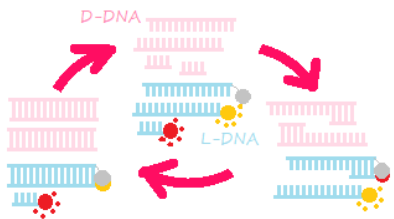


『L 型オリゴヌクレオチド』

Adaptive PCR

Based on Hybridization Sensing of Mirror-Image L-DNA

- ▶ More directly monitor critical hybridization events during the reaction.
- ▶ It provides a high level of control over thermal cycling conditions without the need for thermal or optical calibrations.



The diagram illustrates the Adaptive PCR mechanism. It shows a central blue DNA strand (L-DNA) with a red dot (fluorophore) and a grey dot (quencher). To its left is a pink DNA strand (D-DNA) with a red dot. To its right is another pink DNA strand (D-DNA) with a grey dot. Red arrows indicate the hybridization of the L-DNA with the D-DNA strands, forming a mirror-image structure. The L-DNA is labeled 'L-DNA' and the D-DNA strands are labeled 'D-DNA'.

L 型オリゴヌクレオチドの合成を開始いたしました！

⇒[詳細はこちら](#)

今回は、PCR 各サイクルの反応を確実に起こすために、L 型オリゴヌクレオチドを用いて PCR 反応の熱条件を直接モニタリングし動的に制御するという、Adaptive PCR についての論文 2 編をご紹介します。前者はこのアプローチの概要について、後者は PCR の熱サイクルだけでなく逆転写の熱条件もモニターしていることに加えてマルチプレックス検出が可能であったことが記されています。

▶ Adaptive PCR Based on Hybridization Sensing of Mirror-Image L-DNA 鏡像 L-DNA のハイブリダイゼーションセンシングに基づく Adaptive PCR

PCR の各サイクルにおける増幅は、熱変性とアニーリングという 2 つのハイブリダイゼーションイベントの熱条件に大きく依存していると述べられています。ここでは、Adaptive PCR という、熱条件をモニターする画期的なアプローチが提示されています。L 型オリゴヌクレオチドを用いたこのアプローチでは、PCR ベースの核酸分析をよりシンプルかつ確実に実行することができ、従来では正確な分析結果を得ることが困難な状況においても PCR 診断が可能となることが明言されています。PCR に悪影響を与えるすべての因子による影響が克服できるわけではありませんが、このアプローチが極めて有用であることが強調されています。筆者らは、①L-DNA は天然型の D-DNA と同じ物理的特性を持つため、同じサンプル条件では同様の反応を示すこと ②L-DNA 鎖は相補的な D-DNA 鎖とクロスハイブリダイズしないため、天然型 DNA の PCR 反応を妨げないこと ③L 型プライマーとターゲットの熱変性やアニーリングを光学的に検知することにより PCR をモニタリングできることを示しています。

Adams, Nicholas M., et al. "Adaptive PCR based on hybridization sensing of mirror-image L-DNA." *Analytical chemistry* 89.1 (2017): 728-735.

▶ Multiplexed Adaptive RT-PCR Based on L-DNA Hybridization Monitoring for the Detection of Zika, Dengue, and Chikungunya RNA ジカ熱、デング熱、チクングニア熱 RNA の検出を目的とした、L-DNA によるハイブリダイゼーションのモニタリングに基づく、マルチプレックス Adaptive RT-PCR 法について

ここでは、L-DNA モレキュラービーコンプローブを用いた蛍光シグナルのモニタリングにより逆転写ステップを制御し、さらに L-DNA プライマーと L-DNA ターゲットを用いて PCR の熱変性とアニーリングをモニターすることで PCR 各サイクルの熱条件を動的に制御するという、

Adaptive RT-PCR について紹介しています。このアッセイでは、主に蚊が媒介するウイルス感染症を対象として、ジカ熱やチクングニア熱 RNA が 5 コピー/反応まで、デング熱 RNA が 50 コピー/反応までのマルチプレックス検出が可能であったことを報告しています。Adaptive PCR では、高精度な温度予測に依存している一般的な PCR 機器をはじめとするラボリソースの不足、不安定な電源、訓練された人材の不足、低品質な検体、一定しないサンプル調製、環境温度の変動や粉塵暴露など、検査に不利な条件下においても PCR 診断が可能となることを、筆者らは主張しています。

Euliano, Erin M., et al. "Multiplexed adaptive RT-PCR based on L-DNA hybridization monitoring for the detection of zika, dengue, and chikungunya RNA." *Scientific Reports* 9.1 (2019): 1-11.

L-DNA は、天然型 DNA (D-DNA) のエナンチオマー（鏡像）です。

▶L-DNA の特性

- ・ D-DNA は D-DNA とのみ、L-DNA は L-DNA とのみ結合します。
D 型と L 型はハイブリダイズしません。
- ・ヌクレアーゼを含む D-DNA と相互作用するような酵素は、L-DNA には作用しません。