

DNA 纳米机器药物递送研究进展

蒋乔¹, 韦雨^{1,2}, 李璨², 宋琳琳¹, 丁宝全^{1*}, 赵宇亮^{1*}

1. 国家纳米科学中心, 北京 100190

2. 上海交通大学 Bio-X 研究院, 上海 200030

摘要 天然分子机器是细胞正常功能(包括 DNA 复制、细胞内物质运输、离子平衡和细胞运动等)的重要执行者。受天然分子机器的启发,人工分子机器的概念被提出并逐步实践。DNA 分子独特的理化性质使得其可作为自组装基元用于构建分子机器类纳米结构。DNA 纳米结构具有形状可设计性、精确的可寻址性、结构动态响应性及良好的生物相容性,可以作为一种良好的药物递送载体材料。通过可寻址的负载特定功能元件从而构建 DNA 纳米载体和治疗型 DNA 纳米机器,可以靶向地将药物传递到病变组织和细胞,响应性地释放药物,提高药物的细胞摄取率并降低其毒副作用,有望成为优秀的药物递送系统。基于 DNA 纳米结构的药物载体已经被用于递送小分子药物、寡核苷酸类药物和蛋白药物。以每类药物分子中的典型药物为例,介绍了 DNA 纳米载体和 DNA 纳米机器药物递送系统的研究进展,并讨论了其所面临的挑战及可能的发展趋势。

关键词 DNA 纳米载体; DNA 纳米机器; 药物递送; 小分子类药物; 寡核苷酸类药物; 蛋白质类药物

在自然界各种生命体之中,活动着各种各样的分子机器,操纵各种细胞功能,如遗传物质复制、细胞内物质运输、离子平衡和细胞运动等。生物大分子脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)是几乎所有生物遗传的物质基础,其特异性的碱基序列编码生物的遗传信息。而在结构 DNA 纳米技术(structural DNA nanotechnology)中, DNA 不再只是作为遗传信息的载体,而是通过预先进行特定的设计,遵循碱基互补配对原则,作为自组装基元来构筑静态和动态的超分子自组装纳米材料。DNA 纳米材料具有结构精确可控、易于化学修饰、生物可降解等特点,是一种很有潜力的纳米载体

材料,在药物靶向运输、可控释放、多种药物协同运输治疗、智能药物运输体系构建等研究方面已展示了非常广阔的应用前景。

而利用 DNA 材料卓越的自组装性能,已经能够构建 DNA 纳米机器(DNA nanorobots),可在纳米尺度上执行特定功能。如 DNA 纳米机器可在二维表面自动“行走”,并可“分拣”特定分子或“搬运”特定分子传递给其他 DNA 机器^[1-2];桶状 DNA 纳米机器能够将“货物”封装在其空腔内部,这种表面装载了特定“锁芯”的 DNA 纳米机器能够被细胞表面靶点分子“钥匙”开启,从而暴露内部的抗体片段分子,与细胞表面抗原分子结合并

收稿日期:2018-07-10;修回日期:2018-10-12

作者简介:蒋乔,副研究员,研究方向为 DNA 纳米结构的生物学应用,电子信箱:jiangq@nanocr.cn;韦雨,硕士研究生(共同第一作者),研究方向为 DNA 纳米载药体系设计与构建,电子信箱:weiy@nanocr.cn;丁宝全(通信作者),研究员,研究方向为基于 DNA 的生物大分子功能化自组装及应用,电子信箱:dingbq@nanocr.cn;赵宇亮(通信作者),研究员,研究方向为纳米毒理学、纳米药物及放射化学,电子信箱:zhaoyl@nanocr.cn

引用格式:蒋乔, 韦雨, 李璨, 等. DNA 纳米机器药物递送研究进展[J]. 科技导报, 2018, 36(22): 66-73; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2018.22.005

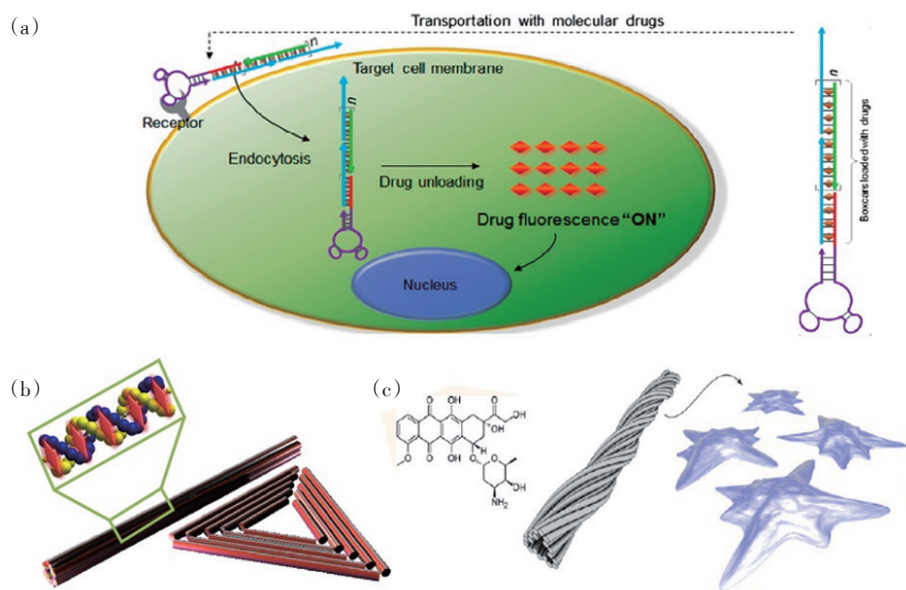
引发特定细胞通路响应性变化^[3]。然而,要将上述DNA纳米机器作为动态的DNA纳米载体材料用于实际疾病诊断治疗,仍然需要更加深入的探索。

从20世纪80年代Seeman开创结构DNA纳米技术^[4-5]这一研究领域,到2006年Rothemund建立DNA折纸技术^[6],再到2012年Yin发展出单链砖(SST)技术^[7-8],2017年实现大尺寸、大规模DNA纳米结构的制备,DNA纳米技术经历了飞速的发展过程。除了以上几种构建DNA纳米结构的方法外,还有像过渡金属离子法^[9-12]、纳米颗粒模板化法^[13-17]以及“滚环扩增”^[18-22]等一系列的方法,都用来构建基于DNA纳米结构的药物递送系统,或者经过精巧的设计构建治疗型DNA纳米机器。基于纳米技术多功能集成的综合肿瘤治疗策略,在充分利用和发展结构DNA纳米技术特有优势的基础上,将有望研制高效、低毒、靶向、多功能的DNA纳米结构作为运输载体,进一步构建智能的治疗型DNA纳米机器,这将具有重要的科学价值和临床指导意义。基于DNA纳米结构的载体已经被用于递送小分子药物、寡核苷酸类药物和蛋白药物。以每类治疗成分中的典型药物为例,对静态DNA纳米载体和治疗型DNA纳米机器的进展进行介绍;最后探讨DNA纳米载体在药物递送领域所面临的挑战,并对其发展方向进行展望。

1 DNA纳米载体用于小分子类药物的运输

阿霉素是目前广泛应用的化疗药物之一,可在DNA转录和翻译的过程中插入DNA螺旋结构和/或DNA与蛋白质共价结合位点,干扰DNA、RNA以及蛋白质的生物合成,从而引起细胞死亡,目前被广泛用于实体肿瘤及血液恶性肿瘤的治疗中^[23]。与其他临床上广泛使用的抗肿瘤药物类似,阿霉素在杀灭肿瘤细胞的同时,不可避免地也会杀伤正常细胞,具有极大的毒副作用,长时间使用更会使肿瘤细胞产生耐药性,制约了其在临床的广泛应用^[24]。为了解决这一问题,自20世纪50年代起,科研人员已经开始利用纳米颗粒作为抗肿瘤药物载体。利用阿霉素能够有效地插入DNA双螺旋GC富含区域中的特性,科研人员设计出了一系列用于递送阿霉素的DNA纳米载体。

Tan等^[25]利用多条DNA短单链通过分子自组装形成“纳米火车”结构,装载抗肿瘤药物阿霉素,实现肿瘤细胞选择性的载药DNA结构内化,完成高效的抗肿瘤药物运输与治疗。Ding等^[26]利用三角形及管状两种DNA折纸结构递送了阿霉素(图1(a))。研究结果表明,该递送体系具有阿霉素上载量大及细胞摄取率高



(a) 基于DNA自组装的“纳米火车”结构用于阿霉素运输与肿瘤治疗;(b) 两种形状DNA折纸装载阿霉素用于逆转肿瘤细胞耐药;
(c) 具有控释作用的DNA折纸——阿霉素载药结构用于肿瘤治疗

图1 用于递送阿霉素的DNA纳米载体结构示意图

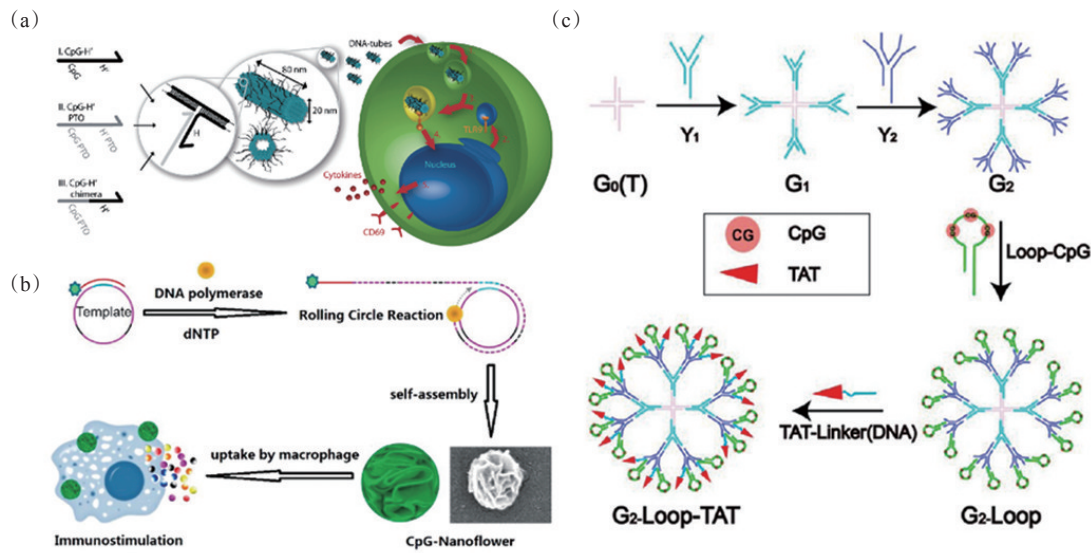
Fig. 1 Schematic illustration of Doxorubicin delivery systems based on DNA nanocarriers

的优势,而且在常规和具有阿霉素抗性的人乳腺癌细胞中均可发挥明显的抑制细胞增殖的作用。在另一种阿霉素-DNA折纸运载体系的尝试中,Högberg等^[27]测试了3种乳腺癌细胞,发现DNA折纸载体能够增加药物的细胞毒性,减缓细胞内药物清除速率(图1(b))。他们通过调整DNA纳米管的扭曲程度,调控所装载的阿霉素的释放动力学,达到了药物控释的目的。Ding等^[28]继续利用3种(三角形、四边形和管状)DNA折纸结构递送阿霉素的体系进行了活体水平的研究。对接种了原位乳腺肿瘤的裸鼠进行了DNA折纸结构的尾静脉注射给药,并完成了荧光成像及安全性评估实验,证明了载药DNA折纸纳米结构在体内的循环时间较长,具有良好的肿瘤被动靶向汇聚效果,抗肿瘤作用显著且无明显的毒副作用。Tan等^[29]通过“滚环扩增”的方法得到了DNA纳米花结构。与DNA折纸结构相比,DNA纳米花结构可以避免前期复杂的结构设计过程,有效降低成本。且该纳米花同时整合了可特异性识别肿瘤细胞的DNA适配体、可进行生物成像的荧光分子以及化疗药物阿霉素3种成分,此外阿霉素在酸性条件下可以实现可控释放。结果表明该体系对于化疗药物敏感和已产生多药抗性的白血病和乳腺癌细胞均具有显著的细胞杀伤效果。

2 DNA纳米载体用于寡核苷酸类药物的运输

未甲基化的胞嘧啶鸟嘌呤二核苷酸(CpGs)序列可与哺乳动物细胞核内体中的Toll样受体9蛋白结合,从而引发免疫细胞分泌一系列的促炎症细胞因子(如肿瘤坏死因子 α 、白介素6、白介素12等),实现免疫刺激的作用^[30-31],目前已经作为一种安全有效的疫苗佐剂,被广泛用于癌症及传染病的免疫治疗研究中^[32]。但裸露的CpGs很难被细胞摄取且易被体内的核酸酶降解,因此其免疫刺激效果常常受到限制。由于CpGs序列与DNA纳米结构天然的兼容性,可利用DNA纳米载体对其装载和运输以增强细胞对其摄取及免疫刺激效果。

Liedl等^[33]研究了表面连接有62条CpGs的中空管状DNA折纸结构对鼠脾脏细胞的免疫刺激作用(图2(a))。该体系具备较大的核酸装载量,可将CpG序列有效地递送到细胞内,具有良好的免疫刺激效果,且无明显的细胞毒性。Fan等^[20]利用“滚环扩增”的原理结合DNA折纸技术设计出了DNA纳米带状结构,大大增加了CpGs的上载量和免疫刺激效果。Tan等^[34]直接通过“滚环扩增”的方法得到了包含大量CpGs序列的DNA纳米花结构。纳米花结构在一定程度上可以降低CpGs



(a) 表面CpG覆盖的DNA折纸用于递送CpG和免疫刺激;(b) 装载CpG的DNA纳米花结构用于递送CpG和免疫刺激;
(c) 表面负载TAT多肽的DNA树状大分子结构用于递送CpG和免疫刺激

图2 用于递送CpGs的DNA纳米载体结构示意图

Fig. 2 Schematic illustration of CpGs delivery systems based on DNA nanocarriers

被体内核酸酶降解的风险(图2(b))。该体系在巨噬细胞 RAW264.7 中引起了强烈的免疫反应,肿瘤坏死因子 α 、白介素 6 和白介素 10 3 种促炎症细胞因子的分泌量显著增加。Ding 等^[35]利用 DNA 树枝状大分子来装载 CpGs 茎环结构(图2(c))。该结构的优势在于可对其上载的 CpGs 序列进行精确定量。此外,他们也发现与线性 CpGs 相比, CpGs 茎环结构可以刺激巨噬细胞 RAW264.7 产生更加强烈的免疫反应。他们进一步将细胞穿膜肽(TAT 多肽)连接到该体系中,这使得最终体系的细胞内化效率及免疫刺激效果均得到增强,且体系本身无细胞毒性。

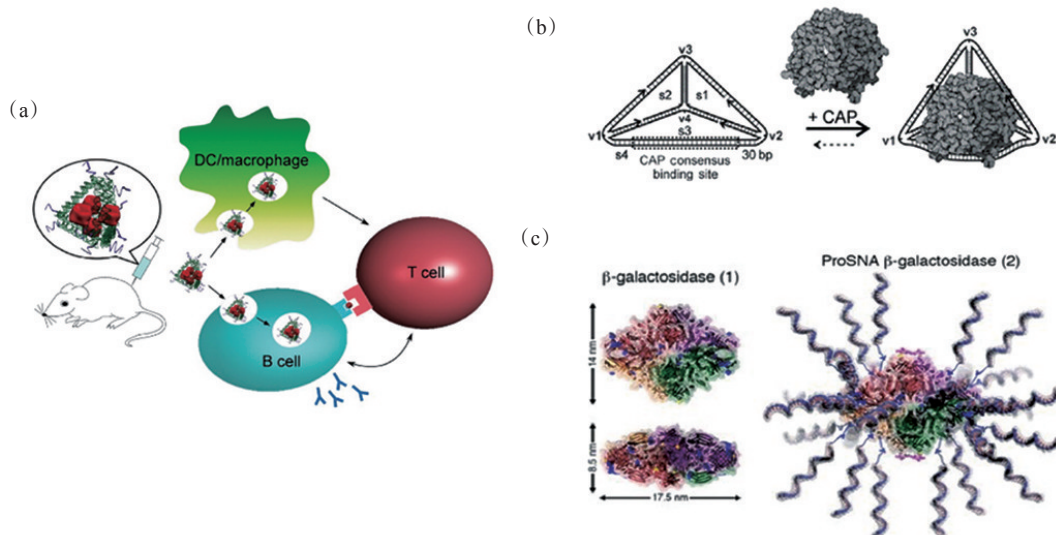
小干扰 RNA (small interfering RNAs, siRNAs) 能够特异性抑制靶标基因的表达,可用作新型抗肿瘤治疗药物。然而,由于其较小的尺寸以及在血液中较差的稳定性, siRNAs 对于肿瘤的靶向以及基因沉默的效率受到严重的限制。为解决上述问题, Anderson 等^[36]利用 DNA 四面体笼结构装载 siRNA,并在 DNA 四面体上修饰了肿瘤细胞靶向配体(多肽和叶酸)。这种多功能 DNA 笼结构能够在细胞水平和动物水平完成肿瘤靶向的 siRNA 转运和肿瘤区域特定基因的沉默。

3 DNA 纳米载体用于蛋白质类药物的运输

蛋白质是生命活动的主要承担者,在生命体中发挥着极其重要的作用。许多疾病(例如癌症)常常表现

为某些蛋白质功能表达模式的异常。因此目前大多数癌症治疗方法的靶向分子通常是某些蛋白质,例如较流行的单克隆抗体疗法。但是蛋白质类药物治疗仍存在局限,例如蛋白质分子在体内容易被酶降解且难以进入细胞^[37-39]。为了解决这一问题,研究人员尝试利用 DNA 纳米载体来将蛋白质类药物递送到体内。

2012 年, Chang 等^[40]利用 DNA 四面体形纳米结构整合模型抗原(链霉亲和素)和佐剂 CpGs 来制备纳米疫苗(图3(a))。结果表明,在具有完整免疫系统的小鼠(BALB/c 小鼠)中,与模型抗原及佐剂简单混合的对照组相比,等量的该体系可以引发小鼠体内更加强烈持久的抗体反应,且 DNA 四面体形纳米结构本身并无免疫刺激效果。2013 年,利用 DNA-蛋白质间的非共价相互作用, Kapanidis 等^[41]通过 DNA 四面体形纳米结构与一种转录因子蛋白代谢物活化蛋白(CAP)成功结合(图3(b)),他们设计的 DNA 四面体形纳米结构的一边包含有 22 bp 可识别 CAP 蛋白的 DNA 位点,可以实现 CAP 蛋白与 DNA 四面体笼 1:1 的结合。2015 年, Mirkin 等^[42]没有借助小结构纳米载体(如四面体结构),而是直接通过在 β -半乳糖苷酶表面共价连接了约 25 条 DNA 寡核苷酸链(图3(c)),使该酶被细胞摄取的能力增强了 280 倍,工作浓度可以低至 100 pM。且被细胞内化后,该酶仍可以保持原有的催化 β -糖苷键水解的能力,而相同浓度的未连接 DNA 的 β -半乳糖苷酶在细胞内的催化活性几乎为零。



(a) 基于 DNA 四面体结构的纳米疫苗; (b) 封装于 DNA 四面体笼中的转录因子;
(c) 表面 DNA 功能化的 β -半乳糖苷酶实现增强细胞转运

图3 用于递送蛋白质的 DNA 纳米载体结构示意图

Fig. 3 Schematic illustration of protein delivery systems based on DNA nanocarriers

4 治疗型DNA纳米机器在生物医学领域的应用

基于静态DNA纳米载体运载传递小分子化疗药物、寡核苷酸类药物及蛋白质等功能成分的研究结果,研究人员利用DNA材料卓越的自组装性能构建多种多样DNA纳米机器,将基于DNA的载体材料的设计与应用进一步发展,在纳米尺度上、生物信号响应下执行特定诊断与治疗功能。

Krishnan等^[43-47]设计了一系列基于DNA的分子机器用于细胞水平的定量功能成像和物质运输。他们选用的系列DNA链中包含富C碱基的序列(cytosine-rich oligonucleotides),是已知能在质子作用下形成特殊二级结构*i*-tetraplex的一段基本序列。包含这段基本序列的DNA链在pH值为5.5~6.8时会发生快速响应性的结构变化,非常适合细胞内的检测。在该工作中Krishnan等利用DNA自组装来制备被称为“*I*-switch”的细胞内pH值响应型荧光探针,并实现了活细胞内内含体成熟(endosome maturation)过程的pH值随区域和时间变化的测量。之后,Krishnan研究组又开发了一系列基于DNA的纳米机器,用于生物检测和细胞及活体的功能成分递送。

利用DNA折纸术,研究人员构建了更多动态响应的、结构可变的DNA折纸纳米机器来进行生物应用。

Douglas等^[3]设计了一个六角形桶状DNA折纸结构(35 nm×35 nm×45 nm)用于装载蛋白质或金属纳米粒子等“货物”,并通过核酸适配体控制其结构的开合,形成了一个利用特定指令控制的纳米机器(图4(a))。当DNA纳米机器碰到表面具有不同抗原的人免疫细胞时,细胞表面受体即为不同的“输入指令”而被核酸适配体识别,控制结构的开合,进而实现可控释放内部装载“货物”、调控细胞转导的功能。该结构展示了DNA材料作为新一代药物载体的巨大潜力。Bachelet等^[48-49]构建了篮状DNA纳米机器并首次应用于昆虫(蟑螂)活体中。他们将核酸适配体偶联至篮状DNA纳米机器,构建出多种逻辑门结构。当活体内存在相应的引发元件(如血小板源生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)或血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)时,纳米机器可被引发从而进行布尔运算。在该组最近的工作中,实验结果显示,蟑螂体内的DNA纳米机器能够被人脑活动所调控。Zhao等^[50]利用DNA折纸结构设计出了外有可与核仁蛋白结合的核酸适配体锁扣,内部装载凝血酶的中空管状DNA纳米载体(图4(b))。与前者相比,该体系可以实现所装载蛋白药物的可控暴露。即该体系可以在核酸适配体与肿瘤血管内皮细胞表面高表达的核仁蛋白结合时打开锁扣,在肿瘤血管内定点暴露活化凝血酶,发生凝血形成血栓,栓塞肿瘤进而抑制肿瘤的生长转移。

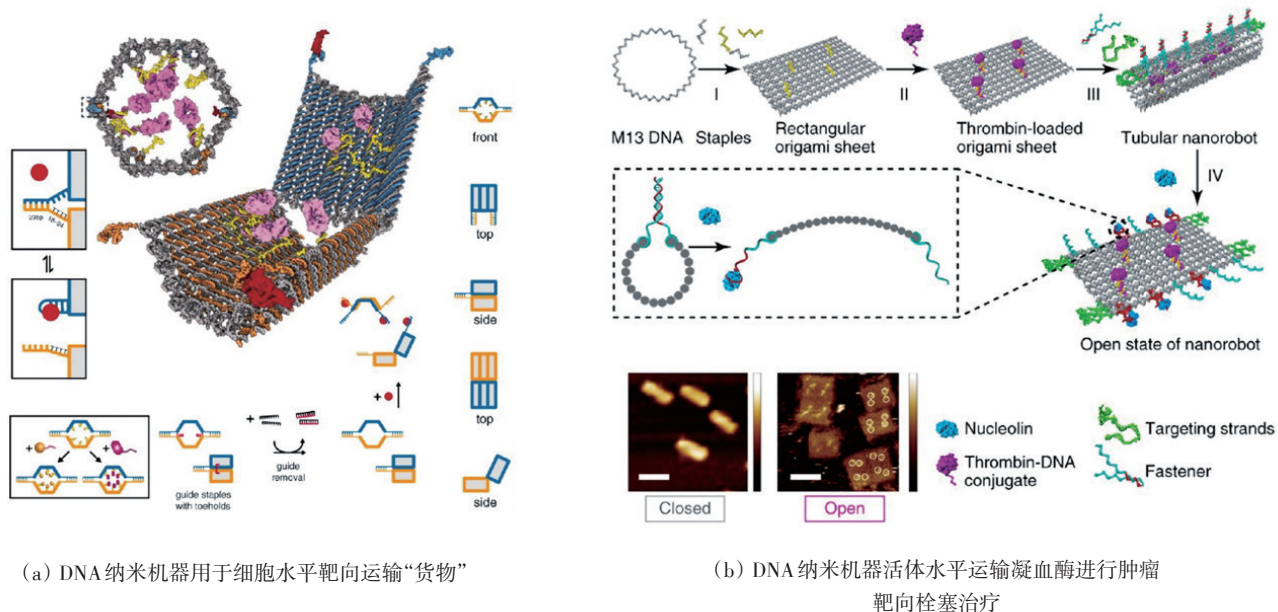


图4 治疗型DNA纳米机器结构示意图
Fig. 4 Schematic illustration of DNA nanorobots for therapy

实验结果表明,该体系可实现在癌症小鼠体内的精准运输和定点栓塞,对于乳腺肿瘤、黑色素瘤、卵巢癌和原发性肺部肿瘤等多种肿瘤具有良好的治疗效果。该体系载体的安全性也在小鼠及巴马香猪中得到证实,且载体本身无免疫刺激作用。

5 DNA 纳米载体在药物递送领域的挑战与展望

结构 DNA 纳米技术经过 30 多年的长足发展,已具备多种成熟的技术用于构建预先设计、对多种刺激信号进行相应的 DNA 纳米结构;目前,药物运输体系的构建是结构 DNA 纳米技术一项非常重要的应用。本文简述了部分静态 DNA 纳米载体的研究结果,同时探讨了 DNA 纳米机器在生物医学领域中的一系列应用实例。与其他纳米水平的药物运载系统,如脂质体、高分子载体等相比较,DNA 纳米载体及 DNA 纳米机器具有很多独特之处,如具有预先设计的尺寸和形状、可寻址定位及可编程控制的纳米结构,而作为构筑单元的 DNA 分子本身则具有良好的生物相容性。因此 DNA 材料是一种很有优势的新型载体材料,在智能药物运输体系构建中具有非常广阔的应用前景。

虽然已有很多成功应用的先例,基于 DNA 的纳米载体和纳米机器在进一步应用于生物诊断和治疗时,仍然面临着诸多挑战。DNA 材料在活体水平中更加详尽的表征结果(例如 DNA 材料在活体水平循环系统中的半衰期、代谢及清除机制等),需要更多细致的研究工作加以阐释^[51]。DNA 载体材料可能引起的免疫反应则是另一个需要关注的问题。人们已经了解将免疫刺激基元(如 CpG 基序、模型抗原)等组装在 DNA 纳米结构上能够调节增强其免疫刺激功能。而通常用于构建 DNA 折纸结构的噬菌体基因组 DNA 的部分序列也有微弱的免疫原性。因此,要根据功能需求(免疫佐剂或药物载体)来精确设计 DNA 序列从而调控(增强或减弱)其免疫原性。或者可以通过对于 DNA 载体结构的包裹来降低免疫原性^[52]。

DNA 纳米载体和纳米机器具有良好的可寻址和可编程性,在整个结构的任意指定位点都能够进行可控修饰。这使得 DNA 纳米载体和纳米机器能够进一步调控优化其靶向功能、药物装载和释放功能,从而增强其抗肿瘤效应。例如,具有多靶向配体的逻辑门控的动态 DNA 纳米机器可进一步用于精准识别靶细胞,这将

有助于实现载药 DNA 纳米机器对于细胞的分选及降低其脱靶效应^[3,53]。同时,DNA 纳米载体能够用于多功能成分装载,实现药物联合作用、鸡尾酒疗法等应用。DNA 纳米机器动态响应的结构变化将能够进一步应用于药物运输系统,从而实现药物时间-空间依赖的可控释放。

目前,虽然基于 DNA 的各种药物运输系统还未见临床转化的进一步报道,但该领域的快速发展仍然在载体构建和肿瘤治疗领域引起关注。DNA 纳米载体和 DNA 纳米机器展示出了强大的活体运输与响应识别能力,可作为智能化的给药平台进行多种药物的高效递送,甚至将促成如毒素、蛇毒蛋白等多种难成药物物质的有效包裹和智能递送,为新型抗肿瘤药物的开发提供了可能。

参考文献(References)

- [1] Omabegho T, Sha R, Seeman N C. A bipedal DNA brownian motor with coordinated legs[J]. *Science*, 2009, 324(5923): 67-71.
- [2] Thubagere A J, Li W, Johnson R F, et al. A cargo-sorting DNA robot[J]. *Science*, 2017, 357(6356): 1095-1096.
- [3] Douglas S M, Bachelet I, Church G M. A logic-gated nanorobot for targeted transport of molecular payloads[J]. *Science*, 2012, 335(6070): 831-834.
- [4] Kallenbach N R, Ma R I, Seeman N C. An immobile nucleic-acid junction constructed from oligonucleotides[J]. *Nature*, 1983, 305(5937): 829-31.
- [5] Seeman N C. Nucleic-acid junctions and lattices[J]. *Journal of Theoretical Biology*, 1982, 99(2): 237-247.
- [6] Rothmund P W K. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns[J]. *Nature*, 2006, 440(7082): 297-302.
- [7] Ke Y G, Ong L L, Shih W M, et al. Three-dimensional structures self-assembled from DNA bricks[J]. *Science*, 2012, 338(6111): 1177-83.
- [8] Wei B, Dai M J, Yin P. Complex shapes self-assembled from single-stranded DNA tiles[J]. *Nature*, 2012, 485(7400): 623-626.
- [9] Li B L, Setyawati M I, Chen L Y, et al. Directing assembly and disassembly of 2D MoS₂ nanosheets with DNA for drug delivery [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(18): 15286-96.
- [10] Yang H, Mclaughlin C K, Aldaye F A, et al. Metal-nucleic acid cages[J]. *Nature Chemistry*, 2009, 1(5): 390-396.
- [11] Yang H, Rys A Z, Mclaughlin C K, et al. Templated ligand

- environments for the selective incorporation of different metals into DNA[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2009, 48(52): 9919–9923.
- [12] Yang H, Sleiman H F. Templated synthesis of highly stable, electroactive, and dynamic metal–DNA branched junctions[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2008, 47(13): 2443–2446.
- [13] Jones M R, Seeman N C, Mirkin C A. Programmable materials and the nature of the DNA bond[J]. *Science*, 2015, 347(6224): 1260901
- [14] Mirkin C A, Letsinger R L, Mucic R C, et al. A DNA–based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials[J]. *Nature*, 1996, 382(6592): 607–609.
- [15] Rosi N L, Giljohann D A, Thaxton C S, et al. Oligonucleotide–modified gold nanoparticles for intracellular gene regulation [J]. *Science*, 2006, 312(5776): 1027–1030.
- [16] Seferos D S, Giljohann D A, Hill H D, et al. Nano–flares: Probes for transfection and mRNA detection in living cells[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2007, 129(50): 15477–15479.
- [17] Taton T A, Mirkin C A, Letsinger R L. Scanometric DNA array detection with nanoparticle probes[J]. *Science*, 2000, 289(5485): 1757–1760.
- [18] Chen G, Liu D, He C B, et al. Enzymatic synthesis of periodic DNA nanoribbons for intracellular pH sensing and gene silencing[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(11): 3844–3851.
- [19] Hamblin G D, Carneiro K M M, Fakhoury J F, et al. Rolling circle amplification–templated DNA nanotubes show increased stability and cell penetration ability[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(6): 2888–2891.
- [20] Ouyang X Y, Li J, Liu H J, et al. Rolling circle amplification–based DNA origami nanostructures for intracellular delivery of immunostimulatory drugs[J]. *Small*, 2013, 9(18): 3082–3087.
- [21] Sun W J, Jiang T Y, Lu Y, et al. Cocoon–like self–degradable DNA nanoclew for anticancer drug delivery[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2014, 136(42): 14722–14725.
- [22] Yan J, Hu C Y, Wang P, et al. Growth and origami folding of DNA on nanoparticles for high–efficiency molecular transport in cellular imaging and drug delivery[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2015, 54(8): 2431–2435.
- [23] Carvalho C, Santos R X, Cardoso S, et al. Doxorubicin: The good, the bad and the ugly effect[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2009, 16(25): 3267–3285.
- [24] Tacar O, Sriamornsak P, Dass C R. Doxorubicin: An update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems[J]. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2013, 65(2): 157–170.
- [25] Zhu G, Zheng J, Song E, et al. A Self–assembled, aptamer–tethered DNA nanotrains for targeted transport of molecular drugs in cancer theranostics[J]. *PNAS*, 2013, 110(20): 7998–8003.
- [26] Jiang Q, Song C, Nangreave J, et al. DNA origami as a carrier for circumvention of drug resistance[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(32): 13396–13403.
- [27] Zhao Y X, Shaw A, Zeng X, et al. DNA origami delivery system for cancer therapy with tunable release properties[J]. *ACS Nano*, 2012, 6(10): 8684–8691.
- [28] Zhang Q, Jiang Q, Li N, et al. DNA origami as an *in vivo* drug delivery vehicle for cancer therapy[J]. *ACS Nano*, 2014, 8(7): 6633–6643.
- [29] Mei L, Zhu G Z, Qiu L P, et al. Self–assembled multifunctional DNA nanoflowers for the circumvention of multidrug resistance in targeted anticancer drug delivery[J]. *Nano Research*, 2015, 8(11): 3447–3460.
- [30] Kanzler H, Barrat F J, Hessel E M, et al. Therapeutic targeting of innate immunity with Toll–like receptor agonists and antagonists[J]. *Nature Medicine*, 2007, 13(5): 552–559.
- [31] Krieg A M, Yi A K, Matson S, et al. CpG motifs in bacterial–DNA trigger direct B–cell activation[J]. *Nature*, 1995, 374(6522): 546–549.
- [32] Klinman D M. Immunotherapeutic uses of CpG oligodeoxynucleotides[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2004, 4(4): 248–257.
- [33] Schuller V J, Heidegger S, Sandholzer N, et al. Cellular immunostimulation by CpG–sequence–coated DNA origami structures[J]. *ACS Nano*, 2011, 5(12): 9696–9702.
- [34] Zhang L Q, Zhu G Z, Mei L, et al. Self–assembled DNA immunonanoflowers as multivalent CpG nanoagents[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2015, 7(43): 24069–24074.
- [35] Qu Y J, Yang J J, Zhan P F, et al. Self–assembled DNA dendrimer nanoparticle for efficient delivery of immunostimulatory CpG motifs[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(24): 20324–20329.
- [36] Lee H, Lytton–Jean A K R, Chen Y, et al. Molecularly self–assembled nucleic acid nanoparticles for targeted *in vivo* siRNA delivery[J]. *Nature Nanotechnology*, 2012, 7: 389–393.
- [37] Gu Z, Biswas A, Zhao M X, et al. Tailoring nanocarriers for intracellular protein delivery[J]. *Chemical Society Reviews*, 2011, 40(7): 3638–3655.
- [38] Leader B, Baca Q J, Golan D E. Protein therapeutics: A summary and pharmacological classification[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2008, 7(1): 21–39.
- [39] Scott A M, Wolchok J D, Old L J. Antibody therapy of cancer [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2012, 12(4): 278–287.
- [40] Liu X W, Xu Y, Yu T, et al. A DNA nanostructure platform for directed assembly of synthetic vaccines[J]. *Nano Letters*,

- 2012, 12(8): 4254–4259.
- [41] Crawford R, Erben C M, Periz J, et al. Non-covalent single transcription factor encapsulation inside a DNA cage[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2013, 52(8): 2284–2288.
- [42] Brodin J D, Sprangers A J, Mcmillan J R, et al. DNA-mediated cellular delivery of functional enzymes[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(47): 14838–14841.
- [43] Modi S, Swetha M G, Goswami D, et al. A DNA nanomachine that maps spatial and temporal pH changes inside living cells [J]. *Nature Nanotechnology*, 2009, 4: 325–330.
- [44] Bhatia D, Surana S, Chakraborty S, et al. A synthetic icosahedral DNA-based host-cargo complex for functional *in vivo* imaging[J]. *Nature Communication*, 2011, 2: 339.
- [45] Modi S, Nizak C, Surana S, et al. Two DNA nanomachines map pH changes along intersecting endocytic pathways inside the same cell[J]. *Nature Nanotechnology*, 2013, 8: 459–467.
- [46] Bhatia D, Arumugam S, Nasilowski M, et al. Quantum dot-loaded monofunctionalized DNA icosahedra for single-particle tracking of endocytic pathways[J]. *Nature Nanotechnology*, 2016, 11: 1112–1119.
- [47] Veetil A T, Chakraborty K, Xiao K N, et al. Cell-targetable DNA nanocapsules for spatiotemporal release of caged bioactive small molecules[J]. *Nature Nanotechnology*, 2017, 12: 1183–1189.
- [48] Amir Y, Ben-Ishay E, Levner D, et al. Universal computing by DNA origami robots in a living animal[J]. *Nature Nanotechnology*, 2014, 9(5):353–357.
- [49] Arnon S, Dahan N, Koren A, et al. Thought-controlled nanoscale robots in a living host[J]. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0161227.
- [50] Li S P, Jiang Q, Liu S L, et al. A DNA nanorobot functions as a cancer therapeutic in response to a molecular trigger *in vivo* [J]. *Nature Biotechnology*, 2018, 36(3): 258–264.
- [51] Jiang D W, Ge Z L, Im H J, et al. DNA origami nanostructures can exhibit preferential renal uptake and alleviate acute kidney injury[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2018, 2(11): 865–877.
- [52] Ponnuswamy N, Bastings M M C, Nathwani B, et al. Oligo-lysine-based coating protects DNA nanostructures from low-salt denaturation and nuclease degradation[J]. *Nature Communication*, 2017, 8:15654.
- [53] K. Ren W, Y. Liu, J. Wu, et al. A DNA dual lock-and-key strategy for cell-subtype-specific siRNA delivery[J]. *Nature Communication*, 2016, 7: 13580.

Drug delivery based on DNA nanorobots

JIANG Qiao¹, WEI Yu^{1,2}, LI Can², SONG Linlin¹, DING Baoquan^{1*}, ZHAO Yuliang^{1*}

1. Nanoscience, National Center for NanoScience and Technology, Beijing 100190, China

2. Bio-X Institutes, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200030, China

Abstract Natural mechanical devices carry out critical tasks for cell function, including DNA replication, intracellular transport, ion pumping and cell motility. Inspired by nature, artificial devices and machines on the molecular scale have been bottom-up designed, constructed, and operated. The unique chemical and physical properties enable DNA molecules to serve as building blocks to construct artificial, machine-like nanostructures. DNA nanostructures are characteristic of the uniform sizes and shapes, precise spatial addressability and reconfigurable mechanical operation as well as excellent biocompatibility, showing great promise for drug delivery. After integrating specific functional moieties on addressable structures, therapeutic DNA nanorobots have been constructed, which can deliver cargoes to target diseased cells or region, responsively release the loaded drugs and enhance the therapeutic efficacy. The molecular cargoes attached to DNA-based nanocarriers are usually three types: small molecular drugs, functional oligonucleotides, and therapeutic proteins. In this review, recent advances of DNA nanocarriers and therapeutic nanorobots for intelligent drug delivery are summarized. The challenges and future perspectives regarding functional DNA materials are discussed.

Keywords DNA nanocarriers; therapeutic DNA nanorobots; drug delivery systems; small molecules drugs; oligonucleotides drugs; proteins drugs ●



(责任编辑 田恬)