

## 細胞内環境における pcPNA/DNA 複合体形成の確立

(東京工科大院工<sup>1</sup>・東京工科大院・バイオ・情報メディア<sup>2</sup>)○中澤 和那<sup>1</sup>・須磨岡 淳<sup>1</sup>・松井 毅<sup>2</sup>

Establishment of pcPNA/DNA complex formation in the intercellular environment

(<sup>1</sup>Graduate School of Engineering, Tokyo University of Technology, <sup>2</sup>Graduate School of Bionics, Computer and Media Science, Tokyo University of Technology)

○Yasuna Nakazawa<sup>1</sup>, Jun Sumaoka<sup>1</sup>, Takeshi Matsui<sup>2</sup>

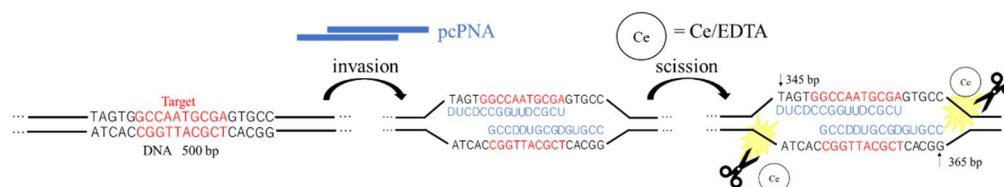
PNA is known to form stable PNA/DNA double-strands with DNA. Furthermore, among the forms of dsDNA recognition by PNA, double-duplex invasion, in which two PNAs invade dsDNA, recognizes a wide range of sequences. However, the problem is that PNA/PNA is preferentially formed because the two PNAs are complementary. Therefore, pcPNA was developed by replacing bases A and T with 2,6-diaminopurine (D) and 2-thiouracil (U) to make PNA/DNA more stable. Ce(IV)/EDTA was found to hydrolyze ssDNA much faster than dsDNA. By combining pcPNA and Ce(IV)/EDTA, we have succeeded in developing an artificial restriction endonuclease (ARCUT) that selectively cleaves dsDNA in vitro experiments.

In this study, we aimed to make ARCUT functional in cells. If ARCUT can function in vivo, it is expected to contribute to the elucidation of various biological phenomena. In this presentation, we will report the cleavage reaction of ARCUT targeting the human SASPase gene in vitro, and the results of administration of pcPNA and ARCUT to cells using lipofection and electroporation methods.

**Keywords :** PNA, double-duplex invasion, Ce(IV)

ペプチド核酸(PNA)は、DNA と安定な PNA/DNA 二本鎖を形成することが知られている。さらに、PNA による dsDNA 認識形態の中でも dsDNA に二本の PNA が侵入する double-duplex invasion は広範な配列を認識する。しかし二本の PNA は相補的な配列のため PNA/PNA が優先して形成されることが問題である。そこで PNA/DNA がより安定となるように塩基 A と T を 2,6-diaminopurine(D)と 2-thiouracil(U)に置き換えた pcPNA が開発された。また Ce(IV)/EDTA は dsDNA よりも ssDNA を圧倒的に速く加水分解することが見出された。以上の pcPNA と Ce(IV)/EDTA を併用することで、*in vitro* の実験において dsDNA を選択的に切断する人工制限酵素(ARCUT)の開発に成功している<sup>1)</sup>。

本研究では、細胞内において ARCUT を機能させることを目的とした。もし、ARCUT を *in vivo* で機能させることが出来れば、様々な生命現象の解明に貢献できると期待される。発表では、ヒト SASPase 遺伝子を標的とする ARCUT の *in vitro* における切断反応、リポフェクション法やエレクトロポレーション法を用いた pcPNA および ARCUT の細胞への投与結果について報告する。



1) Artificial restriction DNA cutter for site-selective scission of double-stranded DNA with tunable scission site and specificity. M. Komiyama, Y. Aiba, Y. Yamamoto and J. Sumaoka, Nat Protoc, **2008**, 3, 655-662