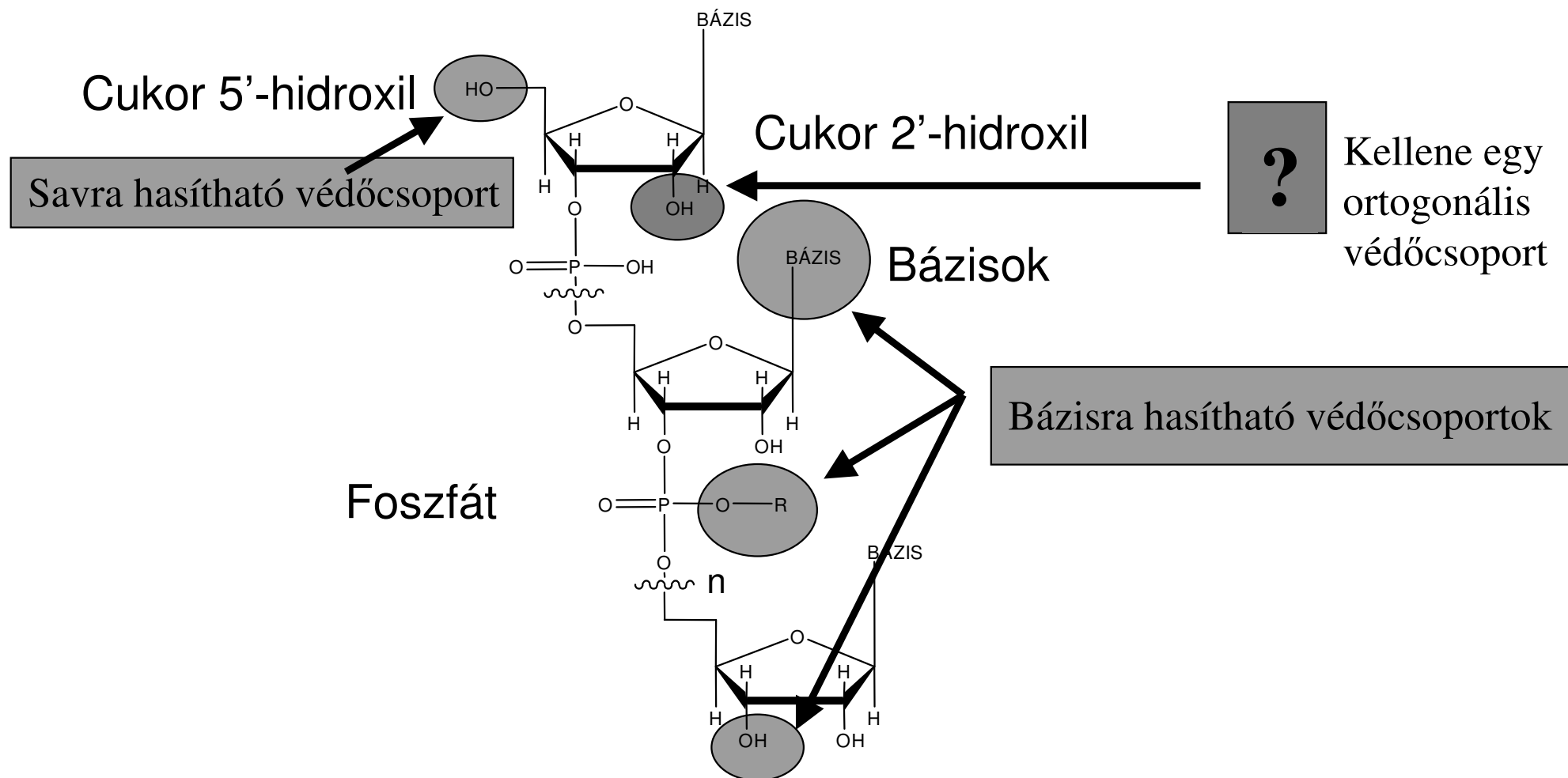


RNS szerkezete, tulajdonságok, szintetikus lehetőségek

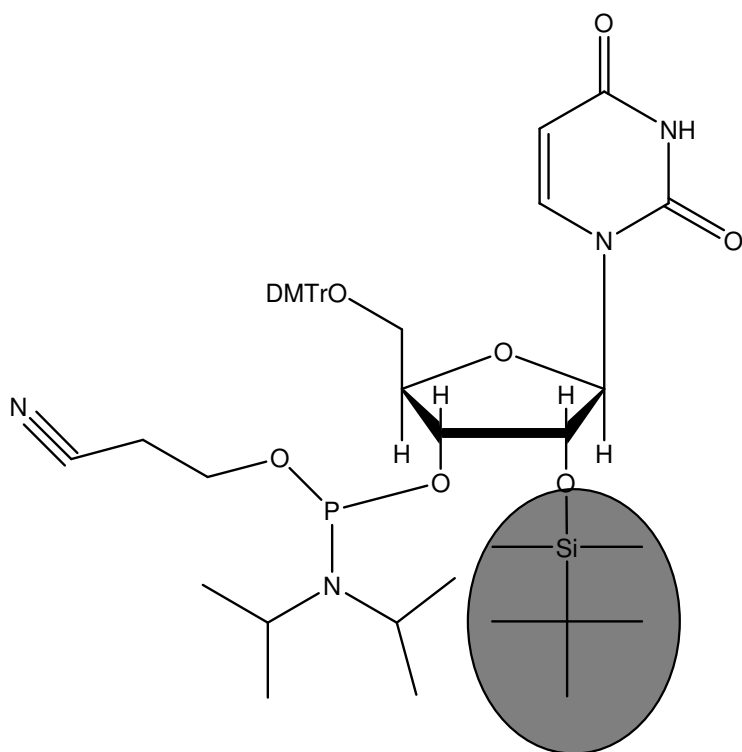


2'-védetlen RNS speciális tulajdonságai:

- rnáz érzékeny → steril körülmények kellenek
- sav és bázis érzékenység nagyobb, mint a DNS-nél (pH = 4-7 között stabil csak) (cc. Vizes NH_3 elbontja)

RNS szintézis megoldások 1. (2'-TBDMS módszer)

1. A sikeres amidit módszer 1. adaptációja FLUORIDÉRZÉKENY SZILIL védőcsoport
- 2'-pozícióban tercbutildimetilszilil védőcsoport
(ez kibírja a DMTr átmeneti védőcsoport savas, és az állandó védőcsoportok ammóniás hasítását is.)



Hátrányok:

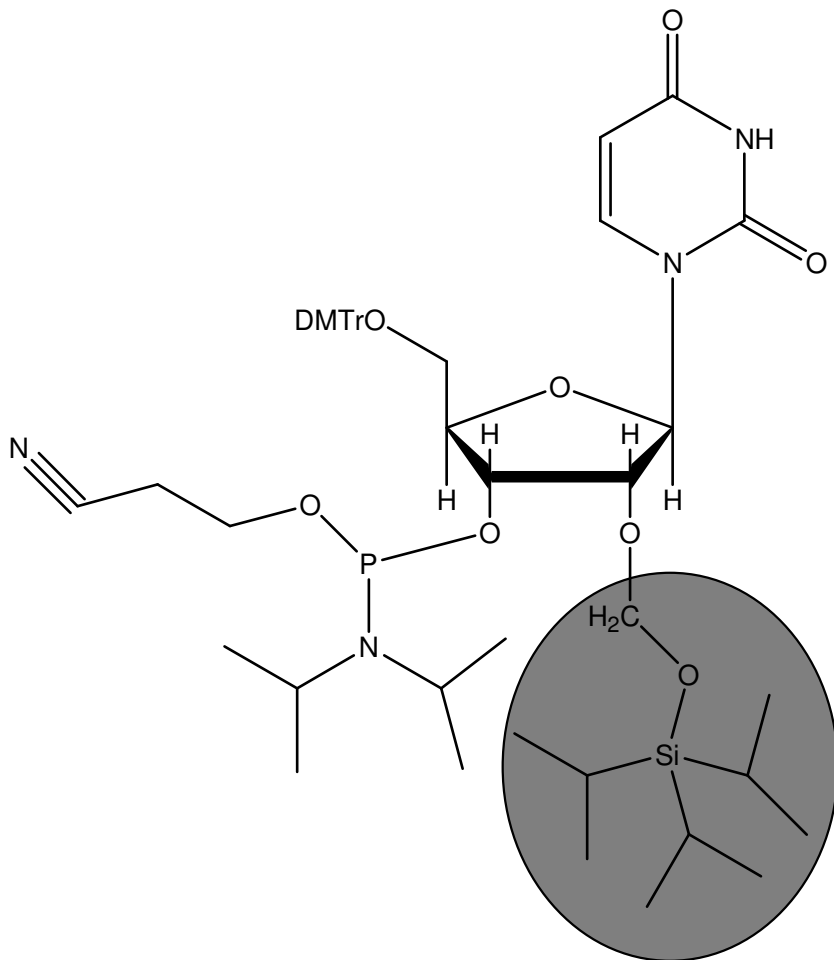
- monomer előállítása során szerkezeti izomerek képződése illetve migráció (kromatográfiás elválasztás során izomertisztaság nem 100%-os)
- emiatt a szintetizált RNS nem annyira tiszta (tartalmaz 2'-5' kötések is)
- térbeli zsúfoltság miatt lassú kapcsolás (kb. 10-15 perc, míg DNS-nél 10-25 másodperc)
- rns tisztításánál ioncsere és sóalanítás szükséges, miközben steril körülmény kell

Előnyök :

- jelenleg a legolcsóbb módszer az olcsó monomerek miatt

RNS szintézis megoldások 2. (2'-TOM módszer)

1. A sikeres amidit módszer 2. adaptációja FLUORIDÉRZÉKENY SZILIL védőcsoport
- 2'-pozícióban triizopropilszilil-oximetil védőcsoport
(ez kibírja a DMTr átmeneti védőcsoport savas, és az állandó védőcsoportok ammóniás hasítását is.)



Előnyök :

- monomer előállításánál nincs migráció, így elvileg izomertisztaság szempontjából tisztább monomerek és RNS
- gyorsabb kapcsolások, mint a TBDMS módszernél, de még mindig nem olyan gyors, mint a DNS

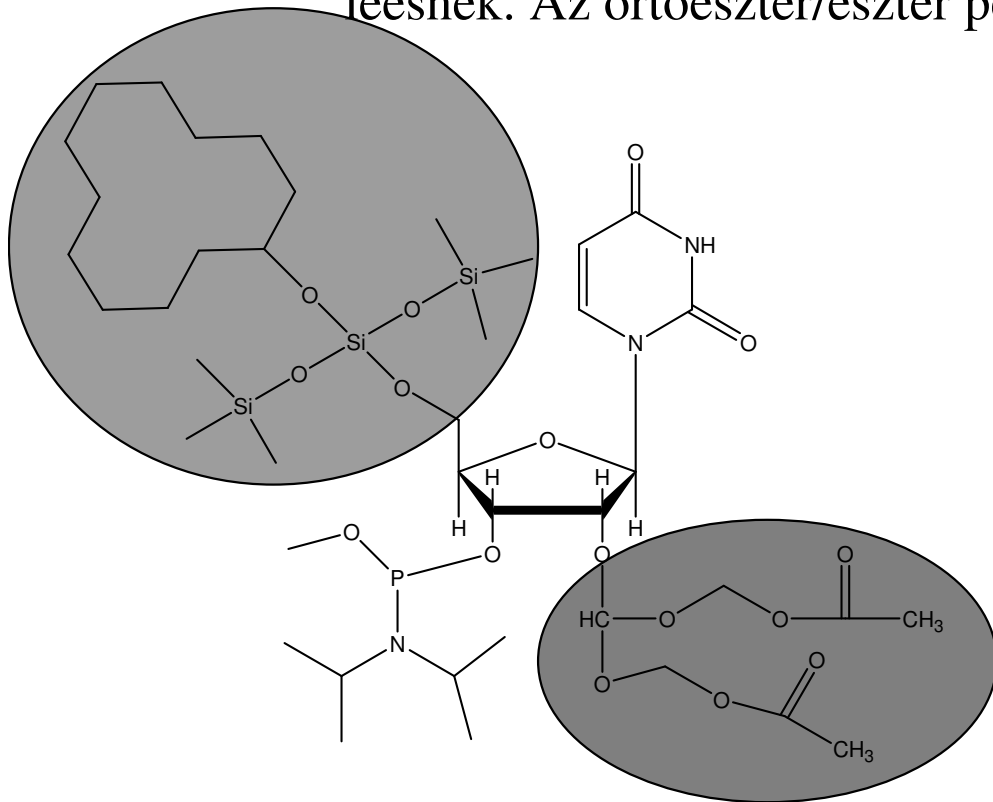
Hátrányok:

- monomer előállítása nehézkes, két regioizomer képződik
- könnyebb rns tisztítás, de még így is kell ioncsere és sótelenítés steril körülmény között
- igen drágák a monomerek

RNS szintézis megoldások 3. (2'-ACE módszer)

1. A sikeres amidit módszer 3. adaptációja úgy, hogy a savérzékeny DMTr átmeneti védőcsoportot FLUORIDÉRZÉKENY SZILIL átmeneti védőcsoportra cserélték és a 2'-védőcsoportnak enyhén savérzékeny védőcsoportot fejlesztettek

- 2'-pozícióban acetyl-ethylglycol-orthoformiat védőcsoport (ez kibírja az átmeneti védőcsoport fluoridos, és az állandó védőcsoportok ammóniás hasítását miközben az acetyl csoportok a bázikus kezelésnél leesnek. Az ortoészter/észter pedig enyhe savra később bármikor lehasítható.)



Előnyök :

- monomer előállításánál nincs migráció, így elvileg izomertisztaság szempontjából tisztább monomerek és RNS
- majdnem olyan gyors kapcsolások, mint a DNS-nél
- 2'-védőcsoportot elég közvetlenül a felhasználás előtt eltávolítani (illékony savas puffer használható), így az rns tisztításánál nem kellene steril körülmények

Hátrányok:

- minden ciklusban kell fluoridozni (speciális szintetizátort igényel, + környezetvédők!)
- mivel a cianoetil csoport helyett metilt kell használni, így plusz egy lépés a metil védőcsoport eltávolítás, ráadásul metileződés történhet ennél a lépésnél, ami a terméktisztaságot rontja
- drágák a monomerek, de leginkább is nem árulják

RNS szintézis 4.

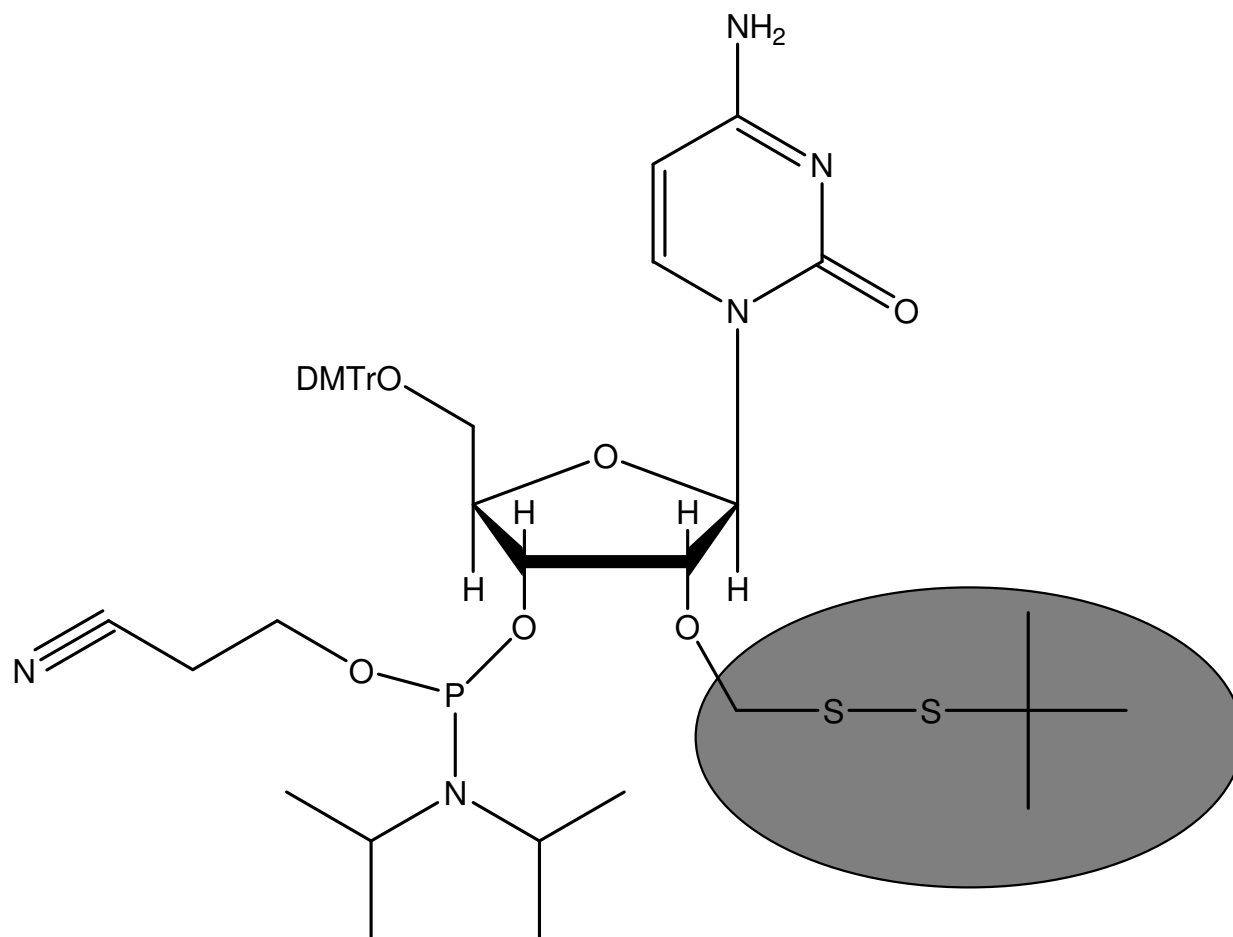
(2'-metilénditiotercbutil)

Előny:

- enyhe redukcióra hasítható a 2'-védőcsoport (pl. Ditiotritol, DTT)
- állítólag nagy hatékonyságú kapcsolás, tiszta, hosszú RNS

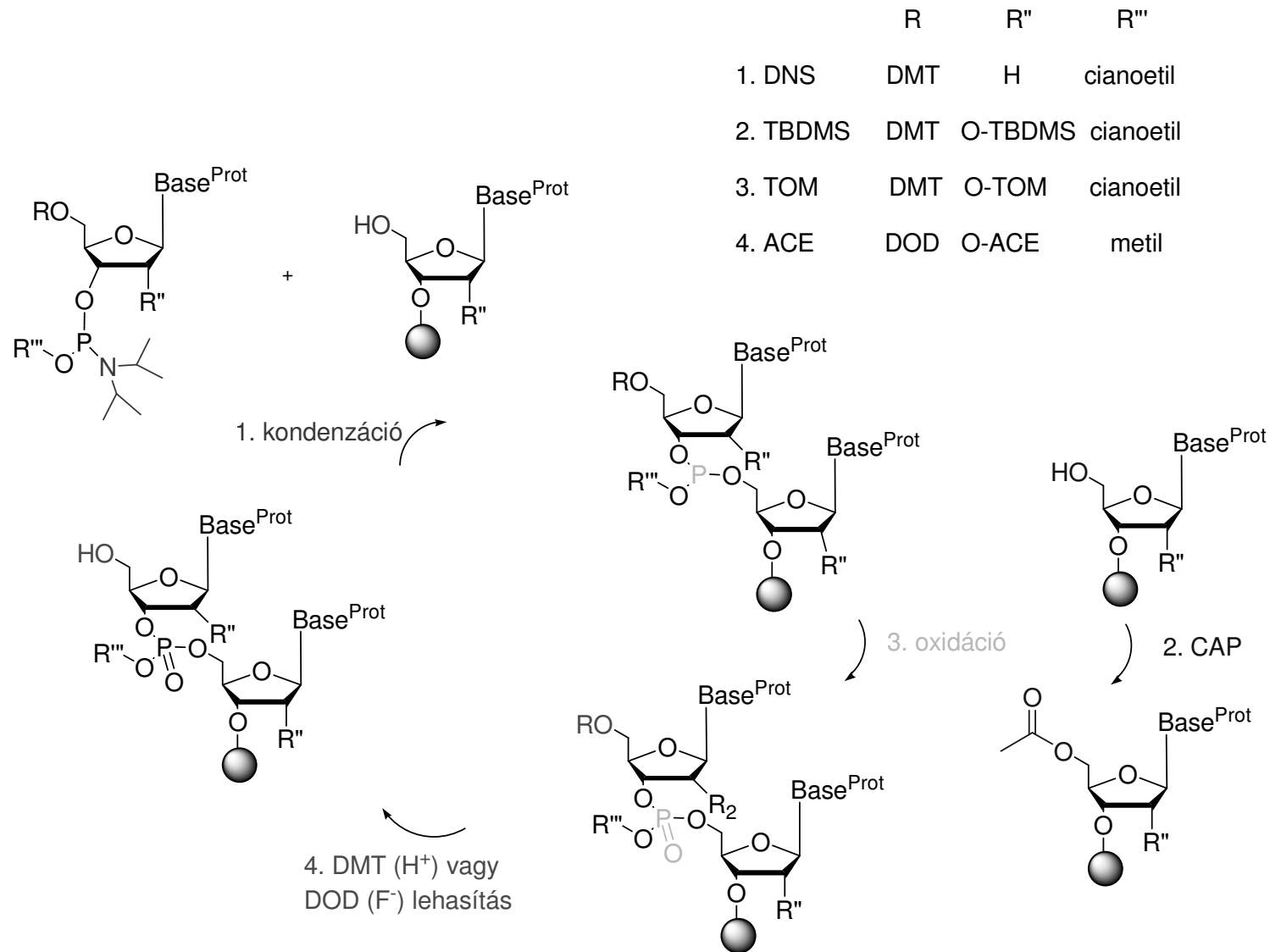
Hátrány

- eddig a fenti előnyökről csak a fejlesztők számoltak be, és kérdéses, hogy miért nem terjedt még el mások között, ha annyira jó
- (gyanítható, hogy a diszulfidcsoport nem teljesen inert az amiditmódszerrel történő kapcsolásnál, ugyanis ehhez hasonló szerkezetű anyagokkal szokás foszforotioátokat előállítani)

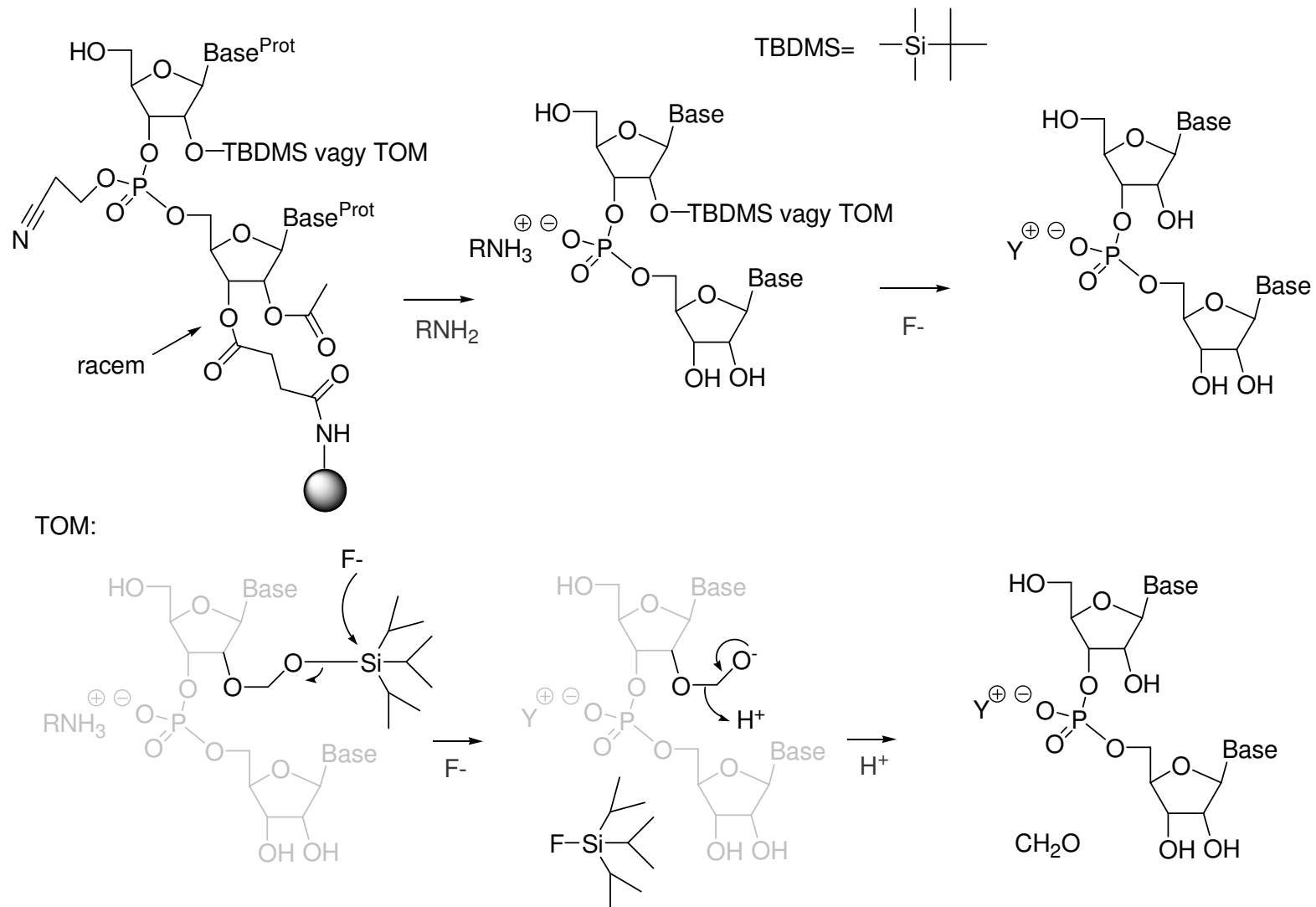


Valami lengyel csoport Uppsala-ban fejlesztte vagy 15-20 éve.

RNS szintézisek (2'-TBDMS)

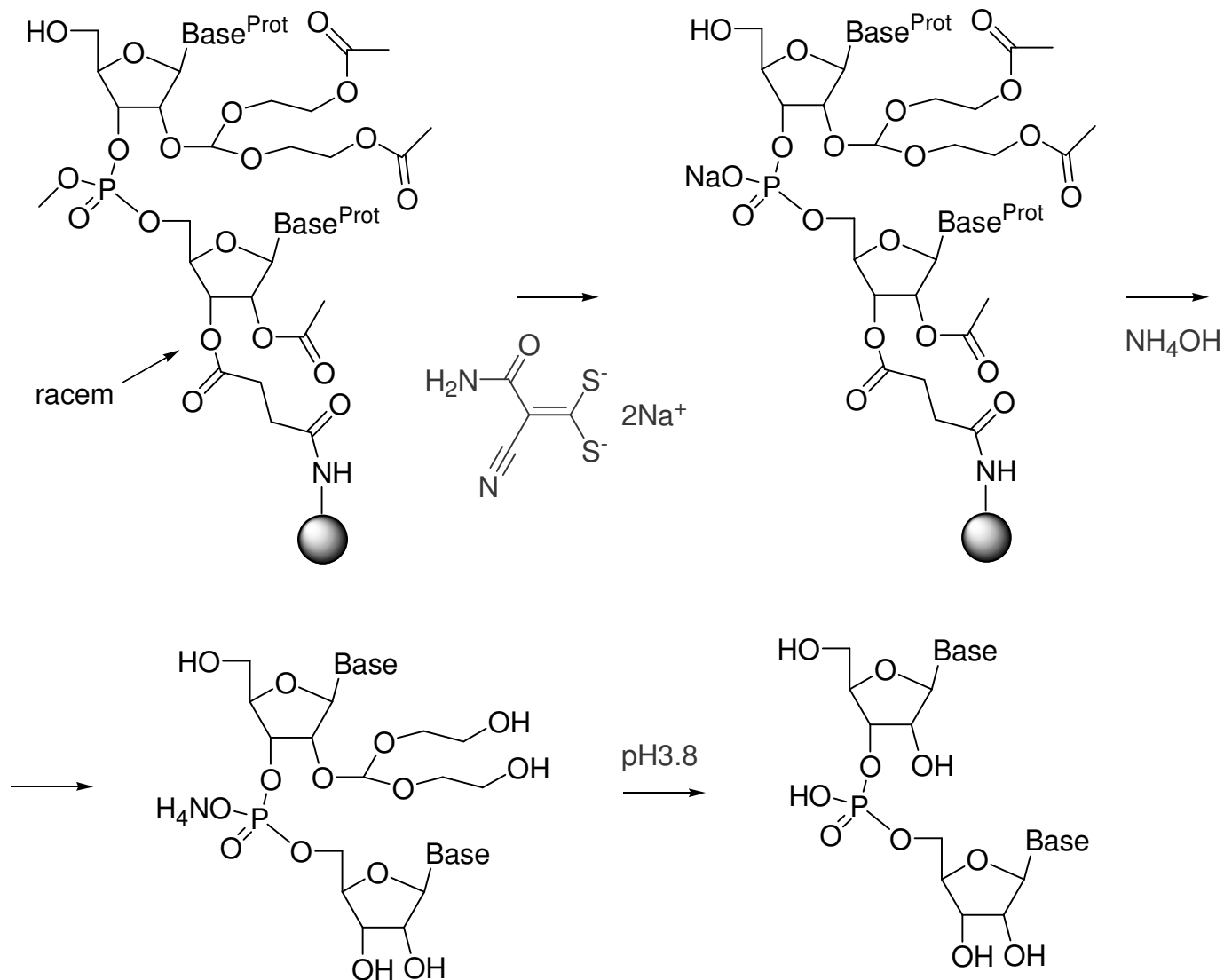


TBDMS és TOM RNS oligomer szintézis: linker, 2'-védőcsoport és nukleobázis védelem eltávolítás



ACE RNS oligomer szintézis:

linker, 2'-védőcsoport és nukleobázis védelem eltávolítás



RNS monomer árak

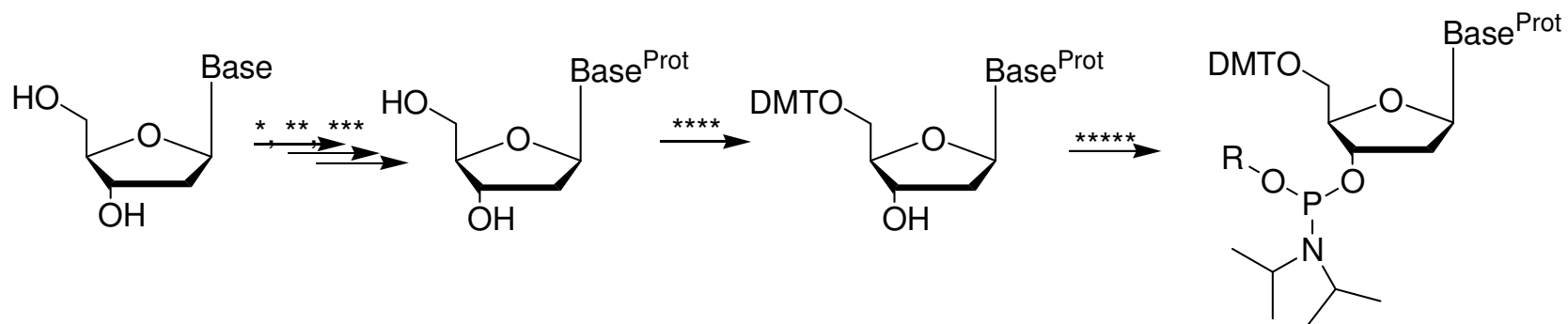
TERMÉK

ÁR (Ft/g)

TOM amiditek (GlenRes)

71.000

DNS monomer szintézis



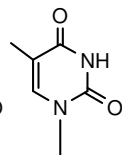
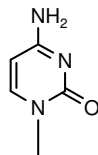
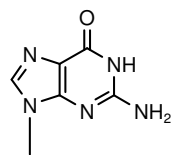
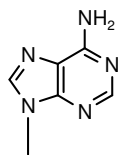
R: NC-CH₂CH₂- vagy Me

Base: A

G

C

T

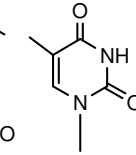
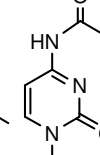
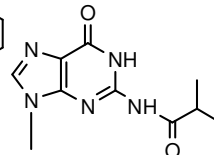
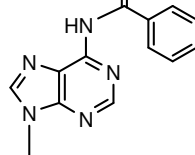


Base^{Prot}: A^{Bz}

G^{ibu}

C^{Ac}

T

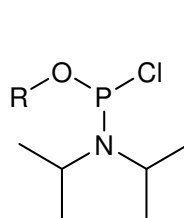


* (CH₃)₃SiCl

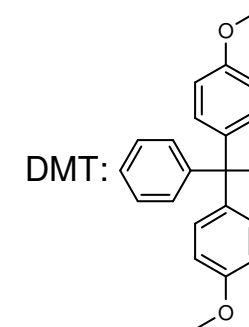
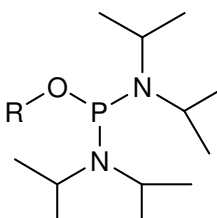
** ProtCl

*** H⁺

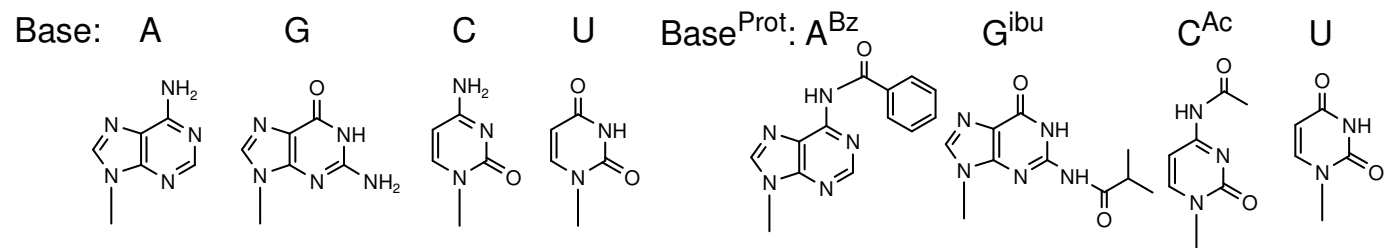
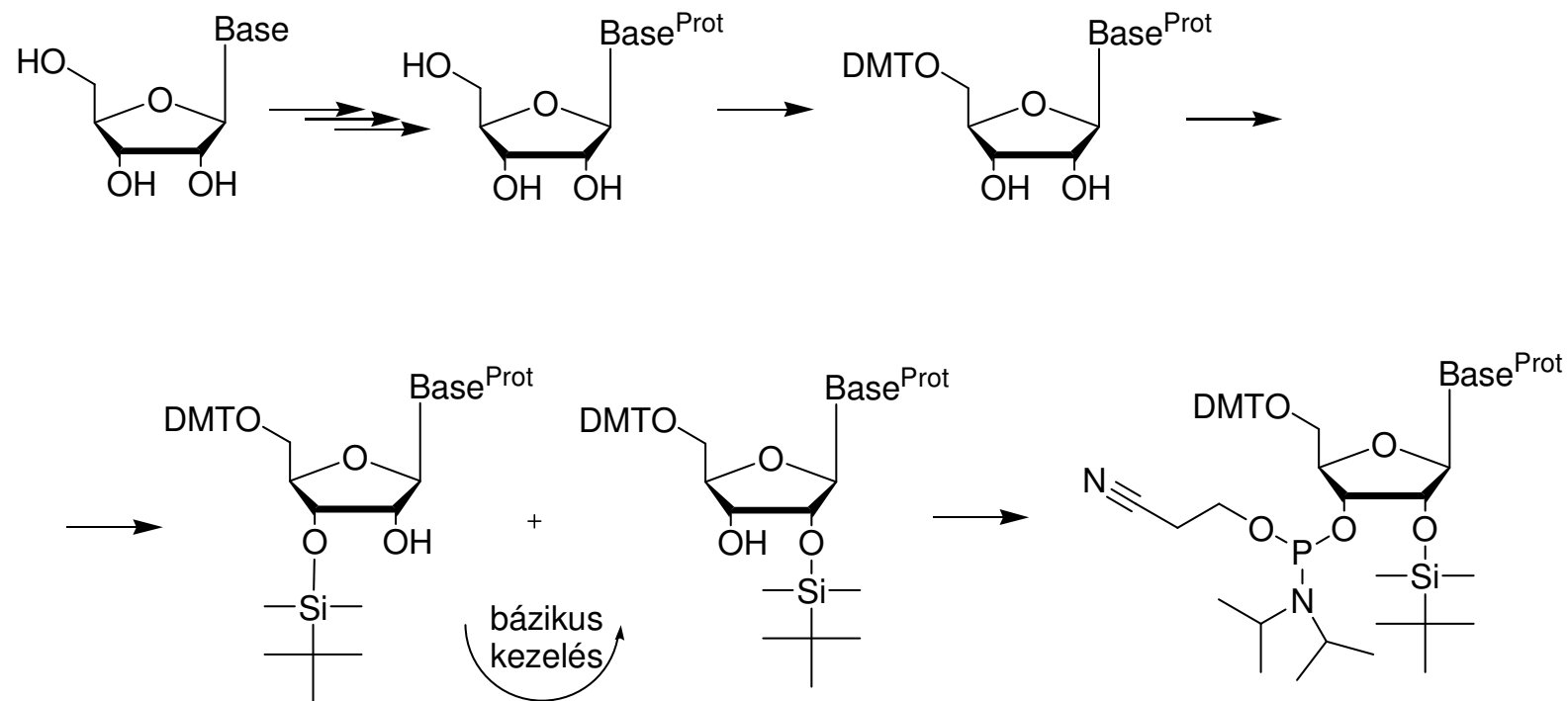
**** DMTCl



vagy

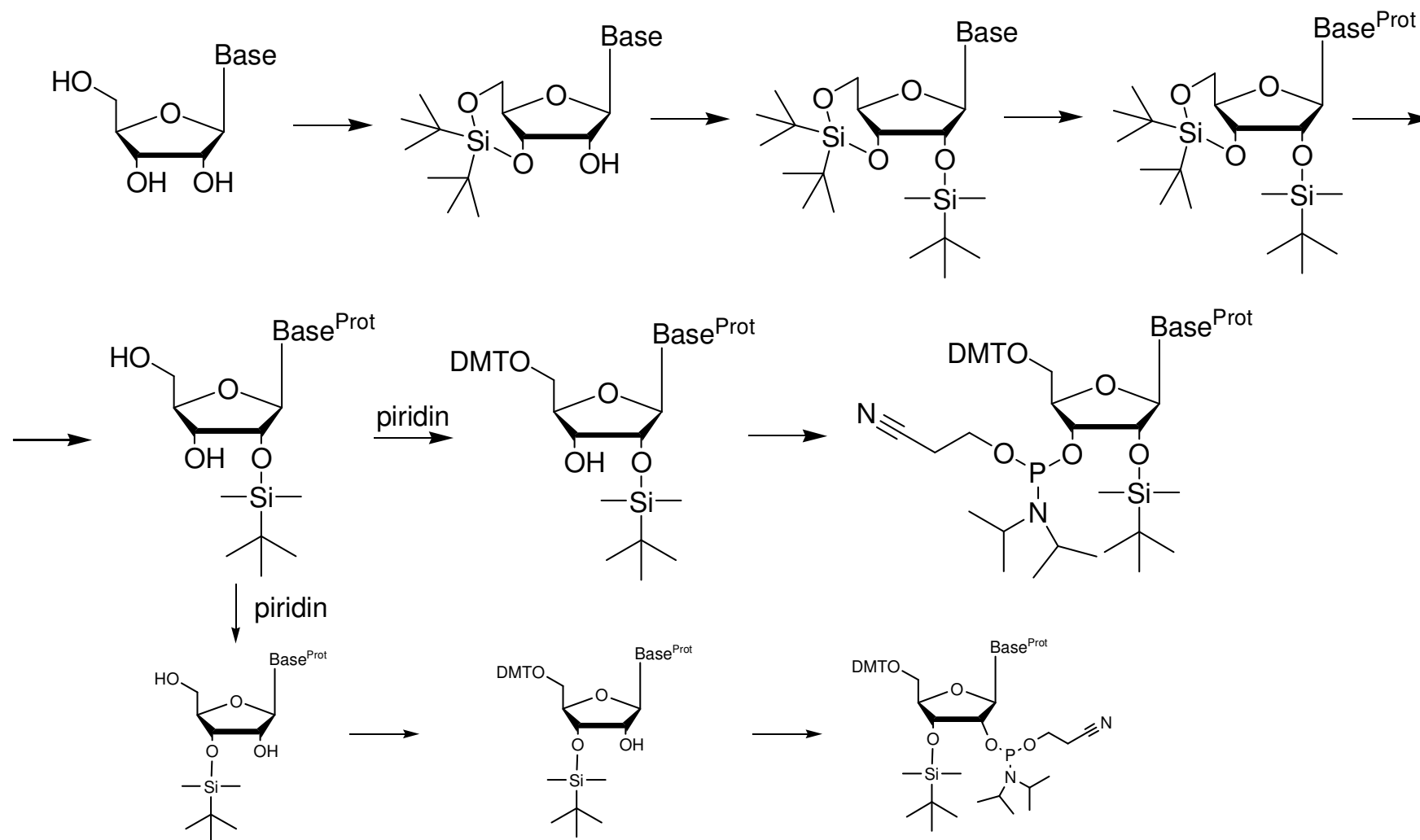


2'-TBDMS RNS MONOMER SZINTÉZIS 1.

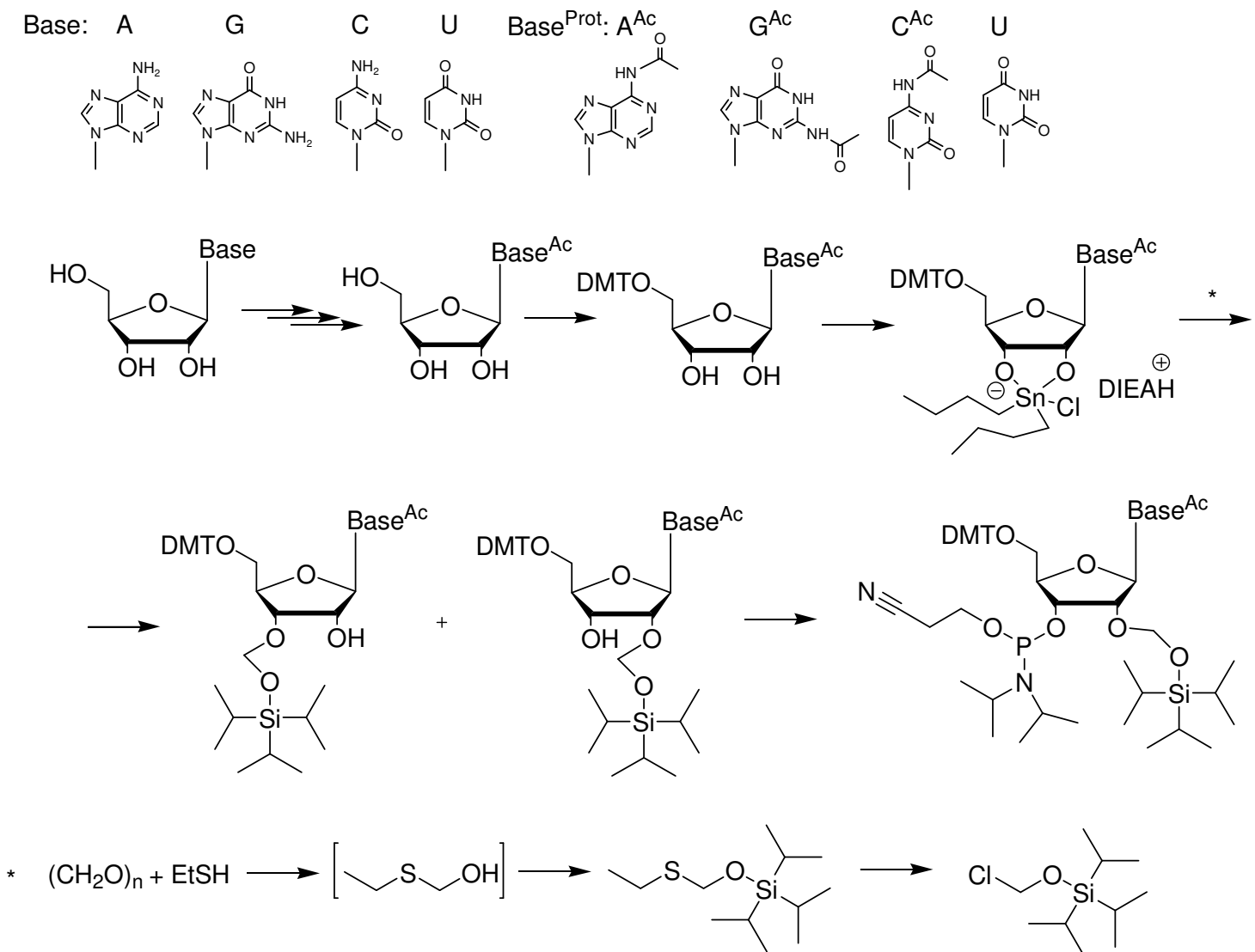


2'-TBDMS RNS MONOMER SZINTÉZIS 2.

V. Serebryany, L. Beigelman (Ribozyme Ph. Inc. Boulder) 2003

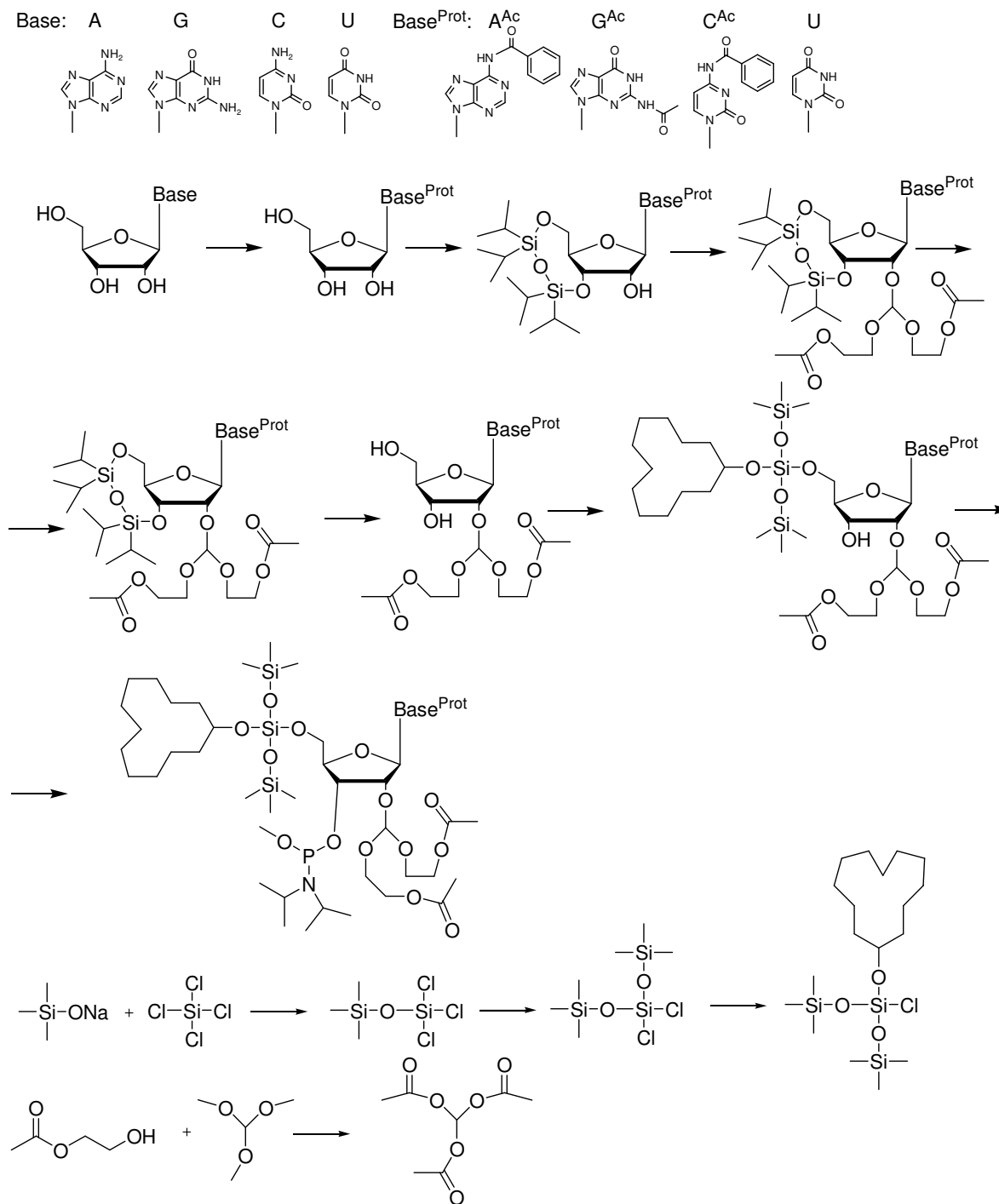


2'-TOM RNS monomer szintézis

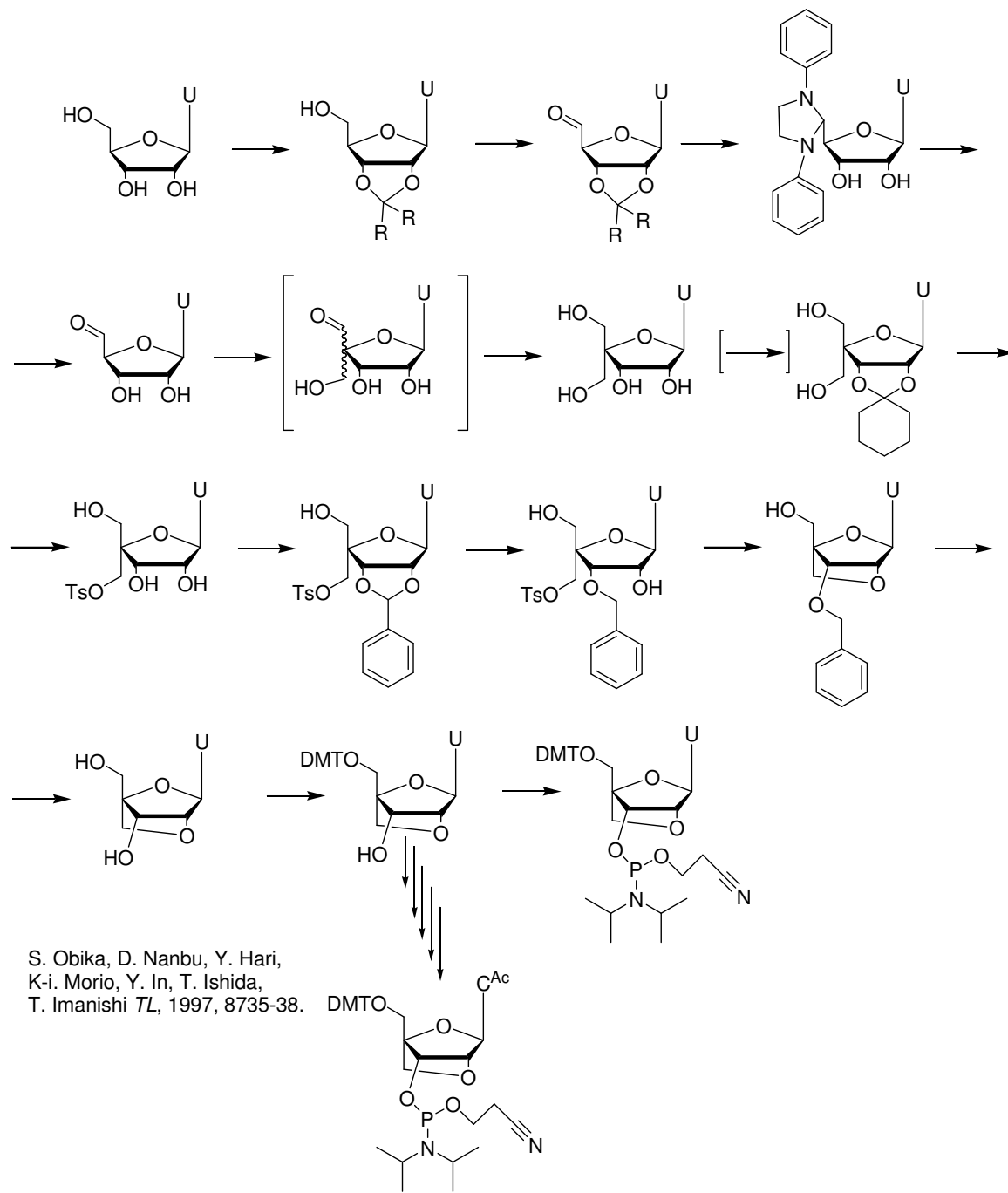


2'-ACE RNS monomer szintézis

S. A. Scaringe,
N. Westwood,
F.E. Wincott,
M. H. Caruthers
1998



LNA monomer szintézis



S. Obika, D. Nanbu, Y. Hari,
K-i. Morio, Y. In, T. Ishida,
T. Imanishi *TL*, 1997, 8735-38.