

肽核酸研究进展

李 英, 刘克良*, 恽榴红

(军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

序列选择性作用于核酸的试剂在分子生物学和药物化学领域有重要意义,因为它们有望成为定靶于基因的诊断和治疗药物。其中,寡核苷酸(ONs)有最好的识别特异性和亲和性,它通过 Watson-Crick 碱基配对与含互补序列的单链核酸结合形成双螺旋结构,或以 Hoogsteen 或反 Hoogsteen 氢键结合到有特定序列的双链 DNA(dsDNA)大沟处,形成三股螺旋,从而干扰基因的表达。随着人们对各种致病基因的了解,原则上人们可以设计出针对某个致病基因的寡核苷酸序列,利用它来抑制该基因的表达,达到诊断和治疗疾病的目的。但天然 ONs 在实际应用上仍存在缺陷,主要是生物稳定性差,易被核酸酶降解。因此,必须对天然 ONs 进行结构修饰,过去 20 年人们合成了大量修饰结构的寡核苷酸,这些修饰方法包括磷酸二酯骨架修饰、碱基修饰、核糖环修饰以及将一些嵌入分子共价连接在寡聚核酸的末端。但就生物稳定性、溶解度、药代动力学性质及合成的难易程度等因素综合衡量,这些寡聚核酸类似物仍不够理想^[1]。

1991 年, Nielsen^[2] 等人设计并合成了一类新的核酸模拟物—肽核酸(PNA),与以往的核酸类似物不同,PNA 以化学性质与核糖磷酸结构完全不同的(2-氨基乙基)甘氨酸结构单元作为骨架,碱基部分通过亚甲基羰基连接于主骨架。PNA 在结构上很好的模拟了 DNA(图 1),碱基与骨架间隔 3 个键,相邻碱基间隔 6 个键,空间大小与天然核酸相近,加上结构上其它一些特性,使得 PNA 保持了对核酸的特异性识别能力。与 ONs 相比,PNA 有很多特点^[2],首先,整个分子不带电荷,这样就避免了与核酸杂交时的静电排斥;其次,PNA 的结构单元是修饰氨基酸,因此可用多肽合成法大量制备,还可用化学合成法在 N 端或 C 端连上配基或官能团。PNA 的另一个优点^[3]是它不同于核酸又区别于多肽的结构,

使其在体内很稳定,不被核酸酶和蛋白酶降解。1991 年以来,科学家对 PNA 的性质做了广泛而深入的研究。本文对 PNA 的合成及生化性质和 PNA 的应用前景做一综述。

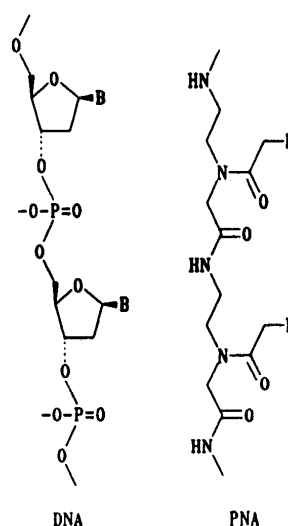


图 1 PNA 与 DNA 的结构比较.

化学合成

寡聚 PNA 是由保护的 PNA 单体通过固相合成法制备的,其保护策略、缩合条件、脱保护法及纯化法都与多肽合成法相似。图 2 是据报道^[4-9]的连有不同保护基的 PNA 单体。

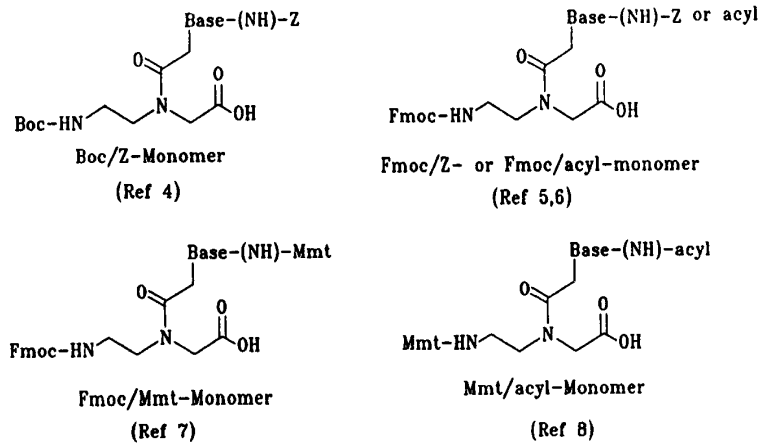
1 PNA 单体的制备

保护的 N-(2-氨基乙基)甘氨酸酯和碱基乙酸经缩合、皂化反应后得到 PNA 单体。以胞嘧啶碱基的 PNA 单体为例,其合成路线见图 3。

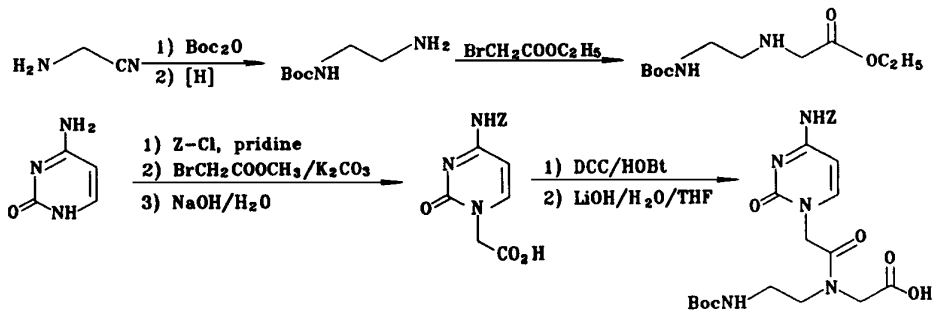
2 单体的缩合

寡聚 PNA 是由 PNA 单体经固相合成法得到,根据单体骨架和侧链保护基性质的差异,选择合适的固相反应条件,可得满意的缩合产率^[4,5,8](不同保护体系 PNA 单体的缩合条件见表 1)。从固相载体上裂解得到的 PNA 粗产物,经凝胶柱和液相色谱

分离得到纯 PNA。



Boc:叔丁氧羰基; Z:苄氧羰基; acyl:酰基; Fmoc:苄甲氧基三苯甲基; Mmt:对甲氧基三苯甲基
图2 PNA单体的四种保护体系。



DCC: N,N'-环己基碳二亚胺; HOBt: 1-羟基苯并三氮唑
图3 胞嘧啶单体的合成。

表1 不同保护体系 PNA单体的固相缩合条件^[4~6,8,10]

R ₁	R ₂ *	固相载体	缩合剂	R ₁ 脱除条件	中和试剂	从载体上裂解及 R ₂ 的脱除
Boc	Z	对甲基二苯胺树脂 (MBHA)	DCC 或 N,N'-二异丙基碳二亚胺 (DIPCDI)	50%三氟乙酸	二异丙基乙胺 (DIEA)	氟化氢或三氟甲磺酸
Fmoc	acyl	功能化的玻璃珠 (CPG)	[O-(7-氮杂苯并三唑)-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐 (HATU)]	20%哌啶	无	NH ₃ /EtOH
Fmoc	Z	MBHA 树脂	直接以单体的五氟苯酯缩合	30%哌啶	无	氟化氢
Mmt	acyl	功能化的 CPG	苯并三唑-1-氧-三-(二甲胺基) 膦六氟磷酸盐 (Bop) 或 HATU	3%三氯乙酸	N-乙基吗啡啉	浓氨水

* 碱基为胸腺嘧啶时,无保护基 R₂。

杂交性质

PNA 能与含互补靶序列的单链 DNA(ssDNA), 双链 DNA(dsDNA), RNA 及 PNA 序列特异性杂交。很多文献对杂交分子螺旋结构的形成及性质作了深入的研究,主要通过测量杂交分子的解链温度(T_m)及凝胶电泳实验来衡量杂交性质^[2,11],此外,核磁共振^[12]、电喷雾质谱^[13]、酶学及化学探针实验^[14-16]、圆二色谱^[17,18]等也是分析杂交复合物有用的工具。

1 与单链核酸的杂交

PNA 与有互补序列的单链核酸杂交,形成的杂交复合物有很高的热稳定性^[11]。纯嘧啶碱基序列的 PNA 与互补寡脱氧核糖核酸(ODN)杂交,形成 Watson-Crick-Hoogsteen 碱基配对的 PNA-DNA-PNA 三螺旋结构^[13,17,19];嘌呤嘧啶混合碱基序列 PNA 及纯嘌呤碱基序列 PNA 与含互补靶序列的 ssDNA 结合形成 Watson-Crick 碱基配对的 PNA-DNA 双螺旋结构^[11,12]。实验表明 PNA-DNA 双螺旋的热稳定性低于 (PNA)₂-DNA 三螺旋,但仍比相应的 DNA-DNA 双螺旋稳定,主要原因是后者的两条链间存在负电荷斥力^[11]。

2 与双链核酸的杂交

PNA 与 dsDNA 的杂交,因碱基组成的不同,杂交机理和形成的杂交复合物有所不同。

(PNA)₂-DNA 三螺旋 含高比例胸腺嘧啶的纯嘧啶型 PNA 通过链取代机制与含互补嘌呤序列的 dsDNA 形成 Watson-Crick-Hoogsteen 碱基配对的 PNA₂-DNA 三螺旋结构^[20-24]。所谓链取代,就是 PNA 遵循 Watson-Crick 碱基配对规则与 dsDNA 中的一条互补链结合,同时取代另一条非互补链,使之以单链形式游离。酶学和化学探针实验证实,杂交后 dsDNA 的非互补链有单链性质,易被单链特异的核酸酶 S1 降解^[2,20];链取代后游离的非互补链形成的 P-loop 也在电镜下被观察到^[23,24]。文献报道链取代三螺旋只有在低离子强度下才能形成(< 50 m M NaCl),而一旦形成,在高离子强度(> 500 m M NaCl)下是非常稳定的^[22],这是因为链取代的发生需要双链 DNA 部分解链,低离子强度有利于两条链间的静电排斥,使双链部分打开。

PNA-DNA 双螺旋 Nielsen 等^[16]利用化学探针实验证实含纯嘌呤碱基序列的 PNA₁₀ 聚体 AAAAGGAGAG 与含有靶序列的 dsDNA 结合,形成 PNA-DNA 双螺旋。Wittung 等^[18]也证实纯嘌呤碱

基序列和嘌呤嘧啶混合碱基序列 PNA[PNA(A₁₀), PNA(AG)₅, PNA(TG)₅]与 dsDNA 结合形成 PNA-DNA 双螺旋结构。

PNA(DNA)₂ 三螺旋 富含胞嘧啶的 PNA 如 PNA(C₁₀)和 PNA(CT)₅ 与含靶序列的 dsDNA 结合,形成 Watson-Crick-Hoogsteen 碱基配对的 PNA(pyr)-DNA(pu)-DNA(pyr)三螺旋结构^[18],进一步的研究发现,杂交过程不受离子强度影响,且此杂交反应的活化能小于形成链取代复合物的反应活化能,提示结合过程不包括碱基对的打开。

3 与核酸结合的特点

PNA 的一个独特性质是以平行或反平行的方式与核酸结合^[11]。所谓平行,就是 PNA 的氨基末端对着寡核苷酸 5' 端,反平行,就是 PNA 的氨基末端对着寡核苷酸 3' 端。PNA 与 DNA(或 RNA)形成的双螺旋倾向于反平行结合^[11],而形成的三螺旋倾向于平行结合^[14]。且两种结合方式都得到非常稳定的复合物^[11]。

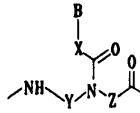
PNA 在与核酸杂交时表现了高度的亲和性。而 PNA-DNA 及 PNA-RNA 杂交分子比相应的 DNA-DNA 及 DNA-RNA 杂交分子有更高的热稳定性,这说明 PNA 与 DNA(RNA)之间比 DNA 与 DNA(RNA)之间有更强的杂交亲和力。

PNA 与核酸的结合还有序列特异性,就是 PNA 能区分正确配对和错误配对序列。这表现在含有错配碱基的 PNA-DNA 杂交分子比含有错配碱基的 DNA-DNA 杂交分子更加不稳定,例如在 PNA-DNA 双螺旋中的一个错配碱基至少使 T_m 下降 $8 \sim 20$ °C^[25],而在相应地 DNA-DNA 双螺旋中,一个错配碱基只能使 T_m 下降 $4 \sim 16$ °C;当用限制酶抑制实验检测 PNA 对 dsDNA 的序列区分能力时,这种效应就更明显了。10 个碱基中有 2 个错配碱基时,PNA 就完全不能与靶序列结合。10 个碱基中有 1 个错配碱基时,与靶序列的结合比完全匹配的 PNA 减少了 10 倍^[26]。

4 构效关系

为深入理解 PNA 的结构与杂交活性的关系,人们合成了一些修饰结构的 PNA,并对它们的杂交性质进行了初步研究^[27,28],这些化合物的结构、合成及杂交性质的结果见表 2。可见,改变骨架与碱基间及碱基与碱基间的距离,都会显著降低 PNA 的杂交活性,而保持以上距离不变,只是在甘氨酸的 α 位引入取代基,对杂交性质影响不大。

表 2 PNA 的结构及杂交性质比较^[28,29]



X	Y	Z	ΔT_m (°C)
CH ₂	CH ₂ CH ₂	CH ₂	0
CH ₂ CH ₂	CH ₂ CH ₂	CH ₂	- 21
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂	CH ₂	- 8
CH ₂	CH ₂ CH ₂	CH ₂ CH ₂	- 10
CH ₂	CH ₂ CH ₂ (CH ₃)	CH ₂	not reported
CH ₂	CH ₂	CH ₂ CH ₂	- 8.5
CH ₂	CH ₂ CH ₂	CH(CH ₃)	- 1.0
CH ₂	CH ₂ CH ₂	CH(CH ₂) ₄ NH ₂	0

注: ΔT_m 是指 10 聚 PNA(H-GTAGATCACT-NH₂) 中的 3 个单体被修饰单体所代替后, 与互补 ODN 形成杂交复合物的 T_m 改变值。

生物化学性质及应用

1 反义性质

PNA 的反义性质是指 PNA 与 mRNA 结合, 从而阻断翻译, 使蛋白质的合成不能进行。许多实验室对 PNA 的反义性质作了研究^[21,30,31], Hanvey 等^[21]将 PNA(H-T₃ACT₂CT₂-NH₂) 在兔网状细胞溶解物中与含互补序列的 RNA 孵育, 对翻译产物的分析结果表明, 随反应液中 PNA 浓度的增加, 完整翻译产物 36KD 蛋白的生成减少, 中止于 PNA 结合位点的部分翻译产物 22KD 蛋白的生成增加, 以碱基组成相同而序列不同的 PNA 所作的对照实验未观察到明显的翻译抑制现象。因为 PNA-RNA 杂交复合物不是 RNA 酶 H 的底物, 所以 Hanvey 认为 PNA 抑制翻译的机理在于通过立体效应阻碍翻译的进行。

因为 PNA 不易进入细胞, 因此有关 PNA 反义活性的报道主要限于无细胞体系研究。无细胞抽提物实验^[30]证实当 PNA 靶序列位于 mRNA 起始密码子的 5' 近端时, 一个 15 聚嘌呤嘧啶混合型 PNA (duplex-forming) 剂量依赖性的阻断翻译, 而当靶序列位于编码区时, 10 聚或 15 聚甚至 20 聚的混合型 PNA 都不影响翻译; 而能够形成三螺旋的 10 聚 PNA 在靶序列与起始密码子重叠时, 是有效而专一的反义试剂, 在靶序列位于 mRNA 的编码区时, 也能阻断翻译延伸。

用微注射法将 PNA 直接注射到培养细胞的核中来评价 PNA 在细胞中的反义性质, 就回避了吸收

差的问题^[21,31]。将一个 15 聚同聚嘧啶 PNA 的互补序列克隆到 SV40T 抗原 RNA 的未翻译区(5' UTR), 此 PNA 就可特异抑制 T 抗原的表达。而当同样的 PNA 定靶于 SV40T 抗原 mRNA 编码区时, 翻译也能被抑制, 但没有定靶与 5' UTR 靶有效^[31]。

总之, 体外研究表明 PNA 是有效的反义试剂, 综上所述可知: 嘌呤嘧啶混合型 PNA 通过与其靶序列形成双螺旋而阻断翻译的开始, 而阻断翻译的延伸需要纯嘧啶型 PNA 与其靶序列形成三股螺旋。

2 反基因性质

反基因策略的作用靶是 DNA, 通过在每个基因组中形成 PNA-DNA 复合物, 理论上就可抑制转录。而当作用靶是 mRNA 时, PNA 必须与细胞中大量 mRNA 结合才可抑制翻译, 所以反基因策略更有吸引力。

纯胸腺嘧啶 PNA 与双链 DNA 结合形成很稳定的链取代复合物, 因此它们是很好的反基因试剂。已有实验证实这种 PNA₂-dsDNA 复合物在体外能阻断原核及真核 RNA 聚合酶的延伸^[21,32]。其中的一个实验^[32]研究了 PNA 对噬菌体 RNA 聚合酶 T3 及 T7 参与的转录的影响, 靶序列位于 bluescript KS+ 质粒上 T3 或 T7 启动子的下游。实验所用 PNA 为 T₁₀, T₅CT₄ 及 T₂CT₂CT₄。当靶序列位于 dsDNA 的模板链时, 转录被 PNA 阻断; 当靶序列位于非模板链时, 转录无明显影响。以 RNA 聚合酶 T3 参与的转录为例, PNA(T₁₀) 使转录在靶序列的第一残基处阻断; PNA(T₅CT₄) 使转录在靶序列的第 2~3 个核苷酸处阻断; PNA(T₂CT₂CT₄) 使转录在靶序列的倒数第 1~3 个核苷酸处阻断。可见, 随胞嘧啶含量的增加, 阻断转录的能力降低。作者认为, 原因在于胞嘧啶必须质子化才能形成三螺旋, 在实验条件下, 不能保证全部质子化。

因此 PNA 有可能发展成为反基因药物, 但要充分理解 PNA 的反基因性质, 还需进行更多的体内外研究。

3 抑制逆转录性质

Koppelhus 等^[33]研究了体外实验中 PNA 对 HIV-1 gag 基因逆转录的抑制作用, 首先设计与 RNA 的纯嘌呤序列 AAAGAAAAA 平行互补的 PNA, 反平行互补 PNA 及将这两种 PNA 连接起来的 bis-PNA, 并考察了分别加入不同浓度的 PNA 对逆转录的影响。当 PNA 浓度是 RNA 的 60 倍时, 逆转录完全被阻断, 无任何逆转录产物产生; 当 PNA 浓度是 RNA 的 6 倍时, 前两种 PNA 部分阻断逆转

录,得到完整的逆转录产物及部分逆转录产物(逆转录至靶序列处),而 bis-PNA 能完全抑制逆转录,只得到部分逆转录产物;当 PNA 浓度是 RNA 的 0.6 倍时,前两种 PNA 几乎不能阻断逆转录,得到的是完整的逆转录产物,bis-PNA 部分阻断逆转录,得到完整的逆转录产物及部分逆转录产物。可见,与 RNA 形成三螺旋的 PNA 能有效的阻断逆转录。

此外作者^[33]还设计合成了定靶于模板 RNA 54-69 位的 15 聚 PNA (H-TGGCCTTAACCGAAT-Lys NH₂),考察与靶序列形成双螺旋的 PNA 对逆转录的抑制,结果表明当 PNA 与 RNA 的摩尔比大于 10 时,PNA 能完全抑制逆转录;当 PNA 与 RNA 摩尔比为 1 时,大约抑制 70% 逆转录。

研究数据还表明,在一定的浓度范围内,PNA 能选择性的抑制逆转录而不影响翻译,这就意味着如果选择合适的 PNA 浓度,就能做到专一抑制逆转录活性,而无其他毒性。

4 其他性质及用途

利用 PNA-DNA 复合物的高度稳定性和序列选择性可检测 DNA 在 PCR 扩充时单碱基对的变异^[34]。所设计的 PNA 的靶序列可与引物位点重叠、相邻或相间。当 PNA 靶序列与引物位点重叠时,引物和 PNA 竞争与引物位点结合,因为 PNA 不具备引物对 DNA 聚合酶的功能,所以 PNA 与引物位点的结合导致扩充减少;当靶序列与引物位点相邻或相间时,PNA 的结合使得聚合酶延伸受阻,DNA 增殖减少。如果 PCR 反应液中加入 PNA 后,增殖不受影响,表明待测 DNA 中存在突变碱基。

富含胸腺嘧啶的纯嘧啶型 PNA 通过链取代机制与 dsDNA 杂交,使被取代的 DNA 链有单链性质,能被单链核酶 S1 降解。特别是当 dsDNA 上有两个相邻的 PNA 靶序列时(可在同一条链,也可在不同链上),这种断裂更有效。这样,利用与靶序列互补的 PNA 片段,就可使核酶 S1 选择性的断裂 dsDNA,起到限制性内切酶的作用,可用于 DNA 分析、染色体图谱、基因克隆及基因诊断等方面^[15]。

PNA 可通过与 dsDNA 的结合而阻止该 DNA 序列识别蛋白与 DNA 的结合。例如,当 PNA 的作用靶点与限制性内切酶的识别序列相近时,限制性内切酶对 DNA 切割作用完全被抑制。因此,PNA 可用作序列识别蛋白的特异阻断剂^[35]。

PNA 还有转录调节因子的作用,它对转录的调节可从两方面来理解。一方面,当 PNA 通过链取代机制与 dsDNA 结合后,产生的 P-loop 有单链性质,

RNA 聚合酶可以识别 P-loop,以被取代链为模板,启动转录^[36]。另一方面,对于正在转录的 dsDNA,如果 PNA 的靶序列位于模板链,两者结合就会阻断转录的进行^[37]。

有关 PNA 的用途,目前还处于理论研究阶段,可喜的是,已有文献报道^[10]利用与衣原体的一段基因互补的 PNA 来检测被衣原体感染的尿样获得成功。

结 语

PNA 能与天然核酸杂交形成稳定的螺旋结构,说明核糖磷酸骨架对于 DNA 双螺旋结构不是必不可少的,这为新的核酸类似物的设计提供了思路。自 PNA 问世以来,很多新的结构被陆续报道,如 PHONA^[38](图 4),表现了较好的杂交性质。PNA 在生物稳定性、与核酸结合的亲和力和特异性方面优于普通 ONs,这无疑将使它成为一类新的分子生物学研究的有利工具。

尽管 PNA 表现了较好的反义和反基因性质,但它成为基因治疗药物的前景还不明确,主要是因为细胞对 PNA 摄入差。如何改善 PNA 的药代动力学性质,从而提高其生物利用度,还有待于人们的进一步研究。

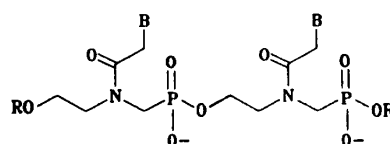


图 4 PHONA 结构。

关键词 寡核苷酸;结构修饰;肽核酸;基因治疗药物

参 考 文 献

- 1 Milligan JF, Matteucci MD, Martin JC. *J Med Chem*, 1993, **36**: 1923
- 2 Nielsen PE, Egholm M, Berg RH, et al. *Science*, 1991, **254**: 1497
- 3 De midov VV, Potaman VN, Frank-Kamenetskii MD, et al. *Biochem Pharmacol*, 1994, **48**: 1310
- 4 Ducholm KL, Egholm M, Behrens C, et al. *J Org Chem*, 1994, **59**: 5767
- 5 Thomson SA, Josey JA, Cadilla R, et al. *Tetrahedron*, 1995, **51**: 6179
- 6 Bergmann F, Bannwarth W, Tam S, et al. *Tetrahedron Lett*, 1995, **36**: 6823

- 7 Breipohl G, Knolle J, Langner D, *et al.* *Bioorgan Med Chem Lett*, 1996, **6**: 665
- 8 Will DW, Breipohl G, Langner D, *et al.* *Tetrahedron*, 1995, **51**: 12069
- 9 Uhlmann E, Will DW, Breipohl G, *et al.* *Nucleosides and Nucleotides*, 1997, **16**: 603
- 10 Koch T, Borre MB, Naesby M, *et al.* *Nucleosides and Nucleotides*, 1997, **16**: 1771
- 11 Egholm M, Buchardt O, Christensen L. *Nature*, 1993, **365**: 566
- 12 Leijon M, Graslund A, Nielsen PE. *Biochemistry*, 1994, **33**: 9820
- 13 Griffith MC, Risen LM, Greig MJ, *et al.* *J Am Chem Soc*, 1995, **117**: 831
- 14 Nielsen PE, Egholm M, Buchardt O. *Bioconjugate Chem*, 1994, **5**: 3
- 15 Demidov V, Frank-Kamenetskii MD, Egholm M, *et al.* *Nucleic Acids Res*, 1993, **21**: 2103
- 16 Nielsen PE, Christensen L. *J Am Chem Soc*, 1996, **118**: 2287
- 17 Kim SK, Nielsen PE, Egholm M, *et al.* *J Am Chem Soc*, 1993, **115**: 6477
- 18 Wittung P, Nielsen PE, Norden B. *Biochemistry*, 1997, **36**: 7973
- 19 Egholm M, Nielsen PE, Buchardt O, *et al.* *J Am Chem Soc*, 1992, **114**: 9677
- 20 Peffer NJ, Hanvey JC, Bisi JE, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**: 10648
- 21 Hanvey JC, Peffer NJ, Bisi JE, *et al.* *Science*, 1992, **258**: 1481
- 22 Nielsen PE, Egholm M, Buchardt O. *J Mol Rec*, 1994, **7**: 165
- 23 Cherny DY, Belotserkovskii BP, Frank Kamenetskii MD, *et al.* *Proc Natl Acad USA*, 1993, **90**: 1667
- 24 Demidov VV, Cherny DI, Kurakin AV, *et al.* *Nucleic Acids Res*, 1994, **22**: 5218
- 25 Egholm M, Buchardt O, Nielsen PE, *et al.* *J Am Chem Soc*, 1992, **114**: 1895
- 26 Buchardt O, Egholm M, Berg RH, *et al.* *Trends Biotechnol*, 1993, **11**: 384
- 27 Dueholm KL, Nielsen PE. *New J Chem*, 1997, **21**: 19
- 28 Nielsen PE. Peptide nucleic acid(PNA): A lead for gene therapeutic drugs. in Trainer GL ed. *Antisense Therapeutics*, SECOM Science Publishers B. V., Leiden, 1996, **4**: 76
- 29 Lesnic E, Hassman F, Barbeau J, *et al.* *Nucleosides and Nucleotides*, 1997, **16**: 1775
- 30 Knudsen H, Nielsen PE. *Nucleic Acids Res*, 1996, **24**: 494
- 31 Bonham MA, Brown S, Boyd AL, *et al.* *Nucleic Acids Res*, 1995, **23**: 1197
- 32 Nielsen PE, Egholm M, Buchardt O. *Gene*, 1994, **149**: 139
- 33 Koppelhus U, Zachar V, Nielsen PE, *et al.* *Nucleic Acids Res*, 1997, **25**: 2167
- 34 Φrum H, Nielsen PE, Egholm M, *et al.* *Nucleic Acids Res*, 1993, **21**: 5332
- 35 Nielsen PE, Egholm M, Berg RH, *et al.* *Nucleic Acids Res*, 1993, **21**: 197
- 36 Mollegaard NE, Buchardt O, Egholm M, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, **91**: 3892
- 37 Larsen JK, Nielsen PE. *Nucleic Acids Res*, 1996, **24**: 458
- 38 Peyman A, Uhlmann E, Wagner K, *et al.* *Angew Chem*, 1996, **108**: 277

PROGRESS IN THE STUDIES ON PEPTIDE NUCLEIC ACID

Li Ying(Li Y), Liu Keliang(Liu KL) and Yun Lihong(Yun LH)

(Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Science, Beijing 100850)

KEY WORDS oligonucleotides; structure modification; peptide nucleic acids; antisense and antigene drug