智能DNA水凝胶在生化分析中的应用

毕研慧^{1†}, 韩翠燕^{1†}, 郭玮炜^{1,2*}

1. 南开大学化学学院, 分析科学研究中心, 天津市生物传感与分子识别重点实验室, 天津 300071

2. 天津化学化工协同创新中心, 天津 300071

†同等贡献

*通讯作者, E-mail: weiweiguo@nankai.edu.cn

收稿日期: 2018-11-03; 接受日期: 2018-12-24; 网络版发表日期: 2019-02-28

国家自然科学基金(编号: 21505078, 21874076)、中央高校基本科研业务费和天津市自然科学基金(18JCZDJC37800)资助项目

摘要 作为一种新型的生物大分子软材料, DNA水凝胶近年来成为国内外多学科交叉研究的热点领域之一. 基于DNA材料具有可编码性和功能单元丰富的特点, 通过合理的序列设计以及多样化的修饰, 可以在水凝胶中引入对不同刺激刺激特异性响应的功能DNA结构和催化性DNA结构, 从而得到具有多种功能的智能DNA水凝胶. 这类材料可以在特定外界刺激下发生特异的响应性变化, 材料组装具有高精度的可控性, 可满足分子识别、信号转换与放大、可控释放等诸多方面的应用需要, 并具有良好的生物相容性和可降解性等优点, 在生物医学特别是生化分析中具有重要的应用前景. 本文总结了不同类型的智能DNA水凝胶以及其在生化分析方面的典型应用, 并对该领域当前重要问题与未来前景进行了讨论与展望.

关键词 响应型DNA水凝胶, 功能核酸, 生物传感

1 引言

脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)是生命体内存在的一种生物大分子, 通过Adenine (A)、Thymine (T)、Cytosine (C)和Guanine (G)四种碱基的编码形成共价单链, 并进而按照Watson-Crick碱基互补配对原则形成由氢键链接的双螺旋双链结构, 是地球上绝大多数生命体遗传信息存储和传递的载体, 也是人类探索生命奥秘的关键钥匙之一^[1]. 另一方面, 随着科学家对DNA结构与功能的深入认识, 以及DNA全自动化学合成方法的发展, DNA也成为了构筑各类功能结构材料的理想元件. 1982年, Seeman^[2]巧妙地设计出

首个人工DNA纳米结构, 预示着DNA纳米技术时代的到来. 由于DNA具有可进行信息编码的精准分子结构和丰富的功能结构, 如可对离子、小分子到生物大分子乃至细胞特异识别的适配体结构和可对多种反应催化的DNA模拟酶结构等, 以及良好的生物相容性, 因而可以通过对碱基序列的精密设计, 并利用“自下而上”的组装策略, 实现从纳米到宏观尺度的多种功能结构材料构筑, 进而实现其在生物医学等领域的广泛应用^[3,4].

水凝胶是一类具有高度含水量的三维网络状“软物质”, 具有良好的生物相容性、高度的结构灵活性和多功能性. 特别是智能型水凝胶能够对外界环境中微

引用格式: Bi Y, Han C, Guo W. Smart DNA hydrogels for biosensing applications. *Sci Sin Chim*, 2019, 49: 766–775, doi: 10.1360/N032018-00242

小的物理或者化学刺激(如温度、pH、光、电等)进行感知并迅速做出响应变化,在生物医学领域特别是生化分析中具有重大应用潜力^[5,6].利用DNA结构在水溶液中相互交联形成的三维网络结构,可构建DNA水凝胶:如构建完全由DNA构成的纯DNA水凝胶^[7-9],或者构建利用聚合物作为水凝胶的骨架而DNA作为功能交联单元的复合DNA水凝胶^[10].通过碱基序列编码引入多样化的DNA功能结构^[11],可以构建兼具DNA的丰富结构与功能的智能响应型DNA水凝胶^[12-15].通过施加不同的物理或化学刺激,如温度^[8,16]、pH^[9,17]、金属离子^[16,18,19]、光^[20]、生物分子^[21,22]等,使DNA功能结构产生变化,进而引发智能DNA水凝胶在体积(溶胀-收缩)、相态(溶胶-凝胶)等方面的变化.智能DNA水凝胶在生化分析与药物控释^[7,23-26]、仿生驱动^[27]、细胞培养^[28]等领域具有巨大的应用潜力,尤其是在生化分析方面的应用日益受到研究者的广泛关注.

智能DNA水凝胶从尺寸上可分为肉眼可见的宏观体相水凝胶和尺寸在纳米至微米的微凝胶.体相水凝胶通常被用于进行体外分析、可穿戴检测等应用,而微凝胶则更多被用于体内生物传感与药物控制释放^[13].限于篇幅,本文集中对宏观体相智能型DNA水凝胶的历史与发展进行总结,根据刺激响应的不同进行分类,并着重于近年来的新进展和在生化分析方面的应用.

2 智能响应型DNA水凝胶

2.1 离子响应型智能DNA水凝胶

某些离子(氢离子和金属离子等)能够引起特定DNA结构的变化,基于此性质可构筑离子响应型DNA水凝胶.Liu课题组^[9]设计了DNA的Y型多支化结构,利用Y型结构末端富含胞嘧啶的序列在酸性条件下形成i-motif四链结构的性质,制备了对pH快速响应的DNA水凝胶.如图1(a)所示,三条DNA单链通过碱基互补配对形成Y型多支结构,其末端具有能形成i-motif结构的半条序列.当pH=5.0时,不同的Y型单元通过末端形成i-motif结构彼此连接,从而形成交联的水凝胶结构;当pH=8.0时,i-motif结构解离,水凝胶变成溶液态.i-motif结构的形成可逆而快速,可以对金纳米粒子进行可控的包埋和释放.Willner课题组^[17]利用两种不同的功能DNA结构构建水凝胶,以i-motif交联结构作为调控

交联单元,以自身杂交双链DNA交联结构作为记忆单元,构筑了pH响应的智能形状记忆水凝胶,如图1(b)所示.pH=8.0时,i-motif结构解离,凝胶溶胀形成无定形的准液态,然而杂交DNA双链结构的存在记忆了该体系的网络结构,因而调控到pH=5.0时,i-motif结构重新形成,凝胶也恢复到初始形状.随着pH的变化,该体系实现多次准液态与预定形状的凝胶之间的记忆循环过程.通过利用分别对酸性和碱性pH响应的DNA三链结构(C-G•C⁺, T-A•T),该课题组还构建了一系列基于不

图1 (a) pH响应型智能DNA水凝胶结构^[9]; (b) pH响应型形状记忆智能DNA水凝胶的原理^[17]; (c) K⁺响应智能DNA水凝胶离子通道制备示意图^[31] (网络版彩图)

Figure 1 (a) Structure of pH-responsive smart DNA hydrogel^[9]. (b) The mechanism of pH-responsive shape-memory smart DNA hydrogel^[17]. (c) Illustration of the preparation process of the K⁺-responsive smart DNA hydrogel ion channel^[31] (color online).

同pH响应的智能型形状记忆水凝胶^[29,30]; 利用Ag⁺能特异稳定双链中的C:C碱基错配而硫醇能移除Ag⁺的特点, 该课题组还制备了对Ag⁺和硫醇响应的可在溶液态与凝胶态转变的智能型DNA水凝胶体系^[18].

Wu等^[31]基于K⁺响应的智能DNA水凝胶设计了DNA门控纳米离子通道, 如图1(c)所示. DNA通过杂交链式反应组装在金覆盖的圆锥纳米通道的尖端形成PET/Au/DNA水凝胶. K⁺可以特异性地结合和稳定G四链体结构, 而在冠醚的作用下G四链体解体. 通过循环加入K⁺和冠醚, DNA水凝胶的强度在高低间变换, 从而得到了特异选择性的纳米离子通道.

2.2 温度响应型智能DNA水凝胶

温度是比较常见的外界刺激, 温度响应水凝胶在生化分析和载药释放等领域都有广泛应用价值. Naga-hara等^[10]报道了基于DNA氢键结构热力学性质的温度响应型DNA水凝胶. Liu课题组^[8]设计了具有能够相互配对末端的Y型多支化结构和线性连接结构, 两者可相互交联形成水凝胶网络结构. 当温度升高时, 氢键破坏打开DNA交联结构, 从而实现了水凝胶在生理条件下温度依赖的可逆凝胶-溶胶转变. Tan课题组^[32]利用Au-Ag纳米棒在近红外下产生热效应这种间接改变体系温度的方式制备了光热响应特性的智能型DNA水凝胶. 如图2所示, 该体系使用Au-Ag纳米棒作为胶体的聚合模板, 丙酰胺修饰的DNA序列在其表面交联. 当用近红外光照射时, 封装在凝胶内部的纳米棒吸收近红外光子能量升高其周围凝胶的温度, 当温度高于DNA双链的 T_m 值时, 双链DNA解离, 引起凝胶解体. 利用凝胶的光热响应特性实现了抗癌药物的负载与控制释放.

2.3 光响应型智能DNA水凝胶

DNA结构较难被光直接影响, 可在其中引入光敏分子, 通过光敏分子的光诱导异构化引起DNA结构变化, 进而导致水凝胶微观结构和宏观形态的变化. Tan课题组^[20]利用偶氮苯修饰的DNA链制备了对光响应的聚合物-DNA复合水凝胶, 如图3(a)所示. 可见光下, 偶氮苯呈反式构象, DNA双链结构稳定交联, 水凝胶体积处于收缩状态. 对体系施加紫外光(365 nm)后, 偶氮苯基团发生光异构化, 呈现顺式构象, 诱发双链结构解旋, 凝胶发生溶胀, 体积增大. 此外, 该课题组利用凝

图2 智能DNA纳米水凝胶光热响应机理示意图^[32] (网络版彩图)

Figure 2 Schematic illustration of photothermal responsive mechanism of smart DNA nanogel ^[32] (color online).

胶的光响应特性实现了抗癌药物控制释放^[33]. Willner课题组^[34]构筑了基于光响应的DNA-羧甲基纤维素智能DNA水凝胶. 如图3(b)所示, 自互补的DNA双链作为记忆交联单元, 反式偶氮苯/ β -环糊精(*trans*-Azobenzene/ β -CD)形成的主客体结构作为调控单元. 紫外光照下, 偶氮苯基团的*trans-cis*光异构化造成Azobenzene/ β -CD交联单元的破坏, 水凝胶呈现出较低的强度. 循环可逆的光照导致偶氮苯基团在*trans-cis*间变化, 水凝胶在高低强度间变化, 该水凝胶兼具形状记忆和自愈合的功能. 随后, 该课题组利用氨基葡萄糖-硼酸酯以及反式-偶氮苯嵌入的DNA双链作为双重协同桥连单元得到了机械强度可调控的光响应DNA水凝胶^[35]. 反式偶氮苯基团光异构化为顺式构象($\lambda=365$ nm)引起DNA双链桥连单元的解离, 导致体系中仅存在氨基葡萄糖-硼酸酯的桥连作用, 水凝胶的强度变弱. 当顺式偶氮苯光异构化为反式构象时($\lambda>420$ nm), 双重协同交联单元的重构使水凝胶的机械强度恢复. 偶氮苯光活性基团的可逆光异构化使光活性桥连单元处于打开和闭合的可控状态, 从而控制水凝胶的机械强度. 在多种光响应功能基团中, 二芳基乙烯基团具有更好的热稳定性和抗疲劳性能^[36]. 二芳基乙烯分子有开环和闭环两种状态, 开环体在紫外光照下发生环化反应转化成闭环体; 可见光照射下, 闭环体发生开环反应转化成开环体. 最近, Li等^[37]通过将二噻吩乙烯类非共价光控开关分子引入智能响应DNA水凝胶, 制备了包括光响应在内的多重刺激响应的DNA/双吡啶-二噻吩乙烯(DTE)杂化羧甲基纤维素水凝胶. DTE分子展现出循环可逆的光异构化性质, 闭环状态下(DTE_C), 可作为电子受体与修饰在羧甲基纤

图3 (a) 光响应型DNA水凝胶形成机理^[20]; (b) 光响应型形状记忆DNA水凝胶示意图^[34] (网络版彩图)

Figure 3 (a) The formation mechanism of photo-responsive smart DNA hydrogel [20]. (b) Schematic illustration of photo-responsive shape-memory smart DNA hydrogel [34] (color online).

纤维素链上的多巴胺电子供体基团通过供体-受体相互作用结合成为水凝胶的桥连单元; 而在开环状态下 (DTE₀), 其作为电子受体的性质减弱, 供体-受体作用破坏引起桥连单元的解离. 利用光照前后二噻吩乙烯

分子光控开闭环控制电子性能的不同实现了对水凝胶性质的可逆调控. 此外, 多巴胺基团的氧化还原特性以及DNA碱基序列的可设计性赋予水凝胶除光响应之外的氧化还原以及化学刺激响应特性.

2.4 磁响应型智能DNA水凝胶

Ma等^[38]将磁性纳米粒子引入DNA水凝胶构建了具有磁响应特性的DNA水凝胶体系. 如图4所示, 利用DNA单链修饰的磁性纳米颗粒与Y型多支化单元和线性连接单元通过末端的碱基互补配对形成水凝胶. 施加磁场时, 磁性纳米粒子受到磁场的作用, 使得水凝胶可以变换各种形状, 并且可以跳动. 该体系还可以在温度和酶的作用下实现凝胶到溶胶的转变. Yang课题组^[39]通过滚环扩增技术在磁性纳米颗粒表面覆盖一层DNA纳米水凝胶, 并通过施加外界磁场引导抗癌药物有效地向靶向肿瘤细胞释放. 此外, 该体系对温度、pH以及酶存在响应特性, 实现了抗癌药物的可控释放.

2.5 特异目标响应型智能DNA水凝胶

DNA适配体 (aptamer) 可对广泛范围内的小分子等目标进行特异识别, 可被引入DNA水凝胶结构, 构筑

图4 磁响应型智能DNA水凝胶示意图^[38] (网络版彩图)

Figure 4 Schematic illustration of magnetic-responsive smart DNA hydrogel [38] (color online).

对特异分子响应的智能DNA水凝胶。Tan课题组^[21]利用识别腺苷(adenosine)的aptamer功能结构,制备了对腺苷响应的DNA水凝胶体系。Tan和Ye等^[13,40]进而设计了对三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)/可卡因逻辑响应的智能DNA水凝胶。如图5(a)所示,水凝胶的交联体系由P-S1、P-S2和单链L这三条链杂交连接聚丙烯酰胺聚合物而成。若只有ATP或可卡因单独存在,只有部分交联片段破坏,水凝胶未破坏;当ATP和可卡因同时存在时,杂交结构完全解开,水凝胶转变成溶液态,形成AND逻辑门。此外,通过调整DNA序列还可以形成OR逻辑门。Yang和Zhu等^[24,41]结合特异分子响应的DNA水凝胶和多通道气动微流控芯片,实现了对靶标分子的可视化定量检测。如图5(b)所示,适配体对目标分子的特异识别使得水凝胶交联结构打开,引起铂包金纳米粒子(Au@PtNP)释放,进而催化 H_2O_2 产生 O_2 气体,推动染料上升,通过读取染料移动的距离就可以定量的检测靶标的浓度^[24]。

DNA模拟酶(DNAzyme)可在特定辅因子(金属离子、核酸片段等)存在下对某些反应进行催化,可将其引入水凝胶结构构建对特定目标响应的智能DNA水凝胶体系。Yang等^[42]基于DNAzyme发展了对靶标离子特异响应的智能DNA水凝胶。Yang课题组^[43-45]进一步基于DNAzyme的特异识别和催化能力结合可视化检测手段制备了一系列智能型DNA水凝胶检测体系。如图5(c)所示,对 Pb^{2+} 响应的DNAzyme与底物链和连接链杂交形成水凝胶。当体系中存在靶标 Pb^{2+} 时,DNAzyme的活性触发,对底物链进行切割。水凝胶解体,并释放预先包埋的淀粉酶,引起级联酶反应,产生 H_2O_2 , Fe^{2+} 催化 H_2O_2 生成活性 $\cdot\text{OH}$,对金纳米棒(AuNR)进行刻蚀,使溶液颜色变化,实现了对 Pb^{2+} 的半定量可视化检测,并借助UV-Vis光谱实现了对 Pb^{2+} 的定量检测^[45]。

2.6 核酸和酶响应型智能DNA水凝胶

由于DNA水凝胶多使用DNA交联结构,因而可以利用DNA链引发的链交换反应打开DNA交联结构,构建对DNA响应的水凝胶体系^[22]。Gracias和Schulman等^[27]将发夹DNA分子作为外部刺激,通过DNA杂交反应,制备了能够精确调控的、具有多级响应性的DNA水凝胶。该工作利用发夹DNA使水凝胶中的DNA交联单元打开并发生杂交级联反应,从而大大增加了水凝胶网络结构中的DNA交联长度,数据显示水凝胶的体

图5 (a) 基于ATP/可卡因响应的智能DNA水凝胶可视化逻辑门系统^[13]; (b) 特异目标响应型智能DNA水凝胶多通道气动微流控芯片体系示意图^[24]; (c) 基于DNAzyme的智能DNA水凝胶即时检测 Pb^{2+} 离子的示意图^[45] (网络版彩图)

Figure 5 (a) Logic gate system based on ATP/cocaine responsive smart DNA hydrogel [13]. (b) Schematic illustration of target-responsive smart DNA hydrogel based volumetric bar-chart chip [24]. (c) Working principle of visual detection of Pb^{2+} based on target-responsive hydrogel [45] (color online).

积可增大至原来的100倍。并且还可通过向体系中加入带有非互补序列的终止发夹DNA结构,从而可以任意控制水凝胶的溶胀。基于此原理设计了不同的DNA水凝胶体系,得到多种图案化的水凝胶并研究了其形状变化。

Liu和Fan等^[46]受化学合成策略的启发, 针对智能DNA水凝胶的形成提出了一种“异相聚合”的新思路. 如图6所示, 他们将DNA链作为外部刺激发展了一种新型的“钳式杂交链式反应原理(clamp-HCR)”, 利用少量的DNA引发链触发体系中亚稳态发夹DNA分子打开, 通过后续的级联反应增加体系的交联度, 使体系由一维线性溶液态向三维网络状凝胶态转变. 该方法使得从空间和时间上控制凝胶化过程成为可能, 同时使凝胶化过程更高效、更可控. 该工作为构建复杂的凝胶图案提供了新思路, 使得制备特殊形状的凝胶材料不再受限于模具形状. 此外, Chai和Yuan等^[47]将miRNA作为外部刺激, 借助拉曼光谱发展了核酸响应的智能DNA水凝胶.

DNA与酶之间丰富的相互作用, 也使得构建对酶响应的智能型DNA水凝胶成为了可能. Luo课题组^[7]利用DNA连接酶连接DNA多支化单元构建了纯DNA水凝胶. Liu课题组^[8]构建了DNA多支化结构和线性DNA结构交联形成的DNA水凝胶, 并通过在交联结构中编码限制性内切酶识别位点, 实现了对酶响应的DNA智能水凝胶的构建. 本课题组^[25]将脂质体作为多价交联单元, 与修饰在DNA链上的胆固醇基团通过疏水相互作用, 制备了脂质体交联的共聚物DNA水凝胶, 如图7(a)所示. 由于DNA交联结构中编有限制性内切酶的识别位点, 实现了酶响应的凝胶-溶胶转变, 进而实现了脂质体和脂质体包裹的荧光探针等功能小分子的可控释放. 此外, Liu课题组^[48]制备了酶响应的双网络超分子水凝胶. 如图7(b)所示, 体系中同时存在多支化DNA结构与线性DNA结构交联形成的DNA水凝胶网络和苯丙氨酸修饰的醋酸纤维素(CMC-phe)与葫芦[8]脲(CB[8])形成的交联网络结构. 由于DNA网络结构中存在限制性酶切位点, 而醋酸纤维素可对纤维素酶响应, 从而可以通过单一加入限制性内切酶或纤维素酶选择性地破坏一种水凝胶结构或同时加入两种酶使水凝胶完全解体, 实现体系的酶响应特性.

3 智能DNA水凝胶在生化分析中的应用

智能水凝胶由于其对生化刺激的响应性, 因而可被用于目标识别的分析传感应用, 其三维网络结构中丰富的表界面可以作为信号分子或药物分子的载体, 用于信号放大检测和药物可控释放, 而可编码的DNA

图6 DNA分子响应的智能DNA水凝胶原理图^[46] (网络版彩图)

Figure 6 Schematic illustration of DNA-responsive mechanism of smart DNA hydrogel ^[46] (color online).

功能结构在智能水凝胶中的引入则进一步丰富了传感体系的刺激响应功能, 提高了灵敏度, 且相应体系具有良好的生物相容性和环境友好等优点, 可用于检测与生命活动相关的体内外各类生物物质成分^[13-15]. 此部分针对智能DNA水凝胶在生化分析中的应用的 发展历史与最新进展进行简要阐述.

在2008年, Tan课题组^[21]提出了一种基于智能DNA水凝胶的显色传感策略. 通过构建了一种适配体DNA结构交联的智能聚丙烯酰胺-DNA复合水凝胶, 实现了目标生物分子adenosine触发的凝胶-溶胶转变, 进而释放水凝胶中包裹的信号物质如金纳米颗粒, 从而实现可视化检测. 在2010年, Tan和Yang等^[49]将酶包埋在可卡因适配体交联的复合DNA水凝胶中, 当有目标分子存在时, 适配体交联结构打开, 酶被释放出来并引发酶催化的显色反应, 成功实现了对可卡因的信号放大的可视化检测(图8(a)). Yang课题组^[50]进而将DNA水凝胶显色传感体系与便携式血糖仪结合, 设计了基于适配体识别的定量检测非葡萄糖目标物的便携检测设备(图8(b)). 基于DNA水凝胶识别释放功能物质的传感策略, Yang课题组^[42-45]还发展了对一系列金属离子(Cu^{2+} , Pb^{2+} , UO_2^{2+})的特异检测方法和对多目标检测的便携式检测方法, 该课题组在所发展的系列方法中不仅使用了纳米粒子显色或酶催化显色反应产生信号, 还进一步利用纳米颗粒或酶的催化性能产生气体,

图 7 (a) 酶响应脂质体交联的DNA水凝胶示意图^[25]; (b) 酶响应双网络超分子水凝胶^[48] (网络版彩图)

Figure 7 (a) Schematic representation of the enzyme-responsive liposome-crosslinked DNA hydrogel [25]. (b) Schematic illustration of the double network enzyme-responsive hydrogel [48] (color online).

实现信号放大, 发展了相应的便携式检测设备。Lei等^[51]发展了基于适配体识别的用于蛋白质分子检测纯DNA水凝胶传感体系, Yuan课题组^[47]则将DNA水凝胶传感体系与表面增强拉曼检测技术结合, 将拉曼信号分子甲苯胺蓝包裹在水凝胶中, 目标miRNA的存在打开DNA水凝胶结构, 释放甲苯胺蓝进而产生增强的拉曼信号, 实现了对miRNA的高灵敏高选择性检测。

虽然智能DNA水凝胶良好的信号分子载体, 然而其对小分子功能物质具有高的透过性, 研究者较多采用了纳米颗粒、酶等尺寸较大的分子作为可控释放的信号产生单元. 最近, 本课题组^[25]构建了脂质体单元交联的DNA水凝胶体系, 其中DNA结构起到了特异识别响应的功能, 如对酶刺激响应, 而脂质体则可作为亲水或疏水功能小分子的载体, 分别以亲水和疏水的荧光小分子为例实现了对细胞的可控释放染色, 该水凝胶还具有可注射的性质, 有望用于体内诊疗体系的构建.

以上的智能DNA水凝胶传感体系均为由宏观固相的DNA水凝胶与待分析目标物溶液构成的分析体

图 8 (a) 适配体交联的智能DNA水凝胶显色传感体系原理图^[49]; (b) 智能DNA水凝胶显色传感体系与便携设备相结合原理图^[50] (网络版彩图)

Figure 8 (a) Scheme of the aptamer-crosslinked hydrogel as a colorimetric platform for visual detection [49]. (b) Scheme of combination of DNA hydrogel and glucometer [50] (color online).

系。近几年,将智能DNA水凝胶固定在电极表面构建传感体系也引起了研究者的广泛关注。2015年,Willner课题组^[52]利用DNA杂交链式反应直接在金电极表面形成DNA水凝胶薄层(图9)。首先,在电极表面组装一层DNA引发链,向体系中加入连接有聚丙烯酰胺的发夹DNA结构后,引发链可以触发链式反应,在电极表面形成聚丙烯酰胺-DNA复合水凝胶层。聚合物上同时存在G四分体结构,当体系中有一定浓度的 K^+ 和血红素存在时,G-四链体复合结构可以催化 H_2O_2 ,从而实现电极表面 H_2O_2 的检测;而加入冠醚时,G-四链体结构无法形成,水凝胶失去高效催化 H_2O_2 的功能。

2018年, Li和Zhu等^[53]在透明ITO电极表面制备出水凝胶薄层用于电化学分析检测. 如图10所示, 电极表面修饰的单链DNA可引发滚环扩增反应, 经过多步滚环扩增则可形成由高度支化的双链结构交联的DNA水凝胶体系. 结果表明, 这种水凝胶具有筛分分子的能力, 可以将干扰测试的酶或者细胞隔离在胶的外面, 具有抗污作用, 成功实现了血清中的 H_2O_2 和胆红素的直接检测. 同年, Yuan和Xiao等^[54]利用目标分子血小板源生长因子的存在引发的均相熵催化反应形成DNA水凝胶, 并通过与电极表面的DNA碱基互补配对形成一层强有力的阻滞层, 导致电极表面的功能纳米材料

图 9 金电极上组装智能DNA水凝胶用于电化学方法检测 H_2O_2 [52] (网络版彩图)

Figure 9 Scheme of DNA hydrogel assembled on the surface of Au electrode for detecting of H_2O_2 [52] (color online).

图 10 ITO透明电极表面组装DNA水凝胶用于血清样品的直接检测 [53] (网络版彩图)

Figure 10 Scheme of DNA hydrogel assembled on the surface of ITO electrode for direct detection of serum samples [53] (color online).

$\text{g-C}_3\text{N}_4@\text{Au}@ \text{Fc-NH}_2$ 电化学信号的减弱, 从而实现了
对血小板源生长因子的高灵敏检测, 检测限达 3.5 fM .

4 总结与展望

智能DNA水凝胶易于通过程序化的序列编码实现多种多样的功能, 如对多类型的外界环境刺激(如温度与pH变化、金属离子、小分子、生物大分子以及光、电、磁等)进行识别响应. DNA水凝胶还具有制备

简单、生物相容性好和可降解等优点, DNA与酶和纳米技术的结合也进一步丰富了智能水凝胶的种类和应用范围. 因而, 智能DNA水凝胶在生化分析、药物释放、生物成像、信息储存等领域具有重大应用潜力, 在过去20多年间引起了研究者的极大关注.

当前, 多种多样智能DNA水凝胶已被成功构建出来, 利用功能DNA结构如DNA双链、三链、G四链体、i-motif、核酸适配体或DNAzyme等功能结构交联DNA片段或者DNA共聚物可构成多种纯DNA水凝胶或共聚物DNA复合水凝胶, 此外还可引入功能小分子、纳米颗粒、酶等进一步增强其功能与应用性. 利用智能DNA水凝胶的分子识别响应、信号放大、功能物质可控释放等功能可方便地构建对多种类型生化目标分子特异和灵敏响应的检测体系, 并且无需复杂的化学修饰过程. 目前, 研究人员利用目标分子刺激DNA水凝胶引发的信号物质释放与体积变化等策略已经成功构建出对温度与pH变化、离子、各类小分子和生物大分子灵敏特异的分析检测体系, 检测手段也日渐多样化, 涵盖了无需仪器的可视化检测到灵敏的光学与电化学检测等方法.

然而, 智能DNA水凝胶用于生化分析也有一些不足之处, 如其低的力学强度、高的制备成本、多数DNA水凝胶体系的响应不可逆、宏观水凝胶响应速度缓慢和在生物体内容易被降解等, 限制了其在快速分析、可植入与可穿戴的生化器件、生物体内的实时分析、疾病诊疗系统中的进一步应用, 未来还有待研究者通过对其可编码结构进行设计调整、复合多类型功能材料以及微型化等途径进一步拓展其功能与实际应用.

参考文献

- 1 Watson JD, Crick FHC. *Nature*, 1953, 171: 737–738
- 2 Seeman NC. *J Theor Biol*, 1982, 99: 237–247
- 3 Seeman NC. *Nature*, 2003, 421: 427–431
- 4 Yang D, Hartman MR, Derrien TL, Hamada S, An D, Yancey KG, Cheng R, Ma M, Luo D. *Acc Chem Res*, 2014, 47: 1902–1911
- 5 Zhang YS, Khademhosseini A. *Science*, 2017, 356: eaaf3627
- 6 Shigemitsu H, Hamachi I. *Acc Chem Res*, 2017, 50: 740–750
- 7 Um SH, Lee JB, Park N, Kwon SY, Umbach CC, Luo D. *Nat Mater*, 2006, 5: 797–801
- 8 Xing Y, Cheng E, Yang Y, Chen P, Zhang T, Sun Y, Yang Z, Liu D. *Adv Mater*, 2011, 23: 1117–1121
- 9 Cheng E, Xing Y, Chen P, Yang Y, Sun Y, Zhou D, Xu L, Fan Q, Liu D. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48: 7660–7663
- 10 Nagahara S, Matsuda T. *Polym Gels Networks*, 1996, 4: 111–127

- 11 Wang F, Lu CH, Willner I. *Chem Rev*, 2014, 114: 2881–2941
- 12 Okay O. *J Polym Sci B Polym Phys*, 2011, 49: 551–556
- 13 Li J, Mo L, Lu CH, Fu T, Yang HH, Tan W. *Chem Soc Rev*, 2016, 45: 1410–1431
- 14 Kahn JS, Hu Y, Willner I. *Acc Chem Res*, 2017, 50: 680–690
- 15 Wang D, Hu Y, Liu P, Luo D. *Acc Chem Res*, 2017, 50: 733–739
- 16 Guo W, Lu CH, Qi XJ, Orbach R, Fadeev M, Yang HH, Willner I. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53: 10134–10138
- 17 Guo W, Lu CH, Orbach R, Wang F, Qi XJ, Cecconello A, Seliktar D, Willner I. *Adv Mater*, 2015, 27: 73–78
- 18 Guo W, Qi XJ, Orbach R, Lu CH, Freage L, Mironi-Harpaz I, Seliktar D, Yang HH, Willner I. *Chem Commun*, 2014, 50: 4065–4068
- 19 Lu CH, Qi XJ, Orbach R, Yang HH, Mironi-Harpaz I, Seliktar D, Willner I. *Nano Lett*, 2013, 13: 1298–1302
- 20 Peng L, You M, Yuan Q, Wu C, Han D, Chen Y, Zhong Z, Xue J, Tan W. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 12302–12307
- 21 Yang H, Liu H, Kang H, Tan W. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 6320–6321
- 22 Lu CH, Guo W, Hu Y, Qi XJ, Willner I. *J Am Chem Soc*, 2015, 137: 15723–15731
- 23 Joseph KA, Dave N, Liu J. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2011, 3: 733–739
- 24 Zhu Z, Guan Z, Jia S, Lei Z, Lin S, Zhang H, Ma Y, Tian ZQ, Yang CJ. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 10: 12503–12507
- 25 Lyu D, Chen S, Guo W. *Small*, 2018, 14: 1704039
- 26 Dave N, Chan MY, Huang PJJ, Smith BD, Liu J. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 12668–12673
- 27 Cangialosi A, Yoon CK, Liu J, Huang Q, Guo J, Nguyen TD, Gracias DH, Schulman R. *Science*, 2017, 357: 1126–1130
- 28 Li C, Faulkner-Jones A, Dun AR, Jin J, Chen P, Xing Y, Yang Z, Li Z, Shu W, Liu D, Duncan RR. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54: 3957–3961
- 29 Ren J, Hu Y, Lu CH, Guo W, Aleman-Garcia MA, Ricci F, Willner I. *Chem Sci*, 2015, 6: 4190–4195
- 30 Hu Y, Lu CH, Guo W, Aleman-Garcia MA, Ren J, Willner I. *Adv Funct Mater*, 2015, 25: 6867–6874
- 31 Wu Y, Wang D, Willner I, Tian Y, Jiang L. *Angew Chem Int Ed*, 2018, 57: 7790–7794
- 32 Kang H, Trondoli AC, Zhu G, Chen Y, Chang YJ, Liu H, Huang YF, Zhang X, Tan W. *ACS Nano*, 2011, 5: 5094–5099
- 33 Kang H, Liu H, Zhang X, Yan J, Zhu Z, Peng L, Yang H, Kim Y, Tan W. *Langmuir*, 2010, 27: 399–408
- 34 Wang C, Fadeev M, Zhang J, Vázquez-González M, Davidson-Rozenfeld G, Tian H, Willner I. *Chem Sci*, 2018, 9: 7145–7152
- 35 Liu X, Zhang J, Fadeev M, Li Z, Wulf V, Tian H, Willner I. *Chem Sci*, 2019, 389: doi: 10.1039/c8sc04292f
- 36 Zhang J, Riskin M, Freeman R, Tel-Vered R, Balogh D, Tian H, Willner I. *ACS Nano*, 2011, 5: 5936–5944
- 37 Li Z, Davidson-Rozenfeld G, Vázquez-González M, Fadeev M, Zhang J, Tian H, Willner I. *J Am Chem Soc*, 2018, 140: 17691–17701
- 38 Ma X, Yang Z, Wang Y, Zhang G, Shao Y, Jia H, Cao T, Wang R, Liu D. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 1995–2000
- 39 Yao C, Yuan Y, Yang D. *ACS Appl Bio Mater*, 2018, 1: 2012–2020
- 40 Yin BC, Ye BC, Wang H, Zhu Z, Tan W. *Chem Commun*, 2012, 48: 1248–1250
- 41 Ma Y, Mao Y, Huang D, He Z, Yan J, Tian T, Shi Y, Song Y, Li X, Zhu Z, Zhou L, Yang CJ. *Lab Chip*, 2016, 16: 3097–3104
- 42 Lin H, Zou Y, Huang Y, Chen J, Zhang WY, Zhuang Z, Jenkins G, Yang CJ. *Chem Commun*, 2011, 47: 9312–9314
- 43 Huang Y, Ma Y, Chen Y, Wu X, Fang L, Zhu Z, Yang CJ. *Anal Chem*, 2014, 86: 11434–11439
- 44 Huang Y, Fang L, Zhu Z, Ma Y, Zhou L, Chen X, Xu D, Yang C. *Biosens Bioelectron*, 2016, 85: 496–502
- 45 Mao Y, Li J, Yan J, Ma Y, Song Y, Tian T, Liu X, Zhu Z, Zhou L, Yang C. *Chem Commun*, 2017, 53: 6375–6378
- 46 Wang J, Chao J, Liu H, Su S, Wang L, Huang W, Willner I, Fan C. *Angew Chem Int Ed*, 2017, 56: 2171–2175
- 47 He Y, Yang X, Yuan R, Chai Y. *Anal Chem*, 2017, 89: 8538–8544
- 48 Li C, Rowland MJ, Shao Y, Cao T, Chen C, Jia H, Zhou X, Yang Z, Scherman OA, Liu D. *Adv Mater*, 2015, 27: 3298–3304
- 49 Zhu Z, Wu C, Liu H, Zou Y, Zhang X, Kang H, Yang CJ, Tan W. *Angew Chem Int Ed*, 2010, 49: 1052–1056
- 50 Yan L, Zhu Z, Zou Y, Huang Y, Liu D, Jia S, Xu D, Wu M, Zhou Y, Zhou S, Yang CJ. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 3748–3751
- 51 Zhang L, Lei J, Liu L, Li C, Ju H. *Anal Chem*, 2013, 85: 11077–11082
- 52 Kahn JS, Trifonov A, Cecconello A, Guo W, Fan C, Willner I. *Nano Lett*, 2015, 15: 7773–7778
- 53 Mao X, Chen G, Wang Z, Zhang Y, Zhu X, Li G. *Chem Sci*, 2018, 9: 811–818
- 54 Chang Y, Li M, Wu Z, Zhuo Y, Chai Y, Xiao Q, Yuan R. *Anal Chem*, 2018, 90: 8241–8247

Smart DNA hydrogels for biosensing applications

Yanhui Bi^{1†}, Cuiyan Han^{1†}, Weiwei Guo^{1,2*}

¹ College of Chemistry, Research Center for Analytical Sciences, Tianjin Key Laboratory of Molecular Recognition and Biosensing, Nankai University, Tianjin 300071, China

² Collaborative Innovation Center of Chemical Science and Engineering (Tianjin), Tianjin 300071, China

[†]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author (email: weiweiguo@nankai.edu.cn)

Abstract: As a novel kind of biomacromolecular soft material, DNA hydrogel has become one of the hot topics in multidisciplinary researches. Taking advantages of the programmability and abundant functional motifs of DNA based materials, smart DNA hydrogels can be developed with high precision and controllability through reasonable sequence designs and post-modifications. By encoding with different functional DNA structures, such as the molecular-recognition DNA structures and the catalytic DNA structures, smart DNA hydrogel can perform different functions, such as the target-responsive and signal-amplification functions. DNA hydrogels also exhibit good biocompatibility and degradability. Therefore, smart DNA hydrogels hold great promise in biomedical applications, especially in biosensing. In this mini-review, we discuss the different types of smart DNA hydrogels and summarize their biosensing applications. The development prospect of smart DNA hydrogels is also discussed.

Keywords: responsive DNA hydrogels, functional nucleic acids, biosensing

doi: [10.1360/N032018-00242](https://doi.org/10.1360/N032018-00242)