

PNA 配列解析における修飾塩基の影響の検討

(名大院工¹・名大院理²) ○稲垣 和真¹・愛場 雄一郎²・荘司 長三²・浅沼 浩之¹・檜田 啓¹

Investigation of effects of modified nucleic bases on PNA sequencing (¹Graduate School of Engineering, Nagoya University, ²Graduate School of Science, Nagoya University) ○Inagaki Kazuma¹, Yuichiro Aiba,² Osami Shoji,² Hiroyuki Asanuma¹, Hiromu Kashida¹

Sequencing methods are essential for the development of enzymes and aptamers composed of xeno nucleic acids (XNAs). However, there is no general method to analyze XNA sequences. In the previous study, we have developed a new method to sequence peptide nucleic acid (PNA). Since this method does not require enzymatic reactions, it can be used to analyze PNA bearing various non-natural bases. In this study, we analyzed PNA sequences containing new artificial thymine derivatives. As a result, sequences of these PNA could be analyzed by using our method. In the presentation, we will also report sequencing results of PNA bearing other derivatives.

Keywords : Artificial nucleic acid, Peptide nucleic acid, Artificial base, Sequencing, Next generation sequencing

人工核酸による酵素やアプタマーの開発を行うためには、配列解析が必須である。しかしながら、従来の配列解析法では適用可能な人工核酸の化学構造が大幅に制限されていた。それに対し、当研究室では二重鎖形成を利用することで人工核酸の配列を解析する新しい手法を開発した。この手法を利用することで、ペプチド核酸 (PNA)¹⁾の配列解析が可能であることを明らかにした。さらに本手法は酵素による伸長を必要としないため、様々な人工塩基を導入した PNA の配列解析が期待できる。

そこで本研究では、Fig.1 に示す様々な人工塩基を導入した PNA の配列解析を試みた。具体的にはチミン誘導体であるピレニルウラシル (U_p) やシアヌル酸 (Y) 導入 PNA の配列解析を行った。これらを導入し、かつ末端をデオチン修飾した 10mer の PNA を、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、二重鎖形成した DNA 配列を溶出し、PCR で増幅して次世代シーケンサーによる配列解析を行ったところ、これらの PNA の配列解析が可能であることがわかった。本発表ではその他の人工塩基導入 PNA の配列解析結果についても併せて報告する予定である。

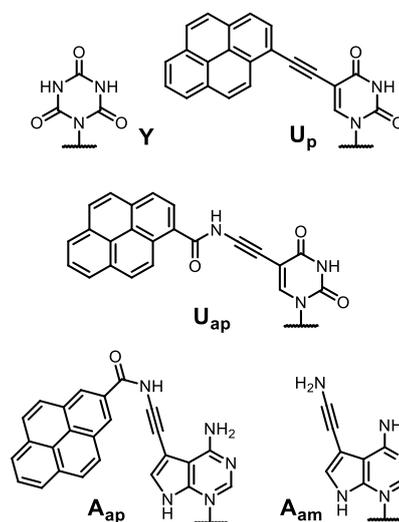


Fig. 1. Chemical structures of artificial nucleic acids used in this research.

- 1) P.E. Nielsen, M. Egholm, R.H. Berg, O. Buchardt, *Science*, **1991**, 254, 1497-1500.