

## HPLC 法测定 DNA 纳米运输系统载药阿霉素的含量\*

杨学礼, 张红蕾\*\*, 杨瑜涛, 张超, 韩孟楠, 裴朝红, 杜洁, 李玮\*\*

(河北大学化学与环境科学学院, 保定 071002)

**摘要 目的:** 建立反相高效液相色谱法测定 DNA 四面体纳米运输系统中阿霉素的含量。**方法:** 采用 Agilent Extend C<sub>18</sub> 色谱柱, 以含 0.05% 三氟乙酸的水溶液-含 0.05% 三氟乙酸的乙腈溶液 (72:28) 为流动相, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 260 nm, 柱温 30 °C。**结果:** 阿霉素浓度在 5~150 μmol·L<sup>-1</sup> 范围内与峰面积呈现良好的线性关系 ( $r=0.9995$ ); 加样回收率为 97.6%~104.2% (RSD<1.5%,  $n=6$ )。优化得到 DNase I 脱氧核糖核酸酶酶解 DNA 四面体释放阿霉素的最佳酶解浓度和最佳酶解时间分别为 0.3 mg·mL<sup>-1</sup> 和 30 min。3 批样品中 DNA 四面体结合阿霉素含量分别为 131.6、131.4、132.1 μmol·L<sup>-1</sup>。**结论:** 该方法为定量分析 DNA 载体系统中阿霉素的含量提供了有效方法。

**关键词:** 反相高效液相色谱; 阿霉素; 萘环类抗肿瘤抗生素; DNA 四面体载体; 纳米运输载体; 酶解

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2019) 07-1239-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.07.10

## HPLC analysis of doxorubicin loaded in DNA nanoparticle delivery system\*

YANG Xue-li, ZHANG Hong-lei\*\*, YANG Yu-tao, ZHANG Chao,

HAN Meng-nan, PEI Chao-hong, DU Jie, LI Wei\*\*

(College of Chemistry Environmental Science, Hebei University, Baoding 071002, China)

**Abstract Objective:** To establish a RP-HPLC analysis method for the determination of doxorubicin in the DNA tetrahedrons. **Methods:** An Agilent Extend C<sub>18</sub> column was used with a mobile phase of a mixture containing 0.05% trifluoroacetic acid in an aqueous solution and 0.05% trifluoroacetic acid in acetonitrile (72:28). The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, the detection wavelength was 260 nm and the column temperature was 30 °C. **Results:** The concentration of doxorubicin showed a good linear relationship within a range of 5~150 μmol·L<sup>-1</sup> ( $r=0.9995$ ). Recovery rates were ranged from 97.6% to 104.2% (RSD<1.5%,  $n=6$ ). The optimal enzymolysis concentration and the enzymolysis time for DNase I hydrolysis of DNA tetrahedron to release doxorubicin were 0.3 mg·mL<sup>-1</sup> and 30 min, respectively. The contents of 3 samples were 131.6, 131.4, 132.1 μmol·L<sup>-1</sup>,

\* 2016 河北省自然科学基金专项资助 (B2016201031); 2014 年河北省高等学校高层次人才科学研究项目 (GCC 2014013)

\*\* 通信作者 李 玮 Tel: 13731461388; E-mail: liweihebielab@163.com

张红蕾 Tel: 18333261589; E-mail: zh10724@126.com

第一作者 Tel: 15931865759; E-mail: a237901059@gmail.com

respectively. **Conclusion:** This method provides an effective way to quantify doxorubicin in the DNA carrier system.

**Keywords:** RP-HPLC; doxorubicin; anthracycline antitumor antibiotics; DNA tetrahedron carrier; nano transport carrier; enzymolysis

盐酸阿霉素 (doxorubicin, DOX) 属于蒽环类抗肿瘤抗生素, 广泛用于各种癌症的治疗。但由于其具有抑制骨髓造血功能和延缓性心脏毒性的副作用<sup>[1-2]</sup>, 且容易引起多药耐药 (MDR), 常导致治疗的失败<sup>[3]</sup>。为了降低阿霉素的毒副作用, 提高药物对癌症的治疗效果, 许多学者开展了阿霉素药物运载系统的研究。目前, 已有许多新型药物运输载体, 如脂质体、纳米粒、聚合胶束、树突状大分子、无机硅纳米粒、磁性氧化铁纳米粒及 DNA 四面体等药物载体被开发出来。

DNA 四面体作为新型纳米运输载体, 不仅制备方法简单, 产率高, 且具有良好的细胞膜穿透性, 稳定的半衰期, 较低的细胞毒性和较好的生物相容性等优点<sup>[4-5]</sup>。该纳米运输载体已在生物监测<sup>[6-9]</sup>、活体成像<sup>[10]</sup>、药物运输<sup>[11-13]</sup>等领域取得巨大进展。其中利用 DNA 四面体作为药物运输载体已成为一种发展趋势。已有文献报道<sup>[14-15]</sup>利用 DNA 四面体作为药物运输载体递送阿霉素, 不仅提高了药物的作用浓度而且降低了药物对人体正常细胞的伤害; 在研究中, 采用分光光度计法测定 DNA 四面体运载阿霉素的含量, 即通过建立阿霉素荧光强度标准曲线测定 DNA 四面体中运载阿霉素的含量, 但由于该测定方法存在一定的不足, 即仪器精密度相对较低, 检测溶液中残留的 DNA 的紫外吸收会干扰目标物阿霉素的紫外吸收, 导致检测结果出现一定偏差。因此, 有必要开发一种高效检测 DNA 四面体中阿霉素含量的方法。

本研究通过优化流动相比例、考察 DNase I 脱氧核糖核酸酶对 DNA 四面体酶解浓度及酶解时间对载药阿霉素释放的影响, 建立采用反相高效液相色谱对 DNA 四面体中阿霉素含量进行测定的分析方法。结果显示, 该方法精确度高, 专性强, 不仅去除了未酶解完全的残余 DNA 对检测结果的干扰, 而且提高了检测的灵敏度, 为应用反相高效液相色谱定量 DNA 运载系统中阿霉素含量提供了有效方法。

## 1 仪器与材料

Dionex Ultimate 3000 型高效液相色谱 (Thermo Fisher Scientific 公司); GenSpeed X1 台式微量离心机 (香港基因有限公司); ZXGP-B2160 隔水培养箱 (上海智城分析仪器制造有限公司); MastercyclerNexus GSX1 梯度 PCR 仪 (Eppendorf 公司); BT125D 十万分之一电子天平 (Sartorius 公司)。

DNA 单链 (生工生物工程 (上海) 股份有限公司); 盐酸阿霉素 (含量 99%, 北京博奥拓达科技有限公司); 脱氧核糖核酸酶 I (DNase I, 5 mg · mL<sup>-1</sup>, 上海源叶生物科技有限公司); 磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、氯化钠、氯化钾 (分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 无水氯化镁 (分析纯, 天津市光复精细化工研究所); Tris (分析纯, BBI 生命科学有限公司)。甲醇、乙腈 (色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 实验用水均为去离子水。

4 条 DNA 单链序列见表 1。

表 1 DNA 核酸序列

Tab. 1 DNA nucleic acid sequence

序列名称 (sequence name)
DNA1: 5' -AGGCAGTTGAGACGAACATTCCTAAAGTCTGAAATTTATCA CCCGCATAGTAGACGTATCACC -3'
DNA2: 5' -CTTGCTACACGATTACAGACTTAGGAATGTTTCGACATGCCA GGGTCCAATACCGACGATTACAG -3'
DNA3: 5' -GGTGATAAAACGTGTAGCAAGCTGTAATCGACGGGAAG AGCATGCCATCCACTACTATGGCG -3'
DNA4: 5' -CCTCGCATGACTCAACTGCCTGCTGATACGAGGATGGCC ATGCTCTTCCGACGCTATTGGAC -3'

## 2 阿霉素标准母液及系列标准溶液的配制

精密称取盐酸阿霉素适量, 用去离子水配制成浓度为 5 mmol · L<sup>-1</sup> 的标准母液。将上述标准母液用去离子水梯度稀释成 150、100、90、80、70、60、50、40、30、20、10、5 μmol · L<sup>-1</sup> 的系列标准溶液, -20 °C 储存备用。

## 3 DNA 四面体与阿霉素反应及纯化

采用 Goodman 等<sup>[16-17]</sup>的一步法合成 DNA 四

面体。根据相应的吸收度,将 DNA 单链 1、2、3、4 分别使用 pH 7.4 的 PBS 缓冲液 ( $137 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl、 $2.7 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  KCl、 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 溶解为同等摩尔浓度的溶液。精密吸取 DNA 单链 1、2、3、4 的溶液各  $200 \mu\text{L}$ , 置于  $2 \text{ mL}$  EP 管中, 加入反应溶剂 ( $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{MgCl}_2$ 、 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Tris-HCl, pH 7.4) 定容至  $1 \text{ mL}$ 。采用梯度 PCR 仪, 将反应液置于  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  条件下, 加热  $3 \text{ min}$ , 再  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  冷却退火  $30 \text{ s}$ 。反应完毕, 即得  $3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 DNA 四面体,  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  储存备用。

按照 DNA 与阿霉素摩尔比 1:100 进行混合反应: 准确吸取  $3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 DNA 四面体  $200 \mu\text{L}$ , 加入阿霉素标准母液 ( $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )  $12.8 \mu\text{L}$ , 避光、室温反应  $12 \text{ h}$ , 即得反应液。采用离心沉淀法获得纯化后的 DNA 与阿霉素的反应产物: 取反应液,  $12000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心  $30 \text{ min}$ , 弃上清以去除未与 DNA 结合的阿霉素; 将沉淀用  $200 \mu\text{L}$  反应溶剂重新溶解, 即得纯化反应液。 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  储存备用。

#### 4 液相色谱条件

采用 Agilent Extend  $\text{C}_{18}$  色谱柱 ( $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$ ), 以含  $0.05\%$  三氟乙酸的水溶液 - 含  $0.05\%$  三氟乙酸的乙腈溶液 ( $72:28$ ) 为流动相, 流速  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 检测波长  $260 \text{ nm}$ , 柱温  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , 进样量  $5 \mu\text{L}$ , 洗脱时间  $30 \text{ min}$ 。

#### 5 酶浓度对阿霉素释放的影响

DNA 四面体与阿霉素结合纯化后, 得到如图 1 的结构<sup>[14]</sup>。为了确定 DNA 四面体上结合阿霉素的浓度, 采用不同的酶解浓度, 对 DNA 四面体的酶解效率及阿霉素的释放情况进行考察。

准确吸取 5 份  $100 \mu\text{L}$  纯化反应液, 分别加入  $0.1$ 、 $0.2$ 、 $0.3$ 、 $0.4$ 、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 DNase I 溶液 (以 pH 7.4 的 PBS 缓冲液稀释  $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  DNase I 得到) 各  $20 \mu\text{L}$ ,  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  酶解  $30 \text{ min}$ 。酶解完毕后, 加入  $900 \mu\text{L}$  的甲醇终止反应,  $0.45 \mu\text{m}$  微孔滤膜过滤后进行 RP-HPLC 检测分析。结果在研究的 5 个质量浓度 ( $0.1$ 、 $0.2$ 、 $0.3$ 、 $0.4$ 、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 的 DNase I 溶液 (DNA 裂解酶) 中,  $0.3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 DNase I 溶液在  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  酶解  $30 \text{ min}$  的条件下酶解效果最佳, 阿霉素的释放量达到  $131.3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。故选择  $0.3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 DNase I 溶液用于酶解载药阿霉素的 DNA 四面体。

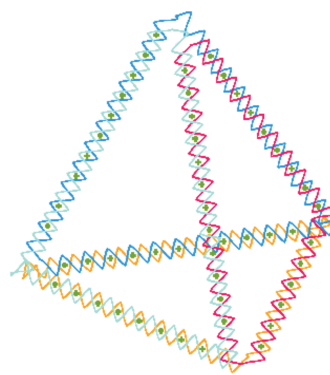


图 1 DNA 四面体载药阿霉素结构

Fig. 1 The structure of DNA tetrahedron loaded with doxorubicin

#### 6 酶解时间对阿霉素释放的影响

为确定酶解时间对阿霉素释放浓度的影响, 采用不同的酶解时间, 对 DNase I 溶液酶解 DNA 四面体的效率及阿霉素的释放情况进行考察。

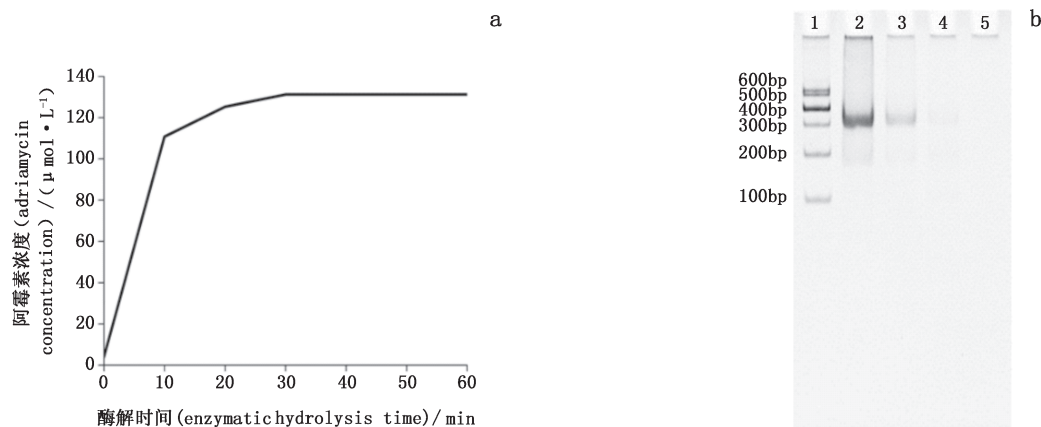
准确吸取  $100 \mu\text{L}$  纯化反应液 7 份, 分别加入  $0.3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  DNase I 溶液  $20 \mu\text{L}$ , 分别于  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  酶解  $0$ 、 $10$ 、 $20$ 、 $30$ 、 $40$ 、 $50$ 、 $60 \text{ min}$ 。酶解完毕后, 加入  $900 \mu\text{L}$  的甲醇终止反应,  $0.45 \mu\text{m}$  微孔滤膜过滤后进行 RP-HPLC 检测分析。结果如图 2-a 所示, 当酶质量浓度为  $0.3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 酶解  $30 \text{ min}$  时, 阿霉素的释放量达到最大值  $131.3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 同时也达到最大的酶解效率。在相应的核酸凝胶电泳图 (图 2-b) 中, 可以看到初始制备的较高纯度的 DNA 四面体完整条带, 并随着酶解时间的延长, DNA 四面体的条带变弱, 含量也相应减少。30 min 后, DNA 四面体条带消失, 表明其完全被 DNase I 溶液酶解掉。故此, 选择  $30 \text{ min}$  为最优的酶解时间。

#### 7 方法学考察

**7.1 线性关系考察及检测下限测定** 以去离子水将阿霉素标准母液 ( $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 稀释成  $150$ 、 $100$ 、 $90$ 、 $80$ 、 $70$ 、 $60$ 、 $50$ 、 $40$ 、 $30$ 、 $20$ 、 $10$ 、 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的系列标准溶液各  $100 \mu\text{L}$ , 进行高效液相色谱分析, 每个浓度重复进样 5 次。以峰面积的平均值  $Y$  对阿霉素的浓度  $X (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$  进行线性回归, 得到阿霉素的回归方程:

$$Y = 0.0796X - 0.0257 \quad r = 0.9995 \quad (n = 6)$$

线性范围为  $5 \sim 150 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。当信噪比为 4 时, 计算得阿霉素的检测下限为  $0.19 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。



a. DNase I 对 DNA 四面体酶解的影响 (the influence of DNase I on the digestion time of DNA tetrahedron)

b. DNase I 对 DNA 四面体酶解的电泳图 (electrophoretic analysis of the DNA tetrahedron after treatment with DNase I) 第 1 道 (Lane 1): Marker; 第 2 道 (Lane 2): DNA 四面体 (DNA tetrahedron); 第 3 道 (Lane 3): 酶解 10 min (enzymolysis for 10 min); 第 4 道 (Lane 4): 酶解 20 min (enzymolysis for 20 min); 第 5 道 (Lane 5): 酶解 30 min (enzymolysis for 30 min)

图 2 酶解时间对阿霉素释放的影响

Fig. 2 Effects of enzymatic hydrolysis on the release of doxorubicin

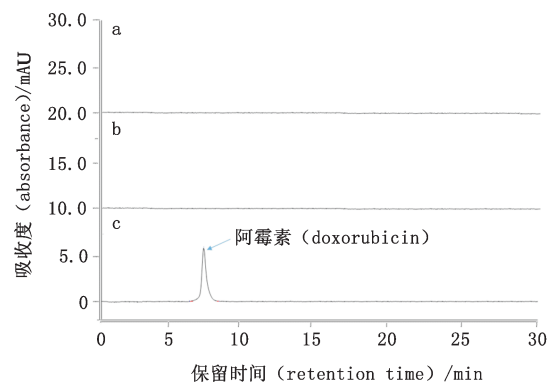
**7.2 回收率与精密度试验** 取 DNA 四面体 ( $3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 适量, 加不同浓度的阿霉素标准液, 震荡混合均匀, 得到浓度分别为  $90$ 、 $60$ 、 $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的反应液样品各 5 份, 按照“3”项下方法, 自“避光、室温反应 12 h”起进行操作, 制得所需溶液进行高效液相色谱测定, 结果显示阿霉素的平均回收率为  $97.6\% \sim 104.2\%$ , RSD 为  $0.8\% \sim 1.3\%$ 。

取  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  阿霉素标准溶液, 连续进样测定 6 次, 记录色谱图。结果阿霉素峰面积的 RSD 为  $0.23\%$ , 表明色谱系统的精密度良好。

## 8 四面体结合阿霉素的测定

按照“3”项方法, 制备 3 批次 DNA 四面体与阿霉素的反应液样品, 并进行纯化, 制得纯化反应液。准确吸取各批次的纯化反应液, 分别加入  $0.3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  DNase I 溶液  $20 \mu\text{L}$ , 分别于  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  酶解 30 min。酶解完毕后, 加入  $900 \mu\text{L}$  的甲醇终止反应, 经  $0.45 \mu\text{m}$  微孔滤膜过滤后进行高效液相色谱检测分析。每个溶液重复进样 3 次。

结果如图 3 所示, 以 DNase I 溶液 (图 3-a) 和 DNA 四面体空载体 (图 3-b) 为对照, 成功地在  $260 \text{ nm}$  处检测到 DNA 四面体中释放的阿霉素的出峰情况 (图 3-c)。该液相色谱图显示阿霉素出峰的保留时间为  $7.4 \text{ min}$ , 峰形良好, 无杂质峰干扰, 并且 DNase I 溶液与 DNA 四面体空载体对本方法中阿霉素的测定没有任何干扰。故此, 本文色谱方法适用于 DNA 四面体载药阿霉素的定性定量检测。



a. DNase I + 甲醇 (DNase I and methanol) b. DNA 四面体 + 甲醇 (DNA tetrahedron and methanol) c. DNA 四面体 + DNase I + 甲醇 (DNA tetrahedron, DNase I and methanol)

图 3 DNA 四面体释放阿霉素的液相色谱图

Fig. 3 Chromatograms of doxorubicin released by DNA tetrahedron

3 批反应液样品中阿霉素的平均含量  $\pm$  SD 分别为  $(131.6 \pm 0.90) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $(131.4 \pm 1.41) \mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $(132.1 \pm 1.18) \mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 见表 2。

## 9 结论

试验中对 3 种不同比例的流动相体系进行了优化。结果显示, 流动相体系中水和乙腈 (均含三氟乙酸  $0.05\%$ ) 的比例为  $50:50$  或  $85:15$  时目标峰杂乱, 峰形有明显拖尾, 对称性差; 而当水和乙腈的比例为  $72:28$  时, 峰形呈高斯对称, 且半峰宽较窄, 无明显拖尾。故选用水和乙腈 (均含三氟乙酸  $0.05\%$ ) 的比例为  $72:28$  的流动相进行液相色谱分析。

表 2 四面体中阿霉素的含量

Tab. 2 The contents of doxorubicin in DNA tetrahedron

样品编号 (sample No.)	测量值 (detected)/ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	平均值 (average)/ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	RSD/%
1	132.5	131.6	0.68
	131.5		
	130.7		
2	130.1	131.4	1.1
	131.2		
	132.9		
3	133.1	132.1	0.89
	130.8		
	132.4		

本研究通过优化流动相比例、考察 DNase I 脱氧核糖核酸酶酶解浓度及酶解时间对 DNA 四面体载体释放载药的阿霉素的影响,建立了反相高效液相色谱对 DNA 四面体运输载体中阿霉素含量测定的分析方法。该方法提高了 DNA 四面体中阿霉素含量检测的准确性,同时也避免了 DNA 四面体残留对实验结果的干扰,适用于 DNA 纳米运输载体中阿霉素的分离与定量分析。

## 参考文献

- [1] DENG B, WANG Z, SONG J, *et al.* Analysis of doxorubicin uptake in single human leukemia K562 cells using capillary electrophoresis coupled with laser-induced fluorescence detection [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 401(7): 21432
- [2] 陈召红, 刘饭阳, 魏亚超. 微柱离心高效液相色谱法测定盐酸阿霉素磁性热敏脂质体包封率 [J]. *解放军药学报*, 2010, 26(6): 496
- CHEN ZH, LIU GY, WEI YC. Determination of entrapment efficiency of doxorubicin magnetic thermosensitive liposomes by mini-column centrifugation-reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. *Pharm J Chin PLA*, 2010, 26(6): 496
- [3] MULTANI P, WHITE CA, GRILLO-LÓPEZ A. Non-Hodgkins lymphoma: review of conventional treatments [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2001, 2(4): 279
- [4] WALSH AS, YIN H, ERBEN CM, *et al.* DNA cage delivery to mammalian cells [J]. *Acs Nano*, 2011, 5(7): 5427
- [5] CHAROENPHOL P, BERMUDEZ H. Aptamer-targeted DNA nanostructures for therapeutic delivery [J]. *Mol Pharm*, 2014, 11(5): 1721
- [6] PEI H, LU N, WEN YL, *et al.* A DNA nanostructure-based biomolecular probe carrier platform for electrochemical biosensing [J]. *Adv Mater*, 2010, 22(42): 4754
- [7] TAY CY, YUAN L, LEONG DT. Nature-inspired DNA nanosensor for real-time in situ detection of mRNA in living cells [J]. *ACS Nano*, 2015, 9(5): 5609
- [8] LI ZH, ZHAO B, WANG DF, *et al.* DNA nanostructure-based universal microarray platform for high-efficiency multiplex bioanalysis in biofluids [J]. *Acs Appl Mater Interfaces*, 2014, 6(20): 17944
- [9] GE ZL, LIN MH, WANG P, *et al.* Hybridization chain reaction amplification of MicroRNA detection with a tetrahedral DNA nanostructure-based electrochemical biosensor [J]. *Anal Chem*, 2014, 86(4): 2124
- [10] KIM KR, LEE YD, LEE T, *et al.* Sentinel lymph node imaging by a fluorescently labeled DNA tetrahedron [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(21): 5226
- [11] LI J, PEI H, ZHU B, *et al.* Self-assembled multivalent DNA nanostructures for noninvasive intracellular delivery of immunostimulatory CpG oligonucleotides [J]. *Acs Nano*, 2011, 5(11): 8783
- [12] KIM KR, KIM DR, LEE T, *et al.* Drug delivery by a self-assembled DNA tetrahedron for overcoming drug resistance in breast cancer cells [J]. *Chem Commun*, 2013, 49(20): 2010
- [13] LEE H, LYTTONJEAN AK, CHEN Y, *et al.* Molecularly self-assembled nucleic acid nanoparticles for targeted *in vivo* siRNA delivery [J]. *Nat Nanotechnol*, 2012, 7(6): 389
- [14] ZHANG YM, JIANG SX, ZHANG DD, *et al.* DNA-affibody nanoparticles for inhibiting breast cancer cells overexpressing HER2 [J]. *Chem Commun*, 2017, 53(3): 573
- [15] 吴李娜. 适体共轭的 DNA 四面体用于乳腺癌细胞的检测及阿霉素靶向输送初步研究 [D]. 济南: 山东大学, 2015
- WU LN. Aptamer-conjugated DNA Tetrahedron for the Detection of Breast Cancer and Target Delivery of Doxorubicin [D]. Jinan: Shandong University, 2015
- [16] GOODMAN RP, SCHAAP IAT, TARDIN CF, *et al.* Rapid chiral assembly of rigid DNA building blocks for molecular nanofabrication [J]. *Science*, 2005, 310(5754): 1661
- [17] GOODMAN RP, BERRY RM, TURBERFIELD AJ. The single-step synthesis of a DNA tetrahedron [J]. *Chem Commun*, 2004, 12(12): 1372

(本文于 2018 年 6 月 6 日修改回)