

DNA 自组装技术及其在电离辐射检测中的应用

张宏陆 李凡 柳华杰 晁洁

(中国科学院上海应用物理研究所 嘉定园区 上海 201800)

摘要 电离辐射能够造成 DNA 分子的损伤(如改变碱基、链断裂和分子交联等)、抑制 DNA 合成和增强 DNA 分解等,进而会影响 DNA 自组装技术构建的纳米结构构型的变化,利用这一性质可用于电离辐射的检测。本文主要介绍了 DNA 自组装技术在结构和动态两方面的最新进展,并对 DNA 自组装技术在电离辐射检测中的应用,尤其是 DNA 拼块自组装纳米结构用于 α 粒子和 β 粒子辐照的高灵敏检测器等领域的最新进展进行了综述。

关键词 辐射物理与技术, DNA 自组装, DNA 纳米技术, 电离辐射, 辐射检测

中图分类号 O653, TL84

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2014.rj.32.030101

自组装在自然界中是普遍存在的。构成一个系统的基本单元,如原子、分子、纳米粒子、生物大分子甚至宏观的材料,能够在没有人为干扰的情况下通过非共价键的相互作用自发地形成一种稳定有序的结构,这就是自组装。生命体内磷脂分子构成细胞膜、细胞聚集形成生物组织、组织再组合形成生命体都是自组装现象。自组装是一种自下而上(Bottom-up)的技术,其可分为热力学自组装和编码自组装两种主要类型,而 DNA 分子自组装是编码自组装的一种。

DNA 是生命信息的载体,同时也作为一种理想的材料而被广泛的用于构建各种纳米尺度的结构。DNA 本身具有很有吸引力的结构性质,构成 DNA 的碱基腺嘌呤(A)和胸腺嘧啶(T)、鸟嘌呤(G)和胞嘧啶(C)之间简单的 Watson-Crick 互补配对原则的特异性和可预测性,使其拥有巨大的信息编码能力;纳米级的尺寸(对于常见的 B-DNA,直径在 2 nm,一个螺旋周期在 3.3 nm);DNA 的双链结构具有很好的刚度,持续长度约 50 nm (15 个螺旋),而单链结构拥有很好的柔韧性,持续长度约 1 nm (3 个碱基长度);DNA 的化学性质很容易被人造合成并被各种核酸酶和连接酶所操纵,通过成熟的 PCR 技术还可以实现对 DNA 的指数级扩增。

DNA 自组装技术或者称为 DNA 纳米技术源自美国科学家 Seeman[1]在 20 世纪 80 年代提出来的一个想法:利用 DNA 的碱基互补所形成的周期性规律结构作为蛋白等其他分子结晶的框架,这样可以为晶体学提供一个理想的研究工具。最开始 Seeman 所采用的结构单元是模拟 DNA 同源重组中的 Holliday 交叉结(Holliday junction),它是由 4 条单链 DNA 两两部分互补形成的四臂分支结构。这种 Holliday 结构本质上就是交叉结构(Crossover),而交叉结构才是 DNA 自组装结构的最基本单元,之后发展的各种自组装技术无一不是基于交叉结构或其变体而发展的。单单从这一方面讲,Seeman 就无愧于“DNA 纳米技术之父”这一荣称,更不用说他在之后推动这一领域发展的所做出的重要工作了。

在 DNA 自组装技术快速发展的这 20 多年里,主要分为 2 条主线:结构和动态 DNA 纳米技术。结构 DNA 纳米技术就是利用 DNA 作为基本材料构建稳定平衡的静态结构,包括各种二维、三维结构。根据自组装方法还可以分成 3 类:基于拼块(Tile)结构的自组装、基于折纸(Origami)的自组装和基于单链“砖块”(Single-strand brick)的自组装。利用这 3 种方法都可以构建二维和三维结构。

基金资助:国家自然科学基金项目(21105110, 21103219)资助

第一作者:张宏陆,男,1987 年 10 月出生,2009 年于福州大学获学士学位,现为中国科学院上海应用物理研究所在读博士研究生,无机化学专业,主要从事 DNA 自组装技术及其应用研究, E-mail: zhanghonglu@sinap.ac.cn

通讯作者:晁洁,博士,副研究员, E-mail: chaojie@sinap.ac.cn

收稿日期:初稿 2014-04-01;修回 2014-04-03

1 DNA 自组装技术

1.1 结构 DNA 自组装技术

1.1.1 拼块 DNA 自组装

基于 Holliday 交叉结 Seeman 组^[5]设计出了 DX (Double crossover)拼块结构, 每个拼块包含两个交叉结。Winfree 利用 2 种 tile(DAO 和 DAE)分别自组装形成了二维 DNA 结构, 这是最早形成大面积 DNA 二维结构的工作。之后也衍生出了各种类似的基于交叉结的拼接结构, 如 TX (Triple crossover)^[6]、PX (Paranemic crossover)^[7]等, 并制备出了平面 DNA 阵列结构和 DNA 纳米管。同样是基于 Holliday 交叉结 Yan^[8]则是在 4 个臂上都设计成 Crossover,

这样就形成了一种十字形的拼接单元, 相对于前面的 TX、PX 等只能在两个平行方向进行扩展的结构, 这种十字拼块可以在 4 个方向上进行延伸并保证足够的刚性。而 Mao^[9]则借鉴了建筑工程学上的“张拉整体”(Tensegrity)这一概念, 构建了一种更为稳固的三角拼接结构, 每个角都是一个 Holliday 交叉结, 而这一结构也被 Seeman^[10]用在了构建三维 DNA 晶格上, 并最终在 2009 年实现了他近 30 年的梦想。另外 Mao^[11-12]还进一步发展出了对称多角星结构, 构建了微米尺度的网格阵列以及漂亮的多面体三维结构。最近 Yin 等^[4]还构建了最大到 60 MD 的三维结构, 并利用 TEM 和单分子超分辨光学成像得到了很漂亮的结果(如图 1 所示)。

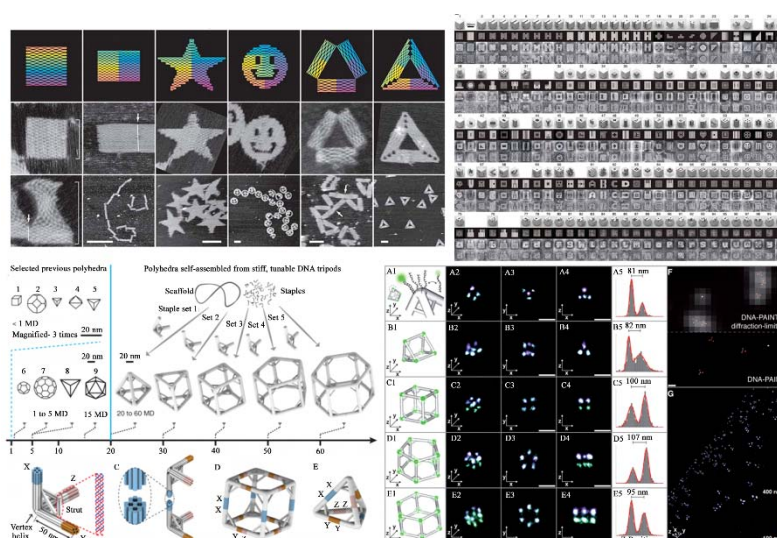


图 1 结构 DNA 自组装技术^[2-4]
Fig.1 Structural DNA self-assembly technology^[2-4]

1.1.2 折纸 DNA 自组装

DNA 折纸这一创造性的想法还应该源于 Shih 等^[13]在 2004 年的工作, 他利用一条 1.7 k nt 的单链 DNA 结合 5 条短链构建了八面体结构。而在 2006 年 Rothmund^[2]则进一步利用 M13 噬菌体的长度 7249 nt 的基因组 DNA 作为主链, 通过设计人工合成的 216 条短链将其弯曲“折”成了各种二维结构(如图 1 所示)。需要注意的是, 折纸结构中的每条短链长 32 nt, 每 8 nt 为一个单元, 相邻的短链和主链间可以形成 Crossover 结构, 因此折纸结构的基本单元还是交叉结, 这才能保证其具有足够的刚性。而我们课题组^[14]也及时跟进做出了重要的贡献, 设计构建了最早的非对称二维结构——中国地图。而三维 DNA 折纸结构也很快在 2009 年实现了。

Andersen 等^[15]构建了一个正方体的空心盒子, 并且利用链置换还可以控制其中一个盖子的打开闭合, 很有趣的一个工作。Douglas 等^[16]则将一条 DNA 双螺旋视为一束, 像堆电线杆一样将 DNA 一条一条的堆积成了蜂窝状的实心结构, 这个方法简直就是科学与艺术的完美结合, 既具有科学的严谨性又包含艺术的美。Han 等^[17]则在 2011 年首次构建了曲面球体的三维折纸结构。本课题组也在发展一种构建更大尺寸折纸结构的方法^[18]。

另外一种所谓的单链砖块自组装一直是 Yin 组发展的, 其基本单元就是分成 4 个部分的 42-nt 单链 DNA, 将这些设计好的单链选择性的混在一起进一步自组装。Yin 等^[19]在 2008 年构建了一维纳米管结构, 2012 年构建了二维拼画图形和三维“乐高积

木”结构(如图 1 所示)^[3,20]。从实验设计上来说,具有的创新点:想法比较简单,42-nt 作为基本单元,可以利用 DNA 的简单线性杂交形成各种不同形状的结构;具有折纸拥有但拼块自组装所不具有的优点:非周期排布,可用于进一步修饰的位点与 42-nt 链有关,“像素”高;DNA 短链不需要很精确的定量,不需要很严格的序列设计。这种设计方法存在的一个缺点也很明显:如果想要得到更大的结构,就需要利用更多的短链,设计复杂度和合成成本都会大大增加。另外这一设计中没有完整的 crossover 结构,这应该是与传统意义上拼接和折纸等自组装技术最大的不同。

1.2 动态 DNA 自组装技术

利用 DNA 的序列设计和对环境的改变可以实现人为控制在纳米尺度上 DNA 不同结构或构象转换,这就是动态 DNA 纳米技术的研究领域。根据转换的机制可以分成两类:环境改变驱动和链置换驱动的 DNA 纳米技术。

1.2.1 环境驱动 DNA 自组装

1999 年 Mao 等^[23]利用 B-DNA 和 Z-DNA 在不同溶液缓冲条件下的构型转换实现了最早的动态

DNA 机器,在一般溶液缓冲环境中(中性 pH),DNA 双链结构表现为正常的 B 型构象;通过人为改变溶液缓冲条件,DNA 构型会转变为 Z 型(左手螺旋)。Liu 等^[24]则利用一种特殊的 DNA 四链结构 i-motif 在不同 pH 值缓冲条件下的构型的改变实现了一种 DNA 分子马达。其机理利用了 i-motif 结构在弱酸性(pH<6.3)的条件下才能够稳定存在,而当人为改变至碱性或中性环境时就会解链成单链结构。

1.2.2 链置换驱动 DNA 自组装

DNA 链置换反应是在恒温条件下,利用包含一段 Toehold 单链区的引发链部分互补的双链结构逐渐取代形成新的更为匹配的双链结构的过程。最早利用这一原理实现动态分子机器的是 Yurke 等^[25],他们将有互补区域的 3 条单链 DNA 构成一个 DNA 镊子,以 DNA 作为“燃料”通过链置换反应驱动 DNA 镊子的打开和闭合。同样利用链置换,Gu^[21,26]和 Bath^[27]等还发展了另一种分子机器——DNA walker, Qian 等^[22]则实现了可以进行运算的 DNA 逻辑门(如图 2 所示)。

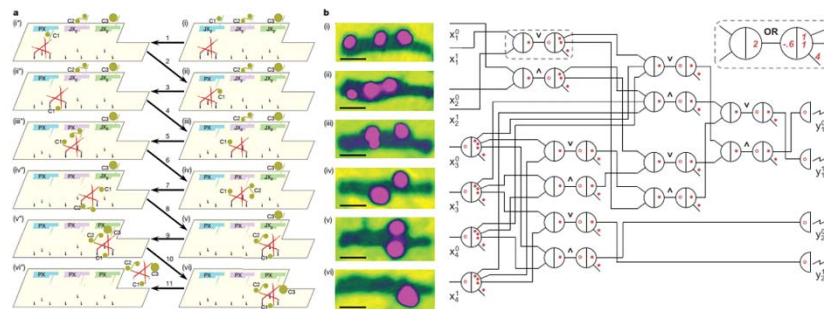


图 2 动态 DNA 自组装技术^[21-22]
Fig.2 Dynamic DNA self-assembly technology^[21-22]

2 电离辐射引起的 DNA 分子损伤

温度在绝对温度零度以上的自然界中的一切物体都以电磁波的形式时刻不断地向外传送能量,这种现象就是辐射(Radiation)。辐射是对等的,不论物体温度高低都向各个方向直线辐射。一般可按照能量的高低和电离物质的能力分为电离辐射和非电离辐射,电离辐射(Ionizing radiation)是频率高、波长短和能量高的射线,以粒子或波的双重形式释放出来。电离辐射有足够的能量从原子或分子的电离过程中释放出至少一个电子,而非电离辐射则无法

达到。根据辐射的形式,可以将电离辐射主要分为 α -射线、 β -射线、 γ -射线和 X-射线辐射等。

α 粒子就是氦核(氦-4 核),由 2 个中子和 2 个质子构成。 α -射线是一种带电粒子流,由于带电与物质会有强烈作用,因此所到之处很容易引起电离。由于 α 粒子的质量较大,一般衰变的 α -射线无法穿透皮肤,因而不会伤及底下的组织。但是放射性同位素的 α -射线很危险,当距离较近时容易损害人体组织细胞。 α -射线对细胞造成的损害程度强于 γ -射线和 X-射线。 β -射线是高速带电的电子,其电离本

领比 α -射线弱,但穿透能力比 α -射线强,但与 X、 γ -射线比, β -射线的射程短,很容易被铝箔、有机玻璃等材料吸收。X-射线和 γ -射线的性质大致相同,是不带电波长短的电磁波,具有波粒二象性。两者的穿透力都极强,需要特别注意照射防护。X-射线是波长在 0.01 nm 到 10 nm 范围的电磁波,是由高能电子加速产生的。一般较重的原子吸收 X-射线的几率更大,人体软组织由较轻原子构成而骨骼则由较重原子构成,骨骼相对于软组织更容易吸收更多的 X-射线,因而被应用于医学诊断。 γ -射线产生于原子核衰变,具有较高的能量。

DNA 是电离辐射作用的靶分子,电离辐射通过对生物大分子的直接作用或间接作用导致各种类型的 DNA 损伤。

2.1 DNA 分子损伤

2.1.1 改变 DNA 碱基序列

电离辐射会对 DNA 分子造成碱基环破坏、碱基脱落丢失、碱基替代、形成嘧啶二聚体等损伤性破坏。4 种碱基辐射敏感性依次为 $T > C > A > G$ ^[28]。

2.1.2 DNA 分子链断裂^[29]

这是电离辐射损伤的主要形式,磷酸二酯键的断裂、碱基破坏或脱落和脱氧核糖分子破坏等都可以引起 DNA 链断裂。双链中一条链断裂称单链断裂,两条链在同一处或相邻处断裂称双链断裂,双链断裂常并发氢键断裂,并且双链断裂难以修复,是细胞死亡的重要原因。

2.1.3 DNA 分子交联

DNA 分子受损伤后,在碱基之间或碱基与蛋白质之间形成了共价键,而发生 DNA-DNA 交联和 DNA-蛋白质交联^[30]。嘧啶二聚体即是一种链内交联,还可发生链间交联。

2.2 DNA 合成抑制

DNA 合成抑制是一个非常敏感的辐射生物效应指标,受 0.01 Gy 照射即可观察到抑制现象^[30]。照射后 DNA 合成抑制与合成 DNA 所需的 4 种脱氧核苷酸形成障碍、酶活力受抑制、DNA 模板损伤、启动和调控 DNA 合成的复制子减少,以及能量供应障碍等都有关。

2.3 DNA 分解增强

在 DNA 合成抑制的同时,分解代谢明显增强。

原因可能是辐射破坏了溶酶体和细胞核的膜结构, DNase 释放直接与 DNA 接触,增加了 DNA 的降解。在一定剂量范围内,降解的程度决定于吸收剂量。照射后 DNA 代谢产物尿中排出量明显增多^[31]。

电离辐射会对生物体产生一定的生物学影响,如电离辐射引起的二次肿瘤、退行性病变等^[32-33];在个体发育中造成的致畸作用^[34];引起细胞的坏死、凋亡、衰老等^[35]。目前普遍认为,电离辐射产生作用的靶目标是细胞中的遗传物质 DNA。电离辐射引起的 DNA 损伤修复及其相关信号通路也一直都是放射生物学所关注的热点之一。

张梦达等^[36]研究了心脏介入中的电离辐射对患者外周血淋巴细胞 DNA 损伤的影响。他们依据介入术式的不同将 100 例心脏介入诊疗的患者分为 4 组:经皮冠脉介入术组、经皮冠脉造影术组、射频消融术组和永久性心脏起搏器植入术组。通过评估电离辐射对各组患者 DNA 损伤的影响,研究结果显示不同的介入术式,术中的电离辐射均会造成患者 DNA 的损伤,辐射剂量越大, DNA 损伤越严重。Zhou 等^[37]利用真核细胞内唯一的核外遗传物质线粒体 DNA 作为研究对象,使用长片段 PCR 对电离辐射引起的线粒体 DNA 损伤进行了检测,这种方法准确反映了电离辐射引起的线粒体 DNA 损伤的剂量依赖性,并对 DNA 构象的改变进行了检测。研究发现电离辐射能够引起显著的线粒体 DNA 超螺旋构象的变化。Zhou 等^[38]还对电离辐射引起的线粒体 DNA 区域性损伤进行了全面解析,发现这种损伤存在非随机性。研究结果显示线粒体 DNA 控制区序列对电离辐射最为敏感,而编码区的损伤则较小。为进一步阐明其内在机理,Zhou 等对线粒体 DNA 的序列结构进行分析,研究结果发现 GGG 元件在在变温动物线粒体 DNA 控制区中含量很低,而在恒温动物中富集。肖汉方等^[39]研究了血型糖蛋白 A 基因突变频率用于评价辐射危险和预测辐射诱发肿瘤的可行性。他们通过对放射诊疗工作人员的样品的研究,分析血型糖蛋白 A 基因突变频率并检测 DNA 损伤修复能力。其结果显示,介入放射学组的血型糖蛋白 A NO 基因突变频率明显高于 X-射线影像诊断组。研究表明对于电离辐射低剂量的人群,血型糖蛋白 ANO 基因突变频率可以反映 DNA 损伤效应。李宏阁等^[40]研究了在心血管疾病中介入诊疗 X-射线对人体 DNA 的影响。他们通过比较经皮冠状动脉造影术组、经皮冠状动脉介入术组以及

射频消融术组 3 组患者的辐射面积剂量乘积、介入参考点累积皮肤表面入射剂量、透视时间以及患者介入手术前后染色体微核率变化情况。研究结果表明患者在接受不同的介入方法治疗后, 均会引起不同程度 X-射线辐射导致的 DNA 损伤。杨杰等^[41]通过 Overlap PCR、酶切扩增和自杀质粒空载体并连接构建重组载体, 将重组子转化大肠杆菌 JM109 感受态, 并进行测序鉴定。他们成功构建了 pprM DNA 结合域基因敲除重组体, 研究结果显示 pprM DNA 结合域与耐辐射奇球菌抗辐射功能相关。樊嵘等^[42]利用 siRNA 和 Tip60 乙酰转移酶抑制剂抑制 Tip60 的表达或乙酰转移酶的活性, 分析了细胞对 γ -射线的敏感性并检测了 DNA 损伤修复。研究发现经 γ -射线照射后, Tip60 失活导致 DNA 双链断裂的修复能力降低。细胞在受到 γ -射线辐射损伤后, Tip60 与 DNA 修复蛋白会发生相互作用, Tip60 乙酰转移酶抑制剂能抑制 DNA 修复蛋白的 T2609 位点的磷酸化。研究表明 Tip60 通过与 DNA 修复蛋白的相互作用, 能够影响细胞对 γ -射线辐射的敏感性。

3 DNA 自组装技术在电离辐射检测中的应用

DNA 自组装结构具有结构的可设计性、高灵敏度及易得到性, 现已广泛应用于生物医学领域。DNA 本身对外显示电负性, 因此其很难穿过与其同样带有负电荷的细胞膜。研究中一般会利用阳离子聚合物等用来补偿电荷因素的限制从而达到有效的细胞摄取率。然而研究发现, 与这些简单的 DNA 链不同的是, DNA 纳米结构却能够容易地通过细胞膜, 从而为其作为转运装置提供了可能。细胞摄取物的形状和大小会影响细胞摄取途径^[43-44]。DNA 纳米结构可以人工设计和构建, 这为我们运用多种结构用于药物运输提供了可能。通过共价连接、核酸碱基配对、生物素-抗生物素反应、嵌入、核酸适体-配体反应和 DNA-蛋白反应等方法可以将各种功能分子与 DNA 偶联^[45-46]。由于 DNA 纳米结构可精确设计性及可寻址性, 我们可以调控载带药物分子的个数及位置, 而这种设计上的控制性其他无机和有机纳米材料不可能实现的。例如, 在 DNA 纳米结构中设计某一位点作生物素标记, 这样就可以控制链霉亲和素在该位点的标记^[45-48]。核酸适配体是人工筛选的寡聚核苷酸, 与特定的目标物存在高的亲和力。由于其高特异性和合成的简洁性, 其在生物传感和医学诊断中有着广泛的应用^[49]。多肽和蛋

白很容易通过 EDC/NHS 反应、“Click”化学反应、生物素-抗生物素(biotin-avidin)链接、核酸适体-配体反应或者 DNA-蛋白反应这些途径, 与 DNA 纳米结构进行偶联^[50-54]。最近, 出现了许多在 DNA 纳米结构的特定位置上锚定不同蛋白, 用于阵列设计和生物传感用途的工作^[47,50,52-53,55-58]。

而利用电离辐射对 DNA 分子产生影响的性质, 可以通过结合 DNA 自组装结构来构建超灵敏辐射传感器。2011 年 3 月的日本福岛核事故的发生使得发展监测 α 放射性核素的灵敏传感器更为迫在眉睫。 α 粒子, 由氦原子核组成, 由铜系元素的各种同位素, 包括钍、铀、镭、钋、镭和镭发出。这些粒子较重, 与其他常见的核辐射相比带有更多的电荷。因此, α 粒子具有很高的线性能量转移值, 并且很容易释放自己的能量, 经过这一过程, 其就可以消失, 避免像其他放射物那样可能在与放射源合适的距离下就会被检测到。因此, 实时在线监测核电设备的 α 辐射对于传统的检测器来说是个很大的挑战。半导体硅二极管和金属氧化物半导体场效应晶体管的剂量计都能够提供时间分辨数据^[60]。两者都非常敏感, 并具有良好的分辨率, 但其响应会随有限的寿命而退化。它们需要电源单元和数据存储, 不适合用于在线定量检测。尽管电离室在附近能轻松找到, 还需要一个高电压储存设施, 也太而无法用于在线监测^[61]。固体核径迹探测器提供了另外一种监测 α 粒子的技术, 因为它们会沿其轨道产生原子位移和分子重排导致圆柱状小径^[62]。虽然这种技术简单, 灵敏, 但它涉及到一个耗时的化学处理, 并只允许离线监测, 因而在需要迅速做出反应的任何紧急情况就会失效。不可预测的核事故给科学家和工程师们发明一种灵敏的探测器, 尤其是探测 α 辐射提出了巨大挑战。由于本身具有很高的线性能量转移值, 探测这种辐射的传感器需要置于和辐射源距离很近的地方。Dugasani 等^[59]报道了一种人工合成的 DNA 薄膜置于 α 辐射辐照后的表面形貌和光学响应的变化, 并用原子力显微镜, 拉曼图谱及反射显微镜对其进行了表征 (如图 3 所示)。

另外还探讨了 DNA 薄膜作为一种辐射传感材料的可能性。 α 辐照对 DNA 薄膜的影响通过其与 ^{241}Am 辐射源的距离及辐照时间来进行评估。DNA 薄膜反射强度的明显变化表明, 生物大分子构成的薄膜有望开发为实时监测辐射的传感器。研究了 DNA 二维薄膜结构在 α 粒子辐照下, 利用 AFM

和拉曼光谱观察 DNA 二维薄膜的构型变化, 利用光学探测器和在线光谱测量了 DNA 薄膜的光学反射强度的变化。单个 α 粒子的能量是 $7.2 \times 10^{-13} \text{ J}$, 这足以破坏 DXL 单元 (DXL 内氢键的能量是 $6.1 \times 10^{-18} \text{ J}$)。利用生物分子来构建高效的辐射传感器是生物纳米技术研究的一个重要方向。

除了核武器产生的余波, 主要的人为来源的电离辐射有核反应堆、核燃料循环设施、加速器, 工业造影, 辐射处理单元与核医学(诊断和治疗用途)。剂量深度为厚度的函数应该为理想地矩形形状, 具有平坦的最大值和快速消失的后缘。该剂量是由不同的代码计算得到, 并使用基于热释光剂量计(TLD)

或光刺激发光剂量计(OSLD)的固态剂量计进行验证。很有必要设计一种传感器, 能够相应更低的剂量($< 10 \mu\text{Sv}$)。由于治疗所用的辐射不可避免的是基于 β 粒子, 其线性能量转移值远低于 α 粒子, 越来越需要发展一种高效的超灵敏的辐射探测器来监测人们在核医学治疗过程中的所受的是辐射剂量, 这些辐射大部分是基于放射性药物, 尤其是 β 发射源。基于生物材料能够检测特定靶向材料或位点的传感器应用到纳米生物领域。

Dugasani 等^[63]利用人工设计合成的生长在基底上的 DNA 二维晶格材料, 将它暴露于纯 β 发射源 ^{90}Sr - ^{90}Y 后进行了分析 (如图 4 所示)。

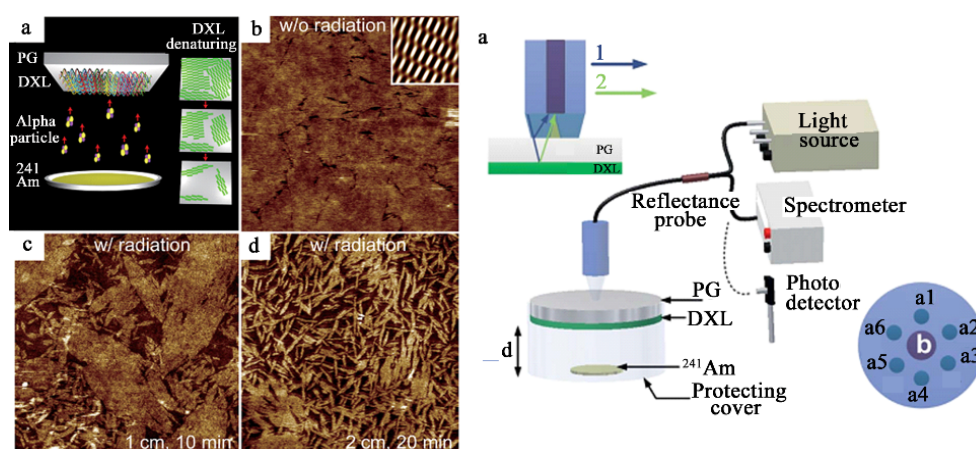


图 3 纳米 DNA 自组装薄膜构建 α 粒子辐照传感器^[59]
Fig.3 Nanometric DNA thin film as a sensor for alpha radiation^[59]

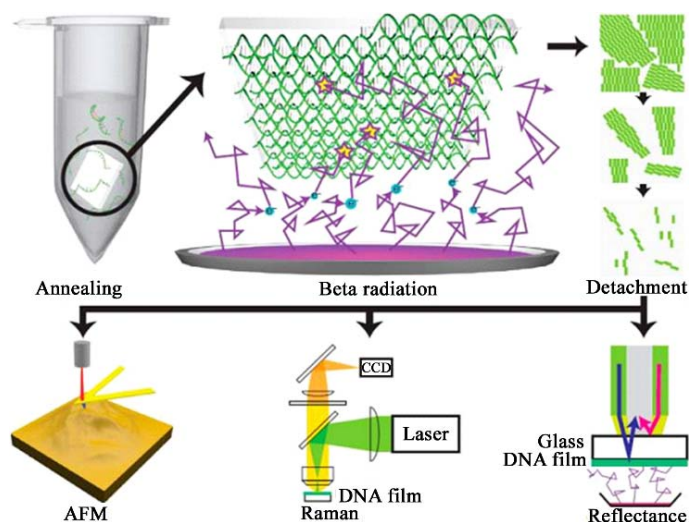


图 4 二维 DNA 自组装薄膜构建高灵敏 β 粒子辐照探测器^[63]
Fig.4 2D DNA lattice as an ultrasensitive detector for beta radiation^[63]

在研究中使用的 β 辐射源是 ^{90}Sr , 它与 ^{90}Y 长期平衡。由于结构的可设计性, 高灵敏度及易得到性, 生物大分子, 特别是 DNA 分子很适合作为 β 离子的探测平台。 β 辐照对 DNA 单分子层的影响是受计量调控的, 在一定剂量下, 主要依赖于以下两个物理参数: 辐射源与 DNA 晶格的距离以及辐照曝光时间。由于大量 β 离子的穿透, 使得 DNA 晶格发生变形, 减弱了它和基底的粘附。DNA 膜的损伤程度是吸收的能量(剂量)的函数, 并且它是独立的辐射性质。因此, 很难对两个独立的辐射进行比较, 主要有以下原因: (1) ^{90}Sr - $^{90}\text{Y}(\beta)$ 的强度来源是 3.804 kBq, 而对于 $^{241}\text{Am}(\alpha)$ 是 729 Bq。(2) ^{90}Sr - ^{90}Y 发出的辐射平均能量为 0.471 MeV, 而对于 ^{241}Am 是 5.48 MeV。(3) β 射线的线性能量转移值小得多, 并且一个给定的介质(几米在空气中)的范围相比于 α 辐射的对应的值(~ 4.5 cm)大得多。由于辐射源强度和线性的能量转移值的差别, 将 DNA 晶格与辐射源的最佳距离保持为 4–7 cm。他们研究了其拉曼图谱, 以及在与辐照源不同距离和辐照时间下 DNA 晶格的反射程度。虽然 β 离子的线性能量转移值很小, 仅有 0.6 nm 厚的 DNA 膜在此条件下发生显著的物理化学变化, 也证明了利用 DNA 开发超灵敏 β 辐射探测器的可行性。利用 SAG 方法制备了生长在玻璃基底上的 DX DNA 二维晶格。将其暴露在 β 粒子下, 调节距离和辐照时间, DNA 二维晶格形貌, 拉曼图谱及光学反射强度都有了明显变化。放置与 β 相距 4 cm 处辐照 10 min 后, 其拉曼峰值下降了约 10 倍。研究认为它原子力显微镜形貌, 拉曼光谱, 和反射率的变化与 β 辐照剂量/剂相关, 这为发展一种灵敏的检测工具提供了基本支持, 这种检测器有望应用到纳米技术、生物技术和医药中, 甚至更传统的学科, 如物理学、化学和生物学的研究。

DNA 自组装技术在近 30 年来发展迅速, 是可以用作研究单分子生物物理学的工具, 同样广泛应用于生物医学传感、成像、诊断和载药, 纳米孔测序和纳米光/电子学等领域。而利用电离辐射对 DNA 分子的损坏影响, 最近又出现了利用 DNA 自组装纳米结构应用于电离辐射检测的研究。随着 DNA 自组装技术的发展, 将会构建更复杂多功能的 DNA 纳米结构, 广泛而深入地应用于各个领域, 促进相关科学与技术的发展。

参考文献

- 1 Kallenbach N R, Ma R I, Seeman N C. An Immobile Nucleic-Acid Junction Constructed from Oligonucleotides [J]. *Nature*, 1983, **305**(5937): 829-831
- 2 Rothmund P W K. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns [J]. *Nature*, 2006, **440**(7082): 297-302
- 3 Ke Y, Ong L L, Shih W M, *et al.* Three-Dimensional Structures Self-Assembled from DNA Bricks [J]. *Science*, 2012, **338**(6111): 1177-1183
- 4 Inuma R, Ke Y, Jungmann R, *et al.* Polyhedra Self-Assembled from DNA Tripods and Characterized with 3D DNA-PAINT [J]. *Science*, 2014, **344**(6179): 65-69
- 5 Fu T J, Seeman N C. DNA double-crossover molecules [J]. *Biochemistry*, 1993, **32**(13): 3211-3220
- 6 LaBean T H, Yan H, Kopatsch J, *et al.* Construction, Analysis, Ligation, and Self-Assembly of DNA Triple Crossover Complexes [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2000, **122**(9): 1848-1860
- 7 Yan H, Zhang X, Shen Z, *et al.* A robust DNA mechanical device controlled by hybridization topology [J]. *Nature*, 2002, **415**(6867): 62-65
- 8 Yan H, Park S H, Finkelstein G, *et al.* DNA-templated self-assembly of protein arrays and highly conductive nanowires [J]. *Science*, 2003, **301**(5641): 1882-1884
- 9 Liu D, Wang M, Deng Z, *et al.* Tensegrity: construction of rigid DNA triangles with flexible four-arm DNA junctions [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2004, **126**(8): 2324-2325
- 10 Zheng J P, Birktoft J J, Chen Y, *et al.* From molecular to macroscopic via the rational design of a self-assembled 3D DNA crystal [J]. *Nature*, 2009, **461**(7260): 74-77
- 11 He Y, Chen Y, Liu H, *et al.* Self-assembly of hexagonal DNA two-dimensional (2D) arrays [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2005, **127**(35): 12202-12203
- 12 He Y, Tian Y, Ribbe A E, *et al.* Highly connected two-dimensional crystals of DNA six-point-stars [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2006, **128**(50): 15978-15979
- 13 Shih W M, Quispe J D, Joyce G F. A 1.7-kilobase single-stranded DNA that folds into a nanoscale octahedron [J]. *Nature*, 2004, **427**(6975): 618-621
- 14 Qian L L, Wang Y, Zhang Z, *et al.* Analogic China map constructed by DNA [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2006, **51**(24): 2973-2976

- 15 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**(7243): 73-76
- 16 Douglas S M, Dietz H, Liedl T, *et al.* Self-assembly of DNA into nanoscale three-dimensional shapes [J]. *Nature*, 2009, **459**(7245): 414-418
- 17 Han D, Pal S, Nangreave J, *et al.* DNA origami with complex curvatures in three-dimensional space [J]. *Science*, 2011, **332**(6027): 342-346
- 18 Zhang H, Chao J, Pan D, *et al.* Folding super-sized DNA origami with scaffold strands from long-range PCR [J]. *Chemical Communications*, 2012, **48**(51): 6405-6407
- 19 Yin P, Hariadi R F, Sahu S, *et al.* Programming DNA tube circumferences [J]. *Science*, 2008, **321**(5890): 824-826
- 20 Wei B, Dai M, Yin P. Complex shapes self-assembled from single-stranded DNA tiles [J]. *Nature*, 2012, **485**(7400): 623-626
- 21 Gu H Z, Chao J, Xiao S J, *et al.* A proximity-based programmable DNA nanoscale assembly line [J]. *Nature*, 2010, **465**(7295): 202-205
- 22 Qian L L, Winfree E. Scaling up digital circuit computation with DNA strand displacement cascades [J]. *Science*, 2011, **332**(6034): 1196-1201
- 23 Mao C, Sun W, Shen Z, *et al.* A nanomechanical device based on the B - Z transition of DNA [J]. *Nature*, 1999, **397**(6715): 144-146
- 24 Liu D, Balasubramanian S. A Proton - Fuelled DNA Nanomachine [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2003, **42**(46): 5734-5736
- 25 Yurke B, Turberfield A J, Mills A P, *et al.* A DNA-fuelled molecular machine made of DNA [J]. *Nature*, 2000, **406**(6796): 605-608
- 26 Gu H, Chao J, Xiao S J, *et al.* Dynamic patterning programmed by DNA tiles captured on a DNA origami substrate [J]. *Nature nanotechnology*, 2009, **4**(4): 245-248
- 27 Bath J, Green S J, Turberfield A J. A Free-Running DNA Motor Powered by a Nicking Enzyme [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2005, **117**(28): 4432-4435
- 28 童红. 电离辐射的生物学效应 [J]. 贵州教育学院学报, 2000, **11**(4): 36-38
TONG Hong. Biological effect on ionizing radiation [J]. *Journal of Guizhou Educational college*, 2000, **11**(4): 36-38
- 29 由莉, 赵永成. 电离辐射所致的 DNA 双链断裂检测技术的进展 [J]. 中国辐射卫生, 2006, **15**(3): 381-382
YOU Li, ZHAO Yongcheng. Progress of Methodology in Measuring DNA Double Strand Breaks Caused by Ionizing Radiation [J]. *Chinese Journal of Radiological Health*, 2006, **15**(3): 381-382
- 30 马水英, 石莎, 银爱君. 电离辐射生物学效应研究综述 [J]. 北方环境, 2013, **28**(6): 9-13
MA Shuiying, SHI Sha, YIN Aijun. Research overview of biological effects about ionizing radiation [J]. *Inner Mongolia Environmental Sciences*, 2012, **28**(6): 9-13
- 31 王长振, 吴可, 丛建波. 电磁辐射的生物学效应及生物医学应用 [J]. 中华物理医学与康复杂志, 2003, **25**(1): 49-49
WANG Changzhen, WU Ke, CONG Jianbo. *Chinese Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*, 2003, **25**(1): 49-49
- 32 Ewertz M, Jensen A B. Late effects of breast cancer treatment and potentials for rehabilitation [J]. *Acta Oncologica*, 2011, **50**(2): 187-193
- 33 Richardson R B. Ionizing radiation and aging: rejuvenating an old idea [J]. *Aging (Albany NY)*, 2009, **1**(11): 887
- 34 De Santis M, Di Gianantonio E, Straface G, *et al.* Ionizing radiations in pregnancy and teratogenesis: a review of literature [J]. *Reproductive toxicology*, 2005, **20**(3): 323-329
- 35 周鑫, 王振华, 张红. 电离辐射引起的线粒体 DNA 损伤及突变研究进展 [J]. 原子核物理评论, 2012, **29**(4): 399-405
ZHOU Xin, WANG Zhenhua, ZHANG Hong. Current study on ionizing radiation-induced mitochondrial DNA damage and mutations [J]. *Nuclear Physics Review*, 2012, **29**(4): 399-405
- 36 张梦达, 王爱玲, 郭杰, 等. 电离辐射对心脏介入患者淋巴细胞 DNA 损伤的影响 [J]. 安徽医科大学学报, 2013, **48**(10): 1217-1220
ZHANG Mengda, WANG Ailing, GUO Jie, *et al.* DNA Damage in Lymphocytes of Patients Induced by Ionizing Radiation in Cardiac Intervention [J]. *Acta Universitatis Medicinalis Anhui*, 2013, **48**(10): 1217-1220
- 37 Zhou X, Li N, Wang Y, *et al.* Effects of X-irradiation on mitochondrial DNA damage and its supercoiling formation change [J]. *Mitochondrion*, 2011, **11**(6): 886-892
- 38 Zhou X, Liu X, Zhang X, *et al.* Non-randomized mtDNA damage after ionizing radiation via charge transport [J]. *Scientific Reports*, 2012, **2**: 780-785
- 39 肖汉方, 朱国英, 顾淑珠, 等. 放射诊疗工作人员血型糖蛋白 A 基因突变频率及其相关因素的研究 [J]. 中

- 华放射医学与防护杂志, 2012, **32**(002): 170-175
- XIAO Hanfang, ZHU Guoying, GU Shuzhu, *et al.* Glycophorin a mutation and relevant factors in medical radiation workers [J]. Chinese Journal of Radiological Medicine and Protection, 2012, **32**(002): 170-175
- 40 李宏阁. 介入诊疗对心血管病患者外周淋巴细胞 DNA 的损伤 [J]. 医学综述, 2013, **19**(19): 3647-3648
- LI Hongge. Interventional diagnosis and treatment caused DNA damage of cardiovascular disease patients [J]. Medical Recapitulate, 2013, **19**(19): 3647-3648
- 41 杨杰, 苏泽红, 李斌元, 等. 耐辐射奇球菌 pprM DNA 结合域功能分析预测与基因敲除重组体的构建 [J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2013, **31**(6): 060203(5)
- YANG Jie, SU Zehong, LI Binyuan, *et al.* Bioinformatics Analysis of pprM DNA binding domain and construction of gene knockout vector recombinant in deinococcus radiodurans [J]. Journal of Radiation Research and Radiation Proces, 2013, **31**(6): 060203(5)
- 42 樊嵘, 张士猛, 刘晓丹, 等. Tip60 基因沉默对细胞 DNA 双链断裂修复和辐射敏感性的影响 [J]. 中华放射医学与防护杂志, 2011, **31**(5): 511-514
- FAN Rong, ZHANG Shimeng, LIU Xiaodan, *et al.* Deficiency of DNA double-strand break repair and enhanced radiosensitivity in Tip60 silenced cells [J]. Chinese Journal of Radiological Medicine and Protection, 2011, **31**(5): 511-514
- 43 Huang K, Ma H, Liu J, *et al.* Size-dependent localization and penetration of ultrasmall gold nanoparticles in cancer cells, multicellular spheroids, and tumors in vivo [J]. ACS Nano, 2012, **6**(5): 4483-4493
- 44 Gratton S E, Ropp P A, Pohlhaus P D, *et al.* The effect of particle design on cellular internalization pathways [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, **105**(33): 11613-11618
- 45 Sacca B, Niemeyer C M. DNA origami: the art of folding DNA [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2012, **51**(1): 58-66
- 46 Bandy T J, Brewer A, Burns J R, *et al.* DNA as supramolecular scaffold for functional molecules: progress in DNA nanotechnology [J]. Chemical Society Reviews, 2011, **40**(1): 138-148
- 47 Sacca B, Meyer R, Erkelenz M, *et al.* Orthogonal protein decoration of DNA origami [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2010, **49**(49): 9378-9383
- 48 Voigt N V, Topping T, Rotaru A, *et al.* Single-molecule chemical reactions on DNA origami [J]. Nature Nanotechnology, 2010, **5**(3): 200-203
- 49 Song S P, Wang L H, Li J, *et al.* Aptamer-based biosensors [J]. Trac-Trends in Analytical Chemistry, 2008, **27**(2): 108-117
- 50 Pei H, Wan Y, Li J, *et al.* Regenerable electrochemical immunological sensing at DNA nanostructure-decorated gold surfaces [J]. Chemical Communications, 2011, **47**(22): 6254-6256
- 51 Zhang K, Hao L L, Hurst S J, *et al.* Antibody-linked spherical nucleic acids for cellular targeting [J]. Journal of the American Chemical Society, 2012, **134**(40): 16488-16491
- 52 Zhang Z, Wang Y, Fan C H, *et al.* Asymmetric DNA origami for spatially addressable and index-free solution-phase DNA chips [J]. Advanced Materials, 2010, **22**(24): 2672-2675
- 53 Liu Y, Lin C X, Li H Y, *et al.* Protein nanoarrays-Aptamer-directed self-assembly of protein arrays on a DNA nanostructure [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2005, **44**(28): 4333-4338
- 54 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
- 55 Nakata E, Liew F F, Uwatoko C, *et al.* Zinc-finger proteins for site-specific protein positioning on DNA-origami structures [J]. Angewandte Chemie-International Edition, 2012, **51**(10): 2421-2424
- 56 Chhabra R, Sharma J, Ke Y G, *et al.* Spatially addressable multiprotein nanoarrays templated by aptamer-tagged DNA nanoarchitectures [J]. Journal of the American Chemical Society, 2007, **129**(34): 10304-10305
- 57 Shen W Q, Zhong H, Neff D, *et al.* NTA directed protein nanopatterning on DNA origami nanoconstructs [J]. Journal of the American Chemical Society, 2009, **131**(19): 6660-6661
- 58 Niemeyer C M, Wacker R, Adler M. Combination of DNA-directed immobilization and immuno-PCR: very sensitive antigen detection by means of self-assembled DNA-protein conjugates [J]. Nucleic Acids Res, 2003, **31**(16): e90
- 59 Dugasani S R, Lee N H, Lee J, *et al.* A novel nanometric DNA thin film as a sensor for alpha radiation [J]. Scientific Reports, 2013, **3**: 1819-1823
- 60 Ehringfeld C, Schmid S, Poljanc K, *et al.* Application of commercial MOSFET detectors for in vivo dosimetry in

- the therapeutic x-ray range from 80 kV to 250 kV[J]. Physics in Medicine and Biology, 2005, **50**(2): 289-303
- 61 Huq M S, Andreo P. Advances in the determination of absorbed dose to water in clinical high-energy photon and electron beams using ionization chambers [J]. Physics in Medicine and Biology, 2004, **49**(4): R49-R104
- 62 Fleischer R, Price P, Walker R, *et al.* Track registration in various solid-state nuclear track detectors [J]. Physical Review, 1964, **133**(5A): A1443-A1449
- 63 Dugasani S R, Kim J A, Kim B, *et al.* A 2D DNA lattice as an ultrasensitive detector for beta radiations [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2014, **6**(4): 2974-2979

DNA self-assembly technology and its application in ionizing radiation detection

ZHANG Honglu LI Fan LIU Huajie CHAO Jie

(Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Jiading Campus, Shanghai 201800, China)

ABSTRACT Ionizing radiation can cause damage on DNA (such as physically breaking one or both of the sugar phosphate backbones, breaking the base pairs or hydrogen bonds of the DNA), inhibit synthesis of DNA and promote degradation of DNA. These effects will further change the configuration of DNA self-assembled nanostructures, which can be applied in detection of ionizing radiation. This work reviews the developments of DNA self-assembly technology in recent years, and introduces the applications of DNA self-assembly in ionizing radiation detection, especially in detection of α and β particle radiations based on DNA tile self-assembly.

KEYWORDS Radiation physics and technology, DNA self-assembly, DNA nanotechnology, Ionizing radiation, Radiation detection

CLC O653, TL84