

# DNA 四面体纳米材料及其功能化研究进展

余利星<sup>1,2</sup> 翟睿<sup>2</sup> 龚晓云<sup>2</sup> 谢洁<sup>2</sup> 黄泽建<sup>2</sup>  
刘梅英<sup>2</sup> 江游<sup>2</sup> 戴新华<sup>2</sup> 方向<sup>\*2</sup> 俞晓平<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup>(中国计量大学 生命科学学院, 浙江省生物计量及检验检疫技术重点实验室, 杭州 310018)

<sup>2</sup>(中国计量科学研究院, 质谱仪器工程技术研究中心, 前沿计量科学中心, 北京 100029)

**摘 要** DNA 四面体纳米材料具有较高的稳定性、良好的生物相容性及易于修饰等优点, 在生物传感器、药物输送、生物成像和分离分析等领域得到了广泛的研究与应用。研究人员采用不同的设计方法, 将特异性功能分子修饰在 DNA 四面体顶点、DNA 四面体笼状结构内部、DNA 双螺旋结构内部和 DNA 四面体边臂等位置, 从而将 DNA 四面体的优势与修饰分子的特异性功能有机结合, 实现 DNA 四面体材料的功能化。本文回顾了 DNA 纳米技术的发展历程, 介绍了 DNA 四面体纳米材料的 4 种不同的功能化修饰方法及其研究应用现状, 并展望了未来的发展趋势。

**关键词** DNA 纳米技术; DNA 四面体; 功能化; 评述

## 1 引言

DNA 是由 4 种脱氧核苷酸组成的生物大分子, 作为遗传信息的载体存在于细胞核内。1953 年, Watson 和 Crick 首次提出 DNA 双螺旋结构<sup>[1]</sup>。此后, 能够进行高精度度碱基互补配对的 DNA 引起了研究者的关注, 并逐渐在医学、遗传学、生态学等领域得到应用。纳米材料具有独特的电学、光学和磁学等特性, 在家电、医药、环境保护、纺织工业等领域广泛应用。DNA 可根据碱基互补配对的原则进行自组装, 空间结构具有较高的可控度和精密度<sup>[2]</sup>, 故易于组装成多种形态的 DNA 纳米材料, 表现出许多独特的优点: (1) 基于 DNA 组成的纳米材料易穿透带负电的细胞膜<sup>[3]</sup>; (2) 相较于其它纳米材料普遍具有细胞毒性的问题, DNA 纳米材料几乎没有细胞毒性<sup>[4]</sup>; (3) 该类材料能较好地抵抗核酶作用, 具有高稳定性; (4) 该类材料功能化修饰位点丰富<sup>[5]</sup>, 可根据不同需要修饰生物分子或荧光染料等。目前, 以 DNA 为基础元件的 DNA 纳米技术备受关注<sup>[6]</sup>。Raniolo 等<sup>[7]</sup>用叶酸功能化的 DNA 八面体纳米笼分析了两种不同内化途径介导的细胞摄取过程; Liu 等<sup>[8]</sup>设计了 DNA 纳米探针, 用于细胞实时成像, 并分析了线粒体中 Ca<sup>2+</sup> 及 pH 值的变化; Zhu 等<sup>[9]</sup>通过在 DNA 纳米结构边缘结合对 pH 敏感的 i-motif 序列, 构建了可逆运输水和铁氧化物的动态三维 DNA 纳米泵; Man 等<sup>[10]</sup>将 DNA 纳米技术和正反馈化学反应相结合, 实现了活性手性等离子体分子的自组装。

相比较经典且最简单的多面体, DNA 四面体纳米材料可通过简单的自组装法合成。目前, 一些综述文章也介绍了 DNA 四面体纳米材料及其应用进展。如 Xie 等<sup>[11]</sup>从生物传感器和药物输送两个方面回顾和总结了 DNA 四面体纳米材料在活细胞研究中的发展和应用; Wang 等<sup>[12]</sup>综述了 3 种 (1D、2D 和 3D) DNA 纳米结构在疾病诊断和治疗方面的生物应用现状; Su 等<sup>[13]</sup>对基于框架核酸 (Framework nucleic acids, FNA) 的生物传感器在电化学检测、光学检测和细胞内传感等方面应用的最新研究进展进行了阐述。为了更好地发挥 DNA 四面体纳米材料的优势, 常需将 DNA 四面体纳米材料与特异性功能分子相结合。本文针对 DNA 四面体纳米材料的不同功能化方法及其应用进行了综述。

## 2 DNA 纳米技术的发展历程及其合成和表征方式

### 2.1 DNA 纳米技术的发展历程

1982 年, 纽约大学 Seeman 教授<sup>[14]</sup>发表了“结构纳米技术”的构想, 提出不同于常规的线状双链

2019-05-10 收稿; 2019-07-04 接受

本文系国家重点研发计划项目 (No. 2018YFF0212503) 和国家自然科学基金项目 (No. 21575132) 资助

\* E-mail: yxp@cjlu.edu.cn; fangxiang@nim.ac.cn

DNA 的十字叉状的 Holiday 结构。1983 年,该团队设计出 Holiday 结构,并将其称为“四臂结”(Immobile nucleic acid junctions)<sup>[15]</sup>。1993 年,Fu 等<sup>[16]</sup>改进了“四臂结”结构,形成了一种更加稳定的 Double crossover(DX)结构。1998 年,Winfree 等<sup>[17]</sup>首次使用 DX 为结构基元组装出了二维平面网格结构,并使用原子力显微镜进行了证实。2006 年,Rothemund 等<sup>[18]</sup>开发了一种新的 DNA 自组装技术,称为 DNA 折纸术。利用此技术,Qian 等<sup>[19]</sup>设计出了三角形、矩形、五角星和笑脸等多种 DNA 纳米结构,以及不对称图形“中国地图”的组装。Andersen 等<sup>[20]</sup>通过将其应用到动态结构中,设计出了尾巴可摆动的“海豚”等形状。贾思思等<sup>[21]</sup>提出了“DNA 折纸术纳米反应器”的概念,对 DNA 折纸术的调控组装做出了更进一步的探讨研究。2017 年,Tikhomirov 等<sup>[22]</sup>采用分层组装的方法获得了尺寸可控的 DNA 纳米结构,实现了不同图案的大尺寸 DNA 折纸的自组装。

根据材料性质及用途,纳米结构通常有“自上而下”和“自下而上”两种组装方法。“自上而下”的方法是指通过光刻、研磨、腐蚀等刻蚀技术将较大尺寸( $\mu\text{m} \sim \text{cm}$  级)的材料制备成目标尺寸的纳米结构,该技术统称为纳米刻印技术,其原理是在制备过程中,将单个纳米构筑单元放置在特定图形的位置上,通过相关技术便捷地制备出各种目标形貌的材料<sup>[23]</sup>。如以扫描隧道显微镜为基础的刻印技术<sup>[24]</sup>和以原子力显微镜为基础的刻印技术<sup>[25]</sup>。“自下而上”的方法是将一些较小的、简单的结构单元(如原子、分子、纳米粒子等)通过相互作用力自组装形成相对较大且复杂的纳米级结构<sup>[26]</sup>,无需人工干预。

近年来,随着 DNA 纳米技术的快速发展,研究人员采用“自下而上”的自组装方法,合成了多种形状和大小各异的 DNA 纳米材料。相比较经典且最简单的多面体,DNA 四面体可通过简单的自组装法合成,具有较强的稳定性、较低的细胞毒性、结构位点易于修饰等优点,被广泛应用于生物传感器<sup>[27,28]</sup>、基因载体<sup>[29]</sup>和药物输送<sup>[30,31]</sup>等领域。

## 2.2 DNA 四面体纳米结构的合成及表征

DNA 四面体是由 4 条相互配对的单链 DNA 构成,通常,需设计 4 条单链 DNA 的碱基序列,每条单链 DNA 的碱基数均分成 3 个小片段,每条单链的 1 个小片段与另一条单链的 1 个小片段互补杂交,形成 DNA 四面体的 1 条边(图 1)。每条单链 DNA 的 5' 和 3' 端交汇于四面体的顶点或在边上形成 1 个端口。交汇于顶点时,可在 DNA 单链的 5' 或 3' 端修饰特异性功能分子,实现 DNA 四面体功能化;交汇于端口处时,可使用 DNA 连接酶将端口连接,也可用功能分子进行修饰<sup>[32]</sup>。同时,为了使形成的 DNA 四面体相邻的两条边都具有一定的夹角,保证 DNA 四面体结构能正确形成且具有一定的稳定性,每条单链 DNA 相邻的两个小片段之间,均含有 1 个或 2 个不与其它任何序列配对的碱基<sup>[33]</sup>。根据碱基互补配对的原则,将合成的 4 条单链 DNA 等量加入到缓冲液中,通过一步退火操作,4 条单链即可自动互补杂交形成具有四面体形状的 DNA 三维结构<sup>[34,35]</sup>。

由于 DNA 四面体碱基数量与结构形状均发生了较明显的变化,聚丙烯酰胺凝胶电泳可将相差数个或数十个碱基的 DNA 分离<sup>[36]</sup>。在聚丙烯酰胺凝胶电泳的实验中,DNA 四面体移动的速度比其它结构的 DNA 慢,因此可通过样品对应的条带位置对其进行表征<sup>[37]</sup>;高分辨透射电子显微镜(High resolution transmission electron microscope, HRTEM)可对 DNA 四面体的形态进行表征<sup>[35]</sup>;此外,也可以采用原子力显微镜观察合成的 DNA 四面体<sup>[38,39]</sup>。

## 3 DNA 四面体的功能化及其应用

根据功能基团或分子在 DNA 四面体的修饰位置,其修饰方式主要可分为以下 4 种:顶点型、胶囊型、镶嵌型和悬臂型<sup>[40]</sup>(图 2)<sup>[29,41~43]</sup>。功能化的 DNA 四面体由于兼具 DNA 四面体和特异性功能分子的优点,在生物传感器、药物输送、生物成像等领域应用广泛。

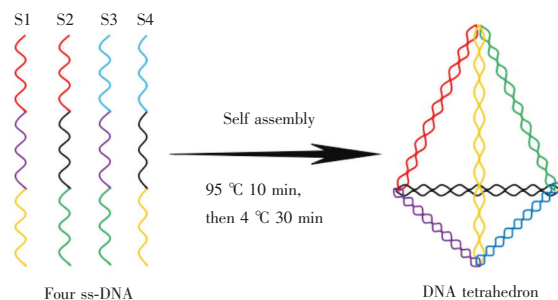


图 1 DNA 四面体结构的自组装示意图

Fig. 1 Schematic diagram of self-assembly of DNA tetrahedral structure

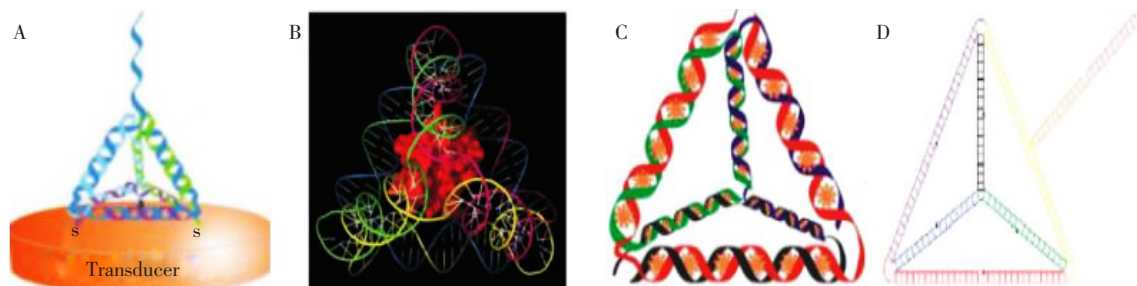


图 2 DNA 四面体的 4 种功能化修饰方式:(A) 顶点型<sup>[41]</sup>; (B) 胶囊型<sup>[42]</sup>; (C) 镶嵌型<sup>[43]</sup>; (D) 悬臂型<sup>[29]</sup>

Fig.2 Four kinds of functional modifications of DNA tetrahedra: (A) Vertex<sup>[41]</sup>; (B) capsule<sup>[42]</sup>; (C) mosaic<sup>[43]</sup>; (D) cantilever<sup>[29]</sup>

### 3.1 顶点型修饰的 DNA 四面体纳米结构的应用

顶点型修饰是指将功能分子结合在 DNA 四面体的顶点<sup>[40]</sup>,如使 DNA 四面体的 3 个顶点处为巯基基团,利用 Au—S 键和 DNA 四面体具有稳定的金字塔三维结构的性质,可将 DNA 四面体纳米材料较稳定地固定在金表面<sup>[41,44]</sup>。此外,也可根据实验需要,在 DNA 四面体的顶点处修饰用于分子识别的生物活性分子或特异性序列<sup>[45]</sup>。

合成这类修饰的 DNA 四面体结构过程中,常在单链 DNA 的 5'或 3'端修饰生物活性分子或特异性序列,使 4 条单链 DNA 的两端交汇于四面体的顶点处,然后将设计好的 4 条单链 DNA 等量加入缓冲液中,通过一步退火杂交,组合形成 DNA 四面体。

microRNAs (miRNAs) 是诊断早期胃癌的生物标志物,对其高灵敏地检测有助于胃癌的早期诊断、治疗及预后评估。Qu 等<sup>[46]</sup>设计开发了一种基于框架核酸的微阵列,用于分析多种 miRNAs。通过框架核酸顶点处的氨基基团可将探针固定在醛基修饰的玻璃毛细管内表面,然后向玻璃毛细管中加入待测定的 miRNAs,使之与固定的 FNA 探针结合。最后,通过杂交链式反应(Hybridization chain reaction, HCR)增强荧光信号,实现低浓度(100 fmol/L)miRNA 的测定(图 3)。与微阵列相类似,Qu 等<sup>[47]</sup>设计出一种基于适配体修饰的 DNA 纳米材料,用于纳升或皮升体积液滴中目标物的分析。此外,Qu 等<sup>[48]</sup>设计了一种新型 DNA 纳米结构微阵列(DNA nanostructured microarray, DNM),通过 DNM 可敏感快速地选择性检测多种重金属离子。

Wang 等<sup>[49]</sup>将修饰后的单链 DNA 经杂交形成 DNA 四面体的 6 条边,使 3 个氨基基团与 1 个侧链探针位于 DNA 四面体顶点。通过氨基基团与环氧基团之间的反应,将 DNA 四面体固定在载玻片上。然后,他们利用悬垂的探针捕获目标 DNA 序列,使捕获探针、目标 DNA 序列和生物素修饰的检测探针形成“三明治”结构。最后,通过生物素与链霉亲和素修饰的量子点结合,利用落射荧光显微镜得到的荧光点进行 DNA 计数。

金属络合药物在细胞核中具有抗癌能力,在临床治疗方面有重要作用。然而,由于核膜的屏障作用,细胞质中的药物只有 1% ~ 5% 可扩散到细胞核<sup>[50]</sup>。为提高药物进入细胞核中的剂量,具有生物相容性和易于修饰性的 DNA 折纸术受到了研究者的广泛关注。为避免在化学改性过程中引起的 DNA 变性,Tian 等<sup>[51]</sup>采用一步法将粘蛋白 1 (Mucin 1, MUC1) 和适配体 AS1411 分别连接到 DNA 单链的 5'末端,制备了一种基于双靶向 DNA 四面体的抗癌金属络合物( $[\text{Ir}(\text{ppy})_2\text{phen}]^+\text{PF}_6^-$ ) 运输材料(Apts-DNA@Ir)(图 4)。结果表明,材料与人胶质瘤细胞 U251 孵育 4 h 期间,Apts-DNA@Ir 逐渐进入细胞核,但游离的 IrPP 很难进入细胞核。这种双靶向设计的 DNA 纳米材料可较好地突破金属络合药物难以扩散到细胞核的瓶颈,为高效精确的胶质瘤治疗提供了新方法。

### 3.2 胶囊型修饰的 DNA 四面体纳米结构的应用

胶囊型修饰是指将功能化修饰的分子包裹在 DNA 四面体的笼状结构内<sup>[40]</sup>。Li 等<sup>[52]</sup>提出一种将金纳米粒子(AuNP)封装在 DNA 四面体笼状结构内部,从而组装金纳米粒子簇的方法。他们首先将硫醇修饰的两种单链 DNA(绿色与蓝色表示)修饰到 AuNP<sup>m</sup>上,通过 DNA 单链(绿色)与 DNA 四面体

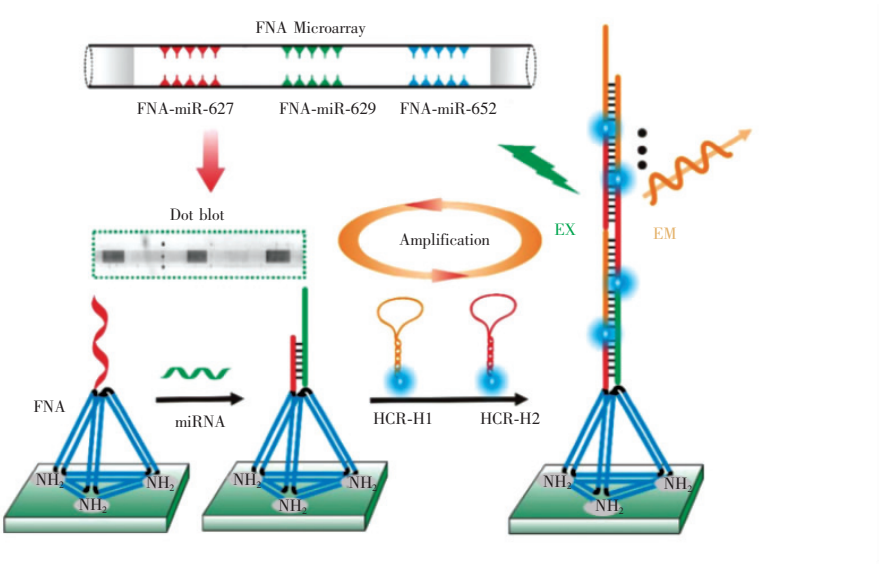


图 3 基于 FNA 微阵列的 HCR 扩增用于 miRNAs 同步检测<sup>[46]</sup>

Fig. 3 Hybridization chain reaction (HCR) amplification based on framework nucleic acid (FNA) microarray for simultaneous detection of miRNAs<sup>[46]</sup>

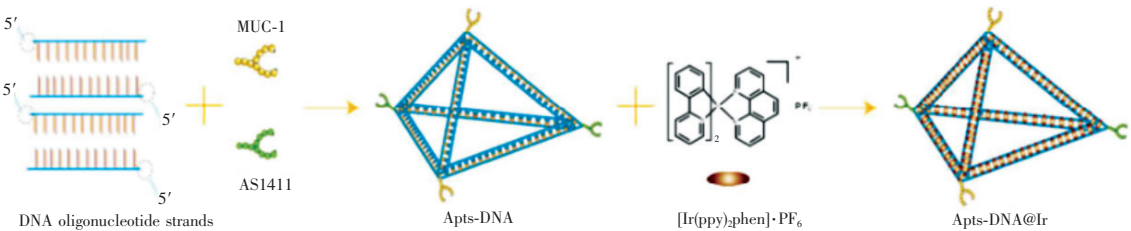


图 4 Apts-DNA@ Ir 的制备示意图<sup>[51]</sup>

Fig. 4 Schematic diagram of fabrication of aptamers (Apts)-DNA@ Ir<sup>[51]</sup>

(DNA tetrahedron, TET) 的单链末端 (红色表示) 杂交, 将  $\text{AuNP}^{\text{in}}$  包裹在 DNA 四面体中 ( $\text{AuNP}^{\text{in}} @ \text{TET}$ )。然后, 将另一组  $\text{AuNP}^{\text{out}}$  修饰与 DNA 单链 (蓝色) 互补的巯基化 DNA 单链 (灰色), 通过灰色 DNA 单链与蓝色 DNA 单链杂交形成一种新型 DNA 四面体纳米材料。1 个  $\text{AuNP}$  在材料笼内, 4 个  $\text{AuNPs}$  分别位于四面体每个面的中心 (类似于甲烷结构, 图 5)。该工作制备了具有类似甲烷结构的新型金纳米粒子簇, 为金属纳米簇的制备提供了新方法。

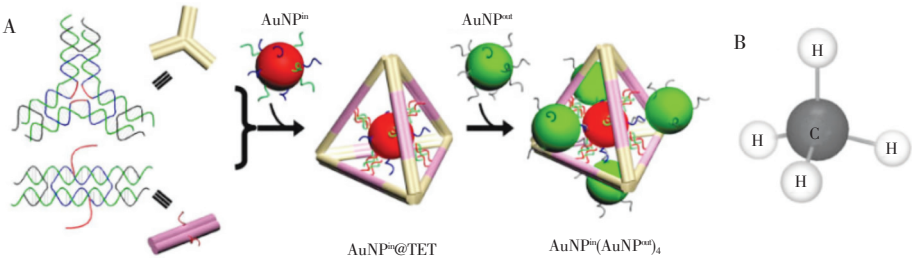


图 5 类甲烷的纳米颗粒分子自组装<sup>[52]</sup>: (A)  $\text{AuNP}^{\text{in}}(\text{AuNP}^{\text{out}})_4$  组装示意图; (B) 甲烷分子

Fig. 5 Self-assembly of methane-like nanoparticle-molecules<sup>[52]</sup>: (A) schematic diagram of  $\text{AuNP}^{\text{in}}(\text{AuNP}^{\text{out}})_4$  assembly; (B) a methane molecule. AuNPs: gold nanoparticles

利用 DNA 四面体中心的空腔, 可将一些纳米尺度大小的物质包封在 DNA 四面体内, 如包裹有细胞色素 C 的 DNA 四面体可调控凋亡酶激活因子 (Apaf-1) 的进入, 当 Apaf-1 与细胞色素 C 形成复合物后,

可启动凋亡蛋白酶级联反应<sup>[53]</sup>。Erben 等<sup>[42]</sup>自组装制备了 DNA 四面体,其中心腔可容纳半径约 2.6 nm 的球体。他们将细胞色素 C 结合到一条寡核苷酸的 5' 末端,通过改变该寡核苷酸的序列,可调控细胞色素 C 相对于 DNA 四面体的位置(内部或外部)。这种设计可能应用于蛋白质功能的调节。

Zhou 等<sup>[54]</sup>利用包裹有 AuNPs 的 DNA 四面体为单体,制备出更大尺寸的 DNA 四面体树突状大分子。通过将 AuNPs 替换成相应的抗原,利用这种 DNA 四面体树枝状大分子-金纳米粒子共轭的方法,在癌症治疗<sup>[55]</sup>和免疫治疗<sup>[56]</sup>方面具有良好的应用前景。

### 3.3 镶嵌型修饰的 DNA 四面体纳米结构的应用

镶嵌型修饰是指将功能化分子或基团通过共轭的方法镶嵌在 DNA 四面体双螺旋结构的内部<sup>[40]</sup>。如为了进行生物成像分析或对 DNA 四面体纳米材料输送途径的分析,往往利用镶嵌型功能化的方法,将荧光标记的生物分子或染料剂镶嵌在 DNA 四面体双螺旋结构的内部<sup>[57,58]</sup>。镶嵌型修饰在输送抗癌药物的方面也具有广泛的应用<sup>[60]</sup>。将抗癌药物嵌入 DNA 四面体的边上,利用其能独立地穿过带负电的细胞膜、几乎没有细胞毒性等优点,将抗癌药物大量的带入目标细胞,有效提高药物使用率的同时,也能较大限度地降低其对人体负面作用的影响。

游离的阿霉素(Doxorubicin, Dox)进入目标细胞的量比较少,对耐药细胞几乎没有细胞毒性<sup>[59]</sup>, Dox 与 DNA 四面体纳米材料结合,能较大量地进入目标细胞,对耐药细胞具有较大毒性。将 DNA 四面体用于递送 Dox 进入抗药性乳腺癌细胞,可较好地克服靶细胞耐药性的问题。Kim 等<sup>[60]</sup>为了将 Dox 嵌入到 DNA 四面体双螺旋结构的内部,将 Dox 与 DNA 四面体(DNA tetrahedron, Td)一起孵育(Dox@Td),未负载上的 Dox 通过 G25 凝胶过滤除去。通过计算,每个 Td 上加载了约 26 个 Dox 分子。实验结果表明, Dox@Td 作为药物运输系统,可明显抑制耐药细胞的生长,如在临床上作为克服癌细胞耐药性的药物运输载体,具有很好的应用前景。

MUC1 在大多数腺癌中过度表达,是癌症治疗的重要分子靶点<sup>[61~63]</sup>。Dai 等<sup>[64]</sup>将可识别 MUC1 的适配体(Aptamer, Apt)和可负载 Dox 的 DNA 四面体(Td)结合,建立了一种靶向药物输送系统(Apt-Td-Dox)(图 6)。药物负载实验显示,每个 Apt-Td 复合物约可携带 25 个 Dox 分子,利用 DNA 四面体的特性,最大量地将 Dox 递送到 MUC1 阳性乳腺癌细胞中。与体外 MUC1 阴性对照细胞相比,负载有 Dox 的 Apt-Td 对 MUC1 阳性癌细胞表现出更高的细胞毒性( $p < 0.01$ )。因此,他们提出 Apt-Td 有可能成为靶向治疗 MUC1 表达的乳腺癌有效药物的载体。

在功能化纳米材料具有靶向药物传递能力的基础上,Liu 等<sup>[65]</sup>通过在纳米载体材料中加入具有荧光特性的探针,实现了细胞膜上 MUC1 蛋白的成像分析,以区分 MUC1 阳性细胞和 MUC1 阴性细胞。他们构建了由负载有 Dox 的 DNA 四面体(Td)、MUC1 适配体探针和 AS1411 适配体组成的纳米载体材料(MUC1-Td-AS1411)。当 AS1411 适配体选择性地与核仁蛋白结合后,纳米载体材料进入细胞核并将 Dox 释放到细胞核中。相较于游离的 Dox,负载在 MUC1-Td-AS1411 的 Dox 对 MUC1 阴性 HL-7702 细胞显示出较低的细胞毒性( $p < 0.01$ ),对敏感的 MCF-7 细胞具有近似相同的效果( $p > 0.05$ ),而对耐阿霉素 MCF-7 细胞则表现出更好的杀伤效果( $p < 0.01$ )。

Li 等<sup>[66]</sup>通过杂交,将作为信号指示剂的 CdTe 量子点(Quantum dots, QDs)与 DNA 四面体结合,大量亚甲蓝(Methylene Blue, MB)作为信号增强子镶嵌进入 DNA 四面体的边缘双链中,建立了具有接近零

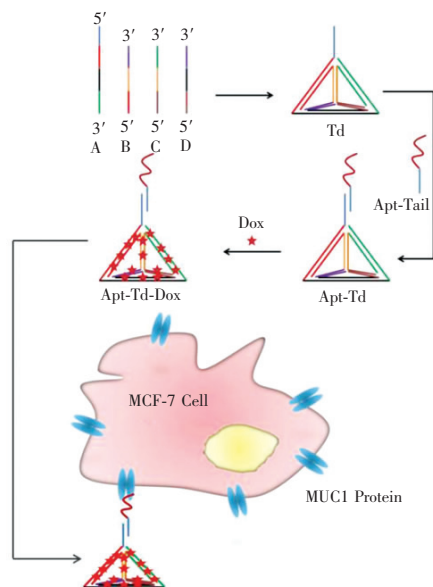


图 6 适配体修饰的 DNA 四面体用于选择性递送阿霉素至 MUC1 阳性乳腺癌细胞图示<sup>[64]</sup>

Fig. 6 Schematic of aptamer-modified DNA tetrahedron (Td) for selective delivery of doxorubicin (Dox) to mucin 1 (MUC1)-positive breast cancer cells<sup>[64]</sup>

背景噪声的光电 (Photoelectrochemical, PEC) 生物传感器 (图 7)。该传感器对于 microRNA-141 (miRNA-141) 具有较宽的检测范围 (50 amol/L ~ 50 pmol/L), 检出限为 17 amol/L。

为了高灵敏检测人体 IgG, Ding 等<sup>[67]</sup> 通过抗原 (Ag) 将链霉亲和素连接的抗人 IgG 抗体 (SA-Ab) 固定在硅烷化玻璃板表面, 然后通过生物素和链霉亲和素的特异性反应将顶点含有生物素的 DNA 四面体附着到 SA-Ab 上, 最后将荧光染料 SYBR Green I 插入到 DNA 四面体纳米结构中。利用落射荧光显微镜与电子倍增电荷耦合器对该材料进行荧光成像分析 (图 8)。通过对荧光斑逐一计量得出人 IgG 分子的数量。进一步实验表明, 当人 IgG 的浓度在  $3.0 \times 10^{-14} \sim 1.0 \times 10^{-12}$  mol/L 范围时, 图像上的荧光斑点数量与人体 IgG 的浓度呈现出较好的线性关系。

### 3.4 悬臂型修饰的 DNA 四面体纳米结构的应用

悬臂型修饰是指将功能化分子或基团悬挂在 DNA 四面体结构的边臂上<sup>[40]</sup>。如通过设计 4 条单链 DNA 的碱基序列, 使单链 DNA 的 5' 和 3' 端交汇点处于 DNA 四面体纳米结构的边上 (中间或其它非顶点处), 其中未进行互补配对的 5' 或 3' 端向外延伸用于功能分子的修饰<sup>[29,31]</sup>。

端粒酶的活性在正常细胞中受到严密调控, 但是在大多数恶性肿瘤细胞中, 其活性会被重新激活, 从而可能参与肿瘤细胞的恶性转化过程<sup>[68,69]</sup>。因此, 端粒酶活性的监测对癌症的诊断和治疗具有重要意义。为了避免使用电流探针测定细胞内端粒酶活性时受到假阳性结果干扰, Meng 等<sup>[70]</sup> 提出一种新的荧光共振能量转移 (Fluorescence resonance energy transfer, FRET) 的方法用于监测细胞内端粒酶活性。他们设计了由 DNA 四面体和 Flare DNA 构建成的 DNA 纳米探针。由于有活性的端粒酶可催化 DNA 延伸, 改变 DNA 纳米探针的结构, 导致标记的两个荧光团之间距离增加, 从而显著降低 FRET 的效率 (图 9)。他们通过该方法制备的比率传感器可用于单细胞水平的端粒酶活性检测。此外, 该方法还可进一步用于端粒酶抑制剂的检测, 有助于发现新的抗癌药物。

Lee 等<sup>[29]</sup> 自组装了具有明确大小的 DNA 四面体, 其可将 siRNAs 递送到细胞中沉默肿瘤相关靶基因。他们首先设计了 6 条 3' 末端具有互补悬垂的 DNA 单链, 然后通过自组装法获得 DNA 四面体纳米材料, 其中, 四面体的每条边中间悬出未互补配对的序列, 用于连接 siRNA 序列。最终, siRNA 通过固载在 DNA 四面体上进入细胞内部。

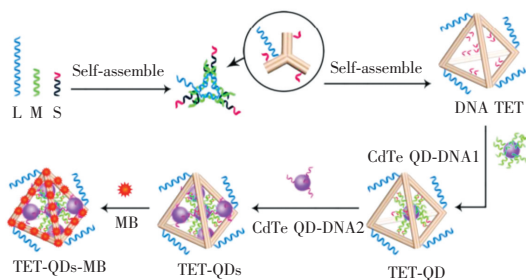


图 7 DNA TET-CdTe QDs-MB 复合物的制备<sup>[66]</sup>

Fig. 7 Preparation of DNA TET-CdTe QDs-MB complex<sup>[66]</sup>

TET, tetrahedron; MB, methylene blue; QDs, quantum dots

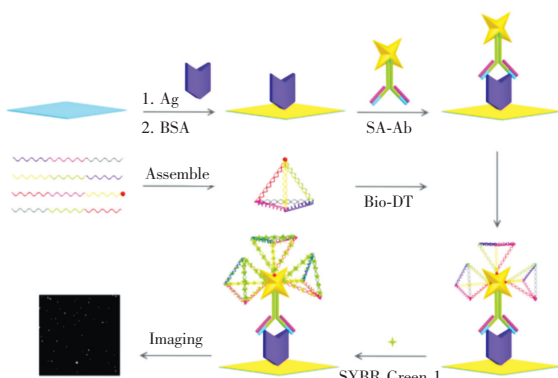


图 8 DNA 四面体纳米复合材料检测人 IgG<sup>[67]</sup>

Fig. 8 Detection of human immunoglobulin G (IgG) by DNA tetrahedral nanocomposites<sup>[67]</sup>

Ag, antigen; BSA, bovine serum albumin; Bio-DT, bio-DNA tetrahedron; SA-Ab, streptavidin-antibody

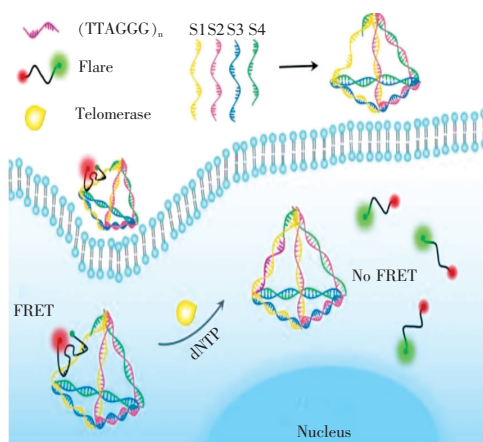


图 9 细胞内端粒酶活性监测示意图<sup>[70]</sup>

Fig. 9 Schematic diagram of monitoring telomerase activity in cells<sup>[70]</sup>

Charoenphol 等<sup>[31]</sup>将 DNA 四面体纳米材料设计出多个悬垂部分,作为结合靶向配体的位点。已有研究证实,核酸适配体 AS1411 具有抑制肿瘤细胞增殖的作用<sup>[71,72]</sup>,故将 AS1411 适配体修饰到 DNA 四面体的悬垂部分。实验结果显示,修饰有 AS1411 的 DNA 四面体纳米材料可在 24 小时内抑制 HeLa 细胞的生长,而且其高效的选择性对非癌细胞系生长几乎没有任何不利影响。该方法为基于 DNA 四面体为媒介物输送多种生物活性分子,实现协同治疗提供了参考。

## 4 总结与展望

功能化的 DNA 四面体纳米材料具有自组装简单、机械性能稳定、生物相容性能好、不易被核酶降解等优点,在生物传感器、分离分析、生物成像和药物输送等方面表现出良好的应用前景。功能化的 DNA 四面体纳米材料易于构建成特异性富集材料,实现复杂体系中目标物质的分离与定性分析。然而,由于无法获得材料捕获目标物质的确切含量,功能化的 DNA 四面体纳米材料在定量分析方面还存在一些困难。在生物诊疗领域,目前以 DNA 四面体纳米材料进行的相关体内实验仍主要选用小鼠为实验对象,在进行人体体内相关实验之前仍面临许多挑战。首先,DNA 四面体纳米材料进入细胞后,会进入溶酶体<sup>[73]</sup>,这是否最终影响它们的使用效果,目前仍不明确。此外,用于功能化修饰 DNA 四面体纳米材料的生物活性分子、荧光染料和探针等在进入体内后是否产生其它不良影响,仍需进一步研究。

## References

- 1 Watson J D, Crick F H C. *Nature*, **1953**, 171(4361): 964–967
- 2 Seeman N C. *Nature*, **2003**, 421(6921): 427–431
- 3 Walsh A S, Yin H, Erben C M, Wood M J A, Turberfield A J. *ACS Nano*, **2011**, 5(7): 5427–5432
- 4 Charoenphol P, Bermudez H. *Acta Biomater.*, **2014**, 10(4): 1683–1691
- 5 Pei H, Zuo X, Zhu D, Huang Q, Fan C H. *Acc. Chem. Res.*, **2014**, 47(2): 550–559
- 6 Dietz H, Douglas S M, Shih W M. *Science*, **2009**, 325(5941): 725–730
- 7 Raniolo S, Vindigni G, Unida V, Ottaviani A, Romano E, Desideri A, Biocca S. *Nanoscale*, **2018**, 10(25): 12078–12086
- 8 Liu Z C, Pei H, Zhang L M, Tian Y. *ACS Nano*, **2018**, 12(12): 12357–12368
- 9 Zhu D, Pei H, Yao G B, Wang L H, Su S, Chao J, Wang L H, Aldalbahi A, Song S P, Shi J Y, Hu J, Fan C H, Zuo X L. *Adv. Mater.*, **2016**, 28(32): 6860–6865
- 10 Man T T, Ji W, Liu X G, Zhang C, Li L, Pei H, Fan C H. *ACS Nano*, **2019**, 13(4): 4826–4833
- 11 Xie N L, Liu S Y, Yang X H, He X X, Huang J, Wang K M. *Analyst*, **2017**, 142(18): 3322–3332
- 12 Wang X W, Lai W, Man T T, Qu X M, Li L, Chandrasekaran A R, Pei H. *Nanofabrication*, **2018**, 4(1): 1–16
- 13 Su Y W, Li D, Liu B Y, Xiao M S, Wang F, Li L, Zhang X L, Pei H. *ChemPlusChem*, **2019**, 84(5): 512–523
- 14 Seeman N C. *J. Theor. Biol.*, **1982**, 99(2): 237–247
- 15 Seeman N C, Kallenbach N R. *Biophys. J.*, **1983**, 44(2): 201–209
- 16 Fu T J, Seeman N C. *Biochemistry*, **1993**, 32(13): 3211–3220
- 17 Winfree E, Liu F, Wenzler L A, Seeman N C. *Nature*, **1998**, 394(6693): 539–544
- 18 Rothmund, Paul W K. *Nature*, **2006**, 440(7082): 297–302
- 19 Qian L L, Wang Y, Zhang Z, Zhao J, Pan D, Zhang Y, Liu Q, Fan C H, Hu J, He L. *Chin. Sci. Bull.*, **2006**, 51(24): 2973–2976
- 20 Andersen E S, Dong M, Nielsen M M, Jahn K, Lind-Thomsen A, Mamdouh W, Gothelf K V, Besenbacher F, Kjems J. *ACS Nano*, **2008**, 2(6): 1213–1218
- 21 JIA Si-Si, CHAO Jie, FAN Chun-Hai, LIU Hua-Jie. *Prog. Chem.*, **2014**, 26(5): 695–705  
贾思思, 晁结, 樊春海, 柳华杰. *化学进展*, **2014**, 26(5): 695–705
- 22 Tikhomirov G, Petersen P, Qian L L. *Nature*, **2017**, 552(7683): 67–71
- 23 Rabin J, Behar D. *J. Phys. Chem.*, **1989**, 93: 2559–2561
- 24 Hla S W, Meyer G, Rieder K H. *ChemPhysChem*, **2001**, 2(6): 361–366
- 25 Zhang H, Jin R C, Mirkin C A. *Nano Lett.*, **2004**, 4(8): 1493–1495

- 26 Whitesides G M, Grzybowski B. *Science*, **2002**, 295(5564): 2418–2421
- 27 Li Z H, Zhao B, Wang D F, Wen Y L, Liu G, Dong H Q, Song S P, Fan C H. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2014**, 6(20): 17944–17953
- 28 Ge Z L, Lin M H, Wang P, Pei H, Yan J, Shi J Y, Huang Q, He D N, Fan C H, Zuo X L. *Anal. Chem.*, **2014**, 86(4): 2124–2130
- 29 Lee H, Lytton-Jean A K, Chen Y, Love K T, Park A I, Karagiannis E D, Sehgal A, Querbies W, Zurenko C S, Jayaraman M, Peng C G, Charisse K, Borodovsky A, Manoharan M, Donahoe J S, Truelove J, Nahrendorf M, Langer R, Anderson D G. *Nat. Nanotechnol.*, **2012**, 7(6): 389–393
- 30 Li J, Fan C H, Pei H, Shi J, Huang Q. *Adv. Mater.*, **2013**, 25(32): 4386–4396
- 31 Charoenphol P, Bermudez H. *Mol. Pharmaceut.*, **2014**, 11(5): 1721–1725
- 32 Bergamini C, Angelini P, Rhoden K J, Porcelli A M, Fato R, Zuccheri G. *Methods*, **2014**, 67(2): 185–192
- 33 Goodman R P, Berry R M, Turberfield A J. *Chem. Commun.*, **2004**, 12(12): 1372–1373
- 34 Goodman R P, Schaap I A, Tardin C F, Erben C M, Berry R M, Schmidt C F, Turberfield A J. *Science*, **2005**, 310(5754): 1661–1665
- 35 Shi S R, Lin S Y, Li Y, Zhang T, Shao X R, Tian T R, Zhou T F, Li Q S, Lin Y F. *Chem. Commun.*, **2018**, 54(11): 1327–1330
- 36 ZHU Xu-Fen. *Genetic Engineering Experiment Guide (2nd Edition)*, Beijing: Higher Education Press, **2010**  
朱旭芬. 基因工程实验指导(第2版). 北京: 高等教育出版社, **2010**
- 37 Sadowski J P, Calvert C R, Zhang D Y, Pierce N A, Peng Y. *ACS Nano*, **2014**, 8(4): 3251–3259
- 38 Li N, Wang M M, Gao X N, Yu Z Z, Pan W, Wang H Y, Tang B. *Anal. Chem.*, **2017**, 89(12): 6670–6677
- 39 Ikai A, Afrin R, Saito M, Watanabe-Nakayma T. *Cell Develop. Biol.*, **2018**, 73: 132–144
- 40 DONG Shi-Biao, JIAO Xiong, ZHAO Rong-Tao, Xu Jin-Kun, SONG Hong-Bin, HAO Rong-Zhang. *Prog. Chem.*, **2015**, 27(9): 1191–1197  
董世彪, 焦 雄, 赵荣涛, 许金坤, 宋宏彬, 郝荣章. 化学进展, **2015**, 27(9): 1191–1197
- 41 Pei H, Lu N, Wen Y L, Song S P, Liu Y, Yan H, Fan C H. *Adv. Mater.*, **2010**, 22(42): 4754–4758
- 42 Erben C M, Goodman R P, Turberfield A J. *Communications*, **2006**, 45(44): 7414–7417
- 43 Xia Z W, Wang P, Liu X W, Liu T, Yan Y N, Yan J, Zhong J, Sun G, He D N. *Biochemistry*, **2016**, 55(9): 1326–1331
- 44 Schlapak R, Danzberger J, Armitage D, Morgan D, Ebner A, Hinterdorfer P, Pollheimer P, Gruber H J, Schaffler F, Howorka S. *Small*, **2012**, 8(1): 89–97
- 45 Bu N N, Tang C X, He X W, Yin X B. *Chem. Commun.*, **2011**, 47(27): 7689–7691
- 46 Qu X M, Xiao M S, Li F, Lai W, Li L, Zhou Y, Lin C L, Li Q, Ge Z L, Wen Y L, Pei H, Liu G. *ACS Appl. Bio. Mater.*, **2018**, 1(3): 859–864
- 47 Qu X M, Zhang H B, Chen H, Aldalbahi A, Li L, Tian Y, Weitz D A, Pei H. *Anal. Chem.*, **2017**, 89(6): 3468–3473
- 48 Qu X M, Yang F, Chen H, Li J, Zhang H B, Zhang G J, Li L, Wang L H, Song S P, Tian Y, Pei H. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2017**, 9(19): 16026–16034
- 49 Wang Z G, Xue Q W, Tian W Z, Wang L, Jiang W. *Chem. Commun.*, **2012**, 48(77): 9661–9663
- 50 Liu J N, Bu W B, Pan L M, Zhang S J, Chen F, Zhou L P, Zhao K L, Peng W J, Shi J L. *Biomaterials*, **2012**, 33(29): 7282–7290
- 51 Tian Y Q, Huang Y Y, Gao P, Chen T F. *Chem. Commun.*, **2018**, 54(68): 9394–9397
- 52 Li Y L, Liu Z Y, Yu G M, Jiang W, Mao C D. *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, 137(13): 4320–4323
- 53 Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula S M, Ahmad M, Alnemri E S, Wang X D. *Cell*, **1997**, 91(4): 479–489
- 54 Zhou T, Wang Y J, Dong Y C, Chen C, Liu D S, Yang Z Q. *Bioorg. Med. Chem.*, **2014**, 22(16): 4391–4394
- 55 Jain S, Hirst D G, O'Sullivan J M. *Br. J. Radiol.*, **2012**, 85(1010): 101–113
- 56 Li J, Pei H, Zhu B, Liang L, Wei M, He Y, Chen N, Li D, Huang Q, Fan C H. *ACS Nano*, **2011**, 5(11): 8783–8789
- 57 Kim K R, Lee Y D, Lee T, Kim B S, Kim S, Ahn D R. *Biomaterials*, **2013**, 34(21): 5226–5235
- 58 Ozhalici U H, Armitage B A. *ACS Nano*, **2009**, 3(2): 425–433
- 59 Bagalkot V, Farokhzad O C, Langer R, Jon S. *Angew. Chem. Int. Edit.*, **2006**, 45(48): 8149–8152

- 60 Kim K R, Kim D R, Lee T, Yhee J Y, Kim B S, Kwon I C, Ahn D R. *Chem. Commun.*, **2013**, 49(20): 2010–2012
- 61 Brayman M, Thathiah A, Carson D D. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, **2004**, 2(1): 4–12
- 62 Maeda T, Hiraki M, Jin C, Rajabi H, Tagde A, Alam M, Bouilliez A, Hu X F, Suzuki Y, Miyo M, Hata T, Hinohara K, Kufe D. *Cancer Res.*, **2018**, 78(1): 205–215
- 63 Grover P, Nath S, Nye M D, Zhou R, Ahmad M, Mukherjee P. *Oncotarget*, **2018**, 9(6): 6897–6910
- 64 Dai B D, Hu Y, Duan J H, Yang X D. *Oncotarget*, **2016**, 7(25): 38257–38269
- 65 Liu X T, Wu L N, Wang L, Jiang W. *Talanta*, **2017**, 179: 356–363
- 66 Li M J, Xiong C, Zhang Y N, Liang W B, Yuan R, Chai Y Q. *Anal. Chem.*, **2018**, 90(13): 8211–8216
- 67 Ding Y S, Liu X T, Zhu J, Wang L, Jiang W. *Talanta*, **2014**, 125: 393–399
- 68 Qian R C, Ding L, Yan L W, Lin M F, Ju H X. *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, 136(23): 8205–8208
- 69 Wei Y T, Liu R, Sun Z P, Wang Y L, Cui Y Y, Zhao Y L, Cai Z F, Gao X Y. *Analyst*, **2013**, 138(5): 1338–1341
- 70 Meng F Y, Chai H, Ma X Y, Tang Y G, Miao P. *J. Mater. Chem. B*, **2019**, 7: 1926–1932
- 71 Soundararajan S, Wang L, Sridharan V, Chen W, Courtenay L N, Jones D, Spicer E K, Fernandes D J. *Mol. Pharmacol.*, **2009**, 76(5): 984–991
- 72 Mongelard F, Bouvet P. *Curr. Opin. Mol. Ther.*, **2010**, 12(1): 107–114
- 73 Liang L, Li J, Li Q, Huang Q, Shi J, Yan H, Fan C H. *Angew. Chem. Int. Edit.*, **2014**, 53(30): 7745–7750

## Progress in DNA Tetrahedral Nanomaterials and Their Functionalization Research

YU Li-Xing<sup>1, 2</sup>, ZHAI Rui<sup>2</sup>, GONG Xiao-Yun<sup>2</sup>, XIE Jie<sup>2</sup>, HUANG Ze-Jian<sup>2</sup>, LIU Mei-Ying<sup>2</sup>,  
JIANG You<sup>2</sup>, DAI Xin-Hua<sup>2</sup>, FANG Xiang<sup>\*2</sup>, YU Xiao-Ping<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup>(College of Life Sciences, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Biometrology and Inspection & Quarantine, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China)

<sup>2</sup>(Mass Spectrometry Engineering Technology Research Center, Center for Advanced Measurement Science, National Institute of Metrology, Beijing 100029, China)

**Abstract** DNA tetrahedral nanomaterials have been widely used in the fields of biosensors, drug delivery, bioimaging and separation analysis because of their high stability, good biocompatibility and easy modification. Through different designs, specific functional molecules can be modified at DNA tetrahedral vertices, DNA tetrahedral cage structures, DNA double helix structures, or DNA tetrahedron arms. The advantages of the materials are well combined with the specific functions of the active molecules. This paper first reviewed the development of DNA nanotechnology, and then introduced four different functional modifications of DNA tetrahedron nanomaterials and their research status.

**Keywords** DNA nanotechnology; DNA tetrahedron; Functionalization; Review

(Received 10 May 2019; accepted 4 July 2019)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (No. 2018YFF0212503) and the National Natural Science Foundation of China (No. 21575132).