(8): p. 3334–3338. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.8.3334>.
19. Zhang, S., et al., Unusually stable beta-sheet formation in an ionic self-complementary oligopeptide. *Biopolymers*, 1994. 34(5): p. 663–672. <https://doi.org/10.1002/bip.360340508>.
20. Zhang S, et al., Self-complementary oligopeptide matrices support mammalian cell attachment. *Biomaterials*, 1995. 16(18): p. 1385–1393. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(95\)96874-Y](https://doi.org/10.1016/0142-9612(95)96874-Y).
21. Kim, S, et al., Beta-sheet-forming, self-assembled peptide nanomaterials towards optical, energy, and healthcare applications. *Small*, 2015. 11(30): p. 3623–3640. <https://doi.org/10.1002/smll.201500169>.
22. Zhao, X.B., et al., Molecular self-assembly and applications of designer peptide amphiphiles. *Chemical Society Reviews*, 2010. 39(9): p. 3480–3498. DOI:10.1039/b915923c.
23. Zhang, S.G., Emerging biological materials through molecular self-assembly. *Biotechnology Advances*, 2002. 20(5–6): p. 321–339. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(02\)00026-5](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(02)00026-5).
24. Yokoi H., T. Kinoshita, and S.G. Zhang, Dynamic reassembly of peptide RADA16 nanofiber scaffold. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005. 102(24): p. 8414–8419. DOI:10.1073/pnas.0407843102.
25. Yang, Y., et al., Designer self-assembling peptide nanomaterials. *Nano Today*, 2009. 4(2): p. 193–210. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2009.02.009>.

26. Chen, P., Self-assembly of ionic-complementary peptides: a physicochemical viewpoint, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2005; 261: 3–24. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.12.048>.
27. Davis, M.E., et al., Injectable self-assembling peptide nanofibers create intramyocardial microenvironments for endothelial cells. *Circulation*, 2005. 111(4): p. 442–450. doi: 10.1161/01.CIR.0000153847.47301.80.
28. Wen, Y., et al., Coassembly of amphiphilic peptide EAK16-II with histidinylated analogues and implications for functionalization of beta-sheet fibrils in vivo. *Biomaterials*, 2014. 35(19): p. 5196–5205. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.03.009>.
29. He, B., X. Yuanb, and D. Jiang, Molecular self-assembly guides the fabrication of peptide nanofiber scaffolds for nerve repair. *RSC Advances*, 2014. p. 45. <https://doi.org/10.1039/c4ra01826e>.
30. Ghadiri, M.R., et al., Self-assembling organic nanotubes based on a cyclic peptide architecture. *Nature*, 1993. 366(6453): p. 324–327. DOI: 10.1038/366324a0.
31. Hartgerink, J.D., et al., Self-assembling peptide nanotubes. *Journal of the American Chemical Society*, 1996. 118(1): p. 43–50. <https://doi.org/10.1021/ja953070s>.
32. Ishihara, Y. and S. Kimura, Nanofiber formation of amphiphilic cyclic tri- β -peptide. *Journal of Peptide Science*, 2010. 16(2): p. 110–114. DOI: 10.1002/psc.1206.
33. Chapman, R., et al., Design and properties of functional nanotubes from the selfassembly of cyclic peptide templates. *Chemical Society Reviews*, 2012. 41(18): p. 6023–6041. DOI: 10.1039/c2cs35172b.
34. De Santis, P., E. Forni, R. Rizzo, Conformational analysis of DNA-basic polypeptide complexes: possible models of nucleosome protamines and nucleosome histones. *Biopolymers*, 1974. 13(2): p. 313–326. DOI: 10.1002/bip.1974.360130207.
35. Shaikh, H., et al., Hydrogel and Organogel Formation by Hierarchical Self-Assembly of Cyclic Peptides Nanotubes. *Chemistry A European Journal*, 2018. 24: p. 19066–19074. <https://doi.org/10.1002/chem.201804576>.
36. Lim, Y-b., E. Lee, and M. Lee, Controlled Bioactive Nanostructures from Self-Assembly of Peptide Building Blocks. *Angewandte Chemie International Edition*, 2007. 46: p. 9011–9014. <https://doi.org/10.1002/anie.200702732>.
37. Mandal, D., et al., Self-assembled surfactant cyclic peptide nanostructures as stabilizing agents. *Soft Matter*, 2013. 9: p. 9465–9475. DOI: 10.1039/C3SM50764E.
38. Adler-Abramovich, L. and E. Gazit, The physical properties of supramolecular peptide assemblies: from building block association to technological applications. *Chemical Society Reviews*, 2014. 43: p. 6881–93. DOI: 10.1039/c4cs00164h.
39. Fleming, S. and R.V. Ulijn, Design of nanostructures based on aromatic peptide amphiphiles. *Chemical Society Reviews*, 2014. 43: p. 8150–77. DOI: 10.1039/c4cs00247d.
40. Tang, C., R.V. Ulijn, and A. Saiani, Effect of glycine substitution on Fmoc-diphenylalanine self-assembly and gelation properties. *Langmuir*, 2011. 27: p. 14438–49. DOI: 10.1021/la202113j.
41. Kuang, Y., et al., The first supramolecular peptidic hydrogelator containing taurine. *Chemical Communication*, 2014. 50: p. 2772–4. DOI: 10.1039/c3cc48832b.
42. Ou, C., et al., Phenothiazine as an aromatic capping group to construct a short peptide-based ‘super gelator’. *Chemical Communication*, 2013. 49: p. 1853–5. DOI: 10.1039/c3cc38409h.
43. Garifullin, R. and M.O. Guler, Supramolecular chirality in self-assembled peptide amphiphile nanostructures. *Chemical Communication*, 2015. 51: p. 12470–3. DOI: 10.1039/c5cc04982b.
44. Tena-Solsona, M., J.F. Miravet, and B. Escuder, Tetrapeptidic molecular hydrogels: self-assembly and Coaggregation with amyloid fragment A β 1-40. *Chemistry A European Journal*, 2014. 20: p. 1023–31. DOI: 10.1002/chem.201302651.

45. Matsuzawa, Y. and N. Tamaoki, Photoisomerization of azobenzene units controls the reversible dispersion and reorganization of fibrous self-assembled systems. *The Journal of Physical Chemistry*, 2010. 114: p. 1586–90. DOI: 10.1021/jp909460a.
46. Zeng, G., et al., Transition of chemically modified diphenylalanine peptide assemblies revealed by atomic force microscopy. *RSC Advances*, 2014. 4: p. 7516–20. DOI: 10.1039/c3ra46718j.
47. Qin, S.Y., et al., Adjustable nanofibers self-assembled from an irregular conformational peptide amphiphile. *Polymer Chemistry*, 2015. 6: p. 519–24. DOI: 10.1039/C4PY01237B.
48. Martin, A.D., et al., A capped dipeptide which simultaneously exhibits gelation and crystallization behavior. *Langmuir*, 2016. 32: p. 2245–50. DOI: 10.1021/acs.langmuir.5b03963.
49. Adler-Abramovich, L. and E. Gazit, Controlled patterning of peptide nanotubes and nanospheres using inkjet printing technology. *Journal of Peptide Science*, 2008. 14: p. 217–23. DOI: 10.1002/psc.963.
50. Kopecek, J., Smart and genetically engineered biomaterials and drug delivery systems. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2003. 20(1): p. 1–16. [https://doi.org/10.1016/S0928-0987\(03\)00164-7](https://doi.org/10.1016/S0928-0987(03)00164-7).
51. Rajagopal, K. and J.P. Schneider, Self-assembling peptides and proteins for nanotechnological applications. *Current Opinion in Structural Biology*, 2004. 14(4): p. 480–486. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2004.06.006>.
52. Santana, H., et al., How does growth hormone releasing hexapeptide self-assemble in nanotubes? *Soft Matter*, 2014. 10(46): p. 9260–9269. DOI: 10.1039/C4SM01693A.
53. Su, C.W., et al., Multifunctional nanocarriers for simultaneous encapsulation of hydrophobic and hydrophilic drugs in cancer treatment. *Nanomedicine*, 2014. 9(10): p. 1499–1515. DOI: 10.2217/nnm.14.97.
54. Webber, M. J., et al., Controlled release of dexamethasone from peptide nanofiber gels to modulate inflammatory response. *Biomaterials*, 2012. 33(28): p. 6823–6832. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.06.003.
55. Yishay-Safranchik, E., M. Golan, and A. David, Controlled release of doxorubicin and Smac-derived pro-apoptotic peptide from self-assembled KLD-based peptide hydrogels. *Polymer for Advanced Technologies*, 2014. 25(5): p. 539–544. <https://doi.org/10.1002/pat.3300>.
56. Yu, Z., et al., Self-assembling peptide nanofibrous hydrogel as a versatile drug delivery platform. *Current Pharmaceutical Design*, 2015. 21(29): p. 4342–4354. DOI: 10.2174/1381612821666150901104821.
57. Fan, T., et al., Peptide Self-Assembled Nanostructures for Drug Delivery Applications. *Hindawi Journal of Nanomaterials*, 2017. p. 16. <https://doi.org/10.1155/2017/4562474>.
58. Zhua, F., et al., Self-assembled polymeric micelles based on THP and THF linkage for pH-responsive drug delivery. *Polymer*, 2014. 55(13): p. 2977–2985. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2014.05.010>.
59. Zou, L.L., et al., Cell-penetrating peptide-mediated therapeutic molecule delivery into the central nervous system. *Current Neuropharmacology*, 2013. 11(2): p.197-208. DOI: 10.2174/1570159X11311020006.
60. Zhang, P., et al., Self-assembled tat nanofibers as effective drug carrier and transporter. *American Chemical Society Nano*, 2013. 7(7): p. 5965–5977. DOI: 10.1021/nn401667z.
61. Silva, G.A., et al., Selective differentiation of neural progenitor cells by high-epitope density nanofibers. *Science*, 2004. 303(5662): p. 1352–1355. DOI: 10.1126/science.1093783.
62. Wan, A.C.A. and J.Y.Ying, Nanomaterials for in situ cell delivery and tissue regeneration. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2010. 62(7–8): p. 731–740. DOI: 10.1126/science.1093783.
63. Kisiday, J., et al., Self-assembling peptide hydrogel fosters chondrocyte extracellular matrix production and cell division: Implications for cartilage tissue repair. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002. 99(15): p. 9996–10001. DOI: 10.1073/pnas.142309999.

64. Hosseinkhani, H., et al., Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in self assembled-peptide amphiphile nanofibers. *Biomaterials*, 2006. 27: p. 4079. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.03.030>.
65. Keung, A.J., S. Kumar, and D.V. Schaffer, Presentation Counts: Microenvironmental Regulation of Stem Cells by Biophysical and Material Cues. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2010. 26: p. 533–556. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-100109-104042.
66. Hartgerink, J.D., E. Beniash, and S.I. Stupp, Self-assembly and mineralization of peptide amphiphile nanofibers. *Science*, 2001. 294: p. 1684. DOI: 10.1126/science.1063187.
67. Beniash, E., et al., Self-assembling peptide amphiphile nanofiber matrices for cell entrapment. *Acta Biomaterialia*, 2005. 1: p. 387. DOI: 10.1016/j.actbio.2005.04.002.
68. Sargeant, T. D., Hybrid bone implants: Self-assembly of peptide amphiphile nanofibers within porous titanium. *Biomaterials*, 2008. 29: p.161. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.09.012>.
69. Van Kan, E.J.M., et al., Membrane activity of the peptide antibiotic clavanin and the importance of its glycine residues. *Biochemistry*, 2001. 40(21): p. 6398–6405. DOI: 10.1021/bi0028136.
70. Galanth, C., et al., Mechanism of antibacterial action of dermasseptin B2: interplay between helix-hinge-helix structure and membrane curvature strain. *Biochemistry*, 2009. 48(2): p. 313-27. doi: 10.1021/bi802025a.
71. Chen, C., et al., Antibacterial activities of short designer peptides: a link between propensity for nanostructuring and capacity for membrane destabilization. *Biomacromolecules*, 2010. 11(2): p. 402–411. <https://doi.org/10.1021/bm901130u>.
72. Veiga, A.S., et al., Arginine-rich self-assembling peptides as potent antibacterial gels. *Biomaterials*, 2012. 33(35): p. 8907–8916. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.08.046.
73. Häffner, S.M. and M. Malmsten, Influence of self-assembly on the performance of antimicrobial peptides. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 2018. 38: p. 56-79. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2018.09.002>.
74. Schnaider, L., et al., Self-assembling dipeptide antibacterial nanostructures with membrane disrupting activity. *Nature Communications*, 2017. 8: p. 1365. DOI: 10.1038/s41467-017-01447-x.
75. Rodríguez-Vázquez, N., et al., Membrane-targeted self-assembling cyclic peptide nanotubes. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2014. 14(23): p. 2647-61. DOI: 10.2174/1568026614666141215143431.
76. Salick, D.A., et al., Inherent antibacterial peptide-based b-hairpin hydrogel. *Journal of the American Chemical Society*, 2007. 129: p. 14793–14799. DOI: 10.1021/ja076300z.
77. Salick, D.A., D.J. Pochan, and J.P.Schneider, Design of an injectable b-hairpin peptide hydrogel that kills methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Advanced Materials*, 2009. 21: p. 4120–4123. DOI: 10.1002/adma.200900189.
78. Lombardi, L., et al., Enhancing the Potency of Antimicrobial Peptides through Molecular Engineering and Self-Assembly. *Biomacromolecules*, 2019. 20(3): p. 1362-1374. DOI: 10.1021/acs.biomac.8b01740.
79. Liu, L., et al., Self-assembled cationic peptide nanoparticles as an efficient antimicrobial agent. *Nature Nanotechnology*, 2009. 4: p. 457–463. DOI: 10.1038/nnano.2009.153.
80. Ahmed, E.M., Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of Advanced Research*, 2015. 6: p. 105–121. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.006>.
81. Xing, R., et al., Self-Assembled Injectable Peptide Hydrogels Capable of Triggering Antitumor Immune Response. *Biomacromolecules*, 2017. 18(11): p. 3514-3523. DOI: 10.1021/acs.biomac.7b00787.
82. Cheng, G., et al., Hydrogelation of self-assembling RGD-based peptides. *Soft Matter*, 2011. 7: p. 1326–1333. DOI: 10.1039/c0sm00408a.

83. Lavery, G., et al., Ultrashort Cationic Naphthalene-Derived Self-Assembled Peptides as Antimicrobial Nanomaterials. *Biomacromolecules*, 2014. 15: p. 3429–3439. DOI: 10.1021/bm500981y.
84. Albadr, A.A., S.M.Coulter, and S.L. Porter, Thakur RRS and Lavery G. Ultrashort Self-Assembling Peptide Hydrogel for the Treatment of Fungal Infections. *Gels*, 2018. 4(2): p. 48. DOI: 10.3390/gels4020048.
85. Verma, G., V.K. Aswal, and P. Hassan, Ph-Responsive Self Assembly in an Aqueous Mixture of Surfactant and Hydrophobic Amino Acid Mimic. *Soft Matter*, 2009. 5: p. 2919–2927. DOI: 10.1039/b900891h.
86. Tine, M.R., et al., Effect of Temperature on Self-Assembly of an Ionic Tetrapeptide. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2011. 103: p. 75–80. DOI: 10.1007/s10973-010-1060-x.
87. Ozores, H.L., M. Amorín, and J.R.Granja, Self-Assembling Molecular Capsules Based on α,γ -Cyclic Peptides. *Journal of the American Chemical Society*, 2017. 139(2): p. 776-784. DOI: 10.1021/jacs.6b10456.
88. Fung, S.Y., et al., Concentration Effect on the Aggregation of a Self-Assembling Oligopeptide. *Biophysical Journal*, 2003. 85(1): p. 537–548. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(03\)74498-1](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(03)74498-1).
89. Jin, W., X. Shi, and F. Caruso, High Activity Enzyme Microcrystal Multilayer Films. *Journal of the American Chemical Society*, 2001. 123: p. 8121. <https://doi.org/10.1021/ja015807l>.
90. Guler, M.O., R.C. Claussena, and S.I. Stupp, Encapsulation of pyrene within self-assembled peptideamphiphile nanofibers. *Journal of Materials Chemistry*, 2005. 15(42). DOI: 10.1039/b509246a.
91. Chang, R., L. Sun, and T.J. Webster, Selective inhibition of MG-63 osteosarcoma cell proliferation induced by curcumin-loaded self-assembled arginine-rich-RGD nanospheres. *International Journal of Nanomedicine*, 2015. 10: p. 3351–3365. doi: 10.2147/IJN.S78756.
92. Kim, I., et al., A “light-up” 1D supramolecular nanoprobe for silver ions based on assembly of pyrene-labeled peptide amphiphiles: cell-imaging and antimicrobial activity. *Journal of Materials Chemistry*, 2014. 2(38): p. 6478–6486. DOI: 10.1039/C4TB00892.