



DNA: 结构、链替换反应和反应网络

肖石燕^{*†}, 李成勳[†], 梁好均^{*}

中国科学技术大学化学与材料科学学院, 精准智能化学重点实验室, 合肥 230026

[†]同等贡献

^{*}通讯作者, E-mail: xiaosy@ustc.edu.cn; hjliang@ustc.edu.cn

收稿日期: 2023-01-07; 接受日期: 2023-02-20; 网络版发表日期: 2023-03-31

国家重点研发计划(编号: 2020YFA0710703)、国家自然科学基金(编号: 22073090, 21991132, 52021002)、中国科学院青年创新促进会(编号: 2022464)和中央高校基本科研业务费专项资金资助项目

摘要 DNA不仅是生物遗传信息的载体, 更是一种可精确操控和设计、高度生物相容的高分子材料. 由于DNA的特异性碱基互补配对和碱基序列的可编程性, 人们设计了DNA链替换反应. 基于链替换反应, 可以构建链替换反应网络, 实现特定的功能. 本文综述了近年来在DNA结构和力学性质、链替换反应的微观机制和速率调控机制、反应网络构建和调控, 及其在球形核酸自组装和细胞组装等方面的研究进展. 最后, 我们展望了DNA链替换反应网络未来研究和发展方向.

关键词 DNA, DNA力学性质, 链替换反应, 反应网络, 自组装, 细胞组装

1 引言

脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)是生命体最重要的分子之一, 作为遗传信息的重要载体, 其存储着生命体的遗传密码^[1], 并按照中心法则^[2], 调控生物的生命活动. DNA是由腺嘌呤(A)、胸腺嘧啶(T)、鸟嘌呤(G)和胞嘧啶(C)四种脱氧核糖核苷酸, 通过氢键互补配对, 以脱氧核糖(五碳糖)为骨架形成的双螺旋大分子. 具有疏水性的碱基对, 通过 π - π 作用彼此堆叠, 置于分子的内侧; 脱氧核糖和磷酸基团通过磷酸二酯键相连构成并排列在外侧. DNA有多种结构形态, 比如A、B、Z等构型. 其中, B-DNA双螺旋结构是最常见, 也是生理环境中最为普遍的构型.

从高分子物理的角度上看, DNA是一种经典的模

型高分子. DNA带有强负电, 是一种典型的聚电解质大分子. DNA分子结构精细, 其合成、修饰都比较简单, 链长和序列可以精准设计和控制. 对DNA, 当其链长超过1000个碱基对(bp)时, 人们可以采用蠕虫链(worm-like chain, WLC)来描述. 在生理条件下, DNA的持续长度(persistence length)约为50 nm, 即150 bp的长度. 在不同的离子环境和离子强度下, DNA的持续长度会表现出显著的差异, 范围在40~80 nm^[3,4]. 当DNA链长足够长时, 我们可以将其视为结构均一的高分子; 而当链长较短时, 其力学和构象性质的序列相关性将会被凸显出来.

DNA的碱基互补配对特性和序列可编程性, 使DNA的功能不再局限于作为遗传物质, 同时也是一种理想的、可精准设计和控制的生物相容材料. See-

引用格式: Xiao S, Li C, Liang H. DNA: structure, strand displacement and reaction network. *Sci Sin Chim*, 2023, 53: 721–733, doi: 10.1360/SSC-2023-0006

man^[5]于1982年创造性地提出, 通过精确设计碱基序列, 长链和短链DNA可以通过“退火”的方式组装, 构建纳米器件. Seeman的思想为精确设计和构筑复杂纳米器件提供了基础. 此后, 基于DNA设计的各种复杂器件被成功构建出来, DNA折纸领域得到了蓬勃发展^[6]. 2000年, Yurke等^[7]提出了一种被称为“toehold调控的链替换”的反应, 在DNA双链的一端, 保留一定长度的单链结合位点(toehold端, 即黏性末端), 溶液中的互补链可以与toehold端结合, 启动分支迁移反应, 将原本结合的保护链替换下来. 基于链替换反应, 人们可以构建各种复杂的反应线路, 实现特定的功能, 甚至与细胞的生理活动相结合, 实现对细胞生理过程的调控. 基于链替换反应的DNA动态反应网络在DNA计算、分子识别、重大疾病诊疗、信息存储、基因调控等方面具有潜在的应用前景^[8-10].

本文回顾了近年来在DNA刚性、toehold链替换反应的微观物理机制、DNA链替换反应线路调控等方面的研究进展, 并对DNA链替换反应线路调控的研究和应用前景进行展望.

2 短链DNA力学性质

DNA的物理性质与其生理功能的完成密切相关, 包括遗传信息存储、DNA折叠、转录等. 因此, 长期以来, DNA的物理性质是广受关注的研究课题^[11]. 对DNA, 在链长大于1000 bp时, 其精细的化学结构通常被忽略, DNA被视为性质均一的半刚性高分子^[11], 其可以很好地使用高分子蠕虫链模型来描述. 但是, DNA生物功能的完成, 往往与其短链尺度的力学性质和构象转变密切相关. 因此, 近年来, DNA短链尺度的力学和构象转变性质受到了人们的广泛关注.

通常, 人们视碱基为刚性的平面结构. Raber等^[12]发现, 对含氮六元环结构柔顺性, 非芳香性六元环从平面扭转至160°非平面结构, 所需要的能量仅为1.5 kcal/mol. 更加直接的证据则来源于第一性原理分子动力学模拟. Leszczynski等^[13]采用CPMD (Car-Parrinello molecular dynamics)对单个碱基的研究发现, 在300 K的室温下, 嘧啶环有30%的结构为非平面结构. 肖石燕和梁好均^[14]通过第一性原理分子动力学模拟, 进一步研究了碱基对的构象柔顺性. 他们发现, 在孤立状态下, 碱基嘧啶环的刚性与环的芳香性密切相关. T碱基的芳

香性最小, 其表现出的柔顺性最强; 而A碱基的芳香性最强, 刚性最大. 5种碱基的刚性排序为: $A > G \approx C > U \approx T$, 与其芳香性强弱是一致的. 碱基对间的氢键相互作用同样会影响碱基柔顺性. 碱基配对增强G、T和U的刚性, 减弱A的刚性, 对C则影响很小. Shishkin和Furmanchuk等^[15,16]发现, 碱基的柔顺性会受到周围溶剂的影响. 在溶液中, G、C、T的刚性会增强, 而A的刚性减弱. 在生理条件下, 碱基对间会发生质子转移, 形成所谓的“亚胺-烯醇”(imino-enol)异构体. 肖石燕和梁好均等^[17]采用CPMD模拟, 借助约束分子动力学和赝动力学(metadynamics)等稀有事件加强采样方法, 第一次构建了室温下GC和AT碱基对质子转移的完整自由能面, 他们发现GC和AT之间双质子转移能垒分别为~14和~7 kcal/mol. 这些结果表明, 组成DNA的碱基具有很强的柔顺性; 在生理环境下, 碱基对变异和异构体的存在对DNA局域结构和柔顺性描述提出了新的挑战.

通常, DNA被默认为是一种非常刚性的聚电解质. 通过单分子实验, 在溶液中的持续长度测量值约为50 nm, 即150 bp. 但是, DNA实际力学性质则远比人们设想的理想情况要复杂得多. 生物学方面的证据表明, 短于150 bp的DNA片段也会发生大幅度的弯曲^[18]. 而在高分子物理的角度, 当DNA链长小于持续长度时, 人们通常认为DNA为刚性棒, 是无法发生弯曲的. 这个矛盾的现象, 激发了人们对短链DNA力学性质研究的广泛兴趣. Wiggins、Vafabakhsh和Ha等^[19,20]通过原子力显微镜和成环实验, 发现短于100 bp的DNA链段能发生强弯曲, 表现出强柔顺性. Noy和Golestanian^[21]通过分子动力学模拟, 发现DNA的扭转模量在小于1个螺旋周期时会突然减少. 这些研究结果, 对DNA的蠕虫链理想描述提出了挑战. 为了解释DNA在短链尺度上的强柔顺性, 人们引入了链段局域瞬时解离(“bubbles”)^[22]、扭结(kink)^[23]或者碱基对破缺(opening)^[24]. 但是, 这些理论解释至今未获得明确的实验证据支持. 部分理论和实验工作研究依然对DNA在短链尺度的强柔顺性持怀疑态度. 比如, Mazur等^[25]通过原子力显微镜测量了短链DNA的弯曲, 提出DNA长度大于3个螺旋周期(10.5 nm)时, 仍然符合蠕虫链理想模型描述. 这些研究结果表明, DNA短链尺度的力学性质描述, 依然存在争议; 尤其是蠕虫链的长度适用极限, 是值得关注的问题^[26,27].

为探讨蠕虫链模型在短链尺度DNA上的适用极限,肖石燕和梁好均等^[28]发展了“中性”异构体模型.他们通过对比正常带电的DNA与其“中性”异构体在构象、刚性等性质上的差异,探讨了短链尺度DNA物理性质的链长依赖性.他们的研究表明,对“中性”异构体,在各个链段长度上,其弯曲角概率分布均可以很好地符合 $\ln(P) \sim (1 - \cos\theta)$ 线性关系,其中 θ 为链段弯曲角度, P 为概率.这表明,“中性”DNA在所有链长尺度上都可以很好地符合蠕虫链理想模型.而对正常带电DNA,在链长大于25 bp时,弯曲角概率分布 $\ln(P)$ 与 $(1 - \cos\theta)$ 是线性相关的;短于25 bp时, $\ln(P)$ 与 $(1 - \cos\theta)$ 是偏离线性关系的,而且链长越短,偏离程度越大(图1)^[29].这表明,链长在短于25 bp时,DNA是偏离蠕虫链理想模型的,而骨架的静电排斥作用,正是导致短链DNA偏离蠕虫链理想描述的原因.这也可以认为,骨架静电排斥作用,是对DNA力学弹性的干扰;当链段越短时,骨架静电排斥作用影响越大.有趣的是,他们发现,相比于正常带电DNA,在大于2个螺旋周期时,“中性”异构体拉伸模量更小;而在小于2个螺旋周期时,“中性”异构体拉伸模量更大.这个现象说明,骨架静电排斥作用对DNA刚性的贡献,具有链长依赖性.与传统上认为骨架静电相互作用对DNA柔顺性的影响是均一性的观点相比,这些研究结果是新的认识和理解.

DNA刚性的序列依赖性和离子环境对其结构和柔顺性的影响,也是人们关注的重要问题.在链长较长时,DNA可以被视为均一的高分子;当链长越短时,其结构和力学性质的序列特异性会被凸显出来.比如,人们发现,A-tracts序列对DNA的柔顺性有两个作用:(1)它会导致DNA的定向弯曲;(2)A-tracts自身会展现出较强的刚性^[30].肖石燕和梁好均等^[28]发现,骨架静电排斥作用对DNA的影响也与序列相关.他们发现,DNA中性化会使GC序列刚性增强,AT序列刚性减弱.代亮、张兴华、谭志杰等^[31,32]通过磁镊实验表明,当离子强度增强时,DNA扭转(twist)加剧,减小DNA半径.DNA序列与DNA高级结构(如DNA超螺旋)之间的关联,也是目前值得关注的问题.

通常,人们认为DNA刚性来源于两部分贡献:碱基对间 π - π 堆叠作用和骨架静电排斥作用.这两种作用,谁对DNA的刚性起主导作用,一直存在较大的争议.Odijk、Skolnick和Fixman (OSF)^[33,34]认为,静电相互作用对DNA持续长度的贡献不到~10%.而Man-

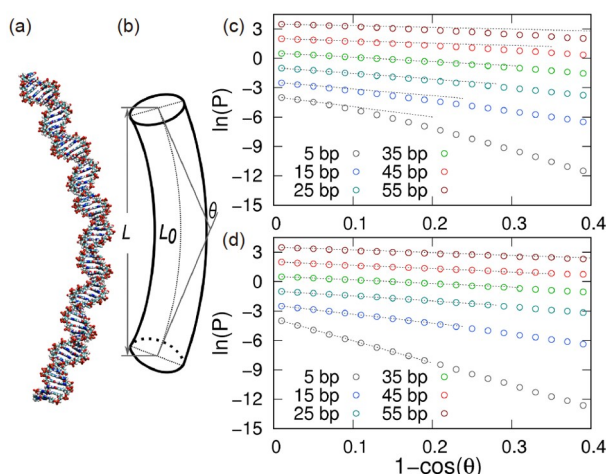


图1 (a) 长度为63个碱基对的短链DNA; (b) DNA轮廓长度示意图(L_0)、端到端距离(L)和弯曲角度(θ); 正常带电DNA片段(c)和中性异构体DNA片段(d)弯曲角度的概率分布,在中性异构体DNA片段中,骨架磷酸基团是中性的.计算中,DNA片段长度分别取值为5、15、25、35、45和55 bp^[29](网络版彩图)

Figure 1 (a) 63 bp DNA oligomer; (b) schematic diagram of the DNA contour length (L_0), end-to-end distance (L), and bending angle (θ). Probability distribution for bending angles in DNA fragments of $N = 5, 15, 25, 35, 45$, and 55 bp, in normal DNA (c), and neutral DNA (d), in which backbone phosphates are neutralized^[29] (color online).

ning^[35]则提出了正好相反的理论,他认为,DNA刚性主要由静电作用贡献.Papoian等^[36]通过分子模拟,发现 π - π 堆叠和静电作用对DNA持续长度的贡献几乎相等.肖石燕和梁好均等^[29]通过全原子分子模拟计算了全原子“中性”异构体和正常带电DNA的持续长度,发现静电相互作用对DNA持续长度的贡献为~10%,与OSF的理论一致.

对DNA分子,其短链物理性质依然是目前人们关注的焦点.短链DNA的构象柔顺性、结构转变等性质具有序列特异性,不仅与其局域生物功能相关,也与DNA高级形态、大尺度上的DNA折叠,以及染色质组装动力学等密切相关^[37].因此,短链DNA的物理性质,值得我们持续关注和深入研究.

3 DNA链替换反应微观机制

3.1 DNA杂交

DNA杂交是两条游离的互补单链复合成双链的过程.其不仅是DNA生物功能的基本过程之一,也是DNA纳米器件构筑的基本步骤.对toehold调控的链替

换反应, toehold链段的结合就是杂交过程. 在分子水平上精准地控制DNA杂交动力学, 是基因复制和调控功能完成的关键. 通常, DNA杂交被假定为一级转变的“两态”反应, 这种假定符合阿伦尼乌斯关系, 对实验上进行数据处理非常方便^[38]. 但是实际上, 这种观点可能忽视了杂交反应的微观动力学机制, 尤其是DNA序列在其中的关键作用.

对发卡DNA折叠的研究表明, 除了“打开”和“折叠”两个态以外, 还存在所谓的“收缩”态(collapsed state)^[39], 并且其能垒与G:C碱基对的位置和数量相关. 通过二维红外光谱对10个碱基对的短链解离过程研究表明, G:C碱基对在链段中间和末端时, 对其解离动力学过程有显著差异^[40]. 当GC碱基对位于链段末端时, 其解离过程符合“两态”模型; 而当其位于链段中部时, 它偏离“两态”模型. Hagan等^[41]采用全原子分子动力学模拟结合自由能计算, 研究了3个bp的寡聚DNA中单个碱基对的结合和解离过程, 发现该过程存在多条结合路径, 且在自由能面上存在多个中间态.

肖石燕等^[42]通过引入Energy Landscape计算, 针对GC-tracts和GG-tracts寡聚DNA链段, 构建了这两种寡聚链段的杂交反应网络. GC-tracts和GG-tracts的自由能树形景观图, 具有明显的差异. GC-tracts序列自由能面上, 存在on-path漏斗, 对应其在反应过程中的动力学陷阱态(图2). 他们发现, 对短链DNA杂交, GG-tracts的反应速率要远大于GC-tracts. 其存在两条可能的路径: 拉链式配对路径(zippering)和滑行式配对路径(slitthering). 对滑行式配对路径, GC-tracts序列的自由能垒, 明显要高于GG-tracts. 对拉链式杂交路径, 单链倾向于在链中端结合, 然后往两端延伸. 不同的是, GG-tracts序列的两条单链在初始结合时, 容易发生碱基序列错位, 需要通过链滑移得到完美互补结构. 对GC-tracts序列, 两条单链在接触时即倾向于正好配对, 这样可以避免链间错位结合而重组, 这会大大降低GC-tracts杂交的难度. 他们进一步研究了反应速率与温度的关联, 发现反应速率与温度的关系是偏离阿伦尼乌斯线性关系的, 这表明短链DNA杂交是偏离“两态”模型的, 并且在不同的温度下, 反应路径存在显著的差异. Ferguson等^[43]发现, 在AT-tracts序列的中间或者末端, 引入G:C碱基对, 可以有效地减少杂交自由能面中的亚稳态, 并使反应路径多样性减少.

当链长较长时, DNA构象的自由能面会更加复杂.

除了“解离”和“完全复合”两种结构之外, 还有错位、假结(pseudoknot)、凸起(bulge)等多种结构^[44]. 更重要的是, DNA杂交速率等与其所处的环境也密切相关. 在细胞内环境时, 细胞内部拥挤的环境和特异性相互作用的存在, 会使DNA杂交表现出与非细胞溶液条件下不同的性质. Braun等^[45]发现, 相比于自由溶液, 16 bp的核酸探针在细胞中的杂交速率显著加快.

3.2 DNA链替换反应

Toehold调控的DNA链替换反应是DNA恒温动态纳米技术的核心. Toehold调控的DNA链替换反应是溶液中的DNA双链, 保留一定长度的单链toehold端, 游离的DNA单链(输入/入侵链), 在toehold的协助下, 将保护链从DNA双链底物中替换下来的反应(图3a). 在没有toehold协助的情况下, 链替换反应通常是处于阻断的状态, 但由于DNA双链的自发解离和末端呼吸, 链替换反应依然会以较低的速率发生^[46]. Toehold的作用, 一方面加快链替换反应速率, 另一方面用于调控链替换反应速率. Zhang和Winfree^[47]提出, 在链替换反应完成之后, 若产物双链的底物链上再次暴露一个新的toehold, 这种链替换反应被称为toehold交换(toehold exchange)反应(图3b). 这个隐藏(incumbent)的toehold可以参与下一级的链替换反应. 在toehold交换反应中, 链替换反应速率与其热力学能量变化不再相互关联, 从而在保证反应速率的同时, 提高了反应的可控制性和可设计性. Toehold交换反应为复杂链替换反应网络的设计和构建提供了极大的灵活性^[8,9,48-51].

泄漏(leakage)反应是制约DNA链替换反应网络设计和构建的难题. 泄漏反应, 即副反应, 是指在无toehold的情况下, 溶液中的入侵链或其他互补链与底物链结合, 诱发链替换反应的发生并释放信号. 对DNA反应网络, 链替换反应彼此串联或并联, 反应通路多, 泄漏反应会严重影响DNA链替换反应网络的正常运行. 因此, 如何抑制泄漏反应, 是DNA链替换反应网络的重要课题. 泄漏大致可以分为两类: 初始泄漏(initial leakage)和渐进泄漏(asymptotic leakage)^[52,53]. 初始泄漏是指反应开始时, 信号非正常地突然增加, 这是由DNA链合成缺陷、孵育和折叠错误等造成的底物纯度低导致的^[49,54]. 渐进泄漏是指在没有输入链的情况下, 输出信号持续增长, 这主要是由于钝端堆积^[55,56]、末端“呼吸”效应以及链间相互作用^[57], 导致

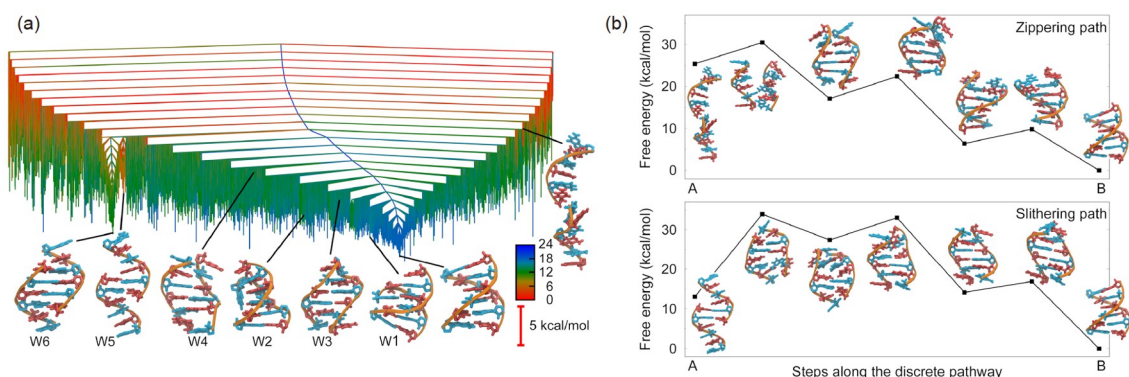


图 2 (a) d(GCGCGC)片段杂交自由能树形图, 计算温度为298 K, 自由能计算阈值为 $-10 \text{ kcal mol}^{-1}$. (b) 上图为d(GCGCGC)的解离状态(A)与完全杂交状态(B)之间的最速自由能拉链(zippering)路径. 下图为d(GCGCGC)错位四个碱基的状态(A)与完全杂交状态(B)之间的最速自由能滑行(slithering)路径^[42](网络版彩图)

Figure 2 (a) Free energy disconnectivity graph for the hybridization of d(GCGCGC), obtained at a temperature of 298 K and a regrouping threshold of $-10 \text{ kcal mol}^{-1}$. (b) Top: fastest free energy zippering pathway between the conformational ensembles corresponding to dissociated (A) and fully hybridized (B) states for d(GCGCGC). Bottom: fastest free energy slithering pathway between the ensemble of structures slipped by four bases (A) and the fully hybridized state (B) for d(GCGCGC) ^[42] (color online).

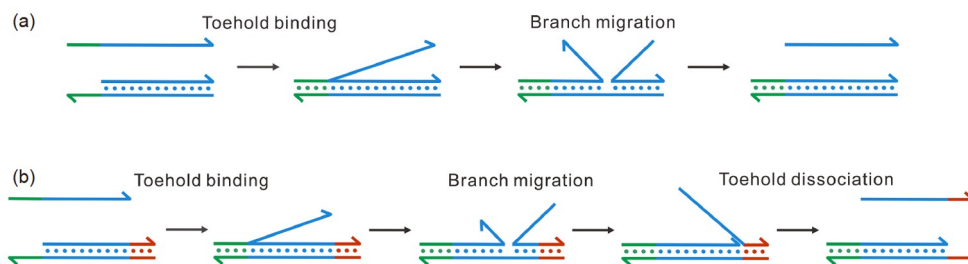


图 3 (a) Toehold介导的DNA链替换反应示意图. (b) Toehold链交换反应示意图(网络版彩图)

Figure 3 (a) Schematic diagram of toehold-mediated DNA strand displacement reactions. (b) Schematic diagram of toehold exchange reaction (color online).

DNA链末端暴露结合位点, 从而使底物链与溶液中的互补链结合, 并最终释放信号链. 为了抑制泄漏反应, 人们提出了许多解决方案. Ellington等^[52]通过使用生物素化方法移除错误折叠的发卡结构、延长孵育时间、使用酶合成DNA等方式, 成功地大幅降低了发卡反应的初始泄漏, 实现了两级发夹链替换反应网络. Qian和Winfree^[49]通过引入“夹钳”区域(clamp)来降低逻辑门的泄漏反应. Jiang等^[58]通过在发卡的loop部分引入错配, 降低了发卡链替换反应的泄漏信号. Seelig等^[59]使用质粒在细菌中合成DNA底物链来降低DNA合成的缺陷, 从而降低初始泄漏. 针对长链线性底物的泄漏问题, 肖石燕和梁好均等^[60]提出, 在链替换反应分支迁移步骤中, 引入能垒来抑制泄漏反应, 降低泄漏信号. 据此, 他们提出了一种新的底物策略——组合底物(图4a). 组合底物是由预纯化的短双链DNA底物, 通过尾端彼此相连的方式构筑成的长链多链底物.

相比于线性底物, 组合底物的优势主要体现在三个方面: 首先, 组合底物不需要合成长的DNA单链, 从而避免了长单链DNA的合成错误和较高的合成成本; 其次, 传统的PAGE纯化方法能够获得高纯度的短DNA底物, 将高纯度的短DNA底物组合在一起形成长DNA底物, 可以有效地抑制初始泄漏; 最后, 基于理论计算得到的DNA链替换反应自由能面表明, 组合底物中的扭链结构(junction)相当于在渐进泄漏反应的过程中引入了额外的能垒, 从而有效地抑制了渐进泄漏反应(图4b). 作为一种新的底物策略, 组合底物策略可以应用于复杂核酸探针的设计和复杂反应网络的构建, 在体外诊断和检测中的具有潜在应用价值.

3.3 DNA链替换反应的微观机理及速率调控

DNA链替换反应是DNA恒温动态纳米技术的基础, 理解链替换反应的微观机制, 对构建复杂链替换反

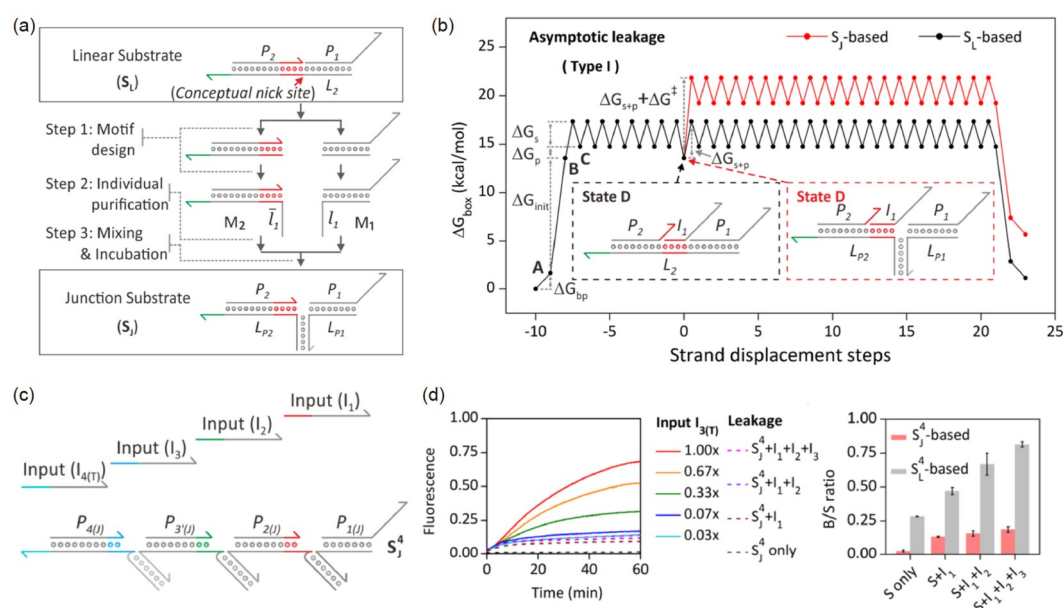


图 4 (a) 组合底物结构示意图. (b) 线性底物和组合底物渐进泄漏的直观能量景观图^[60]. (c) 基于组合底物构建的四输入链替换反应线路. (d) 四输入链替换反应线路动力学曲线图及其信噪比(网络版彩图)

Figure 4 (a) Schematic diagram of the J-substrate (junction substrate). (b) Intuitive energy landscape of the asymptotic leakage in L-substrate circuit and J-substrate circuit, respectively ^[60]. (c) Schematic diagram of four-input circuit fabricated with J-substrate. (d) The kinetic curves and the background-to-signal (B/S) ratios of four-input circuits (color online).

应网络具有重要意义. 对DNA链替换反应的微观反应过程, 最常用的理论模型是Winfree等^[61]提出的“intuitive energy landscape”模型(IEL模型). IEL模型是根据对链替换反应过程的直观理解, 构建起反应过程自由能面. 随后, 肖石燕和梁好均等^[60]基于IEL模型详细阐述了链替换反应中渐进式泄漏反应的微观机制, 发现了线性底物的多条短链结合处的末端呼吸在渐进泄漏中所起到的关键作用, 由此提出了“组合底物”新策略, 有效地抑制了泄漏反应, 大幅度提高了多输入体系的信噪比. Zhang等^[47]将链替换分支迁移过程视为两个宏观态(“macrostate”), 推导了链替换反应的双分子反应速率计算公式. 肖石燕和梁好均等^[62]针对错配等多种情况, 提出了“五步”反应模型, 推导了链替换反应的速率解析表达式, 其结果与实验规律相吻合. 在此基础上, 他们进一步将反应模型应用于单碱基突变检测, 并基于理论模型设计了球形核酸单碱基突变探针, 该探针在肉眼可观测的条件下, 检测限达到了pM量级, 比同类检测体系灵敏度高出近两个量级. 此外, Seidel等^[63]采用IEL模型, 模拟了碱基错配对DNA链替换反应过程的影响, 其计算结果与实验结果相吻合.

DNA粗粒化力场的发展^[64], 如oxDNA等^[65], 为人们直接采用分子模拟理解链替换反应过程提供了可能. Doye等^[65]基于oxDNA模拟了DNA镊子. Turberfield等^[66,67]模拟了错配等条件下的链替换反应自由能面. 但是, 由于链替换反应时间较长, 模拟链替换反应往往要定义反应坐标, 并借助稀有事件加强采样的方法. 通常, 人们使用碱基对的结合数目作为序参量, 由于DNA链替换反应的复杂性, 使用单一的反应坐标可能无法体现链替换反应的真实过程. 肖石燕和梁好均等采用energy landscape计算, 构建了链替换反应的完整构象转变反应网络. 他们发现, 链替换反应并不完全是符合直观的IEL模型理解, 其主要体现在四方面: (1) 分支迁移的过程, 并不是一个碱基一个碱基地发生替换, 而是几个碱基同时发生; (2) 分支迁移反应中碱基对间的竞争过程, 即保护链片段与底物链的脱离过程, 以及底物链与入侵链的结合过程, 这两个过程并不是同时发生. (3) 在反应接近结束时, 保护链会在还有多个碱基结合的情况下, 即因为热扰动与底物链发生脱离. (4) 构象熵在链替换反应中起到关键调控作用.

DNA链替换反应网络构建的另一个关键是对

DNA链替换反应速率的精细调控. 通常, 人们粗略地使用toehold链段的长度来调控DNA链替换反应的速率. Yurke和Mills^[68]发现, 当toehold长度由1个碱基逐渐增加到5个碱基时, DNA链替换反应的速率常数可以改变5个数量级. Zhang和Winfree^[47]发现DNA链替换反应速率与入侵toehold和隐藏toehold的链段长度相关. 他们发现, 当toehold长度<6个碱基时, 随着toehold长度的增加, 链替换反应速率常数迅速增大, 最高可达 $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$; 当toehold长度 ≥ 6 个碱基时, 反应速率常数保持不变. Genot等^[69]提出, 在toehold与分支迁移段之间加入间隔区来调控链替换反应速率, 即“远端toehold”调控策略(remote toehold). 夏帆等^[70]通过在缓冲液中加入醇类等极性分子调控反应速率. Ouldridge等^[63,66,67]通过引入错配碱基调控链替换反应的动力学过程. 2022年, 李成勛、肖石燕和梁好均等^[71]发现, 在近toehold端的修饰基团, 也能够显著地调控DNA链替换反应的动力学过程, 对反应速率的调控范围可达2个量级(图5). 他们发现, 标记在保护链(incumbent strand)近toehold端的修饰基团能够增加DNA反应物双链的稳定性, 从而显著地降低DNA链替换反应速率, 这一结果等效于减少了toehold链段长度; 而标记在底物链(substrate strand)近toehold端的修饰基团能够增加产物

双链的稳定性, 从而加快DNA链替换反应速率, 这一作用等效于增加了toehold链段长度.

4 DNA链替换动态反应网络的构建和调控

基于toehold调控的DNA链替换反应, 可以构建复杂动态反应网络, 实现特定的设计目标 and 功能. 近年来, DNA链替换反应已经被用来构建分子机器^[7,72]、具有化学放大器作用的催化系统^[50,73~76]、逻辑运算^[48,49,77,78]、生化检测平台^[62,79]、细胞生理功能调控^[80]以及诱导胶体粒子的自组装^[81~84]和结晶等^[85,86].

4.1 DNA链替换动态反应网络

2000年, Yurke等^[7]第一次基于链替换反应设计了由反应线路控制的DNA镊子. 这个简易的分子机器由三条DNA链组成, 通过“燃料”DNA单链驱动, 控制DNA镊子的“关闭”和“打开”. 2007年, Zhang等^[50]基于DNA链替换反应设计了第一个熵驱动的无酶自催化信号放大反应网络. 2011年, Qian等^[49]基于130条DNA链设计和实现了四位二进制数的开方计算; 他们还利用链替换反应网络, 实现了小型神经网络计算^[48]. 2010年, Soloveichik等^[87]在理论上提出了一种基于链

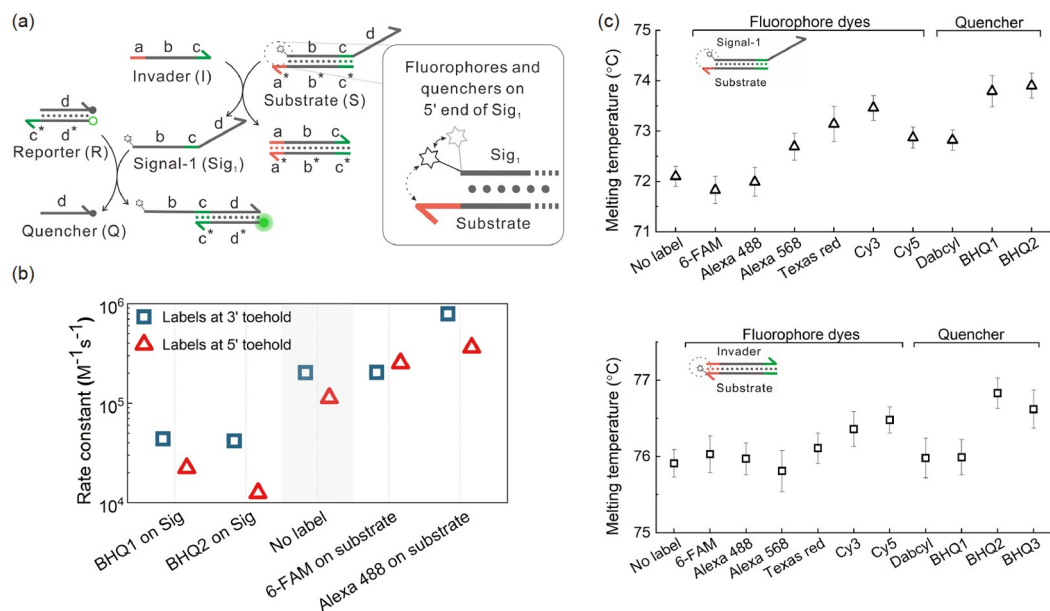


图5 (a) DNA链替换反应示意图. (b) 第一步DNA链替换反应对应的反应速率常数. (c) 修饰了不同荧光或淬灭基团的signal-substrate双链和invader-substrate双链的熔点温度^[71] (网络版彩图)

Figure 5 (a) Scheme of DNA circuit based on TMSDR. (b) Fitted rate constants for the first step of the designed circuits. (c) The melting temperature for the signal-substrate duplex and invader-substrate duplex with different labels ^[71] (color online).

替换反应作为基元反应, 构建反应网络的通用方法, 以实现Lotka-Volterra振荡等^[88]特定设计功能. 这种理论思想的可行性于2017年通过实验得到了验证. 肖石燕和梁好均等^[81]将DNA链替换反应网络引入球形核酸系统, 实现了恒温的球形核酸聚集反应; 而此前, 由于球形核酸复杂的表界面相互作用, 人们很难在其表面进行复杂的可控链替换反应. 他们进一步研究发现, 球形核酸表面较高的DNA接枝密度, 会导致链替换反应速率表现出阶跃式的“OFF/ON”开关效应^[89]. 谭蔚泓等^[90]基于链替换反应网络在体外实现了适应性免疫反应功能.

除此以外, DNA链替换反应网络也可以与细胞等相结合, 实现特定的功能. Thubagere和Qian^[91]开发了一种单链DNA分子机器人, 其可以通过在DNA折纸表面上的随机行走来实现分子货物的分拣功能. 谭蔚泓等^[92]将DNA杂交链式反应与适配体相结合, 设计了一种细胞膜计算系统, 从而实现对细胞的识别与分离. 裴昊等^[93]基于链替换反应网络构造出了卷积神经网络, 其能直接处理复杂的生物分子信息, 具备对32类分子图谱信息分类功能. Lucks等^[94]基于RNA-DNA链替换反应线路, 建立了小分子传感平台“ROSALIND”, 实现了12种逻辑运算. Joesaar等^[95]基于链替换反应网络, 建立了一种被称为“BIOPC”的细胞信息传输平台, 其可以实现对DNA信息的感知、传输和反馈.

4.2 基于DNA链替换反应网络调控的自组装

基于DNA的自组装, 大体上可以分为两类: 一类是基于退火方法的DNA折纸术(DNA origami)、单链tile等组装^[6,10]; 另一类是基于链替换反应网络调控的恒温自组装^[7,50]. 本节主要综述第二类, 即基于DNA链替换反应网络调控的恒温自组装.

1996年, Mirkin等^[96]和Alivisatos等^[97]分别独立将DNA接枝在金纳米粒子表面, 并通过互补链相结合, 实现了纳米粒子的聚集. 这种DNA-AuNPs粒子后来被称为球形核酸(spherical nucleic acid, SNA)^[98], 其兼具无机纳米粒子和有机高分子的特性, 尤其是接枝在纳米粒子表面的DNA链段, 使纳米粒子之间的识别、组装和精准控制成为可能. 2008年, Gang等^[99]和Mirkin等^[100]通过设计和调节球形核酸上DNA连接链的序列和长度, 成功地组装出了体心立方、面心立方等三维有序胶体晶体. 在此后10余年期间, 更加复杂、更大

尺寸的球形核酸晶体结构被设计和实现^[85,101,102]. 此外, 人们也使用分子模拟探索了球形核酸的组装. 燕立唐等^[103]通过退火组装研究了DNA功能化的两面神(Janus)纳米粒子的组装行为. 他们发现, 通过调控纳米粒子的形状, 可以组装成面心立方、简单立方、四方柱等多种晶体结构. 组装动力学过程有熵主导和焓主导两个过程. 汪蓉等^[104]利用基于退火组装的方式, 发现接枝了不同DNA链的纳米粒子, 可以组装成不同的六方密堆积和面心立方密堆积结构. 他们进一步研究了DNA链的刚度对组装结构的影响^[105]. 对刚性DNA链, 纳米粒子可以组装成体心立方(BCC)结构, 但其对链长比较敏感; 对柔性DNA链, 纳米粒子依然能保持BCC结构, 但体系的DNA杂交的概率较低. 以上这些超晶格结构都是使用退火的方式构造的.

为了实现恒温条件下的球形核酸的组装, 梁好均等将DNA链替换反应网络引入到球形核酸组装领域, 在最近十年间, 取得了系列进展. 2012年, 梁好均等^[81]第一次将基于DNA链替换反应的分子机器引入球形核酸体系, 实现了分子机器驱动的球形核酸同步聚集反应. 他们将DNA底物链接枝到金纳米粒子表面, 通过两轮链替换反应, 实现了球形核酸的同步聚集. 2015年, 肖石燕和梁好均等^[84]建立了两级链替换反应网络调控的球形核酸同步聚集反应体系. 第一层链替换催化循环网络在溶液中进行, 其释放的引发链驱动第二级球形核酸表面的链替换催化循环网络, 从而实现球形核酸的同步聚集. 由于球形核酸上修饰的DNA链不参与上游链替换反应网络, 因此, 同一个球形核酸自组装系统可以与不同的上游DNA链替换反应网络进行级联. 该方法无需反复制备不同种类的球形核酸, 节约了大量的时间和成本. 通过对两个子系统的优化, 该方法能用来检测任意序列的DNA链, 且对正确DNA序列和突变DNA序列表现出显著的区分效果. 2017年, 他们发展了DNA链替换反应网络的理论模拟平台, 并通过理论模拟, 研究了泄漏等系统参数对链替换反应网络运行的影响, 实现了在理论上设计和构建多级链替换反应网络. 由此, 他们设计了三级链替换催化循环网络调控的球形核酸聚集反应系统^[106]. 2020年, 该课题组^[86]进一步实现了DNA链替换反应调控的球形核酸恒温、有序、可控组装. 他们提出了一种焓介导的球形核酸结晶策略(图6). 该策略可以在恒定温度下控制纳米粒子的组装路径, 避免因亚稳态的存在而导

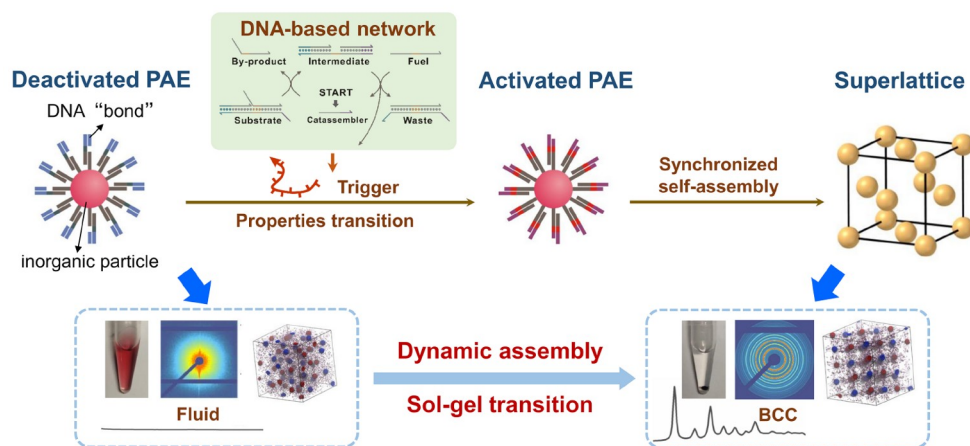


图6 由toehold介导的DNA链替换反应驱动的恒温可编程原子等价物(programmable atom equivalents, PAEs)组装示意图^[86]。通过精细调控反应网络, 释放引发链, 惰性PAEs可以转变成活性PAEs, 并最终精准组装成超晶格(网络版彩图)

Figure 6 Scheme of isothermal PAEs (programmable atom equivalents) assembly driven by a toehold-mediated DNA strand-displacement circuit ^[86]. By fine-tuning the reaction network, the trigger strand will be released, resulting in the transition of deactivated PAEs into activated PAEs which eventually assembled into superlattice (color online).

致的无序结构, 最终组装成有序的胶体超晶格。他们基于该策略, 有条件地激活胶体粒子的组装, 并通过重新配置DNA分子结构来转变胶体粒子的特性, 实现了不同晶体形态之间的转变。该策略第一次实现了链替换反应网络调控纳米粒子恒温、有序、可控组装。他们进一步研究表明, 与传统的退火策略相比, 这种基于链替换反应网络调控的球形核酸组装遵循不同的组装机制。在传统的退火组装策略中, 纳米粒子主要通过近邻粒子间的调整来逐步消除缺陷, 组装成有序超晶格。而在焓介导的球形核酸结晶策略中, 纳米粒子会发生大量的全域粒子位置调整, 从而消除缺陷, 最终组装成有序超晶格。

DNA链替换反应网络也可以应用于活细胞组装。活细胞的组装是新兴领域, 目前在这方面的工作比较少。但是, 我们认为对细胞的直接操控和微组织的构建, 不仅仅涉及软物质等基础课题, 更具有潜在的医学应用前景, 是值得关注的研究领域。Bertozzi等^[107]将短链DNA连接在细胞表面, 通过DNA之间的相互作用, 控制细胞间的链接, 成功地构建了三维微组织。Gartner等^[108]进一步通过DNA控制细胞之间的相互作用, 构建了多层次、多种形态和结构的微组织。Akbari等^[109]将DNA纳米器件连接到细胞表面, 通过操控DNA纳米器件, 实现了对细胞的组织和层次的调控。裴昊等^[110]通过DNA反应线路控制细胞之间的相互作用, 实现了细胞间相互作用路径的选择。

除了DNA动态反应网络, DNA折纸技术(DNA origami)是近年来DNA纳米技术的重要发展。2006年, DNA折纸技术的出现^[111]使DNA纳米结构的构建成为了简单的“一锅”反应^[112], 极大地减少了DNA纳米器件的构建难度和所需要的时间。经过多年的发展, DNA折纸术已经逐渐成熟, 基于DNA折纸术构建的纳米结构, 具有极高的复杂度、稳定性和刚性^[6,113,114]。2017年, Yin和Yan等^[115]进一步提出了单链DNA折纸术。谭蔚泓等^[116]开发了一种称为DNA四面体纳米镊子(DTNT)的细胞内DNA纳米探针, 该探针可以基于荧光共振能量转移对细胞内肿瘤相关的mRNA进行检测和成像。2020年, 樊春海等^[117]基于六螺旋束DNA折纸结构构建了单链DNA类似物, 即元DNA (meta-DNA), 并成功实现了meta-DNA的自组装。基于DNA折纸术构建的纳米结构具有良好的生物相容性、极低的细胞毒性以及极高的靶向性, 这使其成为一种理想的靶向探针和药物载体。将DNA动态反应网络与DNA折纸术结合, 可以进一步拓展DNA在癌症诊疗、细胞生理功能调控、载药纳米技术、纳米疫苗等方面的应用^[113,118]。

5 总结与展望

DNA是一种特殊的生物大分子。通常, 人们对DNA的认识, 只局限于DNA是遗传信息的载体, 但是, 它更是一种特殊的高分子材料。相比传统高分子材料,

DNA具有更强的可控性和可设计性. DNA的碱基互补配对特性和序列可编程性, 使得精准地操控DNA, 构建复杂纳米器件和反应网络成为可能. 根据我们的探索, 并结合该领域近年来的研究进展, 本文总结了近年来DNA链替换反应网络在基础研究和应用研究方面的系列研究进展, 主要包括DNA的结构和力学性质, DNA杂交、链替换反应机制, DNA链替换反应网络的构建和调控, 以及DNA链替换反应网络在自组装方面的应用.

DNA纳米技术的出现, 使人们能够通过自下而上的反应网络和组装体来构建复杂的逻辑回路和纳米器件, 以实现不同的功能. 目前, 这个领域依然是一个活跃的研究领域, DNA链替换反应网络的基础研究和应用研究依然在迅速地往前推进. 针对DNA和DNA反应网络, 我们认为有4个方面值得人们关注.

第一, DNA的结构和力学性质. 长链DNA可以使用蠕虫链模型来描述, 但DNA短链尺度上的力学性质和结构转变, 与DNA的功能密切相关. 短链DNA具有复杂的结构和力学性质, 尤其是DNA在短链尺度和长链尺度力学性质的关联, 如DNA折叠、DNA高级结构和构象转变等, 目前依然没有得到全面阐述, 值得我们进一步探索.

第二, 基于DNA链替换反应网络的DNA分子计

算, 具有并行化等优势. 近年来, DNA分子计算已经在癌症诊断等方面有了初步的探索. 但是DNA链替换反应网络组分多、相互作用复杂、设计难度高, 如何在理论和实验上解决DNA链替换反应网络的噪声等问题, 从而实现大型复杂反应网络的精准设计和控制, 是值得关注的问题.

第三, 细胞的控制和组装等是近年来的新兴领域. 细胞的控制和组装并不仅仅是生物工程问题, 其实, 其更是物理问题和物理化学问题. 从软物质的角度去研究细胞相关的问题, 是近年来的研究热点. 基于DNA反应网络调控和控制细胞组装的动力学路径, 构建具有功能化的微组织, 值得我们深入研究.

最后, DNA具有良好的生物相容性、可操控性和极低的细胞毒性, 这使得DNA纳米器件成为一种理想的靶向药物载体. 最近, 球形核酸纳米疫苗^[119]这一概念的提出, 更是充分证明了DNA在医学领域的巨大潜在利用价值. 在未来, DNA恒温动态反应网络可以进一步与DNA折纸术等相结合, 拓展DNA在疾病诊疗、药物运输、纳米疫苗等方面的应用.

DNA链替换反应网络的设计和调控是一个基础研究课题, 但同时其具有广阔的应用前景, 值得我们进一步探索.

参考文献

- 1 Wolfsberg TG, McEntyre J, Schuler GD. *Nature*, 2001, 409: 824–826
- 2 Crick F. *Nature*, 1970, 227: 561–563
- 3 Guilbaud S, Salomé L, Destainville N, Manghi M, Tardin C. *Phys Rev Lett*, 2019, 122: 028102
- 4 Baumann CG, Smith SB, Bloomfield VA, Bustamante C. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 6185–6190
- 5 Seeman NC. *J Theor Biol*, 1982, 99: 237–247
- 6 Seeman NC, Sleiman HF. *Nat Rev Mater*, 2017, 3: 17068
- 7 Yurke B, Turberfield AJ, Mills Jr AP, Simmel FC, Neumann JL. *Nature*, 2000, 406: 605–608
- 8 Fu T, Lyu Y, Liu H, Peng R, Zhang X, Ye M, Tan W. *Trends Biochem Sci*, 2018, 43: 547–560
- 9 Li F, Xiao M, Pei H. *ChemBioChem*, 2019, 20: 1105–1114
- 10 Jones MR, Seeman NC, Mirkin CA. *Science*, 2015, 347: 1260901
- 11 Marin-Gonzalez A, Vilhena JG, Perez R, Moreno-Herrero F. *Quart Rev Biophys*, 2021, 54: e8
- 12 Raber DJ, Rodriguez W. *J Am Chem Soc*, 1985, 107: 4146–4147
- 13 Isayev O, Furmanchuk A, Shishkin OV, Gorb L, Leszczynski J. *J Phys Chem B*, 2007, 111: 3476–3480
- 14 Xiao S, Liang H. *J Chem Phys*, 2012, 136: 205102
- 15 Shishkin OV, Gorb L, Leszczynski J. *Struct Chem*, 2009, 20: 743–749
- 16 Furmanchuk A, Shishkin OV, Isayev O, Gorb L, Leszczynski J. *Phys Chem Chem Phys*, 2010, 12: 9945–9954
- 17 Xiao S, Wang L, Liu Y, Lin X, Liang H. *J Chem Phys*, 2012, 137: 195101
- 18 Gai D, Chang YP, Chen XS. *Curr Opin Struct Biol*, 2010, 20: 756–762

- 19 Wiggins PA, van der Heijden T, Moreno-Herrero F, Spakowitz A, Phillips R, Widom J, Dekker C, Nelson PC. *Nat Nanotech*, 2006, 1: 137–141
- 20 Vafabakhsh R, Ha T. *Science*, 2012, 337: 1097–1101
- 21 Noy A, Golestanian R. *Phys Rev Lett*, 2012, 109: 228101
- 22 Yan J, Marko JF. *Phys Rev Lett*, 2004, 93: 108108
- 23 Wiggins PA, Phillips R, Nelson PC. *Phys Rev E*, 2005, 71: 021909
- 24 Theodorakopoulos N, Peyrard M. *Phys Rev Lett*, 2012, 108: 078104
- 25 Mazur AK, Maaloum M. *Phys Rev Lett*, 2014, 112: 068104
- 26 Peters JP, Maher Iii LJ. *Quart Rev Biophys*, 2010, 43: 23–63
- 27 Wu YY, Bao L, Zhang X, Tan ZJ. *J Chem Phys*, 2015, 142: 125103
- 28 Xiao S, Zhu H, Wang L, Liang H. *Soft Matter*, 2014, 10: 1045–1055
- 29 Xiao S, Liang H, Wales DJ. *J Phys Chem Lett*, 2019, 10: 4829–4835
- 30 Marin-Gonzalez A, Pastrana CL, Bocanegra R, Martín-González A, Vilhena JG, Pérez R, Ibarra B, Aicart-Ramos C, Moreno-Herrero F. *Nucl Acids Res*, 2020, 48: 5024–5036
- 31 Zhang C, Tian F, Lu Y, Yuan B, Tan ZJ, Zhang XH, Dai L. *Sci Adv*, 2022, 8: eabn1384
- 32 Fogg JM, Judge AK, Stricker E, Chan HL, Zechiedrich L. *Nat Commun*, 2021, 12: 5683
- 33 Skolnick J, Fixman M. *Macromolecules*, 1977, 10: 944–948
- 34 Odijk T. *J Polym Sci Pol Phys Edit*, 1977, 15: 477–483
- 35 Manning GS. *Biophys J*, 2006, 91: 3607–3616
- 36 Savelyev A, Materese CK, Papoian GA. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 19290–19293
- 37 Aggarwal A, Naskar S, Sahoo AK, Mogurampelly S, Garai A, Maiti PK. *Curr Opin Struct Biol*, 2020, 64: 42–50
- 38 SantaLucia J Jr., Hicks D. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 2004, 33: 415–440
- 39 Narayanan R, Zhu L, Velmurugy Y, Roca J, Kuznetsov SV, Prehna G, Lapidus LJ, Ansari A. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 18952–18963
- 40 Sanstead PJ, Stevenson P, Tokmakoff A. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 11792–11801
- 41 Hagan MF, Dinner AR, Chandler D, Chakraborty AK. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 13922–13927
- 42 Xiao S, Sharpe DJ, Chakraborty D, Wales DJ. *J Phys Chem Lett*, 2019, 10: 6771–6779
- 43 Jones MS, Ashwood B, Tokmakoff A, Ferguson AL. *J Am Chem Soc*, 2021, 143: 17395–17411
- 44 Ouldrige TE, Šulc P, Romano F, Doye JPK, Louis AA. *Nucl Acids Res*, 2013, 41: 8886–8895
- 45 Schoen I, Krammer H, Braun D. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 21649–21654
- 46 Reynaldo LP, Vologodskii AV, Neri BP, Lyamichiev VI. *J Mol Biol*, 2000, 297: 511–520
- 47 Zhang DY, Winfree E. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 17303–17314
- 48 Qian L, Winfree E, Bruck J. *Nature*, 2011, 475: 368–372
- 49 Qian L, Winfree E. *Science*, 2011, 332: 1196–1201
- 50 Zhang DY, Turberfield AJ, Yurke B, Winfree E. *Science*, 2007, 318: 1121–1125
- 51 Zhang DY, Seelig G. *Nat Chem*, 2011, 3: 103–113
- 52 Chen X, Briggs N, McLain JR, Ellington AD. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 5386–5391
- 53 Ang YS, Tong R, Yung LYL. *Nucl Acids Res*, 2016, 44: e121
- 54 Chen SX, Zhang DY, Seelig G. *Nat Chem*, 2013, 5: 782–789
- 55 Nakata M, Zanchetta G, Chapman BD, Jones CD, Cross JO, Pindak R, Bellini T, Clark NA. *Science*, 2007, 318: 1276–1279
- 56 Maffeo C, Luan B, Aksimentiev A. *Nucl Acids Res*, 2012, 40: 3812–3821
- 57 Frank-Kamenetskii M. *Nature*, 1987, 328: 17–18
- 58 Jiang YS, Bhadra S, Li B, Ellington AD. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53: 1845–1848
- 59 Chen YJ, Dalchau N, Srinivas N, Phillips A, Cardelli L, Soloveichik D, Seelig G. *Nat Nanotech*, 2013, 8: 755–762
- 60 Sun X, Wei B, Guo Y, Xiao S, Li X, Yao D, Yin X, Liu S, Liang H. *J Am Chem Soc*, 2018, 140: 9979–9985
- 61 Srinivas N, Ouldrige TE, Šulc P, Schaeffer JM, Yurke B, Louis AA, Doye JPK, Winfree E. *Nucl Acids Res*, 2013, 41: 10641–10658
- 62 Song T, Xiao S, Yao D, Huang F, Hu M, Liang H. *Adv Mater*, 2014, 26: 6181–6185
- 63 Irmisch P, Ouldrige TE, Seidel R. *J Am Chem Soc*, 2020, 142: 11451–11463

- 64 Ouldrige TE, Louis AA, Doye JPK. *J Chem Phys*, 2011, 134: 085101
- 65 Ouldrige TE, Louis AA, Doye JPK. *Phys Rev Lett*, 2010, 104: 178101
- 66 Machinek RRF, Ouldrige TE, Haley NEC, Bath J, Turberfield AJ. *Nat Commun*, 2014, 5: 5324
- 67 Haley NEC, Ouldrige TE, Mullor Ruiz I, Geraldini A, Louis AA, Bath J, Turberfield AJ. *Nat Commun*, 2020, 11: 2562
- 68 Yurke B, Mills AP. *Genet Program Evol M*, 2003, 4: 111–122
- 69 Genot AJ, Zhang DY, Bath J, Turberfield AJ. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 2177–2182
- 70 Kang D, Duan R, Tan Y, Hong F, Wang B, Chen Z, Xu S, Lou X, Wei W, Yurke B, Xia F. *Nanoscale*, 2014, 6: 14153–14157
- 71 Li C, Li Z, Han W, Yin X, Liu X, Xiao S, Liang H. *Chem Commun*, 2022, 58: 5849–5852
- 72 Turberfield AJ, Mitchell JC, Yurke B, Mills AP, Blakey MI, Simmel FC. *Phys Rev Lett*, 2003, 90: 118102
- 73 Liu S, Fang L, Tian Y, Wei W, Wang L. *Sens Actuat B-Chem*, 2017, 244: 450–457
- 74 Chen J, Wen J, Zhuang L, Zhou S. *Nanoscale*, 2016, 8: 9791–9797
- 75 Yu L, Xu H, Chen H, Bai L, Wang W. *Anal Methods*, 2016, 8: 7054–7060
- 76 Meng F, Xu H, Yao X, Qin X, Jiang T, Gao S, Zhang Y, Yang D, Liu X. *Talanta*, 2017, 162: 368–373
- 77 Oishi M. *ACS Omega*, 2018, 3: 3321–3329
- 78 Seelig G, Soloveichik D, Zhang DY, Winfree E. *Science*, 2006, 314: 1585–1588
- 79 Song T, Wang X, Yao D, Liang H, Lu Y. *Angew Chem Int Ed*, 2022, 61: e202204201
- 80 Song T, Shah S, Bui H, Garg S, Eshra A, Fu D, Yang M, Mokhtar R, Reif J. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 16539–16543
- 81 Song T, Liang H. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 10803–10806
- 82 Rogers WB, Manoharan VN. *Science*, 2015, 347: 639–642
- 83 Chen RP, Blackstock D, Sun Q, Chen W. *Nat Chem*, 2018, 10: 474–481
- 84 Yao D, Song T, Sun X, Xiao S, Huang F, Liang H. *J Am Chem Soc*, 2015, 137: 14107–14113
- 85 Girard M, Wang S, Du JS, Das A, Huang Z, Dravid VP, Lee B, Mirkin CA, Olvera de la Cruz M. *Science*, 2019, 364: 1174–1178
- 86 Zhou X, Yao D, Hua W, Huang N, Chen X, Li L, He M, Zhang Y, Guo Y, Xiao S, Bian F, Liang H. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117: 5617–5623
- 87 Soloveichik D, Seelig G, Winfree E. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 5393–5398
- 88 Srinivas N, Parkin J, Seelig G, Winfree E, Soloveichik D. *Science*, 2017, 358: eaal2052
- 89 Yao D, Wang B, Xiao S, Song T, Huang F, Liang H. *Langmuir*, 2015, 31: 7055–7061
- 90 Han D, Wu C, You M, Zhang T, Wan S, Chen T, Qiu L, Zheng Z, Liang H, Tan W. *Nat Chem*, 2015, 7: 835–841
- 91 Thubagere AJ, Li W, Johnson RF, Chen Z, Doroudi S, Lee YL, Izatt G, Wittman S, Srinivas N, Woods D, Winfree E, Qian L. *Science*, 2017, 357: eaan6558
- 92 Chang X, Zhang C, Lv C, Sun Y, Zhang M, Zhao Y, Yang L, Han D, Tan W. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 12738–12743
- 93 Xiong X, Zhu T, Zhu Y, Cao M, Xiao J, Li L, Wang F, Fan C, Pei H. *Nat Mach Intell*, 2022, 4: 625–635
- 94 Jung JK, Archuleta CM, Alam KK, Lucks JB. *Nat Chem Biol*, 2022, 18: 385–393
- 95 Joesaar A, Yang S, Bögers B, van der Linden A, Pieters P, Kumar BVVSP, Dalchau N, Phillips A, Mann S, de Greef TFA. *Nat Nanotechnol*, 2019, 14: 369–378
- 96 Mirkin CA, Letsinger RL, Mucic RC, Storhoff JJ. *Nature*, 1996, 382: 607–609
- 97 Alivisatos AP, Johnsson KP, Peng X, Wilson TE, Loweth CJ, Bruchez Jr MP, Schultz PG. *Nature*, 1996, 382: 609–611
- 98 Cutler JJ, Auyeung E, Mirkin CA. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 1376–1391
- 99 Nykypanchuk D, Maye MM, van der Lelie D, Gang O. *Nature*, 2008, 451: 549–552
- 100 Park SY, Lytton-Jean AKR, Lee B, Weigand S, Schatz GC, Mirkin CA. *Nature*, 2008, 451: 553–556
- 101 Samanta D, Zhou W, Ebrahimi SB, Petrosko SH, Mirkin CA. *Adv Mater*, 2022, 34: 2107875
- 102 Kahn JS, Minevich B, Gang O. *Curr Opin Biotechnol*, 2020, 63: 142–150
- 103 Zhu G, Xu Z, Yang Y, Dai X, Yan LT. *ACS Nano*, 2018, 12: 9467–9475
- 104 Yu Q, Zhang X, Hu Y, Zhang Z, Wang R. *ACS Nano*, 2016, 10: 7485–7492
- 105 Yu Q, Hu J, Hu Y, Wang R. *Soft Matter*, 2018, 14: 2665–2670
- 106 Yao D, Xiao S, Zhou X, Li H, Wang B, Wei B, Liang H. *J Mater Chem B*, 2017, 5: 6256–6265

- 107 Gartner ZJ, Bertozzi CR. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 4606–4610
- 108 Todhunter ME, Jee NY, Hughes AJ, Coyle MC, Cerchiarri A, Farlow J, Garbe JC, LaBarge MA, Desai TA, Gartner ZJ. *Nat Methods*, 2015, 12: 975–981
- 109 Akbari E, Mollica MY, Lucas CR, Bushman SM, Patton RA, Shahhosseini M, Song JW, Castro CE. *Adv Mater*, 2017, 29: 1703632
- 110 Xiao M, Lai W, Yu H, Yu Z, Li L, Fan C, Pei H. *J Am Chem Soc*, 2021, 143: 3448–3454
- 111 Rothmund PW. *Nature*, 2006, 440: 297–302
- 112 Andersen ES, Dong M, Nielsen MM, Jahn K, Subramani R, Mamdouh W, Golas MM, Sander B, Stark H, Oliveira CLP, Pedersen JS, Birkedal V, Besenbacher F, Gothelf KV, Kjems J. *Nature*, 2009, 459: 73–76
- 113 Ramezani H, Dietz H. *Nat Rev Genet*, 2020, 21: 5–26
- 114 Engelen W, Dietz H. *Annu Rev Biophys*, 2021, 50: 469–492
- 115 Han D, Qi X, Myhrvold C, Wang B, Dai M, Jiang S, Bates M, Liu Y, An B, Zhang F, Yan H, Yin P. *Science*, 2017, 358: eaao2648
- 116 He L, Lu DQ, Liang H, Xie S, Luo C, Hu M, Xu L, Zhang X, Tan W. *ACS Nano*, 2017, 11: 4060–4066
- 117 Yao G, Zhang F, Wang F, Peng T, Liu H, Poppleton E, Šulc P, Jiang S, Liu L, Gong C, Jing X, Liu X, Wang L, Liu Y, Fan C, Yan H. *Nat Chem*, 2020, 12: 1067–1075
- 118 Madsen M, Gothelf KV. *Chem Rev*, 2019, 119: 6384–6458
- 119 Teplensky MH, Distler ME, Kusmierz CD, Evangelopoulos M, Gula H, Elli D, Tomatsidou A, Nicolaescu V, Gelarden I, Yeldandi A, Battle D, Missiakas D, Mirkin CA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119: e2119093119

DNA: structure, strand displacement and reaction network

Shiyan Xiao^{*†}, Chengxu Li[†], Haojun Liang^{*}

Key Laboratory of Precision and Intelligent Chemistry, School of Chemistry and Materials Science, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China

[†]These authors contributed equally to this work.

^{*}Corresponding authors (email: xiaosy@ustc.edu.cn; hjliang@ustc.edu.cn)

Abstract: Other than being a carrier of genetic information of life, DNA is one type of material which is highly controllable and biocompatible. Utilizing the specific base pairing and the programmability of DNA sequences, scientists developed a new type of reaction called toehold-mediated strand displacement reaction. Based on toehold-mediated strand displacement reactions, we can construct strand displacement circuit and even more complex reaction network to achieve specific functions. In this contribution, we reviewed recent progress in DNA mechanical properties, DNA hybridization, the mechanism of toehold-mediated strand displacement reaction, and the construction and modulation of reaction networks, and their applications in the self-assembly of spherical nucleic acids and cellular assembly. In the end, we discussed the future perspective of the field of DNA-based reaction network.

Keywords: DNA, DNA mechanical properties, strand displacement reaction, reaction network, self-assembly, cellular assembly

doi: [10.1360/SSC-2023-0006](https://doi.org/10.1360/SSC-2023-0006)