

· 成果简介 ·

核酸适配体靶向药物的“导航仪”研究

邱丽萍 易娅莎 符婷 张晓兵 谭蔚泓*

(湖南大学化学生物传感与计量学国家重点实验室, 湖南大学化学化工学院, 湖南大学生物学院; 长沙 410082)

[关键词] 核酸适配体, 靶向药物, 肿瘤细胞, 特异性识别, DNA

靶向药物指的是在细胞分子水平上能够识别肿瘤组织, 从而使肿瘤细胞特异性死亡, 而不会波及及其他正常细胞的智能型药物, 因此靶向药物又称为“生物导弹”^[1]。为了精准地定位肿瘤细胞, 靶向药物上往往需要配备能够特定地识别肿瘤位点的“导航仪”, 而“导航仪”的研发很大程度上决定了靶向药物的研究进展^[2]。核酸适配体(Aptamer)是一类通过体外筛选技术——配体指数级富集系统进化(Systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)筛选出来的, 能够特异性识别目标物的寡核苷酸序列^[3]。核酸适配体的目标物具有多样性, 可以是小分子, 多肽, 也可以是各种蛋白质, 甚至是整个细胞、病毒或细菌。与蛋白抗体相比, 核酸适配体不仅能够选择性地结合目标物, 而且具有合成简单、分子量低、化学稳定性高、毒性低、免疫原性低、程序可控、便于修饰上多种功能基团或材料等优点, 使之在生物医学领域受到了广泛的关注, 多种基于核酸适配体的靶向药物被相继研发^[4]。

1 核酸适配体靶向纳米药物

纳米药物是指以纳米材料为载体, 通过一定的方式与分子药物结合起来的纳米级药物^[5]。与常规分子药物相比, 纳米药物具有载药量大、可缓慢释放药物、有利于提高药物稳定性、改变药物输送途径等优点。核酸适配体由于具有修饰便利的优点, 可以通过标记上特定的功能基团组装到纳米材料上, 从而实现纳米药物对肿瘤组织的靶向输送。

湖南大学化学生物传感与计量学国家重点实验室最近研发出 DNA 纳米火车, 该纳米火车由多条 DNA 短单链杂交组成, 三维结构形似火车^[6]。“火车头”部分由 DNA 核酸适配体构成, 该部分可特异性地识别并结合癌细胞; 剩余的 DNA 结构则构成

了高容量的一节一节的“车厢”, 用于装载药物或其他生物试剂。与无机纳米颗粒靶向给药系统相比, 该系统制备成本相对较低, 识别肿瘤细胞的特异性非常高, 药物负载量更大, 且细胞毒性小。实验结果表明^[6], 在体外和模型小鼠体内, DNA 纳米火车只特异识别目标癌细胞并结合在细胞膜上, 随后进入细胞内并释放药物, 进而杀死癌细胞。利用药物或者装载的生物成像试剂的荧光成像, 还可以对整个过程中进行实时监测。进一步研究发现^[6], 与游离的抗癌药物一样, 装载在纳米火车上的抗癌药物可有效抑制小鼠肿瘤生长, 但其对小鼠的毒副作用比游离药物要小很多。此外, 可针对不同类型的癌症细胞的特有生物标志物, 选择不同类型的 DNA 核酸适配体, 开发出用于靶向不同类型癌症的纳米火车。

除此之外, 基于滚坏扩增反应, 相关课题组还提出了一种简易的方法用于制备核酸适配体共轭的具有 FRET (荧光能量共振转移) 功能的纳米花(NFs)^[7], 实现了靶细胞的多元成像和靶向药物的追踪输送。由于 DNA 骨架上共价连接了 3 个可进行 FRET 的荧光染料, 该 NFs 在单一波长的光激发下可发射出多种荧光信号。与常规的 DNA 纳米组装结构相比, NFs 的组装过程无需模板序列, 避免了 DNA 构建单元设计上的复杂性。除此之外, NFs 具有形貌尺寸均一、荧光信号强度高、光稳定性好、可实现药物分子的追踪输送等优点, 有望为细胞的多元成像、药物筛选、疾病治疗等领域提供一个强有力的纳米工具。

2 核酸适配体靶向小分子药物

分子药物作为最常见的药物类型, 将其与核酸适配体结合制备的靶向分子药物具有很广阔的应用前景。相关课题组开发了一种用于靶向治疗的核酸

* Email: tan@hnu.edu.cn

本文于 2014 年 10 月 24 日收到

载药系统,该系统通过将小分子药物修饰到核酸适配体上,制备了核酸适配体-抗癌药加合物^[8]。该加合物制备简单,稳定性高,而且保持了原核酸适配体对靶向癌细胞的识别特异性,能将药物靶向运输到癌细胞并在生理温度下逐渐释放,产生对靶向癌细胞的特异杀伤作用,减少副作用,提高了疗效。该系统的靶向治疗效果已在老鼠活体试验中得到了很好的验证。

为了进一步实现核酸适配体-抗癌药加合物的自动化和模块化制备,相关课题组设计和提出了一种通用的合成方法^[9]。首先设计和合成了一种可用于固相合成的药物模块,该模块为一种包含了抗癌药物分子和光切割连接体的亚磷酸胺化合物(ApDCs)。利用该药物模块,在DNA/RNA合成仪上实现了核酸适配体-抗癌药加合物的自动化合成。实验结果表明^[9],该方法可高效地实现多种抗癌分子药物与核酸适配体的加成反应。ApDCs不仅能够特异性地识别目标癌细胞,而且还可以实现药物分子的光控释放。

3 核酸适配体靶向免疫细胞

相对人工合成的药物试剂而言,天然的生物试剂由于生物相容性好、免疫原性低等优点而备受关注。相关课题组利用免疫细胞为活性生物药物,成功研制出一种细胞膜上的靶向配体用于专一性靶向细胞^[10]。研究证明这种非共价性的修饰简单,有效且对所修饰的细胞在短期时间内没有影响,通过核酸适配体与蛋白质的识别作用,可快速、专一定位地对多种细胞选择性组装。修饰核酸适配体免疫效应的细胞可通过MHC的无定形结构识别白血病细胞,因此靶向癌细胞并杀死细胞。利用CMV专一的CD8+CTL作为免疫效应细胞,Ramos细胞作为靶向细胞,第一次论证了,通过核酸适配体对细胞的专一性,T细胞可再一次直接杀死细胞^[10]。

4 小结

目前,核酸适配体靶向药物的研究和应用仍面临着挑战,需要在今后的工作中深入开展以下三方面工作:

(1)更深入地研究和评估核酸适配体靶向药物在动物活体内的作用机制和应用价值;

(2)不断筛选可特异性识别癌细胞并实现高效细胞内吞的功能型核酸适配体,以满足当今对核酸适配体靶向药物与日俱增的需求;

(3)不断寻找高效的肿瘤药物和核酸适配体修饰策略,进一步推动核酸适配体靶向药物的研究进展。

致谢 本研究得到国家自然科学基金创新研究群体项目“化学生物传感的分析化学基础研究”(批准号“21221003”)及国家自然科学基金重大科研仪器研制专项“多波长荧光互相关光谱仪(FCCS)研制”(批准号“21327009”)的资助。

参 考 文 献

- [1] Arap W, Pasqualini R, Ruoslahti E. Cancer treatment by targeted drug delivery to tumor vasculature in a mouse model. *Science*, 1998, 279(5349): 377—380
- [2] Sudimack J, Lee R J. Targeted drug delivery via the folate receptor. *Advanced drug delivery reviews*, 2000, 41(2): 147—162
- [3] Shangguan D, Li Y, Tang Z, et al. Aptamers evolved from live cells as effective molecular probes for cancer study. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, 103(32): 11838—11843
- [4] Proske D, Blank M, Buhmann R, et al. Aptamers—basic research, drug development, and clinical applications. *Applied microbiology and biotechnology*, 2005, 69(4): 367—374
- [5] Ali I, Salim K, A Rather M, et al. Advances in nano drugs for cancer chemotherapy. *Current cancer drug targets*, 2011, 11(2): 135—146
- [6] Zhu G, Zheng J, Song E, et al. Self-assembled, Aptamer-tethered DNA Nanotrains for Targeted Transport of Molecular Drugs in Cancer Theranostics, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2013, 110, 7998—8003
- [7] Hu R, Zhang X, Zhao Z, et al. DNA Nanoflowers for Multiplexed Cellular Imaging and Traceable Targeted Drug Delivery, *Angewandte Chemie International Edition*, 2014, 53, 5821—5826
- [8] Zhu G, Cansiz S, You M, et al. Nuclease-resistant Synthetic Drug-DNA Adducts; Programmable Drug-DNA Conjugation for Targeted Anticancer Drug Delivery. *NPG Asia Materials*, 2014, Just accepted
- [9] Wang R, Zhu G, Mei L, et al. Automated Modular Synthesis of Aptamer-Drug Conjugates for Targeted Drug Delivery, *Journal of the American Chemical Society*, 2014, 136, 2731—2734
- [10] Xiong X, Liu H, Zhao Z, et al. DNA Aptamer-mediated Cell Targeting, *Angewandte Chemie International Edition*, 2013, 52, 1472—1476

Advances of Aptamer-based Targeted Drug

Qiu Liping Yi Yasha Fu Ting Zhang Xiaobing Tan Weihong

State Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, College of Chemistry and Chemical Engineering, College of Biology, Hunan University, Changsha, 410082, China

Key words Aptamer; Targeted drug; Cancer cell; Specific recognition; DNA