**Зенкова, Марина Аркадьевна.**

## Закономерности взаимодействия с РНК олигонуклеотидов, олигонуклеотидных конъюгатов и катализаторов гидролиза фосфодиэфирных связей : диссертация ... доктора биологических наук : 02.00.10. - Новосибирск, 2003. - 399 с. : ил.

## Оглавление диссертациидоктор биологических наук Зенкова, Марина Аркадьевна

Список сокращений

Введение

1. Влияние структуры РНК на термодинамику и кинетику её взаимодействия с 11 олигонуклеотидами (Обзор литературы)

1.1. Введение

1.2. Методы исследования взаимодействия олигонуклеотидов с РНК

1.3. Термодинамические параметры взаимодействия олигонуклеотидов с РНК

1.3.1. Влияние структуры РНК на взаимодействие с комплементарными 16 олигонуклеотидами

1.3.2. Взаимодействие олигонуклеотидов с тРНК

1.4. Кинетика гибридизации олигонуклеотидов с РНК

1.5. Теоретические подходы расчета сродства олигонуклеотидов к 38 структурированным участкам РНК

1.6. Сравнение активности антисмысловых олигонуклеотидов в бесклеточных 41 системах и культуре клеток in vitro с рассчитанными параметрами сродства к РНК-мишеням

2. Взаимодействие олигонуклеотидов с РНК: кинетические, 48 термодинамические и структурные аспекты

2.1. Исследование взаимодействия олигонуклеотидов с дрожжевой 48 фенилаланиновой тРНК

2.1.1. Выбор модели, дизайн олигонуклеотидов.

2.1.2. Равновесная гибридизация олигонуклеотидов с дрожжевой тРНК

2.1.3. Кинетика гибридизации олигонуклеотидов с тРНК

2.2. Исследование взаимодействия олигонуклеотидов с 171-звенным 69 фрагментом 23S рРНК, содержащем а-сарциновую петлю

2.2.1. Выбор модели, дизайн олигонуклеотидов

2.2.2. Гибридизация олигонуклеотидов с ECAS171 РНК

2.2.3. Обсуждение данных по взаимодействию олигонуклеотидов с 78 фрагментом ECAS171 РНК

2.3. Взаимодействия антисмысловых олигонуклеотидов с мРНК гена MDR 1 82 человека

2.3.1. Идентификация в структуре 5-концевого фрагмента MDR 1 мРНК 82 сайтов-мишеней для антисмысловых олигонуклеотидов

2.3.2. Исследование гибридизации олигонуклеотидов с фрагментом MDR 1 91 РНК

2.3.3. Применение бис-пиренильных производных олигонуклеотидов для 109 детекции ДНК в растворе

2.4. Механизм гибридизации олигонуклеотидов с РНК 111 2.4.1. Гибридизация олигонуклеотидов с дрожжевой тРНКр"е

2.4.2. Исследование механизма гибридизации олигонуклеотида 1D с 119 методов остановленной струи

2.4.3. Определение параметров Еа, ЛН и AS процесса гибридизации 128 олигонуклеотида S5 с ECAS171 РНК. Механизм гибридизации.

2.5. Сильно-связывающиеся аналоги олигонуклеотидов (SB-ON) - путь увеличения эффективности гибридизации олигонуклеотидов с РНК

2.5.1. Сравнение взаимодействия SB-ONs с тРНК™® из дрожжей с 133 немодифицированными олигонуклеотидами

2.5.2. Гибридизация SB-ONs с тРНК^6 в присутствии ионов магния

2.5.3. Определение минимального размера SB олигонуклеотида, 140 способного связываться с tPHK™

3. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ С РНК IN VITRO В КУЛЬТУРЕ 145 КЛЕТОК

3.1. Обращение р-гликопротеин опосредованной множественной лекарственной 145 устойчивости (PGY/MDR1) с помощью антисмысловых олигонуклеотидов и рибозимов (Литературное введение)

3.2. Взаимодействие олигонуклеотидов с MDR1 мРНК in vitro в культуре клеток

3.2.1. Выбор модели

3.2.2. Производные олигонуклеотидов, использованные для ингибирования 171 экспрессии MDR 1 мРНК в клетках линии КВ-8

3.2.3. Метод тестирования внутриклеточной активности олигонуклеотидов

3.2.4. Ингибирование экспрессии MDR 1 мРНК в клетках КВ-8-5 174 антисмысловыми олигонуклеотидами

3.3. Сравнение гибридизационных свойств олигонуклеотидов in vitro и их 179 активности в культуре клеток

4. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РНК С ХИМИЧЕСКИМИ РИБОНУКЛЕАЗАМИ

4.1. Расщепление РНК конъюгатами 1,4.-диазабицикло[2.2.2]октана и 181 имидазола

4.1.1. Дизайн химических рибонуклеаз

4.1.2. РНК модели и схема эксперимента

4.1.3. Расщепление РНК под действием искусственных рибонуклеаз

4.1.3.1. Специфичность расщепления РНК соединениями ABL3Cm

4.1.3.2. Влияние вторичной структуры РНК на специфичность и 189 эффективность ее расщепления соединениями ABL3Cm

4.1.3.3. Влияние концентрации искусственных рибонуклеаз на скорость 191 расщепления РНК

4.1.3.4. Кинетика расщепления РНК химическими рибонукпеазами 194 ABL3Cm

4.1.4. Влияние условий реакции на эффективность расщепления РНК 202 соединениями ABL3Cm

4.1.4.1. Влияние природы буфера на эффективность расщепления РНК

4.1.4.2. Влияние температуры на эффективность расщепления РНК 204 соединениями ABL3Cm

4.1.5. Механизм расщепления РНК под действием химических рибонуклеаз

4.1.5.1. Определение продуктов, образующихся в месте расщепления 205 РНК соединениями ABL3Cm

4.1.5.2. Влияние рН на скорость расщепления РНК соединениями 208 ABL3Cm

4.1.5.3. Определение сродства соединений ABL3Cm к РНК

4.1.5.4. Доказательство каталитического характера расщепления РНК 210 под действием соединений ABL3Cm

4.2. Применение искусственных рибонуклеаз для исследований структуры РНК 212 в растворе

4.2.1. Пробинг вторичной структуры митихондриальных тРНК\*""\* дикого 212 Tnna(Kwt) и содержащей замену (А9-\*С) (Krw)

4.2.2. Изучение вторичной структуры М2 РНК вируса гриппа

4.3. Расщепление РНК с помощью конъюгатов пептида [LeuArg]4-Gly-NH2 и 223 олигонуклеотидов со случайной последовательностью

4.3.1. Дизайн олигонуклеотид-пептидных конъюгатов и РНК-мишени

4.3.2. Эффективность и специфичность расщепления РНК олигонуклеотид- 224 пептидными конъюгатами

4.3.3. Контроль специфичности расщепления РНК

4.3.4. Исследование возможности взаимодействия между РНК и 235 олигонуклеотидом в составе конъюгата

4.3.5. Определение кинетических параметров расщепления РНК 237 конъюгатами pep-4, pep-7 и pep

4.3.6. Влияние длины и последовательности олигонуклеотидной части 245 конъюгатов на эффективность и специфичность расщепления РНК

4.3.7. Влияние длины пептидного остатка в составе конъюгатов на 247 эффективность и специфичность расщепления

4.3.8. Влияние условий реакции на эффективность расщепления РНК 248 олигонуклеотид-пептидными конъюгатами

4.3.9. Природа специфичности к последовательности РНК олигонуклеотид- 253 пептидных конъюгатов

4.3.10. Влияние структуры конъюгатов на эффективность расщепления РНК

5. Направленная модификация или расщепление РНК с помощью реакционноспособных конъюгатов олигонуклеотидов

5.1. Сайт-направленная модификация лидерной области thrS мРНК с помощью 258 алкилирующих производных антисмысловых олигонуклеотидов

5.2. Сайт-направленная модификация фрагмента MDR1 мРНК конъюгатами 267 антисмысловых олигонуклеотидов с блеомицином, фталоцианином и перфторарилазидом

5.2.1. РНК-мишень и конъюгаты антисмысловых олигонуклеотидов

5.2.2. Исследование специфичности связывания олигонуклеотидов и 270 конъюгатов с РНК

5.2.3. Реакции фрагмента MDR1/PGY1 м РНК и ДНК с конъюгатами 271 олигонуклеотидов

5.2.4. Обсуждение результатов

5.3. Направленное расщепление РНК конъюгатами олигонуклеотидов с 280 пептидом

5.3.1. Исследование взаимодействия конъюгата рер-1 А с тРНК^з

5.3.2. Рибонуклеазная активность олигонуклеотид-пептидных конъюгатов

5.3.3. Обсуждение результатов по направленному расщеплению РНК 290 олигонуклеотид-пептидным конъюгатом

5.4. Направленное расщепление РНК с помощью конъюгатов антисмысловых 293 олигонуклеотидов с имидазолсодержащими конструкциями

5.4.1. Синтез конъюгатов олигонуклеотидов и выбор РНК-мишени

5.4.2. Направленное расщепление тРНКр>,е конъюгатами олигонуклеотидов, 295 содержащими моно- и бис-имидазольные конструкции, полученными методом постсинтетической модификации

5.4.3. Направленное расщепление тРНКР|,в конъюгатами олигонуклеотидов, 304 несущими дендримерные имидазолсодержащие конструкции