



引用格式:李金城,孙军伟. DNA 逻辑自组装体构建的研究进展[J]. 轻工学报,2016,31(6): 62-68.

中图分类号:TP309;TP18 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.6.009

文章编号:2096-1553(2016)06-0062-07

DNA 逻辑自组装体构建的研究进展

Research progress in the construction of DNA logic self-assembly

李金城,孙军伟

LI Jin-cheng, SUN Jun-wei

郑州轻工业学院 电气信息工程学院,河南 郑州 450002

College of Electrical and Information Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China

关键词:

DNA 逻辑自组装体;
DNA 编码;DNA 分子
瓦;组装基元

Key words:

DNA logic self-assembly;
DNA encoding;
DNA tile;fundamental
assemble unit

摘要:对 DNA 自组装原理、DNA 编码序列设计、DNA 自组装基元和自组装体的构建等方面的研究现状进行了述评,提出构建复杂的 DNA 自组装体仍是该领域的研究难题,未来的研究将主要集中于三方面:1)基于 DNA 的热力学属性和物理化学属性,建立 DNA 自组装基元类型库和 DNA 自组装结构体;2)整合和挖掘高通量的 DNA 自组装实证数据,以数据为驱动,搭建适合描述 DNA 自组装体的系统模型;3)进行 DNA 自组装载药体系的可控性、适应性和应用性分析.

收稿日期:2016-01-02

基金项目:国家自然科学基金项目(61472371,61472372,61572446);郑州轻工业学院博士科研启动项目(2014BSJJ044)

作者简介:李金城(1978—),男,吉林省松原市人,郑州轻工业学院讲师,硕士,主要研究方向为智能信息处理.

通信作者:孙军伟(1984—),男,河南省驻马店市人,郑州轻工业学院讲师,博士,主要研究方向为生物信息处理与安全.

Abstract: The principles of the DNA self-assembly, the design of the DNA coding sequence, DNA essential assemble units, and the construction of the DNA self-assembly system have been reviewed. The construction of the DNA self-assembly system is a difficult problem in this field. Three aspects will be focused in future research: first, based on thermodynamic and physico-chemical properties of DNA, DNA essential assemble units and DNA self-assembly system will be constructed; second, high-throughput empirical data of DNA self-assembly will be integrated and mined, the model of the DNA self-assembly system will be designed according to data-driven; at last, the controllability, adaptability and applicability of drug delivery system DNA self-assembly will be analyzed.

0 引言

自组装是 DNA 组装基元由于相互连接作用自发形成纳米晶体结构的过程,是创建合成纳米晶体和拓展晶体功能的重要技术.当前的 DNA 自组装技术主要集中在静态自组装,具有能量和物质交换功能的动态 DNA 自组装技术尚处于开发的起步阶段,构建和生成种类丰富的功能自组装体系仍是研究的关键问题之一.自组装通过有机分子、生物大分子、合成高分子、超分子和聚合物等组装基元完成组装过程,涉及生物化学、材料与生命科学等相关领域.

DNA 是复杂生物大分子,是传递生命遗传信息的主要载体,其分子结构含有决定生物遗传、细胞分裂、分化、生长和蛋白质生物合成等信息,在生物进化过程中起着决定性的作用.随着对 DNA 分子研究的深入,现代生物工程技术的发展,DNA 在分子功能和纳米晶体材料控制合成上显示出越来越明显的优势.而 DNA 自组装由于其自身独特的优势,有望促进生物学、医学和信息科学等相关领域的共同发展,极富发展前景和科学意义.本文拟对 DNA 自组装原理、DNA 编码序列设计、DNA 自组装基元和自组装体的构建等方面的研究予以述评和展望.

1 DNA 自组装原理

DNA 自组装是初始种子瓦框架的瓦片黏性末端按照 DNA 序列碱基互补配对原则自发地执行 DNA 自组装计算,生成形状可控的超级

分子结构的过程^[1]. DNA 复杂空间构象的自组装过程具有高度的全局并行性和局部并行性两个典型优势:全局并行性是指每一个超级 DNA 组装结构蕴藏的信息都代表一种不同的逻辑计算;局部并行性是指单个超级 DNA 组装结构的组装增长在局部分子瓦同时发生. DNA 逻辑自组装首先对基本 DNA tile(指由多条 DNA 寡核苷酸链通过碱基互补配对组成的具有一定刚性的 DNA 分子单元)序列进行编码,然后根据黏性末端的碱基互补配对原则进行互补配对,最后实现自发的组装过程^[2]. DNA 分子自组装的过程大致分为识别、增长、终止等基本步骤.

1) 识别:依据碱基互补配对原则,将初始种子瓦的基本分子模型的选择与其他分子模型的选择进行匹配.

2) 增长:初始种子瓦的基本分子和中间状态的自组装体都必须遵循互补配对原则,逐步完成组装,分子组装增长过程具有协同性和非线性等特点.

3) 终止:分子自组装的增长受物理因素或外界环境约束条件的影响,自组装体不能无限增长下去,增长到一定程度组装过程即停止.

包含以上 3 个步骤的分子自组装过程具有以下特点:

1) 分子间相互作用具有恒定专一性. 纳米材料组装必须遵循的首要原则是 Watson-Crick 互补配对原则, DNA 分子根据该原则组装配对结合形成模板链,组装过程具有一定的选择性,分子定向组装功能非常强大.

2) 分子空间构象具有可逆性. 分子经过逐步组装形成晶体后, 若将 DNA 纳米团簇加热到特定温度, 则根据配对原则组装的纳米团簇将被破坏, 纳米团簇重新分散, 回到初始状态.

3) 产物结构具有可预测性. 自 DNA 双螺旋结构模型提出以来, 根据 DNA 分子的生化性质, 结合 DNA 分子的特定结构和形态, 利用特殊的软件可以预测 DNA 最终组装结构.

2 DNA 编码序列设计

DNA 编码序列设计是后续开展 DNA tile 和 DNA 组装结构的设计与验证、黏性末端的合理构建、DNA 自组装载药体系的构建, 以及其可控性、适应性分析等研究的基础. DNA 编码序列设计问题的定义最早由 M. H. Garzon 等^[3]于 2004 年提出, 即在 DNA 分子的 4 个分子碱基 \sum DNA {A, T, C, G} 上, 存在一个长度为 n 的 DNA 编码序列集合 S , 显然 $|S| = 4n$, 求 S 中的一个子集 C , 使得对于任意 $s_i, s_j \in C$, 均满足 $\tau(s_i, s_j) \geq k$, k 为正整数. 该定义是可以评价编码性质的标准, 如解链温度、最小自由能、汉明距离、GC 含量、移位距离、最小相同子序列数等生物物理和生物化学约束条件.

通常, 在 DNA 编码序列设计问题的研究中主要考虑两个指标: 编码序列质量和编码序列数量. 编码序列质量越高, DNA 生化杂交反应的质量越高; 编码序列数量越多, 越能增大解决实际应用问题的规模. 但是, 在实际问题中, 这两个指标是相互影响、相互制约的. 编码序列质量越高, 编码序列数量越少; 反之亦然. 因此, DNA 编码序列设计是一个典型的多目标组合优化问题^[4].

2003 年, U. Feldkamp 研究组^[5]提出了最小长度子串方法: 所有长度为 n_s 的 DNA 序列间相同子串的最大长度为 $n_b - 1$, 而长度为 n_b 的子串在编码集合中最多只能出现 1 次. 定义不

同序列间的相似度为 $\varphi = 1 - [(n_b - 1)/n_s]$, 可以看出 φ 越大, 不同序列间相同子串的长度越小, 进而出现错误杂交的概率越小. 但在实际应用中, k 值的选取应视具体情况而定.

2008 年, K. Zhang 等^[6]提出了一种基于隐枚举思想的 DNA 编码序列设计方法: 首先将编码约束条件转换为整型线性规划的条件不等式, 以便对 DNA 序列进行约束过滤, 进而使用剪枝策略高效搜索 $4n$ 个解空间, 最终得到满足转换约束条件的最大 DNA 编码序列集合.

2010 年, Q. Zhang 等^[7]提出了一种方法, 将基于汉明距离和反向汉明距离组合约束的改进遗传算法用于 DNA 编码序列设计. 该方法不仅改进了满足组合约束的下界, 还缩短了 DNA 编码约束边界的取值范围, 为 DNA 编码中的理论边界及 4-ary 边界的研究指明了方向.

2012 年, J. H. Xiao 等^[8]综合考虑编码约束条件, 提出了一种基于膜进化算法的 DNA 编码序列设计方法: 综合考虑分析 DNA 编码序列设计问题的所有约束条件, 选择膜进化算法进行特异性 DNA 编码序列设计. 实证研究结果验证了该方法的有效性. 理论研究表明, 该方法还有助于解决其他优化类问题.

2013 年, 文献[9]建立了一套 DNA 编码序列设计的系统评价模型, 给出了 DNA 编码序列设计是困难问题的数学证明, 并在此基础上探讨了 Hopfield 神经网络算法、模拟退火遗传算法、文化遗传算法、非支配排序遗传算法、蚁群算法、粒子群优化算法、人工鱼群算法等启发式算法, 以及剪枝算法、随机产生实时过滤算法等搜索算法在 DNA 编码序列设计中的应用.

3 DNA 自组装基元的构建

在结构 DNA 纳米技术中, 具有良好性质的生物材料能够组装特定结构的纳米晶体. 具有良好性质的生物材料需具备 3 个条件: 一是可

知的基元间的分子相互连接;二是根据配对原则和初始链可预知产物结构;三是组装的基本分子瓦具有刚性. 前两个条件对于控制自组装产物的拓扑结构非常重要,而将具有几何形状的纳米分子自组装成宏观材料则要求组装基元结构必须具备一定的刚性. 所以作为 DNA 自组装基元的 DNA tile 必须是稳定的.

DNA 自组装技术起源于对基因重组过程中间体——Holliday 结^[10]的研究. 基于以前的研究思路,Winfree 等提出利用 DNA 自组装生成 DNA 大分子,并首次把可计算的 DNA 分子瓦(如图 1 所示)组装概念应用于 DNA 分子装配^[11]. 其核心思想是利用 DNA 分子瓦组装成 DNA 大分子,在其自组装过程中实现计算,并指出复杂的分支结构.

研究者发现^[12-16],除了双螺旋结构外, DNA 还存在许多异常结构,如节点、Holliday 结、Octahedra 等. 他们在对 DNA 一级结构与由一级结构形成的异常高级结构之关系的研究中发现,采用设计合成各组分的方法,通过溶液杂交的方式,可以生成所需的特殊刚性结构——DNA tiles,并将其作为组装基元.

目前已设计出并经实验验证的部分 DNA tile 包括 DAE, DAO, DAE + J, TAE, TAO, PX 和

JX2 等,其结构如图 2 所示. 其中,字母 D 代表双交叉,即 DNA 分子瓦存在两个交叉点,有分支的 DNA tile 中只存在一个交叉点. 字母 A 代表 DNA 链 3' 端到 5' 端的方向与双螺旋的主体反平行,字母 P 代表与双螺旋的主体平行. DNA 分子瓦两个交叉点之间形成偶数个半螺旋缠绕 (Half-turn) 用字母 E 表示,奇数个半螺旋缠绕用字母 O 表示. DAE + J 代表 DAE 分子瓦通过中间延伸出一个由 DNA 单链缠绕弯曲的发夹型结构. 双交叉 DNA tile 由两个四臂交叉分子相互弯曲连接组成,包括 5 种不同的异构体,即 DAE(反平行,结间距离为偶数个 Half-turn), DAO(反平行,结间距离为奇数个 Half-turn) 和平行的 DPE, DPOW, DPON. 在非变性凝胶电泳实验时,平行的双交叉 DNA tile 结构不稳定,所以不能用作自组装的基本单元. 而反平行的双交叉 DX (Double Crossover) tile 结构具有较好的刚性,可以作为重要的组装模块. DX tile 是指两条平行的双螺旋 DNA 通过两个 Holliday 结连接成一体的复杂特殊 DNA 结构. 与普通的 DNA 双螺旋相比,DX tile 的结构刚性在一定程度上有所增加,因此更适合组装具有多维空间的 DNA 纳米复杂结构. 实践表明,科学地设计结构不同的 DX tile 模板能够组装不同拓扑



图 1 4 种具有不同黏性末端的 DNA 分子瓦

Fig. 1 Four types of DNA tile with different sticky ends

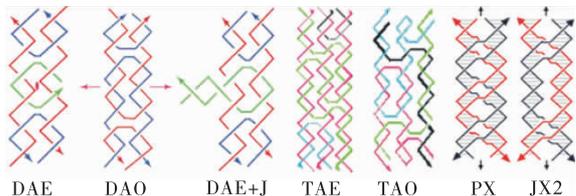


图2 已经实验验证的刚性 DNA 分子瓦结构图

Fig. 2 Rigid DNA tile verified by experiments

结构的 DNA 纳米晶体,应用实验对组装晶体表面加以适当修饰,能使二维 DNA 纳米晶体表面尽可能呈现不同性质,进而控制组装物质的结构^[17-18].

若两个 DX tile 存在一个共用的双螺旋结构,则称之为 TX (Triple Crossover) tile. 同样的命名方式,如果两条双螺旋之间存在多个复杂交叉结构,则生成 PX (Parallel Crossover) tile. 具体地说,如果 PX 结构只有两个相邻的双交叉结构,则称为 JX2 tile. 相比单一的 DX tile,多个 DX tile 缠绕结合形成的复杂分子瓦具有更强的稳定性和刚性.

在 DX tile 的基础上,研究人员进一步设计了含有不同 DNA 双螺旋数目的组装模块,以满足构建更为复杂多变的 DNA 纳米组装结构的需要. 2000 年, T. H. Labean 课题组^[19]利用含有 3 个 DNA 双螺旋的交叉结组装模块作为晶体的基本组装单元,通过生化反应,生成周期性的 DNA 二维晶体,由于组装具有定向性,所以其生成结构可控.

2005 年, Adleman 课题组成员 D. Reishus 等^[20]构建了含有 4 个 DNA 双螺旋的组装模块,组装模块之间根据互补配对原则,黏性末端相互连接,组装得到二维平面晶体结构. 2005 年, Seeman 研究组成员 F. Mathieu 等^[21]通过增加两个交叉组装模块实现了含有 6 个 DNA 双螺旋的交叉结组装模块,通过合理的结构设计和生化实验,逐步组装得到了 DNA 纳米管和复杂的二维阵列结构.

4 DNA 自组装体的构建

目前,利用 DNA 分子构造纳米结构体主要有 DNA Origami, SST 和 Sub-tile 这 3 种组装方法与技术.

2006 年, P. W. K. Rothemund^[22]提出了一种自下而上的 DNA 自组装方法——DNA Origami: 它以一条长的 DNA 单链作为脚手架链,通过在特定位置配置合适的订书钉链,可以自由便捷地构筑复杂的 DNA 纳米结构体. DNA Origami 成功地突破了传统 DNA 自组装技术难以构造不规则复杂结构体的局限,取得了 DNA 自组装领域的重大突破.

2007 年, S. M. Douglas 等^[23]基于 DNA Origami, 将脚手架链折叠制成六螺旋 DNA 纳米管,首次将 DNA Origami 的应用拓展至三维空间.

2009 年, E. S. Andersen 等^[24]基于 DNA Origami, 利用“先折面后合围”的方法,构造了一个空间可寻址的 DNA 盒子. 盒子尺寸约 $42 \text{ nm} \times 36 \text{ nm} \times 36 \text{ nm}$, 内部是一个空腔,可以通过外部的 DNA “钥匙”打开或关闭 DNA 盒盖,实现物质在 DNA 盒子内外进出的控制. 自此,人们开始逐步发掘 DNA 自组装结构作为介导载体的潜能.

2011 年, D. Han 等^[25]基于 DNA Origami, 通过调节特定位置的交叉来调整 DNA 的自然曲度,进而调控三维 DNA 自组装结构的表面曲率,并最终构建出了像艺术品一样精美的球体. 该“艺术品”的诞生证明了利用 DNA 链可以折叠构建任意形状的三维纳米结构.

2012 年, B. Wei 等^[26]提出了 SST 自组装方法. 他们构造了共 364 条 DNA Bricks (短的单链 DNA tile) 集合,通过选择合适的 DNA Bricks, 完成了 100 多个不同二维平面图形及 DNA 管的创建. 同年, Y. Ke 等^[27]通过改变 DNA Bricks

的长度,使其在自组装过程中发生 90° 旋转,完成了 102 个三维 DNA 自组装体的组装. SST 以其灵活的结构构造方式和模块化的自组装方式,展示了超强的自组装构建纳米结构的能力,极大地拓展了 DNA 自组装构建纳米结构的范围和空间.

2014 年, X. Shi 项目组^[28]建立了一种由 3 条 DNA 单链构成的 Sub-tile 模型. 实证研究表明,基于 Sub-tile 模型可灵活地完成目前已知的所有 DNA tiles 的构造,并进而生成具有不同网孔类型的网格结构. Sub-tile 组装方法巧妙地避开了 DNA 编码序列设计问题,极大地增强了 DNA Tile 自组装的通用性.

2014 年, C. Tian 等^[29]通过提高自组装 DNA Tile 的自由度以控制 DNA 自组装过程的指导性反应物,设计和构建了 DNA 纳米笼子,在纳米药物封装、药物运输和纳米颗粒成型方面,有潜在的应用价值.

2015 年, Z. Liu 等^[30]通过 DNA 自组装方法进一步实现了多层嵌套的 DNA 纳米笼子,增加了 DNA 纳米笼子的结构复杂度.

以上 DNA 自组装方法各有优势,相辅相成,不仅为研究人员利用不同 DNA 自组装基元实现可编程自组装提供了理论基础,而且为构筑不同复杂度、不同结构类型的 DNA 自组装结构体提供了多种可供选择的技术实现方案.

5 结论与展望

DNA 自组装基元和组装体可广泛应用于工程材料、纳米器件、生物传感器等领域,具有重要的应用前景. 同时, DNA 自组装体的建模与分析方法也有望促进系统生物学的发展,可作为相关工作如化学领域的“可控自组装体系及其功能化”和工程材料领域的“高分子纳米载体的多功能性和协同作用”等研究工作的重要参考,因此具有重要的进一步深入研

究的价值.

尽管 DNA 自组装技术在开发高灵敏度、高选择性、低副作用的疾病诊疗手段等方面具有广阔的应用前景,但目前关于 DNA 自组装体构建的研究仍处于起步阶段,构建复杂的 DNA 自组装体仍是一个难题. 未来的研究将主要集中在三方面: 1) 基于 DNA 的热力学属性和物理化学属性,建立 DNA 自组装基元类型库和 DNA 自组装结构体; 2) 整合和挖掘高通量的 DNA 自组装实证数据,进而以数据为驱动,搭建适合描述 DNA 自组装体的系统模型; 3) 进行 DNA 自组装载药体系的可控性、适应性和应用性分析.

参考文献:

- [1] SEEMAN N C. Biochemistry and structural DNA nanotechnology: an evolving symbiotic relationship [J]. *Biochemistry*, 2003, 42(24): 7259.
- [2] CHEN H L, SCHULMAN R, GOEL A, et al. Reducing facet nucleation during algorithmic self-assembly [J]. *Nano Letters*, 2007, 7(9): 2913.
- [3] GARZON M H, DEATON R J. Codeword design and information encoding in DNA ensembles [J]. *Natural Computing*, 2004, 3(3): 253.
- [4] SHIN S Y, LEE I H, KIM D M, et al. Multiobjective evolutionary optimization of DNA sequences for reliable DNA computing [J]. *IEEE Trans Evolut Comput*, 2005, 9(2): 143.
- [5] FELDKAMP U, RAUHE H, BANZHAF W. Software tools for DNA sequence design [J]. *Genet Program Evol M*, 2003, 4(2): 153.
- [6] ZHANG K, XU J, GENG X, et al. Improved taboo search algorithm for designing DNA sequence [J]. *Prog Nat Sci*, 2008, 18(5): 623.
- [7] ZHANG Q, WANG B. An improved genetic algorithm for design of DNA sequence sets [J]. *J Comput Theor Nanosci*, 2010, 7(6): 1159.

- [8] XIAO J H, ZHANG X Y, XU J. A membrane evolutionary algorithm for DNA sequence design in DNA computing[J]. *Chin Sci Bull*, 2012, 57(6):698.
- [9] 王延峰, 崔光照. DNA 编码序列的设计与优化[M]. 北京: 电子工业出版社, 2013.
- [10] FU T J, TSE-DINH Y C, SEEMAN N C. Holliday junction crossover topology[J]. *J Mol Biol*, 1994, 236(11):91.
- [11] KALLENBACH N R, MA R I, SEEMAN N C. An immobile nucleic-acid junction constructed from oligonucleotides[J]. *Nature*, 1983, 305:829.
- [12] MA R I, KALLENBACH N R, SHEARDY R D, et al. Three-arm nucleic acid junctions are flexible[J]. *Nucleic Acids Res*, 1996, 14(24):9745.
- [13] SEEMAN N C. De novo design of sequences for nucleic-acid structural-engineering[J]. *J Biomol Struct Dyn*, 1990, 8(3):573.
- [14] SEEMAN N C. The perils of polynucleotides: the experimental gap between the design and assembly of unusual DNA structures[C]// *Proceedings of the Second Annual Meeting on DNA-based Computers*, Providence: American Mathematical Society, 1996.
- [15] DU S M, SEEMAN N C. The construction of a trefoil knot from a DNA branched junction motif[J]. *Biopolymers*, 1994, 34(11):31.
- [16] ZHANG Y, SEEMAN N C. The construction of a DNA truncated octahedron[J]. *J Am Chem Soc*, 1994, 116(5):1661.
- [17] LIU F, SHA R, SEEMAN N C. Modifying the surface features of two dimensional DNA crystals[J]. *J Am Chem Soc*, 1999, 121(5):917.
- [18] FU T J, SEEMAN N C. DNA double-crossover molecules[J]. *Biochemistry*, 1993, 32:3211.
- [19] LABEAN T H, YAN H, KOPATSCH J, et al. Construction, analysis, ligation, and self-assembly of DNA triple crossover complexes[J]. *J Am Chem Soc*, 2000, 122:1848.
- [20] REISHUS D, SHAW B, BRUN Y, et al. Self-assembly of DNA double-double crossover complexes into high-density, doubly connected, planar structures[J]. *J Am Chem Soc*, 2005, 127:17590.
- [21] MATHIEU F, LIAO S P, KOPATSCH J, et al. Six-helix bundles designed from DNA[J]. *Nano Lett*, 2005(5):661.
- [22] ROTHEMUND P W K. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns[J]. *Nature*, 2006, 440:297.
- [23] DOUGLAS S M, CHOU J J, SHIH W M. DNA-nanotube-induced alignment of membrane proteins for NMR structure determination[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104:6644.
- [24] ANDERSEN E S, DONG M, NIELSEN M M, et al. Self-assembly of a nanoscale DNA box with a controllable lid[J]. *Nature*, 2009, 459:73.
- [25] HAN D, PAL S, NANGREAVE J, et al. DNA origami with complex curvatures in three-dimensional space[J]. *Science*, 2011, 332:342.
- [26] WEI B, DAI M, YIN P. Complex shapes self-assembled from single-stranded DNA tiles[J]. *Nature*, 2012, 485:623.
- [27] KE Y, ONG L L, SHIH W M, et al. Three-dimensional structures self-assembled from DNA bricks[J]. *Science*, 2012, 338:1177.
- [28] SHI X, LU W, WANG Z, et al. Programmable DNA tile self-assembly using a hierarchical subtile strategy[J]. *Nanotechnology*, 2014(25):075602.
- [29] TIAN C, LI X, LIU Z, et al. Directed self-assembly of DNA tiles into complex nanocages[J]. *Angewandte Chemie*, 2014, 126(31):8179.
- [30] LIU Z, TIAN C, YU J, et al. Self-assembly of responsive multilayered DNA nanocages[J]. *J Am Chem Soc*, 2015, 137(5):1730.