

核酸合成用試薬

2'-フルオロ、2'-アミノRNAアミダイトと固相合成用支持担体

2'-Amino Cytidine			CE Amidite
2'-Amino Uridine	500Å CPG	1000Å CPG	CE Amidite
2'-Fluoro Adenosine (N,N-DMF)	500Å CPG	1000Å CPG	CE Amidite
2'-Fluoro Adenosine (N-Bz)	500Å CPG	1000Å CPG	CE Amidite
2'-Fluoro Cytidine (N-Ac)	500Å CPG	1000Å CPG	CE Amidite
2'-Fluoro Guanosine (N,N-DMF)	500Å CPG	1000Å CPG	CE Amidite
2'-Fluoro Guanosine (n-ibu)	500Å CPG	1000Å CPG	CE Amidite
2'-Fluoro Uridine	500Å CPG	1000Å CPG	CE Amidite

RNAは核酸分解酵素で急速に分解されます。そのため、治療薬や診断薬用に、2'-O-アルキルや2'-フルオロなどの2'修飾のRNAモノマーが合成されてきました。2'-フルオロ修飾は2'修飾の中では最も有望な候補であることがわかっています。未修飾のRNAオリゴヌクレオチドと比較すると、2'-フルオロ核酸は、2'-ヒドロキシル基が存在しないため高いpHでの加水分解に対して安定です。2'-デオキシ-2'-フルオロRNAオリゴヌクレオチド誘導体は、核酸分解酵素耐性であり長時間分解されにくくなります。

2'-ヒドロキシル基と同様に、2'-フルオロもRNA中のリボースの5員環はC3'-エンド型です。したがって、2'-フルオロのオリゴヌクレオチドは標的のストランドとハイブリダイゼーションして、A型二重らせん構造をとります。2'-フルオロRNAオリゴヌクレオチドは、一般的なDNAオリゴヌクレオチドと同じ方法で精製することができます。2'-フルオロモノマー修飾されたオリゴヌクレオチドは、天然のRNA:RNA、DNA:DNAとの2本鎖に比べて、ターゲットのRNAに対しては、1個の修飾につき1-2°C、DNAに対しては1個の修飾につき1.3°C、熱安定性が高くなります。2'-フルオロは、マイナーグループ側には、水素結合のアクセプターがありませんが、2'-OHはマイナーグループ側では水分子と水素結合を形成します¹。2'-フルオロのオリゴヌクレオチドの熱力学的データは、その高い安定性がエントロピーではなくエンタルピーに基づいていることを示しています²。

2'-デオキシ-2'-フルオロリボヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドは、リボザイム³、アンチセンス⁴、siRNA⁵、miRNA⁶、アプタマー⁷をベースにした核酸医薬品に使われてきました。さらに、2'-フルオロリボヌクレオチドを持つアンチセンスオリゴヌクレオチドは、他の2'-修飾体と比較して、スプライシングの調節に優れた特性を示すことも報告されています⁸。2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオチドは、ヌクレオチドおよび三リン酸として重要な生物学的活性を示すこともわかっており、DNAおよびRNAポリメラーゼのプローブとして多く使われています⁹。2'-フルオロピリミジンで修飾されたsiRNAは、核酸分解酵素耐性を示し、免疫刺激は減少し、修飾されていないコントロールのRNAと比較して、*in vitro* および*in vivo* で良好な活性を示したものもありました¹⁰。ただし、2'-フルオロオリゴヌクレオチドとRNAの二本鎖は、RNase Hでは切断されません。2'-フルオロを含むアプタマーは、修飾なしのRNAアプタマーより高い親和性で標的分子に結合し核酸分解酵素耐性があります。

これら2'-フルオロ-2'-デオキシ修飾の特性から、2'-フルオロアミダイトとその固体支持担体は多くの必要があります。ChemGenesでは、2'-フルオロのA, C, G, Uの4種類のアミダイトと固体支持担体を取り揃えています。

脱保護と精製の手法

ステップ1: シアノエチル基をいずれかの方法で除きます。

- 10% ジエチルアミン in アセトニトリル¹¹(v/v) で室温3分
- 50% トリエチルアミン in アセトニトリル (v/v)で室温で30分

ステップ2: 塩基の保護基の脱保護を、濃アンモニア水（30%）で37℃、16時間で行ないます。

ステップ3: 精製

①カートリッジ精製

クールドの2'-フルオロRNAオリゴは、ChemGenesのpuri-pak 精製カートリッジ（ChemGenes カタログ番号#CSS-3920）を使用して精製が可能です。

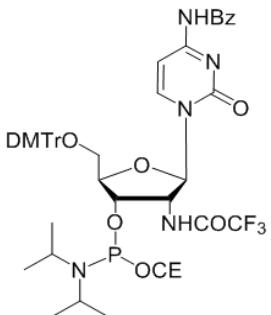
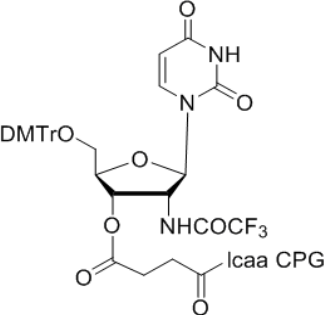
ChemGenesの精製カラムを用いれば、オリゴヌクレオチドを迅速に脱塩できます。これは、その都度の使い捨てのカラムで、50 OD ユニット（0.2 μmスケールのオリゴ合成）をロードできます。

②HPLC精製

カートリッジ精製で得られた2'-フルオロRNAをさらに精製する必要がある場合には、HPLCで精製を行います。

References:

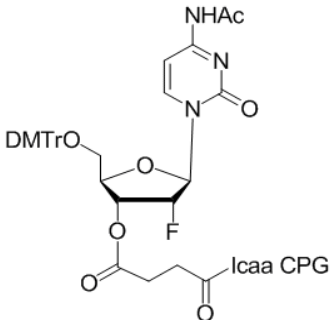
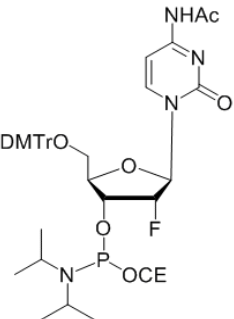
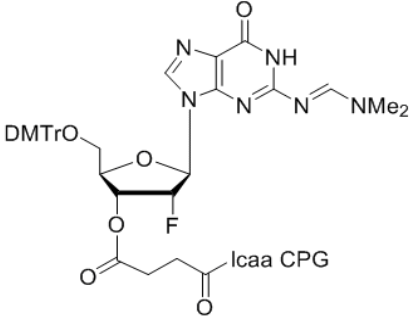
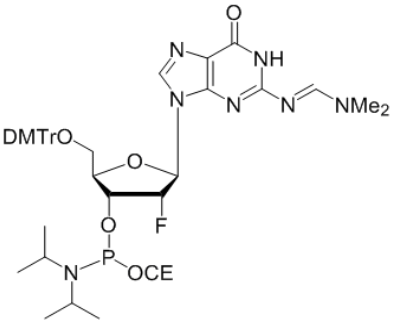
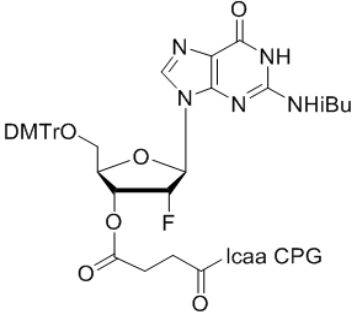
- 1) Egli, M. et. al. Biochemistry 1996, 35, 8489.
- 2) Pallan, P. S. et. al. Nucleic Acids Res. 2011, 39, 3482.
- 3) Pieken, W. A. Science 1991, 253, 314.
- 4) Kawasaki, A. M. et. al. J. Med. Chem. 1993, 36, 831.
- 5) Allerson, C. R. et. al. J. Med. Chem. 2005, 48, 901.
- 6) Davis, S. et. al. Nucleic Acids Res. 2009, 37, 70.
- 7) Ng, E.W. M. Nat. Rev. Drug Discovery 2006, 5, 123
- 8) Rigo, F. et. al. Nat. Chem. Biol. 2012, 8, 555.
- 9) Viani, F., V.A. Ed. Chapter 13, pp 419-449, John Wiley & Sons Ltd. 1999; Wright G.E. et. al. Ther. Pharmacol. 1990, 47, 447.
- 10) Manoharan, M. et. al. Angew. Chem. Int. Ed. 2011, 50, 2284.
- 11) Bhan A. Et al. US Patent 6,887,990.

品名	商品コード	容量	概要	構造式
2'-Amino Cytidine CED Phosphoramidite	ANP-5322	100 μmol 250 mg	FW 944.93	
			化学式 C ₄₈ H ₅₂ F ₃ N ₆ O ₉ P	
2'-Amino Uridine 3'-Icaa CPG	1000Å CPG-N-9010-10	100 mg, 1 g		
	500Å CPG-N-9010-05	pack 4 0.2μmol, 1.0μmol pack 10 0.2μmol, 1.0 μmol	輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	

品名	商品コード	容量	概要	構造式
2'-Amino Uridine CED phosphoramidite	ANP-9403	100 μmol 250 mg	FW 841.81	
			化学式 C ₄₁ H ₄₇ F ₃ N ₅ O ₉ P	
2'-Fluoro Adenosine (N,N-DMF) 3'-Icaa CPG	1000Å CPG-N-1067-10	100 mg pack 4 0.2μmol, 1.0μmol	<p>輸送上の注意</p> <p>高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。</p>	
	500Å CPG-N-1067-05	pack 10 0.2μmol, 1.0 μmol		
2'-Fluoro-2'-deoxy Adenosine (N,N-DMF) CED Phosphoramidite	ANP-9157	250 mg 500 mg 1 g 2 g 5 g	FW 826.90	
			<p>輸送上の注意</p> <p>高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。</p>	
2'-Fluoro Adenosine (N-Bz) 3'-Icaa CPG	1000Å CPG-N-1058-10	100 mg pack 4 0.2μmol, 1.0μmol	<p>輸送上の注意</p> <p>高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。</p>	
	500Å CPG-N-1058-05	pack 10 0.2μmol, 1.0 μmol		
2'-Fluoro-2'-deoxy Adenosine (n-bz) CED Phosphoramidite	ANP-9151	250 mg 500 mg 1 g 2 g 5 g	FW 875.92	
			<p>輸送上の注意</p> <p>高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。</p>	

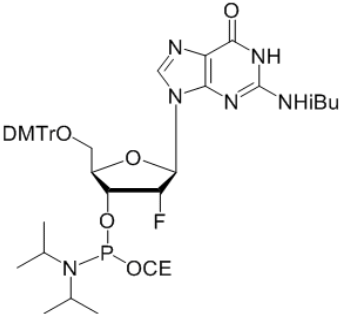
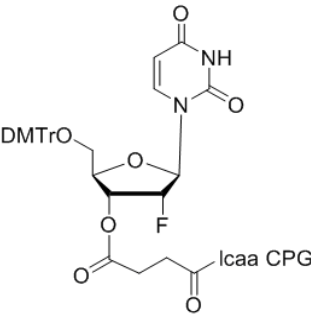
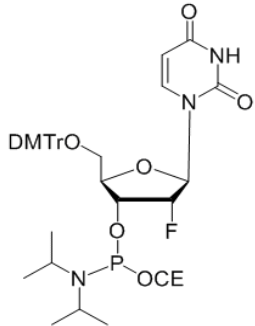
★ 金額はお問い合わせください。

★ 規格外の容量をご希望の方はお問い合わせください。

品名	商品コード	容量	概要	構造式
2'-Fluoro Cytidine 3'-Icaa CPG	1000Å CPG-N-1057-10	100 mg pack 4 0.2μmol, 1.0μmol	輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	
	500Å CPG-N-1057-05	pack 10 0.2μmol, 1.0 μmol		
2'-Fluoro-2'-deoxy Cytidine (n-ac) CED phosphoramidite	ANP-9152	250 mg	FW 789.83	
		500 mg	化学式 C ₄₁ H ₄₉ FN ₅ O ₈ P	
2'-Fluoro-2'-deoxy Cytidine (n-ac) CED phosphoramidite	ANP-9152	1 g	輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	
		2 g		
2'-Fluoro-2'-deoxy Cytidine (n-ac) CED phosphoramidite	ANP-9152	5 g		
2'-Fluoro Guanosine (N,N-DMF) 3'-Icaa CPG	1000Å CPG-N-1069-10	100 mg pack 4 0.2μmol, 1.0μmol	輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	
	500Å CPG-N-1069-05	pack 10 0.2μmol, 1.0 μmol		
2'-Fluoro-2'-deoxy Guanosine (N,N-DMF) CED Phosphoramidite	ANP-9159	250 mg	FW 842.89	
		500 mg		
2'-Fluoro-2'-deoxy Guanosine (N,N-DMF) CED Phosphoramidite	ANP-9159	1 g	輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	
		2 g		
2'-Fluoro-2'-deoxy Guanosine (N,N-DMF) CED Phosphoramidite	ANP-9159	5 g		
2'-Fluoro Guanosine (n-ibu)-3'-succinyl Icaa CPG	1000Å CPG-N-1055-10	100 mg pack 4 0.2μmol, 1.0μmol	輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	
	500Å CPG-N-1055-05	pack 10 0.2μmol, 1.0 μmol		

★ 金額はお問い合わせください。

★ 規格外の容量をご希望の方はお問い合わせください。

品名	商品コード	容量	概要	構造式
2'-Fluoro-2'-deoxy Guanosine (n-iBu) CED Phosphoramidite	ANP-9153	250 mg 500 mg 1 g 2 g 5 g	FW 857.91	
			化学式 $C_{44}H_{55}FN_7O_7P$	
2'-Fluoro Uridine 3'-Icaa CPG	1000Å CPG-N-1056-10	100 mg		
	500Å CPG-N-1056-05	pack 4 40 nmol, 0.2μmol, 1.0μmol pack 10 40 nmol, 0.2μmol, 1.0 μmol	輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	
2'-Fluoro-2'-deoxy Uridine CED phosphoramidite	ANP-9154	250 mg 500 mg 1 g 2 g 5 g	FW 748.78	
			化学式 $C_{39}H_{46}FN_4O_8P$	

★ 金額はお問い合わせください。

★ 規格外の容量をご希望の方はお問い合わせください。