

DNA 折纸智能药物递送系统的研究进展

殷曾琳^{1,2}, 王曦维², 车津晶², 刘楠², 张慧², 王增明², 李见春^{1*}, 郑爱萍^{2*}

(1. 蚌埠医科大学药学院, 安徽蚌埠 233030; 2. 军事医学研究院国家安全特需药品全国重点实验室, 北京 100850)

摘要: DNA 折纸术是一种产生具有动态特性和智能可控纳米结构的强大技术。精确的几何形状、高度可编程性及优异的生物相容性使得 DNA 折纸纳米结构成为一种新兴的药物递送载体。载体材料的形状、大小及药物的负载和释放是影响药物生物利用度的重要因素。本文着重介绍了可控设计 DNA 折纸纳米结构、高效负载药物及智能释放药物, 归纳总结了 DNA 折纸技术在生物医学中的前沿应用, 最后讨论了研究人员可以在哪些方面为进一步推进 DNA 折纸载体的临床应用作出贡献。

关键词: DNA 折纸; 可编程性; 药物递送; 可控设计; 生物医学

中图分类号: R943 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2024)10-2741-10

Advances in DNA origami intelligent drug delivery systems

YIN Zeng-lin^{1,2}, WANG Xi-wei², CHE Jin-jing², LIU Nan², ZHANG Hui², WANG Zeng-ming²,
LI Jian-chun^{1*}, ZHENG Ai-ping^{2*}

(1. School of Pharmacy, Bengbu Medical University, Bengbu 233030, China; 2. State Key Laboratory of National Security Specially Needed Medicines, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: DNA origami is a powerful technique for generating nanostructures with dynamic properties and intelligent controllability. The precise geometric shapes, high programmability, and excellent biocompatibility make DNA origami nanostructures an emerging drug delivery vehicle. The shape, size of the carrier material, as well as the loading and release of drugs are important factors affecting the bioavailability of drugs. This paper focuses on the controllable design of DNA origami nanostructures, efficient drug loading, and intelligent drug release. It summarizes the cutting-edge applications of DNA origami technology in biomedicine, and discusses areas where researchers can contribute to further advancing the clinical application of DNA origami carriers.

Key words: DNA origami; programmability; drug delivery; controllable design; biomedicine

药物治疗是疾病治疗的主要方法, 但传统的药物或治疗方法会产生许多毒副作用。目前, 已开发出多种新型药物递送系统^[1], 包括天然系统 (细菌)^[2]、仿生系统 (模拟红细胞)^[3]、合成的有机系统 (脂质体)^[4]、合成的无机系统 (纳米金)^[5]和阳离子树状聚合物^[6]等。这些天然或是人工合成的药物递送系统能有效地提高

药物治疗效果, 其中一些载体已进入临床试验阶段或已获得批准用于临床治疗。然而新型药物载体也具有缺点, 比如几何结构缺乏均一性及难以对药物负载量和药物释放速率进行精确控制等^[7]。因此, 有必要设计具有可控性能的药物载体。

DNA 分子作为大多数生物的遗传物质, 具有独特的双螺旋结构、生物学功能和优异的生物安全性。基于碱基互补配对原则, DNA 序列具有丰富的多样性^[8]。20 世纪 80 年代, Seeman 首次提出了霍利迪连接体 (Holliday junction) 的设计, 将 DNA 从简单的一维双螺旋变成了二维延伸的纳米级聚合物, 开创了 DNA 纳米

收稿日期: 2024-02-02; 修回日期: 2024-07-09.

基金项目: 国家资助博士后研究人员 C 档 (GZC20233575); 军队后勤科研重点项目 (BWS21T015).

*通讯作者 Tel: 86-552-3175066, E-mail: lijc66577@sohu.com;

Tel: 86-10-66931694, E-mail: apzheng@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2024-0111

技术领域^[9]。2006年,加州理工学院罗斯曼德博士发明DNA折纸术,用2 nm宽DNA链编制成几十纳米大小的笑脸,成为里程碑的突破^[10]。DNA折纸技术是DNA纳米技术重要分支,使用互补的订书钉链对长单链DNA支架链进行纳米级折叠获得。DNA折纸纳米结构(DNA origami nanostructure, DON)具有优异的特性,包括结构多功能性、可编程性、空间寻址性、生物相容性和生物降解性等^[11],是一种新兴的药物递送载体^[12]。本文首先介绍了DNA折纸技术的可控设计,然后归纳了DON装载和释放药物的方式及在生物医学中的应用,最后展望了DON药物递送载体面临的机遇和挑战。

1 可控设计

互补DNA链之间碱基互补相互作用形成了DON可编程性和可寻址性的基础。因此,与传统纳米材料相比,DNA允许对影响药物递送载体性能的相关参数进行可控的设计^[7]。合理设计DON的大小、几何形状或电荷等,可以有效地提高药物递送效率。

1.1 大小及几何形状可控

通过计算机设计DNA序列,实现不同形状、大小和拓扑结构的DON的构建^[13]。这一技术的核心原理是将长单链DNA视为一种可塑性的“纸张”,在这个纸张上设计一系列特定长度的序列,与订书钉链进行互补配对,自组装成预先设计的大小结构。

DON的最新进展得益于设计工具的发展,计算机设计在DON开发中的应用极大地提高了其设计效率和准确性。从小尺寸到大尺寸、从一维到三维(3-dimension, 3D)结构,计算机辅助工具如CAD-Nano^[14,15]、MagicDNA^[16]等软件可帮助研究人员自动生成DNA序列、模拟折叠过程并优化实验条件,实现

了对DON大小及几何形状的精确控制。目前已成功制备长杆等一维结构^[17];五角星形、笑脸形及三角形DON等二维(2-dimension, 2D)平面结构^[10](图1A);方形盒子^[18](图1B)、二十面体^[19](图1C)等3D立体结构,以满足多种应用需求。

DON大小形状会影响细胞摄取的途径和效率。Zeng等^[20]比较了负载多柔比星(doxorubicin, DOX)的2D和3D的DON在哺乳动物乳腺癌细胞中的摄取效率,3D三角形框架DON比2D交叉或矩形DON具有增强的细胞摄取行为。目前已经有研究证明,形状紧密且低长宽比的DON更容易被细胞摄取并内化^[21];不同大小形状DON具有特定的功能,例如,基于DNA独特的结构基序和自识别特性,Andersen等^[18]设计出具有可控性能的方形盒子,该纳米盒可用于检测特定的序列,或是作为载体用于储存药物并在一定条件下释放,从而实现疾病的靶向治疗;此外,具有较强刚性的二十面体DON是具有等边三角形性质的规则多面体,其能形成空间屏障,防止病毒与宿主结合^[19],有望成为未来病原体预防和暴露后治疗的绝佳选择。

1.2 表面电荷可控

生物分子表面电荷在决定其生物反应方面起着重要作用^[22]。由于磷酸主链,DON带负电荷。通过调节溶液的离子强度和pH值等参数,控制DON表面电荷密度和分布,能达到提高细胞摄取效率的目的。例如,Shi等^[23]借助高度可设计的DON,引入光化学反应以实现原位电荷变化,合成了表面电荷分布可控的纳米结构。研究发现位于纳米结构边缘的正电荷更有助于细胞摄取,并且高密度正电荷修饰的DON在3D多细胞肿瘤球中显示出更强的渗透^[22,23]。

此外,通过涂层可以屏蔽DON的负电荷,并且有

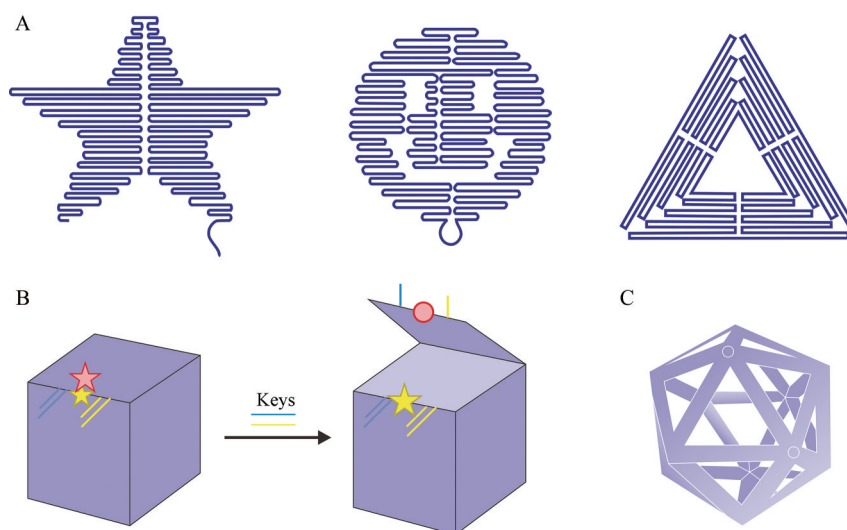


Figure 1 The shape design of DNA origami. A: 2D plane structure (star, disk with three holes, triangle); B: Square box; C: Icosahedral

效保护 DON 免受环境中其他化学物质的影响^[24]。例如阳离子聚合物^[25]、脂质^[26]、蛋白^[27]或类肽^[28]等包裹结构,能够将 DON 稳定在生理阳离子水平上。这种电荷调控机制为基于 DON 的药物递送系统开发提供了新思路。

1.3 功能修饰可控

通过对订书钉链序列进行精确地设计和修饰^[29],可以实现 DON 上不同功能分子的加载。同时,在 DON 上设计一个或多个修饰化的订书钉链,可控制该结构上所连接的功能分子数量,从而达到特定的功能和效果。

在 DON 上修饰荧光基团,能够便于在实验或应用中进行跟踪和观察^[30]。例如,在 DON 上修饰特定数量的校准荧光团和荧光触发域,在流式细胞术中作为检测的替代荧光团,实现了流式细胞技术中荧光或抗原的定量分析^[31]。

另外,在 DON 上修饰特定的适配体,使其能与特定的细胞或组织特异性结合,从而实现靶向递送和药物递送等功能^[32]。与其他纳米载体相比, DON 的高度可编程性允许在特定位置或多个位置修饰单个或多个适配体,能实现载体的高效靶向递送或多个适配体协同工作。适配体还赋予 DON 感知和响应细胞环境的能力,使其成为“智能”载体^[33]。Zhao 等^[34]通过位点控制,将凝血酶核酸适配体组装到矩形 DON 的表面形成阵列,并优化适配体的种类、位点分布及密度,使其能有效地识别并结合凝血酶,稳定地抑制凝血酶的活性从而达到抗凝血的效果。同时加入适配体互补链,抑制适配体与凝血酶结合以达到快速解毒恢复凝血酶功能。

2 负载药物策略

DON 主要利用 DNA 折纸技术的有利特性和所需负载的药物分子的性质,实现药物的有效负载。目前载物方法包括嵌入法、静电吸附及封装等,具有高效性和可控性^[12]。

2.1 嵌入法

目前,嵌入法是 DON 负载小分子药物最简便的方法,广泛应用于癌症治疗研究。蒽环类小分子药物(DOX、柔红霉素)通过嵌入螺旋与双链 DNA 非共价结合,实现 DON 上药物的成功加载^[35]。三角形^[36](图 2A)、棒状^[37]及管状^[38]等多种 DON 已经被验证能将 DOX 递送至癌细胞且克服细胞耐药性。除了 DOX,其他小分子药物也可以嵌入到 DNA 链中。Wu 等^[39]构建了纳米抗体修饰的 DNA 四面体结构,并将一种名为 56MESS 的铂药嵌入到双链 DNA 中,用于体内靶向治疗。 $\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})^{2+}$ 是具有较强 DNA 插入能力的钉

配合物,将这种配合物嵌入在四面体 DON 碱基对中,增加了四面体 DON 的熔点并有效提高了其在血清中的稳定性^[40]。此外,多种荧光染料,如 SYBR Green I 染料^[28]等,均可通过嵌入 DNA 碱基对加载在 DON 上,实现对 DON 的标记和检测。

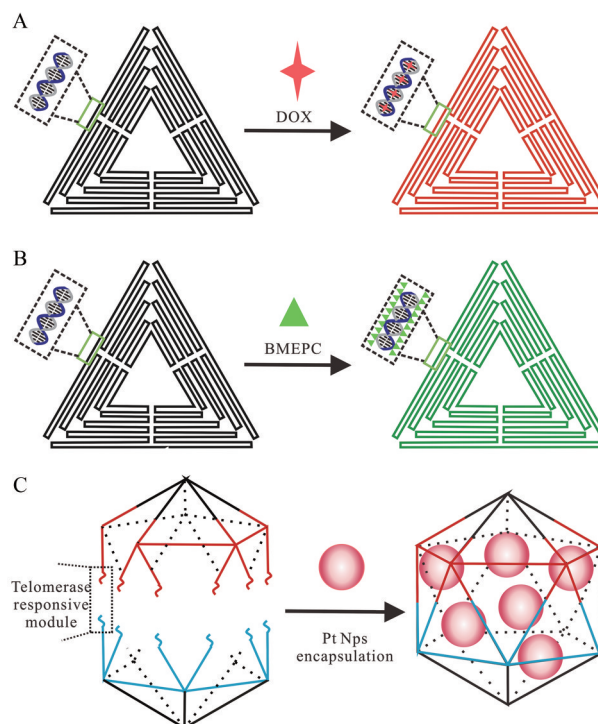


Figure 2 Drug loading and release. A: DOX can non-covalently bind to double-stranded DNA through intercalation into the helix; B: BMEPC molecules are assembled by electrostatic adsorption; C: Icosahedron encapsulates nanoparticles. DOX: Doxorubicin; BMEPC: 1,1-bis(3-Methyl-4-epoxyphenyl) cyclohexane

除了单一靶向和静态结构的小分子药物递送体系,更智能的动态 DNA 逻辑门等被开发出来。它们的应用十分广泛,在小分子药物的非共价修饰方面,Ouyang 等^[41]基于 DNA 逻辑门开发了一种纳米级精确制导的 DON。在该结构中嵌入并递送了 DOX 分子,实现了高特异性和高剂量的药物递送,可进行安全、精确的靶向治疗。

2.2 静电吸附作用

基于 DNA 磷酸盐骨架性质, DON 本质带负电荷。因此,静电吸附作用作为一种物理偶联方式能将小分子有效负载到 DON 上。

BMEPC (1,1-bis(3-Methyl-4-epoxyphenyl) cyclohexane) 是一种新型小分子咪唑类衍生物,作为成像剂或光敏剂具有双光子吸收能力,可在无氧或低氧条件下通过 I 型光动力反应生成活性中间体,达到光动力杀死细胞的目的。由于该光敏剂带正电,其可通过静

电吸附作用加载到 DON 上。BMEPC 与 DON 结合后, 分子内旋转受到适当限制, 自由基产生增多和荧光发射增强, 实现了高效的光动力治疗和光反应活性^[42] (图 2B)。

Mikkilä 等^[43]开发了病毒衣壳蛋白功能化的 DON, 可有效增强药物递送能力。具体原理为纯化后的豇豆褪绿斑驳病毒衣壳蛋白具有带正电荷的 N 端, 可通过电荷相互作用自发地结合到 DON 表面。随着衣壳蛋白数量的不断增加, 诱导 DON 由片层状转变为卷筒状, 进而有效提高了 DON 入胞的效率。

2.3 封装

由于具有可编程性和结构明确性, DON 是封装药物的优秀载体。使用封装方法递送药物有两个明显优势, 其一可以实现多种药物的包覆, 包括小分子、蛋白质和其他聚合物; 其次, 将药物嵌入纳米结构中, 不只是展示在纳米结构表面, 可避免药物泄漏并实现药物逐渐释放^[44]。

Li 等^[45]将凝血酶加载在片状 DON 上, 然后将片状 DON 折叠成管状 DON, 使得凝血酶封装在管状 DON 中。核仁素蛋白的适配体作为管状 DON 打开的分子触发器。当体系中存在核仁素蛋白时, 管状 DON 被打开并暴露出凝血酶以实现活体内肿瘤治疗。Ma 等^[46]构建了封装铂药的 DNA 二十面体递送系统, 用于顺铂耐药的癌症治疗。通过端粒酶响应连接器将两个锥体笼连接在一起, 将铂药纳米颗粒封装在笼中, 有效降低了全身毒性并减轻耐药性, 获得较好的治疗效果 (图 2C)。

3 智能释放药物

药物在靶点部位有效释放对提高生物利用度至关重要^[47]。目前, 基于 DON 的药物控释系统可以在 pH、氧化还原、光照等条件刺激下实现药物的精准控制释放, 达到提高生物利用度的目的。

3.1 pH 响应型释放

环境 pH 值的差异为药物释放提供了契机。由于 DNA 的聚电解质特性, pH 值的变化会引起 DNA 构象变化, 达到药物释放的目的^[48]。Ijäs 等^[49]构建了一种动态的 DON 纳米胶囊, 溶液 pH 值的改变导致胶囊可逆开启和关闭, 为药物的装载和释放提供了新策略。为了引入关闭/打开机制, 在胶囊两半之间的界面设计了 8 个锁存点, 锁存的一部分是双链 DNA, 由 20 bp 发夹基序中互补的嘌呤和嘧啶区域组成; 另一部分是 20 nt 的多嘧啶寡核苷酸; 这两部分形成一个平行的 DNA 三链体。荧光共振能量转移和透射电子显微镜数据证明通过溶液 pH 调节 DON 纳米胶囊的打开和关闭 (图 3A)。类似地, Liu 等^[50]设计了 pH 响应型的 DNA 分子

锁, 将精准排布在 DON 上的抗原肽和佐剂进行封装, 形成完整闭合的 DON 纳米机器。其中, DNA 分子锁也是 DNA 三链体, 执行锁定-解锁功能, 以响应特定的 pH 范围。当 DON 纳米机器进入细胞后, 在微酸环境中, 分子锁响应性开启, 其由关闭状态转变为开启状态, 暴露抗原和佐剂, 以刺激肿瘤特异性 T 细胞反应, 从而有效抑制肿瘤生长。

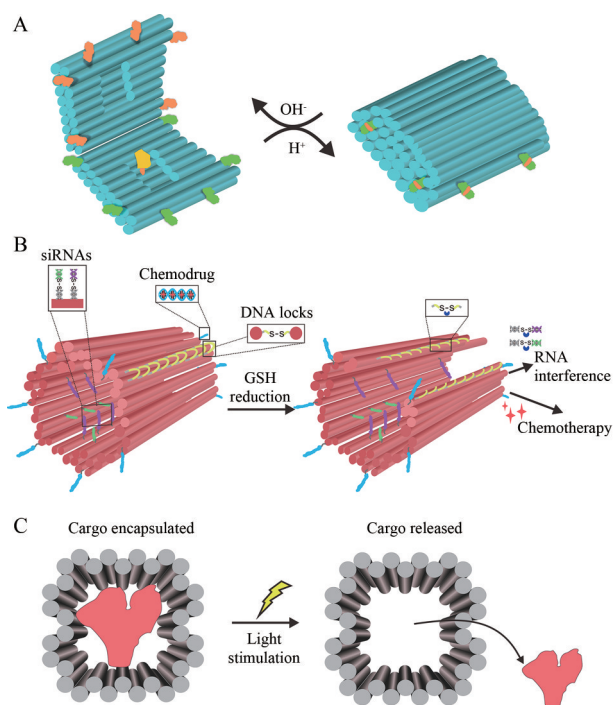


Figure 3 Responsive drug release. A: Responsive latches on 3D origami can be exploited to deliver cargo selectively in response to a change in pH; B: Drugs can be release from DON in response to reduction activity; C: Drugs can be release from DON by light-mediated cleavage of photolabile linkers. DON: DNA origami nanostructure

3.2 氧化还原型释放

氧化还原响应型 DON 药物递送系统通过二硫键负载反义寡核苷酸 (antisense oligonucleotide, ASO)^[51]、RNA 干扰 (RNA interference, RNAi)^[52] 或功能基因^[53], 实现在还原活性增强的靶部位释放负载物。例如, Pan 等^[51]构建了一种适配体功能化的 DON, 共同递送化学药物 DOX 及两种不同 ASO。体外研究表明, 该纳米结构可以在 pH 为 5.0 的磷酸盐缓冲溶液中控制释放 DOX, 并响应谷胱甘肽释放 ASO。通过 ASO 和 DOX 的协同递送, 抗癌试验表明, 该结构可以克服耐药性并极大增强对多药耐药癌细胞的治疗效果。Wang 等^[54]提出了一种由氧化还原反应控制开关的管状 DON 纳米机器, 共同递送两种小干扰 RNA 和化疗药物 DOX。将预先设计的含有二硫键的 DNA 单链作为锁链, 以保

证小干扰RNA的有效封闭,进而得到了闭合的DNA纳米机器。在肿瘤细胞高谷胱甘肽浓度即还原环境中,闭合的二硫键锁链被打开,实现内部小干扰RNA的智能响应性释放(图3B)。

3.3 光响应型释放

光响应型DON药物释放系统基于光敏材料的特性,通过光照引发化学或物理变化,从而释放负载在DON表面或内腔的药物。在外源性刺激响应系统中,基于光的刺激响应系统具有极大的前景,因为光作为刺激不仅是无创的,而且在空间和时间上都是可控的^[55]。Kohman等^[56]通过新型光不稳定交联剂标记DON,构建了具有可寻址性且能够封装不同尺寸蛋白质药物的纳米笼。该纳米笼能够在短暂的光照下释放药物分子,为精确释放大量生物活性分子提供了一种通用方法(图3C)。Li等^[57]构建了适配体功能化的三角形DON,共递送化疗药物DOX和光敏剂吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)。在近红外激光照射下触发ICG的光热效应,可控释放DOX,实现靶向协同光化学治疗。Zhuang等^[42]利用基于BMEPC-DON的光动力疗法,产生自由基诱导细胞凋亡,实现癌症的高效治疗。光响应型DON能够以高时空精度控制药物的释放,促进了控制药物释放领域的发展。

4 DNA折纸药物在生物医学中的应用

DON具有可编程性、纳米尺度可寻址性及良好生物相容性等优点,广泛应用于抗炎、急性肾损伤和癌症治疗及预防等生物医学领域^[58]。

4.1 抗炎治疗

抗炎治疗是抑制炎症介质的产生和释放及抑制炎症细胞的活化和趋化,达到缓解炎症症状目的的治疗方法^[59]。一般常见的情况有两种,一种为感染性炎症,如细菌感染和真菌感染等;另一种为非感染性炎症,包括免疫因素、物理因素和化学因素导致的炎症。

4.1.1 抗感染性炎症 已有的抗菌策略缺乏靶向性、稳定性差或细胞毒性高,严重限制了它们的广泛应

用^[60,61]。DON具有良好的生物相容性,经过化学改性后在体内稳定,是递送活性抗菌成分实现靶向抗菌的理想载体。Mela等^[62]以适配体功能化的DON作为载体负载溶菌酶,成功地验证了DON能够与指定的细菌特异性结合,用功能化DON负载溶菌酶处理比用游离溶菌酶能够更有效地减缓细菌的生长,并实现了高效抑菌。Wu等^[63]开发了一种基于DON的纳米杀菌剂,其装配DNA酶、广谱抗生素左氧氟沙星和病原靶向性核酸适配体。该DNA纳米杀菌剂在核酸适配体的引导下,特异性地识别并结合病原菌,DNA酶催化产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)破坏细菌膜结构,促使持续快速释放抗生素到细菌内,成功高效治疗感染性创面。基于DON的多功能纳米平台将为靶向抗感染疗法开辟新途径。Long等^[64]使用六螺旋束DON共同递送银离子(Ag^+)和ASO,其分别在初始阶段延缓金黄色葡萄球菌及在对数生长阶段抑制细菌的生长。该共递送载体在低浓度下表现出优异的抗菌活性,对正常哺乳动物细胞没有不利影响。

4.1.2 抗非感染性炎症 类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以关节滑膜炎为主的自身免疫性疾病,破坏关节软骨并严重威胁人类健康^[65]。消除炎症关节中的ROS和NO是一种潜在的RA治疗方法,它们可以驱动促炎M1巨噬细胞向抗炎M2表型转变,达到缓解炎症的目的^[66]。DON本身也具有治疗潜力,是治疗各种氧化应激诱导疾病的有利候选者。利用DNA分子固有的ROS和NO清除能力,Ma等^[67]设计了一种叶酸修饰的三角形DON(FA-tDON),用于RA的靶向治疗。该纳米结构能够有效清除ROS和NO并主动靶向M1巨噬细胞,促进M1型向M2型的转化。基于建立的RA小鼠模型,FA-tDON有效缓解炎症细胞浸润、滑膜炎和软骨损伤(图4)。此外,四面体框架核酸在抗炎方面的研究已经较为成熟,如应用于脓毒症炎症损伤^[68]、强直性脊柱炎炎症^[69]及牙周炎^[70]等疾病的治疗。

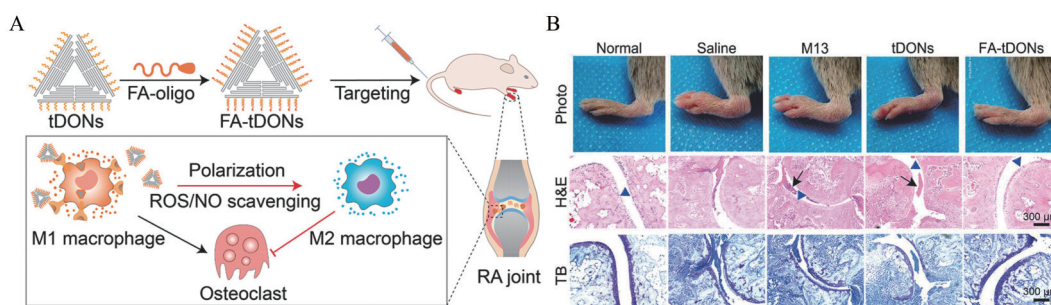


Figure 4 FA-tDON is used for rheumatoid arthritis (RA) targeted therapy. A: Rational design and proposed RA therapeutic mechanism of FA-tDONs nanomedicine; B: In a mouse model of RA, FA-tDON effectively alleviates inflammatory cell infiltration, synovial inflammation, and cartilage damage. Adapted from Ref. 67 with permission. Copyright © 2022, American Chemical society

4.2 急性肾损伤治疗

急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 指各种病因引起的短时间内肾功能急剧下降而出现的临床综合征, 严重者可发展至肾衰竭甚至死亡^[71]。为减少患者疼痛或降低手术风险, 有必要开发智能治疗 AKI 的相关策略。

Jiang 等^[72]发现放射性标记的矩形 DON 能有效缓解横纹肌溶解诱导的急性肾损伤, 并保护肾细胞免受肾毒性物质的侵害。通过 Ga-EDTA 动态正电子发射断层成像 (positron emission tomography, PET)、血液测试和肾组织染色评估其治疗效果。结果显示, 该 DON 明显地缓解了急性肾损伤。Li 等^[73]开发了一种 DNA 纳米筏的细胞因子递送平台, 精确组装白细胞介素 IL-33 纳米阵列并靶向递送至肾脏。在肾脏中积聚和缓释的 IL-33 诱导 II 型固有淋巴细胞增殖, 有效改善缺血再灌注诱导的肾损伤 (图 5)。Xu 等^[74]设计并合成了一种基于 DON 的新型 microRNA 响应纳米天线, 其在健康小鼠和缺血再灌注诱导的 AKI 小鼠中均显示具有独特的肾脏滞留特性。且该纳米天线能在缺血再灌注治疗后 10 min 快速检测小鼠 AKI 的发生, 对急性肾损伤早期诊断和智能治疗提供了新策略。由于矩形 DON 的肾脏靶向性, 能将各种功能分子递送至肾脏组织。DON 在肾脏组织中均显示积极的肾脏聚集并对 AKI 具有明显的预防或治疗效果。

此外, 目前有机会将已在体内证明有效的 DON 治疗模式应用于治疗其他肾脏疾病。关键是找到与肾脏疾病发病相关的靶分子^[75]。基于 ROS、非编码 RNA^[76]和蛋白质^[77]等靶点, 有望设计出治疗其他肾脏疾病的 DNA 药物递送系统。

4.3 癌症治疗和预防

随着医疗技术的不断进步, 近年来抗癌治疗取得了很大的进步^[78]。然而, 传统的药物治疗方法会产生毒副作用。DON 利用其有利特性, 能有效提高药物的疗效并减少细胞毒性^[79]。

化疗是癌症治疗中广泛使用的药物治疗方法。DOX 作为一种蒽环类药物可以稳定地加载到 DON 上以构成复合物。Zhao 等^[80]研究了使用该复合物干预 3 种不同的乳腺癌细胞系, 结果表明, 该复合物表现出更低的细胞毒性和更高的细胞清除率, 证明了其在促进乳腺癌细胞死亡方面的有效性。除 DOX 外, 其他类型的化疗药物也可被加载到 DON 上用于治疗癌症。例如, 对消化道癌和其他实体瘤有效的 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 和 5-氟-2'-脱氧尿苷 (FdU_n) 被加载到表面附着胆固醇的 DON 上, 以增强细胞摄取。与传统的 5-FU 和 FdU_n 相比, FdU_n 功能化的 DON 显示出增强的细胞毒性和更高的诱导结直肠癌细胞凋亡的能力^[81]。

药物治疗是治疗癌症的关键方法。然而, 耐药性在癌症患者中越来越普遍^[82]。基于 DNA 折纸技术的联合疗法已经被验证对肿瘤多药耐药 (multiple drug resistance, MDR) 细胞有效。例如, 通过三角形 DON 平台递送 DOX 和编码肿瘤抑制因子 p53 基因到 MDR 癌症细胞中, 抑制肿瘤生长而不会引起明显的全身毒性或免疫反应^[53]。Liu 等^[52]构建的多功能 DON 通过主动靶向和控释将 siRNA 和 DOX 递送到 MCF-7R 细胞中, 协同抑制肿瘤生长且没有显著的全身毒性。

目前, 癌症疫苗在有效治疗癌症方面具有巨大的潜力。Liu 等^[50]构建了一种基于 DON 纳米器件的疫苗。该疫苗在管状 DON 内腔中精确组装抗原肽和核

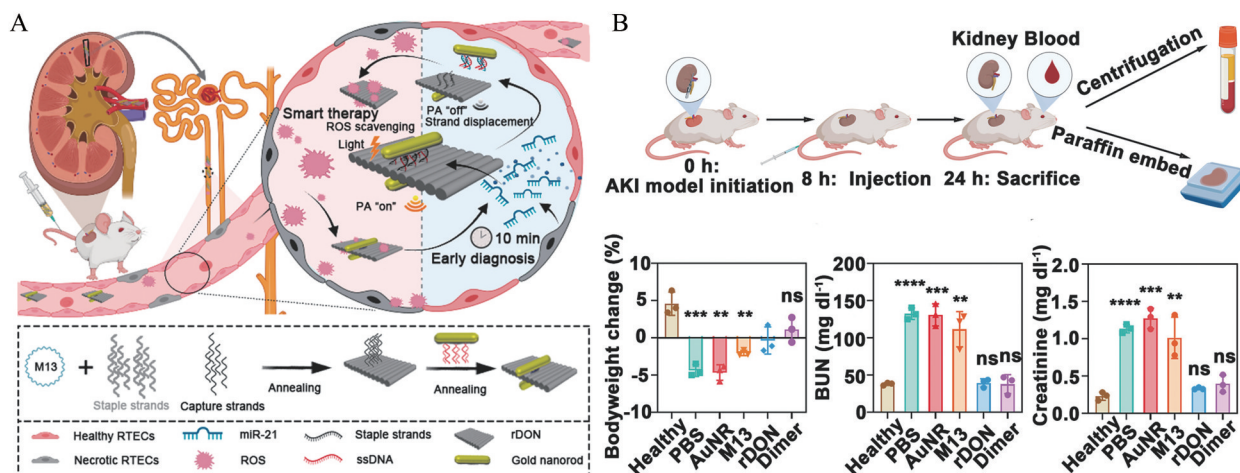


Figure 5 DNA origami nanoantenna for early diagnosis and intelligent treatment of acute kidney injury (AKI). A: Schematic illustration of DNA origami nanoantenna for early diagnosis and smart treatment of AKI; B: The weight data showed that DNA origami nanoantennas had good efficacy in improving AKI. Adapted from Ref. 73 with permission. Copyright © 2022, American Chemical society

酸佐剂,诱导肿瘤特异性T细胞活化并杀死癌细胞。Zhang等^[83]借助炔丙基铈盐驱动的高效、可逆生物正交反应,构建了新抗原肽-核酸共价偶联物,并成功将偶联物引入到DON中。该纳米疫苗表现出良好的血清稳定性和生物安全性,并能有效携带抗原肽穿透细胞膜进入抗原提呈细胞。Kang等^[84]将DNA折纸技术与硝化T辅助细胞表位相结合,设计了一种新抗原疫苗递送的通用纳米平台。该平台有效促进了新抗原在淋巴结中的保留,提高了树突状细胞对抗原肽的摄取和递呈,并有效激活抗原特异性CD8⁺T细胞,显著抑制了肿瘤的生长。Zeng等^[85]利用DON可编程性这一独特特性,在方形晶格DON上精确调控佐剂分子CpG寡核苷酸的空间间距以增强癌症疫苗的疗效。研究结果表明,具有最佳空间构型CpG的DON疫苗可有效激活树突状细胞、诱导Th1免疫极化,从而增强肿瘤免疫治疗的效果。

总之,DON在癌症治疗领域中展现出了非凡潜力,是治疗癌症的新兴材料。

5 挑战与展望

随着DNA纳米技术的发展,DON作为新兴的药物递送载体在纳米医学领域已经显示巨大的应用潜力。基于DON的智能药物递送系统具有独特优势。第一,DON的构筑材料完全由生物大分子组成,具有良好的生物安全性和可降解性;第二,DNA折纸技术易于通过核酸链的设计控制DON的形状,目前已经实现一维到三维、平直到弯曲、孤立到复合的DNA纳米结构自组装^[86],满足多样化的药物递送需求;第三,与传统纳米材料相比,DON具有可编程性和纳米尺度的可寻址性^[87],可以精确编程药物负载位置及负载量,以满足多样化的药物递送需求。

尽管取得了显著进展,但进一步推动DON药物递送仍存在一些挑战。首先,DNA纳米结构本质上容易受到血液、细胞外环境和细胞质中存在的核酸酶的影响^[24]。因此有必要采取适当策略保持其在生理条件下的结构稳定性。目前已经探索了几种保持DON稳定性的方法,包括合理设计^[88]、共价连接^[89]、蛋白质^[27]和脂质包封^[90]及保护涂层^[28]等。虽然这些方法确实显著地改善了DON的稳定性,但它们也存在干扰DNA结构治疗性能的风险,主要是干扰治疗药物的装载和释放^[60]。其次,DON潜在免疫原性需要进一步探索,例如,常用来构建DON的支架链—噬菌体基因组的特定序列具有弱免疫原性。研究表明,通过精确设计DNA序列可以调节其免疫原性^[91]。Han等^[92]设计了一种单分子组装策略,将单链DNA和RNA折叠为预先设计的目标结构。其中单链模板可以预先设计为包含或不

包含免疫刺激的序列,以满足不同应用。此外,使用保护层也可降低DON的免疫原性^[25]。最后,将治疗性的DON药物递送系统转化为临床应用还涉及长期储存和生产相关问题。储存方面,许多研究已经通过冻干和低温储存解决了DON及其预组装成分的长期储存问题,并确定了使其数年保持完整的适当条件^[93,94];生产成本方面,Praetorius等^[95]研究的生物技术大规模生产方法可以将DON的成本降低到每mg约0.18欧元;产量方面,Bellot等^[96]开发了琼脂糖凝胶分离技术,能够以高产量纯化DON。此外,Lin等^[97]研究出速率区带离心法纯化DON,并制备出大量的DON,该方法可扩展且成本效益高、无污染。

基于DNA折纸技术的药物递送载体具有巨大应用潜力,但目前尚未转化至临床。在此之前,有必要阐明DON载体的体内特性,并对其在人体内的安全性进行全面评估。相信基于DON的药物递送载体具有非常好的应用前景,有望为深入了解和有效治疗疾病提供有力手段。

作者贡献: 殷曾琳完成文章撰写;王曦维完成文献检索和筛选;车津晶、刘楠、张慧、王增明确定文章方向及内容组成;李见春、郑爱萍负责综述的框架设计及文章的校审。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

References

- [1] Xiao MS, Lai W, Man TT, et al. Rationally engineered nucleic acid architectures for biosensing applications [J]. *Chem Rev*, 2019, 119: 11631-11717.
- [2] Wu YQ, Zou ZP, Zhou Y, et al. Dual engineered bacteria improve inflammatory bowel disease in mice [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2024, 108: 333.
- [3] Zhang YF, Wang J. Research progress of cell membrane biomimetic nanoparticles for circulating tumour cells [J]. *Front Oncol*, 2024, 14: 1389775.
- [4] He YL, Zhang WT, Xiao QQ, et al. Liposomes and liposome-like nanoparticles: from anti-fungal infection to the COVID-19 pandemic treatment [J]. *Asian J Pharm Sci*, 2022, 17: 817-837.
- [5] Sebastián QC, Orlando DG, Erika L, et al. Optimizing dacarbazine therapy: design of a laser-triggered delivery system based on β -cyclodextrin and plasmonic gold nanoparticles [J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15: 458.
- [6] Wan QF, Huang BD, Li TY, et al. Selective targeting of visceral adiposity by polycation nanomedicine [J]. *Nat Nanotechnol*, 2022, 17: 1311-1321.
- [7] Weiden J, Bastings MC. DNA origami nanostructures for controlled therapeutic drug delivery [J]. *Curr Opin Colloid Interface Sci*, 2021, 52: 101411.
- [8] Seeman NC, Sleiman HF. DNA nanotechnology [J]. *Nat Rev*

- Mater, 2018, 3: 17068.
- [9] Seeman NC. Nucleic acid junctions and lattices [J]. *J Theor Biol*, 1982, 99: 237-247.
- [10] Rothmund PWK. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns [J]. *Nature*, 2006, 440: 297-302.
- [11] Sun YY, Yan L, Sun JJ, et al. Nanoscale organization of two-dimensional multimeric pMHC reagents with DNA origami for CD8+ T cell detection [J]. *Nat Commun*, 2022, 13: 3916.
- [12] Zhang YM, Tian XC, Wang ZJ, et al. Advanced applications of DNA nanostructures dominated by DNA origami in antitumor drug delivery [J]. *Front Mol Biosci*, 2023, 10: 1239952.
- [13] Wang XW, Lai W, Man TT, et al. Bio-surface engineering with DNA scaffolds for theranostic applications [J]. *Nanofabrication*, 2018, 4: 1-16.
- [14] Jun H, Zhang F, Shepherd T, et al. Autonomously designed free-form 2D DNA origami [J]. *Sci Adv*, 2019, 5: eaav0655.
- [15] Jonchhe S, Pandey S, Beneze C, et al. Dissection of nanoconfinement and proximity effects on the binding events in DNA origami nanocavity [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50: 697-703.
- [16] Pfeifer WG, Huang CM, Poirier MG, et al. Versatile computer-aided design of free-form DNA nanostructures and assemblies [J]. *Sci Adv*, 2023, 9: 0697.
- [17] Wang WX, Douglas TR, Zhang HW, et al. Universal, label-free, single-molecule visualization of DNA origami nanodevices across biological samples using origamiFISH [J]. *Nat Nanotechnol*, 2024, 19: 58-69.
- [18] Andersen ES, Dong MD, Nielsen MM, et al. Self-assembly of a nanoscale DNA box with a controllable lid [J]. *Nature*, 2009, 459: 73-76.
- [19] Zhang JL, Xu YY, Huang YH, et al. Spatially patterned neutralizing icosahedral DNA nanocage for efficient SARS-CoV-2 blocking [J]. *J Am Chem Soc*, 2022, 144: 13146-13153.
- [20] Zeng Y, Liu JJ, Yang S, et al. Time-lapse live cell imaging to monitor doxorubicin release from DNA origami nanostructures [J]. *J Mater Chem B*, 2018, 6: 1605-1612.
- [21] Bastings MMC, Anastassacos FM, Ponnuswamy N, et al. Modulation of the cellular uptake of DNA origami through control over mass and shape [J]. *Nano Lett*, 2018, 18: 3557-3564.
- [22] MøllerSønderskov S, HylgaardKlausen L, AmlandSkaanvik S, et al. *In situ* surface charge density visualization of self-assembled DNA nanostructures after ion exchange [J]. *Chemphyschem*, 2020, 21: 1474-1482.
- [23] Shi YW, Xu XM, Yu HAB, et al. Defined positive charge patterns created on DNA nanostructures determine cellular uptake efficiency [J]. *Nano Lett*, 2022, 22: 5330-5338.
- [24] Bila H, Kurisinkal EE, Bastings MMC. Engineering a stable future for DNA-origami as a biomaterial [J]. *Biomater Sci*, 2019, 7: 532-541.
- [25] Ponnuswamy N, Bastings MMC, Nathwani B, et al. Oligolysine-based coating protects DNA nanostructures from low-salt denaturation and nuclease degradation [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15654.
- [26] Perrault SD, Shih WM. Virus-inspired membrane encapsulation of DNA nanostructures to achieve *in vivo* stability [J]. *ACS Nano*, 2014, 8: 5132-5140.
- [27] Xu XM, Fang SQ, Zhuang Y, et al. Cationic albumin encapsulated DNA origami for enhanced cellular transfection and stability [J]. *Materials (Basel)*, 2019, 12: 949.
- [28] Wang S, Gray MA, Xuan ST, et al. DNA origami protection and molecular interfacing through engineered sequence-defined peptoids [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117: 6339-6348.
- [29] Pei H, Sha RJ, Wang XW, et al. Organizing end-site-specific SWCNTs in specific loci using DNA [J]. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 11923-11928.
- [30] Wei Y, Xu XH, Shang YX, et al. Visualization of the intracellular location and stability of DNA flowers with a label-free fluorescent probe [J]. *RSC Adv*, 2019, 9: 15205-15209.
- [31] Selnihhin D, Mortensen KI, Larsen JB, et al. DNA origami calibrators for counting fluorophores on single particles by flow cytometry [J]. *Small Methods*, 2022, 6: 2101364.
- [32] Sun YY, Sun JJ, Xiao MS, et al. DNA origami-based artificial antigen-presenting cells for adoptive T cell therapy [J]. *Sci Adv*, 2022, 8: eadd1106.
- [33] Hu QQ, Li H, Wang LH, et al. DNA nanotechnology-enabled drug delivery systems [J]. *Chem Rev*, 2018, 119: 6459-6506.
- [34] Zhao SA, Tian R, Wu J, et al. A DNA origami-based aptamer nanoarray for potent and reversible anticoagulation in hemodialysis [J]. *Nat Commun*, 2021, 12: 358.
- [35] Pérez-Arnaiz C, Busto N, Leal JM, et al. New insights into the mechanism of the DNA/doxorubicin interaction [J]. *J Phys Chem B*, 2014, 118: 1288-1295.
- [36] 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: 6633-6643.
- [37] Halley PD, Lucas CR, McWilliams EM, et al. Daunorubicin-loaded DNA origami nanostructures circumvent drug-resistance mechanisms in a leukemia model [J]. *Small*, 2016, 12: 308-320.
- [38] Jiang Q, Song C, Nangreave J, et al. DNA origami as a carrier for circumvention of drug resistance [J]. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 13396-13403.
- [39] Wu TT, Liu JB, Liu MM, et al. A nanobody-conjugated DNA nanoplatform for targeted platinum-drug delivery [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, 58: 14224-14228.
- [40] Joaqui-Joaqui MA, Maxwell Z, Raju MVR, et al. Metallointercalators-DNA tetrahedron supramolecular self-assemblies with increased serum stability [J]. *ACS Nano*, 2022, 16: 2928-2941.
- [41] Ouyang C, Zhang SB, Xue C, et al. Precision-guided missile-like DNA nanostructure containing warhead and guidance control for aptamer-based targeted drug delivery into cancer cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Am Chem Soc*, 2020, 142: 1265-1277.

- [42] Zhuang XX, Ma XW, Xue XD, et al. A photosensitizer-loaded DNA origami nanosystem for photodynamic therapy [J]. *ACS Nano*, 2016, 10: 3486-3495.
- [43] Mikkilä J, Eskelinen AP, Niemelä EH, et al. Virus-encapsulated DNA origami nanostructures for cellular delivery [J]. *Nano Lett*, 2014, 14: 2196-2200.
- [44] Xu R, Li YJ, Zhu CY, et al. Cellular ingestible DNA nanostructures for biomedical applications [J]. *Adv Nanobiomed Res*, 2023, 3: 2200119.
- [45] Li SP, Jiang Q, Liu SL, et al. A DNA nanorobot functions as a cancer therapeutic in response to a molecular trigger *in vivo* [J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36: 258-264.
- [46] Ma Y, Wang ZH, Ma YX, et al. A telomerase-responsive DNA icosahedron for precise delivery of platinum nanodrugs to cisplatin-resistant cancer [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2018, 130: 5487-5491.
- [47] Rao NV, Ko H, Lee J, et al. Recent progress and advances in stimuli-responsive polymers for cancer therapy [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2018, 6: 110.
- [48] Ding HT, Tan P, Fu SQ, et al. Preparation and application of pH-responsive drug delivery systems [J]. *J Control Release*, 2022, 348: 206-238.
- [49] Ijäs H, Hakaste I, Shen BX, et al. Reconfigurable DNA origami nanocapsule for pH-controlled encapsulation and display of cargo [J]. *ACS Nano*, 2019, 13: 5959-5967.
- [50] Liu SL, Jiang Q, Zhao X, et al. A DNA nanodevice-based vaccine for cancer immunotherapy [J]. *Nat Mater*, 2021, 20: 421-430.
- [51] Pan QS, Nie CP, Hu YL, et al. Aptamer-functionalized DNA origami for targeted codelivery of antisense oligonucleotides and doxorubicin to enhance therapy in drug-resistant cancer cells [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 12: 400-409.
- [52] Liu JB, Song LL, Liu SL, et al. A tailored DNA nanoplatform for synergistic RNAi-/chemotherapy of multidrug-resistant tumors [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2018, 57: 15486-15490.
- [53] Liu JB, Song LL, Liu SL, et al. A DNA-based nanocarrier for efficient gene delivery and combined cancer therapy [J]. *Nano Lett*, 2018, 18: 3328-3334.
- [54] Wang ZR, Song LL, Liu Q, et al. A tubular DNA nanodevice as a siRNA/chemo-drug co-delivery vehicle for combined cancer therapy [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2021, 133: 2626-2630.
- [55] Bansal A, Zhang Y. Photocontrolled nanoparticle delivery systems for biomedical applications [J]. *Acc Chem Res*, 2014, 47: 3052-3060.
- [56] Kohman RE, Cha SS, Man HY, et al. Light-triggered release of bioactive molecules from DNA nanostructures [J]. *Nano Lett*, 2016, 16: 2781-2785.
- [57] Li MY, Yang G, Zheng Y, et al. NIR/pH-triggered aptamer-functionalized DNA origami nanovehicle for imaging-guided chemophototherapy [J]. *J Nanobiotechnology*, 2023, 21: 186-199.
- [58] Keller A, Linko V. Challenges and perspectives of DNA nanostructures in biomedicine [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2020, 59: 15818-15833.
- [59] Dinarello CA. Anti-inflammatory agents: present and future [J]. *Cell*, 2010, 140: 935-950.
- [60] Elmehrath S, Ahsan K, Munawar N, et al. Antibacterial efficacy of copper-based metal-organic frameworks against *Escherichia coli* and *Lactobacillus* [J]. *RSC Adv*, 2024, 14: 15821-15831.
- [61] Prajitha N, Athira SS, Mohanan PV. Bio-interactions and risks of engineered nanoparticles [J]. *Environ Res*, 2019, 172: 98-108.
- [62] Mela I, Vallejo-Ramirez PP, Makarchuk S, et al. DNA nanostructures for targeted antimicrobial delivery [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2020, 59: 12698-12702.
- [63] Wu TT, Wang H, Tian R, et al. A DNA origami-based bactericide for efficient healing of infected wounds [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2023, 62: e202311698.
- [64] Long QP, Jia B, Shi Y, et al. DNA nanodevice as a co-delivery vehicle of antisense oligonucleotide and silver ions for selective inhibition of bacteria growth [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13: 47987-47995.
- [65] Zheng YX, Wei K, Jiang P, et al. Macrophage polarization in rheumatoid arthritis: signaling pathways, metabolic reprogramming, and crosstalk with synovial fibroblasts [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1394108.
- [66] Udalova IA, Mantovani A, Feldmann M. Macrophage heterogeneity in the context of rheumatoid arthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2016, 12: 472-485.
- [67] Ma YX, Lu ZW, Jia B, et al. DNA origami as a nanomedicine for targeted rheumatoid arthritis therapy through reactive oxygen species and nitric oxide scavenging [J]. *ACS Nano*, 2022, 16: 12520-12531.
- [68] Chen XY, He JJ, Xie Y, et al. Tetrahedral framework nucleic acid nanomaterials reduce the inflammatory damage in sepsis by inhibiting pyroptosis [J]. *Cell Prolif*, 2023, 56: 13424.
- [69] Wang LH, Wang Y, Jiang Y, et al. Tetrahedral framework nuclear acids can regulate interleukin-17 pathway to alleviate inflammation and inhibit heterotopic ossification in ankylosing spondylitis [J]. *ACS Nano*, 2023, 17: 24187-24199.
- [70] Zhou M, Gao-Shao JY, Zhang XL, et al. The protective effect of tetrahedral framework nucleic acids on periodontium under inflammatory conditions [J]. *Bioact Mater*, 2020, 6: 1676-1688.
- [71] Kellum JA, Romagnani P, Ashuntantang G, et al. Acute kidney injury [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7: 1-17.
- [72] Jiang DW, Ge ZL, Im HJ, et al. DNA origami nanostructures can exhibit preferential renal uptake and alleviate acute kidney injury [J]. *Nat Biomed Eng*, 2018, 2: 865-877.
- [73] Li W, Wang CS, Lv H, et al. A DNA nanoraft-based cytokine delivery platform for alleviation of acute kidney injury [J]. *ACS Nano*, 2021, 15: 18237-18249.
- [74] Xu YN, Zhang Q, Chen RZ, et al. NIR-II photoacoustic-active

- DNA origami nanoantenna for early diagnosis and smart therapy of acute kidney injury [J]. *J Am Chem Soc*, 2022, 144: 23522-23533.
- [75] Jiang SX, Ge ZL, Mou S, et al. Designer DNA nanostructures for therapeutics [J]. *Chem*, 2021, 7: 1156-1179.
- [76] Denby L, Baker AH. Targeting non-coding RNA for the therapy of renal disease [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2016, 27: 70-77.
- [77] Dieterle F, Perentes E, Cordier A, et al. Urinary clusterin, cystatin C, β 2-microglobulin and total protein as markers to detect drug-induced kidney injury [J]. *Nat Biotechnol*, 2010, 28: 463-469.
- [78] Chen QJ, Wang XW, Chen J, et al. Multiple-aptamer-integrated DNA-origami-based chemical nose sensors for accurate identification of cancer cells [J]. *Anal Chem*, 2022, 94: 10192-10197.
- [79] Fan Q, He ZM, Xiong J, et al. Smart drug delivery systems based on DNA nanotechnology [J]. *Chempluschem*, 2022, 87: e202100548.
- [80] Zhao YX, Shaw A, Zeng XH, et al. DNA origami delivery system for cancer therapy with tunable release properties [J]. *ACS Nano*, 2012, 6: 8684-8691.
- [81] Jorge AF, Aviñó A, Pais AACC, et al. DNA-based nanoscaffolds as vehicles for 5-fluoro-2'-deoxyuridine oligomers in colorectal cancer therapy [J]. *Nanoscale*, 2018, 10: 7238-7249.
- [82] Ashique S, Garg A, Hussain A, et al. Nanodelivery systems: an efficient and target-specific approach for drug-resistant cancers [J]. *Cancer Med*, 2023, 12: 18797-18825.
- [83] Zhang YP, Xu HK, Jiang LY, et al. Sulfonium-driven neoantigen-released DNA nanodevice as a precise vaccine for tumor immunotherapy and prevention [J]. *ACS Nano*, 2022, 16: 19509-19522.
- [84] Kang YL, Zhang WL, Yu QM, et al. Self-assembled nanoparticles based on DNA origami and a nitrated T helper cell epitope as a platform for the development of personalized cancer vaccines [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2023, 72: 2741-2755.
- [85] Zeng YC, Young OJ, Wintersinger CM, et al. Fine tuning of CpG spatial distribution with DNA origami for improved cancer vaccination [J]. *Nat Nanotechnol*. 2024. DOI: 10.1038/s41565-024-01615-3.
- [86] Shi Q, Wu YY, Yang Y. DNA nanotechnology and synthetic biology [J]. *Synth Biol J (合成生物学)*, 2022, 3: 302-319.
- [87] Lu XH, Liu JB, Wu XH, et al. Multifunctional DNA origami nanoplatfoms for drug delivery [J]. *Chem Asian J*, 2019, 14: 2193-2202.
- [88] Kielar C, Xin Y, Shen BX, et al. On the stability of DNA origami nanostructures in low-magnesium buffers [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2018, 57: 9470-9474.
- [89] Gerling T, Kube M, Kick B, et al. Sequence-programmable covalent bonding of designed DNA assemblies [J]. *Sci Adv*, 2018, 4: 1157.
- [90] Wu XH, Yang CP, Wang H, et al. Genetically encoded DNA origami for gene therapy *in vivo* [J]. *J Am Chem Soc*, 2023, 145: 9343-9353.
- [91] He SL, Fan TJ, Wang YM, et al. Recent advances in DNA nanostructure-enabled drug delivery [J]. *ChemNanoMat*, 2023, 9: e202200459.
- [92] Han DR, Qi XD, Myhrvold C, et al. Single-stranded DNA and RNA origami [J]. *Science*, 2017, 358: eaao2648.
- [93] Xin Y, Kielar C, Zhu SQ, et al. Cryopreservation of DNA origami nanostructures [J]. *Small*, 2020, 16: e1905959.
- [94] Zhu B, Zhao Y, Dai JB, et al. Preservation of DNA nanostructure carriers: effects of freeze - thawing and ionic strength during lyophilization and storage [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 18434-18439.
- [95] Praetorius F, Kick B, Behler KL, et al. Biotechnological mass production of DNA origami [J]. *Nature*, 2017, 552: 84-87.
- [96] Bellot G, McClintock MA, Lin CX, et al. Recovery of intact DNA nanostructures after agarose gel-based separation [J]. *Nat Methods*, 2011, 8: 192-194.
- [97] Lin CX, Perrault SD, Kwak M, et al. Purification of DNA-origami nanostructures by rate-zonal centrifugation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41: e40.