XXXX DOI:

DNA逻辑电路驱动肿瘤细胞精准成像的研究进展

郭欣林[1],胡孝林[1],邱晓沛[2],顾 玮[2],张 洪[1]
(1.重庆市医学科学院/重庆市人民医院医学检验科,重庆 401147;2.重庆大学医学院,重庆 400030)

【摘 要】肿瘤细胞成像在肿瘤早期诊断、治疗监测及预后评估中具有关键价值。然而,传统成像技术灵敏度和特异性不足,难以在复杂的肿瘤微环境中分辨出低丰度的生物标志物。DNA逻辑电路凭借其可精准编程、分子识别特异性强及信号放大能力突出等优势,成为肿瘤细胞成像领域的研究热点,其能够通过构建复杂的分子逻辑网络实现对肿瘤标志物的智能响应,但其在体内成像中的稳定性、递送效率以及与临床检测兼容性等方面仍存在诸多待解决问题。本文综述了酶驱动和熵驱动DNA逻辑电路在肿瘤细胞成像中的构建原理、技术策略及应用进展,旨在系统梳理其发展现状,剖析现存瓶颈,为推动DNA逻辑电路在肿瘤细胞成像领域的临床转化提供理论参考。

【关键词】肿瘤细胞;核酸扩增;分子成像;早期诊断
【中图分类号】R44 【文献标志码】A

Research progress on DNA logic circuit-driven precise imaging of tumor cells

Guo Xinlin[1], *Hu Xiaolin*[1], *Qiu Xiaopei*[2], *Gu Wei*[2], *Zhang Hong*[1]
(*1.Chongqing Academy of Medical Sciences/Department of Clinical Laboratory, Chongqing General Hospital;*
2.School of Medicine, Chongqing University)

【**Abstract**】Tumor cell imaging has key value in early tumor diagnosis, treatment monitoring, and prognosis evaluation. Conventional cell imaging techniques lack sufficient sensitivity and specificity to identify low-abundance biomarkers in the complex tumor microenvironment. DNA logic circuits have become a research hotspot in tumor cell imaging due to their advantages of precise programming, strong specificity in molecular recognition, and outstanding signal amplification ability. They can realize intelligent responses to tumor markers by constructing complex molecular logic networks. However, there are still many problems to be solved in terms of stability, delivery efficiency, and compatibility with clinical detection in *in vivo* imaging. This article reviews the construction principles, technical strategies, and application progress of enzyme-driven and entropy-driven DNA logic circuits in tumor cell imaging. It aims to systematically summarize the development of the technology, analyze the existing bottlenecks, and provide a theoretical reference for promoting the clinical transformation of DNA logic circuits in tumor cell imaging.

【**Key words**】tumor cell; nucleic acid amplification; molecular imaging; early diagnosis

肿瘤细胞成像在肿瘤早期诊断、疗效评估及个性化治疗中发挥着不可替代的作用,精准捕捉肿瘤细胞的分子特征和空间分布,是实现肿瘤精准医疗的关键环节。然而,传统成像技术受限于生物标志物识别特异性和信号放大效率,难以满足临床对肿瘤细胞高灵敏度、高特异性检测的需求[1]。DNA作为生命体遗传信息的核心载体,其碱基互补配对规则、序列可编程设计及分子自组装特性,为生物医学研究提供了创新性技术路径[2]。近年来,DNA纳米技术的突破推动了从生物分子识别到信号智能解析的全链条技术革新,在肿瘤细胞可视化领域展现出独特应用价值[3]。

其中,DNA逻辑计算系统作为纳米技术的前沿分支,通过酶促级联反应机制或熵驱动链置换原理,完成多元生物信号的逻辑处理与放大传导[4]。该系统凭借高度可编程性,能够将复杂的生物输入信号转化为可检测的输出信号,在肿瘤细胞成像中展现出显著优势。针对肿瘤靶向成像需求,集成核酸适配体、G-四链体等功能模块的DNA探针,可通过特异性识别肿瘤特征性膜蛋白或胞内核酸分子(如mRNA、miRNA),触发可控性释放荧光信号,实现肿瘤细胞高分辨率可视化示踪[5-6]。尽管DNA逻辑计算系统在肿瘤细胞成像中已取得诸多进展,但其在体内环境中的稳定性、递送效率及临床成像的兼容性等问题仍需深入研究。

作者介绍:郭欣林,Email:2497903554@qq.com,
研究方向:DNA纳米颗粒用于肿瘤的检测研究。
通信作者:张 洪,Email:hongz@cqu.edu.cn。
基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(编号:82202633)。

基于此，本综述系统梳理了DNA逻辑计算系统在肿瘤细胞成像中的设计原理、构建策略及应用成果，旨在剖析当前技术瓶颈，探讨未来发展方向，为推动该技术向临床转化提供理论参考与技术借鉴。

1 DNA逻辑电路概述

逻辑计算概念可追溯至莱布尼茨的数理哲学。1819年Babbage设计差分机，可进行多项式运算并打印结果，但受限于单一加法逻辑及复杂结构[7]。尽管电磁继电器简化了逻辑运算流程，但受限于传统材料的物理极限、摩尔定律约束及能耗散热等问题。DNA凭借高度序列可编程性和优异生物相容性，被视为突破传统逻辑计算瓶颈的理想介质。近年来，研究者开发了以DNA及其他生物分子为计算元件的逻辑器件[8-10]。1994年，Allogman L等[11]首次用DNA求解哈密顿路径问题，奠定了DNA计算的基础。2002年，Stefanovic D等[12]利用荧光-淬灭标记的DNA链构建AND、NOT与XOR逻辑门，推动了DNA逻辑运算发展。DNA逻辑电路在生物传感和分子运算中起着关键作用，是DNA计算的核心组成部分[13]。其通过酶催化或熵驱动的级联反应来调控纳米结构，并将结果转化为荧光、电化学等可读信号[14-15]。基于布尔逻辑体系（YES、AND、OR等），解析输入信号，实现生物标志物的可编程检测[16]。

通过整合DNA基序、DNA纳米材料等功能模块，已构建从基本逻辑门到全加法器的复杂设备，可高灵敏、高选择性响应多类生物信号[17-19]。依据能量驱动机制不同，DNA逻辑电路分为酶催化驱动与熵自发驱动两类，并可在逻辑门架构基础上负载多功能材料，拓展至细胞成像、临床诊断以及治疗等多种生物医学应用（图1）。

2 DNA逻辑电路类型

2.1 酶驱动DNA逻辑电路

依托于生物酶的催化特性，DNA逻辑电路可实现信息处理和计算。按照催化酶的作用类型，可分为：限制性内切酶驱动、DNA聚合酶驱动和DNA酶（DNAzyme）驱动。其中，限制性内切酶可对DNA特定位点精确切割并产生小片段[21]。2017年，Zhang C等[22]基于3种内切酶，通过动态调控Toehold介导链置换反应（Toehold-mediate strand displacement，TMSD），构建了YES、AND、NOT逻辑电路，显著降低信号串扰风险（图2A），但结构复杂、成本高。为简化电路，该团队进一步利用高兼容性的两种内切酶[23]，通过序列重编程构建了XOR、AND和INHIBIT逻辑门，并实现了半加法器和半减法器的运算（图2B）。并进一步基于单酶切割体系构建YES、AND、INHIBIT逻辑电路，通过调控FokI识别结构域启动其活性以调节TMSD，大幅缩短反应时间，并通过三路串联实现多路复用（图2C）[24]。为应对反应中底物消耗后出现反应速率降低的这一问题[25]，Zhang C等[26]利用切刻内切酶辅助的反馈调节机制，构建了双层DNA逻辑电路。该电路将废弃双链DNA回收为活性组分，显著提升持续性与利用率（图2D）。为提升电路的响应速度与逻辑计算能力，Wang C等[27]通过构建AND-OR串联结构以及FAN-IN门，成功构建了具有纳摩尔灵敏度的核酸检测逻辑电路，响应时间仅为6 min（图2E）。

DNA聚合酶在模板指导下进行碱基互补延伸。基于此，Orbach R等[28]设计了一种集成DNA聚合酶、DNA内切酶与核酸支架的多酶协同DNA分子机器，并构建具有Mg^{2+}依赖性的逻辑门系统（包括OR、AND和Controlled-AND门）用于核酸标志物检测（图3A）。该系统利用靶标核酸的输入触发聚合酶介导的链延伸和内切酶识别切割，利用DNAzyme切割底物生成荧光信号，从而实现信号放大。尽管该策略在功能集成上具有优势，但多酶协同导致结构复杂，限制了推广。因此，如何在简化组分的同时保持高效、可编程的逻辑运算能力，已成为该领域的研究重点。为此，Reif J等[29]提出基于单链DNA识别与TMSD的聚合酶驱动逻辑电路，降低非特异性杂交与泄漏风险，提高运算速度，并实现四位输入数字平方根计算（图3B、C）。在此基础上，Zhou X等[30]利用聚合酶介导TMSD构建算术逻辑单元，支持级联与并行计算，完成全加器、多路复用器等逻辑模块组装，并通过单轨DNA结构设计提升集成度，为大规模、高度集成的DNA计算平台构建提供新路径（图3D）。

DNAzyme具备催化DNA磷酸化、RNA连接及DNA剪切

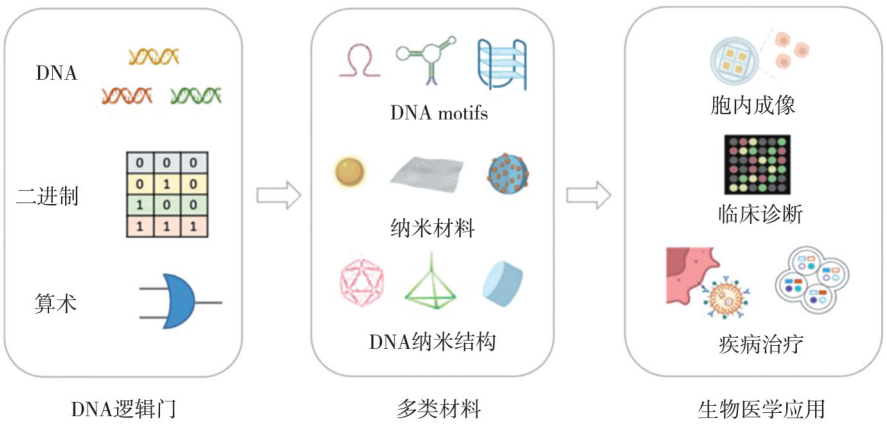
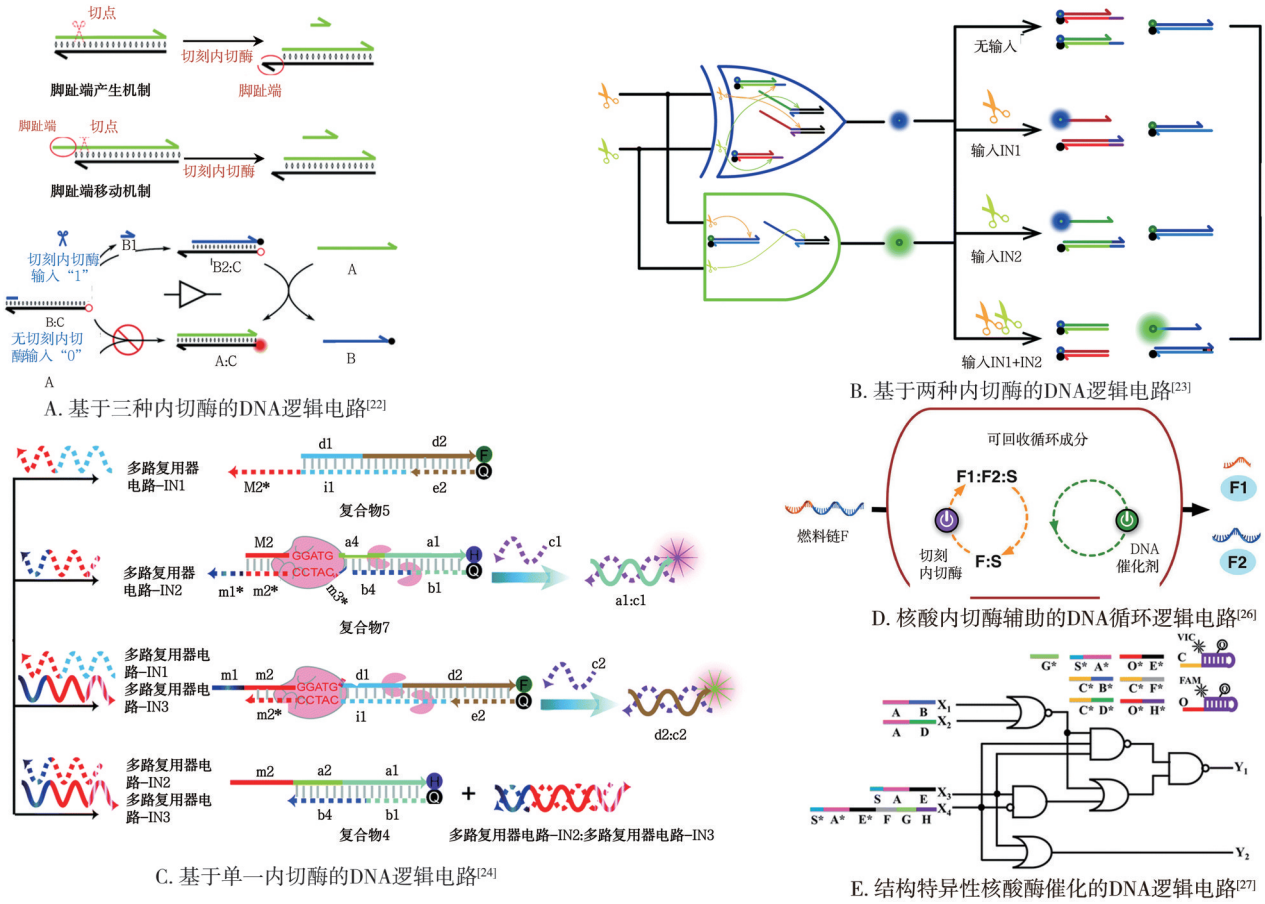


图1 DNA逻辑门的生物医学应用[20]



A. 基于三种内切酶的DNA逻辑电路[22]

B. 基于两种内切酶的DNA逻辑电路[23]

C. 基于单一内切酶的DNA逻辑电路[24]

D. 核酸内切酶辅助的DNA循环逻辑电路[26]

E. 结构特异性核酸酶催化的DNA逻辑电路[27]

图2 限制性内切酶驱动的DNA逻辑电路

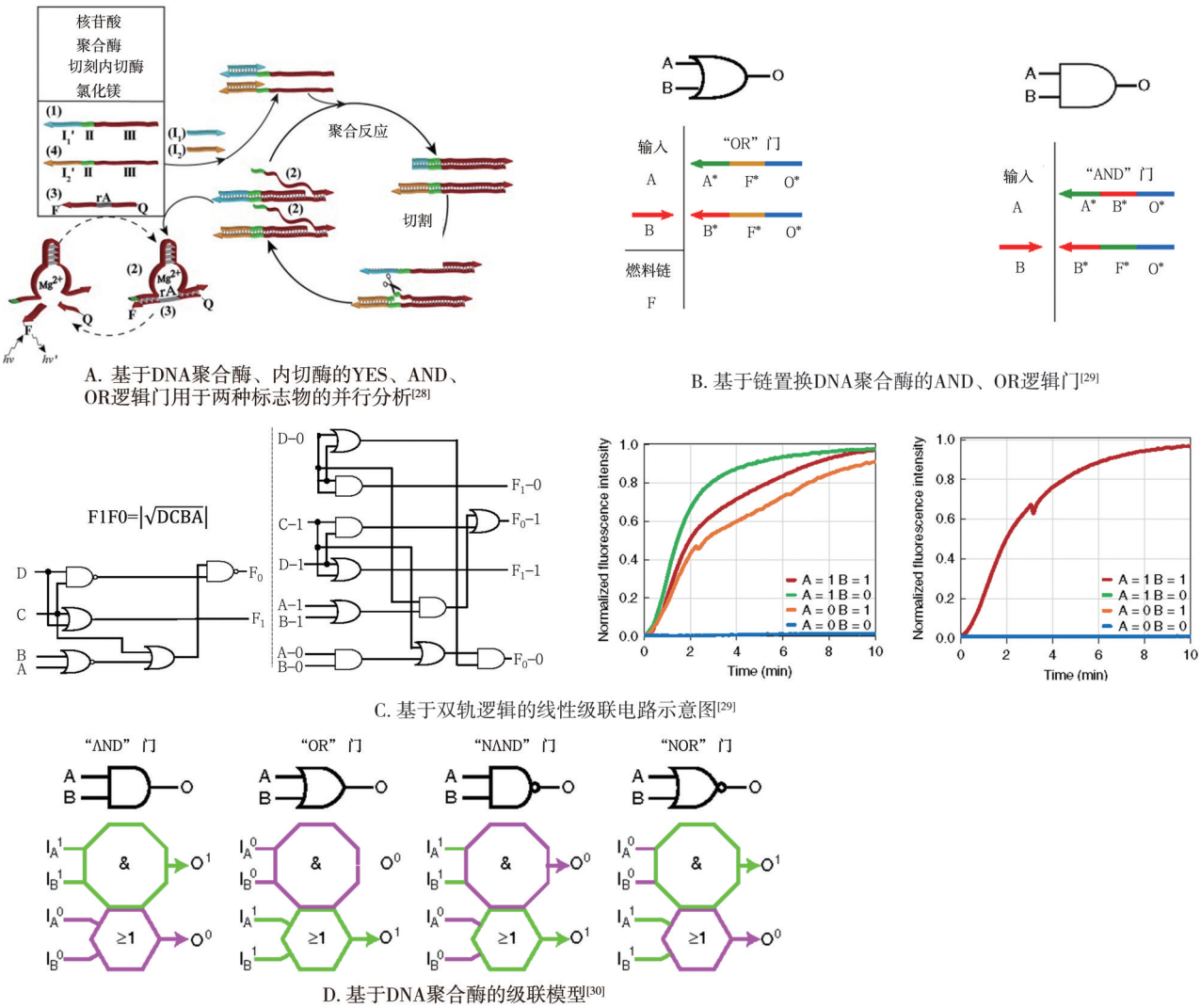
等功能[31-32]，近年来被广泛应用于生物标志物检测与分子计算。2002年，Stefanovic D等[12]基于DNAzyme变构调控特性结合分子信标和锤头型脱氧核酶，构建模块化逻辑电路，实现NOT、AND、XOR运算（图4A）。该系统以寡核苷酸为输入/输出并集成荧光读出，具备良好可编程性。基于该研究结果，该团队进一步使用3种DNAzyme和2个寡核苷酸输入构建了半加法器[33]。其中XOR门输出求和，AND门输出进位，形成首个双输出DNAzyme网络，可在同一溶液中并行运作且无串扰，为多输出全加法器奠定基础（图4B）。2006年，该团队进一步发挥DNAzyme的催化特性与三输入逻辑门体系的优势，开发了由7种脱氧核酶逻辑电路组成的单相全加法器系统[34]。以3种核酸序列作为输入信号，分别触发2个独立的荧光切割反应进行完整的分子加法运算，为首个在单一反应体系内的酶促全加法器，突破了传统分子逻辑系统集成度低的瓶颈（图4C）。随着DNA分子计算中逻辑电路的重要性逐渐突出，其保存也更为重要[35]。近年来，Zhang C等[36]结合金纳米颗粒与DNAzyme提出可编程DNA数据访问策略，利用YES、AND、OR门实现DNA数据池中特定信息的条件性读取，并借助AuNP“文件夹”构建物-数据融合管理框架（图4D）。DNAzyme电路兼具高度可编程性与功能多样性，为复杂信息处理与控制奠定基础，并在DNA存储、加密通信及动态数据管理等前沿领域展现广阔应用前景。

综上，3种不同的酶驱动体系（聚合酶、内切酶、DNAzyme）经过持续优化，已在生物传感、逻辑运算等领域展示出多样化应用。通过提升酶的稳定性、简化反应体系、提高体系在体内环境下的适应性与生物安全性，酶驱动DNA逻辑电路在肿瘤早期诊断、靶向治疗及个体化医疗等领域具有广阔的临床转化潜力。尽管酶驱动DNA逻辑电路虽具生物信号响应优势，但应用中存在显著缺陷：酶对温度、pH等环境因素敏感，在体内易失活导致电路功能失效；部分酶的免疫原性可引发机体免疫反应，带来安全隐患；酶的基因工程制备与纯化成本高、工艺复杂，制约其大规模应用与临床转化。

2.2 熵驱动DNA逻辑电路

熵驱动DNA逻辑电路依赖分子间自由能差与构象熵变化，无需外部能量即可通过TMSD实现自发链置换与信息传递。

2000年，Neumann JL等[37]构建三链镊子DNA机器，以“燃料”链驱动结构开关，首次验证TMSD可行性。随着研究深入，TMSD被广泛应用于生物检测与信息处理等领域，但其反应速率仍是限制其应用的主要瓶颈。为此，Yurke B等[38]系统研究了Toehold长度对反应动力学的影响，发现6 nt长的触发序列可将32 nt DNA链置换体系的反应速率常数提升6倍。为了进一步探索分子动力学的机制，Winfree E等[39]建立三步链置换动力学模型，实现85种反应的预测



A. 基于DNA聚合酶、内切酶的YES、AND、OR逻辑门用于两种标志物的并行分析[28]

B. 基于链置换DNA聚合酶的AND、OR逻辑门[29]

C. 基于双轨逻辑的线性级联电路示意图[29]

D. 基于DNA聚合酶的级联模型[30]

图3 DNA聚合酶驱动的DNA逻辑电路

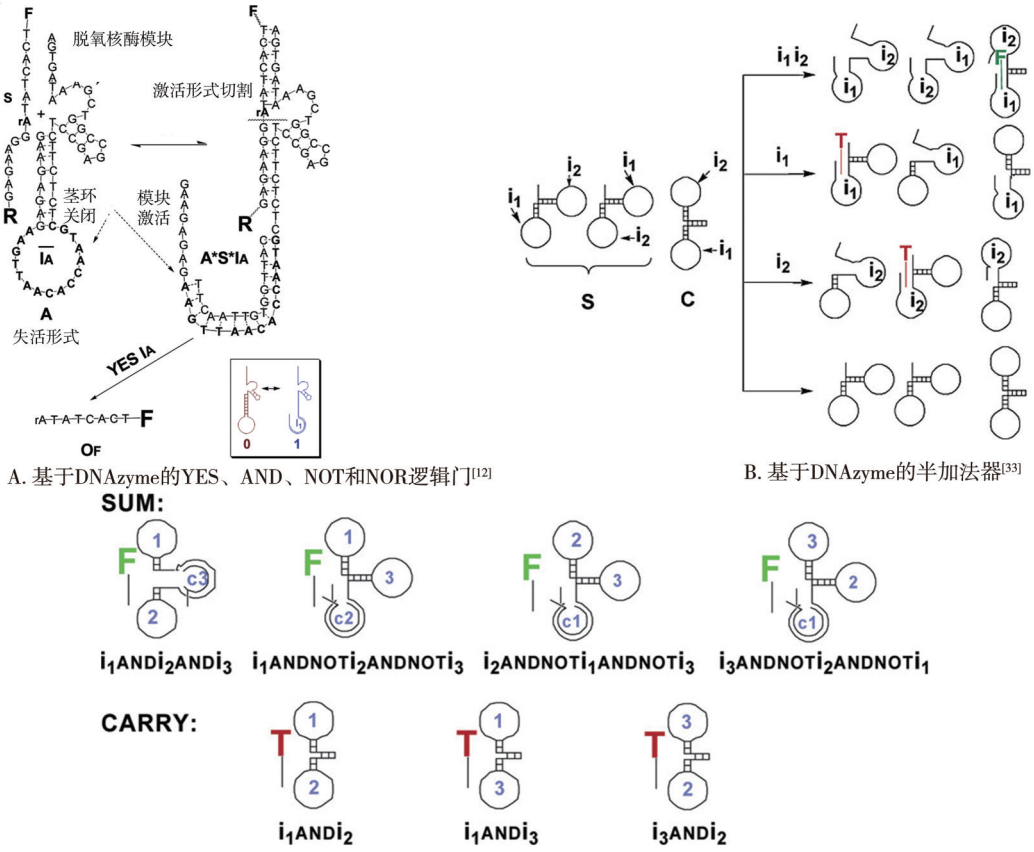
(图5A)。为满足生物系统中更复杂的信息处理需求,Seelig G等[40]基于TMSD构建AND、OR、NOT分子电路,引入信号恢复、放大、反馈与级联机制,提升特异性(图5B)。随后,Xie G等[41]通过串联与平行TMSD的新机制,克服二级结构的阻碍,调控反应速率跨度达3~5个数量级,拓展了链置换反应的动态调控范围(图5C)。

尽管熵驱动DNA逻辑电路已取得显著进展,但仍受限于单向、热力学驱动的机制,限制了输入分子的循环利用。针对该问题,Wu T等[19]利用耗散DNA纳米技术实现输入分子回收与多次翻转链置换(图5D),打破传统链置换的不可逆性。进一步,构建了两类时间逻辑门,实现了基于输入时间差异的自回归信息存储,为构建具有时序特征的多功能逻辑系统奠定了基础。当前多数DNA生物传感器仍局限于单一靶点识别,复杂逻辑电路在多靶点整合分析中的应用较少。对此,Gao F等[42]设计基于金纳米双金字塔的"海葵状"DNA纳米机器,整合YES-AND-YES逻辑模块,实现多模态输入并行处理与二进制输出,用于肿瘤细胞识别(图5E)。目前的链置换系统只能将Toehold位点作为反应起点,影响了逻辑电路的可拓展性。为此,Zhang Q等[43]以构象熵驱动开发无Toehold链置换,通过结构约束触发反应,实现布尔运算、级联扩增及平方根计算,在复杂生物环境中,该策略展现出优异的抗干扰能力和稳定性,为活细胞成像与体内生物传感提供了新型平台(图5F)。

综上所述,熵驱动DNA逻辑系统在动力学调控、多功能集成及环境适应性方面不断进步,推动了分子计算升级,并具备在体内诊疗、智能材料和生物信息处理中的应用潜力。然而,该体系仍受制于反应依赖特定浓度与环境、在复杂体系中难精确控制;信号放大效率和低丰度标志物检测灵敏度较酶驱动方式偏低;易受核酸酶降解影响,稳定性有限;反应速率受序列差异影响大,多信号处理易串扰与延迟;构建与优化需大量试错与精细化设计。

3 DNA逻辑电路在肿瘤细胞标志物膜蛋白中的应用

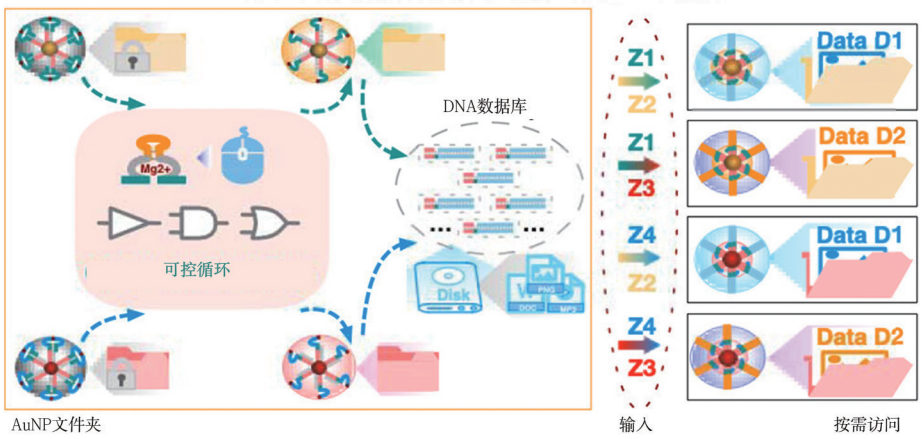
膜蛋白在生命活动中发挥着关键作用,广泛参与信号传



A. 基于DNAzyme的YES、AND、NOT和NOR逻辑门[12]

B. 基于DNAzyme的半加法器[33]

C. 基于DNAzyme的全加法器[34]



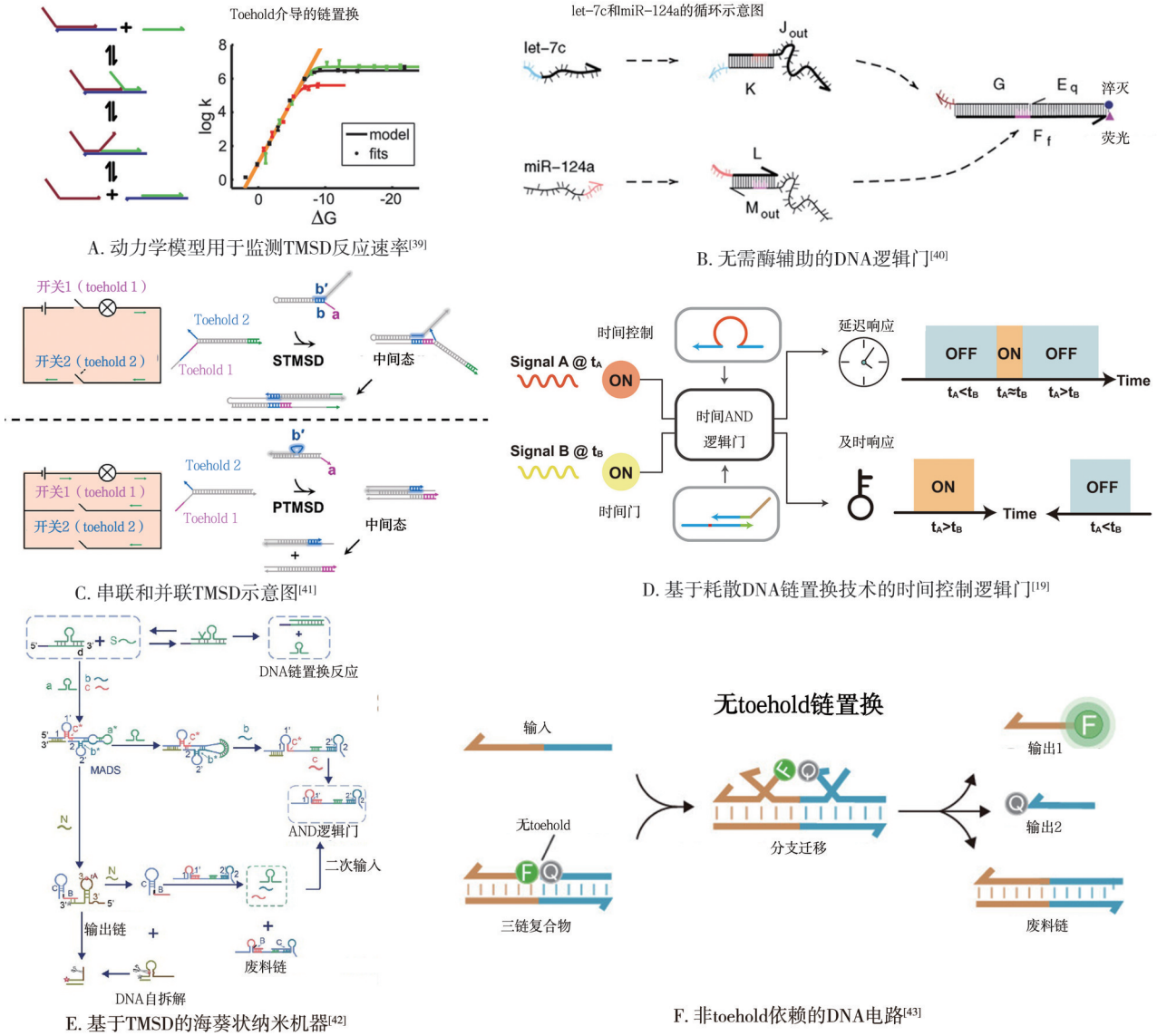
用于可编程数据访问的分子电路控制的AuNP文件夹

D. 基于DNAzyme逻辑电路的DNA储存和访问策略[36]

图4 DNAzyme驱动的DNA逻辑电路

导、物质转运、免疫识别等过程，是细胞与外界环境交互的核心介质。其表达水平和分布状态的异常与多种疾病的发生、发展密切相关。尤其是肿瘤细胞的蛋白标志物，其特异性的异常表达或结构改变，不仅是肿瘤细胞区别于正常细胞的重要特征，更是肿瘤早期发生、侵袭转移以及耐药性产生的重要分子基础[44-45]。精准检测肿瘤细胞标志物膜蛋白，能够为肿瘤的精准医疗提供关键分子靶点与决策依据。因此，膜蛋白的高分辨率成像对于基础生物学研究与临床疾病诊断具有重要价值[46]。目前广泛应用的荧光抗体标记技术虽具有良好的特异性，但其存在制备流程繁琐（需固定、通透等多步骤）、实时动态监测能力有限，以及信号放大机制缺失等问题，限制了其在超分辨成像中的进一步应用。

适配体作为体外筛选获得的单链核酸分子，因其体积小、结构灵活、化学稳定性高等优势，在细胞成像中展现出独特的潜力[47]。Tan W 等[48]利用多个 DNA 适配体对酪氨酸激酶等蛋白的高亲和识别能力，结合邻近杂交介导的杂交链式反应进行信号整合与放大，仅需单个步骤即可实现对多个标志物的 AND 逻辑识别与癌细胞亚型的精准鉴定与分离



A. 动力学模型用于监测TMSD反应速率[39]

B. 无需酶辅助的DNA逻辑门[40]

C. 串联和并联TMSD示意图[41]

D. 基于耗散DNA链置换技术的时间控制逻辑门[19]

E. 基于TMSD的海葵状纳米机器[42]

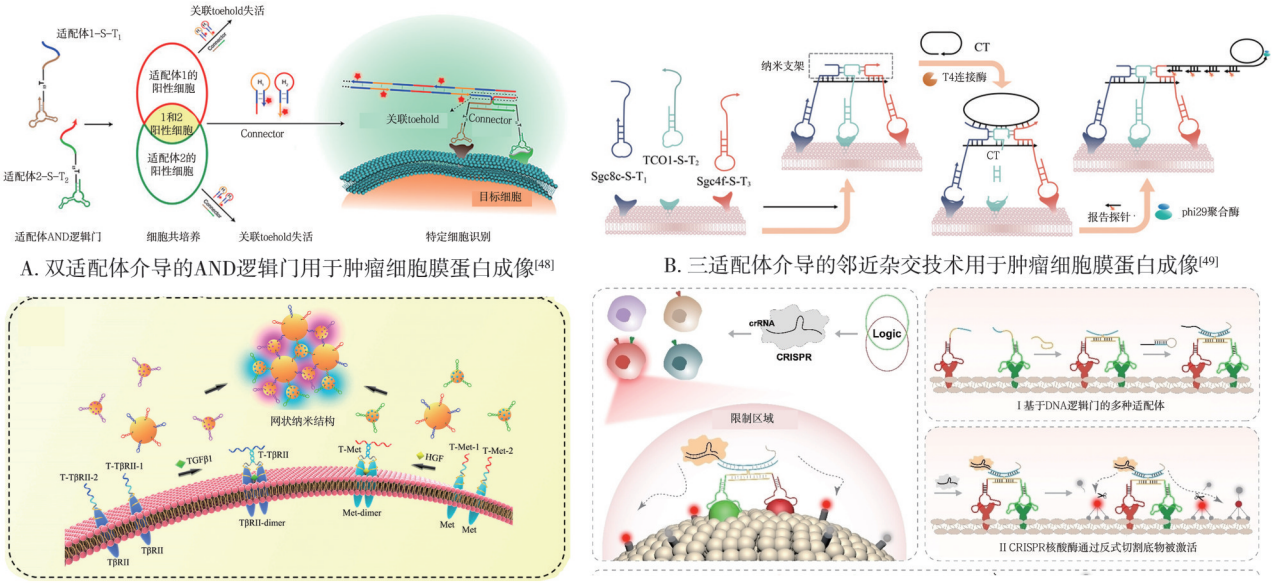
F. 非toehold依赖的DNA电路[43]

图5 熵驱动的DNA逻辑电路构建

（图6A）。然而，由于双靶标识别中仍可能存在假阳性识别问题，Han D等[49]进一步提出基于三种适配体介导的邻位识别策略，结合T4连接酶介导的信号放大，在人急性淋巴细胞白血病细胞的膜表面实现了多重受体协同识别（图6B）。该策略在混合细胞群体（人伯基特淋巴瘤细胞、人急性T白血病细胞、人红髓母细胞样白血病细胞）及临床样本中成功区分肿瘤细胞亚型，显著提升了识别的特异性与准确性。

针对低丰度肿瘤标志物蛋白检测中灵敏度受限的技术瓶颈，Wang L等[50]基于邻近杂交介导的催化发夹自组装体系，将金纳米颗粒修饰的双重识别探针与表面增强拉曼散射信号标签相结合，以熵驱动的方式构建了肿瘤细胞成像平台，实现了对单个前列腺癌细胞中膜蛋白（Met和TβRII）双重同源二聚化的实时监测（图6C），进一步用于探究癌细胞、基质细胞与干细胞间基于膜蛋白相互作用的信号通路。此外，Zhang XB等[51]结合CRISPR技术与双适配体AND逻辑门，开发了基于活细胞膜空间限制与流动性的逻辑识别系统（图6D）。该系统通过多个DNA逻辑模块，实现急性淋巴细胞白血病细胞的精准识别。相较于传统检测方法需耗时至少60 min且要求20%~30%的靶细胞比例，该策略可在20 min内实现快速识别，且在血液样本中靶细胞占比低至0.1%时仍能够精准识别，极大提升了检测效率与灵敏度。

综上所述，DNA逻辑电路凭借其高度可编程性、模块化设计与信号可放大的特性，正在逐步成为肿瘤细胞生物标志物中的膜蛋白成像领域的重要工具。通过引入多适配体识别策略、酶促反应模块、熵驱动部件及纳米材料平台，研究者们成功构建出一系列具有逻辑计算能力的成像体系，能够在活细胞中实现对肿瘤细胞的特异识别。这些系统不仅突破了传统抗体标记法在实时性、通透性与信号强度方面的限制，更为肿瘤异质性识别、精准医疗筛查和细胞通讯机制研究提供了全新的分子工具与技术路径。然而基于适配体的逻辑电路仍存在一定挑战，首先适配体受限于肿瘤微环境（蛋白酶，酸碱度等），从而导致识别偏差。然后适配体与膜



A. 双适配体介导的AND逻辑门用于肿瘤细胞膜蛋白成像[48]

B. 三适配体介导的邻近杂交技术用于肿瘤细胞膜蛋白成像[49]

C. 基于AND逻辑门的SERS策略用于两种膜蛋白的同步成像[50]

D. 基于CRISPR的流体限制DNA报告探针用于膜蛋白快速成像[51]

图6 DNA逻辑电路用于肿瘤细胞的膜蛋白成像

蛋白结合初始信号弱，并且受核酸酶的影响，无法持续稳定地为DNA逻辑电路提供信号输入。对于低丰度膜蛋白，适配体与之结合的概率减小，导致DNA逻辑电路反应启动延迟，难以在早期捕捉到肿瘤细胞。

4 DNA逻辑电路在肿瘤生物标志物核酸成像中的应用

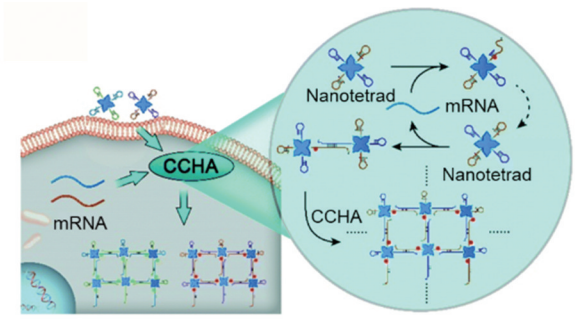
在肿瘤细胞功能研究、疾病机制解析及药物作用评估等方面，细胞内生物标志物，如信使RNA（messenger RNA，mRNA）、微小RNA（microRNA，miRNA）等，精准检测具有重要意义[52]。传统核酸成像方法（如荧光原位杂交）虽具备一定灵敏度，但仍存在制备流程繁琐、分辨率受限、背景噪声干扰明显等不足，且高效、低干扰的探针递送依旧是技术瓶颈[53-54]。近年来，DNA纳米结构因具备良好的可编程性以及生物相容性，被证实具有良好的入胞性能，为肿瘤细胞内的核酸原位成像提供了新路径[55-57]。

在mRNA成像方面，Jiang JH等[58]构建了链霉亲和素与四个生物素化DNA探针组成的DNA纳米四联体，引入熵驱动的催化发夹组装系统，实现了AND逻辑控制下的活细胞中Survivin和TK1 2个肿瘤相关mRNA的同步成像（图7A）。然而，该方法仍受到信号累积导致成像效率下降的限制。为提高信号强度与成像效率，Yu F等[59]引入酶促放大机制，利用TMSD驱动的DNA逻辑电路释放信号链，并结合细胞内核酸酶触发的分子信标构象控制实现信号放大，实现对炎症相关mRNA（IL-1β和IL-6）的动态监测，显著提升了灵敏度（3.6 pmol/L）和时效性（图7B）。Li T等[60]进一步结合框架核酸与逻辑电路级联门设计（OR-AND、AND-AND），构建了可响应多种内源分子（如三磷酸腺苷、氢离子、mRNA等）的双逻辑门系统，实现亚细胞区室内的精准成像与响应式干预（图7C）。

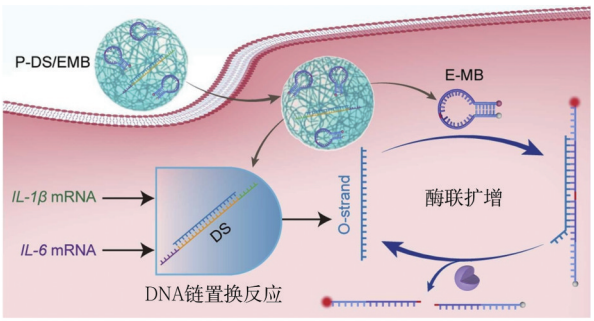
针对肿瘤细胞内miRNA的成像需求，尤其是在肿瘤细胞的高度异质性与低丰度背景下，Huang J等[61]提出了一种结合DNAzyme与杂交链式反应的双级联放大DNA逻辑电路，有效增强miRNA信号放大效果，实现miR-122和miR-21的皮摩尔级别的检测，显著提升肝癌细胞的检测精度（图7D）。为降低序列复杂性带来的逻辑门设计难度，Cen Y等[62]基于聚乙烯亚胺修饰碳点与DNA在室温下的自组装特性，并引入Mg^{2+}进行尺寸调控，构建了基于DNA纳米球的AND、OR分子逻辑电路，其中AND逻辑门实现了MCF-7细胞的精准识别，OR逻辑门完成了MCF-10A的有效区分。这为构建高通量、简便的检测平台提供了新思路（图7E）。

DNA逻辑电路以其高度可编程性、反应可控性和信号可放大性，已成为细胞内核酸标志物成像的重要工具。其核心优势在于能够通过多输入信号识别实现逻辑门控分析，对复杂背景下的生物信号进行精准筛选与响应，从而提高成像的特异性与选择性。在mRNA和miRNA成像中，通过与催化发夹自组装、杂交链式反应、DNAzyme等反应体系的耦合，DNA逻辑电路可有效提升微弱信号的检测灵敏度，满足低丰度目标分子的可视化需求。多级逻辑门和级联回路的设计进一步拓展了其在多靶点识别与亚细胞定位中的应用范围，使得肿瘤异质性条件下的分子分型成为可能。

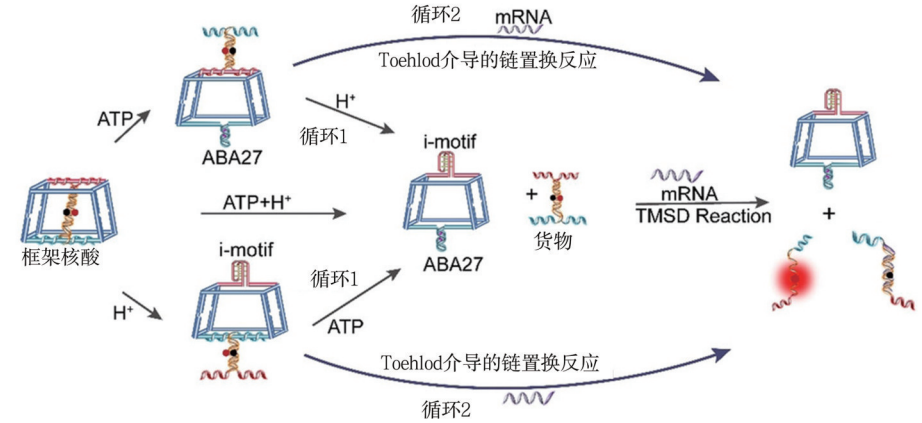
尽管DNA逻辑电路在肿瘤细胞成像中取得一定的进展，但仍存在一定局限性。首先是肿瘤微环境复杂，核酸酶可降解DNA链，代谢产物与异常酸碱度改变DNA构象，干扰成像精准度。然后肿瘤原位核酸丰度低、异质性强，电路信号启动困难且易错配，放大能力有限且易受干扰，难以满足高灵敏度检测需求。其次是细胞内酶、活性物质及生理活动会破坏电路稳定性，无法对核酸进行持续动态监测。



A. 交联CHA策略用于活细胞中两种肿瘤相关mRNA的同步成像[58]

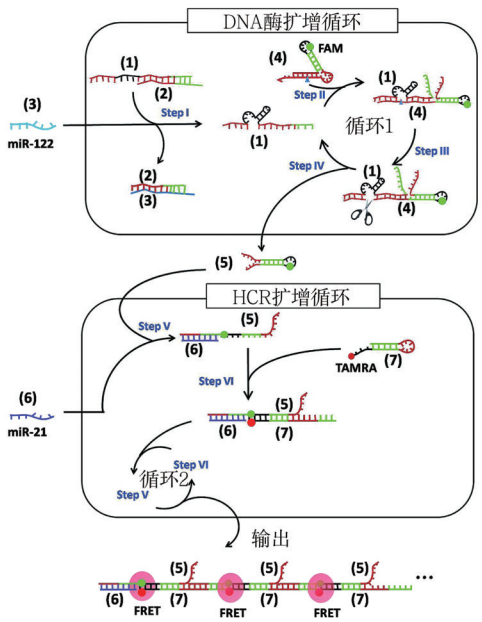


B. 原位酶扩增策略用于增强AND逻辑电路的响应信号[59]

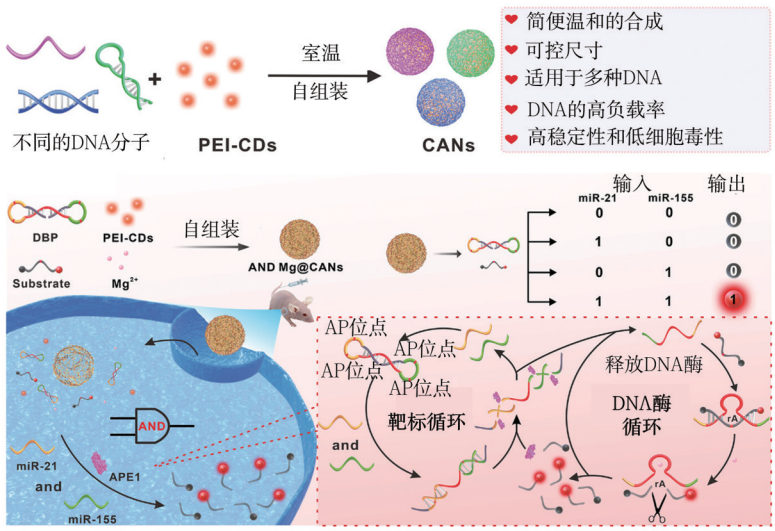


I1 ATP	I2 H+	I3 mRNA	Circuit-1 OR-AND	Circuit-2 AND-AND
0	0	0	0	0
1	0	0	0	0
0	1	0	0	0
1	1	0	0	0
0	0	1	0	0
1	0	1	1	0
0	1	1	1	0
1	1	1	1	1

C. 基于DNA逻辑电路的框架核酸载体用于细胞内mRNA的可控成像[60]



D. 基于DNAzyme和HCR的AND逻辑电路用于miR-122和miR-21同步成像[61]



E. 基于DNA纳米球的逻辑电路用于miRNA-21和miRNA-155同步成像[62]

图7 DNA逻辑电路用于肿瘤细胞内生物标志物的原位成像

5 总结与展望

DNA逻辑电路作为一种新兴的分子计算与信号处理平台，已在肿瘤细胞成像领域展现出巨大潜力。凭借其高度的可编程性与多重逻辑运算能力，DNA逻辑电路能够通过执行“AND”“OR”“NOT”等逻辑运算，并利用适配体识别多个肿瘤标志物，实现单个肿瘤细胞的精准判别，显著提升了成像的特异性与准确性。此外，通过与信号放大机制（如催化发夹组装、链置换反应、酶介导扩增等）协同设计，DNA逻辑电路大幅提高了对低丰度标志物的检测灵敏度，满足了肿瘤早期诊断对微弱信号识别的技术需求，实现细胞水平甚至亚细胞尺度的定向成像与动态监测，为研究肿瘤异质性、评估治疗反应及追踪病程提供了有效工具。

尽管取得了初步进展，当前DNA逻辑电路在肿瘤细胞成像中的应用仍面临若干挑战。首先，逻辑电路的复杂性增加了设计难度，易引发非特异性反应或信号交叉干扰，影响成像的准确性。其次，由于不同肿瘤细胞的分子表达存在显著异质性，这一特性决定了此类成像策略更适用于高表达相应靶标的特定肿瘤细胞类型，而难以覆盖所有肿瘤细胞的识别需求。最后，在动态成像过程中，逻辑电路的响应速度与信号稳定性亦需进一步优化，以适应活体环境下的实时检测需求。

随着合成生物学、纳米技术与人工智能等多学科的融合发展，DNA逻辑电路的结构设计与功能调控将趋于智能化和高效化。其与多模态成像技术（如荧光、拉曼、磁共振等）及响应性药物递送平台的集成，有望实现肿瘤的精准成像与靶向治疗的协同推进，构建全新的诊疗一体化策略。总之，DNA逻辑电路将在肿瘤早期识别、精准分型和治疗监测中扮演越来越关键的角色，未来有望成为推动分子影像学与转化医学创新的重要引擎。

参 考 文 献

[1] Batool SM, Yekula A, Khanna P, et al. The Liquid Biopsy Consortium: Challenges and opportunities for early cancer detection and monitoring[J]. Cell Rep Med, 2023, 4(10): 101198.

[2] Lin KN, Volkel K, Cao C, et al. A primordial DNA store and compute engine[J]. Nat Nanotechnol, 2024, 19(11): 1654-1664.

[3] Patel MN, Tiwari S, Wang YF, et al. Safer non-viral DNA delivery using lipid nanoparticles loaded with endogenous anti-inflammatory lipids[J]. Nat Biotechnol, 2025. DOI:10.1038/s41587-025-02556-5.

[4] Kong DR, Zhang S, Ma XY, et al. DNA logical computing on a transistor for cancer molecular diagnosis[J]. Angew Chem Int Ed, 2024, 63(41): e202407039.

[5] Yue SZ, Qiao ZJ, Wang XF, et al. Enzyme-free catalyzed self-assembly of three-dimensional hyperbranched DNA structures for *in situ* SERS imaging and molecular logic operations[J]. Chem Eng J, 2022, 446: 136838.

[6] Chen MQ, Wang CH, Ding ZX, et al. A molecular logic gate for developing "AND" logic probes and the application in hepatopathy differentiation[J]. ACS Cent Sci, 2022, 8(6): 837-844.

[7] Haas LF. Charles Babbage (1792-1871) [J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1994, 57(9): 1025.

[8] Chen J, Luo ZW, Sun CJ, et al. Research progress of DNA walker and its recent applications in biosensor[J]. Trac Trends Anal Chem, 2019, 120: 115626.

[9] Fan DQ, Wang J, Wang EK, et al. Propelling DNA computing with materials' power: recent advancements in innovative DNA logic computing systems and smart bio-applications[J]. Adv Sci, 2020, 7(24): 2001766.

[10] Zhang C, Zheng TT, Ma Q, et al. Logical analysis of multiple single-nucleotide-polymorphisms with programmable DNA molecular computation for clinical diagnostics[J]. Angew Chem Int Ed, 2022, 61(15): e202117658.

[11] Adleman LM. Molecular computation of solutions to combinatorial problems[J]. Science, 1994, 266(5187): 1021-1024.

[12] Stojanovic MN, Mitchell TE, Stefanovic D. Deoxyribozyme-based logic gates[J]. J Am Chem Soc, 2002, 124(14): 3555-3561.

[13] 沈心怡，刘俊兰，韩　达. 核酸分子计算及应用[J]. 中国科学：化学，2024，54(5)：777-787.
Shen XY, Liu JL, Han D. Nucleic acid-based computation and its applications[J]. Sci Sin Chim, 2024, 54(5): 777-787.

[14] Lopez R, Wang RF, Seelig G. A molecular multi-gene classifier for disease diagnostics[J]. Nat Chem, 2018, 10(7): 746-754.

[15] Zhang C, Zhao YM, Xu XM, et al. Cancer diagnosis with DNA molecular computation[J]. Nat Nanotechnol, 2020, 15(8): 709-715.

[16] Liu LJ, Liu PP, Ga L, et al. Advances in applications of molecular logic gates[J]. ACS Omega, 2021, 6(45): 30189-30204.

[17] Xie NL, Li MQ, Wang Y, et al. Scaling up multi-bit DNA full adder circuits with minimal strand displacement reactions[J]. J Am Chem Soc, 2022, 144(21): 9479-9488.

[18] Fu RJ, Hou JJ, Wang ZX, et al. DNA molecular computation using the CRISPR-mediated reaction and surface growth of gold nanoparticles[J]. ACS Nano, 2024, 18(22): 14754-14763.

[19] Hu MH, Li XL, Wu JN, et al. DNAzyme-based dissipative DNA strand displacement for constructing temporal logic gates[J]. ACS Nano, 2024, 18(3): 2184-2194.

[20] Zhao YW, Li X, Zhou Y, et al. Advancements in DNA computing: exploring DNA logic systems and their biomedical applications[J]. J Mater Chem B, 2024, 12(40): 10134-10148.

[21] Wang L, Xu WL, Zhang S, et al. Sensing and guiding cell-state transitions by using genetically encoded endoribonuclease-mediated microRNA sensors[J]. Nat Biomed Eng, 2024, 8(12): 1730-1743.

[22] Pan LQ, Wang ZY, Li YF, et al. Nicking enzyme-controlled toehold regulation for DNA logic circuits[J]. Nanoscale, 2017, 9(46): 18223-18228.

[23] Zhao YB, Liu Y, Zheng XD, et al. Half adder and half subtractor logic gates based on nicking enzymes[J]. Mol Syst Des Eng, 2019, 4(6): 1103-1113.

[24] Zhao SE, Liu Y, Wang B, et al. DNA logic circuits based on FokI enzyme regulation[J]. New J Chem, 2020, 44(5): 1931-1941.

[25] Xiao MS, Wang XW, Yao QY, et al. Boosting selective fusion of protocells with DNA logic circuits for *in situ* detection of exosomal microRNA[J]. Chem, 2024, 10(12): 3634-3643.

[26] Zhang C, Wang ZY, Liu Y, et al. Nicking-assisted reactant recycle to implement entropy-driven DNA circuit[J]. J Am Chem Soc, 2019, 141(43): 17189-17197.

[27] Xiang Z, Zheng JY, Ma XP, et al. FEN1-assisted DNA logic amplifier circuit for fast and compact DNA computing[J]. Chem Commun, 2024, 60(34): 4593-4596.

[28] Orbach R, Mostinski L, Wang FA, et al. Nucleic acid driven DNA machineries synthesizing Mg^{2+}-dependent DNAzymes: an interplay between DNA sensing and logic-gate operations[J]. Chemistry, 2012, 18(46): 14689-14694.

[29] Song TQ, Eshra A, Shah S, et al. Fast and compact DNA logic circuits based on single-stranded gates using strand-displacing polymerase[J]. Nat Nanotechnol, 2019, 14(11): 1075-1081.

[30] Su HM, Xu JL, Wang Q, et al. High-efficiency and integrable DNA arithmetic and logic system based on strand displacement synthe-

sis[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 5390.

[31] Zhao D, Chang DR, Zhang Q, et al. Rapid and specific imaging of extracellular signaling molecule adenosine triphosphate with a self-phosphorylating DNAzyme[J]. J Am Chem Soc, 2021, 143(37): 15084-15090.

[32] Yang ZL, Farrell A, Pradhan S, et al. On-site portable lithium detection in mining and recycling industries based on a DNAzyme fluorescent sensor[J]. Angew Chem Int Ed, 2025, 64(2): e202413118.

[33] Stojanović MN, Stefanović D. Deoxyribozyme-based half-adder [J]. J Am Chem Soc, 2003, 125(22): 6673-6676.

[34] Lederman H, MacDonald J, Stefanovic D, et al. Deoxyribozyme-based three-input logic gates and construction of a molecular full adder [J]. Biochemistry, 2006, 45(4): 1194-1199.

[35] 褚利康, 何 磊, 韩 达. DNA存储技术: 挑战与未来[J]. 集成技术, 2024, 13(3): 116-127.
Chu LK, He L, Han D. DNA storage technology: challenges and future [J]. J Integr Technol, 2024, 13(3): 116-127.

[36] Wu RF, Zhang YP, Teng JJ, et al. Molecular circuit-controlled nanoparticle folders for programmable DNA information access[J]. ACS Nano, 2025, 19(7): 6918-6928.

[37] Yurke B, Turberfield AJ, Mills AP, et al. A DNA-fuelled molecular machine made of DNA[J]. Nature, 2000, 406(6796): 605-608.

[38] Yurke B, Mills AP. Using DNA to power nanostructures[J]. Genet Program Evolvable Mach, 2003, 4(2): 111-122.

[39] Zhang DY, Winfree E. Control of DNA strand displacement kinetics using toehold exchange[J]. J Am Chem Soc, 2009, 131(47): 17303-17314.

[40] Seelig G, Soloveichik D, Zhang DY, et al. Enzyme-free nucleic acid logic circuits[J]. Science, 2006, 314(5805): 1585-1588.

[41] Bai SL, Xu BT, Wu JL, et al. Series or parallel toehold-mediated strand displacement and its application in circular RNA detection and logic gates[J]. Biosens Bioelectron, 2023, 241: 115677.

[42] Li YT, Zhou P, Wang ZX, et al. Sea *Anemone*-like nanomachine based on DNA strand displacement composed of three Boolean logic gates: diversified input for intracellular multitarget detection[J]. Anal Chem, 2024, 96(10): 4120-4128.

[43] Liu JL, Zhang Q. DNA logic circuit based on a toehold-independent strand displacement reaction network[J]. Nano Lett, 2025, 25(9): 3464-3470.

[44] Jacobson K, Liu P, Lagerholm BC. The lateral organization and mobility of plasma membrane components[J]. Cell, 2019, 177(4): 806-819.

[45] Zhou Y, Tao L, Qiu JH, et al. Tumor biomarkers for diagnosis, prognosis and targeted therapy[J]. Signal Transduct Target Ther, 2024, 9(1): 132.

[46] Deboever N, Jones CM, Yamashita K, et al. Advances in diagnosis and management of cancer of the esophagus[J]. BMJ, 2024, 385: e074962.

[47] Wu LL, Wang YD, Xu X, et al. Aptamer-based detection of circulating targets for precision medicine[J]. Chem Rev, 2021, 121(19): 12035-12105.

[48] Chang X, Zhang C, Lv C, et al. Construction of a multiple-aptamer-based DNA logic device on live cell membranes *via* associative toehold activation for accurate cancer cell identification[J]. J Am Chem Soc, 2019, 141(32): 12738-12743.

[49] Gao QQ, Zhao YM, Xu KL, et al. Highly specific, single-step cancer cell isolation with multi-aptamer-mediated proximity ligation on live cell membranes[J]. Angew Chem Int Ed, 2020, 59(52): 23564-23568.

[50] Dong C, Fang XY, Xiong JR, et al. Simultaneous visualization of dual intercellular signal transductions *via* SERS imaging of membrane proteins dimerization on single cells[J]. ACS Nano, 2022, 16(9): 14055-14065.

[51] Yin Y, Xie W, Xiong MY, et al. FINDER: a fluidly confined CRISPR-based DNA reporter on living cell membranes for rapid and sensitive cancer cell identification[J]. Angew Chem Int Ed, 2023, 62(44): e202309837.

[52] Wang QS, Hasegawa T, Namkoong H, et al. Statistically and functionally fine-mapped blood eQTLs and pQTLs from 1, 405 humans reveal distinct regulation patterns and disease relevance[J]. Nat Genet, 2024, 56(10): 2054-2067.

[53] Ren JJ, Zhang ZB, Geng S, et al. Molecular mechanisms of intracellular delivery of nanoparticles monitored by an enzyme-induced proximity labeling[J]. Nanomicro Lett, 2024, 16(1): 103.

[54] Beach MA, Nayanathara U, Gao YT, et al. Polymeric nanoparticles for drug delivery[J]. Chem Rev, 2024, 124(9): 5505-5616.

[55] Liang L, Li J, Li Q, et al. Single-particle tracking and modulation of cell entry pathways of a tetrahedral DNA nanostructure in live cells [J]. Angew Chem Int Ed, 2014, 53(30): 7745-7750.

[56] Wang ZN, Chen XH, Qiu XP, et al. High-fidelity sensitive tracing circulating tumor cell telomerase activity[J]. Anal Chem, 2024, 96(14): 5527-5536.

[57] Zhang H, Hu XL, Bao XD, et al. Commercial strip-inspired one-pot CRISPR-based chip for multiplexed detection of respiratory viruses [J]. Small Methods, 2025, 9(1): e2400917.

[58] Huang DJ, Cao T, Huang ZM, et al. Crosslinking catalytic hairpin assembly for high-contrast imaging of multiple mRNAs in living cells [J]. Chem Commun, 2019, 55(27): 3899-3902.

[59] Liu L, Feng XY, Zhao J, et al. DNA logic circuit coupled with enzymatic amplification for signal-enhanced, AND-gated imaging of inflammation-associated mRNAs[J]. Nano Today, 2025, 62: 102700.

[60] Wang HH, Peng P, Wang QW, et al. Environment-recognizing DNA-computation circuits for the intracellular transport of molecular payloads for mRNA imaging[J]. Angew Chem Int Ed, 2020, 59(15): 6099-6107.

[61] Quan K, Li J, Wang JL, et al. Dual-microRNA-controlled double-amplified cascaded logic DNA circuits for accurate discrimination of cell subtypes[J]. Chem Sci, 2019, 10(5): 1442-1449.

[62] Chen QT, Xia XY, Liang ZG, et al. Self-assembled DNA nanospheres driven by carbon dots for microRNAs imaging in tumor *via* logic circuit[J]. Small, 2024, 20(25): e2310728.

(收稿: 2025-07-10; 修回: 2025-09-17; 录用: 2025-10-27)

(责任编辑: 李青颖)

本文引用格式:

郭欣林, 胡孝林, 邱晓沛, 等. DNA逻辑电路驱动肿瘤细胞精准成像的研究进展[J]. 重庆医科大学学报, DOI:10.13406/j.cnki.cyxb..