



УДК 547.963.32.057 : 542.95

© 1991 г.

Е. А. Романова, Л. Г. Бузнецова, Е. А. Кубарева,  
А. В. Цытович\*, И. Н. Меренкова, Т. С. Ореукая,  
Е. С. Громова, З. А. Шабарова

## СИНТЕЗ И СВОЙСТВА ДНК-ДУПЛЕКСОВ, СОДЕРЖАЩИХ 9-[1'-ГИДРОКСИ-2'-(ГИДРОКСИМЕТИЛ)ЭТОКСИ]МЕТИЛГУАНИН

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, химический факультет;

\* Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова

Получено амидофосфитное производное 9-[1'-гидрокси-2'-(гидроксиметил)этоксид]-метилгуанина (glG), которое было включено в различные положения олигодезоксирибонуклеотидной цепи в ходе автоматического синтеза. Показана возможность использования олигодезоксирибонуклеотидов, содержащих на 5'-конце glG, в реакциях BtCN-индуцируемого химического лигирования. Методами УФ-спектроскопии и КД изучены физико-химические свойства 14-звенного ДНК-дуплекса, в котором один из остатков дезоксигуанозина заменен на glG. Проведено сравнение полученных данных с результатами аналогичных исследований немодифицированного дуплекса той же структуры, а также ДНК-дуплексов, содержащих вместо одного из остатков тимидина или дезоксигуанозина 1,3-пропандиол или 1,2-дидезокси-D-рибофуранозу. Показано, что одна замена дезоксигуанозина на glG в расчете на 14 нуклеотидных пар не препятствует образованию обычного двухжелезового комплекса со структурой, близкой к немодифицированному ДНК-дуплексу.

В настоящее время синтетические олигодезоксирибонуклеотиды с направленными модификациями широко используются при изучении природы специфических белково-нуклеиновых взаимодействий, механизмов узнавания и расщепления ДНК и РНК различными нуклеазами. Узнавание белками «своих» последовательностей в нуклеиновых кислотах происходит за счет водородных связей между функциональными группами белка — донорами или акцепторами протонов и соответствующими группами гетероциклических оснований, а также за счет гидрофобных контактов и ионных взаимодействий. Для выяснения роли отдельных гетероциклических оснований двухжелевой последовательности ДНК — 5'...CC<sup>T</sup>/<sub>A</sub>GG... 3' — во взаимодействии с эндонуклеазами рестрикции *EcoRII* и *MvaI* ранее нами были синтезированы аналоги субстратов, в которых одно из нуклеозидных звеньев (тимидин, дезоксиаденозин или дезоксигуанозин) в участке узнавания заменено на 1,3-пропилендиамин, 1,3-пропандиол или 1,2-дидезокси-D-рибофуранозу [1, 2]. В этих ДНК-дуплексах полностью или частично сохраняется углеводфосфатный остов, но отсутствует гетероциклическое основание. Однако для подтверждения участия именно оснований в дискриминационных взаимодействиях необходимо синтезировать «обратный» субстрат, в котором сохранено основание, но нарушена углеводная часть одного из нуклеозидных остатков.

В этой связи интересным объектом исследования стало глицерогуаниновое производное — 9-[1'-гидрокси-2'-(гидроксиметил)этоксид]метилгуанин («ганцикловир», glG), относящееся к числу ациклических аналогов нуклеозидов.

Используемые сокращения: префикс «d» (дезоксид) при обозначении дезоксирибонуклеотидов опущен; glG, ганцикловир — 9-[1'-гидрокси-2'-(гидроксиметил)этоксид]-метилгуанин; TetrH — 1H-тетразол; DMTr — 4,4-диметокситригидрил; ib — изобутирил.

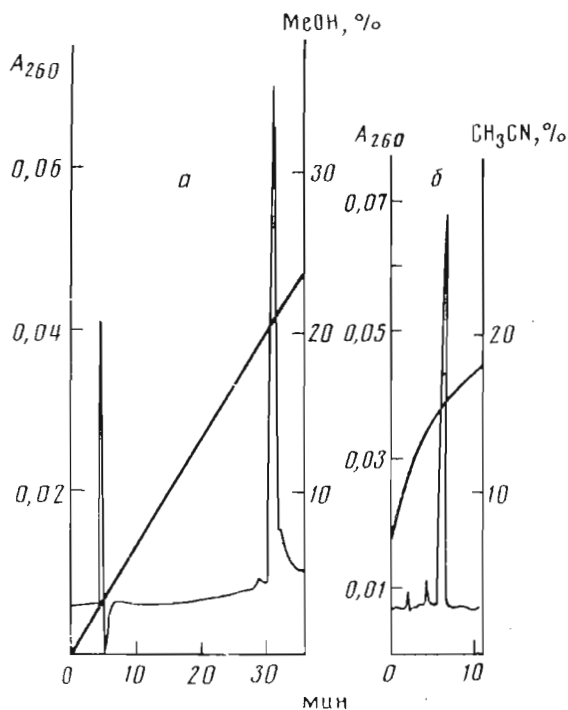


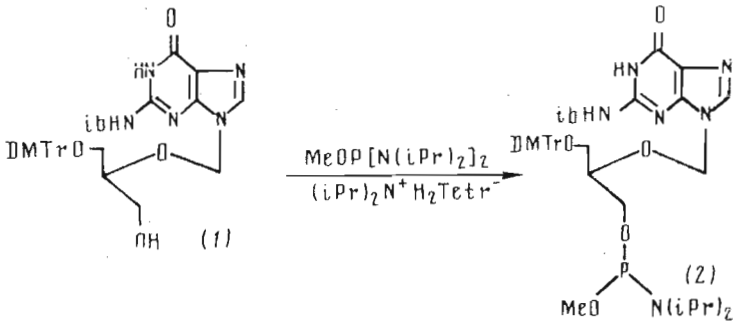
Рис. 1. Анализ чистоты выделенного пентануклеотида TTglGTT (3) после удаления 5'-O-DMTr-защитной группы: а — обращенно-фазовая ВЭЖХ; б — ион-парная хроматография (условия см. «Экспер. часть»)

Известны работы [3, 4] по получению амидофосфитов глицеронуклеозидов и использованию их в твердофазном олигонуклеотидном синтезе, однако исследовались лишь адениновые и тиминовые ациклические производные.

Целью настоящей работы являлся синтез амидофосфитного производного ганцикловира и включение его в различные положения олигодезоксирибонуклеотидной цепи в ходе автоматического синтеза.

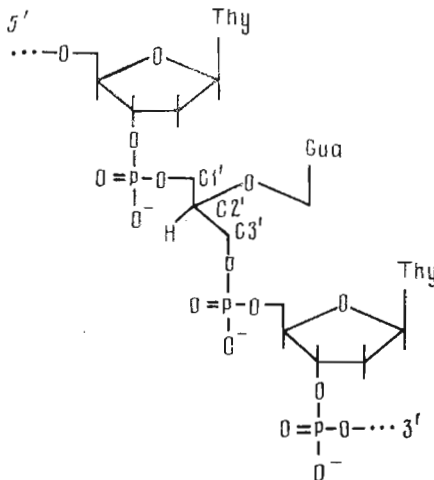
Полученное по классическим методикам [5] 5'-O,N-защищенное производное (1) было введено в реакцию фосфитилирования, которую проводили описанным способом [6], изменив только растворитель: реакцию осуществляли в смеси хлористый метилен — ацетонитрил (1 : 1, по объему) (схема 1). ТСХ-контроль в ходе реакции показал практически полное исчезновение исходного соединения (1) за 20—30 мин. В  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектре продуктов фосфитилирования присутствуют 2 сигнала диастереомеров амидофосфита (2) (159,12 и 159,35 м. д.). Обнаружены также сигналы в области 20 м. д., характерные для гидрофосфорильных производных нуклеозидов (40%). Можно предположить, что амидофосфит (2), производное по первичному гидроксилу, обладает высокой активностью и значительная часть его в процессе постсинтетических обработок превращается в гидрофосфорильное производное. Синтезированный амидофосфит (2) без хроматографической очистки был введен в олигонуклеотидный синтез в виде 0,1 М раствора в смеси ацетонитрил — хлористый метилен (3 : 1).

Синтез как природных, так и модифицированных олигонуклеотидов проводили по стандартной схеме получения олигодезоксирибонуклеотидов [7]. Было получено три олигонуклеотида, содержащих glC: TTglGTT (3), glGGTGGT (4), ACCTACCTglGGTGGT (5). Твердофазный синтез осуществляли на полимерных носителях на основе CPG со средними выходами на стадию 95—97%. Олигонуклеотиды выделяли методом обращенно-фазовой ВЭЖХ, используя гидрофобные свойства 5'-диметокситригильной группы, и затем детритилировали.



Пентануклеотид (3) при обращенно-фазовой ВЭЖХ образует двоякий пик (рис. 1). В то же время анализы методами ион-парной ВЭЖХ и электрофореза в ПААГ, содержащем 7 М мочевины, свидетельствуют о гомогенности олигонуклеотида (3). Можно предположить, что в данном случае на коротком пентануклеотиде наблюдается диастереомерия, обусловленная существованием хирального центра при С2' с «дальней асимметрией» (схема 2).

Схема 2



При хроматографическом анализе соединений (4) и (5) этот эффект не проявляется. Препаративно выделить олигомер g1GGTGGT (4) с высоким содержанием дезоксигуанозина с помощью ВЭЖХ не удалось. Продукт выделяли в 20%-ном полиакриламидном геле, содержащем 7 М мочевины.

Первичную структуру синтезированных олигодезоксирибонуклеотидов (3)—(5) подтверждали анализом по модифицированному методу Максама — Гилберта [8]. В месте введения g1G отсутствует радиоактивность во всех четырех колонках геля (рис. 2). Нуклеозидный состав соединений (3)—(5) доказывали путем исчерпывающего гидролиза до нуклеозидов смесью фосфомоноэстеразы и фосфодиэстеразы змеиного яда с последующим анализом гидролизата обращенно-фазовой ВЭЖХ и сравнением с контрольными смесями нуклеозидов.

Таким образом, было получено химически высокоактивное амидофосфоритное производное глицерометилenguанина, которое без очистки от продуктов гидролиза и, следовательно, в меньшей, чем обычно, концентрации может быть использовано для введения в различные положения олигодезоксирибонуклеотидной цепи.

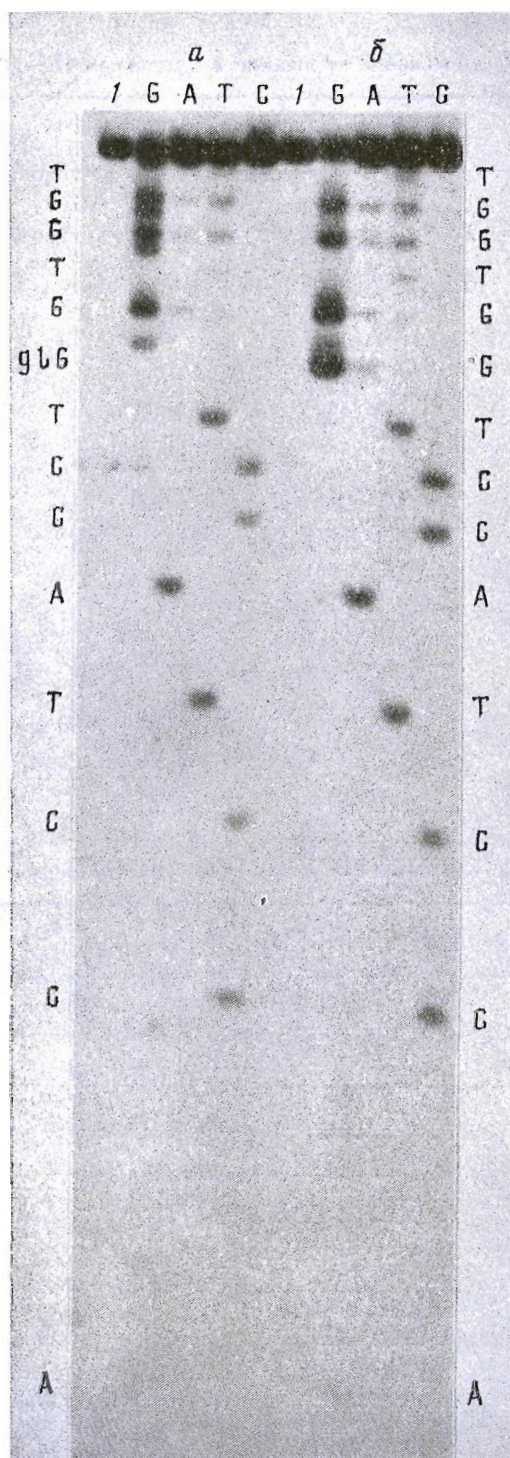


Рис. 2. Анализ нуклеотидной последовательности по методу Максама — Гилберта тетрадекануклеотидов АССТАССТglGGTGGT (а) и АССТАССТGGTGGT (б); дорожка 1 — обработка пиперидином

Олигодезоксирибонуклеотид (4), содержащий остаток glG на 5'-конце, использовался при изучении VtCN-индуцируемого химического лигирования. Для сравнения химическое лигирование проводилось также в дуплексах, содержащих немодифицированный гексануклеотид. Фосфатная группа находилась либо на 3'-конце нонануклеотида, либо на

## Химическое лигирование в дуплексах (I)—(IV)

Система	ДНК-дуплекс	Выход продукта лигирования, %
I	$\begin{array}{l} (5'-3')^* \text{pAACCTACCTp GGTGGT} \\ (3'-5') \quad \text{TGGATGGA—CCACCA} \end{array}$	64
II	$\begin{array}{l} \text{p}^* \text{AACCTACCTp g1GGTGGT} \\ \quad \text{TGGATGGA—CCACCA} \end{array}$	48
III	$\begin{array}{l} \text{AACCTACCT}^* \text{pGGTGGT} \\ \quad \text{TGGATGGA—CCACCA} \end{array}$	28
IV	$\begin{array}{l} \text{AACCTACCT}^* \text{pg1GGTGGT} \\ \quad \text{TGGATGGA—CCACCA} \end{array}$	9

\*  $^{32}\text{P}$ -меченый олигонуклеотид.

Таблица 2

## Физико-химические характеристики ДНК-дуплексов (V)—(IX)

Система	ДНК-дуплекс	$T_{\text{пл}}^*$ , °C ( $\pm 1$ )	$\Delta T$ , °C	$h$ , % ( $\pm 1$ )	$C_{20}^{20} \cdot 10^4$ , M
V	$\begin{array}{l} \text{ACCTACCTGGTCGT} \\ \text{TGGATGGACCACCA} \end{array}$	58	15	15	0,6
VI	$\begin{array}{l} \text{ACCTACCTg1GGTCGT} \\ \text{TGGATGGA—CCTCCT} \end{array}$	43	24	16	1,2
VII	$\begin{array}{l} \text{ACCTACCpO(CH}_2\text{)}_3\text{OpGGTGGT} \\ \text{TGGATGG—A—CCACCA} \end{array}$	39	27	16	0,6
VIII	$\begin{array}{l} \text{ACCTACC(ddR)GGTGGT} \\ \text{TGGATGG—A—CCACCA} \end{array}$	43	22	13	0,8
IX	$\begin{array}{l} \text{ACCTACCT(ddR)GTGGT} \\ \text{TGGATGGA—C—CACCA} \end{array}$	18 47	—	10	0,8

\* Верхняя и нижняя цифры для соединения (IX) отвечают 1-й и 2-й ступеням на кривой его плавления.

ddR — 1,2-дидезокси-D-рибофураноза.

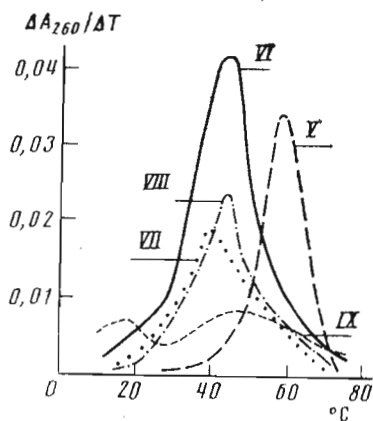


Рис. 3. Кривые плавления ДНК-дуплексов (V)—(IX) (в дифференциальной форме)

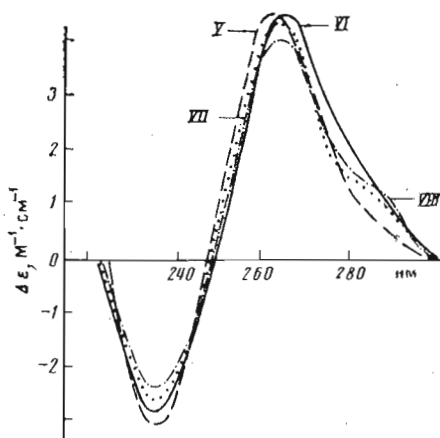


Рис. 4. Спектры КД ДНК-дуплексов (V)—(VIII)

5'-конце гексануклеотида (табл. 1). Следует отметить, что введение фосфатной группы на 5'-конец гексануклеотида, содержащего glG, с помощью Т4-полинуклеотидкиназы, протекает также эффективно, как и в случае немодифицированных субстратов. Согласно данным табл. 1, химическое лигирование наблюдается в обеих системах (II) и (IV), содержащих glG, однако выходы продуктов лигирования ниже, чем для немодифицированных соединений (I) и (III).

14-Звенный олигодезоксирибонуклеотид (5) использовали для изучения влияния остатка glG на геометрию и термодинамические параметры двуцепочечного комплекса. С этой целью стандартным амидофосфитным методом был синтезирован комплементарный к олигонуклеотиду (5) олигонуклеотид ACCACCAGGTAGGT (6). Исследования физико-химических свойств ДНК-дуплекса (VI), полученного совместным отжигом соединений (5) и (6), проводили методами УФ-спектроскопии и КД. Для корректного анализа данных параллельно в аналогичных условиях изучали физико-химические свойства немодифицированного дуплекса (V), а также дуплексов, содержащих вместо одного из остатков тимидина 1,3-пропандиол (VII) или 1,2-дидезокси-*D*-рибофуранозу (VIII), а вместо одного из остатков дезоксигуанозина — 1,2-дидезокси-*D*-рибофуранозу (IX) (табл. 2).

Кривые плавления ДНК-дуплексов (VI)—(VIII) (рис. 3) напоминают кривую плавления немодифицированного дуплекса (V). Они однофазны и характеризуются достаточно высокими значениями кооперативности перехода спираль—клубок ( $\Delta T$ ). Таким образом, замена остатка дезоксигуанозина на glG или удаление тимидина не нарушают кооперативности процесса плавления. По-видимому, glG встраивается в двойную спираль и участвует в межплоскостных взаимодействиях с соседними основаниями. Ранее методом  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектроскопии было установлено, что неспаренные остатки дезоксиаденозина и 1,2-дидезокси-*D*-рибофуранозы, расположенные в центре ДНК-дуплекса, также встраиваются в двойную спираль [9]. Плавление дуплекса (IX) происходит в широком интервале температур, и кривая плавления носит бифазный характер. Бифазность плавления может быть связана с отсутствием комплементарной G·C-пары и гетерогенностью фрагментов, примыкающих слева и справа к остатку 1,2-дидезокси-*D*-рибофуранозы, по длине и составу.

Как видно из табл. 2, изученные модификации приводят к дестабилизации ДНК-дуплексов на 14—19° С. Этот результат закономерен, так как при таких заменах нарушаются уотсон-криковские взаимодействия и увеличивается конформационная подвижность групп атомов, примыкающих к модифицированному узлу. Кроме того, введение углеводородного фрагмента (дуплекс (VII)) уменьшает полярность окружения оснований и фосфатных групп, что также ведет к дестабилизации двойной спирали. Похожие результаты были получены в работах [1, 4, 10, 11] для 14- и

9-звенного ДНК-дуплексов, содержащих углеводородный мостик вместо остатка дезоксиаденозина и *glT* вместо тимидина соответственно, а также для ДНК-дуплексов длиной 13 и 15 нуклеотидных пар, в которых один из нуклеотидных остатков заменяли на дезоксирибозу или 1,2-дидезокси-*D*-рибофуранозу. Отметим, однако, что замена тимидина на 1,2-дидезокси-*D*-рибофуранозу по сравнению с заменой на 1,3-пропандиол (табл. 2, дуплексы (VII, VIII)) приводит к меньшей дестабилизации двойной спирали. На наш взгляд, это обусловлено тем, что в первом случае сохраняется углеводофосфатный фрагмент нуклеотидного остатка и его конформационные свойства ближе (по сравнению с пропиленовыми вставками) к конформационным свойствам аналогичного фрагмента в нуклеотиде. При замене дезоксигуанозина на *glG* (табл. 2) понижение температуры плавления, вероятно, связано с возможностью свободного вращения гуанинового основания из-за ациклической природы углеводного остатка, что может привести к нарушению комплементарных взаимодействий в *glG*-С-паре. На наш взгляд, этим объясняется и снижение выхода продуктов химического лигирования в системах (II) и (IV) (табл. 1), содержащих *glG*.

Общий вид спектров КД соединений (VI)–(IX) в целом подобен спектру КД немодифицированного дуплекса (V) (рис. 4). Для дуплексов (VII) и (VIII) в области 285 нм появляется плечо, что соответствует спектрам КД дуплексов с такой же модификацией [1]. Как видно из рис. 4, спектры КД соединения (VII) и (VIII) похожи. Это свидетельствует о сходстве их конформаций. В спектре КД дуплекса (IX) плечо отсутствует, положительная полоса спектра существенно уширена по сравнению со спектром немодифицированного соединения (V). Следует отметить, что вид спектра КД системы (IX) в большей степени, чем соединений (VII) и (VIII), отличается от спектра для немодифицированного дуплекса (V). Это коррелирует с данными по зависимости УФ-поглощения систем (V)–(IX) от температуры (рис. 3). Отличия спектров КД для дуплексов (VII)–(IX) от спектра КД немодифицированного дуплекса (V) могут быть обусловлены увеличением конформационной подвижности групп атомов в центральной части этих соединений и нарушением стэкинг-взаимодействий из-за пропуска одного из гетероциклических оснований. Вместе с тем методом <sup>1</sup>H-ЯМР-спектроскопии установлено, что удаление одного основания — тимина — из новануклеотидного ДНК-дуплекса не приводит к существенным изменениям в структуре двойной спирали [9]. Замена дезоксигуанозина на *glG* и сохранение, таким образом, гетероциклического основания при нарушении целостности дезоксирибозного кольца практически не влияет на оптические свойства ДНК-дуплекса (VI). Спектр КД модифицированного дуплекса (VI) очень близок к спектру немодифицированного дуплекса (V).

Таким образом, согласно данным по изучению ДНК-дуплекса, содержащего *glG*, методами УФ-спектроскопии и КД, подобная модификация не препятствует образованию обычного дуплекса со структурой, близкой к немодифицированному дуплексу. Поэтому ДНК-дуплекс (VI) с предложенной модификацией может быть опробован в качестве субстрата эндонуклеаз рестрикции, узнающих пятизвенную последовательность ...CC<sup>T</sup>/<sub>A</sub>GG...

Авторы выражают благодарность Н. П. Потаповой за помощь при интерпретации ЯМР-спектров и О. В. Пятраускене при записи спектров КД.

#### Экспериментальная часть

В работе использовали 9-[1'-гидрокси-2'-(гидроксиметил)этокси]метилгуанин («ганцикловир») (Syntex, США), 5'-О-диметокситритил-3'-(*N,N*-диизопропиламино)-β-цианэтилфосфиты 2'-дезоксирибонуклеозидов (Pharmacia, США); ангидрид изомасляной кислоты, диметокситритилхлорид (Fluka, Швейцария), бромциан (Merck, ФРГ); Т4-полинуклеотидкиназу (НОП «Фермент», Литва).

Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на пластинках Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck, ФРГ), колоночную хроматографию — на силикагеле марки Silicagel L 40/100 (Chemapol, ЧСФР).

<sup>1</sup>H- и <sup>31</sup>P-ЯМР-спектры (в CDCl<sub>3</sub>) записаны на приборе VXR-400 (Varian, США); УФ-спектры регистрировались на спектрофотометре 150—20 (Hitachi, Япония).

Олигонуклеотидный синтез выполняли на автоматическом ген-синтезаторе «Виктория-4М» производства СКТБ специальной электроники и аналитического приборостроения СО АН СССР.

В качестве полимерного носителя использовали dN-lcaa-CPG (Crueshem, Великобритания) с загрузкой первым нуклеозидным звеном 20—24 мкмоль/г.

Синтез 14-звенных олигонуклеотидов, содержащих вместо одного из остатков тимидина или дезоксигуанозина 1,3-пропандиол или 1,2-дидезокси-D-рибофуранозу, описан в работах [1, 2]. ДНК-дуплексы (V)—(IX) были получены совместным отжигом соответствующих олигонуклеотидов.

Температурную зависимость УФ-поглощения ДНК-дуплексов изучали на двухлучевом спектрофотометре Cary-219 (Varian, США) при непрерывном повышении температуры со скоростью 0,5° С/мин. Спектры кругового дихроизма регистрировали на спектрополяриметре Jasco J-500С (Япония) при комнатной температуре. Исследование физико-химических свойств дуплексов (V)—(IX) проводили в 0,015 М Na-цитратном буфере, рН 7,25, содержащем 0,15 М NaCl. Концентрация ДНК-дуплексов в расчете на нуклеотидное звено составляла  $6 \cdot 10^{-5}$ — $1,2 \cdot 10^{-4}$  М.

9-[1'-Диметокситритилокси-2'-(гидроксиметил)этокси]метил-2-N-изобутирилгуанин (1) получали ацилированием ганцикловира по методике, аналогичной ацилированию дезоксирибонуклеозидов, с использованием временного блокирования гидроксиллов триметилхлорсиланом с последующим тритилированием стандартным методом [5]. ТСХ соединения (1):  $R_f$  0,62 в системе хлороформ—этанол (9 : 1, по объему).

Синтез (N,N-диизопропиламидо)метилфосфита 9-[1'-диметокситритилокси-2'-(гидроксиметил)этокси]метил-2-N-изобутирилгуанина (2). 1 ммоль (600 мг) соединения (1) и 0,5 ммоль (86 мг) тетразолида N,N-диизопропиламмония высушивали в вакууме, затем растворяли в 5 мл смеси хлористый метилен — ацетонитрил (1:1, по объему) и добавляли 1,2 ммоль (325 мкл) бис(N,N-диизопропиламидо)метилфосфита, синтезированного по методике [6]. По окончании реакции (30 мин, ТСХ-контроль) реакционную смесь разбавляли хлористым метиленом и выливали в насыщенный водный раствор NaHCO<sub>3</sub>. Затем органический слой дважды промывали насыщенным раствором NaCl. Объединенные органические вытяжки сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, далее осушитель отфильтровывали, растворитель упаривали, продукт высушивали в вакууме масляного насоса до пенообразного остатка, который затем заливали абс. пентаном и выдерживали 16—18 ч при 5° С. Растворитель декантировали, продукт высушивали в вакууме, хранили под сухим аргоном при —20° С. 100 мг реакционной смеси хроматографировали на колонке с силикагелем в системе хлороформ — этанол — триэтиламин (90 : 5 : 5, по объему). Получено аналитическое количество индивидуального соединения (2):  $R_f$  0,54; <sup>31</sup>P-ЯМР-спектр (CDCl<sub>3</sub>),  $\sigma$ , м. д.: 159,12 и 159,35.

Удаление защитных групп после синтеза олигонуклеотидов осуществляли как описано нами ранее [7].

Анализ реакционных смесей и выделение олигонуклеотидов, содержащих диметокситритильную группу, проводили методом обращенно-фазовой ВЭЖХ (хроматограф Altex, США; носитель Ultrasphere, ODS 5U, Beckman, США; размер колонки 4,6 × 250 мм, в градиенте концентрации (0—40%) ацетонитрила в 0,1 М ацетате аммония (рН 6,5); скорость элюции 1 мл/мин). Детритилированные олигонуклеотиды анализировали повторно обращенно-фазовой ВЭЖХ в градиенте концентрации (0—40%) метилового спирта в 0,1 М буферном растворе ацетата аммония или ион-парной ВЭЖХ (хроматограф Gilson, Франция; носитель — Армсфер С-16; 7,5 (ИРЕА РЕАХРОМ, СССР); размер колонки 4 × 250 мм, в гра-



диенте концентрации (5—40%) ацетонитрила в 50 мМ калий-фосфатном буфере (рН 7) в присутствии 2 мМ фосфата тетрабутиламмония; скорость элюции 1 мл/мин).

*Анализ продуктов гидролиза* модифицированных олигонуклеотидов смесью фосфомоноэстеразы и фосфодиэстеразы змеиного яда проводили как описано в работе [1].

*Введение 5'-<sup>32</sup>P-метки в олигодезоксирибонуклеотиды* осуществляли в буфере 0,05 М трис-НCl (рН 9,0), содержащем 0,01 М MgCl<sub>2</sub>, 5 мМ 1,4-дитиотреит, 0,01 М спермидин. Смесь, содержащую 0,01 ОЕ<sub>260</sub> олигонуклеотида, 5 мКи [ $\gamma$ -<sup>32</sup>P]АТР, 0,1 ед. акт. Т4-полинуклеотидкиназы в 10 мкл буфера, инкубировали 30 мин при 37° С. Меченый олигомер выделяли электрофорезом в 20% ПААГ.

*Химическое лигирование* проводили на 0,1 ОЕ<sub>260</sub> смеси олигонуклеотидов, составляющих дуплекс (в 1,5-кратном избытке брали олигонуклеотид, являющийся акцептором фосфата). Раствор упаривали, остаток растворяли в 9 мкл 0,25 М 2-морфолиноэтансульфонатного буфера (рН 7,5), содержащего 0,02 М MgCl<sub>2</sub>, охлаждали до 0° С и добавляли 1 мкл свежеприготовленного 10 М раствора бромциана в абс. ацетонитриле. Через 1 мин реакционную смесь осаждали этанолом и анализировали электрофорезом в 20% ПААГ, содержащем 7 М мочевины.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кузнецова С. А., Волков Е. М., Громова Е. С., Потанов В. К., Шабарова З. А. // Биоорг. химия. 1988. Т. 14. № 12. С. 1656—1662.
2. Волков Е. М., Кубарева Е. А., Сергеев В. Н., Орецкая Т. С. // Химия природных соединений. 1990. № 3. С. 417—419.
3. Usman N., Juby C. D., Ogilvie K. K. // Tetrahedron Lett. 1988. V. 29. № 38. P. 4831—4834.
4. Schneider K. C., Benner S. A. // J. Amer. Chem. Soc. 1990. V. 112. № 1. P. 453—455.
5. Jones R. A. // Oligonucleotide Synthesis: a Practical Approach / Ed. M. J. Gait. Oxford. Washington DC: IRL Press, 1984. P. 23—24.
6. Barone A. D., Tang L. Y., Caruthers M. H. // Nucl. Acids Res. 1984. V. 12. № 10. P. 4051—4061.
7. Волков Е. М., Романова Е. А., Круг А., Орецкая Т. С., Потанов В. К., Шабарова З. А. // Биоорг. химия. 1988. Т. 14. № 8. С. 1034—1039.
8. Rosenthal A., Schubert F., Cech D., Oretskaja T. S., Kuznetsova S. A., Shabarova Z. A. // Biomed. et biochim. acta. 1985. V. 44. № 10. P. 75—83.
9. Cuniassé Ph., Sowers L. C., Eritja R., Kaplan B., Goodman M. F., Cognet J. A. H., LeBret M., Guschlbauer W., Fazakerley G. V. // Nucl. Acids Res. 1987. V. 15. № 19. P. 8003—8022.
10. Bertrand J.-R., Vasseur J.-J., Rayner B., Imbach J.-L., Paoletti J., Paoletti C., Malvy C. // Nucl. Acids Res. 1989. V. 17. № 24. P. 10307—10319.
11. Millican T. A., Mock G. A., Chauncey M. A., Patel T. P., Eaton M. A. W., Gunning J., Cutbush S. D., Neidle S., Mann J. // Nucl. Acids Res. 1984. V. 12. № 19. P. 7435—7453.

Поступила в редакцию  
3.IV.1991

E. A. ROMANOVA, L. G. KUZNETSOVA, E. A. KUBAREVA, A. V. TSYTOVICH\*,  
I. N. MERENKOVA, T. S. ORETSKAYA, E. S. GROMOVA, Z. A. SHABAROVA

#### THE SYNTHESIS AND PROPERTIES DNA-DUPLEXES WITH 9-[1'-HYDROXY-2'-(HYDROXYMETHYL)ETHOXY]METHYLGUANINE

Chemical Department, M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow;

\* M. V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technology, Moscow

Phosphoramidite derivative of 9-[1'-hydroxy-2'-(hydroxymethyl)ethoxy]methylguanine (glG) is synthesized which allows one to introduce point modifications in any position of the chemically prepared oligonucleotide chain. Oligonucleotides with 5'-terminal glG can be used in chemical ligation promoted by cyanogen bromide. The modified oligonucleotide duplexes were characterized by melting curves and CD spectra.