

知识介绍

PNA 探针与 DNA 探针的系统比较

张兵波, 常 津^{*}, 杨 永, 张 琦, 李双艳
(天津大学材料学院纳米生物技术研究所, 天津 300072)

摘要:肽核酸 (Peptide Nucleic Acid, PNA) 是近十几年发展起来的以中性酰胺键为骨架的脱氧核糖核酸 (Deoxyribonucleic Acid, DNA) 类似物, 其结构介于多肽和 DNA 之间。由于 PNA 能够与 DNA 和 RNA 特异性地结合, 可以制备 PNA 探针。与 DNA 探针相比, 其杂交的稳定性和特异性增加且能在低盐浓度下进行杂交。本文从 DNA 和 PNA 的分子结构和性质、DNA 探针和 PNA 探针的设计制备、杂交亲和性、杂交动力学以及在生物传感器上的应用等方面进行了系统比较。

关键词:肽核酸; DNA; 探针; 杂交; 系统比较

引言

DNA 探针是带有特殊碱基序列的单链 DNA 或 RNA 分子, 可以用放射性物质或免疫性物质标记, 通过杂交, DNA 探针常用于检测互补的碱基序列。经过四十几年的迅速发展, DNA 探针技术已取得了丰硕的成果。但仍存在一些问题, 其一, 与靶物质结合的特异性较差, 亲和力不够, 在杂交过程中不稳定。一些特异性要求较高的实验如 SHB 杂交测序, 需要使用寡核苷酸探针, 虽然经过技术优化后的寡核苷酸芯片既具有特异性, 又具有使得杂交产物稳定的特点, 但对杂交以及洗脱条件很苛刻; 其二, DNA 探针要在比较高的盐浓度条件下才能形成稳定的二聚体, 与此同时靶分子的二级结构, 三级结构也会相应的增加以至阻碍靶分子与探针靠近而阻碍杂交反应, 同时给 DNA 分析过程中除盐带来了过多的洗涤步骤^[1,2]。令人欣慰的是, 在 1991 年丹麦的哥本哈根大学的 Nielsen 等将 DNA、RNA 遗传信息的碱基连在肽骨架上, 由此诞生了一类新的分子-肽核酸 (PNA)^[3]。PNA 探针则能较理想的克服这些问题, 一定大小的 PNA 探针就具有较高的 T_m (melting temperature), 通常能够保证杂交体系的稳定性, 且同时具有较高的特异性^[4], 还可以调节杂交条件达到既不影响 PNA 与靶分子的结合又不会使核酸解链^[5]。本文从 DNA 和 PNA 的分子结构和性质、DNA 探针和 PNA 探针的设计制备、杂交亲和性、杂交动力学以及在生物传感器上的应用等方面进行了系统比较。

1 DNA 与 PNA 的分子结构与物化性质

1.1 DNA 的物化性质

核酸有两种, 分别为核糖核酸和脱氧核糖核酸。它们是由 C、H、O、N、P 等元素组成的, 其中 N 含量约为 15%~16%, 磷含量为 9%~10%。由于核酸中磷的含量比较固定, 因此可以间接测量磷含量来代

基金项目:国家自然科学基金 (No: 50373033), 天津市应用基础研究重点基金 (No: 05YFJZJC01001);

作者简介:张兵波 (24), 男, 硕士研究生, 从事纳米技术在疾病诊断中应用的研究;

*** 通讯作者:**常津, 主要从事纳米生物材料的研究, E-mail: jinchang@tju.edu.cn Tel: 022-27401821.

表核酸量。核酸易被核酸酶降解。DNA 中嘌呤和嘧啶环中均含有共轭双键,因此对波长 260nm 左右的紫外光有较强吸收,利用这些性质可对核酸、核苷酸、核苷及碱基进行定性定量分析。DNA 具有 4 级结构,其一级结构是指 DNA 分子中碱基的排列顺序。在某些理化因素作用下,如加热,DNA 分子互补碱基对之间的氢键断裂,使 DNA 双螺旋结构松散,变成单链,即为变性。变性 DNA 在适当条件下,两条互补链可重新恢复天然的双螺旋构象,这一现象称为复性,其过程为退火。不同来源的核酸变性后,合并一起复性,只要这些核苷酸序列可以形成碱基互补配对,就会形成杂化双链,这一过程为杂交。杂交可发生于 DNA-DNA 之间,RNA-RNA 之间以及 RNA-DNA 之间,现在也可以与肽核酸(PNA)杂交。基于以上这些性质,DNA 探针就诞生了。

1.2 PNA 的物化性质

PNA 分子结构介于多肽和 DNA。蛋白质、PNA 和 DNA 的分子结构如图 1^[3]所示,其特性比较见表 1。PNA 是一类以酰胺键(假肽键)替代 DNA 中的糖-磷酸二酯键骨架,并以基本相同的间距保留 DNA 中的碱基部位。PNA 的结构规定了它有两个基本特性:(1)它既非典型的多肽,也非 DNA,因而,能抵御蛋白酶和核酸酶的降解作用,有很高的稳定性;(2)它不仅可以与天然 DNA 通过 Watson-Crick 碱基配对原则形成氢键^[6,7],而且与 DNA 单链分子形成稳定的 DNA/(PNA)₂ 的三股螺旋结构^[8~10],因此,即使只有 10 个碱基链长,就可以在合适的变性-复性条件下“入侵”双链 DNA,形成局部的 P-loop 结构。与寡核苷酸相比,PNA 有许多优越之处,寡核苷酸中的磷酸二酯键极易被降解,且与 DNA 或 RNA 结合的敏感性不强,易受外部条件干扰,重复性差。PNA 是非离子的、非手性的、不易水解和酶切的分子。由于 PNA 是非手性的,所以不必经过立体选择性的途径就可以按照标准的肽固相合成方案进行合成^[11,12]。

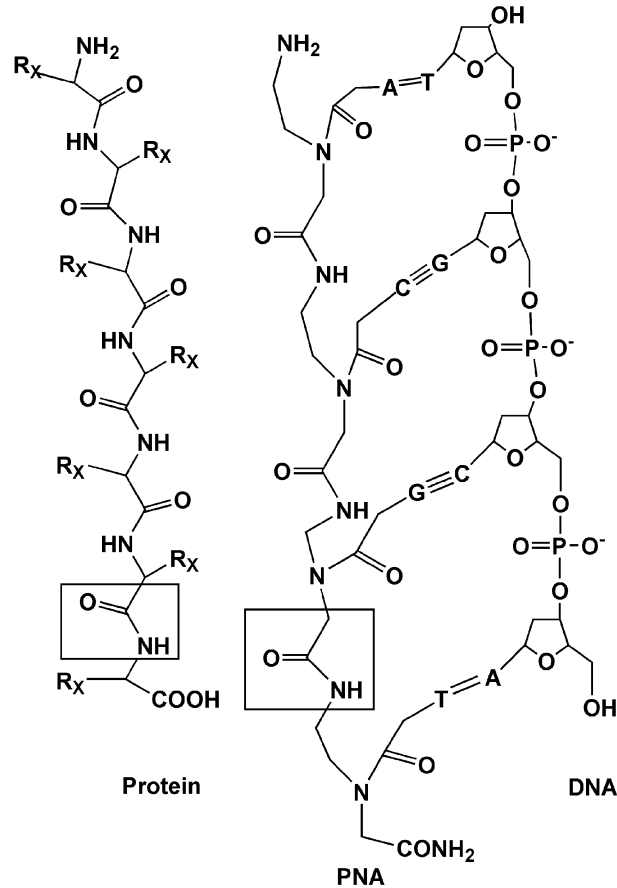


图 1 PNA 的化学结构与蛋白质和 DNA 的比较
Figure 1 Structure comparison among PNA, protein and DNA

表 1 DNA 与 PNA 的特性比较
Table 1 Characteristics comparison between DNA and PNA

	物理特性	结合位点	产生	导入方式	抑制水平	临床应用
DNA	带负电荷, 修饰后较稳定, 仍可被核酸酶降解	可非特异性结合	化学合成(18~20nt)	物理或化学方式	翻译	较多
PNA	中性, 生物稳定性高, 不易被核酸酶、蛋白酶降解	特异性极强	化学合成(3~10mer), 较复杂, 成本较高	物理或免疫学方式	翻译、转录	应用较少

2 DNA/PNA 探针的制备比较

DNA/PNA 探针的制备包括 DNA 探针模板的制备和 DNA 探针的标记。根据每个研究者手头目的基因所处的状态不同, 制备 DNA 模板的过程可能也不同。DNA 探针的标记有放射性标记方法和非放射性标记方法。可以根据研究者不同的用途和目的进行相应的标记。与 DNA 探针相比, PNA 由于是用末端氨基合成的, 所以可以很容易地用大多数标记物和配体进行标记。如将荧光标记物和其它报告基团能较容易地连接到 PNA 寡聚物上。许多商品化的标记物可与游离氨基进行反应, 从而很容易地连接到 PNA 的 N-端。值得注意的是, 常常在标记物和探针之间加一间隔臂来把它们分开, 以便减小空间位阻而不影响杂交, 这样的间隔臂叫做“O”单体或 egl-连接剂。用于 PNA 探针的 3 种最常见的标记物为: 荧光素 (FAM)、罗丹明 (TAMRA) 和生物素。放射性标记在寡核苷酸探针中有着广泛的应用, 尤其是对灵敏度和立体分辨率要求较高的场合中。在放射性标记中大多数要使用酶, 如聚合酶和激酶等^[13]。由于 PNA 不是已知 DNA 酶的底物, 因此不会与 PNA 发生作用。但可以把一种叫做肯普肽的 7 肽引入 PNA 链中, 如 H-Leu-Arg-Ala-Ser-Leu-Gly-NH₂ 是一种特别有效的底物^[14]。由于 PNA 合成与肽合成一致, 因此, PNA-肯普肽嵌合体很容易生成^[15]且保留了类似于原来 PNA 的杂交特性。过去的几年里, 在 PNA 诊断方面, 设计合成了许多不同标记的 PNA-肯普肽, 如表 2。

表 2 不同标记的 PNA-肯普肽
Table 2 PNA-Kemptide with different labeling

标记物	标记试剂	质量/mg	DMF/ μ L	DIEA/ μ L	反应/min
生物素	DMT-生物素-HPP(NHS)	22.2	300	6.6	30
生物素	生物素-NHS	10	300(DMSO)	6.6	30
荧光素	5(6)-FAM-NHS	10.7	300	11	60
罗丹明	5(6)-TAMARA-NHS	12.5	300	11	60
SMCC	SMCC-NHS	10.0	300	11	60

注: SMCC, Succinimidyl 4-[N-maleimidomethyl]cyclohexane-1-carboxylate.

另外, PNA 和肽合成的相容性, 也使得氨基酸的引入非常容易, 据此可以设计 PNA 探针。其设计活性远高于 DNA 探针。例如可以改善 PNA 探针的溶解性。PNA 本体是电中性的, 其溶解度很小, 容易聚集, 以至阻碍杂交。对于 DNA 或者 RNA 的寡聚物来说, 要达到探针探测的最小浓度是不成问题的。但是对于某些序列的 PNA, 特别是含有大量鸟嘌呤的 PNA, 要达到这样的浓度可能有些问题^[16]。为了改善 PNA 的溶解度, 可以用带有不同电荷的氨基酸对 PNA 进行修饰。或者把冻干的 PNA 探针悬浮于 50% 的 N, N-二甲基甲酰胺溶液中^[17]。也可以用溶解度增强剂 (E-linkers) 来延长 PNA 序列增加溶解性而不影响其杂交性能^[18]。

3 DNA/PNA 探针的杂交亲和性比较

由于 DNA-DNA 及 DNA-RNA 互补链均带有负电荷, 磷酸酯骨架之间存在静电排斥作用以至它们之间难以接近, 即使结合, 它们的复合体也是不够稳定的。与带有负电的 DNA 不同, PNA 的骨架是电中性的。PNA-DNA 双链之间不存在电荷排斥的作用, 使得 PNA 与 DNA 杂交体系具有更高的热稳定性。T_m 值可以来反应杂交稳定性, 它是指在此温度下核酸溶液中一半的核酸双链解为单链。PNA 介导的特异性突变

序列扩增,寡聚 PNA 可以与单链核酸模板结合,但不能作为引物引导 DNA 的合成。寡聚 PNA 结合力较普通寡核苷酸强,其 T_m 比普通寡核苷酸高 50%,但如果出现错配,则结合力迅速下降。在扩增时寡聚 PNA 作为阻扼物放在引物前面,与 PCR 引物部分重叠,当寡聚 PNA 与野生模板完全配对时,不能发生聚合反应,当寡聚 PNA 与突变模板出现错配时,结合力迅速下降,失去阻扼作用,从而聚合反应得以进行,但此时扩增产物为突变序列,因此该方法可以特异性扩增突变序列。按照经验,PNA-DNA 的解链温度要比 DNA-DNA 每个碱基高 1℃左右,PNA 与 RNA 也有类似的性质。如表 3。另外,PNA 不带电,使得其杂交速度与 DNA 探针相比增加了 50000 倍,大大缩短了检测时间($K_a^{PNA}=5\times10^5\text{ M}^{-1}\text{ S}^{-1}$)。

表 3 不同杂交复合体的 T_m 值
Table 3 T_m of different hybrid systems

复合物	$T_m/^\circ\text{C}$	复合物	$T_m/^\circ\text{C}$
15mer PNA/DNA	69	15merPNA/RNA	72
15merDNA/DNA	54	15merDNA/RNA	50

条件:10mmol/L 磷酸缓冲液,0.1mmol/L EDTA,100mmmol/L NaCl, pH 为 7.0。

4 DNA/PNA 探针的杂交动力学比较

4.1 探针长度的比较

在探针长度设计当中有一对矛盾,即为了增强杂交体系的稳定性和探针的敏感性,要求探针要有较大的长度;而为了缩短检测时间,降低序列复杂性和分子量,有效分辨单碱基突变,则需要探针的长度必须在一定范围之内。DNA 探针面临的一个难题就是如何提高亲和力,使得它与靶分子形成稳定的杂交体^[19,20]。这就意味着需要增加探针的长度,但这不仅会增加其复杂性,扩散速度变慢,杂交时间延长,而且很有可能出现分子间或分子内的杂交,从而产生抑制杂交的“发夹”结构。由于 PNA 较 DNA 能与核酸形成更稳定的杂交体^[3,7],所以在探针设计时既能满足杂交稳定性,也具有很高的特异性。通常 PNA 探针的长度一般在 12~15mer,DNA 探针的长度则一般在 25~40mer。利用短片段高含量的嘧啶 PNA 与高含量的嘌呤 DNA 能形成稳定的三链结构^[3,7]。例如 PNA T₇ 和 DNA A₇ 能形成三链,其热温度性达 63.3℃。假定核酸链中 GC 的含量为 50%,则 7nt 这样的序列当核酸的长度超过 16.4kb 时就会出现,因此利用这个小的 PNA 探针能捕捉大的核酸片段。

单碱基突变存在于多种遗传病中,单碱基突变的快速准确的检测是及其重要的。由于 PNA 探针可设计得比 DNA 探针短些,对 PNA 探针来说,完全匹配和单碱基错配的 T_m 间的差别比相应的 DNA 探针更大些,因此更能有效地分辨单碱基的差异。Arlinghaus^[21]、Timothy 等^[22] 分别以不同的实验利用 PNA 探针检测了单碱基的突变,证明 PNA/DNA 间的错配比 DNA/DNA 间的错配 T_m 值有明显的降低,因此 PNA 探针对单碱基突变的识别力比 DNA 探针更强。

4.2 探针浓度的比较

一般地,杂交速率随着探针浓度的增加而增加,在较宽的范围内,灵敏度也随着探针浓度的增加而增加。用³²P 标记探针进行杂交时,其灵敏度的浓度范围大约是 1~100ng/mL,非放射性标记的探针为 25~1000ng/mL。但浓度超过一定数值后,其敏感性不会再增加,只会增加背景反应。还要注意的是当被检测的拷贝数高时,探针浓度可以降低一点,相反则要高一点。Thisted 等^[23] 根据 PNA 和 DNA 在组织化学原位杂交的比较研究中发现,用 DNA 和 PNA 探针以及标准的步骤来检测免疫球蛋白,与 DNA 寡聚核苷酸探针相比,PNA 产生的信号比较弱。但通过 PNA 探针优化,PNA 与靶核酸的杂交更快,而且可以设计更方便的方案。在不减少信号强度的条件下,与相应的 DNA 寡核苷酸相比,所用 PNA 探针浓度可降低。

4.3 杂交溶液的离子强度比较

PNA 探针与 DNA 探针相比的一个很重要的优点就是 PNA-核酸杂交体的 T_m 几乎与离子强度无关。这点是 DNA 探针不可比拟的。DNA 探针必须在高离子强度的条件下,这样其中的正离子可中和 DNA 磷酸基团的负电荷,从而消除核酸分子之间的静电排斥力,有利于杂交。在低离子强度下,DNA 探针与靶核

酸杂交非常缓慢,随着离子强度的增加,杂交反应速率加快。但是在离子强度增大的同时,核酸靶分子也形成了二级或三级结构,这会障碍靶分子与探针的接近与杂交。PNA 探针能在低离子强度或者无盐的缓冲溶液中杂交,这样就降低了 DNA 靶分子形成二级或三级结构的潜在可能性。而且省掉了除盐的步骤^[2]。无论用 DNA 作为探针还是用 PNA 作为探针检测单碱基突变,都可根据杂交信号的比值得到正确的杂交结果。而 PNA 作为探针时对盐浓度的要求更低,杂交信号更强,阴性、阳性探针信号强度的对比也更强烈;DNA 做探针时为得到相对较好的结果,对洗脱条件的要求更苛刻。离子强度可以成为设计 PNA 探针的一个重要的调节参数,从而达到与杂交液中 DNA 和 RNA 的竞争杂交。表 4 为盐浓度对不同杂交复合物的影响。

表 4 盐浓度对不同杂交复合物的影响
Table 4 Salt concentration's impact on hybrid system

NaCl/(mmol/L)	T_m 15℃ PNA/DNA	T_m 15℃ DNA/DNA
0	72	38
140	72	56
1000	65	65

条件:15merPNA 及 15merDNA 与 15mer 互补 DNA 杂交;10mmol/L 磷酸缓冲液,pH 为 7.0。

4.4 杂交温度、时间及其它杂交条件的比较

影响杂交的因素很多,但主要是时间,温度及缓冲液的盐浓度。如果是表达检测,需要长历时,低温和高盐条件的杂交。而如果是突变检测,需要短历时,高温和低盐条件高严谨性杂交。总之,杂交条件的选择要根据探针的长短及其本身的用途来定。

DNA 探针杂交通常要在高温反应条件下进行,其反应的最大速度是在低于 T_m 值约 25℃。然而对于那些反应时间需要延长,或对生物活性必须保护的复杂生物的核酸研究(如哺乳动物),核酸长时间处于高温下很显然是不利的。这会引起核酸链的断裂、胶嘌呤的作用,结合到膜上的 DNA 脱落也会增多。这个问题可以通过使用高浓度盐溶液(如 6.2M NaCl),或使用某些有机溶剂(如甲酰胺和二甲亚砜(DMSO))的水溶液降低反应温度来解决。

与采用单链 DNA 探针相比,PNA 探针的使用,使得对杂交条件具有更大的选择范围。值得注意的是,探针参数的优化可能会影响 PNA-DNA 界面之间双链体形成的动力学和效率。所以除了考虑杂交液的条件外,还要考虑到杂交温度(用于调整其选择性)和杂交时间(用于降低极限检测限度)。

在条件都得到满足的情况下,杂交的成败就取决于保温时间。时间短了,杂交反应不完成;时间长了也无益,会引起非特异结合增多。杂交时间与探针复杂性成正比,与探针长度和溶液中探针浓度成反比。可以看出探针的复杂性越大杂交时间就越长,非特异结合增多,不准确。这就说突显出 PNA 探针杂交的快速性。

5 DNA 探针和 PNA 探针在生物传感器应用上的比较

生物传感器是利用生物识别性质进行选择生物分析的装置。核酸识别的使用是生物传感器技术中的一个相对新的且令人鼓舞的研究领域^[24~26]。核酸识别的基础是 DNA 的碱基配对原则。通常是将合成 25~40mer 的寡核苷酸(探针)固定在物理转换器上。对 DNA 杂交装置传感器来说,高度选择性是核心。它取决于 DNA 探针对靶序列的特异选择性和杂交条件(主要是温度)。目前人们致力将 DNA 生物传感器用于与疾病相关的点突变序列的检测,但大多数 DNA 生物传感器还达不到单碱基错配的辨别。PNA 的发现,为 DNA 生物传感器的发展提供了另外一个崭新的生长点。由于 PNA 分子独特的性质,PNA 的引入可以明显的改善生物传感器的序列识别能力,对于十分相近的序列的分辨率也提高了许多,且具有较大自由的实验杂交条件选择。这些在 PNA/DNA 杂交过程的电化学转换^[27]以及其它类型生物传感器^[28,29]中都有体现。由于 PNA 分子结构的特殊性,可以实施无指示剂的检测策略。如电化学策略可用于检测被杂交的 DNA 靶标的糖基(PNA 中不存在糖基),也可以利用靶标鸟嘌呤碱基的电话性并再采用无鸟嘌呤(肌苷代替)的 PNA 碱基等来实行无指示剂的检测。Ok-Ridge National Laboratory 研究员了解到 PNA 探针不含

磷元素,基于对 DNA 靶标骨架上的磷监测可实现非标记的质谱杂交检测。研究结果表明,互补的和非互补的序列间有着非常好的分辨力,硅芯片上的 PNA 探针阵列对单碱基点突变的分辨力增强^[29]。另外,由于 PNA 与 DNA 所带电荷差异以及它们的吸附行为的显著差异,可通过选择合适的电极电位以减少非特异 DNA 吸附^[30]。目前由于量子点在生物检测方面的应用日趋成熟,量子点与 DNA 探针结合的研究已成上升趋势^[31~34]。但量子点与 PNA 探针结合的研究还未见报道。

6 展望

基于以上的 PNA 与 DNA 的比较,PNA 探针在许多方面优于 DNA 探针。但 PNA 探针的研究还不如 DNA 探针的研究成熟,还有许多问题需解决,如:如何解决 PNA 自身的聚集问题和水溶性问题,怎样降低合成成本和提高产率,以及在与核酸修饰酶作用时不能作为底物被识别^[35]等问题。而这些问题也引出了一些研究热点,如 PNA 的修饰,PNA/DNA 嵌合体^[36]等。现在国内也有许多学者从事 PNA 的研究,Wang 等^[37]采用新思维利用缩合反应合成 PNA。耿淼等^[38]建立肽核酸(CPG-PNA)的合成、纯化和分析鉴定。周海清等^[39]运用荧光和紫外吸收光谱研究了 Ru(bipy)2(dppz)²⁺和苯胺红 T 两种荧光试剂与 PNA-DNA、dsDNA 之间的相互作用。姚珂^[40]等探讨发现反义端粒酶肽核酸(PNA)片段具有抑制肺癌细胞株端粒酶活性的作用,并可抑制肺癌细胞的生长。我们有理由相信随着对肽核酸骨架的修饰以及碱基类似物的开发^[41],再加上一些新型的用于核酸检测的荧光报告分子的不断涌现^[42,43],将引领 PNA 探针更具魅力。

参考文献:

- [1] Tang K, Fu D, Kotter S, et al. Nucl Acids Res, 1995, 23, 3126~3131.
- [2] Jurinke C, Van den Bomm D, Jacob A, et al. Anal, Biochem, 1996, 237, 174~181.
- [3] Nielsen P E, Egholm M, Berg R H, et al. Science, 1991, 254, 1497~1500.
- [4] Egholm M, Buchardt O, Christiansen L, et al. Nature, 1993, 365, 566~568.
- [5] Ørum H, Nielsen P E, Jørgensen M, et al. Biotechniques, 1995, 19, 472~479.
- [6] Egholm M, Buchardt O, Christiansen L, et al. Nature, 1993, 365, 566~568.
- [7] Egholm M, Nielsen P E, Buchardt O, et al. J Am Chem Soc, 1992, 114, 9677~9678.
- [8] Cherny D Y, Belotserkovskii B P, Frank-Kamenetskii MD, et al. Proc. Natl Acad Sci USA, 1993, 90, 1667~1670.
- [9] Nielsen P E, Egholm M, Buchardt O. J Mol Recog, 1994, 7, 164~170.
- [10] Peffer N J, Hanvey J C, Bisi J E, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 1993, 90, 10648~10652.
- [11] Merrifield R B. J Am Chem Soc, 1963, 85, 2149~2154.
- [12] Merrifield R B. Science, 1986, 232, 341~347.
- [13] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular Cloning. A laboratory manual, 2nd ed. Cold spring Harbor Laboratory, Cold spring Harbor, NY. 1989.
- [14] Pearson B P, Kemp B E. Protein Meth Enzymol, 1991, 200, 62~81.
- [15] Koch T, Naesby M, Wittung P, et al. Tetrahedron Lett, 1995, 36, 6933~6936.
- [16] Noble S A, Bonham M A, Bisi J E, et al. Drug Devel Res, 1995, 34, 184~195.
- [17] <http://www.BostonProbes.com>.
- [18] Gildea B D, Casey S, MacNeill J, et al. Tetrahedron Lett, 1998, 39, 7255~7258.
- [19] Fry G, Lachenmeier E, Mayrand E, et al. Biotechniques, 1992, 13, 124~131.
- [20] Soh J, Pestka S. Meth Enz, 1992, 216, 186~196.
- [21] Arlinghaus H F, Kwoka M N, Jacobson K B. Anal Chem, 1997, 69(18), 3747~3753.
- [22] Timothy J G, Wei T, Lloyd M S, et al. J Nature biotech, 1997, 15, 1368~1372.
- [23] Thisted M, Just T, Pluzek K J, et al. Cell Vision, 1996, 3, 358~363.
- [24] Hiroshi A, Yoshio U. Electroanalysis, 2002, 19-20, 1405~1410.
- [25] Brandt O, Hoheisel JD. Trends Biotechnol, 2004, 22, 617~622.
- [26] Wang J, Rivas G, Cai X, et al. Anal Chim Acta, 1997, 347, 1.
- [27] Wang J, Palecek E, Nielsen P, et al. J Am Chem Soc, 1996, 118, 7667.
- [28] Corradini R, Feriotto G, Sforza S, et al. J Mol Recog, 2004, 17, 76~84.

- [29] Arlinghaus H J, Kwoka M, Jacobson K. Anal Chem, 1997, 69:3747.
- [30] Fojta M, Vetteri V, Tomschil M, et al. Biophyscial J, 1997, 72:2285.
- [31] Mahtab R, Murphy C J. Methods in molecular biology. Humana Clifton, N. J., 2005, 303:179~190.
- [32] Kulkarni S K, Ethiraj A S, Kharrazi S, et al. Biosens Bioelectron, 2005, 21 (1): 95~102.
- [33] Dyadyusha L, Yin H, Jaiswal S, et al. Chem Commun, 2005, 25:3201~3203.
- [34] Crut A, G ron-Landre B, Bonnet I, et al. Nucleic Acids Research, 2005, 33 (11): e98.
- [35] Uhlmann E, Peyman A, Breipohl G, et al. Angew Chem Int Ed Engl, 1998, 37:2796~2823.
- [36] Bergmann F, Bannwarth W, Tam S. Tetrahedron Lett, 1995, 36: 6823~6825.
- [37] Wang W H, Zou X M, Zhang X, et al. Chin Chem Lett, 2005, 16(5):585~588.
- [38] 耿森, 吴玉章, 周伟, 等. 免疫学杂志. 2005, 21(1):64~65, 68.
- [39] 周海清, 沈鹤柏, 周文骏, 等. 上海师范大学学报 (自然科学版), 2004, 33 (2):78~82.
- [40] 姚珂, 闵家新, 张国强, 等. 中国肺癌杂志, 2004, 7(3):196~198.
- [41] Dilek I, Madrid M, Singh R, et al. J Am Chem So, 2005, 127: 3339~3345.
- [42] Raymond F R, Ho H A, Peytavi R, et al. BMC Biotechn, 2005, 5: 10.
- [43] Gaylord B S, Heeger A J, Bazan G C. PNAS, 2002, 99(17):10954~10957.

A Systemic Comparison between PNA Probe and DNA Probe

ZHANG Bing-bo, CHANG Jin^{*}, YANG Yong, ZHANG Qi, LI Shuang-yan

(*Institute of Nanobiotechnology, School of Materials Science & Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China*)

Abstract: Peptide nucleic acid (PNA) with peptide linkages as its backbone is a brand new kind of compounds which are developed in recent years. It is an analog of DNA in molecular structure. PNA can hybridize DNA and RNA specifically, thus it can be used as probes. Compared with traditional DNA probes, PNA probes enjoy higher hybrid-stabilization, better specificity, and it can hybridize target substance under low salt ion concentration. This paper makes a systemic comparison between PNA probe and DNA probe in the aspects of probes preparation, hybridization specificity, hybridization kinetics and biosensors applications.

Key words: PNA; DNA; Probe; Hybrid; Systemic comparison