#### doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2012.03.002

# 模版合成 DNA 纳米管:用于基因和药物输送纳米新技术

## 侯士峰1 朱 军2 王 宁2 杨 婕2

(1蒙特克莱尔州立大学化学系,美国新泽西 07043;2济宁医学院生物纳米技术与医学工程研究中心,山东济宁 272067)



侯士峰,1987年从山东大学本科毕业后在济宁医学院任教;1998年 在南京大学获得博士学位;随后赴北京大学纳米技术研究中心从事博士 后研究,2000年底赴美,在康涅狄格大学和佛罗里达大学从事纳米材料 应用开发研究;2005年起在 Crosslink Polymer Research. Inc. 公司任高 级研究员(Senior Research Scientist);2008年加入蒙特克莱尔大学,任化 学系教授;2010年任济宁医学院生物纳米技术与医学工程材料研究所所 长;2011年任济宁市碳纳米材料研究中心主任。主要研究领域包括纳米 材料、生物纳米技术;发表论文 30余篇,论文最高影响因子 12.5,被引

用次数超过1000次。拥有4项美国专利,3项专利正在公示期。1999年获得国家博士后基金1 项,2000年获中国博士后学术大会优秀论文化学类唯一一等奖。目前在济宁医学院主持1项中 国国家自然科学基金面上项目。

摘 要 利用氧化铝多孔膜作为模板合成了 DNA 纳米管,DNA 纳米管由单链 DNA 片段杂交在氧化铝多 孔膜内以 DNA 双链杂交组成;药物分子和 DNA 片段相连后,可把药物分子包覆于 DNA 纳米管中。加热时, 双链 DNA 纳米管分解,释放出单链 DNA 分子,以此可实现基因和药物分子的可控输送和释放。

关键词 DNA 纳米管;药物可控输送 中图分类号:Q789 文献标识码:A 文章编号:1000-9760(2012)06-162-06

## Template synthesis of DNA nanotube:-New gene and drug delivery vehicle

HOU Shi-feng, ZHU Jun, WANG Ning, et al (Department of Chemistry & Biochemistry Montclair State University, New Jersey 07043, USA)

Abstract:DNA nanotubes were fabricated within the anodisc alumina membrane(AAM) by utilizing layer-bylayer technique. The wall of nanotube is composed of DNA, and the layers are held together by hybridization of complementary single-stranded DNA oligonucleotides(ss-DNA). Ss-DNA can be released from the DNA nanotubes by melting of the duplexes. It was found that DNA sequence, DNA layers will affect the release temperature and released amounts. Fluorescence dyes are linked to ss-DNA and are used to construct the DNA nanotubes and to simulate drug delivery process.

Key words: DNA nanotubes; Drug delivery

随着分子生物学的发展,基因治疗逐渐成为遗 传病、恶性肿瘤、心脑血管等疾病的有效治疗方 式<sup>[1-2]</sup>。基因治疗的原理是将有治疗作用的基因通 过适当的方式导入人体靶细胞,通过纠正基因的缺 陷,导入药物分子而达到治疗疾病的目的。目前常 用的基因载体分为病毒载体和非病毒载体<sup>[3]</sup>。病 毒基因载体是首先使用的方法,但病毒本身存在一 定的毒性。与病毒基因载体相比,非病毒基因载体 具有安全性高、无基因插入片段大小限制、易于规 模化生产等优势<sup>[4]</sup>。但在输送过程中,存在导入的 基因易被机体或细胞中的酶降解、表达效率低、载 体本身生物相容性差等缺点,因此需要选择高效的 基因载体材料携带基因进入细胞。纳米材料的发 展为利用纳米基因载体提供了研究方向,是一种新 的发展趋势[5-6]。近十年来,科学家一直致力于纳 米技术用于药物输送的研究,纳米材料用于药物和 基因的输送的优点是其可提供小剂量的药物、可以 包覆小尺寸的 DNA,容易透过细胞膜,更易被细胞 吸收等[7-9]。生物纳米技术领域的一个重大挑战是 控制纳米材料的形状和表面性质。在过去的研究 中,我们通过多孔氧化铝纳米薄膜作为模板,利用 不同的材料合成了一系列可控形状的纳米管<sup>[10]</sup>。 本文研究了通过氧化铝薄膜作为模板合成 DNA 纳米管的具体过程, DNA 纳米管由多层单链 DNA 分子链(ss-DNA)通过可配对碱基序列杂交在一起 形成双链 DNA(ds-DNA),当加热时,这种 ds-DNA 纳米管会分解,释放出一个个 ss-DNA 分子 片段<sup>[11-12]</sup>。通过药物分子和 ss-DNA 片段相连,药 物分子可以包覆于 DNA 纳米管内,因此,DNA 纳 米管不仅可以用于基因输送,还可用于药物分子输 送和控制释放。通过提高 DNA 纳米管的生物相 容性、控制纳米管的尺寸、合理设计基因序列等技 术,DNA 纳米管可用于基因和药物的可控输送和 释放系统,治疗基因紊乱等疾病。

## 1 实验部分

# 1.1 试剂和药品

具有特定碱基序列的 ss-DNA 片段、含荧光分子 Fluorescein isothiocyanate(FITC)和 Cy5 的 ss-DNA 片段均购于 Alphadna(Canada)(见表 1)。 多孔 氧 化 铝 膜 (Anodisc Alumina membrane (AAM))购于 Whatman(USA),其他试剂均为分 析纯。

## 1.2 DNA 片段碱基序列设计及工作原理

实验用的 ss-DNA 碱基序列见表 1。在这个 设计中,DNA-0 的 5<sup>°</sup>端含一个磷酸基,这个磷酸基 被用于和内层的锆离子(Zr<sup>4+</sup>)结合形成的 DNA 单分子层,这层不能够被释放,它主要用作和 DNA-1形成第1个双链层,DNA-1包含两段精心 设计碱基序列,其中一段和 DNA-0 互补,这一段 碱基序列与 DNA-0 杂交形成第1层的 ds-DNA, 并留下另一端碱基序列,用于和 DNA-2 的一段碱 基序列杂交。DNA-2 与 DNA-1一样,一段碱基序 列和 DNA-1形成第2个 ds-DNA 层,另一端将和 DNA-3 碱基序列形成第3个 ds-DNA 层(图 1)。 其他的 DNA 序列如表1所示,它们可以用来构建 所需的 ds-DNA 层。

# 表1 用于组装 DNA 纳米管的系列单链 DNA 碱基 序列和理论融解温度<sup>±</sup>(Tm/℃)

DNA	Sequence	Tm <sub>1</sub> (°C)	Tm₂ (℃)
DNA 0	5'-(H₂O₃PO) - TTT GGA GTG ACC TGG TGT-3'		74.1
DNA 1	5'-TCT TCC GAC TTA CGC ACA CCA GGT CAC TCC-3'	73.7	74.1
DNA 2	5'-GCG TAA GTC GGA AGA GTA GTG ACC TGG TGT-3'	73.7	70.7
DNA 3	5'-TCT TAC GAC TTA CGC ACA CCA GGT CAC TAC-3'	70.2	70.7
DNA 4	5'-GCG TAA GTC GTA AGA GGA GTG ACC TGG TGT-3'	70.2	74.1
DNA 5	5'-TCT TCC GAC TTA ACA CCA GGT CAC-3'	65.9	67.3
DNA 6	5'-TAA GTC GGA AGA GTG ACC TGG TGT-3'	65.9	67.3
DNA 7	5'-CC GAC TTA ACA CCA GG-3'	53.4	51.5
DNA 8	5'-TAA GTC GG CC TGG TGT-3'	53.4	51.5
DNA 9	5'-FITC TCT TAC GAC TTA CGC ACA CCA GGT CAC TAC-3	73.7	74.1
DNA 10	5'-Cy5 GCG TAA GTC GTA AGA GGA GTG ACC TGG TGT-3'	73.7	70.7

注:理论融解温度(Tm/℃)由 http://www. basic. northwestern. edu/biotools/OligoCalc. html 计算得出

#### 1.3 DNA 纳米管的制备和释放过程

图 1 是 DNA 纳米管的制备过程。在进行制 备前, 先在氧化铝模板两面镀一层薄的金膜 (5nm),这层金膜不影响 ss-DNA 在纳米孔内表面 的形成 DNA 层,但可以防止 ss-DNA 在模板外表 面的沉积;然后,通过我们前述的自组装技术将 1,10-癸二膦酸(DBPA)沉积在氧化铝模板孔内表 面,然后在 DBPA 层表面沉积一层锆离子层 (Zr<sup>4+</sup>)<sup>[13-14]</sup>,这层锆离子暴露在表面,可以用来吸 附 DNA-0(5'-phosphorylated oligonucleotides)。 将上述膜浸泡到 DNA-0 溶液中, DNA-0 通过其一 端的膦酸根和锆离子层形成极稳定的-Zr-O<sub>3</sub>PO-DNA键,沉积到孔的内表面。通过控制浸泡时间, DNA-0 在纳米孔的内表面形成高密度单层 DNA 膜。膜中的 DNA-0 用于和 DNA-1 杂交形成第1 层 ds-DNA,这个过程需要超过 16h,以达饱和。研 究证明,过密的 DNA-0 不利于随后杂交过程。因 为 DNA-1 必须首先进入到 DNA-0 膜中,然后才 能和 DNA-0 形成 ss-DNA, DNA-0 膜密度高会引 起空间阻碍,没有足够的空间为 DNA-1 插入和随 后 ds-DNA 的形成。我们的改进方法首先将等摩 尔 DNA-0 和 DNA-1 在缓冲溶液混合, DNA-0 与 DNA-1杂交形成 ds-DNA 链,然后到氧化铝模板 孔。在这种情况下,ds-DNA 将通过 DNA-0 其一 端的磷酸根和锆离子层形成极稳定的-Zr-O<sub>3</sub>PO-DNA键,沉积到孔的内表面。然后,把氧化铝膜放 入 DNA-0/DNA-1 溶液 30h,可在纳米孔内形成高 密度 ds-DNA。双链中 DNA-1 有一半的 DNA-1 可以与 DNA-2 的一半杂交形成第 2 层 ds-DNA; 这样,每个杂交步骤形成一个 ds-DNA 层,重复上 述步骤,可得含所需层数和碱基序列的 DNA 纳米 管。纳米管固定 DNA 的数量可通过紫外光谱检 测 DNA 溶液的浓度下降来跟踪。实验表明,溶液 中的 DNA 减少量和 DNA 纳米管内 DNA 纳米管 固定量对应。



图 1 DNA 纳米管的形成原理

#### 1.4 纳米管中 DNA 的释放过程

纳米管中 DNA 的释放过程从两个角度进行。

1)可以研究直接从含 DNA 纳米管的氧化铝 膜中释放 ss-DNA,具体过程如下,取 1cm<sup>2</sup>含 DNA 纳米管的氧化铝膜,折成碎片后,放入石英样 品池,加入 3.0 ml Tris-EDTA 缓冲溶液(含 0.5M 氯化钠),然后进行测定。

2)也可先从氧化铝膜上分离出的 DNA 纳米 管,从氧化铝膜分离 DNA 纳米管需要溶解氧化铝 膜,为避免在溶解过程中的 ds-DNA 解链,实验在 (2.0 M 氯化钠 + 1.5%磷酸)溶液中进行,操作 温度(0~4)℃。在本实验中,精确取 1cm<sup>2</sup> 的氧化 铝膜,放入(2.0 M 氯化钠 + 1.5%磷酸)溶液,在 (0~4)℃处理 24h,冷冻离心分离,以实验在(2.0 M 氯化钠 + 1.5%磷酸)溶液洗涤后收取分离后 的 DNA 纳米管。然后进行纳米管 DNA 的释放实 验。电镜照片统计结果发现 1cm<sup>2</sup> 的氧化铝膜含 5 ×10<sup>9</sup> 个纳米孔,可释放 5×10<sup>9</sup> 个 DNA 纳米管, 因此可以通过以上的 DNA 纳米管数量估计的 DNA 含量。

# 1.5 表征

紫外光谱利用 Evolution 300 UV-Vis Spectrophotometer(Fisher Scientific, USA),荧光光谱 利用 Cary Eclipse Spectrophotometer(Agilent, USA)。

# 2 结果与讨论

2.1 DNA 纳米管的形态

在本文中氧化铝膜模板的纳米孔内径为 100nm,模板厚度 36 微米(图 2. a),当 DNA 纳米 管在氧化铝膜中形成后,可观察到管状结构形状如 图 2. b,其结构如图 2. c。通过小心地溶解氧化铝 膜,DNA 纳米管被从氧化铝膜中释放出来,TEM 表明一些 DNA 纳米管长度可达 30 微米,和模板 厚度相当。但多数的纳米管长度约 1 到几微米(图 2. d)。但 DNA 纳米管直径和模板孔径相吻合。 图 2. e 是 DNA 纳米管荧光图像。



a:氧化铝膜 SEM 照片
b:氧化铝膜内形成 DNA 纳米管后 SEM 图像
c:DNA 纳米管结构 图示
d:从膜中分理出的 DNA 纳米管 SEM 图像
e:含 Cy5 DNA 纳米管荧光显微照片
图 2

# 2.2 DNA 纳米管的 DNA 链释放过程

释放 DNA 的过程实际上是 DNA 纳米管内壁 ds-DNA的解链过程。它可通过控制温度和电解 质浓度实现,其原理和测定 ds-DNA 融解温度 (Melting Temperature)原理一样。可以通过缓慢 升温,持续测量溶液中 ss-DNA 在 260nm 的紫外 吸收来监测释放过程。实际测量时,可以测量 ss-DNA 从含 DNA 纳米管的氧化铝薄膜中直接释放 过程,也可以先溶解掉氧化铝薄膜,离心分离、收集 从氧化铝薄膜中释放出的 DNA 纳米管,然后进行 测定。图 3 是随温度上升,连续释放出的 ss-DNA 在 260nm 处的吸光度曲线,吸光度对应 DNA 释放 量,实验条件是把 1cm<sup>2</sup> 含 DNA 纳米管的氧化铝 膜放入石英测量池中,加入 3.0ml Tris-EDTA 缓 冲溶液(含 0.5M 氯化钠),缓冲溶液的温度以 0.5℃/min 升温速率从 23℃上升至 85℃。不断增 加的吸收峰表明 ds-DNA 逐步融解变成 ss-DNA, ss-DNA 从纳米管中释放到缓冲溶液。图 4 a 中的 2个曲线分别对应2层和4层DNA的纳米管,曲 线对应释放 DNA 的过程。这些结果表明,随着温



实验条件: 1 cm<sup>2</sup> 含 DNA 纳米管的氧化铝膜, 3.0 ml Tris-EDTA 缓冲溶液(含 0.5M 氯化钠)。

图 3 持续升温时, DNA 纳米管释放到溶液中的 DNA 在 260 nm 处吸光度曲线变化

从这些曲线得出几个结论:1)无论是从膜中直 接释放还是从 DNA 纳米管释放,释放曲线都和传 统的 ds-DNA 融解温度曲线类似。然而,这些释放 曲线不是融解曲线。当 ds-DNA 在缓冲溶液中融 解时, ds-DNA 双链解链成为 ss-DNA。由于 ss-DNA 在 260nm 处的吸收较强,测量结果是其在 260nm 处的吸收增加。而对于 DNA 纳米管,溶液 中一开始没有 ds-DNA,也没有 ss-DNA,被释放的 ss-DNA 从纳米管扩散到缓冲溶液中,在 260 nm 处的吸收只来自释放的 ss-DNA。

2) 在较低温度下,在 260nm 处的吸收几乎测 不到,表明在较低温度下,所有的 ss-DNA 均固定 在 DNA 纳米管内,没有游离的 ss-DNA。

3)不同的 DNA 层可固定不同的 DNA 数量, 多层 DNA 纳米管内可释放更多的 ss-DNA。

因此,我们的结果表明,DNA可有效地固定在 纳米管内,ss-DNA从DNA纳米管内向溶液释放 过程是 ds-DNA 解链的结果,这些过程是类似在溶 液中的 ds-DNA 融解过程。我们可以利用这一特 点来设计的可控释放过程,例如,通过改变 ss-DNA 的碱基序列设计释放的温度。

2.3 DNA 纳米管的 DNA 释放温度控制

理论上, DNA 碱基种类与数目、序列影响着 DNA 纳米管 DNA 释放的温度。用含 16、24 和 30 碱基的 ss-DNA 组成纳米管。其释放温度曲线如 图 4 b。如预期的一样,从释放曲线可以发现, 30 个碱基 ss-DNA 纳米管释放温度范围为 58 ~ 78℃, 24 个 ss-DNA 纳米管释放温度范围是 52~ 67℃, 16 个碱基 ss-DNA 纳米管释放温度范围是 42~54℃。理论上,30 个碱基 DNA 的融解温度 (Tm)是 70.2~74.1℃(Tm1 和 Tm2),24 个碱基 DNA 的融解温度是 65.9~67.3℃,16 个碱基 DNA 的为 51.5~53.4℃。与传统的融解温度曲 线相比,在 DNA 纳米管释放温度区间较宽,原因 之一是由于释放的 ss-DNA 有一个从 DNA 纳米 管中向溶液的扩散过程中,因此,在这里,我们用 释放温度取代融解温度表述释放过程。



a:不同层数 DNA 纳米管释放 DNA 曲线(30 碱基) b:含不同碱基对的单链 DNA 形成的纳米管 DNA 释放温度曲线(4 层) 试验条件:从1cm<sup>2</sup> 氧化铝膜上分离出的 DNA 纳米管,3.0 ml Tris-EDTA 缓冲溶液(含 0.5M 氯化钠)。

图 4 温度-260nm 紫外吸收曲线

## 2.4 DNA 纳米管的 DNA 不同量的释放控制

DNA 纳米管 ds-DNA 的层数决定释放量,氧 化铝膜固定 ss-DNA 的量可以从膜纳米孔的密度 估计。在平面上形成 ds-DNA 单分子膜的密度最 高是  $3.0 \times 10^{12}$  / cm<sup>2[15]</sup>。在我们的试验中,若内孔 表面结构结构相同,可基于对孔的内表面面积和膜 的孔 隙数量估计固定 ds-DNA 的量。首先,从 SEM 图像,氧化铝膜孔的密度是( $4.6 \sim 5.0$ )×  $10^7$  / mm<sup>2</sup>、孔径 102 nm、氧化铝膜的厚度为 36 m。 由以上计算出 DNA 固定量大约为  $2.39 \sim 2.69$ nmol/cm<sup>2</sup>。试验 结 过 是 可释 放( $1.93 \pm 0.18$ ) nmol/cm<sup>2</sup>,5 层是(7.75±0.64)nmol/cm<sup>2</sup>[一层平 均为(1.55±0.13)nmol/cm<sup>2</sup>]。考虑孔和平坦的 表面结构之间的差异,我们的测试数据是和理论数 据吻合非常好。

1 cm<sup>2</sup>模板可释放 1.92 nmol ss-DNA,两层 DNA可释放 3.6 nmol ss-DNA,随 DNA 的层数 增加,固定 DNA 的数量增加,但增加趋势减缓,分 析表明,第 N 层固定 DNA 的量是上一层(N-1)的 约 75%~87%的(图 5)。从这个结果可以解释为 每一步杂交都不完全,每一步杂交比例都低于 100%;同时,DNA 纳米管内径随层数增加而逐渐 减小,当多层 DNA 纳米管形成后,其内空面积逐 渐减小,固定 DNA 的量减小。



测试条件: 1cm<sup>2</sup> 含 DNA 纳米管的氧化铝膜(红)或从 1cm<sup>2</sup> 膜上分离出的 DNA 纳米管(绿),3.0 ml Tris-EDTA 缓冲溶液(含 0.5M 氯化钠),释放温度 78℃。

图 5 含不同层数 DNA 纳米管的 DNA 释放量

图 5 还表明,相比于直接从膜中释放的 DNA, 先将 DNA 纳米管从氧化铝膜分离出来,然后收集 得到纳米管,然后再释放的 ss-DNA,测定结果表 明,可释放的 DNA 的量为直接从膜中量的 75%~ 87%,为最初固定量的 43%~72%。表明不是所 有的固定的都可以释放,而且,在从膜中释放纳米 观管的过程中, DNA 有损失,但大多数的 DNA 纳 米管在从膜中分离时是稳定的。

2.5 DNA 纳米管对 DNA 释放和重新吸收杂化

为了追踪 ss-DNA 在 DNA 纳米管释放过程, 我们利用紫外光谱研究了 DNA 纳米管释放和重 新吸收杂化 DNA 的过程。试验设计如下:选取 1cm<sup>2</sup> 含一个双链 DNA 层(DNA-0 和 DNA-1)氧 化铝膜(碎成几片),放入石英样品池底部,然后注 入 3.0 ml 1.0 M 氯化钠的 Tris-EDTA 缓冲溶液, 密封石英样品池后把溶液加热到 85℃,这时, DNA-1 被从 DNA 纳米管释放到溶液中,通过测量 溶液在 260nm 波长处的紫外吸收光谱计算释放量 (第1循环);释放完成后,将石英样品池缓缓下降 至室温,然后放入冰水混合物中24h,在这个过程, 溶液中的 DNA-1 再次被吸附进入 DNA 纳米管 中,并和纳米管内壁的 DNA-0 重新杂交,缔合成 双链,在进行紫外分析时,可以发现,此时,石英样 品池溶液中的 DNA-1 量降低,小于原来释放量的 15%,表示最初释放的 DNA-1 大部分可回到 DNA 纳米管重新杂化(第2循环)。当密封后的溶液重 新加热到 65℃,这时,DNA-1 重新被从 DNA 纳米 管释放到溶液中,紫外吸收光谱计速算出其释放量 为第一次释放量的 86%至 128%(第3循环)。重 复以上过程,结果表明,几乎所有纳米管内杂交的 DNA-1 均可以从氧化铝膜释放,释放 DNA 纳米管 的回收率约47%至82%。图6是重复7次释放和 7次重新杂交过程中样品池内可检测到的量的变 化,结果表明,这是一个完美的杂交一释放一再杂 交的循环过程。



测试条件:1cm<sup>2</sup> 氧化铝膜, 3.0ml Tris-EDTA 缓冲溶液(含 0.5M 氯化钠),释放温度 85℃,重新吸附杂交温度:室温 3h,0℃ 24h。

图 6 从 DNA 纳米管释放一重新吸附杂交的过程

#### 2.6 DNA纳米管对药物输送和模拟释放

我们选用 FITC 和 Cy5 荧光分子作为模拟药物分子。如表 1 所示,FITC 标记到 DNA-9 单链上,Cy5 连接到 DNA-10 单链上。DNA-9 首先和DNA-0 杂交,然后 DNA-10 与 DNA-9 杂交,通过重复杂交的过程,FITC 和 Cy5 分子可随着 DNA-9 与 DNA-10 嵌入纳米管的 DNA 层内。随后用荧光光谱研究 FITC 和 Cy5 随 DNA 的释放过程。我们选用两种 DNA 纳米管,第 1 个含有两层 DNA-9 和两层 DNA-10。也就是,第 1 种纳米管和第 2 种纳米管所固定的 Cy5 数量相同,但第 2 种纳米管

比第1种纳米管所固定的 FITC 多一层,所固定的 Cy5 数量多一些。图7a 是第1种纳米管完全释放 DNA 到溶液后的荧光光谱,图7b 是第2种纳米管 完全释放 DNA 到溶液中后的荧光光谱,可以看 出,两种纳米管释放的 Cy5 剂量几乎相同,但第2 种(3 层)纳米管释放的 FITC 量,比第1种纳米管 (两层)明显增加。这证明,我们可以控制在 DNA 纳米管所负载的两种荧光分子的数量并实现可控 释放。



a:含2层带 FITC和2层带 Cy5的分子的 DNA的纳米管释放后溶液的荧光光谱 b:含3层带 FITC和2层带 Cy5的分子的 DNA的纳米管释放后溶液的荧光光谱 测试条件:1cm<sup>2</sup>氧化铝膜,3.0 ml Tris-EDTA 缓冲溶液(含0.5M氧化钠),释放温度78℃。 图 7 DNA 纳米 管内药物分子种类和剂量的可控释放

#### 3 结论

本文进一步研究了模板合成 DNA 纳米管机 理及控制因素,在含有纳米孔的氧化铝膜上,通过 特殊设计的碱基序列 DNA 片段,实现不同 DNA 片段的杂交,从而组成层状结构,进而形成 DNA 纳米管,去掉模板可得到完全由 DNA 组成的纳米 管。这种新的 DNA 纳米管使在不分离载体的情 况下传递 DNA 分子成为可能,也可把药物分子连 接到 DNA 纳米管上,实现基因和药物分子的可控 释放。通过对控制纳米管的大小、生物相容性、控 制在体内穿透并释放等技术的开发,这种 DNA 纳 米管有望在基因治疗和药物输送等方面得到应用。

感谢:感谢国家自然科学基金的支持(基金号: 21175059)

## 参考文献:

- Cohen H, Levy RJ, Gao J, et al. Sustained delivery and expression of DNA encapsulated in polymeric nanoparticles[J].
   Gene Ther, 2000, 7(22): 1896-1905.
- [2] Scanlon KJ. Cancer gene therapy: challenges and opportunities[J]. Anticancer Res, 2004, 24(2A): 501-504.
- [3] Harada-Shiba M, Yamauchi K, Harada A, et al. Polyion complex micelles as vectors in gene therapy-pharmacokinetics and in vivo gene transfer[J]. Gene Ther, 2002, 9(6):407-414.
- [4] Mykhaylyk O, Antequera YS, Vlaskou D, et al. Generation of magnetic nonviral gene transfer agents and magnetofection in vitro[J]. Nat Protoc, 2007, 2(10):2391-2411.
- [5] Mastrobattista E, van der Aa MA, Hennink WE, et al. Artificial viruses: a nanotechnological approach to gene delivery
   [J]. Nat Rev Drug Discov, 2006, 5(2):115-121.
- [6] Stadler A, Chi C, van der Lelie D, et al. DNA-incorporating nanomaterials in biotechnological applications[J]. Nanomedicine(lond), 2010, 5(2); 319-334.
- [7] Dobson J. Magnetic micro-and nano-particle-based targeting for drug and gene delivery[J]. Nanomedicine(lond), 2006, 1 (1): 31-37.
- [8] Putnam D. Polymers for gene delivery across length scales
  [J]. Nat Mater, 2006, 5(6): 439-451.
- [9] Buyukserin F, Medley CD, Mota MO, et al. Antibody-functionalized nano test tubes target breast cancer cells [J]. Nanomedicine(lond),2008,3(3):283-292.
- [10] Hillebrenner H, Buyukserin F, Stewart JD, et al. Template synthesized nanotubes for biomedical delivery applications
   [J]. Nanomedicine(lond),2006,1(1):39-50.
- [11] Lee SB, Mitchell DT, Trofin L, et al. Antibody-based bionanotube membranes for enantiomeric drug separations[J]. Science, 2002, 296(5576); 2198-2200.
- [12] Hou S, Harrell CC, Trofin L, et al. Layer-by-Layer Nanotube Template Synthesis [J]. J Am Chem Soc, 2004, 126 (18): 5674-5675.
- [13] Hou S, Wang J, Martin CR. Template-synthesized protein nanotubes[J]. Nano Lett, 2005, 5(2): 231-234.
- [14] Hou S, Wang J, Martin CR. Template-synthesized DNA nanotubes[J]. J Am Chem Soc, 2005, 127(24): 8586-8587.
- [15] Peterson AW, Heaton RJ, Georgiadis R. The effect of surface probe density on DNA hybridization [J]. J Am Chem Soc, 2000,29(24):5163-5168.

(收稿日期 2012-05-15)