教学研究

DOI: 10.3724/SP.J.1123.2025.10029

基于琼脂糖凝胶电泳的二进制加密综合实验

段金伟[1,2*]，马 蕾[1]，赵 倩[2]，仵倩倩[2]，辛博宇[3]，
杨佳桦[3]，李 垚[4]，王其召[5*]

（1. 长安大学理学院，陕西 西安 710064；2. 陕西维世诺生物科技有限公司，陕西 西安 710304；
3. 长安大学材料科学与工程学院，陕西 西安 710064；4. 长安大学地球科学与资源学院，
陕西 西安 710054；5. 长安大学水利与环境学院，陕西 西安 710054）

摘要：本实验基于一个 4 位（4-bit）脱氧核糖核酸（DNA）纳米开关，通过特定 DNA 单链触发“线性-环状”构象转换，利用二者在凝胶电泳中的迁移差异实现数字的二进制编码。当不同构象开关组合时，这些组合可表示不同信息。本实验受有机化学“保护-脱保护”策略启发，引入核糖核酸（RNA）保护链以阻止环状结构形成，构建了信息加密系统。该系统利用核糖核酸酶 A 特异性酶切脱保护，恢复信息读取，构建了 RNA 调控的加密系统。本实验通过整合 DNA 纳米技术、二进制编码与化学保护策略，使琼脂糖凝胶电泳贯穿整个实验，实现了从分子构建到信息读写的全程可视化。这不仅使学生掌握了凝胶电泳操作，深化了对电泳分离机制与分子构效关系的理解，而且通过接触分子信息编码、DNA 纳米技术等前沿领域，有效激发了学生的创新思维与跨学科问题的解决能力。

关键词：脱氧核糖核酸纳米开关；琼脂糖凝胶电泳；核糖核酸调控保护；核糖核酸酶 A；信息加密与解密

中图分类号：O658 **文献标识码**：A

Binary encryption comprehensive experiment based on agarose gel electrophoresis

DUAN Jinwei[1,2*], MA Lei[1], ZHAO Qian[2], WU Qianqian[2], XIN Boyu[3],
YANG Jiahua[3], LI Yao[4], WANG Qizhao[5*]

(*1. College of Sciences, Chang'an University, Xi'an 710064, China; 2. Shaanxi Weishinuo Biotechnology Co. Ltd., Xi'an 710304, China; 3. School of Materials Science and Engineering, Chang'an University, Xi'an 710064, China; 4. School of Earth Sciences and Resources, Chang'an University, Xi'an 710054, China; 5. School of Water and Environment, Chang'an University, Xi'an 710054, China*)

Abstract: This experiment is based on a 4-bit deoxyribonucleic acid (DNA) nanoswitch, in which specific DNA single strands trigger a "linear-to-circular" conformational transition. By leveraging the migration differences between the two conformations in gel electrophoresis, digital binary encoding is achieved. Different combinations of conformational switches can represent distinct information. Inspired by the "protection-deprotection" strategy in organic chemistry, an ribonucleic acid (RNA) protection strand is introduced to prevent the formation of the circular structure, thereby establishing

收稿日期：2025-10-31

* **通信联系人**. Tel:029-82334820, E-mail:duanjw@chd.edu.cn(段金伟); Tel:029-82339952, E-mail:qzwang@chd.edu.cn(王其召).

基金项目：长安大学 2025 年度本科教育教学改革研究项目（BZ202541）；中国交通教育研究会 2024-2026 年度教育科学研究课题（JT2024YB439）；2024 年长安大学研究生教育教学改革项目（300103140066，300103111201）；2024 年教育部产学合作协同育人项目（230718473307303）.

Foundation item: Chang'an University 2025 Undergraduate Education and Teaching Reform Research Project (No. BZ202541); China Transportation Education and Research Association 2024-2026 Educational Science Research Project (No. JT2024YB439); 2024 Chang'an University Postgraduate Education and Teaching Reform Project (Nos. 300103140066, 300103111201); 2024 Ministry of Education Industry-Academy Cooperation Collaborative Education Program (No. 230718473307303).

本文为“全国大学生化学实验创新设计大赛专辑”稿件.

an information encryption system. The system utilizes ribonuclease A (RNase A) for specific enzymatic cleavage to remove the protection, restoring information readout and establishing an RNA-regulated encryption system. By integrating DNA nanotechnology, binary encoding, and chemical protection strategies, agarose gel electrophoresis is applied throughout the entire experimental process, enabling full visualization from molecular construction to information read-write. This approach not only helps students master gel electrophoresis techniques and deepen their understanding of electrophoretic separation mechanisms and structure-activity relationships at the molecular level, but also exposes them to cutting-edge fields such as molecular information encoding and DNA nanotechnology, effectively stimulating innovative thinking and interdisciplinary problem-solving skills.

Keywords: deoxyribonucleic acid nanoswitch (DNA nanoswitch); agarose gel electrophoresis; ribonucleic acid-regulated protection; ribonuclease A; information encryption and decryption

将前沿科学成果融入本科理论和实验教学已成为新工科背景下的重要育人路径[1-4]。这种方式不仅能打破传统课程的知识壁垒，而且通过模块化设计可适配教学的可操作性，并以其前沿性特征有效激发学生创新思维[5,6]。

然而，当前大学化学课程如《无机化学》《物理化学》等虽已涵盖电泳原理并开设相关实验，但学生的认知多停留于原理和操作层面，对电泳在生物分子分离及表征等领域的系统认知仍显不足。近年来，科学家开发了识别生肉物种来源的等电点条形码[7,8]、基于实时聚丙烯酰胺凝胶电泳检测多糖的糖类图谱仪[9]，以及基于电泳图构建的鉴别不同重构治疗性单克隆抗体方法[10]等。由此可见，学生的认知断层与凝胶电泳的应用潜力共同凸显了创新设计综合凝胶电泳实验的必要性[11,12]。

脱氧核糖核酸(DNA)纳米技术凭借碱基互补配对的精准可控性，已在信息加密等领域展现出巨大的应用潜力[13-16]。琼脂糖凝胶电泳因操作简便、结果可视化等优点，成为该领域的通用表征技术，在实验教学中具有很高的教学价值。最近，长安大学段金伟课题组[17,18]、西北大学陈方方课题组[19]尝试将 DNA 纳米技术和前沿科研成果引入本科实验教学中，取得了很好的教学成效。近年来，Halvorsen 等[20,21]报道了一个全新的纳米级的定性定量分析实验平台-DNA 纳米开关；与传统凝胶电泳依靠相对分子质量差异分离不同，DNA 纳米开关利用构型差异实现区分。这一特性为在本科实验中帮助学生深入理解分子构型与电泳迁移速率之间的关系提供了绝佳载体。

基于 DNA 纳米开关，Chandrasekaran 等[22]利用线性与环状 DNA 纳米开关在电泳迁移率上的差异，设计了具有不同分子直径的 DNA 纳米开关，并结合核酸核糖酶 H(ribonuclease H, RNase H)的精准调控，成功实现了分子级字母信息编码。与传统电子加密技术相比，DNA 加密技术凭借其独特的分子自组装特性和酶响应机制，在信息安全性、存储密度等方面展现出巨大潜能。这自然引出一个值得探索的问题：如何利用琼脂糖凝胶电泳的迁移特性构建二进制信息编码方案，并进一步借助 DNA 纳米开关的构象转换机制实现该信息的加密与解密？

为此，本实验以 DNA 纳米开关为基础，将二进制信息表达与有机化学中的“保护-脱保护”策略等相融合，设计了一种由核糖核酸(RNA)调控的二进制加密创新机制。通过不同 DNA 纳米开关组合实现二进制信息的高效存储，利用 RNA 与检测链的配对形成位阻，实现信息加密，借助核酸核糖酶 A (ribonuclease A，RNase A)降解 RNA 链脱保护实现解密。最后，通过琼脂糖凝胶电泳条带差异实现信息可视化读取。整个实验中，琼脂糖凝胶电泳技

引用本文：段金伟，马蕾，赵倩，仵倩倩，辛博宇，杨佳桦，李垚，王其召. 基于琼脂糖凝胶电泳的二进制加密综合实验. 色谱，2026，44(4)：486-495.

DUAN Jinwei, MA Lei, ZHAO Qian, WU Qianqian, XIN Boyu, YANG Jiahua, LI Yao, WANG Qizhao. Binary encryption comprehensive experiment based on agarose gel electrophoresis. Chinese Journal of Chromatography, 2026, 44(4): 486-495.

术贯穿了 DNA 纳米开关制备及表征、机理验证、非特异性酶攻击测试以及数据加密解密等环节。此外，我们还对该综合实验实施了模块化设计。该实验不仅能帮助学生牢牢掌握凝胶电泳技术的原理和操作，深入理解其在 DNA 纳米开关分子构效关系解析中的应用，而且通过“分子编程”理念使学生直观接触 DNA 纳米技术和分子加密等前沿领域，从而有效促进跨学科思维的培养。

1 实验原理

1.1 电泳原理

在外电场的作用下，带有电荷的溶胶粒子作定向迁移，称为电泳[23]。影响电泳的因素有相对分子质量、粒子大小与形状、表面电荷数目、溶剂中电解质的种类与离子强度、pH、温度及所加电压等。电泳类型多样，生物化学中常用凝胶电泳，如琼脂糖凝胶电泳分离 DNA、聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质，依据带电粒子在电场中迁移速率的差异实现分离。DNA 因其磷酸骨架带负电，在电泳时向正极迁移[24]。

核酸在电场中迁移时，受两种方向相反的作用力[25]，即电场力（F）和摩擦力（F_f），分别见式（1）和式（2）。

$$F=qE=qU/d \tag{1}$$

$$F_f=fv \tag{2}$$

其中，q 为颗粒所带的电量；$E=U/d$ 为电场强度；U 为两电极间的电势差（V）；d 为两电极间的距离（cm）；f 为摩擦系数（与颗粒的形状、大小和介质黏度有关）；v 为核酸泳动速度（cm/s）；当颗粒以恒定速率移动时，$F=F_f$，即 $qE=fv$。在浓度一定的琼脂糖凝胶中，电泳迁移率（μ）可由式（3）计算得到。

$$\mu=v/E=q/f \tag{3}$$

由式 3 可知：核酸相对分子质量和形状不同，μ 亦不同。相对分子质量越大，f 越大，迁移速率越慢；相对分子质量相同时，线性 DNA 的 f 小于环状 DNA，迁移速率更大。

1.2 信息编码原理

如图 1 所示，将 M13mp18 DNA 线性单链、149 条短寡核苷酸链及 5 条检测链 D_0、D_1、D_2、D_3 和 D_4 混合，在聚合酶链反应核酸扩增仪（PCR 仪）中经“退火”程序形成线性 DNA 纳米开关。本实验中，检测链 D_1、D_2、D_3 和 D_4 以间隔 600 nt 的方式依次插

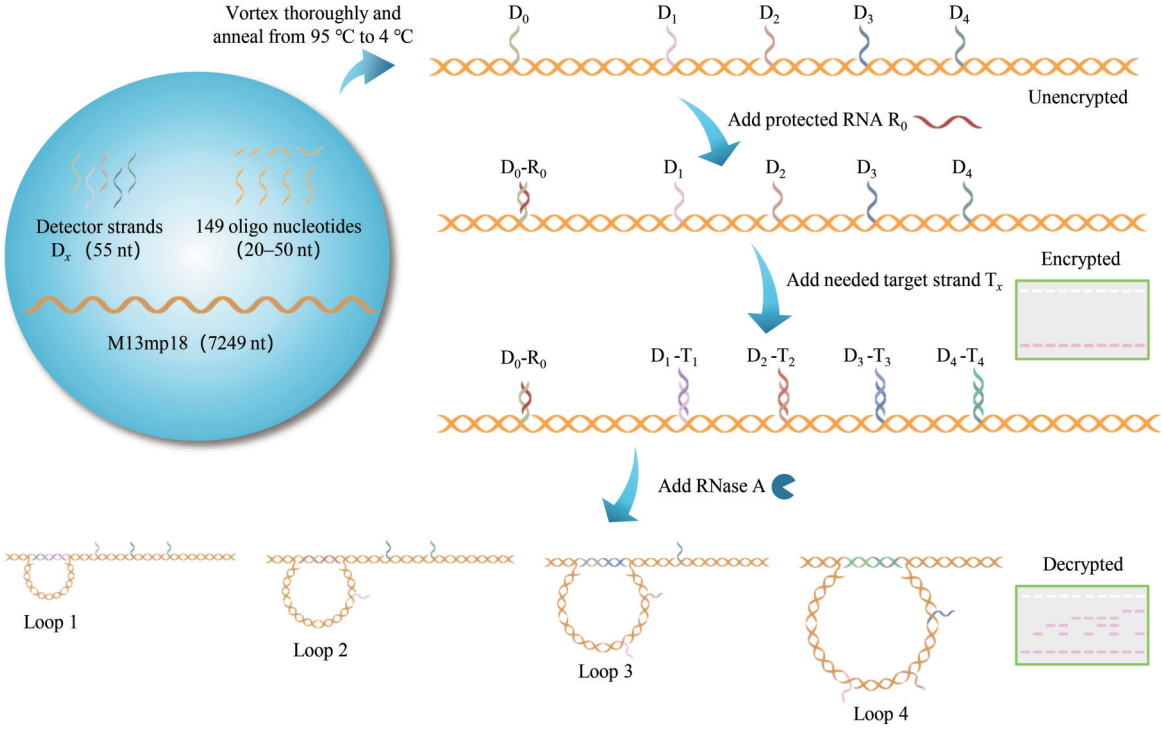


图 1 RNA 保护调控的 DNA 纳米开关二进制加密原理图

Fig. 1 Schematic diagram of binary encryption based on an ribonucleic acid (RNA)-protected deoxyribonucleic acid (DNA) nanoswitch

RNase: ribonuclease A.

入到线性 DNA 纳米开关中，构成一个 4-bit 的 DNA 纳米开关体系。未添加 RNA 保护链 R_0 时，加入目标链 T_x 可同时与检测链 D_0 及相应的 D_x 通过碱基互补配对，驱动开关发生从线性结构到环状的拓扑结构转变。具体而言，目标链 T_1、T_2、T_3、T_4 分别桥接 D_0 与 D_1、D_0 与 D_2、D_0 与 D_3、D_0 与 D_4，从而诱导形成 4 种环状 DNA 纳米开关 Loop 1~4。这些环状结构的相对分子质量相近，但环直径的大小依次递增（Loop 1<Loop 2<Loop 3<Loop 4），构成了一系列构型不同、可通过凝胶电泳区分的环状 DNA 纳米开关。不同 DNA 纳米开关在凝胶电泳中呈现差异化：开关 Loop 环直径越大，f 越大，则 μ 越小。因此，该特性可用于二进制编码及基于凝胶电泳的信息可视化读取。

本实验用 DNA 纳米开关在电泳中是否存在条带分别表示二进制的 1 和 0，通过 4 种不同分子直径的 DNA 纳米开关组合对应 4 位的二进制编码（例如“1001”表示数字 9）。如图 2a 所示，在凝胶电泳中，同一个泳道自上而下的条带分别对应 Loop 4、Loop 3、Loop 2 和 Loop 1，依序表示 2^3、2^2、2^1 和 2^0。通过识别条带存在（记为 1）或缺失（记为 0），并计算其对应二进制位的加权和（例如：“1001”表示 $2^3+0+0+2^0=9$），可实现数字 0~9 的二进制编码。将编码不同数字的 DNA 纳米开关混合液按需组合，即可实现信息的分子存储。基于琼脂糖凝胶电泳，可对该存储信息进行可视化读取。

1.3　信息加密-解密

根据有机化学“保护-脱保护”思想，本实验提出了 RNA 保护链调控机制，基于 DNA 纳米开关实现了信息的加密与解密。加密阶段，保护链 R_0 与线性 DNA 纳米开关的检测位点 D_0 碱基互补配对（图 1），阻止目标链 T_x 与 D_0 配对触发拓扑构象转换，此时凝胶电泳仅显示线性条带（图 2b），无法读取存储信息，实现信息加密。解密阶段，利用 RNase A 酶对 RNA 的特异性降解作用，降解保护链 R_0 后重新暴露出 D_0（图 1）。此时，目标链 T_x 可触发纳米开关拓扑构象转换，形成环状 DNA 纳米开关。最后，通过琼脂糖凝胶电泳（图 2c）即可实现信息的可视化读取。

本实验的教学重点在于：（1）理解基于 RNA 保护的 DNA 纳米开关的信息加密机制；（2）掌握琼脂糖凝胶电泳的原理和操作；（3）掌握基于酶降解实现信息解密的策略及操作。教学难点在于：如何利用 RNA 和 RNase A 酶对 DNA 纳米开关编码的信息进行充分保护及降解。在实验过程中，样品的配制、移液器的使用熟练程度、加样是否准确和在琼脂糖凝胶中的上样操作等因素均会影响学生实验的成败。

2　实验部分

2.1　仪器、试剂与材料

T100PCR 仪和 PowerPac™ Basic 琼脂糖凝胶电泳系统（美国 Bio-Rad 公司）；G：BOX Chemi XRQ 化学发光成像系统（英国 Syngene 公司）。

环状 M13mp18 DNA 单链（陕西维世诺生物科技有限公司）；寡核苷酸序列短链（共 149 条，20~50 nt）、RNA 保护链 R_0（1 条，12 nt）、目标链 D_x（5 条 DNA 单链，每条 55 nt）和 $Na_2EDTA\cdot 2H_2O$（上海生工生物工程股份有限公司）；10 倍浓度的 Tris-硼酸缓冲液（10×TBE，上海生工生物工程股份有限公

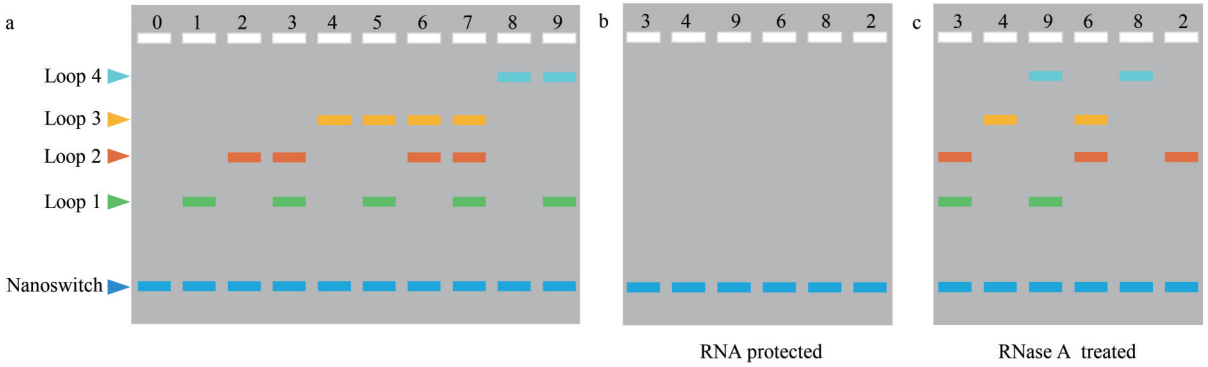


图 2　数字加密与解密示意图

Fig. 2　Schematic diagrams of digital encryption and decryption

a. schematic diagram of the binary encoding of digits 0–9; b. encryption of the password 349682 with an RNA protection strand; c. addition of ribonuclease A for decrypting and reading the digital password 349682.

司）；0.5 倍浓度的 Tris-硼酸缓冲液（0.5×TBE，用 10×TBE 稀释得到）；10×Cut Smart buffer、RNase A 酶、RNase H 酶、脱氧核糖核酸酶 I（deoxyribonuclease I，DNase I）酶和蛋白酶 K（proteinase K）（New England Biolabs）；琼脂糖和氯化镁（分析纯，上海麦克林生化科技股份有限公司）；6×DNA 上样缓冲液（6×Loading buffer）、10×Gel Red 核酸染料（10 000×Gel Red 稀释）、10×磷酸盐缓冲溶液（10×PBS）、1×磷酸盐缓冲溶液（1×PBS）（上海泰坦科技股份有限公司）。

2.2 表征方法

1.2% 琼脂糖凝胶电泳：称取 0.600 0 g 琼脂糖，置于 250 mL 锥形瓶中，加入 50 mL 0.5×TBE，摇匀后置于微波炉中加热得到凝胶溶液。冷却至 60 ℃，插上梳子，倒入凝胶盒中，排尽气泡，静置 20~30 min 至凝胶凝固。加入少许 0.5×TBE，轻轻拔出梳子，将凝胶放入电泳槽（注意：DNA 带负电，从负极向正极迁移，样品孔一端应靠近负极）。在样品中，分别加入 2 μL 6×Loading buffer 和 1 μL 10×Gel Red，混匀后依次上样。在室温下，以 100 V 电压（恒压）电泳 60 min，结束后将凝胶放入凝胶成像系统进行成像和分析。

2.3 DNA 纳米开关的制备

教师提前准备：（1）将 149 条 100 μmol/L 的寡核苷酸链各取 1 μL 混合于 200 μL PCR 管 1 中，同时将检测链 D_0~D_4 各取 1 μL 混合于 200 μL PCR 管 2 中。随后从管 1 和管 2 分别移取 29.8 μL 和 1 μL 至管 3 中混匀，配制混合物（Mixture）。（2）将环状 M13mp18 DNA 单链酶切成线性 M13mp18 单链备用，具体方法见参考文献[21]。

学生取 PCR 管 5 个，依次标记为 A、B、C、D、E，分别在管中加入 5 μL 100 μmol/L 教师提前准备的线性 M13mp18 DNA 单链、0.8 μL 教师提前准备的 Mixture、1 μL 100 mmol/L $MgCl_2$ 和 3.2 μL 超纯水。混匀后置于 PCR 仪中，先在 95 ℃保持 5 min，然后以 1 ℃/min 的速率降温至 25 ℃。取出后加入 190 μL 1×PBS 缓冲液将产物稀释 40 倍，得到 DNA 线性纳米开关 1 000 μL，确保后续实验用量。

另取 5 个 PCR 管，依次标记为 Loop 1、Loop 2、Loop 3、Loop 4 和 Loops。向每管中依次加入稀释后的线性 DNA 纳米开关 5 μL、10×PBS 1 μL 和 $MgCl_2$ 溶液 1 μL。随后，向管 Loop 1 中加入 1 μL 的目标链 T_1；管 Loop 2 中加入 1 μL 的目标链 T_2；管 Loop 3 中加入 1 μL 的目标链 T_3；管 Loop 4 中加入 1 μL 的目标链 T_4；在管 Loops 中加入目标链 T_1~T_4 各 1 μL（共 4 μL）。最后，向各管中加超纯水 2 μL，使反应体系总体积为 10 μL，混匀。将所有样品在室温下孵育 30 min，以制备 Loop 环直径不同的环状 DNA 纳米开关 Loop 1、Loop 2、Loop 3、Loop 4 及管 Loops 中的 Loop 1~4 的混合物。最后，通过 1.2% 琼脂糖凝胶电泳分析环状 M13mp18 单链、线性 M13mp18 单链、标号为 A、B、C、D、E 的 5 个 PCR 管中的线性开关、环状 DNA 纳米开关 Loop 1、Loop 2、Loop 3、Loop 4 和 Loop 1~4 的混合物。

2.4 RNA 调控机理验证

利用 R_0 保护检测链 D_0，在反应体系中分别加入 T_1、T_2、T_3、T_4 和 T_1~T_4 的混合物，验证 R_0（50 μmol/L）对 D_0 的保护效率。取 12 个 PCR 管，按表 1 配制反应体系。第 1 步在 25 ℃孵育 30 min 保护 D_0；第 2 步加入目标链 T_x 在 25 ℃孵育 30 min 实现信息加密；第 3 步在 37 ℃反应 10 min，使酶 RNase A 充分降解 R_0，实现对 D_0 的脱保护；第 4 步在 25 ℃孵育 30 min 使 T_x 与 D_0 充分配对，实现解密。最后，通过 1.2% 琼脂糖凝胶电泳进行信息可视化读取。

2.5 非特异性酶攻击测试

为评估加密系统对未授权解密尝试的抵抗力，本实验设计了非特异性酶攻击测试方案（表 2）。通过比较经 RNase A（授权解密酶）与其他 3 类未授权酶处理的解密效率，验证系统的特异性与抗干扰能力：①无酶处理（阴性对照）；②RNase A（阳性对照，10 mg/mL，37 ℃，10 min）；③RNase H（5 U/μL，37 ℃，30 min）；④DNase I（消化单/双链 DNA，1 U/μL，25 ℃，30 min）；⑤蛋白酶 K（20 mg/mL，55 ℃，60 min）。将含有纳米开关 Loop 1 的加密体系（R_0 保护+目标链 T_1）分别与上述酶 1 μL 在酶工作条件下共孵育。结束后统一在 25 ℃孵育 30 min 使 T_x 与 D_0 充分配对。最后，通过 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳分析解密情况。

2.6 信息“加密-解密”实验

由老师为每名学生随机指定 1 个 6 位数字密码，学生自行判断需要加入的目标链 T_x 进行实验。在实际教学中我们发现，很多同学无法准确判断需要加入的目标链。为了提高实验成功率，老师指导学生利用 DeepSeek（DeepSeek-V3.1）开发了一款

表 1　RNA 调控机理验证实验方案

Table 1　Experimental scheme for verifying the mechanism of RNA regulation

Step	Added	PCR tubes											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Step 1	diluted nanoswitch/μL	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	40	40
	R_0/μL		1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	4
	10×PBS/μL	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	8	8
	$MgCl_2$/μL	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	8	8
	ultrapure water/μL	6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	20	20
	Total/μL	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	80	80
Step 2	T_1/μL			1	1							1	1
	T_2/μL					1	1					1	1
	T_3/μL							1	1			1	1
	T_4/μL									1	1	1	1
Step 3	RNase A/μL				1		1		1		1		4
Step 4	incubate at 25 ℃ for 30 min to enable complete hybridization of T_x and D_0												

表 2　非特异性酶攻击测试实验方案

Table 2　Experiment of non-specific enzyme attack test

Step	Added	PCR tubes				
		1	2	3	4	5
Step 1	diluted nanoswitch/μL	10	10	10	10	10
	R_0/μL	1	1	1	1	1
	10× PBS/μL	2	2	2	2	2
	$MgCl_2$/μL	2	2	2	2	2
	ultrapure water/μL	5	5	5	5	5
Step 2	T_1/μL	1	1	1	1	1
Step 3	RNase A/μL		1			
	RNase H/μL			1		
	DNase I/μL				1	
	Proteinase K/μL					1
Step 4	incubate at 25 ℃ for 30 min to enable complete hybridization of T_x and D_0					

HTML 程序,用于验证目标链选择是否正确,提高实验效率。第 1 步,每人取 6 个 PCR 管,按表 2 Step 1 相同比例配制 RNA 保护样品 20 μL,25 ℃孵育 30 min。第 2 步,经 HTML 程序核对无误后,在 PCR 管中分别加入所需目标链 T_x,25 ℃孵育 30 min。然后从每管移取 10 μL 至另取的 6 个 PCR 管中作为解密组,原来的 6 个 PCR 管作为加密组。第 3 步,在解密组中各加入 1 μL RNase A 酶,37 ℃孵育 10 min 使 R_0 保护链被充分降解。第 4 步,加密组和解密组均在 25 ℃孵育 30 min,使解密组的目标链 T_x 与 D_0、D_x 充分反应。最后,以 1.2% 琼脂糖凝胶电泳对加密组与解密组的 12 个样品进行分析,实现密码信息的可视化读取。

3　结果与讨论

3.1　DNA 纳米开关的构象表征

实验结果如图 3 所示:相比于线性 M13mp18 单链,制备的 5 份线性 DNA 纳米开关的迁移距离更短。说明形成线性开关后相对分子质量增大,迁移速率变慢(图 3a)。从图 3b 可以观察到 Loop 1~4 的迁移距离随 Loop 环直径的增大而减小,说明环状 DNA 纳米开关制备成功。当加入所有 T_x 时,图 3b 泳道 5 中呈现出 5 个条带,自上而下依次对应 Loop 4、Loop 3、Loop 2、Loop 1 和 nanoswitch。进一步证实了相对分子质量接近但构型不同的环状 DNA 纳米开关在同一浓度的凝胶中迁移速率不同。

3.2　RNA 保护链的加密效率与 RNase A 酶解密验证

分别将 2.4 节制备的样品用 1.2% 的琼脂糖凝胶进行分析表征,结果如图 4 所示。对比泳道 1~3 的条带可见:泳道 3 中没有观察到环状 DNA 纳米开关对应的条带,说明加入 1 μL R_0 保护链(终浓度 2.5 μmol/L)完全阻止了 Loop 1 的形成;泳道 5、7、9 的结果进一步说明,加入 R_0 保护链后,其他目标链也无法触发开关从线性向环状结构转变。由此可见,R_0 的加入对所有存储信息实施了高效加密,泳道 11 的结果也支持该结论。随后,在加密体系中各加入 1 μL RNase A 进行酶切处理,泳道 4、6、8、10、12 中均出现了对应的 Loop 条带。这说明 RNase A 通过酶切有效降解了保护链 R_0,重新暴露了 D_0 上的配对位点,使其得以与 T_x 结合,触发开关

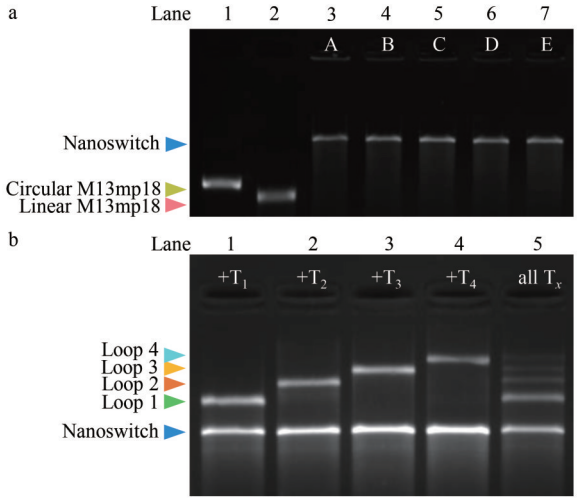


图 3 DNA 纳米开关制备及验证

Fig. 3 Preparation and verification of DNA nanoswitches

a. Lane 1: circular M13mp18 DNA; Lane 2: linear M13mp18 DNA; Lanes 3–7: linear nanoswitches in tubes of A, B, C, D, and E in sequence. b. Lanes 1–4: nanoswitches Loop 1, Loop 2, Loop 3, and Loop 4 in sequence; Lane 5: a mixed sample of Loop 1–4.

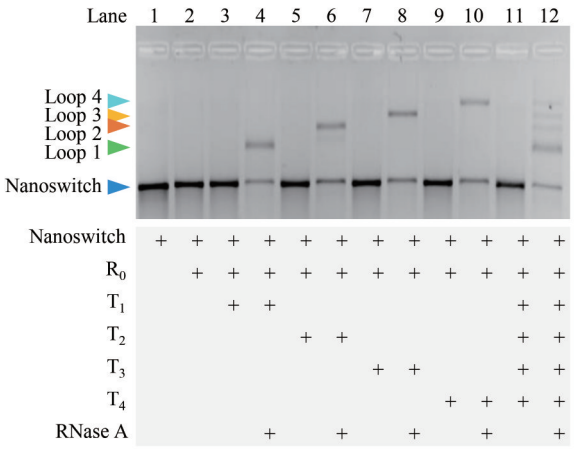


图 4 RNA 调控机理验证

Fig. 4 Verification of the RNA regulation mechanism

Lane 1: linear DNA nanoswitch (control); Lane 2: D_0 was protected by R_0; Lanes 3, 5, 7, 9, 11: R_0-protected D_0 prevented the formation of Loops 1-4; Lanes 4, 6, 8, 10, 12: after RNase A-mediated deprotection of D_0, the corresponding loops were formed.

的拓扑构象转化,从而实现了信息解密。

3.3 加密系统的特异性与抗干扰能力分析

对 R_0 保护的纳米开关 Loop 1 进行酶攻击实验凝胶电泳结果如图 5 所示。以 RNase A 处理组为阳性对照,无酶处理组为阴性对照(Control)。电泳结果表明:泳道 2(添加 RNase A):出现了 Loop 1 特征条带,表明 RNase A 降解了保护链 R_0,然后 T_1 触发构象转换形成了 Loop 1。泳道 3~5(分别添加 RNase H、DNase I、蛋白酶 K):与泳道 1(Control)一样均没有观察到 Loop 1 对应的条带(DNase I 完全降解了 DNA,泳道 4 中无条带显示)。说明除 RNase A 外,其他酶无法解除 R_0 对 D_0 的保护,本系统只能通过 RNase A 的特异性酶切才能实现可控解密。

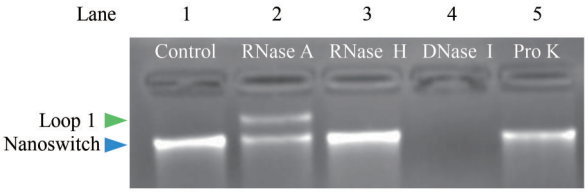


图 5 非特异性酶攻击测试凝胶结果图

Fig. 5 Gel results diagram of non-specific enzyme attack tests

RNase H: ribonuclease H; DNase I: deoxyribonuclease I; Pro K: proteinase K.

3.4 信息“加密-解密”的可行性验证

学生独立开展加密-解密实验的结果如图 6 所示。加密阶段:3 组样品经 25 ℃孵育 30 min 后进行琼脂糖凝胶电泳分析,发现泳道中均仅显示线性 DNA 纳米开关对应的条带(图 6 中间图)。表明 R_0 的存在成功阻断了目标链 T_x 与 D_0 和 T_x 的碱基互补配对,实现了信息加密。解密阶段:加入 RNase A 进行特异性酶切后,琼脂糖凝胶电泳图(图 6 右图)呈现的条带与图 6 左图预设的信息完全吻合。说明本实验具有优异的成功率、可重复性和生物特异性解密等特征。

4 实验的组织实施及教学反思

4.1 实验的组织实施

本综合实验采取模块化教学,总用时不超过 12 h,分为 DNA 纳米开关制备、RNA 调控机理验证、非特异性酶攻击实验、信息“加密-解密”实验 4 个模块。通过琼脂糖凝胶电泳将 4 个模块串联成一个综合实验。每个模块都会开展“制胶-上样-跑胶-成像分析”的练习,通过 4 次重复练习帮助学生充分掌握凝胶电泳的原理及操作。

其中,模块 1“DNA 纳米开关制备”用时约 170 min,学生需制备 Loop 环直径不同的环状 DNA 纳米开关并通过琼脂糖凝胶电泳进行表征。模块 2“RNA 调控机理验证”用时约 170 min,学生需使用 R_0 对检测链 D_0 进行保护、使用酶 RNase A 充分降

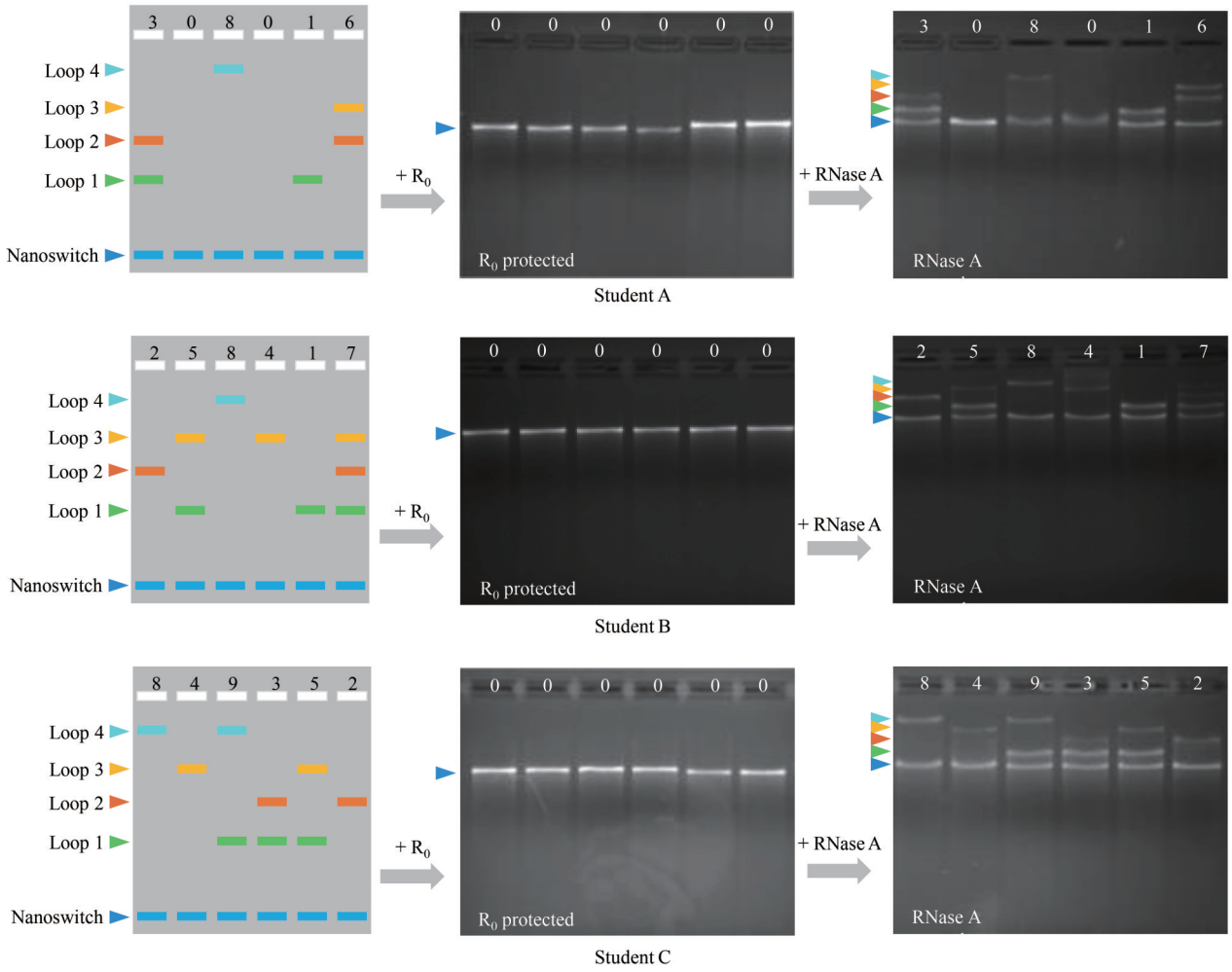


图 6　学生 A、B、C 信息加密-解密结果示意图

Fig. 6　Schematic diagrams illustrating the information encryption and decryption results for students A, B, and C

Left: preset information map; Middle: R_0-protected encrypted information gel image; right: RNase A-deprotected decrypted information gel image.

解 R_0 实现对 D_0 的脱保护并进行凝胶电泳的验证。模块 3“非特异性酶攻击测试”用时约 220 min，学生需要通过不同酶对加密体系进行脱保护实验，并通过琼脂糖凝胶电泳分析解密情况。模块 4“信息‘加密-解密’实验”用时约 160 min，学生需根据实验原理完成老师随机分发的密码的加密和解密实验，并通过琼脂糖凝胶电泳进行验证。当然，可以根据教学具体情况，灵活安排实验内容，如在教学过程中同步进行多个模块的实验，可以大幅缩短实验所需时间。

4.2　教学反思

本实验综合运用化学保护策略、二进制算法与 DNA 纳米技术，将琼脂糖凝胶电泳技术贯穿到整个实验中，实现了从单一的 DNA 分离向分子构效关系解析的拓展。通过跨学科思维训练与前沿技术实践，旨在引导学生掌握琼脂糖凝胶电泳与成像分析、分子信息编码等基础理论与操作技能，提升其跨学科整合与解决实际问题的能力。因此，该实验可作为创新性综合实验或选修实验，面向化学类、医药类、环境类等专业二年级及以上本科生开设。

在教学实施过程中，将琼脂糖凝胶电泳技术贯穿整个实验流程。通过模块化设计及 4 次重复训练，有效强化了学生的操作能力，并深化了他们对技术原理的理解。从实施情况来看，绝大多数实验小组表现出浓厚的兴趣，并能在 12 h 内完成实验。尤为可喜的是，部分学生展现了出色的创新能力，如提出通过保护不同检测链实现信息加密与解密，或利用该策略实现二进制数的四则运算，充分体现了其创新思维与跨学科思维能力的提升。

然而，教学过程中也发现部分学生的实验结果

与预期存在偏差，主要体现在以下 3 个方面：(1)对实验原理理解不足，导致目标链选择错误。为此，教师指导学生利用 DeepSeek 平台开发了 HTML 密码验证程序，通过模拟验证增强理解，提高实验成功率。(2)微量移液器操作不熟练，影响加样精度。实验前安排了专项练习，要求学生移取 1 μL 超纯水并用分析天平称量，以量化评估操作准确性。(3)凝胶上样时因样品孔可视性差，易戳破胶孔或加样不全。通过在电泳槽下方垫白纸增强对比度，有效改善了上样准确性。

此外，为确保实验安全，所有学生在实验前须完成安全培训。培训内容需强调：处理高温琼脂糖溶液时应穿戴耐热手套及护目镜；连接电泳槽电极时须确保正负极正确对应；含有核酸染料（如 GelRed™）的凝胶需经高压蒸汽灭菌后，再置于生物危害专用容器中废弃处理；实验全程应佩戴丁腈手套，避免直接接触潜在生物或化学风险物质。

目前，本实验已在我校环境类、材料类和资源类专业中完成了初步教学实践。随机调查显示，绝大多数学生认为该实验融合了多学科知识，能够将理论知识与实际问题紧密结合，具有较强的挑战性，激发了大家的科研兴趣。在教学过程中，师生围绕实验改进和深度研究方案展开了积极互动，实现了教学相长，整体教学效果令人满意。

5 结语

全球数据的指数级增长对新型存储策略的开发提出了迫切需求，并推动了多种新策略的探索[26]。其中，蛋白质[27,28]和 DNA[29]等生物大分子作为天然信息载体，被视为极具潜力的下一代信息存储介质。而 DNA 用于数据存储优势明显，包括存储密度高，存储时间长，维护能耗低等[30]。与此同时，DNA 纳米技术的快速发展不断推动数据存储及读取技术不断进步，如基于荧光探针、光电信号和凝胶电泳[23]等方法的高效信息读取技术已取得了长足发展。

在此背景下，开发基于 DNA 纳米开关的二进制信息加密和解密实验，不仅有助于学生了解学科前沿动态，更能引导他们将理论知识与实际应用相结合，运用先进生物技术解决具体问题。教学实践表明：学生均可独立完成加密-解密操作（耗时约 12 h），并准确解析凝胶电泳图谱中蕴含的二进制信息。本实验兼具创新性与教学适配性：将 DNA 纳米加密成果转化为可重复的本科教学实验，不仅帮助学生掌握了琼脂糖凝胶电泳的原理和技能，而且深化了学生对电泳分离机制与生物分子构效关系的理解。此外，本实验具有较强的可复制性，易于在其他高校本科实验教学中进行推广。

参考文献：

[1] Zhong J X, Chen M C, Lin J H, et al. Chinese Journal of Chemical Education, 2025, 46(6): 42
钟均星, 陈敏嫦, 林景鸿, 等. 化学教育(中英文), 2025, 46(6): 42

[2] Duan J W, Wang Q Z, Li J J, et al. Chinese Journal of Chemical Education, 2023, 44(16): 94
段金伟, 王其召, 李佳佳, 等. 化学教育(中英文), 2023, 44(16): 94

[3] Guo J C, Yang Y, Ma M Y, et al. Chinese Journal of Chemical Education, 2024, 45(12): 44
郭佳聪, 杨洋, 马明远, 等. 化学教育(中英文), 2024, 45(12): 44

[4] Li C M, Yin D Z, Geng W C, et al. Chinese Journal of Chemical Education, 2021, 42(12): 63
李春梅, 尹德忠, 耿旺昌, 等. 化学教育(中英文), 2021, 42(12): 63

[5] Chen S Y, Huo K N, Qi K, et al. University Chemistry, 2024, 39(5): 274
陈珊莹, 霍康宁, 綦可, 等. 大学化学, 2024, 39(5): 274

[6] Duan J W, Wang K, Cui L, et al. Chinese Journal of Chemical Education, 2025, 46(10): 91
段金伟, 王康, 崔林, 等. 化学教育(中英文), 2025, 46(10): 91

[7] Liu T, Tian Y L, Cao Y R, et al. Food Res International, 2023, 166: 112600

[8] Tian Y L, Cao Y R, Zha G H, et al. Anal Chem, 2023, 95: 13941

[9] Zhu B J, Zhao J, Li S P. J Adv Res, 2026, 79: 151

[10] Tardif C, Jaccoulet E, Bellec J F, et al. Talanta, 2023, 260: 124633

[11] Shao S X, Yang X Y, Shen H Y, et al. Chinese Journal of Chemical Education, 2023, 44(8): 66
邵松雪, 杨兴宇, 沈海云, 等. 化学教育(中英文), 2023, 44(8): 66

[12] Chandrasekaran A R. J Chem Educ 2023, 100(1): 316

[13] Seeman N, Sleiman H. Nat Rev Mater, 2018, 3: 17068

[14] Ma W, Zhan Y, Zhang Y. et al. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 351

[15] Simmel F. Natural Computing Series. Singapore: Springer, 2023

[16] Koussa M, Halvorsen K, Ward A, et al. Nat Methods, 2015, 12: 123

[17] Duan J W, Zhao J T, Wang L Y, et al. Chinese Journal of Chemical Education, 2025, 46(16): 39
段金伟, 赵家婷, 王璐瑶, 等. 化学教育(中英文), 2025, 46(16): 39

[18] Sun S J, Zhao J T, Yuan Y L, et al. Chinese Journal of Chemical Education, 2024, 45(2): 59

孙四娟, 赵家婷, 袁云兰, 等. 化学教育(中英文), 2024, 45(2): 59
[19] Luo L, Xing Y K, Liu J X, et al. Chinese Journal of Chemical Education, 2025, 46(10): 55
罗岚, 邢宇琨, 刘吉祥, 等. 化学教育(中英文), 2025, 46(10): 55
[20] Halvorsen K, Schaak D, Wong W. Nanotechnology, 2011, 22(49): 494005
[21] Punnoose J, Halvorsen K, Chandrasekaran A. J Chem Educ, 2020, 97(5):1448
[22] Talbot H, Halvorsen K, Chandrasekaran A. ACS Synth Biol, 2023, 12(4): 978
[23] Fu X C, Hou W H. Physical Chemistry (Lower Volume). 6th ed. Beijing: Higher Education Press, 2022
傅献彩, 侯文华. 物理化学(下册). 6版. 北京: 高等教育出版社,2022.
[24] Robert F W. Molecular Biology. 5th ed. Zheng Y L, Ma J, Li Y H, et al. transl. Beijing: Science Press, 2013
Robert F W. Molecular biology. 5th ed. 郑用琏, 马纪, 李玉花, 等译. 北京: 科学出版社, 2013
[25] Wang J Y. Zhu S G, Xu C F. Essential Biochemistry. Beijing: Higher Education Press, 2008
王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学教程. 北京: 高等教育出版社, 2008
[26] Jiang S, Zong H, Sun Y M, et al. ACS Appl Mater Interfaces, 2025, 17(47): 64956
[27] Zhang A X, Wang L J, Zhai X W, et al. Adv Sci, 2025, 12: 2503790
[28] Luo B X, Gao S Y, Wu M H, et al. Commun Mater, 2025, 6: 183
[29] Wang S P, Mao X H, Wang F, et al. Adv Mater 2024, 36: 2307499
[30] Liu B Y, Wang F, Fan C H, et al. Adv Mater 2025, 37: 2412926