

# DNA 链二级结构调控链置换反应设计策略

李子慕<sup>1#</sup>, 汤雨晴<sup>1#</sup>, 程嘉宁<sup>1</sup>, 孙晨蕴<sup>1</sup>, 吕慧<sup>2</sup>, 左小磊<sup>1</sup>

(1. 上海交通大学化学化工学院, 化学生物协同物质创制全国重点实验室, 新基石科学实验室, 变革性分子前沿科学中心, 转化医学国家科学中心, 上海 200240;  
2. 上海大学理学院材料生物学研究所, 上海 200444)

**摘要** 对DNA置换反应的输入单链引入多种不同类型的自身互补结构, 以改变其自由能及构象, 探究了不同结构对链置换反应速率的影响. 研究发现, 链置换反应速率随互补结构长度的增加而减慢. 这一现象在立足点区域设计互补结构的效果比干区形成互补结构更为明显. 在链置换反应的输入链中引入二级结构, 对DNA链置换反应速率产生不同程度的降低, 甚至阻止反应进行. 最后, 阐释了二级结构影响链置换反应速率的机制, 为扩宽DNA链置换反应的时域调控能力, 并提升其DNA分子计算、生物传感等领域的应用提供了新思路.

**关键词** DNA链置换反应; 二级结构; 反应动力学

中图分类号 O651; Q523

文献标志码 A

doi: 10.7503/ejcu20250174

## Design Strategies for DNA Strand Displacement Reactions via Secondary Structure Modulation of DNA Strands

LI Zimu<sup>1#</sup>, TANG Yuqing<sup>1#</sup>, CHENG Jianing<sup>1</sup>, SUN Chenyun<sup>1</sup>,  
LYU Hui<sup>2\*</sup>, ZUO Xiaolei<sup>1\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Synergistic Chem-Bio Synthesis, School of Chemistry and Chemical Engineering, New Cornerstone Science Laboratory, Frontiers Science Center for Transformative Molecules, National Center for Translational Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China;  
2. Institute of Materiobiology, College of Sciences, Shanghai University, Shanghai 200444, China)

**Abstract** In this study, various types of self-complementary secondary structures were introduced into the input single-strand DNA of strand displacement reactions to change their free energy and conformations, aiming to investigate the influence of different structures on the rate of the strand displacement reaction. We found that the reaction rate decreased as the length of the self-complementary structure increased. This effect was more pronounced when the self-complementary structure was designed in the toehold domain than when it formed in the non-toehold region. The incorporation of secondary structures into the input strands led to varying degrees of reduction in strand displacement reaction rates, and in some cases, completely inhibited the reaction. Finally, we elucidate the mechanism by which secondary structures influence the kinetics of strand displacement reactions, offering new insights into expanding the temporal regulation capabilities of DNA strand displacement and advancing its applications in DNA molecular

收稿日期: 2025-06-23. 网络首发日期: 2025-08-11.

联系人简介: 左小磊, 男, 博士, 研究员, 主要从事框架核酸、生物传感和DNA存储方面的研究. E-mail: zuoxiaolei@sjtu.edu.cn

吕慧, 女, 博士, 副研究员, 主要从事DNA计算方面的研究. E-mail: lvhui92@shu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: T2188102)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. T2188102).

# 共同第一作者.

computing and biosensing.

**Keywords** DNA strand displacement reaction; Secondary structure; Reaction kinetics

立足点介导的DNA链置换反应是利用DNA分子杂交的自由能差异,以一条单链DNA通过立足点瞬时结合和随后的分支迁移将DNA双链结构中的一条单链取代下来的自发反应,具有精确的序列正交性<sup>[1]</sup>.且基于立足点介导的DNA链置换反应(SDR)系统在常温下以熵驱动的方式进行<sup>[2]</sup>,无需酶参与,可以适应多种溶液环境来控制反应的动态速率,因此,链置换反应已广泛用于DNA分子计算<sup>[3-6]</sup>、可编程分子组装<sup>[7-9]</sup>、生物传感<sup>[10-12]</sup>、细胞功能调节<sup>[13-15]</sup>和药物可控释放<sup>[16-18]</sup>等领域.

目前,研究者们对影响立足点介导的DNA链置换反应速率的因素进行了广泛的研究.例如,研究发现随着立足点个数增加,链置换反应速率呈指数级增长,并在立足点为6~10个碱基时反应速率达到饱和<sup>[19,20]</sup>;对立足点域不同数量的碱基进行化学修饰,如5-甲基胞嘧啶(5mC)<sup>[21]</sup>,链置换反应速率随立足点区域5mC修饰的个数增加而提高,而在非立足点域进行5mC修饰几乎不产生影响.除了改变立足点的数量及结构,研究者们也尝试改变DNA双链自身结构,探究对DNA链置换反应速率的影响,如在DNA双链的结合区引入碱基错配<sup>[22-25]</sup>,随着错配数量的增加,反应速率加快但信噪比降低.而这些需要引入额外的修饰以及改变DNA双链自身结构,目前, DNA单链的自身结构如何影响链置换反应的速率尚未进行明确的探究.

基于“结构-功能”的构效关系,本文探究了DNA单链结构对链置换反应速率的影响.对DNA单链引入输入链立足点区域互补、输入链干区互补及两种区域混合互补3类不同的输入链二级结构,并对同类结构互补区域长度、位置进行不同设计以改变二级结构的自由能及构象,探究不同结构对链置换反应速率的影响.结果发现,链置换反应速率随互补结构长度的增加而减慢,在立足点域设计互补结构的效果比干区形成互补结构更为明显.在链置换反应的输入链中引入二级结构,对DNA链置换反应速率产生不同程度的降低,甚至阻止反应进行.最后,阐释了二级结构影响链置换反应速率的机制,为DNA计算中对输入链序列按需设计提供了参考,同时有利于拓展链置换反应在更多功能DNA计算器件的构建与调控中的应用.

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

DNA链,生工生物工程(上海)股份有限公司合成与纯化;六水合氯化镁( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ),分析纯,国药集团化学试剂有限公司;1×TE缓冲溶液, Sigma-Aldrich上海贸易有限公司.

Milli-Q超纯水仪,美国Millipore公司;5702型低速离心机和Centrifuge 5427R离心机,德国Eppendorf公司;涡旋混匀器及聚合酶链式反应仪(PCR仪),美国Thermo Fisher Scientific公司;UV-2600i型紫外-可见分光光度计(UV-Vis),日本Shimadzu公司;电子天平,瑞士Mettler Toledo公司;SH1M2型Biotek酶标仪,安捷伦科技有限公司.

### 1.2 实验方法

**1.2.1 DNA分子序列设计** DNA分子遵循精确的碱基互补配对原则.对于单链DNA,存在非正交序列时,自身折叠形成二级结构,影响DNA链置换反应结果.为了避免二级结构形成,设计每条单链DNA采用仅含有A, C, T或A, G, T 3种碱基的三碱基序列.同时,尽可能避免3个相同碱基连续出现. DNA输入信号的不同结构域自身折叠形成二级结构时,采用四碱基序列.使用NUPACK工具随机生成DNA序列.在实验条件(18 °C,  $[\text{Mg}^{2+}] = 12.5 \text{ mmol/L}$ )下,使用All stacking模型预测DNA单链及形成二级结构的自由能及构象.为了避免不同反应间产生串扰,所有结构均使用NUPACK工具验证正交性.

**1.2.2 DNA单链的定量** UV-Vis是一种利用分子对特定波长紫外和可见光发生跃迁吸收,对物质组成和含量进行分析的表征方法. DNA分子在260 nm附近有最大吸收峰且遵循朗伯-比尔定律,由于溶液的吸光度与溶液浓度和液层厚度的乘积呈正比关系,能够计算得到DNA单链浓度.在测试时,根据朗伯-比尔定律的线性范围和所用仪器的灵敏范围,先将DNA单链稀释至合适浓度.对于序列长度小于

36 nt (Nucleotide, 核苷酸) 的 DNA 单链, 用去离子水稀释 50 倍至 100  $\mu\text{L}$ ; 对于大于 36 nt 的 DNA 单链, 用去离子水稀释 100 倍至 100  $\mu\text{L}$ . 将去离子水加入石英比色皿中作为参比. 首先扫描去离子水的吸收光谱作为基线, 之后将稀释后的样品溶液加入石英比色皿中, 依次测定其在 260 nm 处的吸光度; 同时, 由于 DNA 在 330 nm 处无吸收, 记录 330 nm 处的吸光度值作为背景扣除. 将二者差值作为实际吸光度值用于计算 DNA 单链浓度.

1.2.3 DNA 双链结构的合成 所使用的报告分子由 2 条单链经梯度退火杂交形成, 制备的 DNA 双链结构溶液终浓度均为 10  $\mu\text{mol/L}$ , 终体积均为 100  $\mu\text{L}$ . 为了抑制由于定量误差及合成效率引起的潜在泄露, 对于无荧光基团修饰的 DNA 信号放大器和 DNA 开关双链结构, 两条单链的比例为 1.2:1.0; 对于荧光分子修饰的 DNA 信号报告分子双链, 淬灭链 0.5 倍过量于荧光链. 两条单链的比例为 1:1.5. 在含 12.5 mmol/L  $\text{MgCl}_2$  的 1 $\times$ TE 缓冲液 (pH=8.0) 中, 加入 2 条单链至相应浓度. 将混合液放入 PCR 仪中制备双链结构, 退火程序如表 1 所示.

Table 1 Annealing procedure for the preparation of DNA double-stranded structures

Temperature/ $^{\circ}\text{C}$	95	95—25	25—4	4
Time gradient	5 min	-0.1 $^{\circ}\text{C}/6$ s	Direct cooling	$\infty$

1.2.4 DNA 计算体系的荧光动力学测试 使用酶标仪对 DNA 计算体系进行了荧光动力学测试, 由荧光信号强度变化表征计算结果. 测试中使用四氯荧光素 (TET) 荧光基团, 激发 (发射) 波长设定为 510 nm (540 nm). 将报告分子在含有 12.5 mmol/L  $\text{Mg}^{2+}$  的 1 $\times$ TE 缓冲液中均匀混合, 终浓度为 250 nmol/L, 为了避免此过程中 DNA 双链自发解链导致的泄露, 混合过程在冰上进行. 将混合液加入黑色 96 孔板中, 每孔加入 99  $\mu\text{L}$ , 由于没有加入输入链, 链置换过程未开始, 此时读取荧光信号强度作为背景荧光. 分别加入 1  $\mu\text{L}$  10 nmol/L 输入链至各组测试混合液中, 使输入信号的终浓度为 100 nmol/L, 混合均匀后继续测试. 整个过程反应温度保持在 (18 $\pm$ 2)  $^{\circ}\text{C}$ . 为了避免荧光基团因激光长时间照射而导致淬灭, 读取间隔设置为 1 min.

1.2.5 数据归一化处理 由于不可避免的加样误差及合成效率差异, 不同测试组所能到达的荧光强度平台不同, 因此在作比较时, 对每组数据分别进行了归一化处理. 每组实验中, 输出为 1 的信号为测试过程中最高荧光强度值, 记为  $I_{\text{max}}$ ; 输出为 0 的信号由时间  $t=0$  时所有测试数据点的最小值确定, 记为  $I_{\text{min}}$ . 对于一组平行实验中任意荧光强度值  $I$ , 归一化后的值  $I_n$  由下式计算得出:

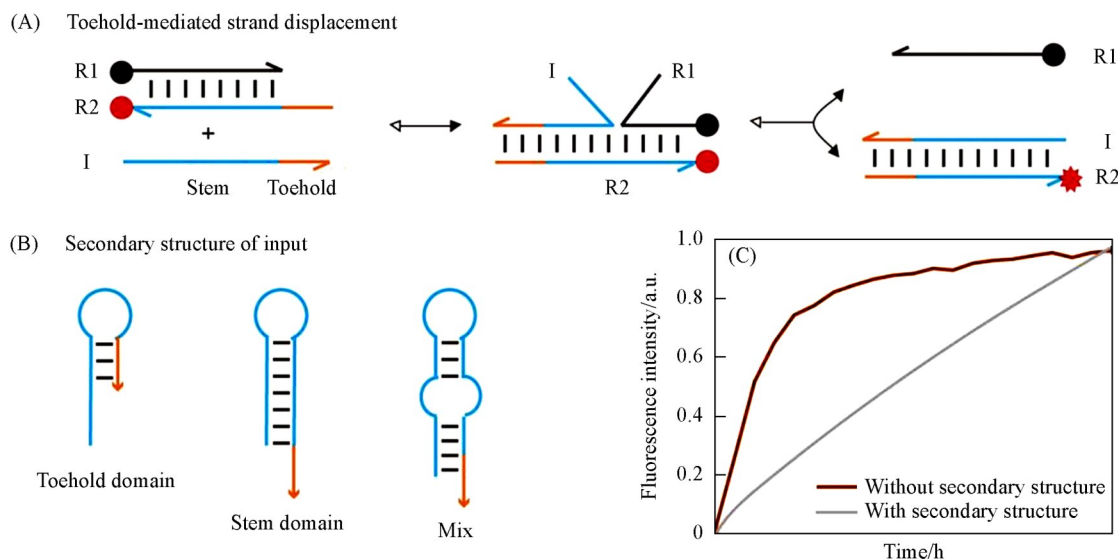
$$I_n = \frac{(I - I_{\text{min}})}{(I_{\text{max}} - I_{\text{min}})}$$

## 2 结果与讨论

### 2.1 输入信号二级结构设计

DNA 链置换反应是通过输入一条 DNA 单链并与 DNA 双链结构中的一条链互补配对, 进而将双链中的另一条单链置换下来的过程, 即以熵驱动的方式将预杂交链置换下来的反应, 其中, 立足点介导的 DNA 链置换反应在 DNA 计算中得到了广泛应用. Scheme 1(A) 展示了立足点介导的 DNA 链置换反应的机理; 修饰荧光基团的 R2 与修饰淬灭基团的 R1 杂交形成双链结构 R1-R2, 在体系中加入输入链 I 后, I 通过立足点 (橙色区域) 与 R1-R2 双链结合, 进行分支迁移, 最终将 R1 置换下来, 形成 R2-I 双链. 可以通过荧光变化监测上述链置换反应的动力学过程.

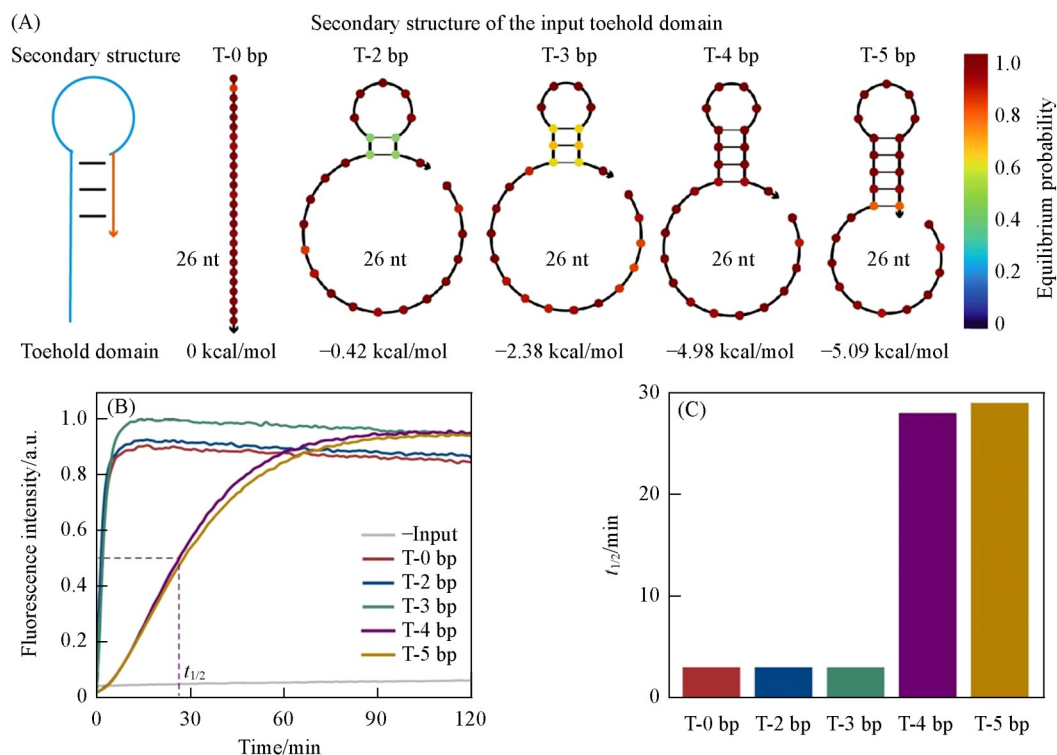
当序列存在链内局部匹配时, DNA 单链自身可以互补配对形成二级结构, Scheme 1(B) 展示了 3 种类型的二级结构, 即仅在立足点区域形成双链、仅在干区形成双链以及立足点和干区混合形成双链. 通过输入链自身形成不同二级结构, 可以改变链置换反应自由能, 从而在不同程度上影响链置换反应的速率 [Scheme 1(C)]. 本文基于 3 种类型二级结构设计不同 DNA 序列, 探究了不同二级结构对 DNA 链置换反应速率的作用规律.



**Scheme 1** Mechanism of the toehold-mediated strand displacement reaction(A), secondary structure design of the input strand(B) and exemplary fluorescence kinetics results(C)

## 2.2 立足点区域形成二级结构对链置换反应速率的影响

研究采用的反应体系以一步链置换反应为主，即输入链直接打开荧光基团修饰的双链结构产生荧光信号。其中，输入链的长度为26 nt，作为报告分子的DNA双链结构互补区域长16 bp，立足点区域均为5 nt。首先探究了立足点区域所形成的不同二级结构对链置换反应速率的影响。将输入链的立足点区域的互补区域设计为长2~5 bp(立足点完全互补)的4种二级结构。然后，使用NUPACK工具预测其构象及自由能[图1(A)]。模拟结果显示，随着互补区域长度增加，输入链自由能逐渐降低，结构稳定性增加。在不进行退火处理的情况下，对输入链进行了荧光动力学测试。结果显示，当输入链无二级

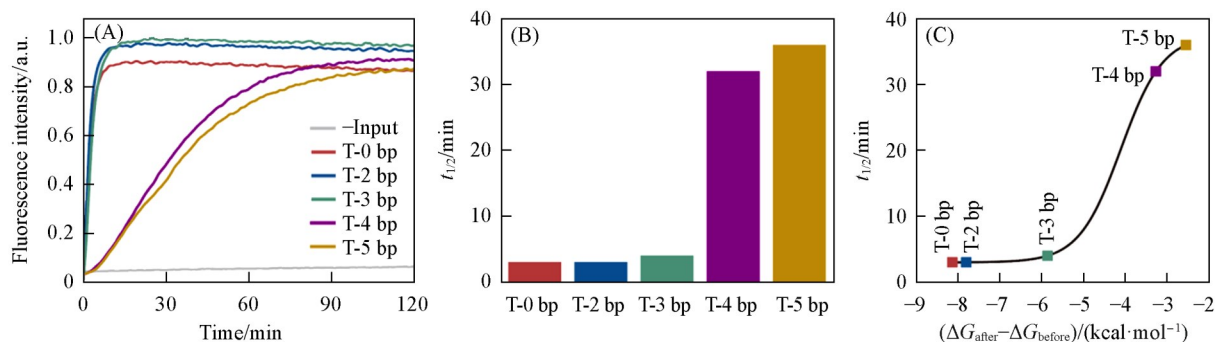


**Fig. 1** Strand displacement reactions using inputs with secondary structure in the toehold domain

(A) Secondary structures and free energy of DNA inputs (1 kcal=4.184 kJ); (B) fluorescence kinetics test results without annealing; (C) half reaction time.

结构(T-0 bp)或立足点区域互补结构长 2 bp(T-2 bp)和 3 bp(T-3 bp)时, 链置换反应迅速[图 1(B)], 在约 10 min 荧光强度到达平台; 而立足点区域互补结构长 4 bp(T-4 bp)和 5 bp(T-5 bp)时, 在约 100 min 才到达平台. 用半反应时间( $t_{1/2}$ , 荧光强度值达到反应平台与最低点的中值时对应的时间)评估了其反应速率[图 1(C)]. 当输入链为 T-2 bp 与 T-3 bp 时, 半反应时间约 3 min, 反应速率与 T-0 bp 作为输入链时相同; 输入链为 T-4 bp 与 T-5 bp 时, 半反应时间分别为 28 及 29 min, 反应速率显著降低. 上述结果表明, 输入链立足点区域形成二级结构时, 随着互补长度增加, 二级结构稳定性提高, 链置换反应速率减慢.

为了验证输入链未经退火与退火处理是否会造成二级结构合成效率差异, 从而对测试结果产生影响, 将输入链按双链制备程序进行退火处理后作为输入, 并进行了荧光动力学测试. 由图 2(A)可见, 输入链为 T-0 bp 和 T-2 bp 时, 荧光强度在约 10 min 到达平台, 与未经退火时一致; 输入链为 T-3 bp 时, 荧光强度在约 15 min 到达平台; 输入链为 T-4 bp 和 T-5 bp 时, 荧光强度需约 110 和 120 min 达到平台, 与未退火时相比时间均略有增加. 同样以半反应时间进行了比较, 图 2(B)结果显示, 输入链为 T-0 bp 与 T-2 bp 时, 半反应时间均为 3 min, 与未退火时一致; 输入链为 T-3 bp 时, 半反应时间为 4 min; 输入链为 T-4 bp 和 T-5 bp 时, 半反应时间为 32 和 36 min, 与未退火时相比, 反应速率均明显降低. 结果表明, 与经退火处理时相比, 输入链未经退火处理进行测试时, 不同二级结构对链置换反应速率的影响趋势相同. 但经退火处理后, 输入链形成二级结构效率更高且更稳定, 对链置换反应速率的影响更明显. 实验中计算了整个链置换反应体系反应前后自由能的变化  $\Delta\Delta G = \Delta G_{\text{after}} - \Delta G_{\text{before}}$ , 并考察了半反应时间与自由能变化的关系, 发现反应半时间与自由能变化呈非线性正相关性[图 2(C)], 这一规律可以通过玻尔兹曼函数拟合:  $t_{1/2} = 37.50 + \frac{2.98 + 37.50}{1 + \exp[(\Delta\Delta G + 4.10)/0.50]}$ .



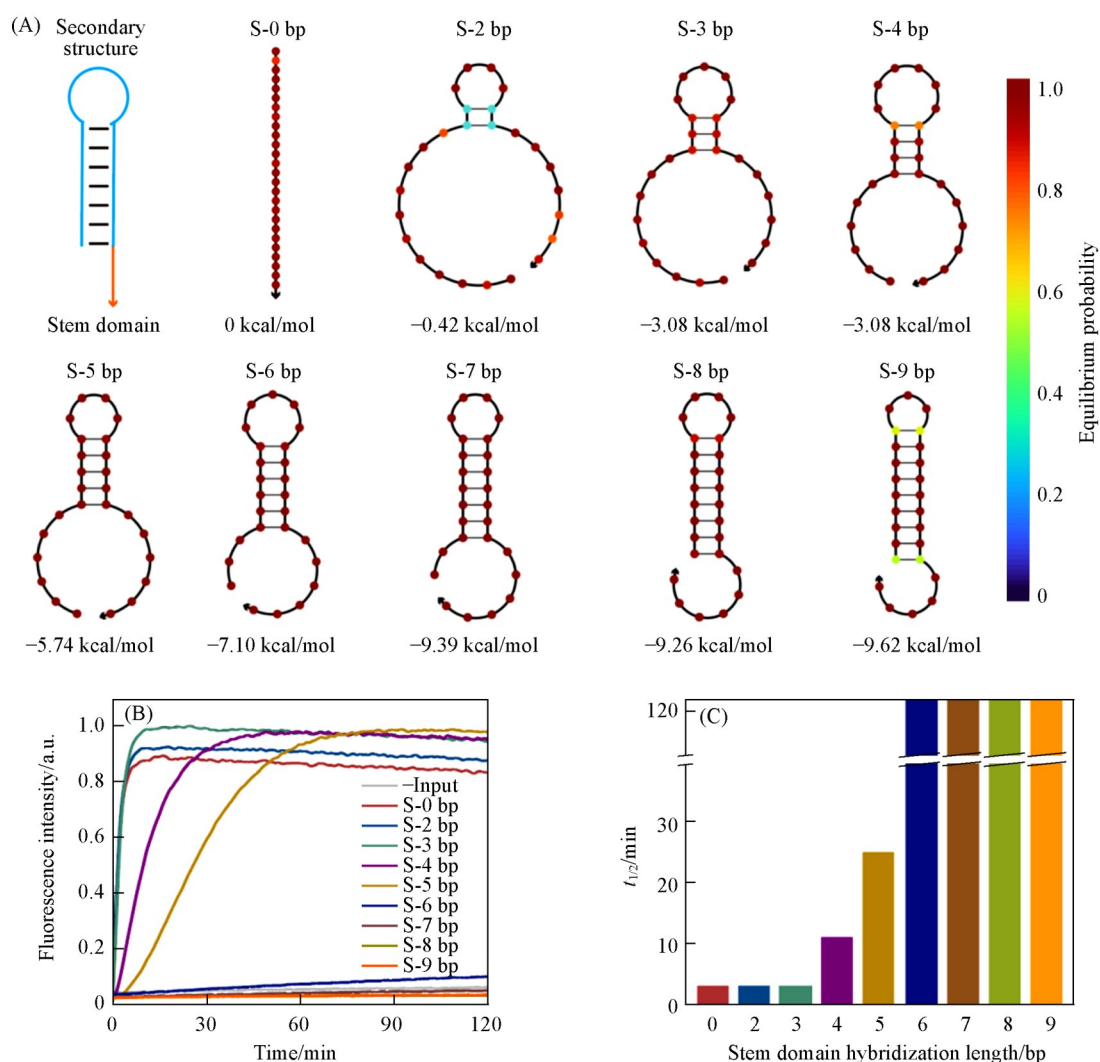
**Fig. 2 Strand displacement reactions using annealed inputs with secondary structure in the toehold domain**

(A) Fluorescence kinetics test results; (B) half reaction time; (C) relationship between half reaction time and free energy change (1 kcal=4.184 kJ).

### 2.3 干区形成二级结构对链置换反应速率的影响

探究了干区形成二级结构对链置换反应速率的影响. 在输入链干区设计长度为 2~9 bp 的互补结构域(命名为 S-2 bp~S-9 bp), 使用 NUPACK 工具预测了其自由能及构象. 模拟结果表明, 随着互补区域长度增加, 输入链形成二级结构的自由能降低[图 3(A)], 结构稳定性增加.

首先对输入链未退火的情况进行了测试[图 3(B)], 输入链为 S-2 bp 和 S-3 bp 时, 反应动力学与输入链不形成二级结构(S-0 bp)时一致, 荧光强度在约 10 min 到达平台; 输入链为 S-4 bp 和 S-5 bp 时, 荧光强度分别在约 50 和 90 min 到达平台; 输入链为 S-6 bp 时, 荧光强度在 2 h 的测试时长内有略微上升; 输入链干区互补区域长度 > 6 bp 时, 几乎不发生链置换反应, 荧光动力学曲线与不加入输入链的对照组一致. 比较了互补结构长度  $\leq 5$  bp 时链置换的半反应时间[图 3(C)], 输入链为 S-0 bp, S-2 bp 和 S-3 bp 时, 半反应时间均为 3 min; 长度为 2 bp 和 3 bp 的互补结构对链置换反应速率几乎无影响; 输入链为 S-4 bp 和 S-5 bp 时, 半反应时间为 11 和 25 min, 与 S-0 bp 组相比, 链置换反应速率明显减慢, 但与互补



**Fig. 3** Strand displacement reactions using inputs with secondary structure in the stem domain

(A) Secondary structures and free energy of DNA inputs(1 kcal=4.184 kJ); (B) fluorescence kinetics test results without annealing; (C) half reaction time.

结构长度相同,但与互补区域在立足点处的输入链相比,减慢效果更弱.上述结果表明,干区互补形成二级结构时,稳定性也随互补结构长度的增加而提高,链置换反应自由能变化减少,反应速率减慢,在互补区域长度提高至6 bp以上时,链置换反应无法发生.此外,形成二级结构的互补域长度相同时,二级结构在干区小于在立足点域的影响,可能是由于立足点域形成稳定双链结构,难以以立足点为基础形成反应中间态的三链复合物,更难引发反应进行.

同样,对输入链退火后进行了荧光动力学测试.图4(A)显示,输入链为S-0 bp和S-2 bp时,荧光强度在约10 min到达平台,与未退火时一致;输入链为S-3 bp时,荧光强度在约15 min到达平台,略有减慢;输入链为S-4 bp和S-5 bp时,荧光强度需75和110 min分别到达平台,与未退火时相比时间明显增加;输入链干区互补结构长度在6 bp时,荧光强度上升幅度更小;长度>6 bp时,无法进行正常反应.仍以半反应时间表示反应速率[图4(B)],输入链为S-0 bp, S-2 bp和S-3 bp时,半反应时间均为3 min,且与未退火时相同;输入链为S-4 bp和S-5 bp时,半反应时间分别为12和36 min,与未退火时比较有所增加,但反应速率比同二级结构互补域长度相同的立足点区域互补的输入链更快.

将具有干区自身二级结构的DNA链作为输入,计算了整个链置换反应体系反应前后自由能的变化 $\Delta\Delta G = \Delta G_{\text{after}} - \Delta G_{\text{before}}$ ,发现 $\Delta\Delta G$ 随输入链干区自身杂交的长度而逐渐增大[图4(C)].在长度>6 bp时, $\Delta\Delta G > 0$ ,预示反应无法发生;而当长度为6 bp时,虽然自由能有降低的趋势,但观测到反应仍然无法发

生. 这表明自身二级结构存在时, DNA 链置换反应不再由自由能单一因素驱动. 进一步考察了反应区内半反应时间与自由能变化的关系, 发现半时间反应与自由能变化呈非线性正相关性[图4(D)], 这一规律可以通过玻尔兹曼函数拟合:

$$t_{1/2} = 36.02 + \frac{3.00 + 36.02}{1 + \exp[(\Delta\Delta G + 4.61)/0.29]}$$

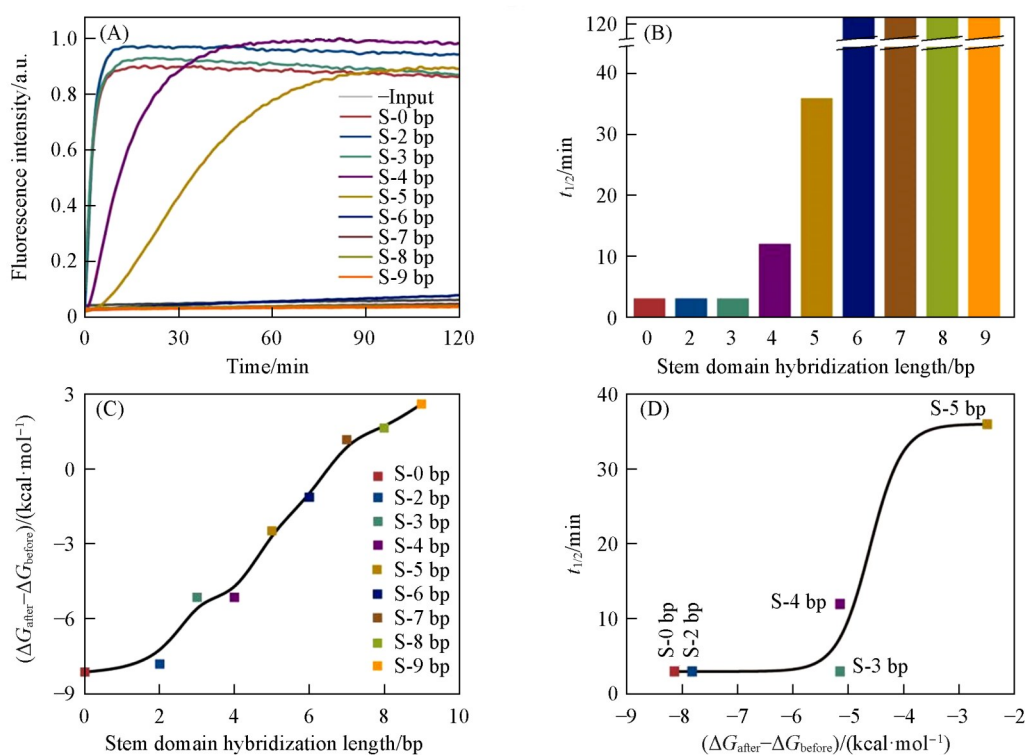


Fig. 4 Strand displacement reactions using annealed inputs with secondary structure in the stem domain

(A) Fluorescence kinetics test results; (B) half reaction time; (C) changes in free energy with different self-hybridization lengths in stem domain (1 kcal=4.184 kJ); (D) relationship between half reaction time and free energy change.

#### 2.4 立足点域与干区混合形成二级结构对链置换反应速率的影响

$\Delta\Delta\Delta$ 对形成二级结构的区域同时包含立足点域和干区的输入链进行了4种不同设计. 由图5(A)可见, m-1中立足点区域有3 bp的互补结构, 干区有4 bp的互补结构; m-3与m-1类似, 两段互补结构分别为2 bp和5 bp; m-2中除干区3 bp的互补结构, 还有干区1 bp和立足点区域3 bp互补结构共同形成的互补区域; m-4与m-2类似, 改变了干区互补结构的位置, 同样使用NUPACK工具预测了每种输入链的自由能及构象. 基于之前两类二级结构测试中对退火前后合成效率差异的研究结果, 直接采用退火后的输入链进行测试. 实验结果表明, 输入链为m-1和m-3时, 荧光强度在约140 min到达平台[图5(B)]; 输入链为m-2时, 在约200 min达到平台; 输入链为m-4时, 反应4 h后仍未到达平台, 但荧光强度接近反应完全时的1/2. 以上结果证明, 4种结构与未形成二级结构时相比, 链置换反应速率均明显下降. 比较其对应的半反应时间[图5(C)], T-0 bp为3 min, m-1和m-3分别为34和38 min, m-2为60 min. 由于在实验监测期间, m-4反应未到达平台, 因此以当前反应趋势预测, m-4半反应时间约295 min. m-1与m-3反应速率相对较快, 可能是因为立足点区域的互补结构仅有2 bp和3 bp, 长度较短, 结合不稳定, 反应速率的减慢更依赖干区形成的二级结构. 而m-4的速率与m-2相比又更为缓慢, 可能由于干区互补结构与另一互补结构间仅有1 nt的间隔, 而m-2形成了凸起环状结构, m-4的结构相较于m-2更难以解链发生反应. 综上所述, 由不同结构域混合形成二级结构的输入链, 立足点区域自身杂交碱基数, 以及多个互补结构的间隔的碱基数均对反应速率有显著影响.

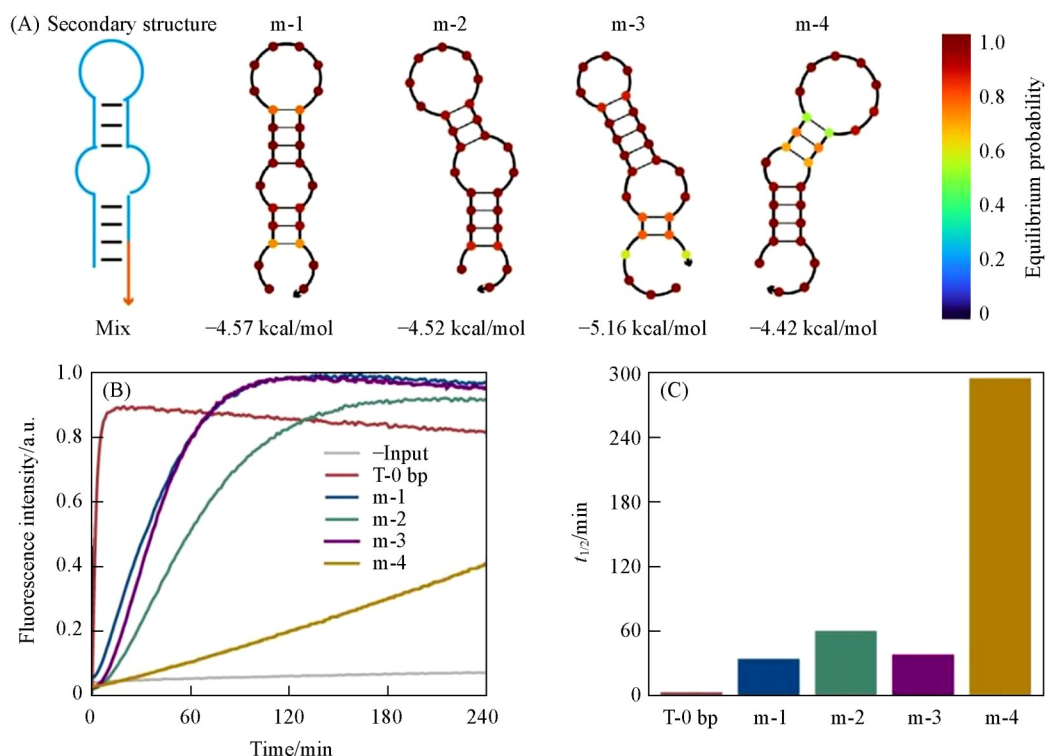


Fig. 5 Strand displacement reactions using inputs with mixed secondary structure

(A) Mixed secondary structure design and free energy of the input (1 kcal=4.184 kJ); (B) fluorescence kinetics test results after annealing; (C) half reaction time.

### 3 结 论

以立足点介导的DNA链置换反应为主体,以反应速率为导向,引入输入链立足点区域互补、输入链干区互补及两种区域混合互补3类不同的输入链二级结构,通过改变二级结构的自由能及构象来调控链置换反应速率.对同类结构互补区域长度、位置进行了不同设计,测试了其对DNA链置换速率产生的影响,探究其作用效果的规律.实验结果显示,链置换反应速率随互补结构长度的增加而减慢,在立足点域设计互补结构的效果比干区形成互补结构更为明显.这表明可以通过对DNA链二级结构的设计来调控DNA信号变换的动力学.特别地,立足点区域和干区的互补结构设计提供了不同的调节范围,为构建具有特定时域行为的DNA分子计算系统奠定了基础,同时也为核酸传感的靶向位点序列选择提供了新视角.

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Wang B., Thachuk C., Ellington A. D., Winfree E., Soloveichik D., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2018**, *115*(52), E12182—E12191
- [ 2 ] Zhang D. Y., Turberfield A. J., Yurke B., Winfree E., *Science*, **2007**, *318*(5853), 1121—1125
- [ 3 ] Green A. A., Silver P. A., Collins J. J., Yin P., *Cell*, **2014**, *159*(4), 925—939
- [ 4 ] Mali P., Aach J., Lee J. H., Levner D., Nip L., Church G. M., *Nat. Methods*, **2013**, *10*(5), 403—406
- [ 5 ] Yu H., Han X., Wang W., Zhang Y., Xiang L., Bai D., Zhang L., Weng Z., Lv K., Song L., Luo W., Yin N., Zhang Y., Feng T., Wang L., Xie G., *ACS Nano*, **2024**, *18*(19), 12401—12411
- [ 6 ] Hu M., Li X., Wu J., Yang M., Wu T., *ACS Nano*, **2024**, *18*(3), 2184—2194
- [ 7 ] Sarraf N., Rodriguez K. R., Qian L., *Science Robotics*, **2023**, *8*(77), eadf1511
- [ 8 ] Perumal D., Yang Q., Jeziorek M., Lee J. Y., Etchegaray J. P., Zhang F., *ACS Appl. Opt. Mater.*, **2025**, *3*(3), 507—513
- [ 9 ] Kang H., Lin T., Xu X., Jia Q. S., Lakerveld R., Wei B., *Nat. Commun.*, **2021**, *12*(1), 4994
- [ 10 ] Kang D., White R. J., Xia F., Zuo X., Vallée-Bélisle A., Plaxco K. W., *NPG Asia Mater.*, **2012**, *4*(1), e1
- [ 11 ] Jung J. K., Archuleta C. M., Alam K. K., Lucks J. B., *Nat. Chem. Biol.*, **2022**, *18*(4), 385—393
- [ 12 ] Bai M., Chen F., Cao X., Zhao Y., Xue J., Yu X., Fan C., Zhao Y., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2020**, *59*(32), 13267—13272

- [13] Zhou Z., Liu Y., Feng Y., Klepin S., Tsimring L. S., Pillus L., Hasty J., Hao N., *Science*, **2023**, 380(6643), 376—381
- [14] Gong X., Wang H., Li R., Tan K., Wei J., Wang J., Hong C., Shang J., Liu X., Liu J., Wang F., *Nat. Commun.*, **2021**, 12(1), 3953
- [15] Jiao K., Zhu B., Guo L., Zhou H., Wang F., Zhang X., Shi J., Li Q., Wang L., Li J., Fan C., *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, 142(24), 10739—10746
- [16] Yin J., Wang S., Wang J., Zhang Y., Fan C., Chao J., Gao Y., Wang L., *Nat. Mater.*, **2024**, 23(6), 854—862
- [17] Krawczyk K., Xue S., Buchmann P., Charpin-El-Hamri G., Saxena P., Husserr M. D., Shao J., Ye H., Xie M., Fussenegger M., *Science*, **2020**, 368(6494), 993—1001
- [18] Douglas S. M., Bachelet I., Church G. M., *Science*, **2012**, 335(6070), 831—834
- [19] Zhang D. Y., Winfree E., *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131(47), 17303—17314
- [20] Srinivas N., Ouldrige T. E., Šulc P., Schaeffer J. M., Yurke B., Louis A. A., Doye J. P. K., Winfree E., *Nucleic Acids Res.*, **2013**, 41(22), 10641—10658
- [21] Chen J., Dai Z., Lv H., Jin Z., Tang Y., Xie X., Shi J., Wang F., Li Q., Liu X., Fan C., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2024**, 121(11), e2312596121
- [22] Talbot H., Chandrasekaran A. R., *ACS Synth. Biol.*, **2025**, 14(6), 1931—1935
- [23] Jiang Y. S., Bhadra S., Li B., Ellington A. D., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, 126(7), 1876—1879
- [24] Irmisch P., Ouldrige T. E., Seidel R., *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, 142(26), 11451—11463
- [25] Machinek R. R. F., Ouldrige T. E., Haley N. E. C., Bath J., Turberfield A. J., *Nat. Commun.*, **2014**, 5(1), 5324

(Ed.: F, K)