เพพไทด์นิวคลีอิกแอซิดเป็นโมเลกุลสังเคราะห์ชนิดใหม่ที่เลียนแบบดีเอ็นเอ ซึ่งมีศักยภาพสูงในการประยุกต์ใช้ทางด้านการตรวจวินิจฉัยและรักษาโรคที่เกี่ยวเนื่องกับพันธุกรรมเนื่องจากความแข็งแรงและความจำเพาะเจาะจงของการจับยึดของมันกับกรดนิวคลีอิก เป้าหมายของงานวิจัยนี้คือการพัฒนาวิธีการสังเคราะห์พิร์โรลิดินิลพีเอ็นเอที่ติดฉลากด้วยประจุถาวรหรือสารเรืองแสงเพื่อนำไปใช้เป็นโพรบสำหรับการตรวจสอบลำดับเบสของดีเอ็นเอ ผลการศึกษายังนำไปสู่การพัฒนาวิธีการใหม่สำหรับการเตรียมตัวอย่างดีเอ็นเอเพื่อการวิเคราะห์ โดยอาศัยหลักการดูดซับของพีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอไฮบริดซึ่งมีประจุลบบนตัวแลกเปลี่ยนแอนไอออนด้วยแรงระหว่างประจุ ผลการตรวจวิเคราะห์พีเอ็นเอที่ถูกดูดซับโดยเทคนิคแมสสเปกโตรเมตรีหรือฟลูออเรสเซนส์ไมโครสโคปีขึ้นอยู่กับชนิดของฉลากที่ใช้จะเป็นตัวบ่งชี้ว่าเกิดการไฮบริไดซ์ระหว่างพีเอ็นเอโพรบและดีเอ็นเอเป้าหมายหรือไม่ ด้วยวิธีนี้จะสามารถทราบลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมายได้จากลำดับเบสของพีเอ็นเอโพรบ ด้วยความจำเพาะเจาะจงที่สูงของเทคโนโลยีพีเอ็นเอที่ใช้นี้ทำให้สามารถบอกความแตกต่างของดีเอ็นเอเป้าหมายความยาวระหว่าง 9-15 เบสที่มีเบสผิดกันเพียงตำแหน่งเดียวได้อย่างชัดเจนที่อุณหภูมิห้องโดยไม่ต้องอาศัยเอนไซม์ช่วย โดยอาศัยหลักการนี้ได้พัฒนาระบบสำหรับการทำจีโนไทป์ของซิงเกิลนิวคลีโอไทด์พอลิมอฟิซึม (SNP) เป็นผลสำเร็จ เทคนิคใหม่นี้ใช้ดีเอ็นเอตัวอย่างที่ผ่านการเพิ่มจำนวนโดยเทคนิคพีซีอาร์มาตรฐานโดยไม่ต้องมีการติดฉลากด้วยไบโอติน ดังนั้นมันจึงเป็นเทคนิคที่มีต้นทุนต่ำและเหมาะสมกับการตรวจวินิจฉัยในรูปแบบ high throughput

210499

Peptide nucleic acid (PNA) is a new class of DNA mimic, which is potentially useful for diagnostic and therapeutic applications due to its high affinity and specificity of binding to target nucleic acids. The goal of this work is to develop a synthetic method for charged and fluorescent labeled pyrrolidinyl PNA in order to be used as probes for DNA sequence detection. The study lead to development of a new method for DNA sample preparation for the analysis, in which the negatively charged PNA·DNA hybrid was electrostatically absorbed by an anion exchange support in preference to the electronically neutral unhybridized PNA. The presence of the absorbed PNA on the support, which could be detected by mass spectrometry or fluorescence microscopy depending on the type of label used, indicated that the hybridization between the PNA probe and the DNA target had occurred. The sequence of the DNA could be inferred from the sequence of the probe. With the high specificity of this new PNA-based technology, single mismatches in 9-15 bases target DNA sequences were readily distinguished at room temperature without the need for enzymatic treatment. Based on this principle, a prototype for genotyping of single nucleotide polymorphisms (SNP) has been successfully developed. The technique used only standard PCR-amplified DNA samples without the need for biotin labeling therefore it should be very cost effective and suitable for high throughput screening.