

基于四链 DNA 构建纳米结构的研究进展

曹艳伟, 裴仁军*

中国科学院苏州纳米技术与纳米仿生研究所, 纳米生物医学研究部, 苏州 215123

* 联系人, E-mail: rjpei2011@sinano.ac.cn

2018-05-31 收稿, 2018-07-19 修回, 2018-07-23 接受, 2018-08-13 网络版发表

中国博士后科学基金(2017M620228, 2018T110550)资助

摘要 除DNA双螺旋结构外, DNA分子还可以形成三链和四链等其他二级结构. 近些年来人们更加关注四链DNA的研究, 包括G-四链体和I-motif结构. 一方面由于富G和富C序列存在于基因的重要区域并发挥重要作用; 另一方面由于四链结构组装的特殊性和结构柔性, 其也常用于构建DNA纳米结构. 此前基于双链DNA已经构建出许多纳米结构和材料, 并发展出模块组装和DNA折纸等成熟的DNA纳米结构组装方法. 本文将重点介绍近些年来富G和富C长链形成的四链DNA纳米结构和以四链结构为基本组装单元构建DNA纳米结构的相关研究进展, 并简要介绍四链DNA纳米结构的功能性应用及展望其未来发展方向.

关键词 G-四链体, I-motif, 分子组装, DNA 纳米结构, 结构应用

DNA分子作为遗传信息的主要载体, 不仅在生命科学中发挥重要的作用, 同时由于其结构的多样性, 碱基之间特定的识别作用, 使得它成为一种非常有前景的纳米材料构建单元. 关于DNA结构纳米技术, 最早是由Seeman^[1]于1982年提出. 在文中他基于生物体内两条同源DNA双链发生部分链交换而形成的具有二维尺度的十字交叉结构(即Holliday中间体)这一现象, 提出了“将DNA分子作为一种纳米材料组装单元”的大胆设想, 并以十字形交叉结构作为组装单元设计出二维网格结构以及蛋白掺杂的三维网状结构. 之后的30多年里, 关于构建DNA纳米结构的工作和报道层出不穷. 如最早通过柔性分支(branched junction)^[2]和拓扑单元^[3]来构建DNA纳米结构, 以及Mao课题组^[4]后来发展的平行四边形和三角形DNA Junction^[5]作为组装单元, 再到之后的交叉型瓦片(crossover DNA tiles)组装单元的出现^[6]以及基于不同Tile模块组装出形态各异的空间立体结构^[7,8](图1(a)~(c)). 2006年, Rothmund^[9]以一条长链

DNA为模板, 让多条短链分别与长链的某个部分互补, 这样当它们相互作用后, 互补的短链即可将长链如同订书钉般装订为各种形貌的图案, 他将这种组装方法命名为DNA折纸技术(DNA origami)(图1(d)). 之后, Yan课题组^[10,11]基于这种方法设计了各种三维实心结构以及不同曲率的三维空心纳米结构. 目前DNA不仅可以用于组装各种形貌的DNA纳米结构, 同时还可以用于对蛋白、金纳米粒子的有序排布以及构建纳米机械装置^[12,13].

随着对DNA结构认识的不断加深, 四链DNA结构逐渐得以解析和发展, 人们发现四链DNA同样具有重要的生物学功能. 首先, 富G序列广泛分布在人体染色体重要区域, 对于基因表达的调控和染色体的维护发挥重要的作用, 常被作为疾病治疗的靶点位置^[14,15]; 此外一些重要的原癌基因区域, 也都广泛分布着可以形成C-四链结构(I-motif)的DNA序列^[16]. 2013年, Balasubramanian课题组^[17]利用特异性的抗体成功地在人体细胞中观察到了G-四链体结构;

引用格式: 曹艳伟, 裴仁军. 基于四链 DNA 构建纳米结构的研究进展. 科学通报, 2019, 64: 1037–1052

Cao Y W, Pei R J. Construction of nanostructures based on quadruplex DNA scaffolds (in Chinese). Chin Sci Bull, 2019, 64: 1037–1052, doi: 10.1360/N972018-00528

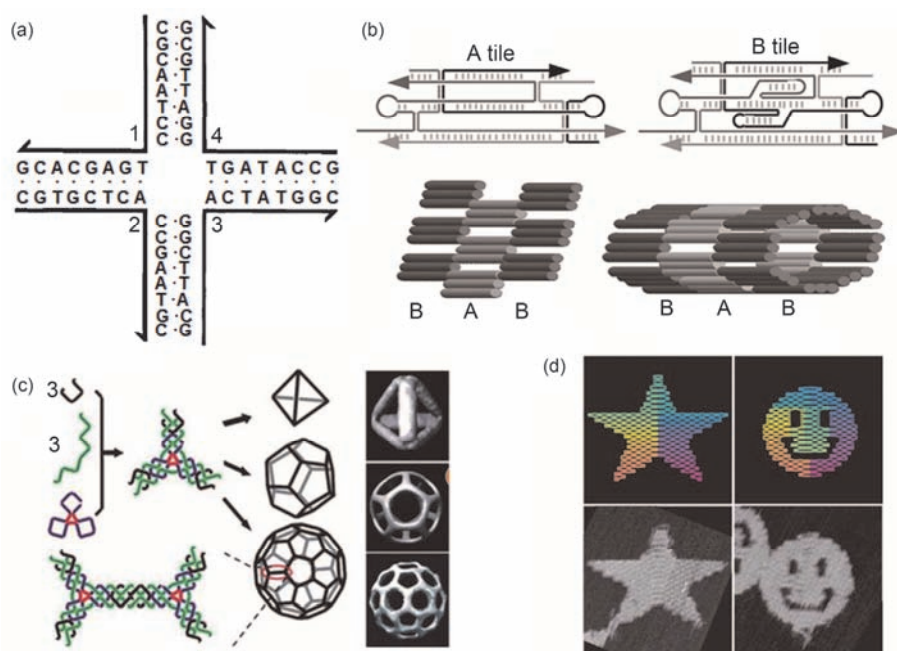


图 1 (网络版彩色)基于双链DNA设计不同组装模块用于构建DNA纳米结构的示意图. Seeman课题组^[2]最早设计的一种稳定的十字型交叉结; (b) 基于两种三重交叉瓦片(triple-crossover tiles)组装的DNA纳米管^[6]; (c) 基于三点星状模块(three-point-star motifs)组装的DNA多面体^[7]; (d) 基于DNA折纸技术构建不同形貌的DNA纳米结构^[9]

Figure 1 (Color online) Schematic illustration of different DNA tiles and the self-assembly of various DNA nanostructures. (a) An immobile nucleic acid junction consisting of four hexadecanucleotides^[2]; (b) the construction of DNA nanotubes based on two types of triple-crossover tiles^[6]; (c) the assembly of various DNA polyhedrons based on three-point-star motifs^[7]; (d) two different shaped DNA nanostructures of DNA origami constructs^[9]

Sugimoto课题组^[18]发现, 当mRNA中的一段折叠为G-四链体后, 会影响其与核糖体的作用从而影响蛋白质翻译的过程. 同样地, Kendrick等人^[19]通过控制Bcl-2处一段富C序列I-motif结构与发卡型结构的转换可以实现基因表达的“增强”与“抑制”. Park等人^[20]在近期的研究工作中表明, 利用四链DNA的结构(G-四链体与I-motif)特异性控制金纳米粒子的团聚, 可以发展出多重组合的抗肿瘤治疗方法. 此外, 令生物学家感到兴奋的是, 不久前Zeraati等人^[21]成功地在人体内观察到I-motif结构, 并表明其与癌症和衰老有一定的关系.

值得注意的是, 四链DNA除了其重要的生物作用, 近些年来也被证实是一种优秀的DNA纳米结构的构建单元. 首先, 一段富G或富C长链会分子内折叠形成不同形态的四链DNA纳米结构; 其次, 富G或富C的短链自身会自组装形成四链DNA纳米导线(G-wires或I-wires), 不过这些序列组装的结构相比较而言不够精细并且可控性差; 此外, 目前也有许多文献报道了利用四链DNA结合其他类型DNA组合的方式构建DNA纳米结构; 最后, 这些四链DNA纳米结

构组装后也显示出很好的功能化应用. 本文根据这些四链体纳米结构的特点分类展开讨论, 并简述四链DNA纳米结构的相关功能化应用.

1 G-四链体纳米结构的组装及应用

G-四链体是由一段或几段富G序列通过分子内或分子间Hoogsteen氢键连接形成的多个G-四分体堆积而成. 一些特定的阳离子(如 K^+ , Na^+ , NH_4^+ 等)位于G-四分体中心位置, 通过与 O_6 原子之间的静电整合作用进一步稳定四链体结构(图2(a))^[22]. 相对于双链DNA来说, G-四链体结构呈现出更加丰富的结构形态: 首先G-四链体可以通过多条链分子间聚合, 如四分子G-四链体(图2(b))和双分子G-四链体(图2(c)和(d))或是一条链分子内折叠而成(图2(e)~(i)); 其次单分子和双分子结构中连接环(loop)区域的变化以及不同的阳离子属性会影响G-四链体中G碱基的顺反异构(即糖苷角发生变化), 导致结构中DNA链的走向发生变化, 最终形成平行(四条链走向一致, 图2(b)和(e)), 混杂(有且仅有3条链走向一致, 图2(f)和(g))和反平行(4条链中, 两两走向一致, 图2(c), (d), (h)和

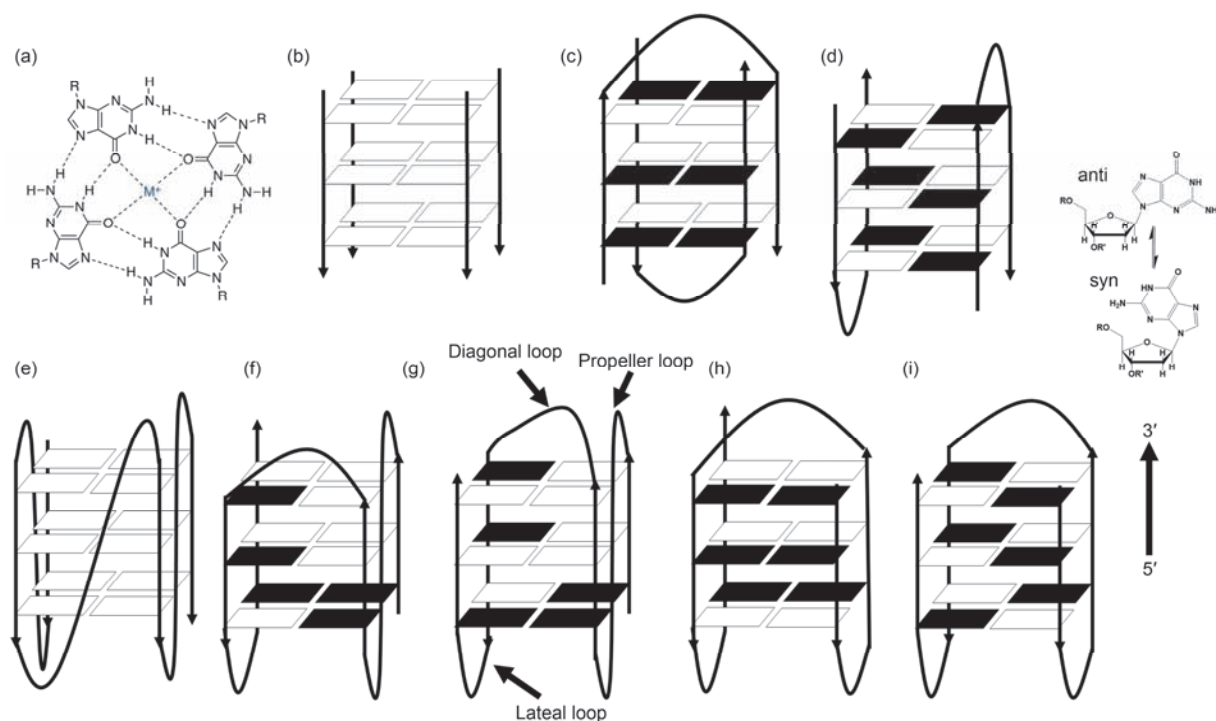


图2 G-四分体以及3个G-四分体堆积而成的不同种G-四链体结构。(a) Hoogsteen键连接的G-四分体;(b) 3层G-四分体堆积构成的G-四链体, 四分子G-四链体(平行结构);(c, d) 双分子G-四链体(反平行结构);单分子G-四链体平行结构(e), 混杂结构(f, g)和反平行结构(h, i)

Figure 2 G-quartet and various G-quadruplex topologies containing three stacked G-quartets. (a) A G-quartet connected by Hoogsteen bonds; (b) tetramolecular parallel G-quadruplex; (c) and (d) two types of bimolecular anti-parallel G-quadruplexes; (e)–(i) various unimolecular G-quadruplexes including parallel (e), hybrid (f, g) and anti-parallel (h, i) conformations

(i)等类型的G-四链体。此外, 序列中G-重复单元的个数和长度, 序列中的末端残基部分, DNA链的浓度以及溶液中溶剂分子的拥挤效应等都会对G-四链体结构的形态产生重要的影响^[22~24], 这同时也为构建多种G-四链体纳米结构提供了丰富的调控条件。如图2所示, 单分子结构中的loop主要分为平行环(propeller loop)、侧面环(lateral loop)和对角环(diagonal loop), 分别简称为P loop, L loop和D loop; 此外, 根据五碳糖与G碱基之间形成的糖苷角可以将鸟嘌呤核苷分为顺式构象和反式构象, 图示中分别用黑色和白色四边形加以区分, 箭头方向代表5'→3'。

1.1 富G长链分子内折叠

富G序列会通过自身折叠方式形成仅包含G-四链体结构单元的线型纳米结构。由于人体端粒序列的末端有一段由GGGTTA(TTAGGG)重复单元组成的富G单链(~200个核苷酸), 这段序列折叠为G-四链体之后可以抑制端粒酶的表达, 因此更多人开始探究 $d(G_3TTA)_n$ 或 $d(TTAG_3)_n$ 以及在这些序列的末端加

入一段非G残基这样的富G长链形成的多个G-四链体结构的特征(为使形成相对规整的多个G-四链体单元连接结构, n 一般为4的整数倍)^[25~27]。对于人体端粒短链序列, 不同的离子种类以及末端残基的调控会促使不同种构型的单分子G-四链体的产生。图3(a)列出的是含有4个G重复单元但是具有不同末端残基的端粒序列以及修饰序列在钾离子溶液中形成的多种G-四链体构型: 如 $dT_2G_3(T_2AG_3)_3A$ 或 $dA_3G_3(T_2AG_3)_3A_2$ 序列形成混杂-1型G-四链体^[28,29], $dT_2AG_3(T_2AG_3)_3T_2$ 序列形成混杂-2型G-四链体^[30], $dAG_3(T_2AG_3)_3$ 序列形成平行G-四链体^[31]以及 $dG_3T_2AG^{Br}GGT_2A(T_2AG_3)_2T$ 序列形成篮子型(Form-3)G-四链体(G^{Br} 表示G碱基的8号位的H被Br取代)^[32](混杂-1和混杂-2结构中均包含1个P loop和2个L loop, 不同的是前者中P loop更靠近5'端, 后者更靠近3'端)。基于以上研究内容, 研究者针对人体端粒序列长链形成的G-四链体纳米结构提出了3种模型: 念珠模型(beads-on-a-string model)、G-四分体调控模型以及loop碱基调控模型(图3(b))^[33]。其中第1种模型中单分子G-四链体结构单元彼此独

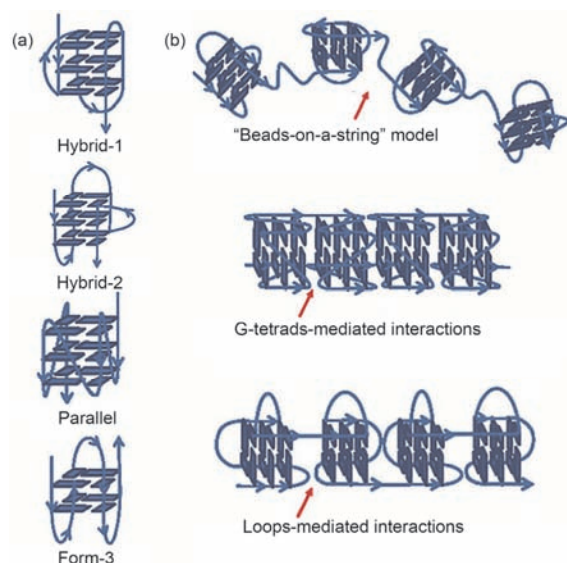


图3 (网络版彩色)人体端粒序列短链形成的不同种单分子G-四链体及其长链可能形成的G-四链体纳米结构^[33]. (a) 含有4个G-重复单元的人体端粒序列在钾离子溶液中形成的不同种单分子G-四链体: 包括2种混杂结构, 一种平行和一种反平行结构; (b) 人体端粒序列长链形成G-四链纳米结构的3种组装模型

Figure 3 (Color online) Single G-quadruplex topologies formed by human telomeric sequences containing four G-repeats and possible structures for long telomeric sequences^[33]. (a) Single G-quadruplex topologies formed by short human telomeric sequences in K^+ solution including two hybrid, one parallel and one anti-parallel conformations. (b) higher-ordered multimeric quadruplex structures for long telomeric sequences assembled from three models: “beads-on-a-string” model, G-tetrads-mediated model and loops-mediated model

立, 只是通过TTA-loop连接起来; 而后两种模型中单分子G-四链体结构单元分别通过G-四分体和loop区域产生强烈的堆积作用. 目前的研究结果表明loop碱基调控模型与实验表征数据更加契合, 且结构中的单分子G-四链体结构单元之间按照“混杂结构1-混杂结构2”(5'→3')这样的堆积方式更加稳定^[27,34].

此外, Kotlyar等人^[35]的研究结果表明 $d(G)_n$ (n 长达几千个)这种多G长链会形成分子内的G-四链体纳米导线(G-wires), 且形成的结构具有很好的机械强度和热稳定性.

1.2 富G短链分子间组装

当富G序列以短链的形式存在, 这些短链会通过分子间相互作用首先形成四链结构, 然后再通过堆积或聚合的方式组装为G-四链体纳米结构. 其中溶液中离子的种类对于结构的组装发挥重要的作用. 如Marsh和Henderson^[36]在1994年报道了一种由 $d(G_4T_2G_4)$ 序列在 K^+ 或 Na^+ 条件下形成的G-wires模型,

这种纳米结构是由两条链的5'-GGGG片段与另外两条链的3'-GGGG片段以链平行的方式结合, 并基于这种滑动错配交替连接组装而成(图4(a)); Miyoshi等人^[39]在之后的研究表明 $d(G_4T_4G_4)$ 序列同样可以形成类似平行的G-wires, 但是需要 Ca^{2+} 的辅助才能降低序列形成双分子反平行G-四链体的趋势. 此外, 许多研究表明在G-wires形成的过程中一价和二价阳离子(一般指 K^+ 和 Mg^{2+})会具有协同作用, 这其中包括 $d(C_4T_4G_4T_{1-4}G_4)$ ^[40], $d(G_xT_2G_y)$ ($x=1,3$ 或 4 ; $y=2\sim5$)^[41], $d(TGG)_4$ (图4(b))^[40]等序列形成多聚物结构. 值得注意的是, 古练权课题组^[41]的研究结果表明 Mg^{2+} 可以有效诱导单分子平行G-四链体通过末端堆积的方式形成G-wires, 这种方法可以用于沉积平行的G-四链体结构(图4(c)).

以上序列形成的G-wires结构相对规整, 而当一段G-重复单元(G的个数 ≥ 3)在某一端连接一段末端碱基片段后, 它们会形成一种散口型的G-四链体纳米导线(Frayed wires). 早在1992年, Sen和Gilbert^[42]研究发现 $d(T_9G_3)$ 序列在 K^+ 或 Rb^+ 条件下在凝胶的大分子区域显示出多条弥散的条带, 而 $d(T_8G_3T)$ 序列不会出现这种状况, 基于此他们推测3'-GGG片段在形成四分子G-四链体过程中, 由于没有3'末端残基的位阻效应, 会发生滑动错配形成一种类似“甘蔗模型”(sugar cane model)的大分子结构(图5(a)). 之后, Protozanova和Macgregor^[43]研究发现 $d(A_{15}G_{15})$ 在 K^+ 和 Mg^{2+} 同时存在的条件下同样会形成上述类似错配型的平行G-wires, 将其命名为“Frayed wires”(图5(b)), 实验结果表明结构中支出的5'- A_{15} 侧链可以与 $d(T_{10})$ 或 $d(CT_{15})$ 配对形成双链结构, 而加入互补序列 $d(C_{15}T_{15})$ 则会使结构解离形成常规的双链结构^[43]. 进一步研究^[45]表明Frayed wires的形成与母链的方向性无关, 即 A_{15} 片段位于 G_{15} 片段的3'端时, 结构同样能够形成. 同时, Poon和Macgregor^[46]还研究了 $d(T_{15}G_n)$ ($n=4\sim15$)序列, 结果表明 $n=5\sim8$ 时会形成常规的四分子G-四链体, 而当 $n>8$ 时更容易形成Frayed G-wires. 值得注意的是, Batalia等人^[44]基于 $d(A_{15}G_{15})$ 和biotinylated- $d(A_{15}G_{15})$ 分别构建出Frayed G-wires: 其中biotinylated- $d(A_{15}G_{15})$ 形成的纳米结构通过修饰的生物素与亲和素过氧化物酶(avidin peroxidase)结合后, 依然能够保留酶的催化性能, 表明biotinylated- $d(A_{15}G_{15})$ 形成的Frayed wires可以保持蛋白活性; 而滴加 $d(T_{15})$ 或 $d(CT_{15})$ 序列片段则可以将以上两种Frayed wires连接为二维(2D)或三维

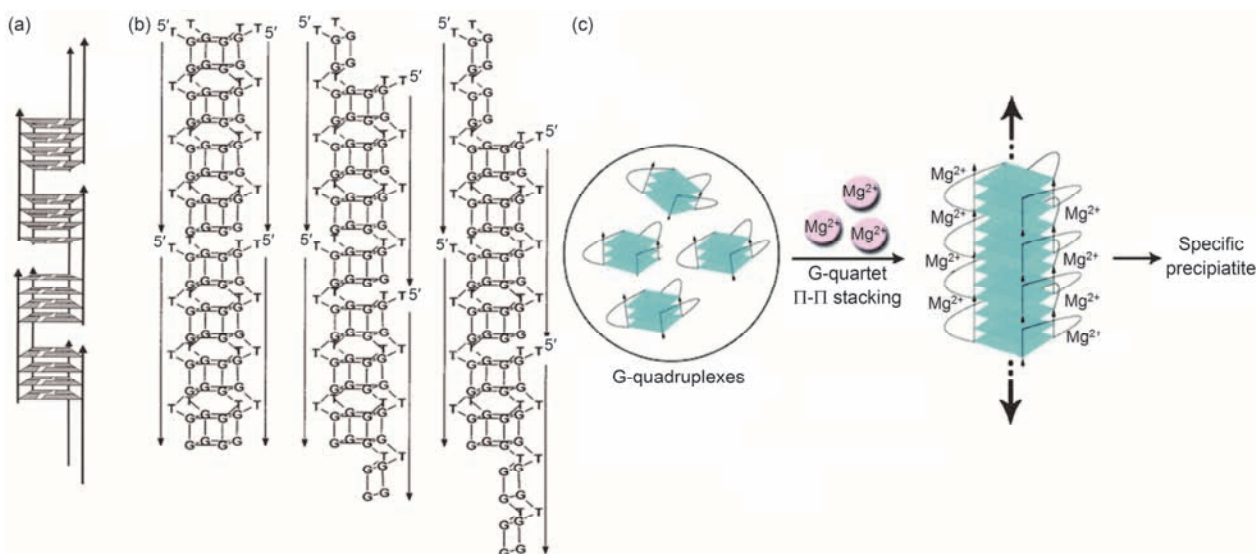


图 4 (网络版彩色)不同种富G序列组装形成的G-四链体纳米结构或多聚物. (a) $d(G_4T_2G_4)$ 序列形成的G-wires模型(图中未绘出加合的阳离子)^[36]; (b) $d(TGG)_4$ 序列形成富G多聚物可能的组装模式^[37]; (c) Mg^{2+} 沉积平行G-四链体的示意图^[38]

Figure 4 (Color online) The self-assembly of G-wires or G-rich aggregations formed by different G-rich DNA strands. (a) Proposed G-wire model for $d(G_4T_2G_4)$ ^[36]; (b) schematic drawings of three possible means of G-rich aggregations assembled by $d(TGG)_4$ ^[37]; (c) proposed model for specific precipitation of parallel G-quadruplex with magnesium ion^[38]

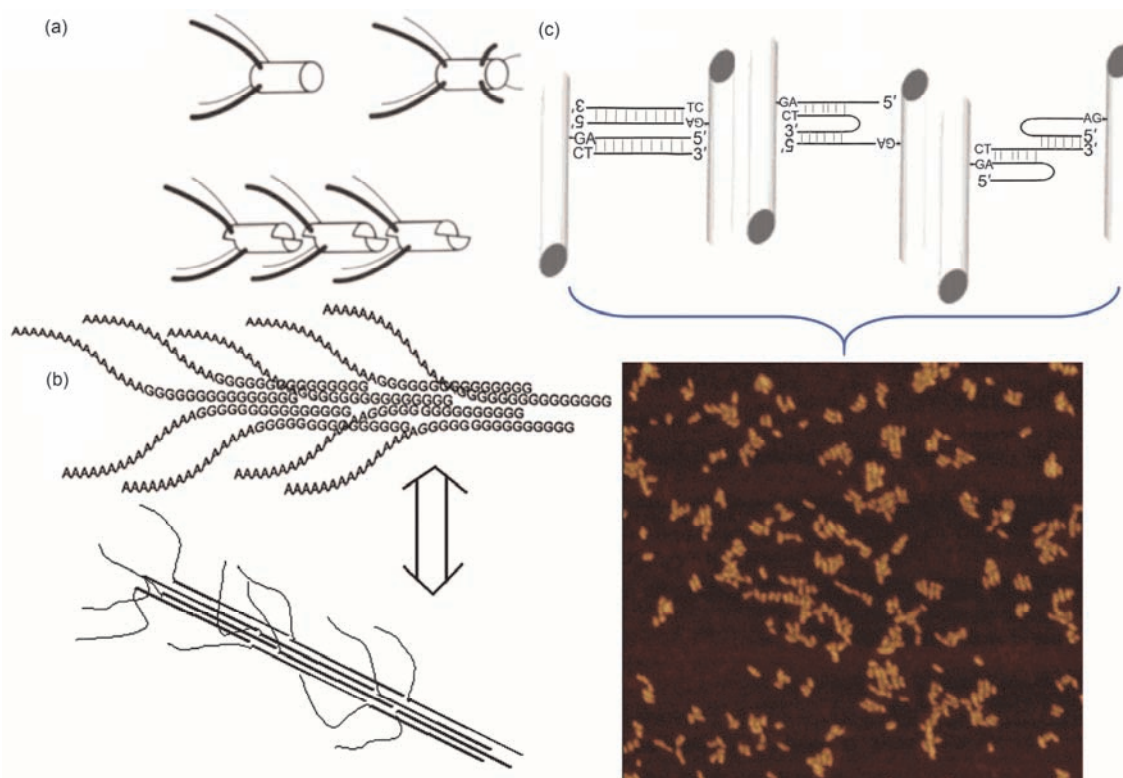


图 5 (网络版彩色)一端封闭的富G短链形成的错配型的平行G-wires. (a) $d(T_nG_3)$ 和 $d(T_{n-1}G_3T)$ 形成的G-四链体单元(上)以及 $d(T_nG_3)$ 形成的类似“甘蔗模型”的DNA大分子结构(下)^[42]; (b) $d(A_{15}G_{15})$ 序列形成的“Frayed wires”^[43]; (c) $d(CT_{15})$ 序列将 $d(A_{15}G_{15})$ 序列形成的Frayed wires连接为多维结构的三种模型及其 $1\mu m \times 1\mu m$ 尺寸下的原子力显微镜(AFM)图像^[44]

Figure 5 (Color online) The self-assembly of frayed G-wires formed by short G-rich DNA strands with non-G bases at one terminal. (a) G-quadruplex units formed by $d(T_nG_3)$ and $d(T_{n-1}G_3T)$ (top), and the sugar cane model for $d(T_nG_3)$ (bottom)^[42]; (b) schematic drawings of frayed G-wires formed by $d(A_{15}G_{15})$ ^[43]; (c) frayed-wire networks of $d(A_{15}G_{15})$ linked by $d(CT_{15})$, and the AFM image^[44]

(3D)-网络结构(图5(c)).

富G序列除了通过形成G-wires进行自组装方式外, Biyani和Nishigaki^[47]还基于d(G₁₁T)序列形成的G-四链体纳米结构, 提出了一种双分子G-四链体通过“堆积木”进行组装的模型; 同样地, 一些特殊的富G序列通过“互锁”的方式形成的双分子G-四链体, 包括93del为主的3+1型-G-四链体结构的二聚, 同样为构建G-四链超分子结构提供了可参考的组装模型^[48,49].

1.3 G-四链体连接的多组分交替结构

当富G序列引入一些可以形成其他结构的序列片段后, 那么序列组装后就会形成G-四链体连接的多组分交替排列结构. 如Dutta等人^[50]首先在富G片段-(T₄G₄)₂的5'端加入一段可以自身碱基配对的片段, 最终设计出了5'-AGTCAAGGCGCCTTGAAGT(T₄G₄)₂-3'序列(G1): 它在Li⁺条件下会二聚为双链DNA结构, 且在3'端均包含一个-(T₄G₄)₂富G片段; 而在Na⁺条件下, 上述的双链结构则会进一步通过两侧的3'端富G序列形成双分子反平行G-四链体, 最终组装为“双链+G-四链体”模式的DNA纳米结构. 基于同样原理, 实验中他们进一步设计了两条序列: 5'-CGACATCGCTCAGCCAGACA(T₄G₄)₂-3'(G2) 和 5'-TGTCTGGCTGAGCGATGTCG(T₄G₄)₂-3'(G3), 将这两条序列在Na⁺条件下混合同样会形成“双链+G-四链体”模式的DNA纳米结构(图6(a)和(b))^[50].

此外, Hessari等人^[51]在富G片段-GGAGG-的5'和3'端分别加入一段GC片段, 设计出d(GCGGAGGCG)序列: 它首先会在Na⁺条件下形成双分子G-四链体, 且结构两侧的G-四分体的对角线处具有一对GC片段. 根据文献^[52]报道, 短的GC序列会形成GCGC-四链体, 因此上述的GC片段会通过形成GCGC-四分体的方式将以上G-四链体结构连接为四链DNA纳米结构(图6(c)和(d))^[51]. 之后Ilc等人^[53]的研究结构表明, d(GCGGTG₄TGGCG)序列可以按照同样地方式形成四链体纳米结构. 而近期Troha等人^[54]对d(GCGGXGGCG)(X=A, T, TC, TG₄T, TG₄TG₄T以及TG₄TG₄TG₄T)等序列的研究表明, G-四链体loop区域为A时最有利于四链DNA纳米结构的形成.

1.4 G-四链DNA纳米结构应用简介

G-四链DNA结构的形成对基因的表达和调控, 基因相关疾病的治疗等方面具有重要的应用价值.

此外, 人们针对四链DNA的自身的结构特点也开展了一系列功能化应用的研究工作. 如G-四链体结构与氯高铁血红素(Hemin)结合后可以发挥过氧化物酶催化功能, 这种脱氧核酶与传统的蛋白酶相比具有经济、稳定、可重复利用等优势, 为发展非标记的生物和化学传感器提供了广阔的空间, 同时还可用于检测各种目标物质^[55,56].

值得注意的是, Monchaud课题组^[57]的研究结果表明, 一段很长的人体端粒序列形成的多分子堆积G-四链体组装体结构与单分子G-四链体/Hemin脱氧核酶比较, 在具备相同G-四链体结构单元数量时, 前者的酶催化效率要远高于后者, 这主要是由于堆积的G-四链体结构单元之间能够为Hemin分子提供高活性疏水位点. 基于此原理, 他们还利用DOTASQ分子(一种人工合成的G-四分体)封闭四链体末端以提高末端G平面的疏水性, 进一步将末端的G平面转化为高活性作用位点(图7(a)). Willner课题组^[58]基于DNA链取代反应使得两条分段式的富G序列自主组装为“G-四链体+双链”类型的DNA纳米结构, 利用DNA纳米结构组装过程中诱导多个G-四链体单元的形成从而对G4/Hemin DNAzyme催化反应进行信号放大, 成功实现了对目标DNA序列的高灵敏度检测. 此外, 李念兵课题组^[59]的研究结果表明单分子G-四链体经Mg²⁺沉积形成的G-wire纳米结构具有信号放大的功能: 实验中他们通过序列修饰的方式让G-wire纳米结构在金电极表面组装后, 利用四链DNA发挥过氧化物酶催化性能过程中产生的信号变化对目标DNA和靶蛋白(凝血酶)进行定量检测, 最终堆积型G-四链纳米结构催化体系相比于单分子G-四链体催化单元在检测限方面提升了两个数量级(图7(b)); 他们还进一步利用G-四链纳米结构的形成结合非标记下的光电化学的“关-开”平台, 实现了对癌细胞中miRNA的高灵敏度检测^[60].

另一方面, Livshits等人^[61]利用静电力显微镜对富G序列形成的四分子平行G-四链纳米结构和单分子反平行G-四链纳米结构的导电性能进行了探究, 结果发现前者的导电性能要明显优于后者, 表明四分子平行G-四链纳米结构中电荷的迁移性更好, 有望用于新型的导电分子纳米材料.

2 I-motif纳米结构的组装及相关应用简介

I-motif结构是由两组平行的双链以“头到尾”的

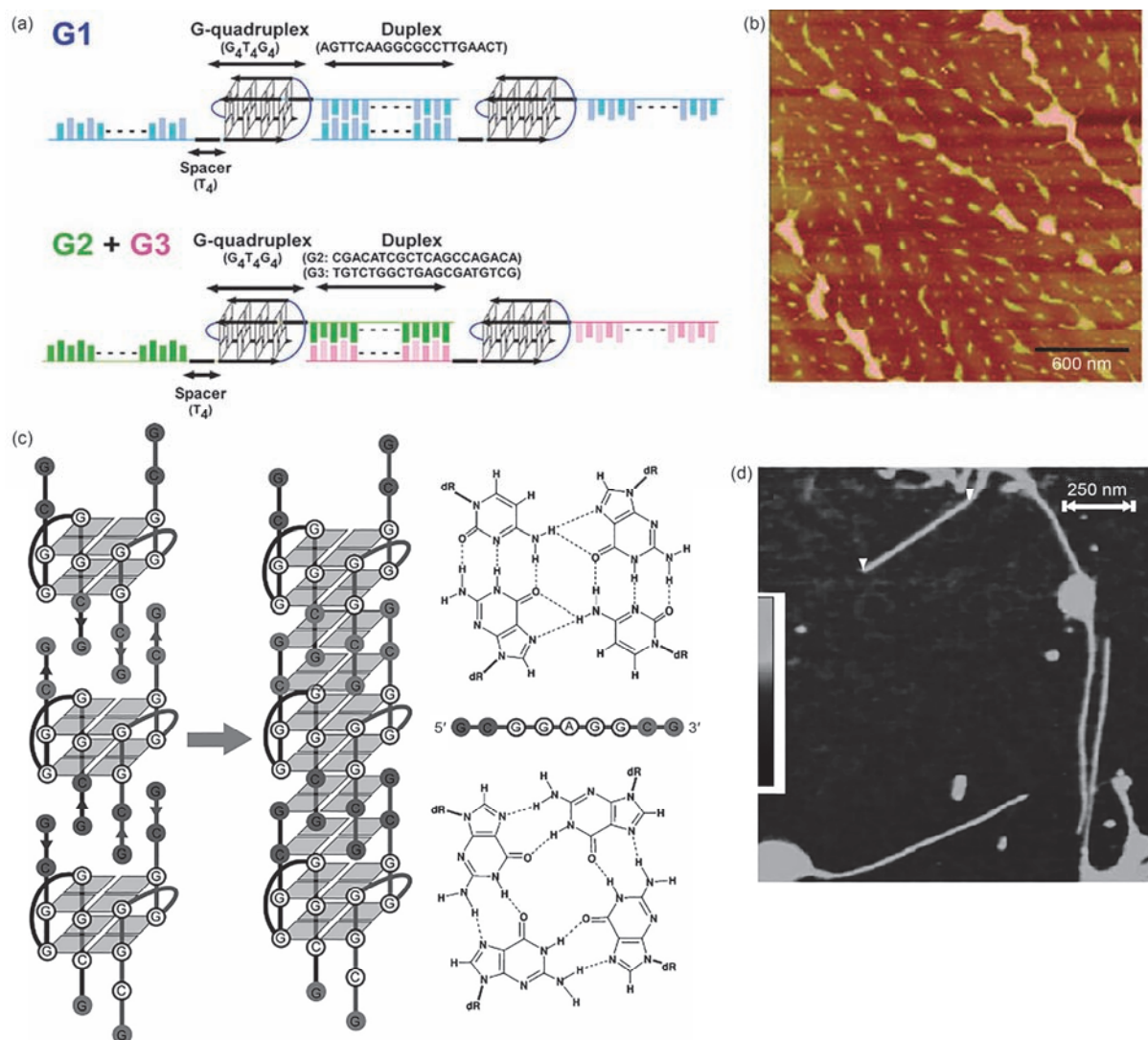


图6 (网络版彩色)G-四链体连接的多组分交替结构组装示意图及组装结构原子力显微镜图像。(a) 在Na⁺诱导下, G1 序列自组装以及G2 和G3 互补组装形成“双链+G-四链体”交替排布DNA纳米结构的示意图; (b) G2 和G3 组装纳米结构的原子力显微镜形貌图^[50]; d(GCGGAGGCG)序列在Na⁺稳定下形成GCGC-四分体连接的G-四链纳米结构示意图(c)及其原子力显微镜形貌图(d)^[51]

Figure 6 (Color online) Schematic illustration of the construction of DNA nanostructures composed of G-quadruplexes and other types of DNA structures, and atomic force microscope images of these DNA nanostructures. (a) The DNA nanostructures connecting intermolecular G-quadruplex units with both self (top) and nonself-complementary (bottom) duplexes; (b) the AFM image of the mixture of G2 and G3^[50]; (c) self-assembly of the nanowire formed by d(GCGGAGGCG) and (d) AFM image of DNA quadruplex wires^[51]

方式相互嵌入而成, 这样能够保证结构中邻近碱基得到有效堆积; 而双链内部是通过部分质子化C碱基从而形成C·CH⁺碱基对连接起来, 因此I-motif结构一般在弱酸条件下稳定存在(图8(a))^[62]。I-motif结构是非常紧凑的, 相邻C·CH⁺碱基对的间距约为0.31 nm, 它们之间有12°~16°的扭转角, 邻近的糖环会通过CH⁺···O键进一步稳定结构^[63]。由于I-motif结构的形成方式, 因此根据DNA链的走向分类它只有反平行结构; 然而, 由于两组平行的C双链在嵌入过程中

会有滑动, 形成的结构也会有差异, 最终将5'端C·CH⁺碱基对位于结构最外侧的称为5'E结构, 而将3'端C·CH⁺碱基对位于结构最外侧的称为3'E结构(图8(b))^[64,65]。与G-四链体结构一样, I-motif结构也可以通过分子内折叠和分子间(一般为双分子和四分子)组装的方式形成(图8(b)~(d)), 这种多聚的组合方式和结构的pH依赖特性, 使得DNA纳米结构的组装具有多样性的同时还可用于监测体系溶液环境的变化等。

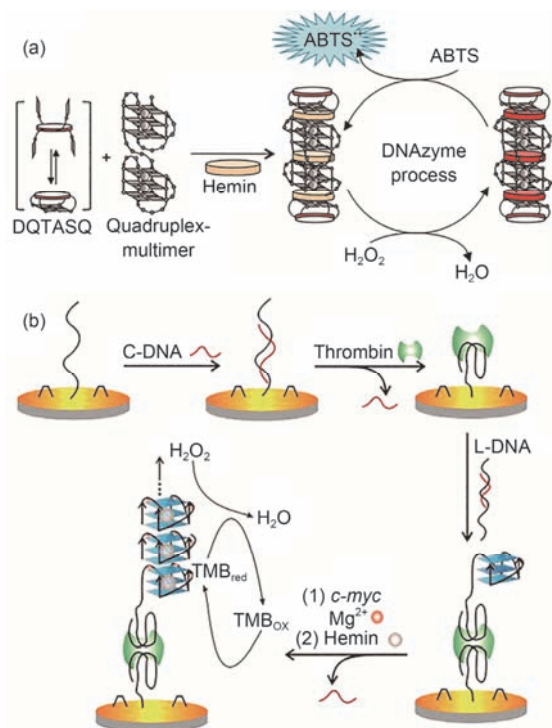


图7 (网络版彩色)G-四链体纳米结构与Hemin分子结合后的过氧化物酶活性探究与应用。(a) G-四链体堆积结构与Hemin结合后,通过DOTASQ分子对结合位点进一步封闭进而提升G-四链体过氧化物酶催化活性的示意图^[57]; (b) 利用 Mg^{2+} 沉积形成的G-wire纳米结构实现对凝血酶蛋白的信号放大检测原理图^[58]

Figure 7 (Color online) Investigation and application of peroxidase activity by the combination of G-quadruplex nanostructures and Hemin. (a) Schematic illustration of the multimeric quadruplex-mediated DNAzyme process promoted by the presence of DOTASQ^[57]; (b) schematic representation of thrombin detection by G-quadruplex nanowire amplification^[58]

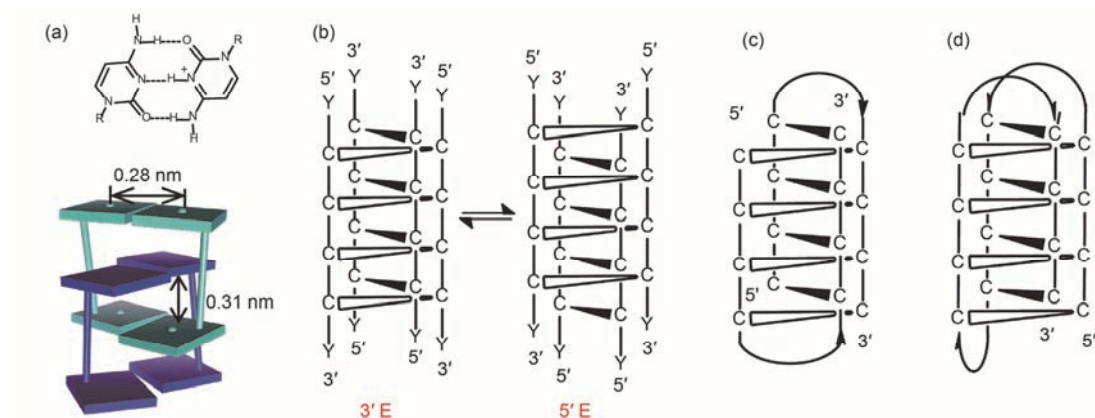


图8 (网络版彩色)C·CH⁺碱基对以及不同种I-motif结构。(a) C·CH⁺碱基对其交替插入模型示意图; (b) 四分子3'E I-motif和5'E I-motif结构; (c) 双分子3'E I-motif结构; (d) 单分子5'E I-motif结构

Figure 8 (Color online) C·CH⁺ base pairs and various I-motif structures. (a) A C·CH⁺ base pair and two pairs of maximally intercalated C·CH⁺ base pairs; (b) structural switch between tetramolecular 3'E I-motif and tetramolecular 5'E I-motif; (c) bimolecular 3'E I-motif; (d) unimolecular 5'E I-motif

2.1 富C序列自组装

富C长链在形成I-motif纳米结构时链的方向不易把控,因此很难通过富C的长链调控结构的形貌,如Zikich等人^[66]研究了一系列富C长链(包括(dC)₈₀₀, (dC)₁₂₀₀和(dC)₂₀₀₀)发现,它们在原子力显微镜下呈现出紧密的球形状,并且链越长球形的高度越高。相对而言,人们更加关注一些富C短链通过分子间聚合的方式构建C-四链体纳米导线(I-wires),如Ghodke等人^[67]发现d(C₇)序列在酸性条件下可以形成一系列非常规整的一维线型I-motif纳米结构,结构的长度在原子力显微镜下可以达到微米级别,这主要是由于C-重复单元的末端没有末端残基的位阻效应,因此它们可以通过分子间“滑动互锁”的方式进行结构组装(图9(a)和(b))。在探究d(X_nC₄Y_m)(X, Y=T, A或G; m, n=0, 1或2)系列富C序列形成四分子I-motif的聚合过程中,在电喷雾质谱中同样可以观察到末端未完全封闭的富C序列会形成四分子以上的多聚物离子^[69]。此外, Leroy课题组^[68]研究d(C₄GC₇)序列在酸性条件下的聚合状态发现,它也可以形成杆状的I-motif纳米结构,并且在温度较高的状态(40℃左右)更有利于结构的形成,这主要是由于温度较高的状态可以避免双分子I-motif结构的形成,结构按照C₇片段和C₄片段分别自组装的形式连接为I-wires(图9(c))。之后他们继续探究了d(C_mXC_n)这类序列,即两组C-重复单元间被1个非C碱基X隔开的组合模式,结果表明序列中只要m和n的值不小于2,序列便具有形成大分

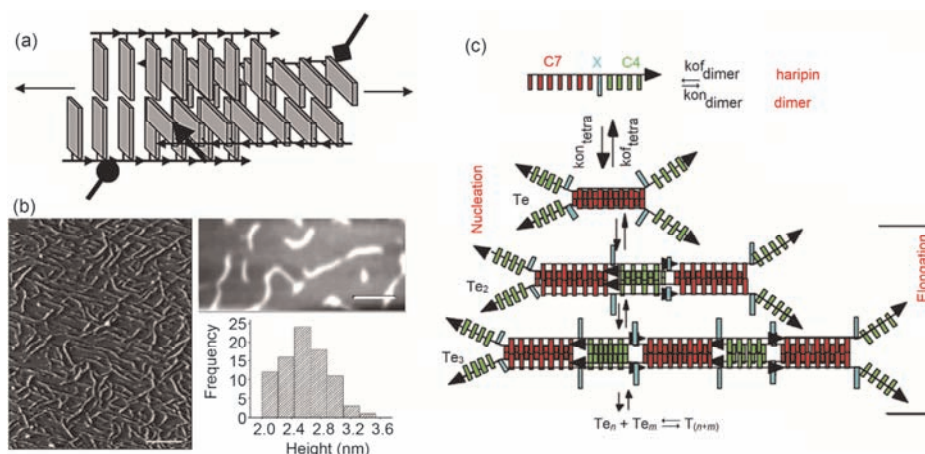


图9 (网络版彩色)富C短链自组装形成的I-wires. (a) d(C₇)序列在形成I-wires时,不同链可能的滑动错配方式; (b) 对I-wires形貌和高度的原子力表征^[67]; (c) d(C₄XC₇)序列形成I-wires的组装示意图^[68]

Figure 9 (Color online) The self-assembly of I-wires formed by short C-rich DNA strands. (a) Schematic illustration of the hypothetical “nucleating species” with three different types of sites and (b) AFM analysis of the I-wires formed by d(C₇)^[67]; (c) postulated association pathway of d(C₄XC₇) into I-wires^[68]

子结构的趋势^[70].

2.2 I-motif连接的多组分结构

当富C序列与一些可以形成其他类型DNA结构的序列片段结合后,同样可以构建一维或多维的DNA纳米结构.如,Mei等人^[71]利用AT碱基可以通过链平行或反平行方式结合的特点,分别设计了两条可以形成平行和反平行AT双链的DNA片段,之后在每条序列的3'和5'末端分别加上一段-C₅的DNA片段,最终构建出一种“平行DNA双链+I-motif”模式和一种“反平行DNA双链+I-motif”模式组成的DNA纳米结构. Ren等人^[72]在一段长为18bp的反平行双链结构中两条序列的3'端分别加入一段-T_nC₆TC₆片段,通过末端富C片段形成的双分子I-motif进行结构组装.实验中他们发现当 $n=0$ 时,双链结构在酸性条件下会组装为“反平行双链+双分子I-motif”模式的线型纳米结构;当 $0 < n < 5$ 时,双链结构会倾向于通过末端的富C片段的彼此折叠形成封闭的双链二聚体结构;而当 $n \geq 5$ 时,结构两端的富C片段则倾向于在双链内部进行折叠(图10(a)和(b)).在此基础上,本课题组^[73]构建了一种包含GC双链在内的“结型”DNA纳米结构,之后向组装好的“结型”DNA纳米结构中滴加H⁺和K⁺,经拟合后结构会转化为“G-四链+双链”以及“I-motif+双链”模式的线型DNA纳米结构(图10(c)~(e)).

此外,刘冬生课题组^[74]利用I-motif结构的组装

构建了多种功能性的DNA纳米结构.如发现对于3~5个C碱基重复单元形成的四分子I-motif结构,每组C双链末端可以容纳十余个残基,基于此设计了两条序列 A1: 5'-TCCCCCAGTACTCAGA-3' 和 B1: 5'-TCTGAGTACACCCCT-3', A1与B1在酸性条件下可以分别形成四分子I-motif结构,之后两种结构混合后5'和3'末端的残基部分可以互补配对将两种I-motif结构连接为线型纳米柱(图11(a))^[74].实验中还进一步设计了两条序列 A2: 5'-TCCCCCAGTACTCAGAATCG-3'和B2: 5'-CGATTCTGAGTACACCCCT-SH3',其中B2的3'端巯基修饰.按照上述的实验过程组装DNA纳米柱后,利用3'-SH对滴加的金纳米粒子(5 nm)进行排布,最终在透射电子显微镜下观察到两条均匀排布的金纳米粒子线(图11(b)和(c))^[74].其他的工作中,他们还将I-motif结构与Y-型DNA结构相结合,构建了“I-motif+Y-型DNA”模式下的网络状“DNA水凝胶”^[76]和可调控的树枝状DNA大分子^[77]等.值得注意的是, Li和Famulok^[75]将I-motif结构与环状DNA相结合,利用I-motif结构的分子内折叠以及双分子间的组装构建了一系列相互作用的环状纳米结构(图11(d)~(g)).

基于四链DNA以上结构的性质,本课题组^[78]针对I-motif与G-四链体两者组合的方式进行纳米结构组装展开了深入探究.由于两种结构分别通过富C和富G的序列折叠而成,因此当两者放在一起进行组装很大程度上会诱导GC双链结构的形成.在实验中,

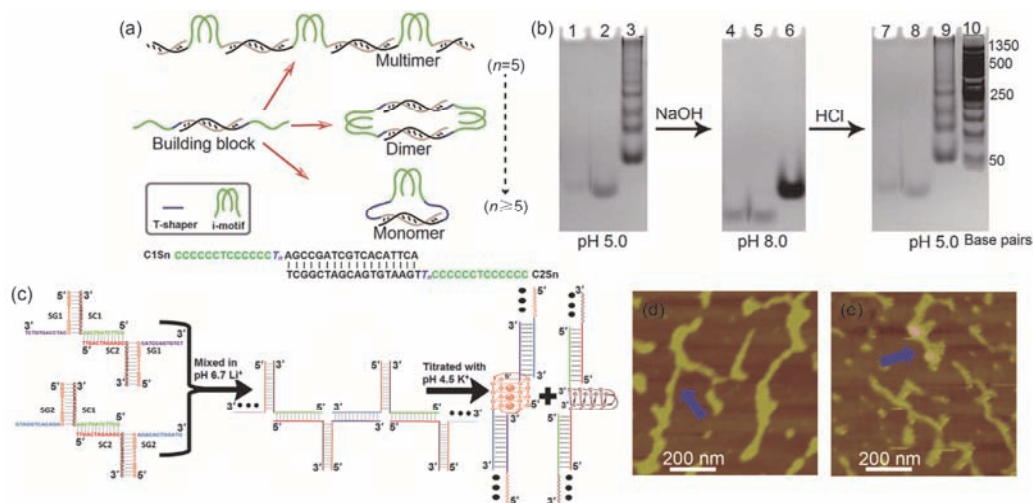


图 10 (网络版彩色)I-motif连接的多组分交替结构的组装和不同种DNA纳米结构的转换示意图以及相应组装结构的表征。(a) T-spacers调控C1Sn和C2Sn富C序列形成不同的组装结构, (b) T-spacers个数为0时, C1S0和C2S0在不同pH下形成结构的聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)图^[72]; (c) 滑动的“结型”DNA单体结构组装为“结型”DNA纳米结构及其进一步转化为“四链+双链”型DNA纳米结构的流程示意图; (d), (e)“结型”DNA纳米结构和转化的“四链+双链”型DNA纳米结构的原子力形貌表征^[73]

Figure 10 (Color online) Schematic illustration of the construction of DNA nanostructures composed of I-motifs and duplexes, and the structural switch of different types of DNA nanostructures, and gel electrophoresis or atomic force microscope images of these DNA nanostructures. (a) I-motif-linked DNA nanostructures formed by C1Sn and C2Sn were mediated by various lengths of T-spacers. (b) Native PAGE analysis of switchable production of I-motif-linked multimers^[72]; (c) Schematic descriptions of the assembly and structural switch of the junction DNA nanostructures, and (d), (e) AFM analysis of the assembling process^[73]

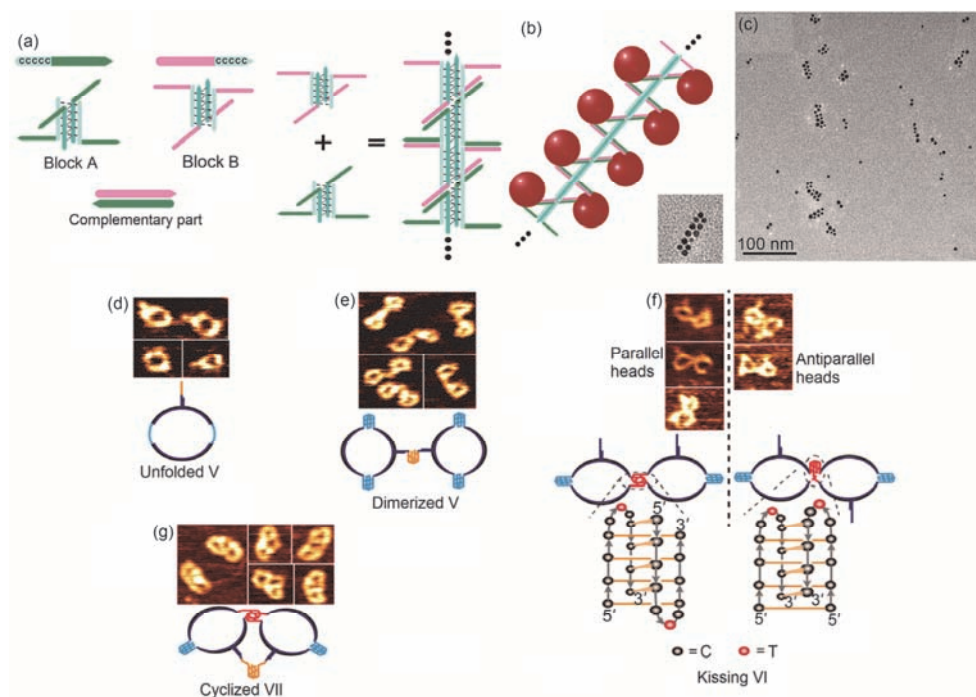


图 11 (网络版彩色)I-motif连接的多组分DNA纳米结构组装示意图及结构表征。(a) A1与B1序列分别形成四分子I-motif结构和混合后形成线型DNA纳米柱示意图; (b) A1与B1序列形成的DNA纳米柱对金纳米颗粒有序排布; (c) 排布好的金纳米粒子线的透射电镜(TEM)图^[74]; (d)~(g) I-motif结构与环状DNA相结合形成的各种相互作用的环状纳米结构^[75]

Figure 11 (Color online) Schematic illustration of the construction of DNA nanostructures composed of I-motifs and other types of DNA structures, and the structural analysis. (a) Assembly process of DNA Pillars; (b) and (c) DNA pillar-directed AuNP assemblies and the TEM images^[74]; (d)~(g) various I-motif-programmed DNA nanocircles and their AFM images^[75]

我们首先设计了 $d(TG_iTC_5T)$ 和 $d(TC_5TG_iT)$ ($i < 5$) 两组初始序列作为研究对象, 探究四分子I-motif结构对于末端G-重复单元的承载能力. 最终我们选择出 $d(TGiAC_5)$ 这样的序列组合形成的四分子I-motif结构能够承载末端较长的G重复单元序列, 这为构建“四分子G-四链体+I-motif”模式的四链体DNA纳米结构提供了非常好的实验基础. 最终, 我们优化出 $d(TG_4AC_7)$ 这条序列, 原子力显微镜结果表明它在酸性钾离子条件下可以形成由四分子平行G-四链体和四分子I-motif结构交替连接而成的环状组装体(图12(a)). 在此基础上, 结合G碱基修饰对于四分子G-四链体结构构型影响的相关报道^[79], 本课题组^[78]进一步设计了 $d(TG^{Br}GG^{Br}GAC_7)$ 序列(G^{Br} 表示G碱基的8号位的H被Br取代), 实验结果表明它在酸性钾离子

条件下可以形成“四分子反平行G-四链体+I-motif”模式的线型DNA纳米结构(图12(b)).

2.3 I-motif结构聚合与解离的应用简介

与富G序列一样, 可以形成I-motif结构的富C序列也分布在生物体内许多重要的基因区域, 并在基因的表达与调控以及疾病的治疗等方面发挥重要作用. 此外, I-motif结构的pH敏感性常用来构建“DNA分子机器”, 通过控制溶液pH的变化实现I-motif结构的聚合与解离, 如Liu和Balasubramanian^[80]利用此原理控制5'和3'末端分别标记为荧光基团和淬灭基团的 $d[(CCCTTA)_3CCC]$ 与含若干错配的互补链形成的具有荧光信号的双链结构, 当溶液中滴加 H^+ 时, 双链结构打开, 富C序列折叠为I-motif结构促使荧光淬灭,

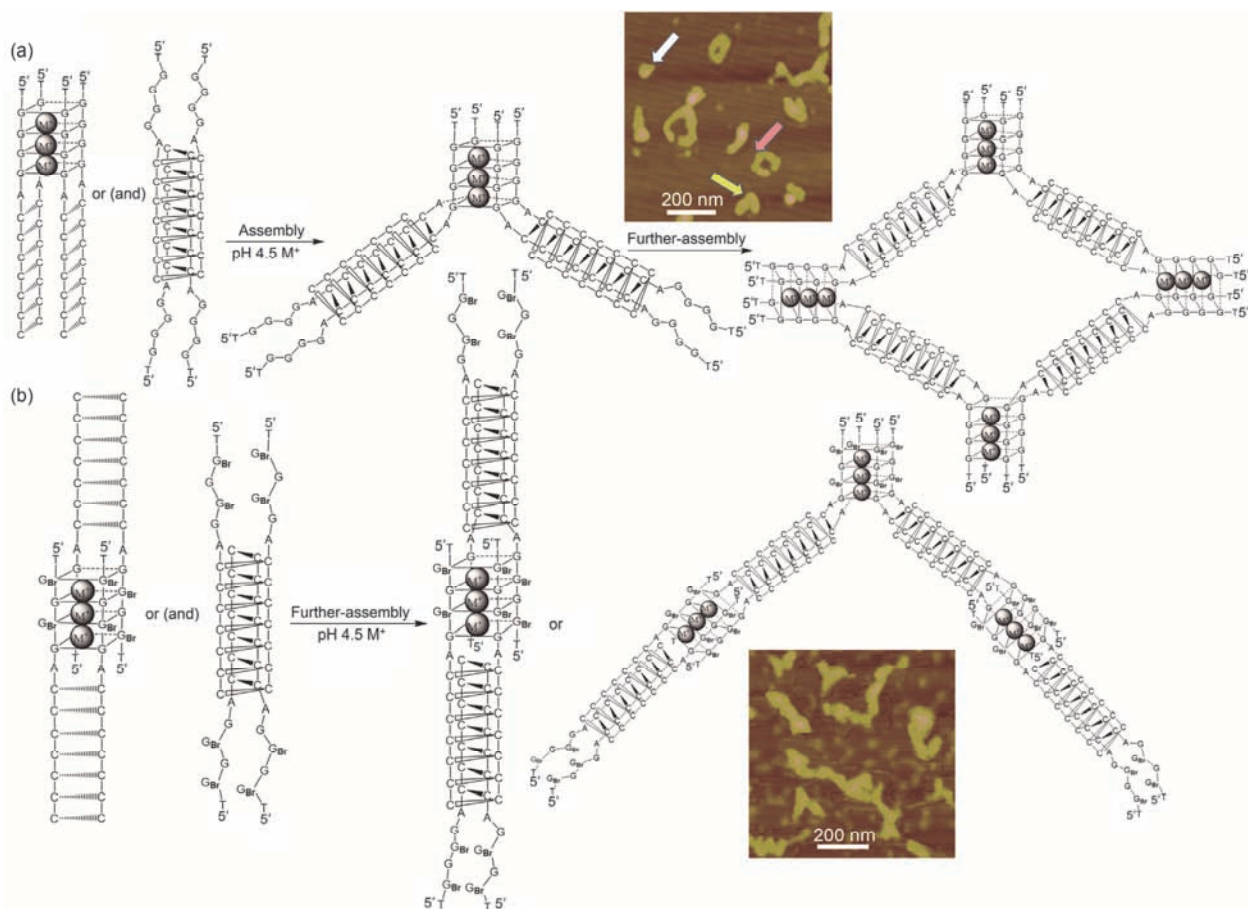


图12 (网络版彩色)I-motif与G-四链体两者组合后形成的四链DNA纳米结构的示意图及组装结构的原子力表征^[78]. (a) $d(TG_4AC_7)$ 序列组装环状四链DNA纳米结构及其原子力显微镜形貌表征; (b) $d(TG^{Br}GG^{Br}GAC_7)$ 序列组装线型四链DNA纳米结构及其原子力显微镜形貌表征

Figure 12 (Color online) Schematic illustration of the self-assembly of quadruplex nanostructures containing both G-quadruplexes and I-motifs, and AFM images of assembled DNA nanostructures^[78]. (a) DNA assemblies formed by $d(TG_4AC_7)$ consisting of parallel G-quadruplexes and antiparallel i-motifs, and the AFM image; (b) quadruplex nanostructures formed by $d(TG^{Br}GG^{Br}GAC_7)$ consisting of antiparallel G-quadruplexes, antiparallel i-motifs and (or) parallel G-quadruplexes, and the AFM image

而溶液中滴加 OH^- 时,富C序列与互补链结合,荧光恢复;以上反应的发生是通过离子滴定的方式实现,基于I-motif结构的聚合与解离目前可以用于监测细胞溶液环境的变化^[81]以及探究细胞内吞作用的不同途径^[82];令人感兴趣的是,这种溶液pH的循环往复变化还可以通过向体系中加入化学振荡器^[83,84],具有光控性能的有机分子^[85]以及可控pH的三电极系统^[86]等方式实现.关于富C序列形成I-motif结构其他应用及其在分析和生物学方面的应用可以参考综述文章^[87,88].

3 总结与展望

作为一种生物多聚物,DNA序列形成的大分子结构具有非常突出的物理化学性质.由于DNA纳米结构的形状多样性,作用位点具有特异性,同时聚合的DNA大分子结构还具有一定的刚性,因此它们在纳米科学领域具有潜在的应用价值.此外,在生物学领域DNA分子具有良好的生物学相容性,其组装的纳米结构具有尺寸可控性、灵活性以及表面各向异性的优势.通过合理的调控这些要素,DNA纳米粒子可以充当一个有效的药物传输工具来抵抗疾病^[89].目前基于双链结构已经发展出相对成熟的DNA纳米技术,人们不仅可以通过模块组装构建各种形貌规整的三维立体结构,同时利用DNA折纸技术可以构建各种复杂的DNA图案模型或立体模具,以及后来的DNA纳米传动装置等.然而以上DNA纳米结构的构建在序列设计上相对复杂,较多DNA链的设计和合成在成本上也较高,同时过多链之间的结合错配

的问题也不可避免,这些在某种程度上都或多或少地限制了DNA纳米技术的广泛应用.

随着四链DNA结构的解析和深入研究,DNA纳米材料家族迎来新的成员,四链DNA这种自组装和离子依赖的特性,使得构建DNA纳米结构的序列设计上更加经济和简单,并且组装的结构具有可调控的特性,这些新型的四链DNA纳米结构有望在材料学和生物医学等领域发挥重要的作用.目前已经有报道将DNA折纸技术与四链DNA结构彼此结合进行相关研究,如Liu等人^[90]在通过tile自组装形成的DNA纳米结构中均匀掺杂入凝血酶蛋白的核酸适配体片段,当此序列形成G-四链体即可以让蛋白分子在DNA纳米结构中均匀排布.同样地,Rajendran等人^[91]利用折纸技术构建了一个中空矩形DNA框架,在框内一对边界上引入两对彼此平行且有一定间距的双链DNA,同时在4条DNA链的中心位置分别引入一段等长的G重复单元.之后,通过调控 K^+ 的加入与移除,在原子力显微镜下可以观察到两对双链彼此交叉和远离,在单分子层面上实现对四分子G-四链体结构形成的观测与调控.以上研究为传统DNA组装方法与四链DNA结构组装的结合提供了非常好的启示作用.

此外,四链DNA结构自身的特异性,结合“荧光信号放大技术”常被用来定量检测目标产物;同时,其结构组装易调控的特点(如I-motif结构溶液pH依赖性以及G-四链体特定阳离子依赖性),也可以用于构建“DNA逻辑门”和“DNA分子机器”等^[87,92].四链DNA的组装与传统的DNA纳米技术相结合将会促进DNA纳米结构和材料的广泛应用.

参考文献

- Seeman N C. Nucleic acid junctions and lattices. *J Theoret Biol*, 1982, 99: 237–247
- Kallenbach N R, Ma R I, Seeman N C. An immobile nucleic acid junction constructed from oligonucleotides. *Nature*, 1983, 305: 829–831
- Yang H, McLaughlin C K, Aldaye F A, et al. Metal-nucleic acid cages. *Nat Chem*, 2009, 1: 390–396
- Mao C, Sun W, Seeman N C. Designed two-dimensional DNA holliday junction arrays visualized by atomic force microscopy. *J Am Chem Soc*, 1999, 121: 5437–5443
- Liu D, Wang M, Deng Z, et al. Tensegrity: Construction of rigid DNA triangles with flexible four-arm DNA junctions. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 2324–2325
- Liu D, Park S H, Reif J H, et al. DNA nanotubes self-assembled from triple-crossover tiles as templates for conductive nanowires. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 717–722
- He Y, Ye T, Su M, et al. Hierarchical self-assembly of DNA into symmetric supramolecular polyhedra. *Nature*, 2008, 452: 198–201
- Wang R, Liu W, Seeman N C. Prototyping nanorod control: A DNA double helix sheathed within a DNA six-helix bundle. *Chem Biol*, 2009, 16: 862–867

- 9 Rothemund P W K. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. *Nature*, 2006, 440: 297–302
- 10 Ke Y, Douglas S M, Liu M, et al. Multilayer DNA origami packed on a square lattice. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 15903–15908
- 11 Han D, Pal S, Nangreave J, et al. DNA origami with complex curvatures in three-dimensional space. *Science*, 2011, 332: 342–346
- 12 Wilner O I, Willner I. Functionalized DNA nanostructures. *Chem Rev*, 2012, 112: 2528–2556
- 13 Wickham S F, Bath J, Katsuda Y, et al. A DNA-based molecular motor that can navigate a network of tracks. *Nat Nanotechnol*, 2012, 7: 169–173
- 14 Collie G W, Parkinson G N. The application of DNA and RNA G-quadruplexes to therapeutic medicines. *Chem Soc Rev*, 2011, 40: 5867–5892
- 15 Bochman M L, Paeschke K, Zakian V A. DNA secondary structures: Stability and function of G-quadruplex structures. *Nat Rev Genet*, 2012, 13: 770–780
- 16 Day H A, Pavlou P, Waller Z A. I-motif DNA: Structure, stability and targeting with ligands. *Bioorgan Med Chem*, 2014, 22: 4407–4418
- 17 Biffi G, Tannahill D, McCafferty J, et al. Quantitative visualization of DNA G-quadruplex structures in human cells. *Nat Chem*, 2013, 5: 182–186
- 18 Endoh T, Kawasaki Y, Sugimoto N. Suppression of gene expression by G-quadruplexes in open reading frames depends on G-quadruplex stability. *Angew Chem Int Ed*, 2013, 52: 5522–5526
- 19 Kendrick S, Kang H J, Alam M P, et al. The dynamic character of the Bcl2 promoter imotif provides a mechanism for modulation of gene expression by compounds that bind selectively to the alternative DNA hairpin structure. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 4161–4171
- 20 Park H, Kim J, Jung S, et al. DNA-Au nanomachine equipped with i-motif and G-quadruplex for triple combinatorial anti-tumor therapy. *Adv Funct Mater*, 2018, 28: 1705416–1705428
- 21 Zeraati M, Langley D B, Schofield P, et al. I-motif DNA structures are formed in the nuclei of human cells. *Nat Chem*, 2018, 10: 631–637
- 22 Huppert J L. Four-stranded nucleic acids: Structure, function and targeting of G-quadruplexes. *Chem Soc Rev*, 2008, 37: 1375–1384
- 23 Rachwal P A, Brown T, Fox K R. Effect of G-tract length on the topology and stability of intramolecular DNA quadruplexes. *Biochemistry*, 2007, 46: 3036–3044
- 24 Miyoshi D, Karimata H, Sugimoto N. Hydration regulates thermodynamics of G-quadruplex formation under molecular crowding conditions. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 7957–7963
- 25 Renčiuk D, Kejnovská I, Školáková P, et al. Arrangements of human telomere DNA quadruplex in physiologically relevant K⁺ solutions. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37: 6625–6634
- 26 Xu Y, Ishizuka T, Kurabayashi K, et al. Consecutive formation of G-quadruplexes in human telomeric-overhang DNA: A protective capping structure for telomere ends. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 121: 7973–7976
- 27 Petraccone L, Spink C, Trent J O, et al. Structure and stability of higher-order human telomeric quadruplexes. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 20951–20961
- 28 Ambrus A, Chen D, Dai J, et al. Human telomeric sequence forms a hybrid-type intramolecular G-quadruplex structure with mixed parallel/antiparallel strands in potassium solution. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34: 2723–2735
- 29 Luu K N, Phan A T, Kuryavyi V, et al. Structure of the human telomere in K⁺ solution: An intramolecular (3+1) G-quadruplex scaffold. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 9963–9970
- 30 Dai J, Carver M, Punchihewa C, et al. Structure of the hybrid-2 type intramolecular human telomeric G-quadruplex in K⁺ solution: Insights into structure polymorphism of the human telomeric sequence. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35: 4927–4940
- 31 Parkinson G N, Lee M P, Neidle S. Crystal structure of parallel quadruplexes from human telomeric DNA. *Nature*, 2002, 417: 876–880
- 32 Lim K W, Amrane S, Bouaziz S, et al. Structure of the human telomere in K⁺ solution: A stable basket-type G-quadruplex with only two G-tetrad layers. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 4301–4309
- 33 Petraccone L. Higher-order quadruplex structures. In: *Quadruplex Nucleic Acids*. Heidelberg: Springer, 2012. 23–46
- 34 Petraccone L, Garbett N C, Chaires J B, et al. An integrated molecular dynamics (MD) and experimental study of higher order human telomeric quadruplexes. *Biopolymers*, 2010, 93: 533–548
- 35 Kotlyar A B, Borovok N, Molotsky T, et al. Long, monomolecular guanine-based nanowires. *Adv Mater*, 2005, 17: 1901–1905
- 36 Marsh T C, Henderson E. G-wires: Self-assembly of a telomeric oligonucleotide, d(GGGGTTGGGG), into large superstructures. *Biochemistry*, 1994, 33: 10718–10724
- 37 Chen F M. Supramolecular self-assembly of d(TGG)₄, synergistic effects of K⁺ and Mg²⁺. *Biophys J*, 1997, 73: 348–356
- 38 Lin J, Yan Y Y, Ou T M, et al. Effective detection and separation method for G-quadruplex DNA based on its specific precipitation with Mg²⁺. *Biomacromolecules*, 2010, 11: 3384–3389
- 39 Miyoshi D, Matsumura S, Li W, et al. Structural polymorphism of telomeric DNA regulated by pH and divalent cation. *Nucleos Nucleot Nucl Acids*, 2003, 22: 203–221

- 40 Dai T Y, Marotta S P, Sheardy R D. Self-assembly of DNA oligomers into high molecular weight species. *Biochemistry*, 1995, 34: 3655–3662
- 41 Marotta S P, Tamburri P A, Sheardy R D. Sequence and environmental effects on the self-assembly of DNA oligomers possessing G₁T₂Gy segments. *Biochemistry*, 1996, 35: 10484–10492
- 42 Sen D, Gilbert W. Novel DNA superstructures formed by telomere-like oligomers. *Biochemistry*, 1992, 31: 65–70
- 43 Protozanova E, Macgregor R B. Frayed wires: A thermally stable form of DNA with two distinct structural domains. *Biochemistry*, 1996, 35: 16638–16645
- 44 Batalia M A, Protozanova E, Macgregor R B, et al. Self-assembly of frayed wires and frayed-wire networks: Nanoconstruction with multistranded DNA. *Nano Lett*, 2002, 2: 269–274
- 45 Protozanova E, Macgregor R B. Formation of DNA frayed wires is independent of the directionality of the parent strand. *Biopolymers*, 2001, 58: 355–358
- 46 Poon K, Macgregor Jr R B. Formation and structural determinants of multi-stranded guanine-rich DNA complexes. *Biophys Chem*, 2000, 84: 205–216
- 47 Biyani M, Nishigaki K. Structural characterization of ultra-stable higher-ordered aggregates generated by novel guanine-rich DNA sequences. *Gene*, 2005, 364: 130–138
- 48 Phan A T, Kuryavyy V, Ma J B, et al. An interlocked dimeric parallel-stranded DNA quadruplex: A potent inhibitor of HIV-1 integrase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 634–639
- 49 Phan A T, Do N Q. Engineering of interlocked DNA G-quadruplexes as a robust scaffold. *Nucleic Acids Res*, 2012, 41: 2683–2688
- 50 Dutta K, Fujimoto T, Inoue M, et al. Development of new functional nanostructures consisting of both DNA duplex and quadruplex. *Chem Comm*, 2010, 46: 7772–7774
- 51 Hessari N M, Spindler L, Troha T, et al. Programmed self-assembly of a quadruplex DNA nanowire. *Eur J Chem*, 2014, 20: 3626–3630
- 52 Kettani A, Kumar A R, Patel D J. Solution structure of a DNA quadruplex containing the fragile X syndrome triplet repeat. *J Mol Biol*, 1995, 254: 638–656
- 53 Ilc T, Šket P, Plavec J, et al. Formation of G-wires: The role of G:C-base pairing and G-quartet stacking. *J Phys Chem C*, 2013, 117: 23208–23215
- 54 Troha T, Drevensek-Olenik I, Webba da Silva M, et al. Surface-adsorbed long G-quadruplex nanowires formed by G:C linkages. *Langmuir*, 2016, 32: 7056–7063
- 55 Travascio P, Li Y, Sen D. DNA-enhanced peroxidase activity of a DNA aptamer-hemin complex. *Chem Biol*, 1998, 5: 505–517
- 56 Kong D M. Factors influencing the performance of G-quadruplex DNAzyme-based sensors. *Methods*, 2013, 64: 199
- 57 Stefan L, Denat F, Monchaud D. Deciphering the dnzyme activity of multimeric quadruplexes: Insights into their actual role in the telomerase activity evaluation assay. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 20405–20415
- 58 Shimron S, Wang F, Orbach R, et al. Amplified detection of DNA through the enzyme-free autonomous assembly of hemin/G-quadruplex DNAzyme nanowires. *Anal Chem*, 2012, 84: 1042–1048
- 59 Gao Z F, Huang Y L, Ren W, et al. Guanine nanowire based amplification strategy: Enzyme-free biosensing of nucleic acids and proteins. *Biosens Bioelectron*, 2016, 78: 351–357
- 60 Ye C, Wang M Q, Luo H Q, et al. Label-free photoelectrochemical “off-on” platform coupled with G-wire-enhanced strategy for highly sensitive microRNA sensing in cancer cells. *Anal Chem*, 2017, 89: 11697–11702
- 61 Livshits G I, Ghabboun J, Borovok N, et al. Comparative electrostatic force microscopy of tetra- and intra-molecular G4-DNA. *Adv Mater*, 2014, 26: 4981–4985
- 62 Guéron M, Leroy J L. The i-motif in nucleic acids. *Curr Opin Struc Biol*, 2000, 10: 326–331
- 63 Berger I, Egli M, Rich A. Inter-strand CH $\cdots$ O hydrogen bonds stabilizing four-stranded intercalated molecules: Stereoelectronic effects of O4' in cytosine-rich DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 12116–12121
- 64 Leroy J L, Snuossi K, Guéron M. Investigation of the energetics of CH $\cdots$ O hydrogen bonds in the DNA i-motif via the equilibrium between alternative intercalation topologies. *Magn Reson Chem*, 2001, 39: S171–S176
- 65 Benabou S, Aviñó A, Eritja R, et al. Fundamental aspects of the nucleic acid i-motif structures. *RSC Adv*, 2014, 4: 26956–26980
- 66 Zikich D, Liu K, Sagiv L, et al. I-motif nanospheres: Unusual self-assembly of long cytosine strands. *Small*, 2011, 7: 1029–1034
- 67 Ghodke H B, Krishnan R, Vignesh K, et al. The I-tetraplex building block: Rational design and controlled fabrication of robust 1D DNA scaffolds through non-watson-crick interactions. *Angew Chem Int Ed*, 2007, 119: 2700–2703
- 68 Laisne A, Pompon D, Leroy J L. [C₇GC₄]₄ association into supra molecular i-motif structures. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38: 3817–3826
- 69 Cao Y, Qin Y, Bruist M, et al. Formation and dissociation of the interstrand i-motif by the sequences d(X_nC₄Y_m) monitored with electrospray ionization mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2015, 26: 994–1003

- 70 Guittet E, Rencuk D, Leroy J L. Junctions between i-motif tetramers in supramolecular structures. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40: 5162–5170
- 71 Mei H, Budow S, Seela F. Construction and assembly of chimeric DNA: Oligonucleotide hybrid molecules composed of parallel or antiparallel duplexes and tetrameric i-motifs. *Biomacromolecules*, 2012, 13: 4196–4204
- 72 Ren J, Wang T, Wang E, et al. I-motif-stapled and spacer-dependent multiple DNA nanostructures. *Rsc Adv*, 2016, 6: 87021–87025
- 73 Cao Y, Xiang X, Pei R, et al. Construction of a junction DNA nanostructure and modulation of the junction switching to quadruplexes. *Roy Soc Open Sci*, 2017, 4: 171337–171345
- 74 Yang Y, Zhou C, Zhang T, et al. DNA pillars constructed from an i-motif stem and duplex branches. *Small*, 2012, 8: 552–556
- 75 Li T, Famulok M. I-motif-programmed functionalization of DNA nanocircles. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 1593–1599
- 76 Cheng E, Xing Y, Chen P, et al. A Ph-triggered, fast-responding DNA hydrogel. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 121: 7796–7799
- 77 Zhou T, Chen P, Niu L, et al. pH-responsive size-tunable self-assembled DNA dendrimers. *Angew Chem Int Ed*, 2012, 124: 11433–11436
- 78 Cao Y, Gao S, Yan Y, et al. Assembly of supramolecular DNA complexes containing both G-quadruplexes and i-motifs by enhancing the G-repeat-bearing capacity of i-motifs. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45: 26–38
- 79 Virgilio A, Esposito V, Citarella G, et al. The insertion of two 8-methyl-2'-deoxyguanosine residues in tetramolecular quadruplex structures: Trying to orientate the strands. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40: 461–475
- 80 Liu D, Balasubramanian S. A proton-fuelled DNA nanomachine. *Angew Chem Int Ed*, 2003, 42: 5734–5736
- 81 Modi S, Swetha M, Goswami D, et al. A DNA nanomachine that maps spatial and temporal pH changes inside living cells. *Nat Nanotechnol*, 2009, 4: 325–330
- 82 Modi S, Nizak C, Surana S, et al. Two DNA nanomachines map pH changes along intersecting endocytic pathways inside the same cell. *Nat Nanotechnol*, 2013, 8: 459–467
- 83 Liedl T, Simmel F C. Switching the conformation of a DNA molecule with a chemical oscillator. *Nano Lett*, 2005, 5: 1894–1898
- 84 Qi X J, Lu C H, Liu X, et al. Autonomous control of interfacial electron transfer and the activation of DNA machines by an oscillatory pH system. *Nano Lett*, 2013, 13: 4920–4924
- 85 Liu H, Xu Y, Li F, et al. Light-driven conformational switch of i-motif DNA. *Angew Chem Int Ed*, 2007, 46: 2515–2517
- 86 Yang Y, Liu G, Liu H, et al. An electrochemically actuated reversible DNA switch. *Nano Lett*, 2010, 10: 1393–1397
- 87 Dong Y, Yang Z, Liu D. DNA nanotechnology based on i-motif structures. *Acc Chem Res*, 2014, 47: 1853–1860
- 88 Dembska A. The analytical and biomedical potential of cytosine-rich oligonucleotides: A review. *Anal Chim Acta*, 2016, 930: 1–12
- 89 Pinheiro A V, Han D, Shih W M, et al. Challenges and opportunities for structural DNA nanotechnology. *Nat Nanotechnol*, 2011, 6: 763–772
- 90 Liu Y, Lin C, Li H, et al. Aptamer-directed self-assembly of protein arrays on a DNA nanostructure. *Angew Chem Int Ed*, 2005, 44: 4333–4338
- 91 Rajendran A, Endo M, Hidaka K, et al. Controlling the stoichiometry and strand polarity of a tetramolecular G-quadruplex structure by using a DNA origami frame. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41: 8738–8747
- 92 Alberti P, Bourdoncle A, Sacca B, et al. DNA nanomachines and nanostructures involving quadruplexes. *Org Biomol Chem*, 2006, 4: 3383–3391

Summary for “基于四链 DNA 构建纳米结构的研究进展”

Construction of nanostructures based on quadruplex DNA scaffolds

Yanwei Cao & Renjun Pei*

Division of Nanobiomedicine, Suzhou Institute of Nano-Tech and Nano-Bionics, Chinese Academy of Sciences, Suzhou 215123, China

* Corresponding author, E-mail: rjpei2011@sinano.ac.cn

DNA molecule served as the major carrier of genetic information has been proved to be an excellent assembly material in the construction of nanoscale structures. Over the past thirty years, various assembly methods of DNA nanomaterials have been established, including self-assembly of DNA tiles, DNA origami and other DNA nanotechnologies, based on specific complementary AT and GC base pairs. It is interesting to note that, in addition to traditional double helix structures, DNA molecules can also form other structures like triplex and quadruplex structures. Recently, people pay more attention to the study of quadruplex structures, including G-quadruplexes and I-motifs formed by G-rich and C-rich strands, respectively. It is because that quadruplex structures not only play significant roles in the regulatory regions of genes, but also can be programmed to construct DNA nanostructures due to their structural diversity and controllability during assembly. Here, this article mainly introduces the developments of DNA nanostructures assembled by quadruplex structures and describes their structural functionalities. First of all, the fabrications of DNA supramolecules formed by long telomeric sequences, short G-rich DNA strands and G-repeat-containing DNA strands are retrospected, which can assemble to be higher-ordered multimeric G-quadruplexes, G-wires, and G-quadruplex-linked DNA nanostructures, respectively. These assembled G-quadruplex nanostructures have potential to enhance the catalytic activity of G4/Hemin DNAzyme and act as a better candidate for conductive molecular nanowires. Subsequently, the DNA nanostructures assembled from long C-rich strands, short C-rich strands, C-repeat-containing strands and DNA sequences containing both G-repeat and C-repeat fragments are also discussed, which can form I-motif nanospheres, I-wires, I-motif-linked DNA nanostructures and quadruplex nanostructures, respectively. The pH-sensitivity of I-motifs can be used to construct “DNA molecular machine”, and map spatial and temporal pH changes in living systems, etc. From these results, we can conclude that the constructions of DNA nanostructures based on the self-assembly of DNA tiles or DNA origami have characteristics of mature technology and fine-structure mapping, which are also high cost and complexity of design; in comparison, these quadruplex-directed DNA nanostructures are relatively “crude”, which have advantages of low cost, structural controllability and simplicity in design. The combination of self-assembly of quadruplex scaffolds and DNA nanotechnology based on complementary base pairs may promote the wide applications of DNA nanomaterials in various areas.

G-quadruplex, I-motif, molecular assembly, DNA nanostructures, structural application

doi: 10.1360/N972018-00528