

Tantárgyleírás

A hallgatók tájékoztatása a tantárgyi követelményekről

Képzés neve: PhD képzés – szabadon választható kurzus
Tantárgy címe: Nukleinsavak szintézise és alkalmazásai 2.
Tantárgy kódja: AOKDI-SZV-43
Tanév/félév: tavaszi / 2.félév
Oktató neve és elérhetősége (e-mail): Dr. Kupihár Zoltán tudományos munkatárs Orvosi Vegytani Intézet e-mail: kupihar.zoltan@med.u-szeged.hu ; tel.: +36 62 545 145
A tanóra típusa: előadás /szeminárium/gyakorlat
A tantárgy heti óraszám: 2
Tantárgy kreditértéke: 6
Számonkérés módja: kollokvium , gyakorlati jegy, egyéb:.....
Előfeltételek (a tantárgy céljainak és követelményeinek eléréséhez szükséges, előzetesen elvárt tanulási eredmények vagy teljesített tantárgy: Nukleinsavak szintézise és alkalmazásai 1. kurzus
Tantárgy célja: A kurzus célja, egyrészt, hogy a hallgatókat részletesen megismertesse a nukleinsavak szintézise és alkalmazásai 1. kurzus végén, említés szintjén elhangzott olyan, potenciálisan terápiás lehetőségeket hordozó molekuláris biológiai technikákkal melyek a génkifejeződést képesek befolyásolni, illetve a genetikai kód szerkesztését teszik lehetővé, másrészt a nukleinsavak és módosított származékaik szintézisének bemutatása a nukleinsavak szerkezetvizsgálati és analitikai eljárásainak (HPLC, CE, MS, NMR, UV-VIS fotometria, CD spektroszkópia) tárgyalásával együtt.
A tantárgy elvárt kimeneti követelményei (a tantárggyal kialakítandó konkrét tanulási eredmények): Az elvárt követelmény a tematikában szereplő főbb témakörökben a hallgató által kialakított elméleti jártasság, azaz a hallgató képes átlátni a különböző, módosított és módosítatlan nukleinsavak előállításának, tisztításának és szerkezetvizsgálatának lehetőségeit, korábbi és jelenlegi módszereit. Képes a különféle biológiai alkalmazások és azokhoz szükséges nukleinsavak megfelelő (általában módosított) szerkezetei közti összefüggéseket átlátni. Alaposan ismeri a tematikában szereplő, potenciálisan terápiás alkalmazások elméleti hátterét és képes megtervezni olyan natív vagy módosított nukleinsavakat, melyek adott molekuláris biológiai kísérletekben alkalmazhatók.

Témakörök:

- **Nukleinsavak terápiás alkalmazásainak részletes tárgyalása**
 - antiszensz oligonukleotidok (exon skipping és anti-miR oligonukleotidok)
 - RNS interferencia részletesen (siRNS)
 - mikro RNS-k, mint génszabályozó elemek
 - génszerkesztési lehetőségek (CRISPR)
 - mRNS technológia (vakcinák, daganatterápia)
- **Nukleinsavak szintézise 1.**
 - *A természetes és módosított szerkezetű nukleinsavak kémiai szintézisének lehetőségei a klasszikus oldat fázisú megközelítésektől a napjainkban rutinszerűen használt automatizált szilárd fázisú szintézisekig*
 - DNS szintézis
 - RNS szintézis
 - módosított nukleinsavak: PNA, LNA, PMO (szerkezetek, előnyök, hátrányok)
 - lehetőségek és korlátok az alkalmazások tükrében
- **Nukleinsavak szintézise 2.**
 - *A természetes és módosított szerkezetű nukleinsavak kémiai szintézisének legújabb lehetőségei.*
 - a jelenlegi legújabb RNS szintézis (szilárd fázisú TC kémia hosszú RNS-ek kémiai szintéziséhez)
 - Legújabb oldat fázisú szintézis lehetőségek (P(III) és P(V kémia) a legújabb megoldások korlátai, még megoldandó problémái)
 - módosított nukleinsavak: morfolino nukleinsavak, PNS, LNS, GNS, ill. kimérák szintetikus lehetőségei
 - Nukleinsav konjugátumok (peptid-nukleinsav, lipid-nukleinsav) szintézise (lehetőségek és korlátok)
- **Nukleinsavak vizsgálata**
 - *A nukleinsavak szintézise, vizsgálata és alkalmazásai során előforduló elválasztástechnikai és analitikai eljárások ismertetése.*
 - Gélelektroforézis
 - Kapilláris elektroforézis
 - HPLC
 - Ioncserés kromatográfia
 - Gélkizárásos kromatográfia
 - Molekulaszűrési technikák
 - Spektroszkópiai módszerek (UV, CD)
 - Tömegspektrometria (ESI, MALDI-TOF, Q-TOF, Orbitrap, LC-MS, MS/MS)

A tanulási eredmények elérését támogató módszerek:

A tanítást a hallgatók számára hozzáférhető pdf formátumú prezentációk, valamint a kiadott kötelező és ajánlott szakirodalmak listái segítik.

A nukleinsavak szintézisének, tisztításának és analitikájának könnyebb megértéséhez az SZBK Növénybiológiai Intézetében található Oligomer szintézislaboratóriumban lesz a félév során egy látogatás, ahol a hallgatók testközelből láthatják a nukleinsavszintézist és a nukleinsavak tisztítását, valamint ESI-MS analitikai vizsgálatát.

Az elvárt tanulási eredmények elsajátításának ellenőrzése:

A kurzus előadásain a jelenlét kötelező, pótlási lehetőség nincs. Orvosi igazolás bemutatása esetén a hiányzás igazoltnak tekintendő.

A félévet egy írásbeli vagy szóbeli kollokviumi számonkérés zárja, melynek anyaga az előadásokon elhangzottak. A vizsga ötfokozatú értékeléssel zárul, melynél a kettes, azaz megfelelő szint eléréséhez a legalapvetőbb ismeretek megértését és azok alkalmazásának lehetőségét szükséges a hallgatónak bizonyítania. A további fokozatok elérése a nem alapvető ismeretekhez tartozó tudásanyag megértésének mélységétől és az összefüggések gyakorlati problémák megoldásához történő alkalmazásának bemutatásától függ.

Kötelező irodalom:

M H Caruthers (1989): **Synthesis of oligonucleotides and oligonucleotide analogs.** *Topics in Molecular and Structural Biology*, 12, 7-24

R T Pon, (2003): **Chemical synthesis of oligonucleotides: From dream to automation.** In *Artificial DNA* Edited by Y E Khudiyakov, H A Fields, 1-70

D Loakes (2011): **Nucleotides and nucleic acids; oligo- and polynucleotides.** *Organophosphorus Chemistry*, 40, 139-216

Ajánlott irodalom:

N.K. Kochetkov, E.I. Budovski (Eds.) (1971): **Organic chemistry of nucleic acids** Plenum Press London, New York

Ross H. Hall (1971): **The modified nucleosides in nucleic acids** Columbia University Press New York, London

Paul O. P. TS'O (Ed.) (1974): **Basic principles in nucleic acid chemistry** Academic Press New York, London

M J Gait (Ed.) (1984) **Oligonucleotide synthesis (a practical approach)** IRL Press Oxford

Sudhir Agrawal (Ed.) (1993) **Protocols for oligonucleotides and analogs (Synthesis and properties)** Methods in Molecular Biology * 20 Humana Press, Totowa, New Jersey

Peter G. Isaac (Ed.) (1994) **Protocols for nucleic acid analysis by nonradioactive probes** Methods in Molecular Biology * 28 Humana Press, Totowa, New Jersey
J Stawinski, R Stroemberg (2005): **Di- and oligonucleotide synthesis using H-phosphonate chemistry.** Methods in Molecular Biology (Totowa, NJ, United States), 288, 81-100

S L Beaucage, Serge L., R P Iyer (1993): **The synthesis of modified oligonucleotides by the phosphoramidite approach and their applications.** Tetrahedron, 49(28), 6123-94

M M Vaghefi (2005): **Chemical synthesis of oligonucleotide triphosphates.** In Nucleoside Triphosphates and Their Analogs Edited by M M Vaghefi, 105-113

H Lonnberg (2009): **Solid-Phase Synthesis of Oligonucleotide Conjugates Useful for Delivery and Targeting of Potential Nucleic Acid Therapeutics.** Bioconjugate Chemistry, 20(6), 1065-1094

H Lonnberg (2017): **Synthesis of oligonucleotides on a soluble support.** Beilstein Journal of Organic Chemistry, 13, 1368-1387

A tantárgyi követelmények megjelenítése a Coospace színtérben (összefoglalás)

Leírás (publikus):

A kurzus célja, egyrészt, hogy a hallgatókat részletesen megismertesse a nukleinsavak szintézise és alkalmazásai 1. kurzus végén, említés szintjén elhangzott olyan, potenciálisan terápiás lehetőségeket hordozó molekuláris biológiai technikákkal melyek a génkifejeződést képesek befolyásolni, illetve a genetikai kód szerkesztését teszik lehetővé, másrészt a nukleinsavak és módosított származékaik szintézisének bemutatása a nukleinsavak szerkezetvizsgálati és analitikai eljárásainak (HPLC, CE, MS, NMR, UV-VIS fotometria, CD spektroszkópia) tárgyalásával együtt.

Követelmények:

Az elvárt követelmény a tematikában szereplő főbb témakörökben a hallgató által kialakított elméleti jártasság, azaz a hallgató képes átlátni a különböző, módosított és módosítatlan nukleinsavak előállításának, tisztításának és szerkezetvizsgálatának lehetőségeit, korábbi és jelenlegi módszereit. Képes a különféle biológiai alkalmazások és azokhoz szükséges nukleinsavak megfelelő (általában módosított) szerkezetei közti összefüggéseket átlátni. Alaposan ismeri a tematikában szereplő, potenciálisan terápiás alkalmazások elméleti hátterét és

képes megtervezni olyan natív vagy módosított nukleinsavakat, melyek adott molekuláris biológiai kísérletekben alkalmazhatók.

A kurzus előadásain a jelenlét kötelező, pótlási lehetőség nincs. Orvosi igazolás bemutatása esetén a hiányzás igazoltnak tekintendő.

A félévet egy írásbeli vagy szóbeli kollokviumi számonkérés zárja, melynek anyaga az előadásokon elhangzottak. A vizsga ötfokozatú értékeléssel zárul, melynél a kettes, azaz megfelelt szint eléréséhez a legalapvetőbb ismeretek megértését és azok alkalmazásának lehetőségét szükséges a hallgatónak bizonyítania. A további fokozatok elérése a nem alapvető ismeretekhez tartozó tudásanyag megértésének mélységétől és az összefüggések gyakorlati problémák megoldásához történő alkalmazásának bemutatásától függ.

- **Nukleinsavak terápiás alkalmazásainak részletes tárgyalása**
 - antiszensz oligonukleotidok (exon skipping és anti-miR oligonukleotidok)
 - RNS interferencia részletesen (siRNS)
 - mikro RNS-k, mint génszabályozó elemek
 - génszerkesztési lehetőségek (CRISPR)
 - mRNS technológia (vakcinák, daganatterápia)
- **Nukleinsavak szintézise 1.**
 - ***A természetes és módosított szerkezetű nukleinsavak kémiai szintézisének lehetőségei a klasszikus oldat fázisú megközelítésektől a napjainkban rutinszerűen használt automatizált szilárd fázisú szintézisekig***
 - DNS szintézis
 - RNS szintézis
 - módosított nukleinsavak: PNA, LNA, PMO (szerkezetek, előnyök, hátrányok)
 - lehetőségek és korlátok az alkalmazások tükrében
- **Nukleinsavak szintézise 2.**
 - ***A természetes és módosított szerkezetű nukleinsavak kémiai szintézisének legújabb lehetőségei.***
 - a jelenlegi legújabb RNS szintézis (szilárd fázisú TC kémia hosszú RNS-ek kémiai szintéziséhez)
 - Legújabb oldat fázisú szintézis lehetőségek (P(III) és P(V) kémia) a legújabb megoldások korlátai, még megoldandó problémái)
 - módosított nukleinsavak: morfolino nukleinsavak, PNS, LNS, GNS, ill. kiméráik szintetikus lehetőségei
 - Nukleinsav konjugátumok (peptid-nukleinsav, lipid-nukleinsav) szintézise (lehetőségek és korlátok)
- **Nukleinsavak vizsgálata**
 - ***A nukleinsavak szintézise, vizsgálata és alkalmazásai során előforduló elválasztástechnikai és analitikai eljárások ismertetése.***
 - Gélelektroforézis
 - Kapilláris elektroforézis
 - HPLC
 - Ioncserés kromatográfia
 - Gélkizárásos kromatográfia

- Molekulaszűrési technikák
- Spektroszkópiai módszerek (UV, CD)
- Tömegspektrometria (ESI, MALDI-TOF, Q-TOF, Orbitrap, LC-MS, MS/MS)