

## Nature communications: 科学家揭秘 ActA 新功能

ActA 被认为通过结合和激活典型的激活素受体来发挥其生物学功能，然而，它与 TGF- $\beta$  超家族中的其他受体结合的能力尚未被报道。

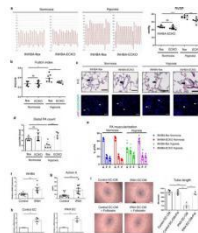
基于此，京都府立医科大学心血管医学系的 Noriaki Emoto 教授带领团队，以“An endothelial activin A–bone morphogenetic protein receptor type 2 link is overdriven in pulmonary hypertension”为题，于 2021 年 3 月 19 日在线发表在《Nature communications》杂志上。



ActA 由抑制素- $\beta$  的同二聚体形成，是 TGF- $\beta$  超家族的激活素/抑制素组成员。虽然它最早发现于性腺细胞，但最近的研究表明，它是一种多功能细胞因子，影响血管生成、炎症、增殖和凋亡。ActA 结合并激活自己的 II 型受体（激活素受体 IIA 或 IIB），然后激活 I 型受体和随后的 SMAD 途径。有趣的是，据报道 ActA 与 II 型 TGF- $\beta$  超家族受体的其他成员相互作用，包括 BMPRII，尽管其生理相关性尚不清楚。在所有 PAH 形式中都观察到 BMPRII 的下调，BMPRII 的异常运输与 PAH 的发展有关。该研究团队发现溶酶体降解是 BMPRII 调控的一个重要途径，抑制溶酶体降解可导致 BMPRII 表达的保持。BMPRII 的内化主要通过网格蛋白介导的内吞作用进行，也被认为在调节 BMPRII 的表达和活性中起重要作用。

研究人员还利用外源性表达的 BMPRII-GFP 来分析 BMPRII 在 PAECs 中的亚细胞定位。因为过度表达的蛋白质可能表现出与内源性蛋白质不同的行为，所以研究人员需要酌情分析实验数据。尽管 BMPRII 在 PAH 中起着重要作用，但众所周知，在临床上，PAH 患者 BMPRII 突变外显率仅为 2%。这表明，如果一个人发展成 PAH，除了 BMPRII 突变外，其他因素或分子也必须参与。由于 INHBA/ActA 主要通过降低 BMPRII 参与 PAH 的发生，因此在 BMPRII 降低的情况下，INHBA/ActA 在 PAH 病理中的作用可能较小。然而，过量的 INHBA/ActA 除了其他原因导致的 BMPRII 缺乏外，还可能介导 ECs 中 BMPRII 的进一步降低。因此，INHBA/ActA 可能是 PAH 分子机制中缺失的一部分。

接下来，研究人员发现共有 7 种 I 型受体，在 ActA 结合的情况下，哪种 I 型受体与 BMPRII 偶联仍是未知的。甚至有可能 ActA 介导的 BMPRII 内化发生在没有与 I 型受体偶联的情况下。令人惊讶的是，ActA 不影响 BMPRII 在血管平滑肌细胞中的表达水平。由于不同细胞类型中优先表达的 I 型受体不同，ActA 介导 BMPRII 内化可能需要在 ECs 中表达而在 VSMCs 中不表达的 I 型受体。



条件性 INHBA 基因敲除对 ECs 肺动脉高压的改善作用，

doi:10.1038/s41467-021-21961-3

综上所述，该研究团队的研究表明，INHBA/ActA 介导的肺微血管生成素在 PAH 的发生发展中是一个未知的修饰因子。进一步的临床研究证实 INHBA/ActA 是治疗 PAH 的靶点。

原文出处

Ryanto, Gusty R T et al. "An endothelial activin A-bone morphogenetic protein receptor type 2 link is overdriven in pulmonary hypertension." *Nature communications* vol. 12,1 1720. 19 Mar. 2021, doi:10.1038/s41467-021-21961-3

## Science 子刊:科学家揭秘脊髓损伤后髓样细胞和胶质细胞的变化

创伤性损伤和神经退行性变在病理触发因素、血脑屏障完整性、疾病病灶扩散和时间框架方面有所不同。此外，浸润性巨噬细胞在损伤的脊髓中丰富，但在 AD 脑中并不丰富，且时间点也相当不同。其中的具体机制目前并不清楚。

基于此，来自美国纽约西奈山伊坎医学院神经外科的 Roland H Friedel 教授带领团队，将相关研究成果以“Diversified transcriptional responses of myeloid and glial cells in spinal cord injury shaped by HDAC3 activity”为题，于 2021 年 2 月 26 日在线发表在《Science Advances》杂志上。

13.116. 12. Sci Adv. 2021 Feb 26;7(9):eab08811. doi: 10.1126/sciadv.abd8811. Print 2021 Feb.

### Diversified transcriptional responses of myeloid and glial cells in spinal cord injury shaped by HDAC3 activity

Shalika Wahane<sup>1</sup>, Xiansao Zhou<sup>2</sup>, Xiang Zhou<sup>1</sup>, Lei Guo<sup>2</sup>, Marie-Sophie Friedl<sup>3</sup>, Michael Kluge<sup>3</sup>, Aarthi Ramakrishnan<sup>1</sup>, Li Shen<sup>1</sup>, Caroline C Friedel<sup>3</sup>, Bin Zhang<sup>2</sup>, Roland H Friedel<sup>4, 5</sup>, Hongyan Zou<sup>4, 5</sup>

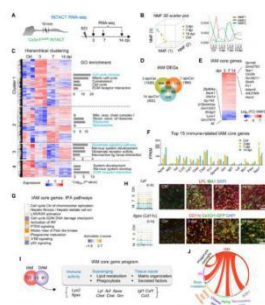
Affiliations + expand  
PMID: 33637528 PMCID: PMC7909890 DOI: 10.1126/sciadv.abd8811

研究人员对 DAM 进行研究，分别在 1、3、4 和 8 个月时，对从整个 AD 脑中通过 FACS 分离的免疫细胞进行了 scRNA-seq 研究，揭示了斑块相关小胶质细胞的逐渐增加，与大得多的稳态小胶质细胞群体相比，这是一个小群体；相比之下，该研究团队的完整 RNA-序列研究是在 3、7 和 14 dpi 下进行的，提供了 IAM 基因程序在几天内的明确时间轨迹。scRNA-seq 的结果进一步揭示了它们在髓系亚簇中的异质性表达模式，例如，MG2 和 Mac1 是主要的髓系亚簇，富含 IAM 和 DAM 特征基因。因此，该研究团队的数据强调了对神经炎症更微妙的观点，而不是赞成和反对炎症表型的概念二分法。此外，大量外显子在 IAM 中显示出差异剪接，并且聚类 2 中的基因富集在剪接体上。需要进一步研究 RNA 结合调节蛋白的功能和参与，以及比较 DAM 和 IAM 之间的替代外显子使用。

研究人员进一步研究发现小胶质细胞的四种转录亚型：免疫聚焦 MG1、反应性 MG2、即时反应 MG3 和增殖性 MG4。与稳态小胶质细胞群体一致的假设相反，所有四种小胶质细胞亚型都已经存在于未损伤的脊髓中，表明基线时存在多种细胞状态。尽管自稳态标记基因在脊髓损伤后整体下调（表明从自稳态检查点释放），但活化的小胶质细胞群体并不一致，MG2 经历了脊髓损伤后最大的扩增，但自稳态 MG1 也扩增了。

目前的研究还提高了该研究团队对脊髓损伤中 HDAC3 抑制作用的理解：(1) 小胶质细胞和巨噬细胞对 HDAC3i 的反应不同，但两个群体中共同的 HDAC3 依赖

性基因调节趋化性、趋化因子活性、RANKL 和 p38 MAPK 信号，从而呼应了该研究团队早期发现的 HDAC3i 的免疫抑制功能。(2) 小胶质细胞中 Hdac3 的表达不一致，但主要在增殖性 MG4 中。假时推断的单细胞轨迹研究显示，HDAC3i 导致向 MG4 转变，作为小胶质细胞转化的起点，与富含 MG4 并与增殖相关的 HDAC3 依赖基因一致。因此，该研究团队确定了一个小胶质细胞亚群，它高度增殖，并受到 HDAC3 活性的严重影响。(3) scRNA-seq 揭示了 Hdac3 在成人脊髓的几种细胞类型中广泛表达。该研究团队的结果显示 HDAC3i 对髓样细胞和其他神经胶质细胞的转录状态有广泛的影响。



脊髓损伤后 IAM 中时间上不同的转录谱, doi:10.1126/sciadv.abd8811

总之，该研究团队在小胶质细胞中发现了广泛的激活状态，包括稳态和脊髓损伤后。活化的小胶质细胞和浸润的巨噬细胞逐渐获得了整体的修复性，但高度多样化的转录谱，每个转录谱包括四种不同的转录亚型，具有特定的任务。染色质调节剂 HDAC3 影响免疫细胞和胶质细胞的损伤反应和功能多样性，其可用于增强神经修复。

原文出处

Wahane, Shalaka et al. “Diversified transcriptional responses of myeloid and glial cells in spinal cord injury shaped by HDAC3 activity.” *Science advances* vol. 7, 9 eabd8811. 26 Feb. 2021, doi:10.1126/sciadv.abd8811

## Cell: 重磅！科学家利用单细胞测序研究人类心脏发育

人类心脏起源于中胚层，发育成心血管，在受孕后 21 天左右开始跳动。30 天后心血管循环，形成四个单独的心腔和心外膜。随后，流出道 (OFT) 分化，心肌外侧部分转化为致密心肌和间隔。最终，OFT 分为主动脉和肺动脉，大部分的心脏间隔在妊娠早期结束时完成。这些复杂的事件是复杂和适时的基因表达相互作用的结果，这些相互作用与作用于发育中心脏的每个部分的空间和功能程序有关。

鼠类和人类心脏发育之间存在差异。因此，需要对人类发育组织进行空间解析的单细胞转录数据。

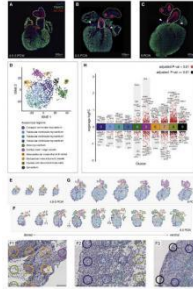
基于此，瑞典皇家理工学院基因技术系主任 Joakim Lundeberg 教授带领团队提出了一种分子方法，揭示了在胚胎心脏的三个发育阶段细胞类型的综合转录图谱，并将细胞类型特异性基因表达映射到特定的解剖结构域。该项工作以 “A Spatiotemporal Organ-Wide Gene Expression and Cell Atlas of the Developing Human Heart” 为题发表在《Cell》上杂志。

**A Spatiotemporal Organ-Wide Gene Expression and Cell Atlas of the Developing Human Heart**

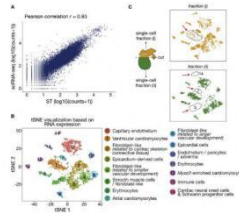
Mikaela Asp<sup>1</sup>, Stefania Giacomello<sup>2</sup>, Ludvig Larsson<sup>3</sup>, Chenglin Wu<sup>4</sup>, Daniel Fürth<sup>5</sup>, Xinyan Qian<sup>6</sup>, Eva Wählén<sup>6</sup>, Joaquin Cutts<sup>7</sup>, Isakian Reinegård<sup>8</sup>, Fredrik Sahmån<sup>9</sup>, Cecilia Osterholm<sup>10</sup>, Parik L. Sillé<sup>7</sup>, Erik Sundström<sup>11</sup>, Elisabet Åkesson<sup>11</sup>, Claes Bergmann<sup>12</sup>, Magda Elmiro<sup>13</sup>, Agneta Månsson-Broberg<sup>14</sup>, Mats Nilsson<sup>4</sup>, Christer Sjökvist<sup>15</sup>, Isakian Lundberg<sup>16</sup>

Affiliations: <sup>1</sup>ingard  
 PMID: 31835077 DOI: 10.1016/j.cell.2019.11.025

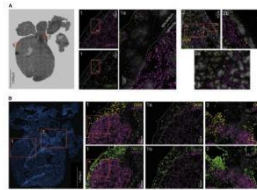
研究人员发现在所研究的时间窗（4.5-9 PCW）内，空间基因表达在胚胎发育的早期建立并维持，并且心脏内区域之间的基因表达差异比时间点之间的差异更明显。



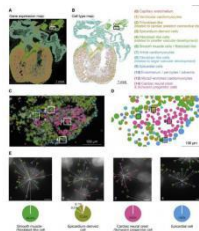
心脏三个发育阶段的全时空分析， doi:10.1016/j.cell.2019.11.025  
 进一步研究，发现心脏上部细胞多样性丰富，包括 OFT、心房的主要部分、AV 心外膜下间质、瓣膜装置和带有肺静脉的纵膈组织。



6.5 - 7 PCW 人胚胎心脏的单细胞分析， doi:10.1016/j.cell.2019.11.025  
 接下来，研究人员使用单分子 RNA 荧光原位杂交（smFISH）交叉验证了三个 ISS 基因探针的结果，其产生的模式与测序观察到的模式相似。研究人员将 ISS 的亚细胞空间分辨率应用于 ST 分析的三个心脏组织。设计一个基因面板，利用来自两个匹配的 6.5 - 7 PCW 生物样本的 ST 和 scRNA 序列分析的信息。

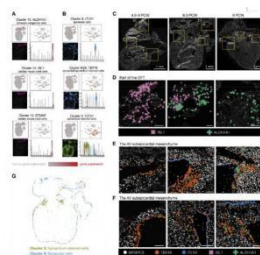


通过 smFISH 验证 ISS 数据， doi:10.1016/j.cell.2019.11.025  
 研究人员还发现了空间细胞映射证实了 ST 预测的团簇的空间分布，并解析了由彼此靠近的不同细胞类型形成的更精细的结构。



人类心脏发育中期的细胞类型图， doi:10.1016/j.cell.2019.11.025

ISS 结果通过将 scRNA-seq 结果与相应空间标记基因的结果进行比较。心脏神经嵴细胞仅在早期出现，而雪旺祖细胞仅在后期出现。心脏神经嵴细胞在任何时间点均不存在于房室结下心外膜间质中，但雪旺祖细胞在后期填充该区域。

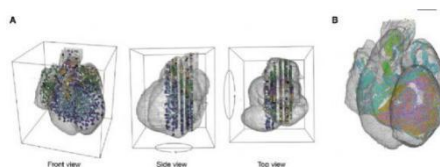


心脏发育三个阶段的靶向时空分析， doi:10.1016/j.cell.2019.11.025

最后，该研究团队提供了一个公开的网络资源，以直观地探索调控人类心脏发育的空间基因表达模式

(<https://hdca-sweden.scilifelab.se/a-study-on-human-heart-development/>)

。



三维基因表达图谱， doi:10.1016/j.cell.2019.11.025

综上所述，该研究团队利用单细胞时空方法研究了人类心脏的发育，并构建了一种分子方法，可用于探索其他生物的发育过程。该研究团队的方法可以探索组织中的整体空间转录模式，消除其细胞异质性，并选择性地靶向具有导致细胞类型差异的空间异质性表达模式的关键基因。该研究团队的心脏发育模型是第一个具有单细胞空间分辨率的器官范围人类发育转录图谱。为了方便开发，该研究团队创建了一个公开的网络资源，可以用来研究和可视化二维和三维模型

(<https://hdca-sweden.scilifelab.se/a-study-on-human-heart-development/>) 心脏发育过程中基因时空表达模式的研究。

参考文献

- 1、Asp, Michaela et al. “A Spatiotemporal Organ-Wide Gene Expression and Cell Atlas of the Developing Human Heart.” *Cell* vol. 179,7 (2019): 1647-1660. e19. doi:10.1016/j.cell.2019.11.025;
- 2、Phansalkar, Ragini, and Kristy Red-Horse. “Techniques converge to map the developing human heart at single-cell level.” *Nature* vol. 577,7792 (2020): 629-630. doi:10.1038/d41586-020-00151-z;
- 3、Li, Guang et al. “Single cell expression analysis reveals anatomical and cell cycle-dependent transcriptional shifts during heart development.” *Development (Cambridge, England)* vol. 146,12 dev173476. 14 Jun. 2019, doi:10.1242/dev.173476

## Science 子刊：科学家揭秘人脑调控序列

一个长期的假设是，人类和黑猩猩之间的差异可能更多地是由调节水平的适应而不是由蛋白质序列的适应所驱动的。这一点在人脑进化的调节适应中尤其突出。

目前尚缺乏一个稳健的中性进化与适应性进化模型，需要定义一个预期的中性差异与多态性比率。然而为调控元素定义中性位点是困难的，并且可能会导致结果偏差。而且缺乏对单个元素的能力，因为许多调控元素都很短，并且呈现的可变位点很少。

基于此，洛桑大学生态与进化系 Marc Robinson-Rechavi 教授带领团队，扫描了 29 个人类和 11 个小鼠组织或细胞类型中 CTCF 结合位点的阳性选择信号，发现人脑相关细胞类型的阳性选择比例最高。这一结果与基因调控的适应性进化在人脑进化中起着重要作用的观点是一致的。该项工作以“Robust inference of positive selection on regulatory sequences in the human brain”为题发表在《Science Advances》杂志上。

### Robust inference of positive selection on regulatory sequences in the human brain

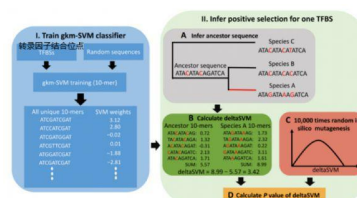
Jialin Liu<sup>1,2</sup>, Marc Robinson-Rechavi<sup>1,2</sup>

Affiliations + expand

PMID: 33246961 PMID: PMC7695467 DOI: 10.1126/sciadv.abc9863

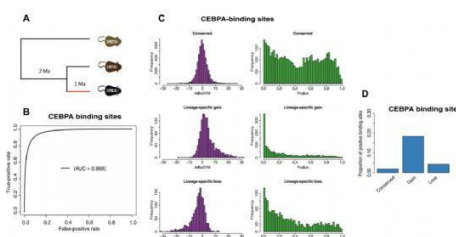
Free PMC article

gkm-SVM 模型训练是以 TFBSs 为正训练集，以随机抽取的基因组序列为负训练集，训练 gkm-SVM 分类器。利用 gkmsvm 生成所有可能的 10 个 mers 的支持向量机权重，即预测转录因子结合亲和力的贡献。正选择推理是根据与姊妹种（种 B）和外群（种 C）的序列比对推断出祖先序列。然后根据权重表计算红框上积累的两个取代基的结合亲和力变化（deltaSVM）。通过比较观察到的 deltaSVM 与零分布 deltaSVM 的显著性，该分布通过对相同数量的随机替换进行 10000 次评分来构建。



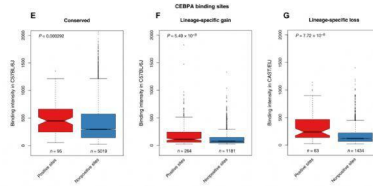
推断正选择过程的说明， doi:10.1126/sciadv.abc9863

三种小鼠（*M. musculus domesticus* C57BL/6J、*M. castaneus* CAST/EiJ 和 *M. spretus* SPRET/EiJ）肝脏中的大量 TFBSs，通过 ChIP seq 对三种肝脏特异性转录因子 CEBPA 进行鉴定（图 A）。用于检测 CEBPA 结合位点阳性选择的三种小鼠之间系统发育关系的拓扑图（图 C）。ROC 曲线对 gkm-SVM 分类性能对 CEBPA 结合位点，提供预测能力的总体衡量（图 B）。广泛的正选择驱动 CEBPA 结合位点的增加（图 D）。



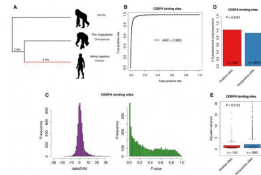
小鼠肝脏 TFBSs 阳性选择的检测, doi:10.1126/sciadv.abc9863

在焦点物种 C57BL/6J 中, 阳性结合位点 (PBSs) 比非阳性选择结合位点 (非 pbs) 具有更高的结合亲和力 (图 E、F)。研究人员使用 CAST/EiJ 作为祖先结合亲和力的近似值, 发现祖先具有更强亲和力 (图 G)。



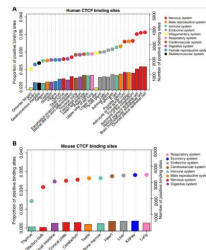
基于 ChIP-seq 结合强度的验证, doi:10.1126/sciadv.abc9863

研究人员进一步研究发现人类、黑猩猩和大猩猩之间系统发育关系的拓扑图 (图 A)。CEBPA 结合位点 gkmsvm 分类性能的 ROC 曲线 (图 B)。CEBPA 结合位点的替换数和多态性数单核苷酸多态性 (SNPs) 之间的比率 (图 D)。左边的图是 deltaSVM 的分布。右图是 deltaSVM P 值的分布 (正选择测试) (图 C)。阳性位点和非阳性位点间假定靶基因 (最接近 TFBS 的基因) 表达方差 (校正方差) 的比较 (图 E)。



用人肝 TFBSs 验证正选择推理, doi:10.1126/sciadv.abc9863

研究人员深入研究, 发现 29 个人类组织或细胞类型中的 CTCF 结合位点 (图 A), 以及 11 个小鼠组织中 CTCF 结合位点 (图 B)。



人组织 CTCF 结合位点的适应性进化, doi:10.1126/sciadv.abc9863

综上所述, 该文是生信分析者学习的好范例。本文提出了一种新的检测转录因子结合位点正选择的方法, 该方法基于结合的机器学习模型来测量预测的亲和力变化。与其他方法不同, 这种方法既不需要定义先验中性位点, 也不需要检测加速进化, 从而消除了主要的偏差来源。

参考文献

- 1、Liu, Jialin, and Marc Robinson-Rechavi. “Robust inference of positive selection on regulatory sequences in the human brain.” *Science advances* vol. 6, 48 eabc9863. 27 Nov. 2020, doi:10.1126/sciadv.abc9863;
- 2、Arbiza, Leonardo et al. “Genome-wide inference of natural selection on human transcription factor binding sites.” *Nature genetics* vol. 45, 7 (2013): 723–9. doi:10.1038/ng.2658;
- 3、Stanley, Craig E Jr, and Rob J Kulathinal. “Neurogenomics and the role

of a large mutational target on rapid behavioral change.” *Biology direct* vol. 11, 1 60. 8 Nov. 2016, doi:10.1186/s13062-016-0162-1

## Nature 子刊：科学家揭秘 microRNA 的加工机制

在过去几年中发现的靶向 NPM1 的分子都没有显示出适合其作为药物开发的化学特征。KIMAT1 在癌症中可检测到，在正常组织中很少或没有表达。因此，靶向 KIMAT1 将允许 DHX9 和 NPM1 仅在肿瘤中沉默，而对正常对应物没有毒性。miRNA 是生理和病理过程中基因表达的重要调节因子，包括癌症。根据细胞情况，它们可以作为肿瘤抑制因子和癌基因发挥作用。

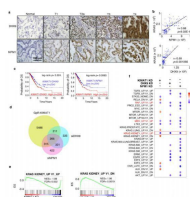
基于此，来自英国伦敦曼彻斯特大学和伦敦大学学院，英国癌症研究中心的 Michela Garofalo 教授带领团队，将相关研究结果以“A KRAS-responsive long non-coding RNA controls microRNA processing”为题，于 2021 年 4 月 1 日在线发表在《Nature Communications》杂志上。

12, 221 | 186 | Nat Commun. 2021 Apr 1;12(1):2038. doi: 10.1038/s41467-021-22337-3.  
**A KRAS-responsive long non-coding RNA controls microRNA processing**  
Lei Shi<sup>1,2</sup>, Peter Magee<sup>1,2</sup>, Matteo Fassan<sup>3</sup>, Sudhakar Sahoo<sup>4</sup>, Hui Sun Leong<sup>4</sup>, Dave Lee<sup>4</sup>, Robert Sellers<sup>4</sup>, Laura Brulii-Sourmand<sup>5</sup>, Stefano Cairo<sup>6</sup>, Tiziana Monteverde<sup>1,2</sup>, Stefano Volinia<sup>6</sup>, Duncan D Smith<sup>7</sup>, Giampiero Di Lena<sup>8</sup>, Francesca Galappini<sup>9</sup>, Athanasios P Patsouras<sup>1,2</sup>, Kang Zhang<sup>9</sup>, Raymond O Keeffe<sup>10</sup>, Michela Garofalo<sup>11,12</sup>  
Affiliations: + expand  
PMID: 33795683 DOI: 10.1038/s41467-021-22337-3

值得注意的是，在来自转移部位和晚期肺腺癌的细胞中观察到高水平的 KIMAT1 和 KRAS。与 KRAS 扩增推动肿瘤增殖的假设一致，该研究团队的实验揭示 MYC 是 KRAS 诱导的肿瘤发生的基础的众所周知的 KRAS 激活的转录因子，与确定其活化的 KIMAT1 启动子结合。对 KIMAT1 基因座的检查证明它基本上由 TE 组成，并且 KIMAT1 的 MYC 依赖性转录由源自人类基因组中进化 ERV1 整合事件的 LTR 驱动。KIMAT1 沉默减少了 3D 细胞的侵袭，并在癌症中诱导了大量的程序性细胞死亡，而不是在正常细胞中，这表明它对癌症的存活至关重要。

尽管与具有扩增的 KRAS 的细胞相比，具有突变的 KRAS 状态的细胞中的 KIMAT1 表达较低，但是在这些细胞中对 KIMAT1 操作的生物学效应与在具有 KRAS 扩增的细胞中观察到的相似。此外，通过 RAP-MS 和 CLIP 测定，该研究团队发现根据 KIMAT1 定位，KIMAT1 结合并稳定存在于细胞核和细胞质中的 DHX9 和 NPM1。DHX9 在许多癌症中过表达，但它也是维持正常细胞稳态的基础。NPM1 被认为是治疗实体和血液恶性肿瘤的有效治疗靶点。

尽管如此，该研究团队的发现增加了 KRAS 是 MC 复合物上游调节剂并通过控制 miRNA 加工至少部分在转录后调节其自身信号传导的可能性。KIMAT1 通过 DHX9 和 NPM1 稳定化以及 MYC 依赖性抑制 p21 促进了一部分致癌样 miRNA 的加工，同时停止了具有肿瘤抑制功能的 miRNA 子集的生物发生，维持了增强的正反馈回路 KRAS 信号。



KIMAT1 及其相互作用蛋白调节 KRAS 信号，doi: 10.1038/s41467-021-22337-3



总之，该研究团队报道了 KRAS 下游迄今尚未确定的网络，可用于治疗干预，以阻止 KRAS 驱动的肿瘤的适应性。鉴于最近 RNA 治疗的有希望的结果，KIMAT1 在肺肿瘤发生中的重要作用以及抑制携带 KRASWT 扩增的患者衍生肿瘤生长的强大作用，该研究团队提出了其靶向可能有效治疗的观点。毕竟目前来说，一部分肺癌患者，并没有有效的治疗选择。

原文出处

Shi, Lei et al. "A KRAS-responsive long non-coding RNA controls microRNA processing." *Nature communications* vol. 12,1 2038. 1 Apr. 2021, doi:10.1038/s41467-021-22337-3

## Chem :我国学者揭示脱氧核糖核酸催化高效生产单链脱氧核糖核酸纳米结构

DNA 纳米技术建立在寡聚体合成的基础上。大多数 DNA 纳米结构 (DNA) 是通过设计的序列杂交与多个合成 DNA 自组装而成的。然而，多序列 (MS) DNA，如传统的 DNA 折纸，有几个缺点。组装后，多余的组分链保留在样品中，难以完全清除，这可能会引起安全问题，并在生物医学应用中引起不必要的副作用。

基于此，复旦大学生物医学研究院顾宏周课题组在《Chem》期刊上发表题为“DNA-catalyzed efficient production of single-stranded DNA nanostructures”的研究论文。该研究报道了一种高效制备单链 DNA 纳米结构的生物方法。

### DNA-catalyzed efficient production of single-stranded DNA nanostructures

Youli Jia <sup>†</sup> · Liman Chen <sup>†</sup> · Jin Liu · Wei Li · Hongzhou Gu <sup>✉</sup> · Show footnotes

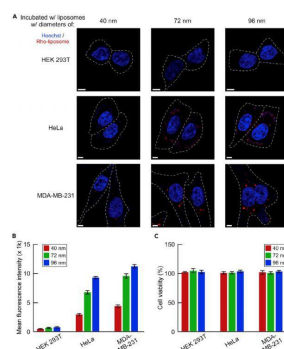
Published: March 30, 2021 · DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chempr.2020.12.001>

在目前所有生产单链脱氧核糖核酸的策略中，主要障碍在于严重依赖蛋白质酶来降解或消化前体脱氧核糖核酸，这将实际生产限制在微克至毫克的水平，并限制了单链脱氧核糖核酸作为治疗剂或复杂材料的潜在应用的探索，其中需要 0 - 17 微克至克的脱氧核糖核酸材料。在最近的一项值得注意的工作中，18 种自裂解 (顺式作用) 催化脱氧核糖核酸已成功地用于在最后的脱氧核糖核酸加工步骤中替代限制性内切酶，以同时从大规模生产传统 msDNA 折纸的脱氧核糖核酸前体中切除多组分脱氧核糖核酸，包括支架和短辅助链。基于该研究团队以前对脱氧核糖核酸切割酶的研究，该研究团队扩展了脱氧核糖核酸催化的策略 18，以高效和大规模地产生基于千的脱氧核糖核酸，用于自我折叠成单链脱氧核糖核酸。

接下来，类似于 RCA 扩增子的鉴定程序，该研究团队在消化前折叠 4 合 1 噬菌粒 ssDNA 扩增子。在原子力显微镜下，该研究团队观察到聚集物体的单分散分布，在每个簇中有三角形、四边形、菱形和方形结的预期形状和数量 (每个 1 个)，尽管有来自 3000 nt 噬菌粒载体的干扰结构。然后，该研究团队通过仔细选择独特的一对脱氧核糖酶来消化扩增子中的每个单链脱氧核糖核酸。将大约 5-10 倍 (摩尔比) 的酶链与噬菌粒 ssDNA 扩增子混合。

最后，通过使用相应的 I-R3 酶链组，以可控的方式从串联排列的 ssDNA 扩增子中切除单个的单链脱氧核糖核酸。当需要一次制备几个 ssDNs 时，串联扩增并选择性释放它们，与单独制备每一个相比，应该可以节省大量的时间和成本。此外，从串联扩增子中一次控制释放一个 ssDNs 避免了在系统中存在两个切除的具有相似分子量的基于千的 SSDns，这将导致分离它们的实际纯化问题。例如，如果同时从扩增子中切下 2.395-nt 菱形和 1.1.814nt 方形结，将无法从产物中完全分离出它们。

综上所述，该研究团队证明了 ssDNs 可以像 msDNs 一样用来辅助脂质体的分选。在用脱氧核糖核酸酶 i 消化法除去 msDNs 包被后，已成功地进行了分选脂质体的几种无细胞应用。<sup>42</sup> 然而，单用脱氧核糖核酸似乎更耐核酸酶消化，实际上，作为包被材料，该研究团队还用了更多的脱氧核糖核酸酶来完全除去脂质体上的 592 个核苷酸三角形(数据未显示)。因此，从成本效益的角度来看，msDN 包被和分选的脂质体可能更适用于需要裸脂质体的无细胞应用，并且可以通过去除 MSDn 包被来制备，而 ssDN 脂质体可能更适用于脂质体上具有 DNAs 包被的下游应用，这可能带来额外的益处，例如某些癌细胞对细胞摄取的改善。ssDN 辅助的脂质体分选技术可以很容易地产生不同大小的脂质体文库，脂质体的大小决定了脂质体的总摄取效率。在未来，这一强大的技术将使该研究团队能够全面系统地研究与活细胞摄取脂质体相关的参数，如大小和形状。



HEK 293T、HeLa 和 MDA-MB-231 细胞内三角形包被和分选脂质体的摄取研究, doi.org/10.1016/j.chempr.2020.12.001

原始出处:

Hong Zhou et al. "DNA-catalyzed efficient production of single-stranded DNA nanostructures" Chem doi.org/10.1016/j.chempr.2020.12.001