

รหัสโครงการ : MRG5180025
ชื่อโครงการ : การสังเคราะห์และศึกษาสมบัติการจับยึดกับกรดนิวคลีอิกของฟีโรลิดีนเพปไทด์นิวคลีอิก
แอซิดชนิดใหม่ที่มีสะพานเชื่อมเป็น 3-อะมิโนฟีโรลิดีน-4-คาร์บอกซิลิกแอซิด
ชื่อนักวิจัยและสถาบัน : 1. นายจตุรงค์ สุภาพพร้อม
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
2. นางสาวนิษานารท รีนับถือ
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
3. นายธีรยุทธ วิไลวัลย์
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้สังเคราะห์ฟีโรลิดีนพีเอ็นเอที่มีกรดเบต่าอะมิโนชนิด 3-อะมิโนฟีโรลิดีน-4-คาร์บอกซิลิกแอซิด (APC) เป็นสะพานเชื่อมชนิดใหม่ ซึ่งมีหมู่ในโตรเจนอิสระที่สามารถดัดแปรหมู่ฟังก์ชันต่างๆ เข้าไปในพีเอ็นเอได้ และศึกษาผลในการแทรกสะพานเชื่อมดังกล่าวต่อสมบัติการจับยึดของพีเอ็นเอกับดีเอ็นเอ โดยคาดว่า การเปลี่ยนสะพานเชื่อมดังกล่าวจะไม่ส่งผลเชิงลบต่อสมบัติการจับยึดกับดีเอ็นเอมากนัก โดยเริ่มจากการสังเคราะห์ (N^3 -Fmoc/ N^1 -Boc and N^3 -Fmoc/ N^1 -Tfa) (3*R*,4*S*)-APC และ (3*S*,4*R*)-APC ตามวิธีในเอกสารอ้างอิง และได้พัฒนาการสังเคราะห์ขึ้นบางส่วน และทำการแทรกสะพานเชื่อมดังกล่าวในฟีโรลิดีนพีเอ็นเอระบบเดิมที่มี (1*S*,2*S*)-ACPC หลังจากนั้นจึงศึกษาสมบัติการจับยึดกับดีเอ็นเอด้วยเทคนิคต่างๆ ได้แก่ UV-titration, UV-melting temperature และ CD spectroscopy พบว่า พีเอ็นเอที่มีการแทรก (3*R*,4*S*)-APC นั้นส่งผลให้ความเสถียรระหว่างสารเชิงซ้อนพีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ ลดลงเล็กน้อย ในขณะที่พีเอ็นเอที่มีการแทรก (3*S*,4*R*)-APC นั้นส่งผลให้ความเสถียรระหว่างสารเชิงซ้อนพีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ ลดลงอย่างมาก นอกจากนี้ ยังได้ศึกษาการเพิ่มหมู่ฟลูออเรสเซนต์ 2 ชนิด ได้แก่ pyrene-1-carboxylic acid และ pyrene-1-butyric acid ไปยังไนโตรเจนบน APC ผ่านพันธะเอไมด์ พบว่าพีเอ็นเอที่ติดฉลากฟลูออเรสเซนต์นั้นสามารถบอกความแตกต่างระหว่างสารเชิงซ้อนพีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอแบบคู่สม กับสารเชิงซ้อนที่มีลำดับเบสผิดไป 1 ตำแหน่งได้ด้วยการพิจารณาจากสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ที่เปลี่ยนแปลง

Keywords: พีเอ็นเอ, ดีเอ็นเอ, ฟีโรลิดีน, ดีเอพีซี, โพลดาเมอร์, ฟลูออเรสเซนต์, กรดเบต่าอะมิโน

Project Code : MRG5180025

Project title : Synthesis and Nucleic Acid Binding Properties of Novel Pyrrolidine Peptide Nucleic Acid Carrying 3-Aminopyrrolidine-4-Carboxylic Acid

Investigators : 1. Mr. Chaturong Suparpprom
2. Miss Nisanath Reenabtue
Department of Chemistry, Faculty of Science, Naresuan University
3. Mr. Tirayut Vilavan
Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University

Abstract

Conformationally restricted pyrrolidinyl PNAs with an α/β -dipeptide backbone consisting of a nucleobase-modified proline and a cyclic five-membered amino acid spacer such as (1*S*,2*S*)-2-aminocyclopentanecarboxylic acid (ACPC) (acpcPNA) can form very stable hybrids with DNA with high Watson-Crick base pairing specificity. This work aims to explore the effect of incorporating 3-aminopyrrolidine-4-carboxylic acid (aza-ACPC), which is isosteric to the ACPC spacer, into the acpcPNA. It is expected that the modification should not negatively affect the DNA binding properties, and that the additional nitrogen atom in the aza-ACPC should provide a handle for internal modification. Orthogonally-protected (N^3 -Fmoc/ N^1 -Boc and N^3 -Fmoc/ N^1 -Tfa) aza-ACPC monomers have been successfully synthesized and incorporated into the acpcPNA by Fmoc-solid-phase peptide synthesis. T_m , UV and CD spectroscopy confirmed that the (3*R*,4*S*)-aza-ACPC could substitute the (1*S*,2*S*)-ACPC spacer in the acpcPNA with only slightly decreasing the stability of the hybrids formed between the modified acpcPNA and DNA. In contrast, the (3*S*,4*R*) enantiomer of aza-ACPC caused substantial destabilization of the hybrids. Furthermore, a successful on-solid-support internal labeling of the modified acpcPNA via amide bond formation between pyrene-1-carboxylic acid or pyrene-1-butyric acid and the pyrrolidine nitrogen atom of aza-ACPC spacer has been demonstrated. Fluorescence properties of the pyrene-labeled acpcPNA are sensitive to its hybridization state and can readily distinguish between complementary and single-mismatched DNA targets.

Keywords: PNA, DNA, Pyrrolidine, DAPC, Foldamer, Fluorescence, β -amino acid