

リバース用 RNAアミダイトと固相合成用支持担体

2'-TBDMS-3'-DMT-rA (n-bz)	1000Å CPG	500Å CPG	5'-CE Amidite
2'-TBDMS-3'-DMT-rC (n-acetyl)	1000Å CPG	500Å CPG	5'-CE Amidite
2'-TBDMS-3'-DMT-rG (n-ibu)	1000Å CPG	500Å CPG	5'-CE Amidite
2'-TBDMS-3'-DMT-rG (N-iPr PAC)			5'-CE Amidite
2'-TBDMS-3'-DMT-rU	1000Å CPG	500Å CPG	5'-CE Amidite

ChemGenesでは、高純度の治療薬用グレードで合成可能な5'→3'方向に合成するリバース用のRNA合成技術を提供しています(図1)。リバース用のA(N-Bz), C(N-Bz), C(N-Ac), G(iPrPAC), Uのアミダイトは、HPLCでの純度は98%以上で、<sup>31</sup>P-NMRでの純度は99%以上です。

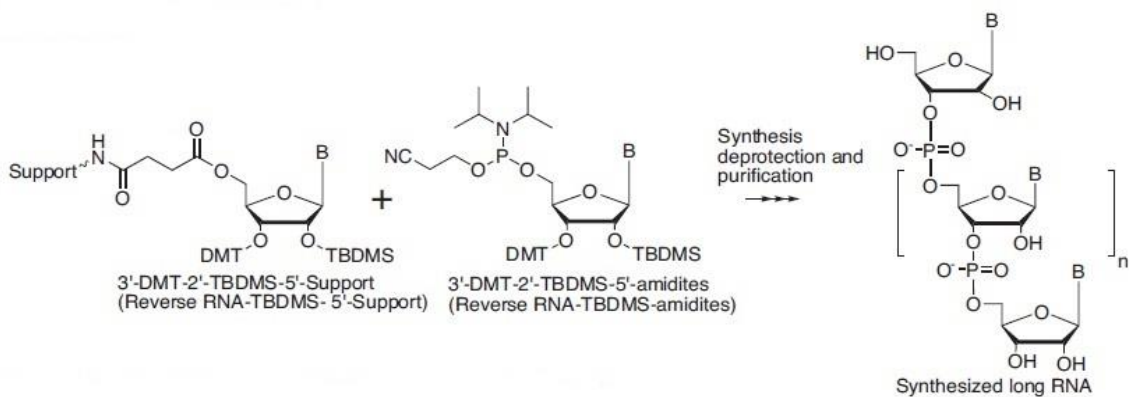


図1：リバースRNA技術を用いたRNA合成

特徴

- ・短いカップリング時間 (2分以内)
- ・高いカップリン効率 (通常のDNAアミダイトと同等)
- ・長鎖のRNAオリゴヌクレオチドの合成が可能
- ・2'-TBDMS保護の従来のRNAアミダイトと同じ方法で使用
- ・精製前でも後でも、オリゴマーは高純度
- ・簡便に高純度で3'修飾体の合成が可能
- ・オリゴ合成、精製のプロセスの間に3'の異性体が生成しない
- ・通常の3'→5'方向のRNA合成よりも、5'→3'方向の合成の方が高純度のRNA
- ・コレステロールやPEGなどの高分子を結合したRNAは、リバース方向のRNA合成後に簡単に精製 (Figure 2 3'末端にコレステロールを結合した21-merのRNA) (Figure 3 3'末端にPEG2000を結合した21-merのRNA)

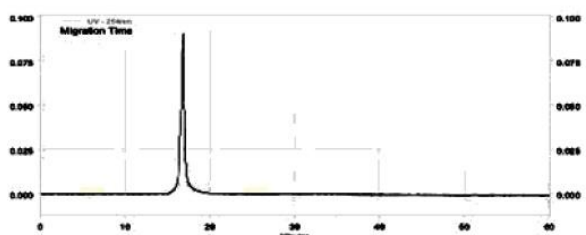


Figure 2. 3'-Cholesterol conjugated RNA (21-mer); CE analysis and HPLC purification. Expedite model 8909- 1 umole scale. Purity; 99.9%.

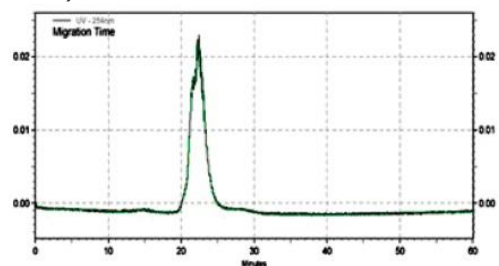


Figure 3. 3'-PEG (MW;2000)conjugated RNA (21-mer); CE analysis of HPLC purified 21-mer. Expedite model 8909-1 umole scale. Purity;100%

リバースRNA合成では、N+1のRNA合成副生成物は存在しません。これは、リバースRNAアミダイトのRNA合成においては、おそらく、オリゴ合成のカップリングステップ中には5-エチルチオテトラゾール (ETT)によって3'-DMTr基が切断されないためです。

## 応用

1. 高純度の治療薬グレードのRNAおよびsiRNAの合成
2. 独自の技術により、200塩基のRNAオリゴヌクレオチドを高純度で高効率で合成することに成功しています。図4と図5は、リバースRNA技術を使って合成した74-merのRNAのESI/MSと電気泳動の分析結果です。

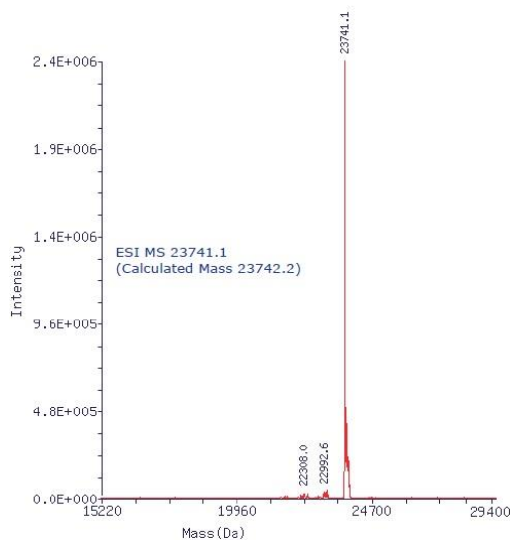


図4： リバースRNAアミダイトを用いて合成した74-mer RNAのESI/MS 分析の結果

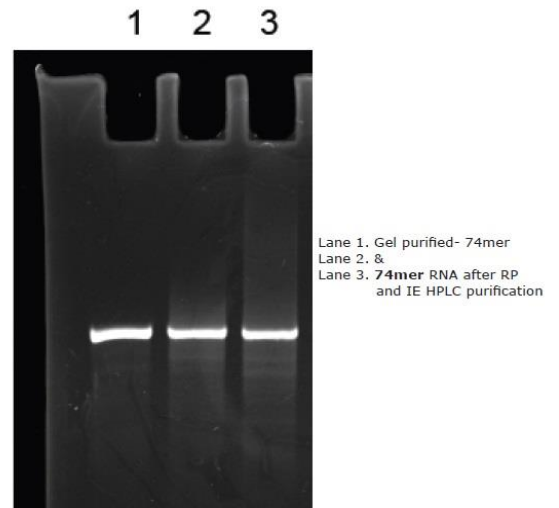


図5： リバースRNAアミダイトを用いて合成した74-mer RNAの電気泳動のゲルの結果

3. コレステロール、長鎖脂肪族鎖、蛍光色素、トリエチレングリコール、ヘキサエチレングリコール、PEGなどのレポーター分子のRNAの3'末端への結合は、これらのアミダイトを直接カップリングすることで容易に得られます。
4. PEG2000やPEG4500アミダイトなどのポリエチレングリコールのRNA分子の3'末端への結合ができます。
5. 3'-チオールの誘導体化に用いることができます。
6. ビオチンCPGを用いることなく、ビオチンのアミダイトを用いて、1ステップで3'-末端にビオチンを結合することができます。
7. siRNAのセンス鎖の3'末端の修飾。siRNAのアンチセンスがターゲットの認識をするため、センス鎖(3'末端)のオーバーハングの修飾は標的mRNAの認識に影響を与えないため、siRNAのデリバリー開発のための修飾体の構築が容易です。

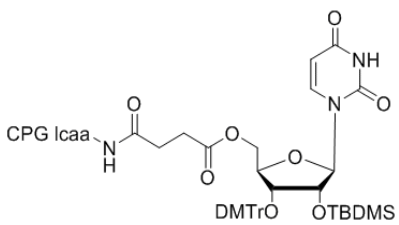
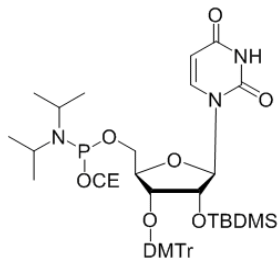
## References:

1. Srivastava, S. C.; Srivastava, N. P.; RNA Synthesis in the Reverse Direction, 2011, PCT Int. App., WO2011103468.
2. Srivastava, S. C.; Srivastava, N. P.; RNA Synthesis in the Reverse Direction, 2011, PCT App., Pub. US20110137010.
3. Srivastava, S. C.; Pandey, D.; Srivastava, N.; Bajpai, S. P. RNA Synthesis in the Reverse Direction, 2010, WO2010027512.
4. Srivastava, S. C.; Pandey, D.; Srivastava, N.; Bajpai, S. P. RNA Synthesis in the Reverse Direction, 2011, Curr. Pro. in Nuc. Acid Chem.; Unit 3.20.

品名	商品コード	容量	概要	構造式
<b>2'-tBDSilyl-3'-DMT-Adenosine (n-bz) 5'-Icaa CPG</b>	1000Å CPG-N-6201-10 500Å CPG-N-6201-05	100 mg, 1 g, 5 g  <b>pack 4</b> 40nmol, 0.2μmol, 1.0μmol  <b>pack 10</b> 40nmol, 0.2μmol, 1.0 μmol	FW 988.19  輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	
<b>2'-tBDSilyl-3'-DMT-Adenosine (n-bz) 5'-CED phosphoramidite</b>	ANP-3401	250 mg 500 mg 1, 2, 5 g	FW 988.19  輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	
<b>2'-tBDSilyl-3'-DMT-Cytidine (n-acetyl) 5'-Icaa CPG</b>	1000Å CPG-N-6206-10 500Å CPG-N-6206-05	100 mg, 1 g  <b>pack 4</b> 40nmol, 0.2μmol, 1.0μmol  <b>pack 10</b> 40nmol, 0.2μmol, 1.0 μmol	FW 902.10  輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	
<b>2'-tBDSilyl-3'-DMT-Cytidine (n-acetyl) 5'-CED phosphoramidite</b>	ANP-3405	250 mg 500 mg 1, 2, 5 g	FW 902.10  輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	
<b>2'-tBDSilyl-3'-DMT-Guanosine (n-ibu) 5'-Icaa CPG</b>	1000Å CPG-N-6203-10 500Å CPG-N-6203-05	100 mg, 1 g  <b>pack 4</b> 40nmol, 0.2μmol, 1.0μmol  <b>pack 10</b> 40nmol, 0.2μmol, 1.0 μmol	FW 1076.30  輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	
<b>2'-tBDSilyl-3'-DMT-Guanosine (N-iPr PAC) 5'-CED phosphoramidite</b>	ANP-3406	250 mg 500 mg 1, 2, 5 g	FW 1076.30  輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	

★ 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
<b>2'-tBDSilyl-3'-DMT-Uridine 5'-Icaa CPG</b>	1000Å CPG-N-6204-10	100 mg, 1 g, 5 g  <i>pack 4</i> 40nmol, 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-6204-05	<i>pack 10</i> 40nmol, 0.2μmol, 1.0 μmol		
<b>2'-tBDSilyl-3'-DMT-Uridine 5'-CED phosphoramidite</b>	ANP-3404	250 mg 500 mg 1, 2, 5 g	FW 861.05  輸送上の注意 高温多湿に注意。速やかな輸送が好ましい。	

★ 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。