

## 基于 DNA 水凝胶药物输送及在骨组织工程研究中的应用

<https://doi.org/10.12307/2022.871>高昭<sup>1</sup>, 赵宇昊<sup>1</sup>, 何易祥<sup>1</sup>, 赵海燕<sup>2</sup>, 王文己<sup>2</sup>

投稿日期: 2021-03-29

采用日期: 2021-05-08

修回日期: 2021-06-19

在线日期: 2021-06-30

中图分类号:

R453; R363; R364

文章编号:

2095-4344(2022)27-04379-07

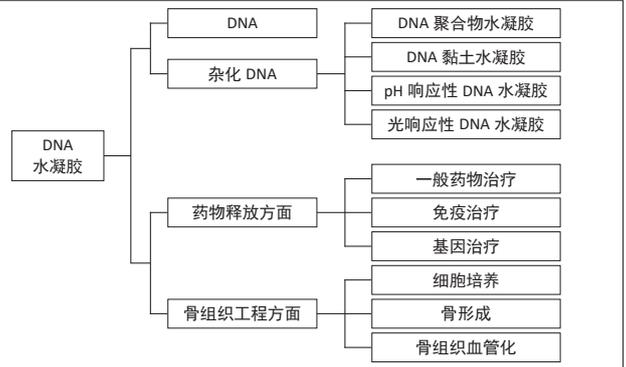
文献标识码: A

## 文章快速阅读:

## 文章特点一

△ 国内外对 DNA 水凝胶的研究逐渐增多, 其在药物输送以及骨组织工程治疗方面的应用前景不可限量。

△ 文章主要阐述了几种特殊类型的 DNA 水凝胶, 以及 DNA 水凝胶在药物输送及骨组织工程方面应用的相关成果, 并对其前景进行分析。



## 文题释义:

**DNA水凝胶:** 是一种依靠Watson-Crick碱基配对形成大规模可编程三维纳米DNA组分网络的自组装生物材料。

**DNA水凝胶临床应用的价值:** DNA水凝胶作为各种给药系统的载体具有很大的优势, 它除了实现药物的原位包裹外, 还可以建立与靶区的分子识别, 提高细胞转染效率, 保护生物分子不被降解, 减少非特异性分布, 整合多种成分以实现协同治疗。

## 摘要

**背景:** DNA水凝胶因其具有多种优良特性而得到了广泛研究, 而其为药物输送和骨组织工程的发展提供了良好的平台, 同时提供了新的研究发展思路。

**目的:** 对几种特殊类型的DNA水凝胶、基于DNA水凝胶的药物输送以及骨组织工程的目前发展及未来前景进行综述。

**方法:** 应用计算机在PubMed、Web of Science、Medline、中国知网和万方数据库检索涉及DNA水凝胶的药物输送和骨组织工程的相关研究, 英文检索词为“DNA hydrogel, drug delivery, bone defect, osteogenic differentiation, osteogenic factor”, 中文检索词包括“DNA水凝胶、药物输送、基因治疗、应用、细胞培养、骨缺损、成骨分化、成骨因子”, 检索时间为2021年1月至4月, 主要检索DNA水凝胶的类型, 及其在药物输送以及骨组织工程的应用文献。

**结果与结论:** ①DNA水凝胶是由交联的DNA链组成的亲水性聚合物网络, 作为一种新型的生物大分子功能材料, 其易于合成和修饰、序列可编程性, 具有亲水性、刺激响应性、生物相容性、生物降解性、以及分子识别和结合、高封装率等特性。②目前纯化和杂化DNA水凝胶的制备方法多样化, 其可以实现一般药物的靶向输送治疗, 通过DNA结构如非甲基化的胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤二核苷酸的设计, 可以实现免疫治疗。③DNA水凝胶作为反义单链核苷酸分子的良好载体, 可以应用于基因治疗。④DNA水凝胶可以作为骨组织工程的三维细胞培养场所, 其通过携带骨髓间充质干细胞以及成骨促进因子, 促进骨形成以及骨组织血管化。

**关键词:** 骨; 骨缺损; DNA水凝胶; 药物输送; 基因治疗; 细胞培养; 成骨分化; 成骨因子; 靶向

## DNA hydrogel based on drug delivery and bone tissue engineering

Gao Zhao<sup>1</sup>, Zhao Yuhao<sup>1</sup>, He Yixiang<sup>1</sup>, Zhao Haiyan<sup>2</sup>, Wang Wenji<sup>2</sup>

<sup>1</sup>First Clinical Medical College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China; <sup>2</sup>Department of Orthopedics, First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Gao Zhao, Master candidate, First Clinical Medical College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

**Corresponding author:** Wang Wenji, Professor, Chief physician, Master's supervisor, Department of Orthopedics, First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

## Abstract

**BACKGROUND:** DNA hydrogel has been widely studied because of its many excellent properties, and it provides a good platform for the development of drug delivery and bone tissue engineering, as well as new research and development ideas.

**OBJECTIVE:** To review several special types of DNA hydrogels, drug delivery based on DNA hydrogels, and the current development and future prospects of bone tissue engineering.

**METHODS:** A computer-based online search of PubMed, Web of Science, Medline, CNKI and Wanfang databases was performed to retrieve articles regarding DNA Hydrogel based on drug delivery and bone tissue engineering published between January and April 2021 with the search terms of “DNA hydrogel, drug

<sup>1</sup> 兰州大学第一临床医学院, 甘肃省兰州市 730000; <sup>2</sup> 兰州大学第一医院骨科, 甘肃省兰州市 730000

第一作者: 高昭, 男, 1995年生, 甘肃省定西市人, 汉族, 兰州大学在读硕士。

通讯作者: 王文己, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 兰州大学第一医院骨科, 甘肃省兰州市 730000

<https://orcid.org/0000-0003-4422-915X>(高昭)

基金资助: 兰州市人才创新创业项目的基金项目(2020-RC-45), 项目负责人: 赵海燕

引用本文: 高昭, 赵宇昊, 何易祥, 赵海燕, 王文己. 基于 DNA 水凝胶药物输送及在骨组织工程研究中的应用 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(27):4379-4385.



delivery, bone defect, osteogenic differentiation, osteogenic factor". The types of DNA hydrogels and their applications in drug delivery and bone tissue engineering were retrieved.

**RESULTS AND CONCLUSION:** (1) DNA hydrogel is a hydrophilic polymer network composed of cross-linked DNA chains. As a new type of biological material, it is easy to synthesize and modify sequence programmability, hydrophilicity, stimulus response, biocompatibility, biodegradability, molecular recognition and binding, high entrapment efficiency and so on. (2) At present, the preparation methods of purified and hybrid DNA hydrogels are diversified, which can achieve the targeted delivery of general drugs. Immunotherapy can be achieved through the design of DNA structures such as unmethylated cytosine-phosphate-guanine dinucleotides. (3) As a good carrier of antisense single-stranded nucleotides, DNA hydrogel can be used in gene therapy. (4) In the field of bone tissue engineering, DNA hydrogel can be used as a three-dimensional cell culture site for cell culture. It can promote bone formation and bone tissue vascularization by carrying bone marrow mesenchymal stem cells and osteogenic promoting factor.

**Key words:** bone; bone defect; DNA hydrogel; drug delivery; gene therapy; cell culture; osteogenic differentiation; osteogenic factor; target

**Funding:** Fund Project of Lanzhou Talent Innovation and Entrepreneurship Project, No. 2020-RC-45 (to ZHY)

**How to cite this article:** GAO Z, ZHAO YH, HE YX, ZHAO HY, WANG WJ. DNA hydrogel based on drug delivery and bone tissue engineering. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2022;26(27):4379-4385.

## 0 引言 Introduction

水凝胶是由一类吸收大量水的天然或者合成高分子材料获得的三维交联结构的亲水性聚合物网络<sup>[1]</sup>, 具有高的机械强度、可控的形貌和良好的流变性能<sup>[2]</sup>, 可用于包装不同有效载荷类型的聚合物网络。它们被证明是多种生物医学应用的通用材料, 具有较大的应用价值。DNA 是一种重要的遗传大分子, 也可以作为一种普通的结构材料, 具有不可或缺的遗传功能、广泛的生物相容性、精确的分子识别能力、可调的多功能和序列可编程等特性。因此, DNA 为创造新的生物响应性提供了关键和理想的前提条件, 并开始逐渐成为构建水凝胶的不可替代和强大的基本单元。不同于普通水凝胶, DNA 水凝胶作为 DNA 纳米技术中的特殊成员, 以 DNA 为骨架或交联剂的交联聚合物网络, 不仅具有高的机械强度、可控的形貌和良好的流变性能, 而且易于合成和修饰, 具有良好的生物相容性、生物降解性、序列可编程性以及分子识别和结合等特性<sup>[3]</sup>。

DNA 纳米框架的最新发展促进了大量可编程 DNA 水凝胶的发展, 在生物和生物医学应用方面具有巨大的潜力<sup>[4]</sup>。近年来, 由于骨缺损的发生率增加, 特别是在骨肿瘤切除的情况下, 需要合适的骨移植和替代物。建立一个骨缺损替代模型在受控条件下的骨替代物和相关的修复过程<sup>[5]</sup>。有多种骨替代物可以用来替代骨丢失, 但尽管进行了大量的研究, 临床结果往往并不令人满意。骨组织工程在骨修复方面的应用日益突出, 并有了新的发展前景。骨组织工程的目标是用创新的支架改善关键缺损的骨形成, 这种支架应具备生物相容性和生物可吸收<sup>[6]</sup>。将干细胞和生长因子与合适的支架材料相结合的组织工程学方法现在正成为修复骨缺损的流行方法。由于水凝胶的三维结构以及其有高的机械强度、可控的形貌和良好的流变性能, 与血液凝块和人工细胞外基质的许多方面类似, 可以携带骨髓间充质干细胞, 用于骨再生。DNA 水凝胶的网络结构有利于蛋白质和细胞的包埋, 并调节这些分子的释放, 进而促进骨再生<sup>[7-8]</sup>。文章分 3 步对此进行综述, 首先简单介绍了 DNA 水凝胶以及几种特殊类型的水凝胶, 然后介绍了其在药物输送及骨组织工程方面的应用, 最后对该综述的意义和局限性等进行讨论。

## 1 资料和方法 Data and methods

### 1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 第一作者在 2021 年 1 月至 4 月进行检索。

1.1.2 检索文献时限 检索自建库至 2021 年 4 月发表的相关文献。

1.1.3 检索数据库 主要包括 PubMed、Web of Science、中国知网和万方数据库。

1.1.4 检索词 中文检索词包括: “DNA 水凝胶、药物输送、基因治疗、应用、细胞培养、骨缺损、成骨分化、成骨因

子”; 英文检索词包括: “DNA hydrogel, drug delivery, gene therapy, application, cell culture, bone defect, osteogenic differentiation, osteogenic factor”。

1.1.5 检索文献类型 研究原著、综述和学位论文。

1.1.6 手工检索情况 无。

1.1.7 检索策略 数据库检索策略见图 1。

PubMed 数据库	中国知网数据库
#1 DNA hydrogel [Title/Abstract]	#1DNA 水凝胶
#2 drug delivery [Title/Abstract]	#2 药物输送
#3 gene therapy [Title/Abstract]	#3 骨缺损
#4 bone defect [Title/Abstract]	#4 骨血管化
#5 #1 OR #2 OR #3 OR #4	#5 应用
#6 osteogenic differentiation [Title/Abstract]	#6 1 in 摘要
#7 osteogenic factor [Title/Abstract]	#7 2 in 摘要
#8 cell culture[Title/Abstract]	#8 3 in 摘要
#9 application [Title/Abstract]	#9 #7 OR #8
#10 #6 OR #7 OR #8 OR #9	#10 #8 AND #9
	#11 #1 in 篇名
	#12 #2 in 篇名
	#13 #4 in 摘要
	#14 #5 in 摘要
	#15 #11 OR #12
	#16 #13 AND #14
	#17 #15 AND #16
	#18 #10 AND #17

图 1 | 中英文数据库检索策略

### 1.2 入组标准

1.2.1 纳入标准 涉及 DNA 水凝胶的相关研究, 涉及基于 DNA 水凝胶的药物输送系统和骨组织工程的相关研究, 以及纳入文献中的引用文献。

1.2.2 排除标准 排除与研究目的不相关及相关性低以及重复文献、无法获取全文的文献。

1.3 文献质量评估 进一步下载原文仔细阅读后继续排除相关性较低的文献, 并从各文中下载参考文献进行仔细阅读。最终共纳入研究 54 篇文献<sup>[1-54]</sup>, 中国在水凝胶领域对循证医学的认识及重视程度均有了很大提高, DNA 水凝胶在循证医学研究文献整体中占了较大比例。

1.4 数据的提取 首先根据计算机共检索文献 362 篇, 阅读题目、摘要及全文后排除文献 308 篇, 共纳入文章参考文献 54 篇<sup>[1-54]</sup>, 其中中文文献 1 篇, 英文文献 53 篇。

## 2 结果 Results

2.1 文献检索结果 纳入文献 54 篇, 中文文献 1 篇, 英文文献 53 篇, 见图 2。

2.2 文中重点文献 见表 1。

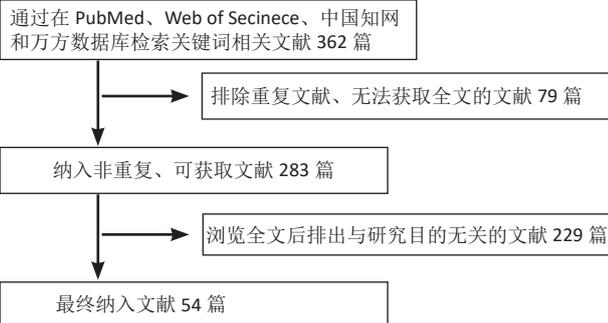


图 2 | 文献筛选流程图

表 1 | DNA 水凝胶相关重点进展成果研究列表

研究者	发表年份	主要成果及贡献
UM 等 <sup>[14]</sup>	2006	设计出纯化 DNA 水凝胶，其具有良好的生物相容性，易于调节的力学性能，大小、形状可调控，可降解性等特性
YANG 等 <sup>[11]</sup>	2014	构建了具有独特内部结构和机械特性的物理 DNA 水凝胶，展示了其用于蛋白质生产、受控药物释放系统
LIAO 等 <sup>[33]</sup>	2017	成功构建出 DNA- 丙烯酸酯类水凝胶，并发现载有抗癌药物阿霉素的 ATP 或 pH 响应型 DNA 水凝胶对癌细胞具有选择性细胞毒作用
XIAO 等 <sup>[34]</sup>	2019	DNA 水凝胶携带药物阿霉素在癌细胞系和移植瘤小鼠中证实该水凝胶携带抗癌药物可以增强抗癌活性
ZHANG 等 <sup>[30]</sup>	2020	合成了可注射性、含药物的 DNA 水凝胶，其持续且反应迅速的释药行为，可显著抑制肿瘤细胞的再生，防止癌症复发

**2.3 DNA 水凝胶概述** DNA 由脱氧核糖核酸组成的大分子聚合物。脱氧核苷酸由碱基、脱氧核糖和磷酸构成，其中碱基有 4 种：腺嘌呤 (A)、鸟嘌呤 (G)、胸腺嘧啶 (T) 和胞嘧啶 (C)。DNA 作为一种重要的遗传大分子，也是一种常见的结构材料，具有许多独特和迷人的特性，包括不可或缺的遗传功能、良好的生物相容性、精确的分子识别能力、可调的多功能和序列可编程性等特性。因此，DNA 可以说既是完美的也是唯一的分子，能够连接生物和材料。DNA 为创造新的生物响应性提供了关键和理想的前提条件，并开始日益成为构建水凝胶的不可替代和强大的基本单元<sup>[9-11]</sup>。由于合成 DNA 水凝胶需要大量 DNA，需要消耗相关的高成本<sup>[12]</sup>，目前，主要通过天然核酸提取及化学合成这 2 种方式获得形成 DNA 水凝胶的基础原料，并与核酸扩增手段相结合，包括变温扩增手段 (如 PCR)、等温扩增手段 (如滚环扩增) 以及非酶依赖的恒温链式杂交反应和 DNA 超级三明治结构等<sup>[13]</sup>。由 DNA 为支架构成的 DNA 水凝胶含水量可达到 90% 以上，通常由人工合成或天然提取的 DNA 作为原料，进行三维交联形成空间网络而成。由于 DNA 本身为生物大分子，形成水凝胶后将具有很好的生物相容性。而 DNA 所具有的智能响应性将使其有别于普通化学水凝胶，实现水凝胶的“智能化”，在药物载体、组织工程和智能器件等方面起重要作用。

**2.4 不同类型的 DNA 水凝胶** DNA 水凝胶则是一种依靠 Watson-Crick 碱基配对形成大规模可编程三维纳米 DNA 组分的自组装生物材料<sup>[14-15]</sup>，其最早在 1996 年被 NAGAHARA 等<sup>[15]</sup>发现，随后 UM 等<sup>[14]</sup>通过将设计的支链 DNA，相互交联形成纯化 DNA 水凝胶。许多学者将 DNA 与不同高分子材料 (如聚丙烯酰胺、透明质酸、脂质体、胶原蛋白和海藻酸等) 交联，形成杂化 DNA 水凝胶<sup>[12, 14-18]</sup>，主要发展历程见表 2。

**2.4.1 纯 DNA 水凝胶** 将 DNA 本身交联，通过酶解、聚合、杂交和 DNA 基元的特异性结合形成水凝胶，称为纯 DNA 水凝胶。有研究设计和合成了分支 DNA 单体，该 DNA 单体的每个臂都有 1 个互补的黏性末端，其序列是回文的<sup>[14]</sup>。分支 DNA 单体的自

表 2 | DNA 水凝胶的研究发展历程

研究者	发表年份	材料	水凝胶	应用及意义
NAGAHARA 等 <sup>[15]</sup>	1996	DNA、聚丙烯酰胺	杂化水凝胶	制备出智能响应性 DNA 水凝胶，具有良好的生物相容性；形成具有热可逆性；高稳定性
UM 等 <sup>[14]</sup>	2006	DNA	纯 DNA 水凝胶	纯 DNA 水凝胶具有良好的生物相容性、大小、形状可调控，可用于三维细胞培养、药物输送、细胞移植治疗
KANG 等 <sup>[18]</sup>	2011	修饰 DNA、聚丙烯酰胺	光敏 DNA 水凝胶	形成的可逆性、良好的生物相容性的光敏感 DNA 水凝胶，实现了体外阿霉素的释放
WANG 等 <sup>[12]</sup>	2017	DNA、黏土	杂化水凝胶	其水凝胶可以为核酸提供保护的微环境；可进行无细胞蛋白表达
LYU 等 <sup>[16]</sup>	2018	DNA、脂质体、聚丙烯酰胺	杂化水凝胶	制作出具有好的生物相容性；力学性能的调节性；物质的可控释放；可注射性；自我恢复行为的 DNA 脂质体水凝胶，实现了小分子物质的可控释放
FUJITA 等 <sup>[17]</sup>	2020	DNA、透明质酸	杂化水凝胶	制作出可注射性、可降解性的水凝胶，可用于基因治疗以及三维细胞培养

组装与 T4 DNA 连接酶催化的反应相结合，形成了具有大规模三维结构的纯 DNA 水凝胶。它具有多种优点，包括：①由于其凝胶过程完全在生理条件下 (无有机溶剂或高温)，DNA 凝胶可用于包裹活的哺乳动物细胞。②与质粒 DNA 不同，质粒 DNA 可能引起宿主免疫反应，DNA 水凝胶由于其纯粹的合成性质，预计不具有免疫原性，具有良好的生物相容性。③ DNA 水凝胶的力学性能易于调节，在线性范围内，在给一定应力的条件下，交联的 DNA 分子维持现有的形状。④ DNA 水凝胶是一种机械性能易于调节的软材料。⑤ DNA 水凝胶的大小和形状可以精确控制。除了大小和形状外，它的形态和内部结构也有很大的变化，也可以根据分支 DNA 单体进行调节。⑥ DNA 水凝胶是可生物降解的，它们的降解性也应该依赖于分支 DNA 单体，因此可以通过分支 DNA 单体进行调节。

**2.4.2 杂化 DNA 水凝胶** 以 DNA 为支链的亲水聚合物链进行改性，然后通过交联这些支链形成杂化 DNA 水凝胶。其中 DNA 作为交联剂调节聚合物水凝胶的机械性能和响应性。DNA- 聚合物杂化水凝胶的优点是减少了 DNA 含量，从而降低了材料成本，并且能够加入替代的功能基团以实现细胞黏附、水凝胶降解，或者用于动态调整机械性能的替代机制<sup>[19]</sup>。下文将着重介绍几种特殊类型杂化 DNA 水凝胶。

**DNA 聚合物水凝胶：**值得注意的是，1996 年，NAGAHARA 等<sup>[15]</sup>通过将单链 DNA 接枝到聚丙烯酰胺链上，设计了第一个基于 DNA 的杂化水凝胶，其具有高膨胀性。利用寡核苷酸的互补碱基对进行杂交形成水凝胶具有以下特点：①由于互补寡核苷酸在室温下自发杂交，凝胶中固定的生物活性物质在水凝胶形成过程中将保持完好，没有任何副反应。②凝胶的形成是热可逆的。原则上，寡聚核苷酸的溶胀特性及其热响应性可以通过寡核苷酸的含量和碱基序列 (组成和长度) 来控制。虽然核酸碱基之间的一对氢键很弱，但特定序列氢键的总和能够制备一种新的具有高稳定性的水凝胶，就像在 DNA 的情况下所发现的那样<sup>[15]</sup>。有研究使用脂质体对用作交联剂的单链 DNA 进行修饰，然后将这种经 DNA 修饰的脂质体用于交联聚丙烯酰胺，得到 DNA 水凝胶<sup>[16]</sup>。CAI 等<sup>[20]</sup>制备了一种 DNA- 聚丙烯酰胺杂化水凝胶，在这种水凝胶中，Hg<sup>2+</sup> 激活了 Hg<sup>2+</sup> 特异的 DNA 酶，产生单链 DNA，进而在 2 条发夹修饰的聚合物链之间引发杂交链式反应，从而在电极上诱导 DNA- 聚丙烯酰胺杂化水凝胶的形成。因 DNA 链需要直接与 DNA 交联剂相互作用来形成 DNA 水凝胶网络，需要在体系中加入高浓度的外源 DNA。有研究将透明质酸与通过消化 pUC118 质粒与 Bsp1286I 获得的 DNA 片段结合，

通过杂交形成透明质酸 DNA 水凝胶。这种水凝胶容易被限制酶切开,并通过热变性分离,此属性还可能致申请基因信息传递。因此,该材料具有生物和医疗应用的潜力<sup>[17]</sup>。

**DNA 黏土水凝胶:** 由于黏土水凝胶的独特结构,它为生物分子,特别是核酸提供了保护的微环境,进一步提高了生物响应反应的效率<sup>[21]</sup>。有研究利用黏土呈片状结构,在粒子的触发下,首先形成黏土水凝胶,随后, DNA 通过静电作用连接到黏土水凝胶上,形成 DNA-黏土水凝胶,或者通过 DNA 与黏土按一定比例结合,然后用离子刺激 DNA-黏土水凝胶形成<sup>[12]</sup>。

**基于特殊 DNA 结构的 pH 响应性 DNA 水凝胶:** 滚环扩增法 (RCA) 是一种高效、准确的等温扩增 DNA 的方法,利用滚环扩增法扩增 DNA,通过合理设计模板序列,实现了滚环扩增法产物之间的分子间 G-四链相互作用,并作为交联剂制备了功能化 DNA 水凝胶<sup>[22]</sup>。有研究设计了一种线性 DNA,它包含 1 个双链,两端都有 2 个 I-motif,由富含胞嘧啶的 DNA 序列形成的一种特殊的四链结构富含胞嘧啶的序列<sup>[23]</sup>。在 pH 值为 8 的条件下,这种线性 DNA 链可以先组装成双相。将 pH 值调为 5 后,富含胞嘧啶序列倾向于形成分子间 I-motif,使线性 DNA 分子连接在一起形成环状结构,形成 DNA 水凝胶。

**酶响应性 DNA 水凝胶:** DNA 连接酶能将 DNA 片段与互补的黏性末端连接起来,并能修复带有 3'-羟基和 5'-磷酸末端的双链 DNA 上的缺口。NOLL 等<sup>[24]</sup>通过酶切从质粒 DNA 中获得的线性双链 DNA。水凝胶的形成是通过在酶连接过程中各个构建块之间形成共价键来实现的。通过用两种内切酶酶切质粒,产生 2 个带有黏性末端的线性双链 DNA,其中包含自互补的回文序列,然后在连接酶的指导下形成 DNA 水凝胶。聚合酶如末端脱氧核苷酸转移酶催化 dATP 在引物的 3'-OH 末端重复加成,进而促进 DNA 自组装成水凝胶<sup>[25]</sup>。

**光响应性 DNA 水凝胶:** 一种光调控所形成的 DNA 水凝胶,即光可控 DNA 水凝胶,主要是在紫外光或者自然光的刺激下,利用常规 DNA 序列经 Watson-Crick 碱基互补配对形成的 DNA 分支结构或多种功能核酸的特殊 DNA 序列形成的 i-motif 结构; T-A-T 三螺旋结构、C-G-C+ 三螺旋结构及 G-四链体结构等对光的敏感行为使水凝胶形成。DNA 结构不易被光所影响,可在其中引入光敏基团,通过光敏基团的光诱导异构化引起 DNA 结构变化,进而导致水凝胶微观结构和宏观形态的变化。光可控 DNA 水凝胶形成主要包括 2 类,1 类为偶氮苯结合的 DNA 被用作交联剂来形成水凝胶,这使得交联过程可以通过可见光和紫外光可逆地控制。在紫外光照射下,偶氮苯在反式和顺式之间发生异构化,决定了偶氮苯 DNA 与其互补链杂交的可能性<sup>[26]</sup>。基于此,有研究设计了一种新型的具有可逆光控制性的 DNA 交联聚合物杂化水凝胶<sup>[18]</sup>。这些水凝胶是通过在 DNA 交联剂中掺入偶氮苯基团来功能化的。该水凝胶是一种新型的可逆光调控水凝胶,并利用溶胶-凝胶转换来封装和释放不同的负载。偶氮化 DNA 交联剂不仅对水凝胶的构建至关重要,而且对水凝胶的光敏性、光控性等物理性能也具有重要意义。第 2 类为光热诱导 DNA 水凝胶形成。有研究实现了基于 Y-DNA 和接头 DNA 的光控 DNA 水凝胶形成<sup>[27]</sup>,其中 Y-DNA 和接头 DNA 分别由 3 个和 2 个单链 DNA 组成的黏性末端具有互补的序列对的 DNA。在光学控制方面,引入了一种 C-DNA 的单链 DNA,存在 Y-DNA 的黏性互补末端,两端具有猝灭剂。在光激发猝灭剂后,热能在弛豫过程中被释放, Y-DNA 从 C-DNA 解离并与接头 -DNA 连接形成 DNA 水凝胶。这一过程仅限于激发光的照射区域。DNA 水凝胶的产量取决于光照强度,因此可以通过改变辐照方式灵活地控制其形状。

**2.5 DNA 水凝胶在药物释放方面的应用** 传统给药往往需要频繁给药或大剂量给药才能达到治疗效果,它经常伴随全身不良反应,从而降低整体疗效和患者依从性。设计活性高效的载体,实现小分子和生物分子药物的可控给药是非常必要的。已经报道了广泛应用的载体,如无机纳米粒子、聚合物、蛋白质和脂质体,尽管它们的固有特性提高了治疗效果,但载体引起的免疫原性问题、非特异性凝集和难以生物降解性仍然是完全有效的障碍<sup>[28]</sup>。DNA 微凝胶由于能够在其交联的多孔网络中封装不同种类的生物分子,无机纳米颗粒或小分子药物而被广泛用作控制药物输送的载体。近年来, DNA 水凝胶系统已应用于药物输送<sup>[29-35]</sup>,见表 3。

表 3 | DNA 水凝胶在药物输送领域的应用进展

研究者	发表年份	DNA 水凝胶	携带药物	疾病或对象	治疗效果及意义
WANG 等 <sup>[29]</sup>	2016	寡核苷酸和聚合物的 DNA 微凝胶	盐酸阿霉素	人肺腺癌上皮细胞	该微凝胶作为靶向药物输送的药物载体,具有出色的生物相容性和对靶癌细胞的高度选择性杀伤功效
ZHANG 等 <sup>[30]</sup>	2020	喜树碱-DNA 水凝胶	喜树碱	人类结肠癌细胞系	具有出色的抗肿瘤功效和体内低副反应
SONG 等 <sup>[31]</sup>	2015	DNA 水凝胶	金纳米棒和阿霉素	B16 F10 黑色素瘤异种移植物的老鼠模型	用携带药物的 DNA 水凝胶处理的小鼠表现出最有效的肿瘤抑制作用
BASU 等 <sup>[32]</sup>	2020	藻酸盐-DNA 水凝胶	辛伐他汀	人脂肪源性干细胞	辛伐他汀被释放后仍然具有活性,并且可以在体外保持其趋化特性
LIAO 等 <sup>[33]</sup>	2017	DNA-丙烯酸酰胺水凝胶微胶囊	阿霉素	MDA-MB-231 癌细胞	载有阿霉素-葡聚糖的 ATP 响应或 pH 响应微胶囊选择性细胞毒性
XIAO 等 <sup>[34]</sup>	2019	DNA 水凝胶	阿霉素	移植瘤小鼠	该 DNA 水凝胶可延长/延长血液循环,并在体内定向靶向蓄积,进入细胞和诱导细胞凋亡
OBUBOI 等 <sup>[35]</sup>	2019	DNA 水凝胶	抗微生物肽	有切口的老鼠	具有引发强烈的抗炎反应的能力,对小鼠切除伤口的体内治疗转化为更快的治愈率

与传统载体不同, DNA 水凝胶作为各种给药系统的载体具有很大的优势,它除了实现药物的原位包裹外,还可以建立与靶区的分子识别,提高细胞转染效率,保护生物分子有效载荷不被核酸酶或蛋白酶降解,减少非特异性分布,整合多种成分以实现协同治疗。这些诱人的优势极大地推动了核酸药物和功能蛋白的实际应用。因无机纳米粒子、小分子药物和功能生物大分子都可以以一定的负载效率结合到 DNA 水凝胶的多孔网络中,它实现了一般治疗、免疫治疗和基因治疗的高性能传递系统。

**2.5.1 DNA 水凝胶用于疾病的一般治疗** DNA 水凝胶可以对药物进行原位包裹,以及与靶区分子识别来实现一些疾病的治疗。现已有临床试验表明, DNA 水凝胶可以作为辅助治疗传染病和癌症性的有效载体。KANG 等<sup>[18]</sup>选择了一种抗癌药物阿霉素,以光可控水凝胶为载体,对荧光素分子进行包裹和释放,紫外线照射引发了大量药物快速释放到溶液中,再进行细胞活性研究。与未加水凝胶的细胞溶液相比,所有 DNA 水凝胶的细胞死亡率都增加了不到 10%,这是由材料毒性和药物泄漏引起的;偶氮化 DNA 水凝胶在可见光下表现出与 DNA 水凝胶相似的形貌,表明偶氮部分对细胞活力的影响不大;然而,在紫外光照射下,偶氮化 DNA 水凝胶融化并释放负载的大量抗癌药物阿霉素,这反过来又导致了非常高的癌细胞死亡率(高约 80%)。这些结果验证了偶氮化 DNA 水凝胶对紫外光的敏感光响应,释放了大量活性药物分子,从而抑制了细胞增殖。KIM 等<sup>[36]</sup>研究了一种具

有微流控智能 DNA 水凝胶及其在利用微流控设备高效释放蛋白质方面的应用, 通过改变智能 DNA 水凝胶的大小来控制蛋白质的释放曲线。智能 DNA 水凝胶可以与天然酶中的 DNA 相互作用, 它将进一步提供许多工具, 以精确地操纵基于 DNA 的功能材料。SONG 等<sup>[37]</sup> 使用一种适体引发的恒温链式杂交反应成功合成多孔 DNA 水凝胶, 用于循环肿瘤细胞的原位鉴定、释放以及活细胞分析。LYU 等<sup>[46]</sup> 报告了构建交联的响应性智能 DNA 水凝胶, 实现功能性小分子有效载荷的控制释放。这些都表明, DNA 水凝胶可以对药物实现原位包裹, 并与药物分子进行特异性识别, 保护药物免受体内各种酶的降解, 实现了药物的靶向治疗。

**2.5.2 DNA 水凝胶用于免疫治疗** DNA 水凝胶通过其加载免疫刺激序列的能力, 已经显示出免疫治疗的许多优点。非甲基化的胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤二核苷酸 (CpG DNA) 是 Toll 样受体 9 的配体, 与 Toll 样受体 9 结合后激活天然免疫系统。与功能 DNA 结构 (非甲基化的 CpG DNA) 结合在一起, 在免疫调控应用中是很有前途的材料, 因为它在水凝胶和分析物之间引入了额外的界面。因此, CpG DNA 可作为免疫治疗的佐剂用于治疗多种疾病<sup>[38]</sup>。目前, 已有研究将 CpG 序列作为 DNA 水凝胶的功能成分, 并将其应用于免疫调控领域。NISHIKAWA 等<sup>[39]</sup> 初步探索了将免疫刺激性 CpG DNA 自组装形成 DNA 水凝胶。证实 CpG DNA 水凝胶是一种有效的持续系统, 可以将免疫刺激信号传递给 Toll 样受体 9 阳性的免疫细胞, 并将嵌入型阿霉素传递给癌细胞, 随后他们基于相似的原理合成了一种可注射的免疫调节 DNA 水凝胶用于抗原递送。在研究中, LEE 等<sup>[40]</sup> 利用 Cas9/sgRNA 的双链 DNA 精确编辑功能, 设计了一种能够程序化释放 PD-1 适配子的 DNA 水凝胶, 利用滚环扩增法的方法形成了 DNA-适配子水凝胶, 滚环扩增法产物包含适体的重复序列以及编码靶标或互补靶标序列的 sgRNAs, 通过内部位点交联形成水凝胶。水凝胶作用于 Cas9/sgRNA 后, 在给药部位持续释放 PD-1 DNA 适配子, 并通过增强免疫系统的激活发挥抗肿瘤作用, 表明通过对 DNA 水凝胶的组成结构进行设计以及其携带药物的能力, 未来在免疫治疗方面可能有广泛的应用前景。因此通过 DNA 精确设计的 DNA 水凝胶在抗癌免疫治疗方面具有很强的潜力。

**2.5.3 DNA 水凝胶用于基因治疗** 基因治疗为通过将基因产物导入细胞来纠正疾病的病因, 被认为是许多疾病的潜在候选者, 如传染病、癌症和遗传疾病, 但在其配方、给药方法和作用机制方面都存在许多障碍和问号。在这些问题中, 基因转移系统在临床试验中造成不良影响和低效而首当其冲。在关于基因治疗的研究中, 有关水凝胶共聚物以及其他聚合物体系的应用逐年增加, 聚合物系统是较新的系统, 还没有被广泛使用, 这解释了与临床试验的不同之处<sup>[41]</sup>。DNA 微凝胶具有出色的生物相容性、生物降解性、结构和功能多样性, 有利于基因传递, 促进基因调控, 提高生物安全性, 因此有望成为基因传递的候选药物。近年来, 已开发出多种基因加载的 DNA 水凝胶系统, 用于基因调节。反义寡核苷酸可作为一种有效治疗癌症的潜在途径。然而, 反义药物固有的不稳定性和低效的全身给药方式仍然是其临床应用的主要挑战。SARDONE 等<sup>[42]</sup> 通过一种新的合成反义单链寡核苷酸分子, 通过靶向 hnRNAs 或 mRNAs, 干扰剪接、mRNA 降解或抑制翻译, 从而调节蛋白表达, 最终导致靶蛋白表达的挽救或降低, 来治疗一些无法治疗的疾病。有研究通过酶延伸法 (滚动循环复制) 自组装, 生成复合核酸/焦磷酸镁海绵状微结构或 DNA 微长条, 可显著提高核酸药物/载体的稳定性体内生物分布<sup>[43]</sup>。这些聚合物反义寡核苷酸系统可被设计成一种有效的手段, 以显著低于传统合成载体的毒性, 系统地向肿瘤细胞提供稳定和大量的反义寡核苷酸治疗药物, 从

而为临床翻译提供了一个治疗窗口。因此, DNA 水凝胶作为反义核苷酸的承载系统, 具有治疗癌症、传染病其他疾病的潜能。

## 2.6 DNA 水凝胶在骨组织工程方面的应用

**2.6.1 细胞培养** 三维细胞培养通过提供与体内类似的微环境和对治疗药物的反应, 在肿瘤生物学中发挥着不可估量的作用。由于水凝胶的三维结构以及其有高的机械强度、可控的形貌和良好的流变性能, 与血液凝块和人工细胞外基质得许多方面类似<sup>[7]</sup>, 其高度膨胀的环境使营养物质和废物得以轻松运输, 支持多种细胞类型的长期生存, 而三维框架可以指导细胞相互作用和基质沉积。因此, 合成水凝胶是三维培养人骨髓间充质干细胞的高度可控环境。包裹的人骨髓间充质干细胞呈现在一个“空白”的环境中, 这个环境可以被严密地控制以诱导成骨反应。DNA 水凝胶为细胞提供类似天然细胞外基质的三维环境。有研究制备了一种快速形成的超分子多肽-DNA 水凝胶, 并首次用于原位多层三维生物打印<sup>[44]</sup>。3D 细胞打印被证明可以制造具有正常细胞功能的含有活细胞的结构。结合独特的生物相容性、渗透性和生物降解性, 该水凝胶成为 3D 生物打印的理想生物材料, 以生产用于组织工程应用的可设计 3D 结构。HOFFMAN 等<sup>[45]</sup> 在研究中, 通过与未经处理的同种异体移植对照相比, 通过水凝胶为基础的骨膜间充质干细胞移植到同种异体移植表面, 证明经骨膜修饰的同种异体移植血管浸润和骨痂形成增加, 促进了同种异体移植物的愈合。此外, 使用骨膜移植的骨髓间充质干细胞也被证明直接有助于骨痂的形成, 其间充质、软骨和编织骨的数量比未经处理的同种异体移植更多。因此该 DNA 水凝胶可以用于携带骨髓间充质干细胞, 通过促进骨痂的形成和诱导其分化来治疗骨缺损。

**2.6.2 促进骨形成** 基于 DNA 的水凝胶制剂除了可以注射并显示出受控的药物释放特性外, 其还可以与骨缺损的治疗<sup>[45-52]</sup>, 见表 4。

表 4 | 水凝胶在骨组织工程研究中应用的特征性文献记载

研究者	发表年份	水凝胶	携带物质	对象或疾病	治疗效果及意义
LIU 等 <sup>[49]</sup>	2020	ZIF-8 修饰的邻苯二酚-壳聚糖多功能水凝胶	未描述	颅骨缺损	该水凝胶导致更多的矿化和血管化, 提高了骨骼再生的质量和速度
DADSETAN 等 <sup>[50]</sup>	2008	多孔光交联富马酸聚乙二醇的水凝胶	未描述	骨髓间充质干细胞	在多孔水凝胶上培养的骨髓间充质干细胞具有较高的碱性磷酸酶活性和钙沉积, 其向成骨细胞表型分化成熟
CELIKIN 等 <sup>[51]</sup>	2018	弹性蛋白样多肽原水凝胶	重组人骨形态发生蛋白 2 和强力霉素	脂肪间充质干细胞	促进干细胞增值、分化, 最终矿化, 促进骨再生
BENOIT 等 <sup>[52]</sup>	2006	聚乙二醇水凝胶	氟伐他汀	骨髓间充质干细胞	刺激骨髓间充质干细胞成骨分化和调节其功能
GAČANIN 等 <sup>[46]</sup>	2017	多功能杂化 DNA 水凝胶	C2IN-C3lim-G205C 突变体	骨质疏松	有效地减少了体外破骨细胞的形成和吸收活性, 但不影响成骨细胞的分化和矿化
BASU 等 <sup>[48]</sup>	2018	DNA-硅酸盐纳米复合水凝胶	地塞米松	颅骨缺损	刺激脂肪间充质干细胞体外成骨分化, 促进了骨缺损的愈合
HOFFMAN 等 <sup>[45]</sup>	2013	聚乙二醇水凝胶	骨髓间充质干细胞	股骨缺损	促进移植骨血管化, 软骨内骨形成和生物力学强度增加

近年来, 骨缺损的发生率增加, 特别是在骨肿瘤切除的情况下, 需要合适的骨移植和替代物。建立一个骨缺损替代模型在受控条件下的骨替代物和相关的修复过程<sup>[5]</sup>。有多种骨替代物可以用来替代骨丢失, 但尽管进行了大量的研究, 临床结果

常并不令人满意。骨组织工程在骨增强、骨修复方面的应用日益突出,并有了新的发展前景。骨组织工程的目标是用创新的支架促进关键缺损处的骨形成,这种支架应具备生物相容性和生物可吸收<sup>[6]</sup>。DNA水凝胶的生物相容性、生物降解性、可注射性和多种功能化能力,可以将药理学活性分子输送到骨组织,是骨组织工程应用的良好候选材料。有研究运用化学修饰的人血清白蛋白和合理设计的DNA制备多功能杂化DNA水凝胶<sup>[46]</sup>,利用其在生理条件下通过DNA杂交快速凝胶化,自我愈合和注射的性质,以及特定负载和时空可控释放活性蛋白的可能性,把C21N-C3lim-G205C突变体(来自肉毒杆菌的c2毒素的无毒部分-c3毒素-半胱氨酸代替205位甘氨酸的肉毒杆菌)运送到骨组织,有效减少了体外破骨细胞的形成和吸收活性,但不影响成骨细胞的分化和矿化。不仅为促进骨骼疾病的骨骼修复提供了一种很有前途的策略,而且也局部骨质量的改善提供了一个很有前途的策略,例如,在紧邻骨植入物周围的地方。此外,在释放治疗蛋白后,这种水凝胶是可降解和无毒的,这对非侵入性治疗至关重要。有研究表明,纳米复合水凝胶通过递送骨髓间充质干细胞,用于覆盖从髌关节区域分离的同种异体骨,可以加快将同种异体骨移植整合到宿主组织中的过程。通过对未涂覆和涂覆的同种异体移植物的对比表明,设计的可注射纳米复合水凝胶可潜在地用作调节成骨药物释放或用作生物印刷油墨以及同种异体骨涂层的多功能平台<sup>[45]</sup>。在理想状态下,配制的水凝胶然后可以充当药物洗脱生物活性层,以增强同种异体骨的治疗功效。众所周知,地塞米松是体外诱导人骨髓间充质干细胞向成骨分化的有效、可靠的因子<sup>[47]</sup>。有研究成功设计了具有剪切力的DNA-硅酸盐纳米复合水凝胶,具有快速的自愈特性<sup>[48]</sup>,通过将制备的水凝胶注射到大鼠颅骨缺损模型中进行体内初步研究,证实通过用水凝胶携带地塞米松到骨部位,在释放后仍保持其生物活性可刺激骨髓间充质干细胞成骨分化,促进了骨缺损的愈合。

**2.6.3 骨组织血管化** 众所周知,移植骨缺乏血管被认为是骨组织工程方法应用于临床的主要挑战之一。同种异体移植的血管形成和新骨的形成对于同种异体移植物的存活和整合至关重要。通过促进植入后的快速血管形成以及鼓励内源宿主干细胞和祖细胞的募集,人们对增强用于骨骼重建的同种异体移植物的整合和功效的技术开发产生了极大的兴趣。通过实验表明FTY720(一种鞘氨醇-磷酸酯受体的选择性激动剂)可以增加同种异体移植组织部分内成熟的微血管网络生长,植入后仅6周,它就促进了明显的新骨形成,其压缩模量和极限抗拉强度在统计学上显著提高,其局部免疫反应和异物反应的调节也可能是FTY720促进同种异体植入的机制的一部分。这些结果支持这样的想法,即用FTY720之类的药理靶向治疗是促进新血管形成和增强骨愈合的令人兴奋的新方法。有研究表明,FTY720可以持续地从骨膜下和颅骨缺损植入物中的水凝胶涂层中释放出来,植入同种异体移植植物在颅骨缺损植入8周后,可增加骨再生速率,移植植物整合并在空隙中定向骨生长,从而提高了局部释放的速度,促进了骨的血管以及新骨的形成<sup>[53]</sup>。

成骨生长因子和血管生成生长因子是骨修复过程中的关键因子。将血管内皮生长因子和骨发生蛋白2植入工程组织构建物中,是促进成骨和血管化过程的有效途径。因此,利用其修复潜力的关键是设计一种多功能系统,以调节血管内皮生长因子和骨发生蛋白2的释放时间和持续时间,以模拟自然骨愈合的时间和持续时间组织再生中的细胞疗法引起了极大的热情。然而,许多试验的结果并不令人满意,这是由于缺乏适当的载

体来控制细胞功能和生长因子的传递。而DNA水凝胶具有血管内皮生长因子和骨发生蛋白的高包封率和可控的时空释放的特性。DNA水凝胶不仅在体外表现出优越的生物活性,还通过可注射的水凝胶基质移植骨髓间充质干细胞微载体在体内诱导血管形成和异位骨形成<sup>[54]</sup>。有研究在大鼠颅骨缺损模型中评估了载药水凝胶的体内成骨潜能,发现DNA基纳米复合水凝胶可以作为骨再生的注射材料和治疗药物的缓释载体<sup>[48]</sup>。配制的具有机械弹性的DNA基纳米复合水凝胶作为一类可注射材料可以广泛应用于各种生物医学应用。

### 3 讨论 Discussion

**3.1 既往他人在该领域研究的贡献和存在的问题** 尽管基于水凝胶的药物输送系统在过去的十几年中,已经取得了很大的进展,但在临床应用中,携带药物的一般治疗、免疫治疗或基因治疗仍有许多挑战,如制备低成本且高效可靠的DNA水凝胶是主要挑战。合成DNA水凝胶需要大量的DNA,因此需要PCR或者RCT等技术对DNA扩增以降低成本。其次尽管DNA具有良好的生物相容性,但仍应降低残留DNA,避免引起免疫反应。智能DNA水凝胶可以实现药物释放的可控性,但考虑成本以及技术的成熟问题,仍需要进行进一步研究。目前DNA水凝胶已在递药系统领域得到广泛的研究,但因其具有亲水性、刺激响应性、生物相容性、生物降解性、以及分子识别和结合及高包封率等优良特性,为其带来了临床潜力的同时也存在许多挑战,此外许多研究显示出很好的体内结果,仅有极少数研究成功地将其转化为临床。因此, DNA水凝胶有望克服传统传递方法和材料的缺陷,其应用前景是令人鼓舞的。

**3.2 作者综述区别于他人他篇的特点** DNA水凝胶作为一种新型的生物大分子功能材料,把材料科学与生物化学联系起来,其易于合成和修饰、序列可编程性,具有亲水性、刺激响应性、生物相容性、生物降解性、分子识别和结合和高包封率等特性,已广泛应用于各种生物检测和药物传递系统中。除了基于DNA水凝胶的药物输送外,文章主要阐述了其在骨组织工程中已有初步探究,其可以包裹同种异体移植骨,增加了同种异体移植组织部分内成熟的微血管网络生长,促进了明显的新骨形成;也可以与各种成骨因子、成血管因子相结合,把这些因子输送至特定区域,以促进特定部位的骨再生。DNA水凝胶其无毒性,具有良好的生物相容性,可以特异性携带骨髓间充质干细胞,通过与其诱导因子相结合,促进了其成骨分化,推动骨组织工程治疗系统的发展。此外可以期待将DNA水凝胶与各种成骨因子或成血管因子结合,为治疗骨缺损或者骨肿瘤等相关疾病的平台打开新大门。

**3.3 综述的局限性** 文章主要列举了几种常见的特殊类型的DNA水凝胶,只是详述了这些水凝胶大概研究进展,并未对其具体制作方法作进一步阐述。文章对DNA水凝胶在药物输送以及骨组织工程的应用的进行了综述,但未对其在生物传感及生化分析等领域详述。目前DNA水凝胶在骨组织工程的应用方面,主要还处于探索阶段,尚未进行临床试验。

**3.4 综述的重要意义** DNA水凝胶的制备和应用虽然只有短短的几十年,但是它在药物输送以及骨组织工程方面具有很大的发展空间。因改良DNA水凝胶的合成时间和合成方法,降低了DNA水凝胶尤其是纯DNA水凝胶的制备成本。在骨组织工程方面, DNA水凝胶可以作为三维细胞培养场所对细胞培养方面具有良好的应用,其通过携带骨髓间充质干细胞以及成骨因子,促进骨形成以及骨组织血管化。

**作者贡献:** 文章设计和撰写论文者为高昭。资料收集者为赵宇昊和何易祥。数据分析者为赵海燕。王文已审核。

**利益冲突:** 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程不存在利益冲突。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其他任何合法用途。

**出版规范:** 文章撰写遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 声明); 出版前经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次文字和图表查重; 经小同行外审专家双盲审稿, 同行评议认为符合期刊发稿宗旨。

## 4 参考文献 References

- VARAPRASAD K, RAGHAVENDRA GM, JAYARAMUDU T, et al. A mini review on hydrogels classification and recent developments in miscellaneous applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017;79:958-971.
- TU Y, CHEN N, LI C, et al. Advances in injectable self-healing biomedical hydrogels. *Acta Biomater.* 2019;90:1-20.
- CHEN J, ZHU Y, LIU H, et al. Tailoring DNA self-assembly to build hydrogels. *Top Curr Chem (Cham).* 2020;378(2):32.
- LIU Q, GE Z, MAO X, et al. Valency-controlled framework nucleic acid signal amplifiers. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2018;57(24):7131-7135.
- KLÜTER T, HASSAN R, RASCH A, et al. Ex vivo bone defect model to evaluate bone substitutes and associated bone regeneration processes. *Tissue Eng Part C Methods.* 2020;26(1):56-65.
- CELIKIN N, MASTROGIACOMO S, JAROSZEWCZ J, et al. Gelatin methacrylate scaffold for bone tissue engineering: The influence of polymer concentration. *J Biomed Mater Res A.* 2018;106(1):201-209.
- PEDERSEN SL, HUYNH TH, POSCHKO P, et al. Remotely Triggered Liquefaction of Hydrogel Materials. *ACS Nano.* 2020;14(7):9145-9155.
- PAL P, NGUYEN Q, BENTON A, et al. Drug-loaded elastin-like polypeptide-collagen hydrogels with high modulus for bone tissue engineering. *Macromol Biosci.* 2019;19(9):e1900142.
- PINHEIRO AV, HAN D, SHIH WM, et al. Challenges and opportunities for structural DNA nanotechnology. *Nat Nanotechnol.* 2011;6(12):763-772.
- ROH YH, RUIZ RC, PENG S, et al. Engineering DNA-based functional materials. *Chem Soc Rev.* 2011;40(12):5730-5744.
- YANG D, HARTMAN MR, DERRIEN TL, et al. DNA materials: bridging nanotechnology and biotechnology. *Acc Chem Res.* 2014;47(6):1902-1911.
- WANG D, HU Y, LIU P, et al. Bioresponsive DNA hydrogels: beyond the conventional stimuli responsiveness. *Acc Chem Res.* 2017;50(4):733-739.
- 马翻, 张洋子, 许文涛. 功能核酸 DNA 水凝胶的制备与组装 [J]. *生物技术进展*, 2019,9(6):554-562.
- UM SH, LEE JB, PARK N, et al. Enzyme-catalysed assembly of DNA hydrogel. *Nat Mater.* 2006;5(10):797-801.
- NAGAHARA TM. Hydrogel formation via hybridization of oligonucleotides derivatized in water-soluble vinyl polymers. *Elsevier Science.* 1996;4(2):111-127.
- LYU D, CHEN S, GUO W. Liposome crosslinked polyacrylamide/DNA hydrogel: a smart controlled-release system for small molecular payloads. *Small.* 2018;14(15):e1704039.
- FUJITA S, HARA S, HOSONO A, et al. Hyaluronic Acid Hydrogel Crosslinked with Complementary DNAs. *Advances in Polymer Technology.* 2020;2020:1-7.
- KANG H, LIU H, ZHANG X, et al. Photoresponsive DNA-cross-linked hydrogels for controllable release and cancer therapy. *Langmuir.* 2011;27(1):399-408.
- BUSH J, HU CH, VENEZIANO R. Mechanical properties of DNA hydrogels: towards highly programmable biomaterials. *Appl Sci.* 2021;11(4):1885.
- CAI W, XIE S, ZHANG J, et al. An electrochemical impedance biosensor for Hg(2+) detection based on DNA hydrogel by coupling with DNAzyme-assisted target recycling and hybridization chain reaction. *Biosens Bioelectron.* 2017;98:466-472.
- YANG D, PENG S, HARTMAN MR, et al. Enhanced transcription and translation in clay hydrogel and implications for early life evolution. *Sci Rep.* 2013;3:3165.
- HUANG Y, XU W, LIU G, et al. A pure DNA hydrogel with stable catalytic ability produced by one-step rolling circle amplification. *Chem Commun (Camb).* 2017;53(21):3038-3041.
- KAHN JS, Y HU, I WILLNER. Stimuli-responsive DNA-based hydrogels: from basic principles to applications. *Acc Chem Res.* 2017;50(4):680-690.
- NOLL T, WENDERHOLD-REEB S, SCHONHERR H, et al. Pristine DNA Hydrogels from Biotechnologically Derived Plasmid DNA. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2017;56(39):12004-12008.
- DENG S, YAN J, WANG F, et al. In situ terminus-regulated DNA hydrogelation for ultrasensitive on-chip microRNA assay. *Biosens Bioelectron.* 2019;137:263-270.
- NAKASONE Y, OOI H, KAMIYA Y, et al. Dynamics of Inter-DNA Chain Interaction of Photoresponsive DNA. *J Am Chem Soc.* 2016;138(29):9001-9004.
- SHIMOMURA S, NISHIMURA T, OGURA Y, et al. Photothermal fabrication of microscale patterned DNA hydrogels. *R Soc Open Sci.* 2018;5(2):171779.
- MO F, JIANG K, ZHAO D, et al. DNA hydrogel-based gene editing and drug delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev.* 2021;168:79-98.
- WANG Y, YAN M, XU L, et al. Aptamer-functionalized DNA microgels: a strategy towards selective anticancer therapeutic systems. *J Mater Chem B.* 2016;4(32):5446-5454.
- ZHANG J, GUO Y, PAN G, et al. Injectable Drug-Conjugated DNA Hydrogel for Local Chemotherapy to Prevent Tumor Recurrence. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2020;12(19):21441-21449.
- SONG J, IM K, HWANG S, et al. DNA hydrogel delivery vehicle for light-triggered and synergistic cancer therapy. *Nanoscale.* 2015;7(21):9433-9437.
- BASU S, PACELLI S, PAUL A. Self-healing DNA-based injectable hydrogels with reversible covalent linkages for controlled drug delivery. *Acta Biomater.* 2020;105:159-169.
- LIAO WC, LILIENTHAL S, KAHN JS, et al. pH- and ligand-induced release of loads from DNA-acrylamide hydrogel microcapsules. *Chem Sci.* 2017;8(5):3362-3373.
- XIAO M, LAI W, WANG F, et al. Programming drug delivery kinetics for active burst release with DNA toehold switches. *J Am Chem Soc.* 2019;141(51):20354-20364.
- OBUOBI S, TAY HK, TRAM NDT, et al. Facile and efficient encapsulation of antimicrobial peptides via crosslinked DNA nanostructures and their application in wound therapy. *J Control Release.* 2019;313:120-130.
- KIM T, PARK S, LEE M, et al. DNA hydrogel microspheres and their potential applications for protein delivery and live cell monitoring. *Biomicrofluidics.* 2016;10(3):034112.
- SONG P, YE D, ZUO X, et al. DNA hydrogel with aptamer-toehold-based recognition, cloaking, and decloaking of circulating tumor cells for live cell analysis. *Nano Lett.* 2017;17(9):5193-5198.
- UMEKI Y, SAITO M, KUSAMORI K, et al. Combined encapsulation of a tumor antigen and immune cells using a self-assembling immunostimulatory DNA hydrogel to enhance antigen-specific tumor immunity. *J Control Release.* 2018;288:189-198.
- NISHIKAWA M, OGAWA K, UMEKI Y, et al. Injectable, self-gelling, biodegradable, and immunomodulatory DNA hydrogel for antigen delivery. *J Control Release.* 2014;180:25-32.
- LEE J, LE QV, YANG G, et al. Cas9-edited immune checkpoint blockade PD-1 DNA polyaptamer hydrogel for cancer immunotherapy. *Biomaterials.* 2019;218:119359.
- KUSCU L, SEZER AD. Future prospects for gene delivery systems. *Expert Opin Drug Deliv.* 2017;14(10):1205-1215.
- SARDONE V, ZHOU H, MUNTONI F, et al. Antisense oligonucleotide-based therapy for neuromuscular disease. *Molecules.* 2017;22(4):563.
- ROH YH, LEE JB, SHOPSOWITZ KE, et al. Layer-by-layer assembled antisense DNA microsphere particles for efficient delivery of cancer therapeutics. *ACS Nano.* 2014;8(10):9767-9780.
- LI C, FAULKNER-JONES A, DUN AR, et al. Rapid formation of a supramolecular polypeptide-DNA hydrogel for in situ three-dimensional multilayer bioprinting. *Angewandte Chemie (International ed in English).* 2015;54(13):3957-3961.
- HOFFMAN MD, XIE C, ZHANG X, et al. The effect of mesenchymal stem cells delivered via hydrogel-based tissue engineered periosteum on bone allograft healing. *Biomaterials.* 2013;34(35):8887-8898.
- GACANIN J, KOVTUN A, FISCHER S, et al. Spatiotemporally Controlled Release of Rho-Inhibiting C3 Toxin from a Protein-DNA Hybrid Hydrogel for Targeted Inhibition of Osteoclast Formation and Activity. *Adv Healthc Mater.* 2017. doi:10.1002/adhm.201700392.
- NUTTELMAN CR, TRIPODI MC, ANSETH KS. Dexamethasone-functionalized gels induce osteogenic differentiation of encapsulated hMSCs. *J Biomed Mater Res A.* 2006;76(1):83-195.
- BASU S, PACELLI S, FENG Y, et al. Harnessing the noncovalent interactions of DNA backbone with 2D silicate nanodisks to fabricate injectable therapeutic hydrogels. *ACS Nano.* 2018;12(10):9866-9880.
- LIU Y, ZHU Z, PEI X, et al. ZIF-8-modified multifunctional bone-adhesive hydrogels promoting angiogenesis and osteogenesis for bone regeneration. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2020;12(33):36978-36995.
- DADSETAN M, HEFFERAN TE, SZATKOWSKI JP, et al. Effect of hydrogel porosity on marrow stromal cell phenotypic expression. *Biomaterials.* 2008;29(14):2193-2202.
- CELIKIN N, MASTROGIACOMO S, JAROSZEWCZ J, et al. Gelatin methacrylate scaffold for bone tissue engineering: the influence of polymer concentration. *J Biomed Mater Res A.* 2018;106(1):201-209.
- BENOIT DS, NUTTELMAN CR, COLLINS SD, et al. Synthesis and characterization of a fluvastatin-releasing hydrogel delivery system to modulate hMSC differentiation and function for bone regeneration. *Biomaterials.* 2006; 27(36):6102-6110.
- PETRIE ARONIN CE, SHIN SJ, NADEN KB, et al. The enhancement of bone allograft incorporation by the local delivery of the sphingosine 1-phosphate receptor targeted drug FTY720. *Biomaterials.* 2010;31(25):6417-6424.
- DASHTIMOGHADAM E, FAHIMIPOUR F, TONGAS N, et al. Microfluidic fabrication of microcarriers with sequential delivery of VEGF and BMP-2 for bone regeneration. *Sci Rep.* 2020;10(1):11764.

(责任编辑: WJ, ZN, ZJP)