**Иванов, Сергей Александрович.**

## Дизайн и синтез двойного обращенного рибозима для сайт-направленного изменения последовательности РНК : диссертация ... кандидата химических наук : 02.00.10. - Москва, 2005. - 156 с. : ил.

## Оглавление диссертациикандидат химических наук Иванов, Сергей Александрович

Список сокращений

Введение б

I. Влияние структуры шпилечных рибозимов на их каталитическую 9 активность в реакциях расщепления и лигирования РНК обзор литературы)

1.1 Строение и свойства шпилечных рибозимов

1.1.1 Минимальный шпилечный рибозим

1.1.1.1 Происхождение минимального шпилечного рибозима

1.1.1.2 Первичная, вторичная и третичная структура минимального 13 шпилечного рибозима

1.1.1.3 Сворачивание рибозим-субстратного комплекса

1.1.1.4 Каталитический механизм действия шпилечных рибозимов

1.1.2 Обращенный шпилечный рибозим, его происхождение и свойства

1.2 Шпилечные рибозимы в реакциях расщепления и лигирования РНК

1.2.1 Природные рибозимы

1.2.1.1 Кинетика и термодинамика реакций расщепления и 36 лигирования РНК

1.2.1.2 Влияние стабильности и структуры рибозим-субстратного 41 комплекса на активность рибозима

1.2.2 Искусственные рибозимы

1.2.2.1 Вилочный шпилечный рибозим

1.2.2.2 Обращенный шпилечный рибозим

II. Дизайн и синтез двойного обращенного рибозима 53 для сайт-направленного изменения последовательности РНК результаты и их обсуждение)

11.1 Дизайн двойного рибозима 54 как инструмента молекулярного воздействия

11.1.1 Стратегия сайт-направленного изменения 54 последовательности РНК

11.1.2 Двойной рибозим R-DRBV

11.1.2.1 Предполагаемый способ синтеза рибозима R-DRBV

11.1.2.2 Синтез РНК посредством удлинения праймера при 62 помощи РНК-полимеразы фага Т

11.1.2.3 Разветвленный рибозим R-RB

11.1.2.3.1 Строение рибозима R-RB

11.1.2.3.2 Химический синтез рибозима R-RB

11.1.2.3.3 Каталитические свойства рибозима R-RB

II.2 Оптимизация структуры обычного обращенного рибозима 81 в реакциях расщепления и лигирования РНК

11.2.1 Влияние природы нуклеотида 81 в месте соединения доменов рибозима на его активность

11.2.2 Влияние длины полинуклеотидного линкера 87 на активность рибозима

0 II.3 Двойной обращенный рибозим R-DRV в реакции сайт-направленного изменения последовательности РНК

11.3.1 Модельная реакция изменения последовательности 90 субстрата S40F3F

11.3.2 Синтез двойного рибозима R-DRV

11.3.3 Свойства рибозима R-DRV в реакции расщепления РНК

11.3.4 Изменение последовательности РНК 103 при помощи рибозима R-DRV

11.3.5 Оптимизация условий 105 реакции изменения последовательности РНК

11.3.6 Каталитическая активность рибозима R-DRV 109 U.3.7 Внутреннее мечение РНК остатком молекулы-красителя Су

III. Экспериментальная часть

III.1 Реактивы и материалы

111.1.1 Реагенты и растворители

111.1.2 Ферменты

111.1.3 Буферные растворы

111.1.4 Разделяющие материалы

111.1.5 Приборы 117 111.2 Методы и методики

111.2.1 Физико-химические методы анализа

111.2.1.1 Анализ РНК при помощи A.L.F. секвенатора ДНК

111.2.1.2 Анализ РНК при помощи LiCor 4200 секвенатора ДНК

111.2.1.3 Методы при получении РНК и ДНК

111.2.2 Синтезы

111.2.2.1 Синтез амидофосфита Ы4-(6-гидроксигексил-0- 121 левулинил)-5-метил-5'-0-(4,4'-диметокситрифенил-метил)-1 -р-0-2'-дезоксицитидина (8)

111.2.2.2 Синтез субстратных РНК

111.2.2.3 Мечение субстратных РНК

111.2.2.4 Синтез разветвленного рибозима R-RB

111.2.2.5 Синтез немодифицированных рибозимов

111.2.2.6 Синтез РНК-фрагментов, 134 содержащих 2',3'-циклическуга фосфатную группу

11.2.3 Определение нуклеотидного состава рибозима R-RB

11.2.4 Получение РНК посредством удлинения праймера при 136 помощи РНК-полимеразь; фага

11.2.5 Расщепление РНК-субстратов

11.2.6 Лигирование РНК-фрагментов

11.2.7 Изменение последовательности РНК

И.2.8 УФ плавление дуплексов

II.2.9 Определение периода полураспада 141 2',3'-циклической фосфатной группы в составе РНК

Выводы