ペプチド核酸配列解析法の開発

(名大院工) 樫田啓・○清水優香・香川恵未莉・牧野航海・東秀憲・浅沼浩之

Development of a sequencing method for PNA

(*Graduate School of Engineering, Nagoya University*) Hiromu Kashida , OYuka Shimizu , Emiri Kagawa , Koki Makino , Hidenori Azuma , Hiroyuki Asanuma

Peptide nucleic acid (PNA) is one of the most promising xeno nucleic acids (XNAs) since it can form a stable duplex with natural nucleic acids. However, it has been difficult to develop PNA aptamer because there is no method to analyze sequences of PNA. In contrast, we have succeeded in development of a sequencing method for serinol nucleic acid (SNA) by using a stable duplex formation between SNA and DNA. This method would be applicable to other XNAs that can cross-hybridize with DNA. In this study, we aimed to use this method to analyze sequences of PNA. As a result, PNA sequences were successfully revealed by using PCR and next-generation sequencer (NGS). In this presentation, we will also present sequencing data of PNA containing non-natural nucleobases.

Keywords: Artificial nucleic acid; Peptide nucleic acid; Sequencing

ペプチド核酸 (PNA) は電荷をもたない人工核酸であり(Fig. 1)、天然核酸と安定な二重鎖形成が可能であるため、ナノマテリアルや核酸医薬として期待されている ¹⁾。しかしながら、PNA の配列解析法はこれまでに報告されていないため、PNA を利用したアプタマーの開発は困難であった。それに対し当研究室では、セリノール核酸 (SNA) ²⁾が DNA と安定な二重鎖を形成することを利用し、SNA の配列を解析することに成功した。この手法は DNA と二重鎖形成可能であれば、

Fig. 1. Chemical structures of SNA and PNA.

様々な人工核酸に適用可能であると考えられる。そこで本研究ではこの手法を利用することで、PNA の配列を解析する手法の開発を目指した。この手法が確立できれば機能性 PNA アプタマーの開発が期待できる。

末端をビオチン修飾した PNA とランダム配列を持つ DNA を二重鎖形成させ、磁気ビーズ上に固定化した。その後、溶出された DNA を PCR で増幅し、次世代シーケンサーで配列解析を行った。その結果、元の PNA 配列と相補的な DNA 配列が得られることが分かった。以上のことより、本手法を利用することによって PNA の配列解析が可能であることが分かった。本講演では、更に人工塩基導入 PNA の配列解析についても報告する予定である。

- 1) P.E. Nielsen et al., Science, 1991, 254, 1497-1500.
- 2) H. Kashida et al., Angew. Chem. Int. Ed., 2011, 50, 1285-1288.