



DNA-金属纳米材料在分子识别和药物递送中的应用*

陈天奇¹⁾ 梁钰³⁾ 樊丽^{1)**} 李凯²⁾ 李亮^{2)**}⁽¹⁾ 内蒙古农业大学园艺与植物保护学院, 呼和浩特 010019; ⁽²⁾ 中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 北京 100081;⁽³⁾ 中国农业科学院生物技术研究所, 北京 100081)

摘要 分子识别和药物递送对疾病的早期诊断和靶向治疗至关重要。DNA作为一种天然纳米分子,具有良好的生物相容性、分子识别性及序列可编程性等特点,因此在生物医学研究中受到广泛关注。然而,DNA纳米材料存在依赖于光响应系统且不能穿透细胞膜等缺点,导致单独使用无法满足实际应用的需求。近年来,涌现出大量DNA-金属纳米材料,这些复合材料具有光化学特性、组织穿透能力和药物装载能力等功能,克服了单一材料的缺陷,在生物传感、生物成像和药物靶向递送中表现出巨大的应用潜力。本文集中于3种近年热门的DNA-金属纳米材料(DNA-铜纳米材料、DNA-上转换纳米材料、DNA-金属有机框架纳米材料),依据DNA与各金属纳米材料的结合方式进行合理分类,介绍其在生物传感、生物成像和药物递送中的最新应用进展,并对未来发展方向进行了展望。

关键词 DNA, 金属纳米材料, 生物传感, 生物成像, 药物递送

中图分类号 Q5, Q7

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0203

DNA是在生物系统中储存和传递遗传信息的分子。然而,DNA纳米技术将这种分子从生物学背景中分离出来,利用碱基互补配对原则精确地组装在一起,这在控制分子自组装方面具有革命性的意义,对纳米科学和纳米技术也产生了重要的影响^[1]。DNA作为一种天然分子,在纳米尺度上结构清晰,具有显著的生物相容性、分子识别性、序列可编程性^[2]和热力学稳定性^[1]等特性,不仅在生物分子识别中扮演重要角色,还可以作为核酸药物在肿瘤治疗中发挥有效作用。然而,由于DNA不能穿透细胞膜,并在分子识别中表现出对光响应系统的需求,特别是其依赖光敏剂才能调节光的波长和激活过程,实现癌细胞治疗的远程调控,这种机制称为刺激-响应机制。因此,具备递送功能的纳米载体和发光性质的纳米材料已引起了研究者的广泛关注。

目前,基于DNA的复合纳米材料被广泛研制,涌现出多种可与DNA组装的新型材料体系,如脂质体^[3]、聚合物纳米结构^[4]和无机纳米粒子等,这些纳米材料具有良好的生物相容性,与DNA结

合可将治疗性药物递送到肿瘤靶点^[5]。作为具有发光特性的金属纳米材料,铜纳米材料不仅具有优异的荧光性质和氧化还原活性,相对金银纳米材料还更容易获得且成本低廉。与其他金属元素相比,铜是人体内所必需的微量营养元素,其应用比其他重金属纳米粒子和量子点更安全^[6]。此外,上转换纳米粒子(upconversion nanoparticles, UCNPs)因光稳定性、持久的发光、深层的组织穿透能力和抑制自荧光等特点而倍受关注^[7]。作为具有装载递送功能的纳米材料,金属有机框架(metal-organic frameworks, MOFs)则同时兼具金属和有机体的性质,其特殊的结构使其十分适合作为货物载体,比介孔二氧化硅具有更高的装载效率^[8]。此外,由于金属和有机体的可调性,MOFs的功能

* 国家自然科学基金(30660113),国家科技重大专项(2022ZD04020)和中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP-2023-IQSTAP)资助项目。

** 通讯联系人。

樊丽 Tel: 0471-4308470, E-mail: chenlugb@126.com

李亮 Tel: 010-82106566, E-mail: liliang@caas.cn

收稿日期: 2022-05-05, 接受日期: 2022-06-20

也具有相应的可变性。研究表明, DNA 可通过不同的分子间作用力吸附在这些材料上^[9]。这推动了DNA-金属纳米材料的发展, 不仅解决了DNA进入细胞的困难, 还避免了DNA作为探针时修饰荧光分子的繁琐操作, 使DNA和金属纳米材料固有的特殊性质能同时传递到新材料, 破除了单一功能的纳米材料无法满足复杂应用要求的限制。

DNA 的序列特异性和结构特异性^[10]为DNA纳米结构^[11]的精确控制带来了开创性的机会, 例如裂解RNA的DNAzymes可对特定的金属离子作出反应^[12], 而适配体可特异性地结合靶标^[13], 一些序列还会影响DNA与特定纳米颗粒的结合亲和力。此外, Watson-Crick 碱基对、DNA的磷酸骨架

以及DNA分子链上引入的巯基和氨基等功能基团, 这些特殊序列和结构可使DNA通过共价成键、静电吸引或金属磷酸盐配位作用(表1)修饰在金属纳米材料表面。由于高效药物装载能力、特定目标识别作用和刺激响应性释放功能, DNA-金属纳米材料已成为药物递送系统和分子识别系统的优选材料^[14-15]。本文聚焦于近年的热门金属纳米材料, 综述了DNA-金属纳米材料及其在生物传感、生物成像和药物递送方面的最新研究进展。通过系统归纳DNA分子与铜纳米材料、UCNPs和MOFs的结合方式, 对3种复合纳米材料进行了简要分类, 为扩展新型纳米材料提供了借鉴, 为疾病的早期诊断和靶向药物递送提供了多样的思路 and 手段。

Table 1 The interaction between DNA and metal nanomaterials

表1 DNA与金属纳米材料间的作用方式总结

作用	CuNP	UCN	MO
配位作用	磷酸与Cu ²⁺ 配位	磷酸与铜系离子配位	磷酸与金属基离子配位
静电吸引	-	功能化UCNP的阳离子聚合物与适体吸附	-
共价成键	-	-	MOF的氨基与ssDNA的羧基共轭

1 DNA-Cu纳米结构的分类与应用

铜纳米颗粒(copper nanoparticles, CuNPs)通常具有与金属自身性质相关的光学特性和电学特性, 同时, 它的光学和电学特性也显示出对纳米颗粒尺寸的依赖性。CuNPs金属等离子体吸收频率为500~550 nm, 位于可见范围内, 在局部表面等离子体共振频率下, 纳米颗粒的电场强度、散射和吸收特性都得到了增强^[5]。这些独特性质为CuNPs的广泛应用提供了前提。自从Mokhir小组^[16]利用双链DNA(double strands, dsDNA)作为支架在低浓度CuSO₄下合成CuNPs, CuNPs逐渐成为金属纳米材料的热点研究对象, 且金属化对dsDNA具有高选择性。CuNPs对dsDNA模板的特异性使其非常适合作为一种新的荧光标记物, 且CuNPs相对金纳米粒子/银纳米簇等贵金属成本低廉, 因此受到更为广泛的研究与应用。另一方面, 由于铜离子的不稳定性, 医学中常以Cu²⁺作为化学动力学疗法的试剂, 在肿瘤细胞存在的情况下, 它可以被过表达的谷胱甘肽有效还原为Cu⁺, 催化内源性过氧化氢生成细胞毒性羟基自由基, 这种反应称为类芬顿(Fenton-like)反应, 广泛用于抗癌治疗^[17]。据报道, 氧化还原活性铜离子催化的类芬顿反应在动

力学和能量上都比Fe²⁺催化的更有利, 铜催化的类芬顿反应可以在弱酸性和中性介质中高效发生, 其最高反应速率(1×10⁴ mol·L⁻¹·s⁻¹)可比Fe²⁺增加160倍^[18]。这为Cu²⁺靶向肿瘤的治疗奠定了基础。

1.1 以DNA为模板的CuNPs

CuNPs作为优异的荧光纳米材料, 具有良好的生物相容性, 且毒性极低。它可以在5 min内制备, 比其他DNA模板荧光金属纳米材料(如银和金纳米簇)的制备速度更快^[19]。它的激发和发射波长分别为340 nm和620 nm, 具有较大的斯托克斯位移(Stokes shift)^[20], 因此背景干扰低, 对生物样品损伤小, 且样品穿透性强, 检测灵敏度高。CuNPs现已被广泛用于检测靶标分子, 其检测原理为: Cu²⁺与DNA模板序列形成CuNPs, 通过模板序列与目标分子相互作用, 从而引发CuNPs发出荧光^[21]。然而, 只有相对较长的聚胸腺嘧啶(Poly-T)可以制备模板荧光CuNPs, 在Poly-T小于15个碱基时, CuNPs荧光信号极其微弱, 因此, 聚胸腺嘧啶的长度是有效控制CuNPs大小及其荧光强度的关键因素^[19]。

Kim等^[22]研究表明, 使用以DNA为模板的CuNPs作为探针, 已成为基于荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)的

靶分子比率检测的有效策略(图1)。实验选择Cy5作为CuNPs的FRET对,当靶标序列存在时,加入抗坏血酸钠和铜离子后,CuNPs在波长为340 nm处被激发,并通过FRET过程将其能量转移到Cy5,在660 nm处发出Cy5的荧光;然而,在没有靶标序列的情况下,FRET不会发生,因为它只在FRET对之间的距离小于10 nm时有效。因此,在没有目标序列的情况下,只在620 nm处观察到CuNPs的荧光。与荧光染料或量子点相比,具有独特荧光性质的CuNPs更具成本效益,比单一波长的生物传感器抵抗环境条件变化的能力更强。结合PCR扩增结果表明,引入CuNPs进行比率检测与qRT-PCR技术对小分子核糖核酸(miRNA, miRNA)的定量检测结果具有良好的一致性,这为癌症的早期诊断和治疗做出了巨大贡献,为小分子、蛋白质,甚至细胞的比率检测策略的发展奠定了基础。Wan等^[23]通过dsDNA模板荧光CuNPs输出传感信号,成功构建了一种新型的纳米信标。以发夹DNA作为纳米通道的关键部分,其组成部分

包含两个CuNPs模板序列片段,一个靶标识别片段和一个阻断片段。在室温下,靶标识别片段与阻断片段杂交,从而阻止了dsDNA模板的形成,此时发夹DNA上不会产生CuNPs;当引入靶标时,靶标与识别序列的特异性结合触发了发夹DNA的构象转化,这促成了CuNPs模板的形成及荧光信号的读出,因此通过精确改变发夹DNA内的识别序列,该纳米信标有望发展为检测DNA、miRNA、凝血酶和ATP的多功能传感器,为疾病的早期诊断提供新见解。Kim和Park^[24]提出了一种新的策略,通过原位形成DNA模板CuNPs,以高特异性染色细胞核。结果表明,在加入铜离子源和抗坏血酸作为还原剂后,细胞核中的基因组DNA能够迅速形成高度荧光的CuNPs。与4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)相比,该方法具有良好的光稳定性,同时对细胞核具有更高的特异性,且成本较低,该设计为细胞成像提供了可靠而灵敏的方法,在癌症诊断和疾病治疗方面具有广阔的应用前景。

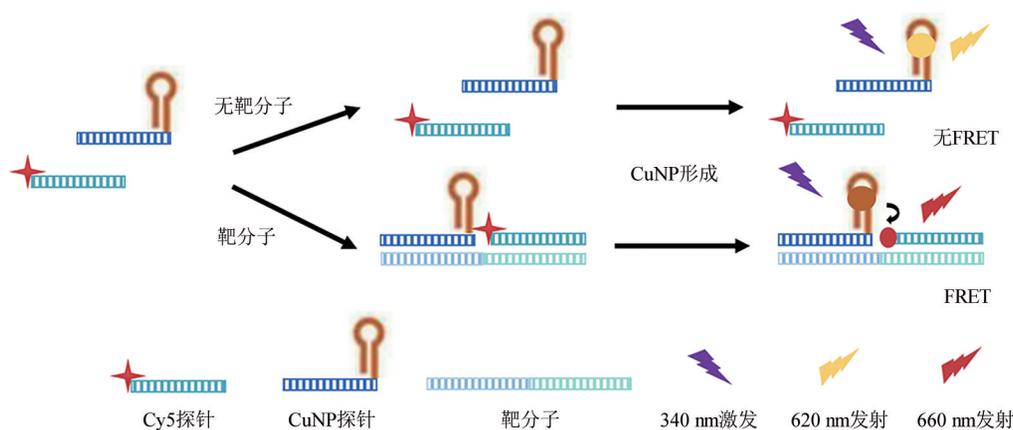


Fig. 1 CuNP-based FRET for target detection

图1 基于铜纳米粒子的荧光共振能量转移用于靶标检测

1.2 配位驱动Cu-DNAzyme

Cu²⁺是肿瘤治疗的优异材料,然而,将Cu²⁺有效递送至肿瘤细胞的简单策略却鲜有报道。目前的方法往往受到材料合成较为复杂的限制。降低合成过程的复杂性和增加灵活性的策略仍然是DNA-金属纳米材料领域的一个核心问题。DNAzyme由于依赖其辅因子的催化性质,被认为是一种潜在的基因沉默剂,用于调节疾病相关mRNA的表达,如敲除癌基因以治疗癌症^[25]。但DNAzyme的细胞穿透能力较差,且作为单一治疗剂治疗癌症的效果并不理想。

近年来,配位驱动的自组装被广泛应用于构建药物释放系统。DNAzyme和Cu²⁺可通过配位相互作用共组装成单一的Cu-DNAzyme纳米颗粒,这降低了DNA功能纳米材料合成过程的复杂性,实现了无载体的细胞内药物递送,二者的结合为双催化肿瘤治疗提供了一种简单的策略^[26]。

由于DNA具有丰富的磷酸结合位点和氮氧原子,因此它与金属离子表现出强配位相互作用^[27]。这种配位形成的新型纳米粒子合成方法非常简单和方便,将CuCl₂·2H₂O水溶液和DNA水溶液混合后

剧烈旋转 10 s, 在 95°C 下培养 3 h, 混合液通过离心、洗涤和在去离子水中重新分散即可获得 Cu-Dzy^[14]。研究结果显示, 不含 DNA 的纳米合成不会出现球形纳米颗粒, 这证实了 DNA 在合成此类杂交结构中的关键作用, 此外, 当 DNAzyme 被随机 DNA 替换时, 球形纳米粒子仍然存在, 这表明了该方法对 DNA 的普遍适用性。因此, 将具有独特性质的金属结合到 DNA 纳米结构中的能力为多功能纳米材料的设计提供了参考^[28]。基于铜的氧

化还原特性, Liu 等^[26] 将金属酚覆盖在 Cu-DNAzyme 表面, 形成 Cu-Dzy@TA 结构 (图 2a), 其超高共载能力有效地将 DNAzyme 和 Cu²⁺ 共同递送到癌细胞中进行联合催化治疗。一方面, Cu²⁺ 通过谷胱甘肽还原为 Cu⁺, 催化内源性过氧化氢形成细胞毒性羟基自由基进行化学动力学治疗; 另一方面, DNAzyme 催化切割 VEGFR2 mRNA 并激活基因沉默进行基因治疗, 实现了有效的双催化肿瘤治疗 (图 2b)。

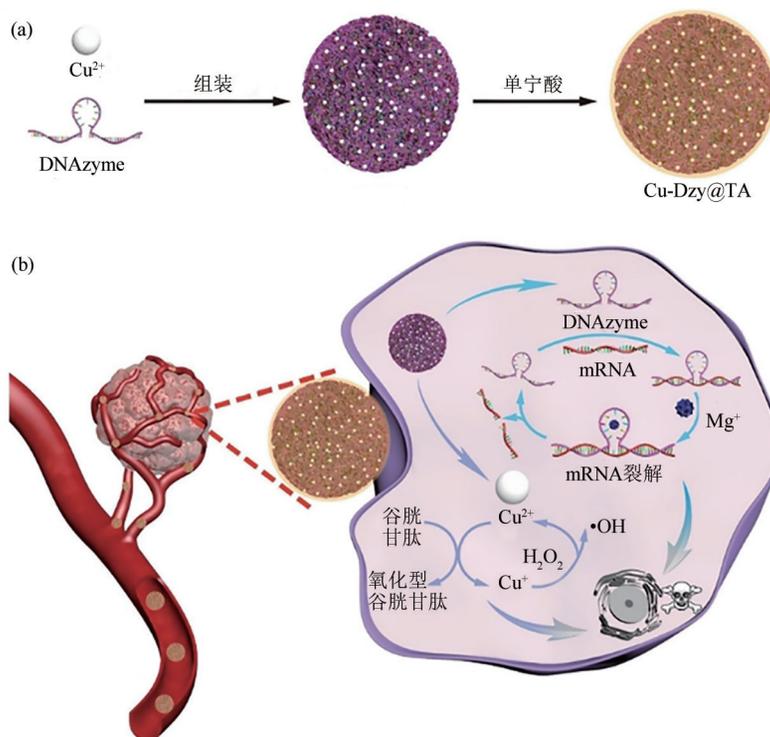


Fig. 2 Synthesis of Cu-Dzy@TA and its application for dual-catalytic tumor therapy^[26]

图2 Cu-Dzy@TA的合成和在双催化肿瘤治疗中的应用^[26]

(a) Cu-Dzy@TA的合成; (b) Cu-Dzy@TA用于双催化肿瘤治疗。

2 DNA-UCNPs的分类与应用

在众多纳米材料中, 具有发光性能的纳米材料在医学诊断和治疗中展现出独特的优势。上转换是一种非线性光学过程, 与传统荧光中激发光子的能级高于发射光子的能级截然不同, 在上转换过程中, 发射光子的能级高于激发光子的能级, 即低能激发光子转化为高能激发光子^[29]。由此产生的UCNPs一般至少由3种成分组成: 敏化剂离子、激活剂离子和物理化学稳定的基质, 最常用的材料组成为 NaMF₄: Yb₃/Ln₃ (M=Y 或 Gd, Ln=Er 或 Tm)^[30], 因为 Na 的过渡金属卤化物具有最高的上转换效率和优异的物理化学稳定性^[31]。UCNPs 能

够将近红外 (near Infrared, NIR) 激发转换为从深紫外到近红外范围的可调短波发光, 由于其独特的性质, 包括深层组织穿透性^[32] 和自体荧光抑制以及低体内外毒性^[33], UCNPs 已引起生物传感、生物成像和治疗学等领域研究人员的关注。而这类应用的基础通常在于用 DNA 对 UCNPs 进行可靠的修饰, 通过 DNA 与 UCNPs 的不同结合方式构建功能复合材料, 实现特异的分子识别和药物递送功能。

2.1 静电吸附的DNA-UCNPs

对 DNA 纳米材料而言, 静电作用是结构组装的常规途径, 当 UCNPs 表面修饰阳离子聚合物时, 带负电荷的磷酸基团使 DNA 与多种阳离子聚合物之间发生静电相互作用, 这为 DNA 功能化 UCNPs

提供了广阔的设计空间。

Zhao 等^[34]开发了一种由紫外光可激活的适体探针和掺杂镧系元素的UCNPs组成的纳米传感器,该纳米装置使用阳离子聚合物聚赖氨酸对UCNPs进行功能化后,通过静电相互作用加载适体探针在肿瘤部位精确地成像(图3a),适体链最初被一个含有光裂解(photo-cleavable, PC)基团的互补DNA锁定,当带猝灭剂的PC抑制剂与荧光团Cy3修饰的适体链杂交时,两者之间发生FRET,导致在传感之前荧光信号背景较低。此外,PC抑制剂与适体的杂交可以阻止适体与ATP结合,直到PC抑制剂被光解。当给与光照射时,PC基团将发生光解,在ATP存在的情况下适体恢复其功能导致荧光信号增加,UCNPs吸收红外光,局部发射紫外光,暂时控制PC抑制剂的光解,实现探针的远程激活。与此相似,Zhao 等^[35]构建了DNA i-基序(i-motif)探针和UCNPs的集成纳米装置,使用阳离子聚合物对UCNPs表面进行功能化,通过静电相互作用加载I-PD探针。与Zhao 等的研究不同的

是,紫外光照射下,i-motif将恢复其功能,从而导致PC链解离,激活细胞内的荧光成像,同时UCNPs作为近红外到紫外的原位传感器,在可穿透深层组织的近红外窗口中实现了对强双链结构I-PD的远程控制,对荷瘤小鼠pH传感活性进行时空控制(图3b)。Li 等^[33]用聚赖氨酸包覆UCNPs,通过静电相互作用负载紫外光响应的DNA探针(PBc),设计了PBc-UN传感器,在紫外光照射下PC键光解,被切割的PBc(含有靶miRNA的猝灭剂标记链)发生剂量依赖性位移,随后荧光信号显著增加(图3c)。UCNPs将低能红外光局部转换为高能紫外光,以远程控制DNA探针的活性并通过近红外光远程激活miRNA的荧光检测。此类应用证明,UCNPs将低能红外光转换为高能紫外光的独特性能已突破了光控DNA纳米探针中紫外光的低组织渗透性和光毒性的限制,使光激活的纳米传感器成为有力的成像工具,这对癌症的诊断具有重要意义。

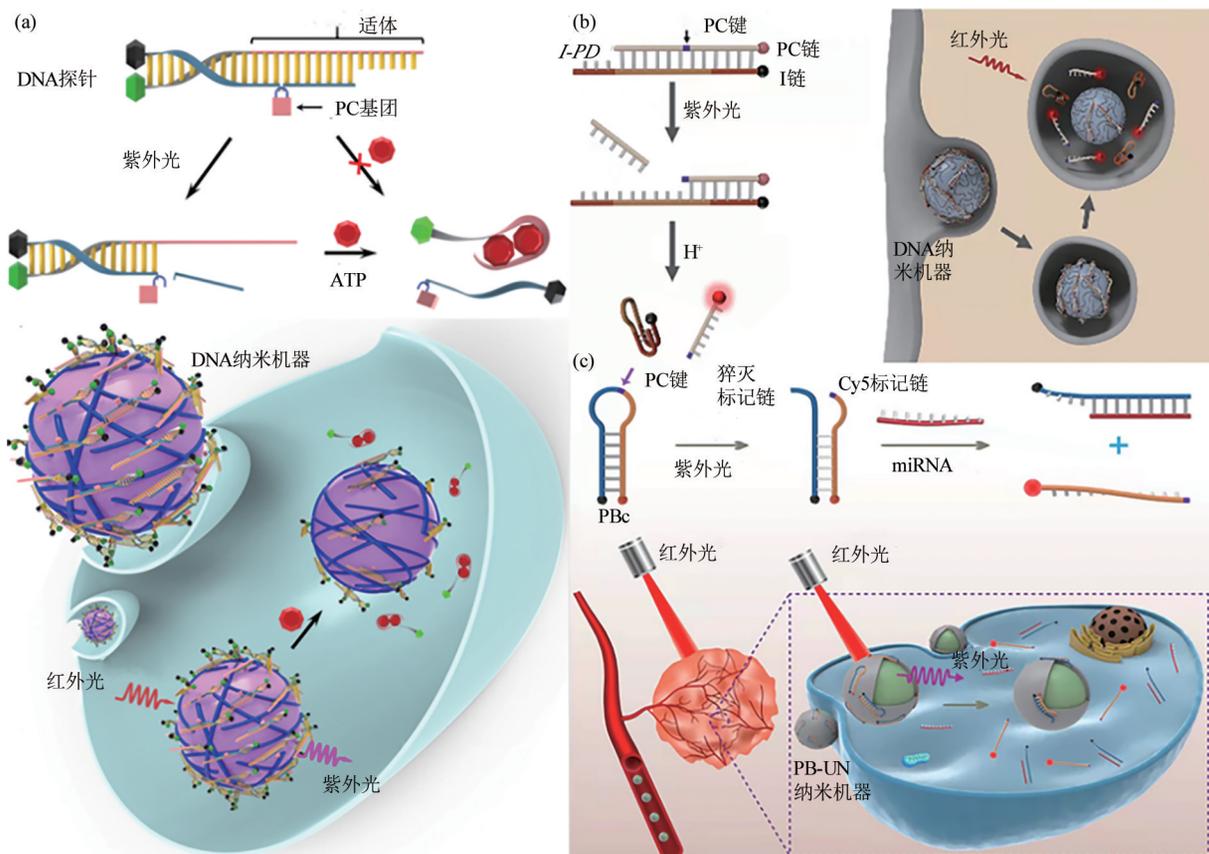


Fig. 3 Application of DNA-based upconversion nanodevices in biosensing and bioimaging

图3 基于DNA的上转换纳米装置在生物传感和生物成像中的应用

(a) 适体探针与上转换纳米传感器集成的DNA纳米装置用于红外光激活的细胞内ATP传感及其机制^[34]; (b) 紫外光激活的DNA探针I-PD和红外光激活的DNA纳米机器用于活细胞内pH传感^[35]; (c) 可激活的DNA纳米装置用于红外光控制miRNA传感和成像的工作原理^[33]。

2.2 配位驱动DNA-UCNPs

为了使UCNPs具有良好的水分散性和生物相容性,近年来大量研究采用DNA交换油酸配体的方式功能化UCNPs。因为DNA作为生命中最重要生物大分子之一,具有高度的亲水性^[36]。在DNA介导的UCNPs配体交换方法中,游离DNA链或纳米颗粒链DNA通常与原始或预处理的UCNPs溶液混合。由于DNA与UCNPs的强亲和力,DNA可以逐渐取代原来的封盖配体或直接连接到配体剥离的UCNPs上^[37]。关键是,配体交换方法不需要对DNA进行化学修饰,也不需要UCNPs上的官能团进行多步共轭,不仅可以直接将疏水性UCNPs转化为水分散性和生物相容性UCNPs,而且还可以使复合物DNA-UCNPs保留DNA和UCNPs各自的有利特性。此外,DNA-UCNPs不需要转染剂即可穿透细胞膜,允许红外光激发的长期跟踪和成像,因此是生物成像和DNA递送的有效纳米结构^[38]。

这种一步配体交换方法制备的DNA-UCNPs问

世之后,Ge等^[39]研究了DNA与UCNPs相互作用中的序列依赖性(图4a),并揭示了聚胞嘧啶(Poly-C)对UCNPs表面具有高亲和力。结果表明,利用含Poly-C的二嵌段DNA序列制备的DNA-UCNPs具有优异的单分散性和稳定性,使DNA引导的组装能够形成复杂结构。由于该策略仅依赖于纳米晶体的表面性质,因此它通常适用于具有各种成分、尺寸和形状的许多其他基于镧系元素的UCNPs,此外,A30、C30和G20序列的DNA也可以通过相同的方法获得DNA-UCNPs^[37]。鉴于UCNPs的各向异性表面性质,DNA与UCNPs表面的配位介导结合表现出小平面选择性。通过这种机制,Li等^[40]发现,DNA-AuNPs在UCNPs不同面上的受控组装,由于UCNPs侧面具有较少的油酸封端配体,更多的镧系离子暴露并与DNA结合,当UCNPs侧面上的DNA-AuNPs组装达到饱和时,DNA-AuNPs才开始组装到UCNPs的两个底面上,形成具有高DNA-AuNPs与Lipo-UCNP(磷脂涂层覆盖的UCNP)比例的组件(图4b),DNA-

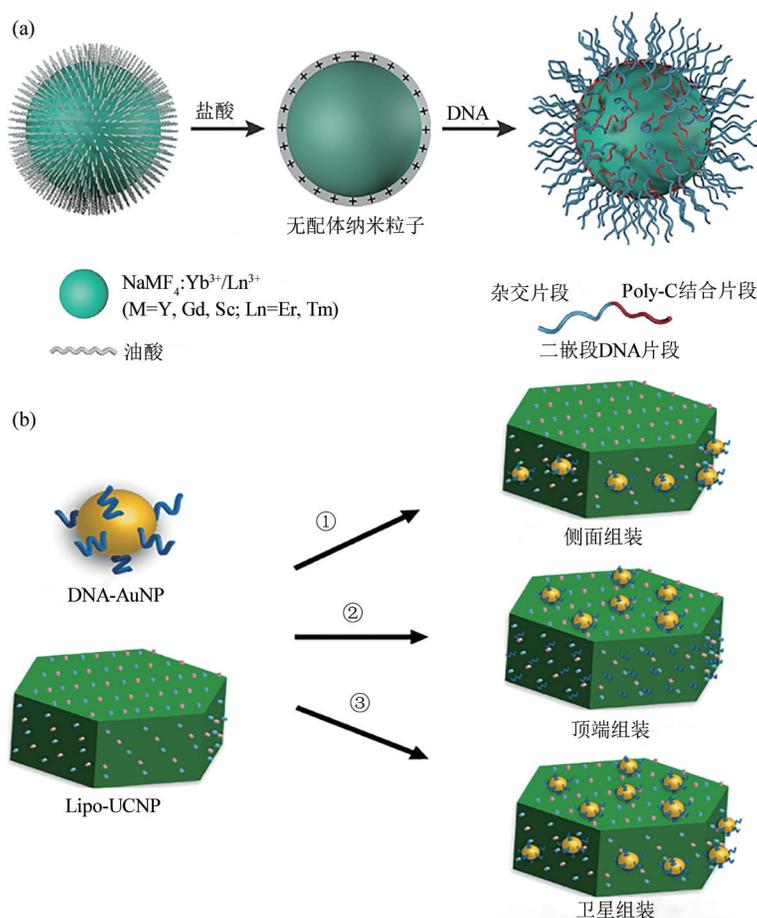


Fig. 4 Scheme for the principle of UCNP functionalization

图4 UCNP功能化原理示意图

(a) 利用DNA实现UCNPs的序列依赖性功能化^[39]; (b) 粒子超结构实验室的异质组装说明^[40]。

AuNPs/UCNPs 纳米结构结合了 UCNPs 的荧光特性、AuNPs 的等离子体共振和 DNA 的生物功能，从而实现了癌细胞的靶向双模成像。

3 DNA-MOFs 的分类与应用

MOFs 是由金属离子/簇和多齿有机配体自组装而成的无机-有机杂化多孔纳米材料^[8]。由于具有大的孔隙体积、孔径和表面积，以及可调的表面功能性而广泛应用于癌症治疗、药物释放和生物标记物检测等生物领域，金属-配体键强度是决定 MOFs 水热稳定性的关键，它由金属离子和配体的性质决定，一些具有弱配位键的 MOFs 在水溶剂中的稳定性低，不会在体内积聚，这种优势确保了设计生物相容性和可生物降解的系统^[8, 41-43]。与介孔碳、介孔二氧化硅等多孔材料相比，MOFs 具有更均匀的孔径，这导致“孔”具有更高的负载能力和更有效的开-关控制力^[44]。因此与传统的有机和无机给药系统相比，基于 MOFs 的药物载体具有较高的载药量和化学功能化的可能性，可以增强药物亲和力和。MOFs 还表现出质子导电性和氧化还原活性，这些特性使其成为超级电容器、电催化转换等极具吸引力的材料^[45]。纳米级生物相容性 MOFs，如沸石咪唑酸盐框架^[46]、铁(III)羧酸 MOFs^[47]、环糊精基 MOFs^[48] 等都有潜质作为药物递送和生物传感的优选材料。但在众多 MOFs 材料中，锆基 MOFs (Zr-MOFs) 具有丰富的结构类型、高水平的生物相容性以及相对较高的机械、热和化学稳定性^[49]，这为其与 DNA 结合提供了更加广泛的方

式，使 DNA 的特异识别能力有效复制到 MOFs 表面，因此 DNA-MOFs 也成为生物医学中应用最多的纳米材料之一。

3.1 共价偶联的 DNA-MOFs

自从引入单链 DNA 功能化金纳米颗粒 (gold nanoparticles, AuNPs) 及其自组装以来，利用 DNA 构建明确的金属纳米组装已经取得了重大进展。由于 DNA 链的不同位置可以引入羧基等官能团，因此利用 DNA 通过共价成键方式功能化 MOFs 的研究也逐渐成为热门。Liu 等^[50] 建立了一种基于 DNA 功能化的 MOFs 和 T7 核酸外切酶辅助循环扩增的无固定化光电化学生物传感器。在该方案中，MOFs 作为纳米载体，用于有效封装电子供体，由于 Zr-MOFs 的有机连接体含有氨基，因此具有羧基的单链 DNA 可以通过酰胺化反应共轭到 Zr-MOFs 表面并与 ssDNA 形成双链。依赖于 MOFs 的高负载能力和 T7 核酸外切酶辅助循环过程的优异放大效率，该生物传感器能够超灵敏地检测癌胚抗原 (CEA)，检测限降至 0.36 pg/L，宽线性范围从 1.0 pg/L~10 μg/L。Willner 等^[51] 结合了多孔纳米 MOFs 的高负载能力和 DNA 四面体的有效细胞渗透特性，构建了刺激响应型 DNA 四面体门锁定的载药 MOFs 杂化结构。二苯丙环辛炔官能团化的核酸通过共价连接作用修饰在 MOFs 表面，再与 DNA 四面体表面的刺激响应序列通过杂交相连，构建的杂化结构在有效装载药物的同时实现了癌细胞中 pH 和 miRNA 刺激响应机制的药物释放 (图 5)，可作为生物医学应用的自主传感器和高效治疗载体。

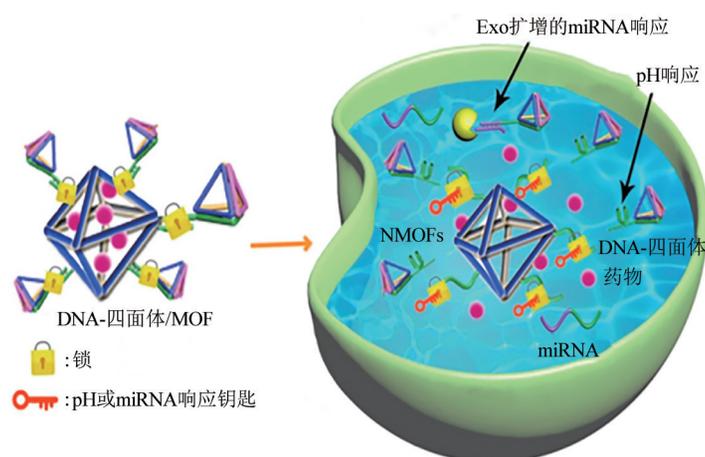


Fig. 5 pH- and miRNA-responsive DNA-tetrahedra/metal-organic framework conjugates for sensing and therapy^[51]

图5 pH和miRNA响应的DNA-四面体/金属-有机框架复合物用于功能性传感和治疗^[51]

3.2 配位驱动DNA-MOFs

目前在生物医学应用中存在一个巨大挑战, 缺乏合成具有特定分子识别能力及生物相容性MOFs的通用方法。为了克服这一局限性, 人们利用生物配体对MOFs进行表面修饰, 以实现特定的分子识别^[52-54]。自从Lin等^[55]报道了通过金属-磷酸盐配位作用将纳米MOFs与核酸功能化的创新性研究以来, 研究者对DNA连接MOFs的研究产生了极大兴趣, 利用末端磷酸修饰的寡核苷酸, 可以化学处理MOFs纳米颗粒表面上的致密配位不饱和金属位点。在典型的DNA-MOFs功能化实验中, 将过量的寡核苷酸添加到MOFs纳米颗粒的胶体悬浮液中, 随后培养过夜, 采用盐老化法筛选带负电荷的寡核苷酸, 获得高密度的表面固定寡核苷酸, 通过固态核磁共振光谱和粉末X射线衍射方法证实, 在金属-磷酸盐配位作用下形成的DNA-MOFs, 仍保留了MOFs结构的完整性和孔隙率, 并且能将DNA的化学功能赋予MOFs结构的粒子表面^[56]。此外, Yu等^[57]表明, 通过Zr-O-P键连接DNA的

Zr-MOFs适用于不同种类的核酸, 这种连接可通过磷酸盐诱导的位点占据效应进行调节, 根据DNA-MOFs的位点占据情况和相互作用, 研究发现了一种可用于发展分子传感的新型探针-猝灭剂对, 为基于金属离子的纳米材料和生物分子的可控组装带来了新的启发。因此, 基于配位化学的DNA-MOFs制备策略不仅扩展了Zr-MOFs的性质和应用, 而且为生物分析和生物传感提供了一个新的平台^[58]。Li等^[59]利用随机DNA (30-mer poly A)的磷酸基团与MOFs表面Zr₆簇不饱和金属位点的配位相互作用, 开发了基于卟啉的DNA-NMOFs, A30-NMOFs可与抗核蛋白的DNA适体AS1411通过杂交实现特异性靶向人类乳腺癌细胞MDA-MB-231, 且能够作为纳米载体递送免疫调节剂CpG ODNs, 用于靶向癌症成像和递送免疫调节物(图6a)。Shi团队^[60]证明, A549肺癌细胞的适体DNA通过配位键与PCN-224的Zr⁶⁺连接, 形成DNA-PCN-224, 在适体末端荧光素的作用下, DNA-PCN-224成功识别A549肺癌细胞并递送了抗癌药物DOX(图6b),

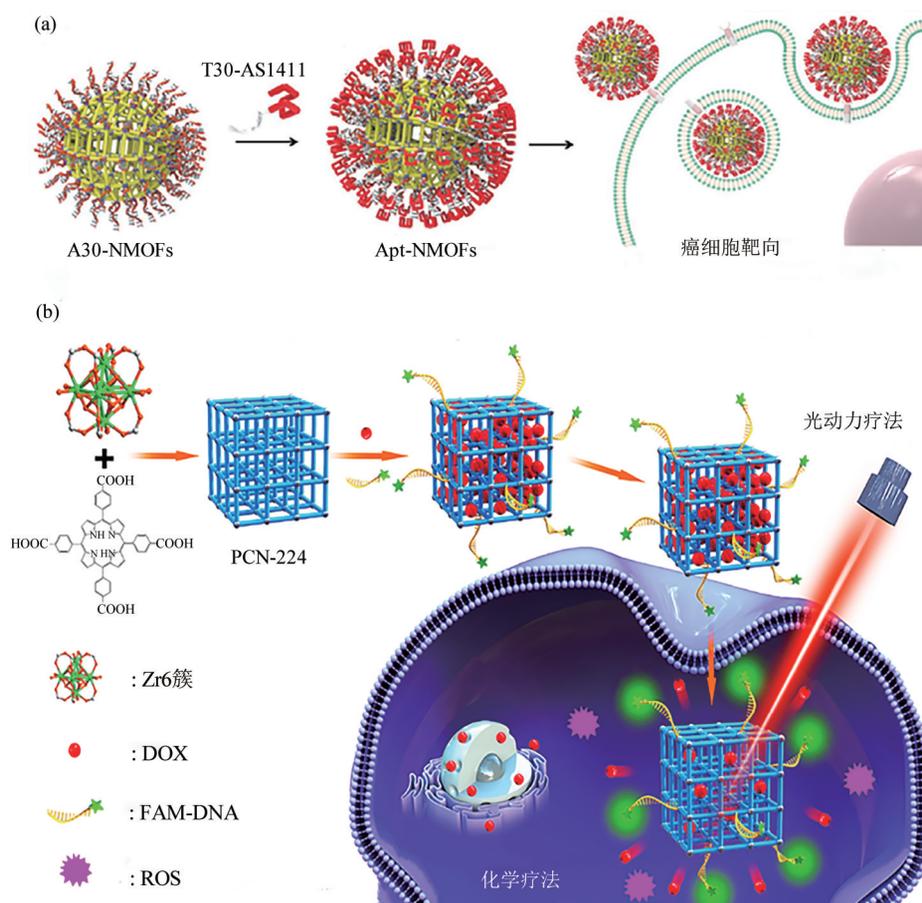


Fig. 6 Application of DNA-functionalized NMOFs in biosensing, bioimaging and drug delivery

图6 DNA功能化的NMOFs在生物传感, 生物成像和药物递送中应用

(a) DNA适体功能化的NMOFs用于靶向特定癌细胞^[59]; (b) DNA功能化的PCN-224用于癌细胞成像、靶向药物递送和光动力治疗^[60]。

利用PCN-224的卟啉连接体作为高效的光动力疗法试剂,进一步增加了肿瘤细胞的死亡率,同时实现靶向成像、药物递送和光动力治疗。

4 结论与展望

DNA-金属纳米结合化学已被确立为构建DNA纳米结构的一种简单而有前景的方法。这种合成策略不仅提供了一种DNA表面功能化多种金属纳米粒子的方法,而且使DNA-金属纳米粒子的直接组装成为可能。其中,离子键的形成使UCNPs与核酸适配体成功结合,有效弥补了UCNPs的疏水性缺陷,共价键因其更为稳定和坚固的优势使DNA与MOFs牢固结合,生成的复合纳米材料具有强的稳定性。然而静电作用和共价成键通常需要引入附加材料促成DNA与金属纳米材料结合,因此在材料合成过程中略为复杂。金属磷酸盐配位作用则无需引入除DNA和金属纳米材料以外的成分,在复合纳米材料的制备中具有快速和便捷的优势,且比离子键和共价键具有更高的键能,有广泛的适用性。在金属本身的光特异性作用下,DNA-CuNPs和DNA-UCNPs可以灵敏响应并靶向识别癌细胞;在MOFs的运载作用下,细胞不需要转染剂即可轻松吸收DNA-MOFs,这推动了生物传感、生物成像和药物递送的快速发展。随着精准医疗的快速发展,应该探索3种DNA-金属纳米材料更简化的制备策略,以方便大量生产。MOFs的材料组成也应沿着多样性的方向进化,实现材料的创新,以衍生更多满足需求的DNA-MOFs多孔材料。由于金属的可调性和DNA的广泛选择性,DNA-金属纳米构筑方法丰富了复合材料的类型,促进了多功能DNA-金属纳米材料的研发,将极大地推进金属-配体超分子化学和DNA纳米技术领域发展。在生物医学方面,DNA-金属纳米结构的分子有效载荷能力和分子识别能力为药物或基因递送提供了便捷,使疾病的早期诊断达到准确高效的水平。尽管这些策略可以提高递送效率和诊断能力,但纳米医学的临床转化仍处于早期阶段,DNA-金属纳米结构的发展仍需进一步探索与评估。首先,纳米颗粒对生物或生态系统的长期安全性研究仍然较少,医学应用中纳米材料在体内的稳定性和可降解等问题仍需深入研究。其次,如何控制药物的定量释放,实时监测治疗效果,也成为实际应用中面临的一大挑战。最后,大多DNA-金属纳米结构的合成较为复杂和耗时,需要探索更简单通用的合成策略,以

便加快成果转化,投入临床治疗。此外,面对癌症治疗的复杂需求,应发展多功能DNA-金属纳米材料,以同时实现生物传感、生物成像和靶向治疗的一体化医学服务,提供精准、便捷的医疗方案。通过克服这些挑战,DNA-金属纳米材料将在纳米医学的基础科学和临床转化中发挥关键作用。

参 考 文 献

- [1] Seeman N C, Sleiman H F. DNA nanotechnology. *Nat Rev Mater*, 2017, **3**(1): 17068
- [2] Yuan Y, Gu Z, Yao C, *et al.* Nucleic acid-based functional nanomaterials as advanced cancer therapeutics. *Small*, 2019, **15**(26): 1900172
- [3] Weber F, Rahnfeld L, Luciani P. Analytical profiling and stability evaluation of liposomal drug delivery systems: a rapid UHPLC-CAD-based approach for phospholipids in research and quality control. *Talanta*, 2020, **20**: 121320
- [4] He S S, Xie C, Jiang Y, *et al.* An organic afterglow protheranostic nanoassembly. *Adv Mater*, 2019, **31**(32): e1902672
- [5] Pugazhendhi A, Edison T N J, Karuppusamy I, *et al.* Inorganic nanoparticles: a potential cancer therapy for human welfare. *Int J Pharm*, 2018, **539**(1-2): 104-111
- [6] Zhu X L, SHi H, Shen Y, *et al.* A green method of staining DNA in polyacrylamide gel electrophoresis based on fluorescent copper nanoclusters synthesized *in situ*. *Nano Res*, 2015, **8**(8): 2714-2720
- [7] Huang L J, Yu R Q, Chu X. DNA-functionalized upconversion nanoparticles as biosensors for rapid, sensitive, and selective detection of Hg²⁺ in complex matrices. *Analyst*, 2015, **140**(15): 4987-4990
- [8] Li Y T, Tang J L, He L C, Liu Y, *et al.* Core-shell upconversion nanoparticle@metal-organic framework nanoprobe for luminescent/magnetic dual-mode targeted imaging. *Adv Mater*, 2015, **27**(27): 4075-4080
- [9] Zhou Y B, Huang Z C, Yang R H, *et al.* Selection and screening of DNA aptamers for inorganic nanomaterials. *Chem Eur J*, 2018, **24**(11): 2525-2532
- [10] Lu S, Shen J, Fan C H, *et al.* DNA assembly-based stimuli-responsive systems. *Adv Sci*, 2021, **8**(13): 2100328
- [11] Liu B, Zhang J F, Li L L. Metal-DNA coordination-driven self-assembly: a conceptual methodology to expand the repertoire of DNA nanobiotechnology. *Chem Eur J*, 2019, **25**(59): 13452-13457
- [12] Endo M, Takeuchi Y, Suzuki Y, *et al.* Single-molecule visualization of the activity of a Zn²⁺-dependent DNAzyme. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2015, **54**(36): 10550-10554
- [13] Wang J, Wei Y R, Hu X X, *et al.* Protein activity regulation: inhibition by closed-loop aptamer-based structures and restoration by near-IR stimulation. *J Am Chem Soc*, 2015, **137**(33): 10576-10584
- [14] Hou W J, Liu Y, Jiang Y, *et al.* Aptamer-based multifunctional ligand-modified UCNPs for targeted PDT and bioimaging. *Nanoscale*, 2018, **10**: 10986-10990

- [15] Jiang Y, Shi M L, Liu Y, *et al.* Aptamer/AuNP biosensor for colorimetric profiling of exosomal proteins. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2017, **56**(39): 11916-11920
- [16] Rotaru A, Dutta S, Jentsch E, *et al.* Selective dsDNA-templated formation of copper nanoparticles in solution. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2010, **49**(33): 5665-5667
- [17] Ma B J, Wang S, Liu F, Self-assembled copper-amino acid nanoparticles for in situ glutathione “AND” H₂O₂ sequentially triggered chemodynamic therapy. *J Am Chem Soc*, 2019, **141**(2): 849-857
- [18] Soltani T, Lee B K. Enhanced formation of sulfate radicals by metal-doped BiFeO₃ under visible light for improving photo-Fenton catalytic degradation of 2-chlorophenol. *Chem Eng J*, 2017, **313**: 1258-1268
- [19] Mao Z G, Qing Z H, Qing T P, *et al.* Poly(thymine)-templated copper nanoparticles as a fluorescent indicator for hydrogen peroxide and oxidase-based biosensing. *Anal Chem*, 2015, **87**(14): 7454-7460
- [20] Hu X, Liu T T, Zhuang Y X, *et al.* Recent advances in the analytical applications of copper nanoclusters. *Trends Anal Chem*, 2015, **77**(1): 66-75
- [21] Ma Q, Gao Z Q, Dayal H, *et al.* A label-free fluorescent sensor based on the formation of poly(thymine)-templated copper nanoparticles for the sensitive and selective detection of microRNA from cancer cells. *Chemosensors*, 2020, **8**(3): 52
- [22] Kim S, Park K S. Fluorescence resonance energy transfer using DNA-templated copper nanoparticles for ratiometric detection of microRNAs. *Analyst*, 2021, **146**(6): 1844-1847
- [23] Wan Y Q, Chai Q L, Zou Y Y, *et al.* A versatile fluorescent nanobeacon lighted by DNA-templated copper nanoparticles and the application in isothermal amplification detection. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc*, 2021, **62**: 120102
- [24] Kim S, Park K S. Highly specific nuclear labeling *via in situ* formation of fluorescent copper nanoparticles. *Nanoscale*, 2020, **13**(1): 2040-3372
- [25] Fokina A A, Stetsenko D A, François J C. DNA enzymes as potential therapeutics: towards clinical application of 10-23 DNazymes. *Expert Opin Biol Ther*, 2015, **15**(5): 689-711
- [26] Liu C Z, Chen Y X, Zhao J, *et al.* Self-assembly of copper-DNAzyme nanohybrids for dual-catalytic tumor therapy. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2021, **60**(26): 14324-14328
- [27] Zhou W H, Saran R, Liu J W. Metal sensing by DNA. *Chem Rev*, 2017, **117**(12): 8272-8325
- [28] Li M Y, Wang C L, Di Z H, *et al.* Engineering multifunctional DNA hybrid nanospheres through coordination-driven self-assembly. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2018, **5**(58): 1350-1354
- [29] Gu B, Zhang Q C. Recent advances on functionalized upconversion nanoparticles for detection of small molecules and ions in biosystems. *Adv Sci*, 2018, **5**(3): 1700609
- [30] Jalani G, Tam V, Vetrone F, *et al.* Seeing, targeting and delivering with upconverting nanoparticles. *J Am Chem Soc*, 2018, **140**(35): 10923-10931
- [31] Naccache R, Yu Q, Capobianco J A. The fluoride host: nucleation, growth, and upconversion of lanthanide-doped nanoparticles. *Adv Opt Mater*, 2015, **3**(4): 482-509
- [32] Peng J J, Wang X, Chai L T, *et al.* High-efficiency *in vitro* and *in vivo* detection of Zn²⁺ by dye-assembled upconversion nanoparticles. *J Am Chem Soc*, 2015, **137**(6): 2336-2342
- [33] Zhao J, Chu H Q, Zhao Y, *et al.* A NIR light gated DNA nanodevice for spatiotemporally controlled imaging of microRNA in cells and animals. *J Am Chem Soc*, 2019, **141**(17): 7056-7062
- [34] Zhao J, Gao J H, Xue W T, *et al.* Upconversion luminescence-activated DNA nanodevice for ATP sensing in living cells. *J Am Chem Soc*, 2018, **140**(2): 578-581
- [35] Zhao J, Li Y H, Yu M M, *et al.* Time-resolved activation of pH sensing and imaging *in vivo* by a remotely controllable DNA nanomachine. *Nano Lett*, 2020, **20**(2): 874-880
- [36] Wang F, Zhang X L, Liu X G, *et al.* Programming motions of DNA origami nanomachines. *Small*, 2019, **15**(26): e1900013
- [37] Xue W T, Di Z H, Zhao Y, *et al.* DNA-mediated coordinative assembly of upconversion hetero-nanostructures for targeted dual-modality imaging of cancer cells. *Chin Chem Lett*, 2019, **30**(4): 899-902
- [38] Li L L, Wu P W, Hwang K, *et al.* An exceptionally simple strategy for DNA-functionalized upconversion nanoparticles as biocompatible agents for nano-assembly, DNA delivery, and imaging. *J Am Chem Soc*, 2013, **135**(7): 2411-2414
- [39] Ge H, Wang D Y, Pan Y, *et al.* Sequence-dependent DNA functionalization of upconversion nanoparticles and their programmable assemblies. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2020, **132**(21): 8210-8214
- [40] Li L L, Lu Y. Regiospecific hetero-assembly of DNA-functionalized plasmonic upconversion superstructures. *J Am Chem Soc*, 2015, **137**(16): 5272-5275
- [41] Wang H S. Metal-organic frameworks for biosensing and bioimaging applications. *Coord Chem Rev*, 2017, **349**: 139-155
- [42] Giménez-Marqués M, Hidalgo T, Serre C, *et al.* Nanostructured metal-organic frameworks and their bio-related applications. *Coord Chem Rev*, 2016, **307**(2): 342-360
- [43] Wu X M, Yang Y W. Metal-organic framework (MOF)-based drug/cargo delivery and cancer therapy. *Adv Mater*, 2017, **29**(23): 1606134
- [44] Cao X Y, Xia J F, Meng X, *et al.* Stimuli-responsive DNA-gated nanoscale porous carbon derived from ZIF-8. *Adv Funct Mater*, 2019, **29**(34): 1902237
- [45] Duan J J, Chen S, Zhao C. Ultrathin metal-organic framework array for efficient electrocatalytic water splitting. *Nat Commun*, 2017, **8**: 15341
- [46] Tian Z F, Yao X X, Ma K X, *et al.* Metal-organic framework/graphene quantum dot nanoparticles used for synergistic chemo- and photothermal therapy. *ACS Omega*, 2017, **2**(3): 1249-1258
- [47] Yang Y M, Xia F, Yang Y, *et al.* Litchi-like Fe₃O₄@Fe-MOF capped with HAp gatekeepers for pH-triggered drug release and anticancer effect. *J Mater Chem. B*, 2017, **5**(43): 8600-8606

- [48] Li H Y, Lv N N, Li X, *et al.* Composite CD-MOF nanocrystals-containing microspheres for sustained drug delivery. *Nanoscale*, 2017, **9**(12): 7454-7463
- [49] Claudia O T, Marshall R J, Baxter E F, *et al.* Drug delivery and controlled release from biocompatible metal-organic frameworks using mechanical amorphization. *J Mater Chem B*, 2016, **4**(47): 7697-7707
- [50] Liu X J, Zhao Y C, Li F. Nucleic acid-functionalized metal-organic framework for ultrasensitive immobilization-free photoelectrochemical biosensing. *Biosens Bioelectron*, 2021, **173**: 112832
- [51] Zhang P, Yu O Y, Sohn Y S, *et al.* pH- and miRNA-responsive DNA-tetrahedra/metal-organic framework conjugates: functional sense-and-treat carriers. *ACS Nano*, 2021, **15**(4): 6645-6657
- [52] Cohen S M. The postsynthetic renaissance in porous solids. *J Am Chem Soc*, 2017, **139**(8): 2855-2863
- [53] Röder R, Prei T, Hirschle P, Steinborn B, *et al.* Multifunctional nanoparticles by coordinative self-assembly of His-tagged units with metal-organic frameworks. *J Am Chem Soc*, 2017, **139**(6): 2359-2368
- [54] Doonan C, Riccò R, Liang K, *et al.* Metal-organic frameworks at the biointerface: synthetic strategies and applications. *ACC Chem Res*, 2017, **50**(6): 1423-1432
- [55] He C B, Lu K D, Liu D M, *et al.* Nanoscale metal-organic frameworks for the co-delivery of cisplatin and pooled siRNAs to enhance therapeutic efficacy in drug-resistant ovarian cancer cells. *J Am Chem Soc*, 2014, **136**(14): 5181-5184
- [56] Wang S Z, Mcguirk C M, Ross M B, *et al.* General and direct method for preparing oligonucleotide functionalized metal-organic framework nanoparticles. *J Am Chem Soc*, 2017, **139**(29): 9827-9830
- [57] Yu K H, Wei T X, Li Z J, *et al.* Construction of molecular sensing and logic systems based on site occupying effect-modulated MOF-DNA interaction. *J Am Chem Soc*, 2020, **142**(51): 21267-21271
- [58] Zhang G Y, Shan D, Dong H F, *et al.* DNA-mediated nanoscale metal-organic frameworks for ultrasensitive photoelectrochemical enzyme-free immunoassay. *Anal Chem*, 2018, **90**(20): 12284-12291
- [59] Ning W Y, Di Z H, Yu Y J, *et al.* Imparting designer biorecognition functionality to metal-organic frameworks by a DNA-mediated surface engineering strategy. *Small*, 2018, **14**(11): 1703812
- [60] Zhang Y C, Wang Q L, Chen G, *et al.* DNA-functionalized metal-organic framework: cell imaging, targeting drug delivery and photodynamic therapy. *Inorg Chem*, 2019, **58**(10): 6593-6596

Application of DNA-metal Nanomaterials in Molecular Recognition and Drug Delivery*

CHEN Tian-Qi¹⁾, LIANG Yu³⁾, FAN Li^{1)**}, LI Kai²⁾, LI Liang^{2)**}

¹⁾College of Horticulture and Plant Protection, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China;

²⁾Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-Products, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;

³⁾Biotechnology Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract Molecular recognition and drug delivery are crucial for diseases' early diagnosis and targeted therapy. DNA, a natural nanoparticle, has good biocompatibility, molecular recognition characteristic, and sequence programmability, it has been widely concerned in biomedical researches. However, DNA nanomaterials depend on the photoresponsive systems and hard to penetrate the cytomembrane, these series of troubles make them difficult to meet the needs of complex experiments. Since DNA was identified to an excellent nanostructured building block, more and more new material systems assembled with DNA, a large number of DNA-metal nanomaterials have emerged especially, which endowed with photochemical property, tissue penetration ability and drug loading ability, overcoming the defects of a single material and showing great potential in biosensing, bioimaging and targeted drug delivery fields. Here, DNA-copper nanomaterials, DNA-upconversion nanomaterials and DNA-metal-organic framework nanomaterials are reviewed, because of unique photostability or high pore volumes of these 3 kinds of representative metal nanomaterials in the nanotechnology field. What's more, they are low-cost and easily available. According to the combination ways of DNA and metal nanomaterials, these 3 DNA-metal nanomaterials are classified reasonably, and their the latest applications in biomedical field are introduced, in order to provide therapeutic ideas for the clinical prevention and treatment of cancer. Finally, the opportunities and challenges for DNA-metal nanomaterials are overviewed and discussed.

Key words DNA, metal nanomaterials, biosensing, bioimaging, drug delivery

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0203

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30660113), National Science and Technology Major Project (2022ZD04020), and the Agricultural Science and Technology Innovation Program of CAAS (CAAS-ASTIP-2023-IQSTAP).

** Corresponding author.

FAN Li. Tel: 86-471-4308470, E-mail: chenlugb@126.com

LI Liang. Tel: 86-10-82106566, E-mail: liliang@caas.cn

Received: May 5, 2022 Accepted: June 20, 2022