

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: RTA5280002

ชื่อโครงการ: การสังเคราะห์ สมบัติ และการประยุกต์ใช้เบต้าพิโรลิดีนิลเพปไทด์นิวคลีอิกแอซิดที่มีคอนฟอร์เมชันถูกจำกัด

ชื่อนักวิจัย: วีรยุทธ วิไลวัลย์และคณะ

E-mail address: vtirayut@chula.ac.th

ระยะเวลาของโครงการ: 3 ปี (1 สิงหาคม 2552 - 31 กรกฎาคม 2555 ขยายระยะเวลาเพิ่มเติมถึง 31 มกราคม 2556)

เพปไทด์นิวคลีอิกแอซิดหรือพีเอ็นเอเป็นสารสังเคราะห์เลียนแบบดีเอ็นเอที่มีโครงหลักคล้ายเพปไทด์ซึ่งมีความเป็นกลางทางไฟฟ้า และสามารถจับยึดกับดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอเป้าหมายได้อย่างจำเพาะเจาะจงตามกฎการเข้าคู่เบสของวัตสัน-คริก จากความสำเร็จที่ผ่านมาในการพัฒนาเพปไทด์นิวคลีอิกแอซิดชนิดใหม่ที่มีคอนฟอร์เมชันที่ถูกจำกัดโดยมีโครงหลักเป็นกรดแอลฟาและเบต้าอะมิโนเรียงสลับกันที่ได้มาจากโพรลีนและกรดเบต้าอะมิโนที่เป็นวงแหวน เช่น(2R,4R)-โพรลิล/(1S,2S)-2-อะมิโนไซโคลเพนเทนคาร์บอกซิลิก แอซิด (เอซีพีซีพีเอ็นเอ) ในงานวิจัยนี้จะมุ่งเน้นไปที่การออกแบบ สังเคราะห์ ศึกษาสมบัติ และการนำไปประยุกต์ใช้ของพีเอ็นเอระบบใหม่ในกลุ่มนี้ การปรับเปลี่ยนโครงสร้างและสเตอริโอเคมีของส่วนโครงหลักอย่างเป็นระบบทำให้พบระบบพีโรลิดีนิลพีเอ็นเอใหม่ๆ ที่บางชนิดแสดงสมบัติการเข้าคู่เบสที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว และแตกต่างไปจากเอซีพีซีพีเอ็นเอ นอกจากนี้ ยังได้พัฒนาวิธีการใหม่ในการตัดแปลงเอซีพีซีพีเอ็นเอด้วยเบสที่ไม่พบในธรรมชาติ และฉลากเรืองแสงในลักษณะที่ควบคุมตำแหน่งของการติดฉลากได้ และได้แสดงตัวอย่างการนำไปใช้เป็นโพรบเรืองแสงที่สามารถตอบสนองต่อการเกิดไฮบริดกับดีเอ็นเอเป้าหมาย และยังได้นำเอซีพีซีพีเอ็นเอไปประยุกต์ใช้เป็นโพรบสำหรับตรวจสอบลำดับเบสของดีเอ็นเอที่มีความไวและความจำเพาะเจาะจงสูงโดยใช้ร่วมกับเด็นทริเมอร์เรืองแสง กระดาษกรองที่เคลือบด้วยพอลิเมอร์ที่มีประจุบวก อนุภาคแม่เหล็กขนาดนาโนที่เคลือบด้วยพอลิเมอร์ที่มีประจุบวก และระบบคาปาซิทีฟ อย่างไรก็ตาม แม้ว่าการตรวจสอบลำดับเบสที่พัฒนาขึ้นจะให้ผลดีเป็นที่น่าพอใจกับตัวอย่างที่เป็นโอลิโกดีออกซีนิวคลีโอไทด์สังเคราะห์เป็นส่วนใหญ่ แต่ก็ยังต้องมีการพัฒนาต่อไปในการนำไปใช้กับตัวอย่างดีเอ็นเอจริงซึ่งอยู่ในสภาพที่เป็นสายคู่ และมักจะมีควมยาวมากกว่าตัวโพรบค่อนข้างมาก

คำสำคัญ: DNA, PNA, fluorescence, genotyping, diagnostic

Abstract

Project Code : RTA5280002

Project Title : Synthesis, properties and applications of conformationally constrained beta-pyrrolidinyl peptide nucleic acids

Investigators : Tirayut Vilaivan and co-workers

E-mail Address : vtirayut@chula.ac.th

Project Period : 3 years (1 August 2009 - 31 July 2012 extended to 31 January 2013)

Peptide nucleic acid or PNA is a type of DNA mimic with electrostatically neutral peptide-like backbone that can bind strongly and specifically to DNA and RNA targets following Watson-Crick base pairing rules. Based on our previous success in developing a new class of conformationally-constrained peptide nucleic acid bearing alternating alpha-/beta-peptide backbone derived from proline and cyclic beta-amino acids such as (2*R*,4*R*)-prolyl/(1*S*,2*S*)-2-aminocyclopentanecarboxylic acid (acpcPNA), this research focuses on designing, synthesis, properties studies and applications of these new PNA systems. Systematic variation of the structure and stereochemistry of the backbone lead to several other new pyrrolidinyl PNA systems, many of which exhibit unique pairing properties that are different from acpcPNA. In addition, new chemistries have been developed to incorporate artificial nucleobases and fluorescence labels to acpcPNA in a site specific fashion and their applications as hybridization-responsive fluorescence probes have been demonstrated. Applications of acpcPNA as a probe in combination with fluorescence dendrimers, cationic polymer-coated filter papers, cationic polymer-coated magnetic nanoparticles and capacitive system for DNA sequence determination with high sensitivity and specificity have also been demonstrated. Although excellent results were obtained with synthetic oligodeoxyribonucleotide in most cases, improvements are still required with respect to applications to real DNA samples which are double-stranded and usually much longer than the probes.

Keywords: DNA, PNA, fluorescence, genotyping, diagnostic