

10 $\mu\text{mol/L}$ retinoic acid, the level of sulfated lactosyl ceramide on the cell surface was significantly reduced ($P < 0.05$) to the level closing to the low metastatic hepatocarcinoma cells. The level of galactocerebroside which was the precursor of sulfated lactosyl ceramide did not change significantly. This indicated that the sulfation was inhibited after retinoic acid treatment. Therefore the cerebroside sulfotransferase gene were transferred into hepatocarcinoma cells and selected sulfated lactosyl ceramide highly-expressed clones. Through adhesive assay, it was observed that the control cells were quite poor in adhesive to vitronectin and laminin, the transfected cells were significantly enhanced in the adhesion to vitronectin and laminin. After 45 minute incubation, the adhesive percentage of the cells was 3~4 time higher in CST-transfected cells than those in control cells. By animal experiments there were more metastatic foci in the liver or lymph nodes in CST-transfected groups than the control ($P < 0.05$). The results suggested that the high expression of SM3 in hepatocarcinoma cells promoted metastasis in nude mice and enhanced the adhesion to vitronectin.

Key words sulfated lactosyl ceramide, cerebroside sulfotransferase, hepatocarcinoma metastasis

* This work was supported by grants from The National Natural Sciences Foundation of China (30070183) and Key Subject Foundation of Shanghai Municipal Education Committee (B9808010).

** Corresponding author. Tel: 86-21-54278329, E-mail: xz_wu@shmu.edu.cn

Received: November 8, 2002 Accepted: December 28, 2002

知识与动态

锁核酸的特点及其应用

李生茂^{1,2)} 徐 祥¹⁾ 梁华平¹⁾ 李 磊¹⁾

(¹⁾第三军医大学大坪医院野战外科研究所一室, 重庆 400042; ²⁾武警青海总队医院外科, 西宁 810000)

近期, 锁核酸 (locked nucleic acid, LNA) 作为一种新颖的核苷酸衍生物在药学研究领域引起了人们的广泛关注, 有希望成为分子水平治疗各种疾病的新突破口. 它是一种特殊的双环状核苷酸衍生物, 结构中含有一个或多个 2'-O, 4'-C-亚甲基- β -D-呋喃核糖核酸单体, 核糖的 2'-O 位和 4'-C 位通过不同的缩水作用形成氧亚甲基桥、硫亚甲基桥或胺亚甲基桥, 并连接成环形, 这个环形桥锁定了呋喃糖 C3'-内型的 N 构型, 降低了核糖结构的柔韧性, 增加了磷酸盐骨架局部结构的稳定性. 由于 LNA 与 DNA/RNA 在结构上具有相同的磷酸盐骨架, 故其对 DNA、RNA 有很好的识别能力和强大的亲和力. 与其他寡核苷酸类似物相比, LNA 有很多优点: a. 和 DNA、RNA 互补的双链有很高的热稳定性 ($\Delta T_m = 3 \sim 8^\circ\text{C}$); b. 抗 3' 脱氧核苷酸酶降解的稳定性; c. LNA-DNA 杂交物能激活 RNase H; d. 水溶性好, 自由穿入细胞膜, 易被机体吸收; e. 体内无毒性作用; f. 高效的自动寡聚化作用, 合成方法相对简单, 部分或完全修饰的 LNA 寡核苷酸链可用氨基磷酸法在 DNA 自动合成仪上合成.

正因为 LNA 具有以上无可比拟的优点, 人们对它产生了浓厚的兴趣, 并将其运用于基因研究的各个领域以及疾病的诊断和治疗的研究中. LNA 与 DNA 结合后, 可对靶 mRNA 序列进行专一性的降解, 或通过“基因封条作用”抑制基因的表达. 利用 LNA 对互补 RNA 或 DNA 序列有高

度的亲和力这一特性, 可以用合成的寡核苷酸去识别细胞内的核苷酸靶体, 从而提高人们对细胞进程的控制能力, 还可用来抑制或阻断肿瘤基因的表达, 使肿瘤细胞发生凋亡. 也可将 LNA 引入到圈套寡核苷酸的设计中. 在 κB 序列的外端加上 LNA 碱基, 产生 LNA-DNA-LNA 复合聚合体, 能够有效地保护 κB 不被核酶降解, 且不干扰 κB 序列与转录因子的结合. 利用纯 LNA 寡聚体对杂交的高亲和力, 可以提高 DNA 微阵列技术和 DNA 诊断技术. 如 LNA 寡核苷酸捕获探针可运用于基因错配鉴定中, 也可用来同时进行大批病人的基因分型, 配合 PCR 技术, LNA 可检测 DNA 序列中的点突变. 可见 LNA 作为反义药物具有美好的发展前景, 它似乎能替代目前各类 DNA/RNA 类似物在疾病研究、诊断和治疗中的应用. 人们可以利用 LNA 的特点, 来开发一个具有更高性能的生物技术平台. 例如, 适当设计 LNA 寡聚体, 充当“生物导弹”, 通过“链侵入”的方式, 直接或序列选择性地结合于双链 DNA, 这样能大大简化目前的 DNA 诊断模式. 更重要的是开发 LNA 药物, 不仅是针对靶 mRNA (反义治疗), 而且针对基因本身 (反基因治疗). 我们相信, 随着对 LNA 的各项研究的深入, 它的更多的优点将被展现出来, 成为核酸识别、基因化学研究及诊断和治疗肿瘤、炎症、病毒感染、心血管疾病等不治之症的有效工具.