

# 功能核酸概念的内涵与外延

许文涛, 杨敏, 朱龙佼, 张洋子, 李宏宇, 杜再慧, 杨文平

中国农业大学营养与健康系, 食品精准营养与质量控制教育部重点实验室, 北京 100083

**摘要:** 对功能核酸概念的分析需要建立在对功能核酸研究的基础上, 从内涵和外延两个方面来进行探析。从内涵来看, 它是对具有特殊结构、执行特定生物功能的核酸分子的统称; 从外延来看, 它包括适配体、核酸核酶、核糖开关、发光核酸、修饰核酸、功能核酸裁剪、核酸自组装、功能核酸纳米材料、核酸纳米酶、核酸药物、核酸补充剂以及 DNA 存储技术等。目前功能核酸已成功地应用于生物传感、生物成像、生物医学等诸多领域。对功能核酸这一概念进行了探讨, 并尝试对其范畴、特点进行归纳总结, 以期梳理和完善功能核酸的基本概念, 促进该领域的进一步发展。

**关键词:** 核酸; 功能核酸; 内涵与外延

DOI: 10.19586/j.2095-2341.2021.0051

中图分类号: Q527

文献标识码: A

## The Connotation and Extension of the Functional Nucleic Acid

XU Wentao, YANG Min, ZHU Longjiao, ZHANG Yangzi, LI Hongyu, DU Zaihui, YANG Wenping

Key Laboratory of Precision Nutrition and Food Quality, Department of Nutrition and Health, China Agricultural University, Beijing 100083, China

**Abstract:** Functional nucleic acid can be understood from both connotation and extension based on the current research. From the connotation point of view, it covers nucleic acid molecules with special structural functions and performing specific biological functions; from the perspective of extension, it includes aptamers, nucleic acid ribozymes, riboswitches, luminescent nucleic acids, modified nucleic acids, nucleic acid tailoring, nucleic acid self-assembly, nucleic acid nanomaterials, nucleic acid nanozymes, nucleic acid drugs, and nucleic acid supplements. At present, functional nucleic acids have been successfully applied in several fields, such as biosensing, bioimaging, and biomedicine. This article discussed the concept of functional nucleic acid, and attempted to summarize its category and characteristics, in order to sort out the basic concepts of functional nucleic acid and promote the further development of this field.

**Key words:** nucleic acid; functional nucleic acid; connotation and extension

核酸是所有已知生命体中必不可少的组成物质之一, 具有信息储存和遗传信息传递的功能, 在生物体系的各个代谢过程, 如遗传变异、生长发育以及蛋白质合成等起着重要的作用。1953 年, 碱基互补配对原理和 DNA 双螺旋结构的发现开创了分子生物学时代, 因此对 DNA 的研究也从遗传功能扩展到分子水平。在 20 世纪 90 年代, 非遗传功能的核酸吸引了越来越多的研究人员的兴趣, 例如有机染料的 RNA 适配体和凝血酶的 DNA 适

配体。随着研究的深入, 核酸良好的疏水/亲水性、易于修饰的官能团、灵活的结构、高效的催化能力以及构建各种复杂结构和模式的潜力被渐渐挖掘, 这促使研究人员进一步将核酸引入纳米技术, 为核酸与纳米材料的结合奠定了良好的基础, 并大大拓宽了它们的应用领域。

随着以核酸为主题的科学研究的逐步深入, 其纷繁复杂的功能令人叹为观止, 在生物传感、生物成像、靶向递送、疾病治疗等方面应用广泛。然

收稿日期: 2021-04-10; 接受日期: 2021-06-22

基金项目: 山东省重大科技创新工程项目(2019JZZY011014); 北京市农业科技项目(PXM2021\_014207\_000037)。

联系方式: 许文涛 E-mail: xuwentao@cau.edu.cn

而,追本溯源,关于功能核酸最基本的问题——功能核酸这一概念还没有明确的界定,因此,有必要对功能核酸的属性和范围进行探讨。故本文基于目前对功能核酸研究的应用范围,提出功能核酸的概念,并从这一概念的内涵与外延为立足点全面解析功能核酸,归纳总结其特点以及应用价值,从而使研究者对功能核酸有一个明确的认识,以期为进一步探索核酸的功能提供理论基础,促进该领域的蓬勃发展。

## 1 功能核酸的内涵

核酸作为细胞最基本的成分之一,携带着自然界中最重要的遗传信息,在机体的生长、发育和繁殖过程中扮演着举足轻重的角色。除此之外,人们还发现核酸具有许多有趣的功能,如,DNA酶可以催化特定位点上RNA底物链的断裂或连接,而适配体,即单链寡核苷酸,可以与不同类型

的靶分子特异结合。随着非遗传核酸家族不断发展,“功能核酸”的概念应运而生,功能核酸是一类具有特殊结构、执行特定生物功能的核酸分子及核酸类似物的统称。功能核酸最重要的特征是全能性,它具有许多独特的属性,包括可编程性、可裁剪性、可修饰性、生物相容性、分子识别特异性、刺激响应性和组装尺度可控性等;此外,核酸来源于多种天然核苷酸及核苷酸类似物,易于合成,合成成本逐年降低;核酸结构具有多样性,可以与各种靶标高度兼容,包括无机分子(如金属离子和农药分子)、无机纳米材料(如石墨烯)、生物分子(如蛋白质和脂质)、生物系统(如微生物和培养细胞)和生物材料(如磁性体、脂质体和外显子)。因此,功能核酸在生物成像、生物传感、生物医学等重要领域都具有广泛的应用价值。然而为了更加清楚地认识功能核酸,我们不仅需要剖析其内涵,还有必要了解其外延(图1)。

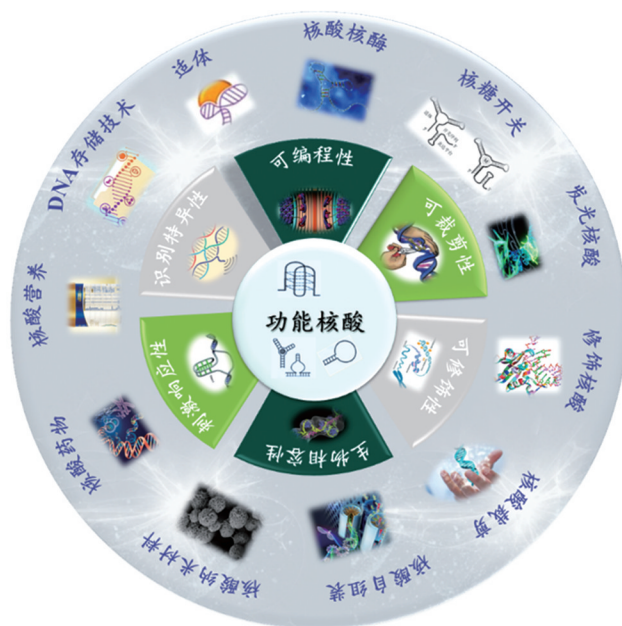


图1 功能核酸的内涵与外延

Fig. 1 The connotation and extension of the functional nucleic acid

## 2 功能核酸的外延

### 2.1 适体(适配体)

核酸适体(aptamer)是经体外筛选得到的一小段寡核苷酸序列,能与相应的配体(如蛋白质或

代谢物等)特异且高效的结合。作为一类特殊的亲和力工具,适体是受广泛关注的功能核酸。适体具有独特三级结构的单链DNA(ssDNA)或RNA(ssRNA),最早在1990年由Ellington<sup>[1]</sup>和Tuerk<sup>[2]</sup>发现并描述,能够通过指数富集配体系统

进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)筛选而来。经典SELEX过程包括多轮指数的扩增和富集,即将靶物质与体外合成的ssDNA或ssRNA随机文库孵育,洗脱除去未结合序列,并分离和扩增结合序列,经由多轮次重复性筛选及测序和验证,得到可用于研究的高亲和力适体<sup>[3]</sup>。

适体能够以高亲和力和特异性结合多种分子靶标,所以也被称为“化学抗体”。其靶标范围十分广泛,包括蛋白质<sup>[4]</sup>、多肽<sup>[5]</sup>、小分子化合物<sup>[6]</sup>、金属离子<sup>[7]</sup>、细胞<sup>[8]</sup>和细菌<sup>[9]</sup>等。虽然适体能够像抗体一样识别和结合相应的靶标,但是适体优势显著,如生产时间短、制造成本低、无批次间差异、结构灵活、易于化学修饰、热稳定性好、保存期较长以及免疫原性低等<sup>[10]</sup>。因此,适体以其独特的优势在环境保护、食品安全以及生物医药等领域具有广泛的应用前景。然而,当前适体的应用依然存在着许多挑战,包括“黑匣子”的SELEX过程,以及适体的不稳定性等。与此同时,挑战也意味着机会,如发展模拟自然条件和复杂环境中的SELEX方法及多种适体修饰手段,都将为适体领域带来更加光明的未来。

## 2.2 核酸核酶

核酸核酶是一类具有催化活性的核酸,可以通过自身二级结构与其他分子(如金属离子)相互作用,从而具有类似于蛋白质酶的催化活性<sup>[11]</sup>,可以依赖核酸序列的碱基排布和空间构象进而调控酶活。成熟的核酸体外扩增技术和易修饰特殊的功能基团是核酸核酶被广泛应用的主要原因。并且与蛋白酶相比,核酸核酶对于环境要求低,且具有明显的耐高温优势。基于这些优势核酸核酶的研究不断延伸、拓展,金属离子核酶是最典型的代表。金属离子核酶可以在金属离子存在的条件下,催化核酸发生连接、切割、构象变化等,是目前最主要的核酶。除此之外其他小分子物质、微生物、毒素等特异性核酶也被陆续发现,包括:ATP、大肠杆菌<sup>[12]</sup>、嗜肺军团菌<sup>[13]</sup>、赭曲霉毒素A<sup>[14]</sup>等。随着研究的深入,核酶催化反应的种类也在不断增加,目前关于核酶自身性质的发展主要集中在新型核酶开发、稳定酶活、提高特异性等领域。由于核酶良好的生物相容性和低毒特性,核酶除了本身的催化特性之外,还可以与其他材料进行结合,进而实现纳米马达的推动、药物的封装和释

放、提高纳米材料的摄取速率等应用。

## 2.3 核糖开关

核糖开关(riboswitch)是一段多存在于mRNA 5'非编码区(5'UTR)或3'非编码区(3'UTR)的核苷酸序列,可特异性响应周围环境中分子配体的浓度变化,从而实现对基因表达的调控。核糖开关于2002年被Nahvi等<sup>[15]</sup>首次发现并定义。随着研究的深入,更多的核糖开关在细菌、真菌、植物及高等动物代谢相关基因中被发现,它们特异地存在于所调控基因的5'非翻译区,可以在转录或翻译水平通过对小分子浓度的改变进行应答来参与生物体内多种基因的表达调控。一个核糖开关由适配体和表达平台两部分组成,首先,需要适配体与小分子配基特异性结合,引起其构象改变,进而导致与其相邻的表达平台二级结构对应产生变化,发挥类RNA传感器作用,并最终将这种构象的变化通过终止基因转录或是抑制翻译启动,来实现改变相关基因表达的目的<sup>[16]</sup>。其中,根据作用类型划分,配体的结合可引起基因表达量上升的核糖开关为激活型(ON型)开关,反之为抑制型(OFF型)开关<sup>[17]</sup>。核糖开关作为功能核酸,具有更强的可编程性和可重复性,这令其可以根据实际需要进行调控元件的组装拼接,在此基础上经过合理设计进行结构优化;同时,由于核糖开关适配体序列的高度保守性,使得它可以作为新药筛选和设计的作用靶点,在基因治疗领域发挥作用<sup>[18]</sup>。此外,由于核糖开关的适配体部分可与非蛋白类小分子配体特异性结合,这种独特的响应模式也令其在生物传感领域具备了一定的开发潜力<sup>[19]</sup>。因此,核糖开关在调节体内基础代谢、信号传递以及氨基酸、核苷酸、辅酶、金属离子的摄取、生物代谢调控、信号传导中均发挥重要作用<sup>[20-21]</sup>。

## 2.4 发光核酸

发光核酸指的是具有荧光性质的核酸或核酸复合物<sup>[22]</sup>。具有荧光特性的功能核酸是用于生物分子分析和生物纳米材料的强大研究工具。狭义的发光核酸仅包含适体-荧光染料复合物。但是,已有研究结果表明,可以与核酸相互作用并改变其荧光性质的物质不限于此。通过与非核酸配体(通常是分子或金属离子/络合物)的共价修饰或非共价相互作用而具有荧光性质的核酸或核酸复合物都可以称为发光核酸。根据核酸和配体

的不同形式,荧光功能核酸可分为八种类型:荧光核苷酸碱基类似物和修饰的核碱基,无碱基位点(AP位点)结合分子型发光核酸,适体-荧光团复合物,G-四链体(G4)-荧光团复合体,核酸模板化的贵金属纳米簇,具有聚吡啶基配体的钌(II)络合物,DNA敏感的镧系元素(Ln)和传统的发光核酸<sup>[22]</sup>。目前发光核酸广泛应用于生物传感、生物成像及靶向运输等领域。在生物传感方面,利用发光核酸的荧光信号输出能够实现对靶标的定量或定性检测<sup>[23]</sup>;在生物成像方面,发光核酸能有效地感测周围环境的变化以及胞内成分的变化,为疾病的预防和治疗提供新见解<sup>[24]</sup>;在靶向运输方面,一些发光核酸,如荧光适配体能够特异性地识别并结合配体,从而实现药物的靶向运输与递送<sup>[25]</sup>。

## 2.5 修饰核酸

修饰核酸就是在核苷酸上(包括磷酸骨架、碱基、核糖/脱氧核糖)进行修饰或交联一些功能基团,不仅可以丰富其结构和功能,而且可以提高核酸的稳定性,增强其与靶标分子的相互作用,从而大大拓宽了核酸的应用范围。对磷酸骨架上的非连接氧进行修饰或交联,以及对连接氧或整个磷酸骨架进行替换可以减少其所带的负电荷,提高磷酸骨架对于酶解的稳定性,且可以增强核酸药物的作用效果。在磷酸基团上交联一些具有靶向性或亲脂性基团如胆固醇、N-乙酰半乳糖胺和维生素E等可以提高siRNA分子的作用效果<sup>[26-27]</sup>。对核酸碱基进行修饰不仅可以提高碱基配对的稳定性,而且可用于连接功能基团从而丰富核酸的药物效果。反义寡核苷酸链(ASO)通过碱基互补配对与靶标mRNA结合来发挥作用,对核酸碱基修饰会影响ASO与靶标mRNA的作用。在嘧啶碱基的C5位点修饰甲基、丙炔基、噻唑基等可以增强ASO与互补链之间的碱基堆积能力,从而提高ASO对靶标链的亲合力<sup>[28]</sup>;DNA丰富的化学结构可使其结合各种金属离子从而合成一系列纳米材料,在嘌呤碱基上的环外氨基上修饰戊二醛或 $\alpha$ 、 $\beta$ -不饱和醛等还原基团,从而使金属离子在DNA上还原来对DNA金属化<sup>[29]</sup>;另外,一系列呋喃环、苯环、萘环、噻吩、吡咯取代的7-脱氮嘌呤核苷酸可以干扰DNA和RNA的合成,从而具有一定的抗病毒效果<sup>[30]</sup>。2'-O甲基、2'-O甲氧乙基修饰使呋喃糖环趋于C3'-endo折叠构象,可提高

siRNA分子的稳定性;2'-F修饰与2'-OH相比,其电负性更高,可广泛应用于siRNA和ASO中,提高与靶向mRNA的亲合力;此外,一锁式核酸和2',4'-亚甲氧基桥接的核酸也可用于提高RNA的亲合力,常被应用于核酸治疗中<sup>[28]</sup>。

## 2.6 功能核酸裁剪

通过适当的裁剪与修饰对核酸的结构进行重组,就可以实现功能的变化。因此“功能核酸裁剪”的概念也应运而生,功能核酸可被裁剪主要有以下几个原因:在核酸序列中,并不是每一个核苷酸都维持着功能核酸的结构,只有少数核苷酸能够与靶标结合并诱导构象改变<sup>[31]</sup>;核苷酸是小分子,在合成的过程中其种类和数量可控;生物传感器维持构象的核苷酸区域可以调整;且多个功能核酸经剪裁后可以组装。功能核酸剪裁具有许多优点,例如产率高、低成本等,更重要的是,多余的核苷酸可能形成各种不必要的二级结构,从而破坏适体-靶标复合物结构的稳定性,因此可以重新设计更加合理的适配体或DNA核酸酶。此外,核酸很容易大量合成,还能提高组织穿透率<sup>[32]</sup>。目前功能核酸的裁剪策略包括劈裂、剪短、增长、替换、融合核酸序列<sup>[33]</sup>。通过功能核酸的裁剪与组装技术,可以实现检测、定向靶标物质、产生或扩大信号输出、构建生物传感器和递送药物等,还能克服输出信号弱、结合亲和力低或药物负载能力弱等缺点。在功能核酸的裁剪中,必须对空间结构进行精确的预测。因此,在未来的研究中,精确地确定功能核酸的高级结构以及与靶标的结合区域将会大大促进该领域的发展。

## 2.7 功能核酸自组装

功能核酸自组装就是利用DNA或RNA的可编程性,使特殊设计的不同结构的核酸链间通过碱基互补配对原则自发地形成特定核酸结构。由自由能驱动的“脚趾”介导的链置换反应(toehold-mediated strand displacement, TMSD)是一切核酸自助组反应的基础。TMSD由称为“脚趾”的互补单链域触发,具有一定程度互补性的核酸链通过置换一条或多条预杂交的核酸链彼此杂交形成新的杂交链<sup>[34]</sup>。近年来,基于TMSD的核酸扩增技术在生物分析领域得到了广泛的应用。基于TMSD反应,衍生出了构成以上各种核酸纳米结构的等温、无酶的基础反应模块,包括杂交链式反应(hybridization chain reaction, HCR)<sup>[35]</sup>、催化茎环

自组装反应<sup>[36]</sup>和熵驱动催化反应<sup>[37]</sup>。Seeman<sup>[38]</sup>基于核酸高度特异性的 Watson-Crick 碱基配对能力有了突破性的进展,开创了“结构 DNA 纳米技术”的研究新领域。功能核酸被认为是“自下而上”构造多种尺寸和形状的 2D 和 3D 纳米结构的最具可编程性的材料之一<sup>[39]</sup>,例如连接点、晶格、双重交叉和 DNA 折纸<sup>[40]</sup>。DNA 作为功能生物大分子,其自组装能力不仅对维持生物体正常的生命过程至关重要,而且还具有人工构建功能 DNA 动态纳米结构的潜力<sup>[41-42]</sup>。动态 DNA 纳米技术包括随着核酸的转变而刺激的纳米结构的动态位移和运动<sup>[43]</sup>,例如 DNA 镊子<sup>[44-45]</sup>、DNA Walker<sup>[46-47]</sup>、DNA 树状聚合物<sup>[48]</sup>和 DNA 回路<sup>[49]</sup>。通过复杂的设计和组装,利用脱氧核苷酸链的灵活性和刚性来产生任何所需的功能性核酸。因此,功能核酸自组装已被广泛应用于开发检测核酸、蛋白质和小分子的敏感生物传感器,同时在胞内递送、基因治疗等领域亦有较大突破。

## 2.8 功能核酸纳米材料

功能核酸纳米材料是由各种功能核酸(包括 DNA 酶、适配体、三链 DNA 组装体、DNA 瓦片和 DNA 折纸等)和纳米材料(如金属纳米材料、碳和硅基纳米材料、生物纳米材料和复合纳米材料等)组合而成的新型复合纳米材料,或功能核酸本身可控制和程序化的自组装<sup>[50]</sup>。功能核酸和纳米材料的制备方式众多,主要包括生物共轭、吸附作用、功能核酸模板组装、功能核酸-纳米材料异质结合和功能核酸自组装<sup>[50]</sup>。

以核酸为原材料自组装构建的核酸水凝胶是一类高含水量且高度交联的多孔纳米材料,既具有核酸分子优越的高生物相容性、稳定性、精确的可编程性、构象柔韧性以及易合成与修饰等独特性质,同时还兼具自组装三维网络和多孔架构所赋予水凝胶材料本身的弹性、刚度和高渗透性等优异的机械、物理性能<sup>[51-53]</sup>。鉴于与天然组织的相似性及其强大的模拟生物力学特性,核酸水凝胶在免疫调节、食品安全、药物输送、仿生模拟和组织工程学等研究方向的多个子领域均具有潜在的应用前景。以核酸模板定向生长的金属纳米材料在纳米光刻、能量转换和存储、催化、传感和生物医学工程等领域有着广泛的应用<sup>[54-55]</sup>。目前已开发出各种方法来制备以核酸为模板的金属纳米材料包括化学还原、光还原、电化学还原、通过还

原基团修饰的核酸进行金属离子的位点特异性还原等。作为稳定金属纳米材料的支架,核酸不仅可以作为“遗传密码”对纳米粒子的形貌进行控制<sup>[56]</sup>,还可以在三维空间中对金属纳米材料的定位以及对装配拆卸过程进行选择 and 动态控制,以满足需求或刺激<sup>[57]</sup>。

## 2.9 核酸纳米酶

核酸纳米酶是指具有核酸特殊结构和酶模拟活性的纳米材料。由于具有新颖的理化性质和类酶催化活性,核酸纳米酶是传统天然酶良好的替代品。其中最常见的是以核酸为模板合成的金属纳米酶,以及由核酸/核苷酸金属离子配位纳米酶<sup>[58-60]</sup>。与传统的纳米酶相比,核酸纳米酶不仅具有纳米酶自身的类酶特性,而且还保留着核酸的功能,赋予了纳米酶更多的特性。在结构上,纳米酶结构简单,而经核酸修饰后,其表面复杂度升高,为多样性的应用提供了结构基础<sup>[61]</sup>。在性质上,纳米酶因缺少特定的底物结合位点致使特异催化性全无,而功能核酸的修饰赋予了纳米酶特异性识别功能。此外,核酸的序列还可以调控纳米酶的活性,通过加入特定序列的核酸可以使其在生理环境中具有高效的催化活性<sup>[62]</sup>。核酸纳米酶具有显著的特点,如强大的催化活性、低成本、酶活可调性和高稳定性等,因此可以实现从检测到监测和治疗的多功能生物应用<sup>[63]</sup>。

## 2.10 核酸药物

核酸药物是指利用控制遗传信息的 DNA 和 RNA 作为药物,包括在从基因组 DNA 合成蛋白质的阶段靶向核酸的药物(例如 mRNA 和 miRNA)和靶向蛋白质的核酸药物<sup>[64]</sup>。如表 1 所示,根据目标和作用机理,存在具有不同类型和特征的核酸药物。核酸药物作为新一代药物,其作用机理与传统药物完全不同。当今,大多数可用药物都是通过与疾病相关的靶蛋白相互作用来行使功能的,而且疾病相关蛋白的表达是导致疾病的根本原因。然而,这些药物由于与非靶蛋白潜在的相互作用通常具有副作用。基于核酸的治疗剂能够在遗传水平上通过阻止致病蛋白的表达控制疾病<sup>[73-74]</sup>。

## 2.11 核酸补充剂

核酸补充剂是指核酸类的物质进入生物体后被消化吸收并加以利用,从而实现为生物体提供能量和核酸合成材料并发挥调控因子的作用<sup>[75]</sup>。

表 1 核酸药物的类别总结  
Table 1 Classification summary of nucleic acid drug

| 类型        | 靶物质        | 作用位点         | 作用机制                 | 总结                                                          | 参考文献 |
|-----------|------------|--------------|----------------------|-------------------------------------------------------------|------|
| siRNA     | mRNA       | 细胞内(细胞质)     | mRNA 切割              | 根据 RNAi 的原理,具有与序列(siRNA)同源的 mRNA 切割的双链 RNA,单链发夹 RNA(shRNA)等 | [65] |
| miRNA     | microRNA   | 细胞内(细胞质)     | microRNA 替代          | 双链 RNA,单链发夹 RNA 的 miRNA 或其模拟物可用于增强因疾病而恶化的 miRNA 的功能         | [66] |
| 反义核苷酸     | mRNA、miRNA | 细胞内(细胞核及细胞质) | mRNA 和 miRNA 降解及拼接抑制 | 单链 RNA/DNA,与靶 mRNA 和 miRNA 结合,引起降解或抑制,或在剪接时跳过外显子            | [67] |
| 适体        | 蛋白质(胞外蛋白)  | 细胞内(细胞核及细胞质) | 功能抑制                 | 单链 RNA/DNA,以与抗体/DNA 相似的方式与靶蛋白结合                             | [68] |
| 寡聚核苷酸     | 蛋白质(转录因子)  | 细胞内(细胞核)     | 转录抑制                 | 与转录因子结合位点序列相同的双链 DNA,其与受影响基因的转录因子结合以抑制靶基因                   | [69] |
| 核酸酶       | RNA        | 细胞内(细胞质)     | RNA 切割               | 具有酶功能的单链 RNA,可结合和裂解靶 RNA                                    | [70] |
| CpG oligo | 蛋白质(受体)    | 细胞表面         | 免疫增强                 | 具有 CpG 基序的寡脱氧核苷酸(单链 DNA)                                    | [71] |
| 其他        | —          | —            | —                    | 除上面列出的核酸药物外,还可以激活先天免疫的核酸药物,例如 PolyI:PolyC(双链 RNA)和抗原        | [72] |

20 世纪 60 年代科学家开始对核苷酸的营养进行研究,1983 年日本功能性食品医学会创立者小越章平首次在世界上提出了核苷酸是重要的营养素<sup>[76]</sup>。虽然机体可以内源合成核苷酸,但是机体在快速生长或应激反应时,添加外源核苷酸显得尤为重要。核苷酸补充剂在婴儿体重的增加率等方面具有一定的作用<sup>[77]</sup>。1965 年日本就开始尝试向奶粉中加入核苷酸<sup>[75]</sup>,20 世纪 80 年代后西班牙和美国也开始推荐向奶粉中添加核苷酸,目前许多婴幼儿奶粉都在配方中加入了 DNA 和 RNA 的成分。外源核苷酸在体内的作用机制以及代谢途径目前还不清楚,但经过多年的研究,已经发现膳食中核苷酸的添加有助于降低肿瘤的发病率<sup>[78]</sup>,对肝脏修复和调节肠道菌群方面也有明显的作用<sup>[79-80]</sup>。营养不良和饥饿造成的免疫抑制状态,可通过补充核酸营养恢复正常,但补充蛋白质无法起到这种作用。饮食核酸除可调节脂肪的代谢外,对三大营养要素的吸收和利用也起着调节作用。但是如果服用的核酸过多,则有可能导致血液、尿中尿酸太多,从而对身体造成伤害。目前,核酸在功能食品和饲料添加剂等产业被广泛应用。未来关于核酸在体内消化吸收的利用机制、作用机理以及如何针对具体需求开发核酸营养的功能食品还需要更进一步的探究。

2.12 DNA 数据存储

DNA 数据存储是将数字信息转换成核苷酸序列的编码过程<sup>[81]</sup>。由于每年产生大量的数据,寻找存储数据的替代方法是一个新兴的研究领域。而 DNA 由于其巨大的存储密度、体积小、能耗低、稳定性高、存储周期长、易获取以及强大的自我复制能力,已成为一种有前途的材料<sup>[82-83]</sup>。DNA 作为绝大多数生物体的遗传物质,具有精确的分子结构和序列,而遗传信息的千差万别反映出碱基类型以及核苷酸排列顺序的不同。如果把不同种类的碱基赋值转换为数字信号,DNA 就可以作为二进制的数据存储材料。DNA 编码的信息不需要保存在微型离心管中,而是可以稳定地嵌入到 3D 打印、无生命的物体中<sup>[84]</sup>。DNA 存储大多数常见的编码模式包括将信息从比特编码到合成的核苷酸中,存储在液体或干介质中,并通过测序进行解码<sup>[85]</sup>。近期,James 等<sup>[86]</sup>开发了一种标记和检索 DNA 数据文件的技术。每个 DNA 文件封装到一个微小的二氧化硅磁珠中,每个磁珠都贴上了由单链 DNA 组成的“条形码”,与文件内容相对应。这或许能让 DNA 数据存储在未来成为可能。虽然 DNA 作为新一代存储介质,拥有着很多现有存储技术所不具备的优势,但是由于处于起步阶段,仍面临着巨大挑战,如合成成本高、写入

速度慢、无法擦除重写等。然而,在未来,相信DNA存储技术将会对新的存储时代的到来起到引领及重要的推动作用。

### 3 展望

DNA作为一种功能强大的生物分子,在生物传感、生物成像、材料组装、靶向递送、疾病治疗领域均展示出独特的魅力。在生物传感方面,基于功能核酸的快速检测技术可以实现靶标识别、扩增放大和信号输出全检测环节的归一化,提高了快速检测的通用性、精准性与灵敏度;在生物成像方面,可预测碱基的配对、高可编程性以及分子识别能力使基于核酸的荧光成像技术具有多样性,使在复杂的生物体内实时成像成为可能;在材料组装方面,无论是核酸本身程序化的自组装还是与其他纳米材料结合形成复合纳米材料,都具有出色的生物相容性。利用核酸的序列可变性还可以对纳米材料的结构、形貌和性质进行调控,赋予材料新的功能;在靶向递送方面,核酸分子具有优越的稳定性、精确的可编程性、构象柔韧性以及易合成与修饰等独特性,从而实现精准递送和可控释放;在疾病治疗方面,核酸作为调控生物体生长发育、遗传变异的重要分子,可以通过调控基因的转录、翻译来达到调控疾病进程的作用。因此,基于以上优势,功能核酸及其复合物在未来的环境监测、生物成像、生物医学等方面将发挥不可替代的作用。

### 参 考 文 献

- [1] ELLINGTON A D, SZOSTAK J W. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands [J]. *Nature*, 1990, 346 (6287): 818–822.
- [2] TUEK C, GOLD L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase [J]. *Science*, 1990, 249(4968): 505–510.
- [3] DARMOSTUK M, RIMPELOVA S, GBELCOVA H, *et al.* Current approaches in SELEX: An update to aptamer selection technology [J]. *Biotechnol. Adv.*, 2015, 33(6): 1141–1161.
- [4] ABABNEH N, ALSHAER W, ALLOZI O, *et al.* In vitro selection of modified RNA aptamers against CD44 cancer stem cell marker [J]. *Nucl. Acid Ther.*, 2013, 23(6): 401–407.
- [5] BOSHTAM M, ASGARY S, KOUHPAYEH S, *et al.* Aptamers against pro- and anti-inflammatory cytokines: a review [J]. *Inflammation*, 2017, 40(1): 340–349.
- [6] YERRAMILI V S, KIM K H. Labeling RNAs in live cells using malachite green aptamer scaffolds as fluorescent probes [J]. *ACS Synth. Biol.*, 2018, 7(3): 758–766.
- [7] WANG J, WANG Y, HU X, *et al.* Dual-aptamer-conjugated molecular modulator for detecting bioactive metal ions and inhibiting metal-mediated protein aggregation [J]. *Anal. Chem.*, 2019, 91(1): 823–829.
- [8] YAN A C, LEVY M. Aptamer-mediated delivery and cell-targeting aptamers: room for improvement [J]. *Nucl. Acid Ther.*, 2018, 28(3): 194–199.
- [9] ABDELRASOUL G N, ANWAR A, MACKAY S, *et al.* DNA aptamer-based non-faradaic impedance biosensor for detecting *E. coli* [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2020, 1107: 135–144.
- [10] ZHANG Y, LAI B S, JUHAS M. Recent advances in aptamer discovery and applications [J]. *Molecules*, 2019, 24(5): 941–962.
- [11] ACHENBACH J, CHIUMAN W, CRUZ R, *et al.* DNazymes: from creation in vitro to application in vivo [J]. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 2004, 5(4): 321–336.
- [12] ZAOURI N, CUI Z, PEINETTI A S, *et al.* DNzyme-based biosensor as a rapid and accurate verification tool to complement simultaneous enzyme-based media for *E. coli* detection [J]. *Environ. Sci. Water Res. Technol.*, 2019, 5(12): 2260–2268.
- [13] ROTHENBROKER M, MCCONNELL E M, GU J, *et al.* Selection and characterization of an RNA-cleaving DNzyme activated by *Legionella pneumophila* [J]. *Angew. Chem.*, 2021, 133 (9): 4832–4838.
- [14] ZHANG S, LUAN Y, XIONG M, *et al.* DNzyme amplified aptasensing platform for ochratoxin A detection using a personal glucose meter [J]. *ACS Appl. Mater. Interf.*, 2021, 13(8): 9472–9481.
- [15] NAHVI A, SUDARSAN N, EBERT M S, *et al.* Genetic control by a metabolite binding mRNA [J]. *Chem. Biol.*, 2002, 9(9): 1043–1049.
- [16] 沃森 J D, 贝 克 T A, 贝 尔 S P. 基因的分子生物学 [M]. 杨焕明译. 北京: 科学出版社, 2009.
- [17] 冯婧娴, 王佳稳, 林俊生, 等. 核酶核糖开关在基因治疗中的应用及挑战 [J]. *药学报*, 2014, 11: 1504–1511.
- [18] 毕茹茹, 范文廷, 马萍, 等. 核糖开关在细菌耐药性中的应用进展 [J]. *临床与病理杂志*, 2016, 09(9): 1445–1449.
- [19] BEISEL C L, SMOLKE C D, ARKIN A P. Design principles for riboswitch function [J/OL]. *PLoS Comp. Biol.*, 2009, 5(4): e1000363[2021-07-09]. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000363>.
- [20] 刘湛军, 路新枝, 姜鹏, 等. 核糖开关——药物开发的新靶点 [J]. *武汉大学学报(理学版)*, 2010, 56(3): 313–319.
- [21] 韩祥东, 刘薇, 吴存祥, 等. 核糖开关与基因表达调控 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2011, 27(12): 1094–1100.
- [22] WANG X X, ZHU L J, LI S T, *et al.* Fluorescent functional nucleic acid: principles, properties and applications in bioanalyzing [J]. *Trac. Trend Anal. Chem.*, 2021, 116292–116325.
- [23] ZHOU Z, DING Y, SI S, *et al.* Wide-field determination of aqueous mercury(II) based on tail-extensible DNA fluorescent probe with tunable dynamic range [J]. *J. Hazard. Mater.*, 2021, 417: 125975–125982.

- [24] TAN X, CONSTANTIN T P, SLOANE K L, *et al.* Fluoromodules consisting of a promiscuous RNA aptamer and red or blue fluorogenic cyanine dyes: selection, characterization, and bioimaging [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, 139(26): 9001–9009.
- [25] DAVID P, CARDWELL L N, TAWIAH K D, *et al.* Modular cell-internalizing aptamer nanostructure enables targeted delivery of large functional RNAs in cancer cell lines [J]. *Nat. Commun.*, 2018, 9(1): 2283–2295.
- [26] LORENZ C, HADWIGER P, JOHN M, *et al.* Steroid and lipid conjugates of siRNAs to enhance cellular uptake and gene silencing in liver cells [J]. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2004, 14(19): 4975–4977.
- [27] NAIR J K, ATTARWALA H, SEHGAL A, *et al.* Impact of enhanced metabolic stability on pharmacokinetics and pharmacodynamics of GalNAc-siRNA conjugates [J]. *Nucl. Acids Res.*, 2017, 45(19): 10969–10977.
- [28] WAN W B, SETH P P. The medicinal chemistry of therapeutic oligonucleotides [J]. *J. Med. Chem.*, 2016, 59(21): 9645–9667.
- [29] CHEN Z, LIU C, CAO F, *et al.* DNA metallization: principles, methods, structures, and applications [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2018, 47(11): 4017–4072.
- [30] YANG C, POHL R, TICHY M, *et al.* Synthesis, photophysical properties, and biological profiling of benzothieno-fused 7-deazapurine ribonucleosides [J]. *J. Org. Chem.*, 2020, 85(12): 8085–8101.
- [31] BING T, YANG X J, MEI H C, *et al.* Conservative secondary structure motif of streptavidin-binding aptamers generated by different laboratories [J]. *Bioorgan. Med. Chem.*, 2010, 18(5): 1798–1805.
- [32] PADLAN C S, MALASHKEVICH V N, ALMO S C, *et al.* An RNA aptamer possessing a novel monovalent cation-mediated fold inhibits lysozyme catalysis by inhibiting the binding of long natural substrates [J]. *RNA*, 2014, 20(4): 447–461.
- [33] XIAO X N, ZHU L J, HE W C, *et al.* Functional nucleic acids tailoring and its application [J]. *Trac. Trend Anal. Chem.*, 2019, 118: 138–157.
- [34] LI M X, XU C H, ZHANG N, *et al.* Exploration of the kinetics of toehold-mediated strand displacement via plasmon rulers [J]. *ACS Nano*, 2018, 12(4): 3341–3350.
- [35] WU C, CANSIZ S, ZHANG L, *et al.* A nonenzymatic hairpin DNA cascade reaction provides high signal gain of mRNA imaging inside live cells [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2015, 137(15): 4900–4903.
- [36] YIN P, CHOI H M, CALVERT C R, *et al.* Programming biomolecular self-assembly pathways [J]. *Nature*, 2008, 451(7176): 318–322.
- [37] RINKER S, KE Y, LIU Y, *et al.* Self-assembled DNA nanostructures for distance-dependent multivalent ligand-protein binding [J]. *Nat. Nanotechnol.*, 2008, 3(7): 418–422.
- [38] SEEMAN N C. Nucleic acid junctions and lattices [J]. *J. Theor. Biol.*, 1982, 99(2): 237–247.
- [39] SEEMAN N C. DNA Nanotechnology: from the pub to information-based chemistry [J]. *Methods Mol. Biol.*, 2018, 1811: 1–9.
- [40] HU Y, NIEMEYER C M. From DNA nanotechnology to material systems engineering [J]. *Adv. Mater.*, 2019, 31(26): e1806294[2021–07–09]. [http://dx. doi. org/10.1002/adma.201806294](http://dx.doi.org/10.1002/adma.201806294).
- [41] VYBORNYYI M, VYBORNA Y, HANER R. DNA-inspired oligomers: from oligophosphates to functional materials [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2019, 48(16): 4347–4360.
- [42] PINHEIRO A V, HAN D R, SHIH W M, *et al.* Challenges and opportunities for structural DNA nanotechnology [J]. *Nat. Nanotechnol.*, 2011, 6(12): 763–772.
- [43] KIM J, JANG D, PARK H, *et al.* Functional-DNA-driven dynamic nanoconstructs for biomolecule capture and drug delivery [J]. *Adv. Mater.*, 2018, 30(45): e1707351[2021–07–09]. <http://dx.doi.org/10.1002/adma.201707351>.
- [44] XU X, WANG L, LI K, *et al.* A smart DNA tweezer for detection of human telomerase activity [J]. *Anal. Chem.*, 2018, 90(5): 3521–3530.
- [45] YURKE B, TURBERFIELD A J, MILLS A P, *et al.* A DNA-fuelled molecular machine made of DNA [J]. *Nature*, 2000, 406(6796): 605–608.
- [46] ZHANG J, WANG L L, HOU M F, *et al.* A ratiometric electrochemical biosensor for the exosomal microRNAs detection based on bipedal DNA walkers propelled by locked nucleic acid modified toehold mediate strand displacement reaction [J]. *Biosens. Bioelect.*, 2018, 102: 33–40.
- [47] JUNG C, ALLEN P B, ELLINGTON A D. A simple, cleated DNA walker that hangs on to surfaces [J]. *ACS Nano*, 2017, 11(8): 8047–8054.
- [48] XUAN F, FAN T W, HSING I M. Electrochemical interrogation of kinetically-controlled dendritic DNA/PNA assembly for immobilization-free and enzyme-free nucleic acids sensing [J]. *ACS Nano*, 2015, 9(5): 5027–5033.
- [49] ANG Y S, YUNG L Y. Engineering self-contained DNA circuit for proximity recognition and localized signal amplification of target biomolecules [J]. *Nucl. Acids Res.*, 2014, 42(14): 9523–9530.
- [50] XU W, HE W, DU Z, *et al.* Functional nucleic acids-nanomaterials: development, properties, and applications [J]. *Angew. Chem. Intern. Edit.*, 2019, 60(13): 6890–6918.
- [51] 马翊, 张洋子, 许文涛. 功能核酸 DNA 水凝胶的制备与组装 [J]. *生物技术进展*, 2019, 9(6): 554–562.
- [52] 马翊, 张洋子, 许文涛. 功能核酸 DNA 水凝胶的理化特性及应用进展 [J]. *生物技术进展*, 2019, 9(6): 545–553.
- [53] ZHANG Y, ZHU L, TIAN J, *et al.* Smart and functionalized development of nucleic acid-based hydrogels: assembly strategies, recent advances and challenges [J]. *Adv. Sci.*, 2021, 2100216: 1–28.
- [54] LIU J. DNA-stabilized, fluorescent, metal nanoclusters for biosensor development [J]. *Trends Anal. Chem.*, 2014, 58: 99–111.
- [55] XU J, ZHU X, ZHOU X, *et al.* Recent advances in the bioanalytical and biomedical applications of DNA-templated silver nanoclusters [J]. *Trends Anal. Chem.*, 2020, 124: 115786–115800.
- [56] SATYAVOLU N S R, LOH K Y, TAN L H, *et al.* Discovery of and Insights into DNA "Codes" for Tunable Morphologies of Metal Nanoparticles [J]. *Small*, 2019, 15(26): e1900975[2021–

- 07–12].<http://doi.org/10.1002/sml.201900975>.
- [57] O'NEILL P R, YOUNG K, SCHIFFELS D, *et al.* Few-atom fluorescent silver clusters assemble at programmed sites on DNA nanotubes [J]. *Nano Lett.*, 2012, 12(11): 5464–5469.
  - [58] SU Y, CHU H, TIAN J, *et al.* Insight into the nanomaterials enhancement mechanism of nucleic acid amplification reactions [J]. *Trends Anal. Chem.*, 2021, 137: 116221–116237.
  - [59] ZHOU W, FANG Y, REN J, *et al.* DNA-templated silver and silver-based bimetallic clusters with remarkable and sequence-related catalytic activity toward 4-nitrophenol reduction [J]. *Chem. Commun.*, 2019, 55(3): 373–376.
  - [60] LU C, TANG L, GAO F, *et al.* DNA-encoded bimetallic Au-Pt dumbbell nanozyme for high-performance detection and eradication of *Escherichia coli* O157: H7 [J]. *Biosens. Bioelectr.*, 2021, 187: 113327–113336.
  - [61] CHEN W, FANG X, YE X, *et al.* Colorimetric DNA assay by exploiting the DNA-controlled peroxidase mimicking activity of mesoporous silica loaded with platinum nanoparticles [J]. *Microchim. Acta*, 2018, 185(12): 1–10.
  - [62] A H M, WANG L, LI Y, *et al.* Guanosine-rich aptamers Cu<sub>2</sub>O nanoparticles: enhanced peroxidase activity and specific recognition capability at neutral pH [J]. *Chem. Commun.*, 2021, 57: 643–646.
  - [63] MENG Y, CHEN Y, ZHU J, *et al.* Polarity control of DNA adsorption enabling the surface functionalization of CuO nanozymes for targeted tumor therapy [J]. *Mater. Horizons*, 2021, 8(3): 972–986.
  - [64] BREAKER R R, JOYCE G F. The expanding view of RNA and DNA function [J]. *Chem. Biol.*, 2014, 21(9): 1059–1065.
  - [65] ZOU Y, SUN X, WANG Y, *et al.* Single siRNA nanocapsules for effective siRNA brain delivery and glioblastoma treatment [J]. *Adv. Mater.*, 2020, 32(24): e2000416[2021–07–12].<http://doi.org/10.1002/Adma.202000416>.
  - [66] CHAKRABORTY C, SHARMA A R, SHARMA G, *et al.* Therapeutic miRNA and siRNA: moving from bench to clinic as next generation medicine [J]. *Mol. Ther. Nucl. Acids*, 2017, 8: 132–143.
  - [67] LI D, MASTAGLIA F L, FLETCHER S, *et al.* Precision medicine through antisense oligonucleotide-mediated exon skipping [J]. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2018, 39(11): 982–994.
  - [68] JAIN S, KAUR J, PRASAD S, *et al.* Nucleic acid therapeutics: a focus on the development of aptamers [J]. *Expert Opin. Drug Discov.*, 2021, 16(3): 255–274.
  - [69] MAHJUBIN-TEHRAN M, REZAEI S, ATKIN S L, *et al.* De-coys as potential therapeutic tools for diabetes [J/OL]. *Drug Discov. Today*, 2021, doi:10.1016/j.drudis.2021.04.004[2021–07–09]. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2021.04.004>.
  - [70] KHAN A U, LAL S K. Ribozymes: a modern tool in medicine [J]. *J. Biomed. Sci.*, 2003, 10(5): 457–467.
  - [71] REPP L, RASOULIANBOROUJENI M, LEE H J, *et al.* Acyl and oligo(lactic acid) prodrugs for PEG-b-PLA and PEG-b-PCL nano-assemblies for injection [J]. *Offic. J. Contr. Release Soc.*, 2021, 330: 1004–1015.
  - [72] CHARLEBOIS R, ALLARD B, ALLARD D, *et al.* PolyI:C and CpG synergize with anti-ErbB2 mAb for treatment of breast tumors resistant to immune checkpoint inhibitors [J]. *Cancer Res.*, 2017, 77(2): 312–319.
  - [73] WRAIGHT C J, WHITE P J. Antisense oligonucleotides in cutaneous therapy [J]. *Pharmacol. Therap.*, 2001, 90(1): 89–104.
  - [74] CAVAGNARI B M. Gene therapy: nucleic acids as drugs. Action mechanisms and delivery into the cell [J]. *Archiv. Argent. Pediat.*, 2011, 109(3): 237–244.
  - [75] 梁兴国, 李金, 黄丽丽, 等. 核酸代谢与营养研究及发展趋势 [J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2019, 10: 64–78.
  - [76] KUBOTA A. Nutritional study of nucleotide components in the milk [J]. *Nihon Shonika Gakkai Zasshi Acta Paed. Japon.*, 1969, 73(2): 197–209.
  - [77] EUN-HEE D, CHRISTOPHE C, SCHWAB C, *et al.* Effect of dietary nucleosides and yeast extracts on composition and metabolic activity of infant gut microbiota in PolyFermS colonic fermentation models [J]. *Fems Microbiol. Ecol.*, 2017, 97(8): 8 [2021–07–12].<http://doi.org/10.1093/femsec/fix088>.
  - [78] XU M, LIANG R, GUO Q, *et al.* Dietary nucleotides extend the life span in Sprague-Dawley rats[J]. *J. Nutr. Health Aging*, 2013, 17(3): 223–229.
  - [79] OACUTE, PEZ-NAVARRO A T, GIL A, *et al.* Age-related effect of dietary nucleotides on liver nucleic acid content in rats [J]. *Ann. Nutr. Metab.*, 1997, 41(5): 324–330.
  - [80] CAI X, BAO L, WANG N, *et al.* Dietary nucleotides protect against alcoholic liver injury by attenuating inflammation and regulating gut microbiota in rats [J]. *Food Function*, 2016, 7(6): 2898–2908.
  - [81] CEZE L, NIVALA J, STRAUSS K. Molecular digital data storage using DNA[J]. *Nat. Rev. Genet.*, 2019, 20: 456–466.
  - [82] ORGANICK L, ANG S D, CHEN Y J, *et al.* Random access in large-scale DNA data storage [J]. *Nat. Biotechnol.*, 2018, 36(3): 242–250.
  - [83] HECKEL R, MIKUTIS G, GRASS R N. A characterization of the DNA data storage channel [J]. *Sci. Rep.*, 2019, 9(1): 1–12.
  - [84] FARZADFARD F. DNA storage in everyday objects [J]. *Nat. Biotechnol.*, 2020, 38: 31–32.
  - [85] LIM C K, NIRANTAR S, YEW W S, *et al.* Novel modalities in DNA data storage[J/OL]. *Trends Biotechnol.*, 2021, doi: 10.1016/j.tibtech.2020.12.008[2021–07–09]. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.12.008>.
  - [86] BANAL J L, SHEPHERD T R, BERLEANT J, *et al.* Random access DNA memory using Boolean search in an archival file storage system[J/OL]. *Nat. Mater.*, 2021, doi: 10.1038/s41563-021-01021-3[2021–07–09]. <https://doi.org/10.1038/s41563-021-01021-3>.