



УДК 547.963.32.057:542.95

АВТОМАТИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ ОЛИГОДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОТИДОВ

VI. ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ СЕГМЕНТНЫХ НОСИТЕЛЕЙ
НА ОСНОВЕ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ**Ломакин А. И., Попов С. Г.**Всесоюзный научно-исследовательский институт молекулярной биологии,
пос. Кольцово Новосибирской обл.*

При разработке способа быстрого автоматизированного синтеза олигодезоксирибонуклеотидов на сегментных носителях были исследованы различные целлюлозные материалы. На примере образцов хроматографических бумаг Whatman и Filtrak показано, что мягкая кислотная или щелочная обработка бумажных дисков приводит к значительному повышению реакционной способности целлюлозы и увеличению нагрузки при последующей химической модификации. Найдено, что сегментные носители на основе целлюлозных тканей отличаются от бумажных дисков высокой механической стабильностью и могут успешно использоваться в автоматизированном синтезе олигодезоксирибонуклеотидов.

Одним из наиболее перспективных методов химического синтеза фрагментов ДНК является одновременный синтез на сегментных носителях (бумажных дисках), так называемый «сегментный» подход, позволяющий за короткое время получать большое число олигомеров длиной до 20 оснований [2, 3]. Недавно мы показали, что этот ручной метод может быть успешно осуществлен с использованием автоматической установки [4], причем синтез большого числа олигонуклеотидов в одном реакторе ДНК-синтезатора, проводимый по оптимальной схеме, приводит к уменьшению общего числа стадий конденсации по сравнению с синтезом в четырех реакционных сосудах, экономии растворителей и реагентов [1]. Важным направлением в разрабатываемом нами способе быстрого автоматизированного синтеза олигонуклеотидов на сегментных носителях явилось исследование свойств различных целлюлозных материалов, полезных для использования в сегментном подходе. Некоторые результаты этого исследования представлены в настоящей работе.

Основой для приготовления сегментных носителей обычно служила хроматографическая бумага Whatman 3MM, причем количество первого нуклеозида на бумажных дисках не превышало 80 мкмоль/г [2, 3, 5]. Обработка дисков, предварительно высушенных азетропным упариванием с абс. пиридином, защищенным нуклеозид-3'-О-сукцинатом в присутствии конденсирующего реагента привела к значительному увеличению нагрузки для производных (I) (схема) [4]. Многократное повторение модификации дисков из бумаги Whatman 3MM в этих условиях показало, что количество присоединенного нуклеозида варьировало в широких пределах — от 25 до 494 мкмоль на 1 г носителя. Кроме бумаги Whatman 3MM мы проверили возможность использования в автоматизированном синтезе олигонуклеотидов более тонких хроматографических бумаг Whatman 1 и Filtrak FN-1, FN-3, FN-12 и FN-16, диски из которых в реакторе установки «Виктория-2» отмывались в 1,5–2 раза быстрее, чем диски из бумаги Whatman 3MM. При проведении реакции сукцината (V) и конденсирующего реагента с целлюлозными дисками из бумаг FN-1, FN-3, FN-12, FN-16 и Whatman 1 также наблюдалась низкая воспроизводимость при достижении определенной нагрузки нуклеозида в произ-

* Сообщение V см. [1]. Принятые сокращения: TPS — тризопропилбензолсульфохлорид, MeIm — N-метилимидазол. Префикс «d» (дезоксн) в формулах дезокси-нуклеотидов для краткости опущен.



1. V, к.р.
2. $(CH_3CO)_2O$, MeIm

1. VI, к.р.
2. $(CH_3CO)_2O$, MeIm

HO-P

1. $(CH_2CO)_2O$, MeIm
2. $(CH_3CO)_2O$, MeIm

1. VII, к.р.
2. $(CH_3CO)_2O$, MeIm



P — полимерный носитель на основе целлюлозы; к.р. — конденсирующий реагент (TPS, MeIm); Nuc = Thd, bzCyd, bzAdo, ibGuo; ClPh = *p*-хлорфенил; CNEt = 2-цианэтил.

Получение модифицированных бумажных дисков (I), (II) и (IV) различными методами *

Тип бумаги	Емкость по (MeO) ₂ TpOH, мкмоль/г					Емкость **, мкмоль/г		
	I				Nuc= =bzCyd	II	IV (Nuc=Thd)	
	Nuc=Thd						а	а, способ А
	а	а	б	в				
Filtrak FN-1	20	14	390	414	66	93	—	—
FN-3	55	180	540	496	83	235	146	76
FN-12	40	27	392	434	59	130	—	—
FN-16	90	33	408	477	86	285	199	123
Whatman 1	23	—	483	504	40	103	79	42
Whatman 3MM	38	22	380	381	53	62	87	56

* а — диски без предварительной обработки; б — диски предварительно обрабатывали 0,1 н. HCl в течение 0,5 ч; в — диски предварительно обрабатывали смесью конц. NH₃ — Ру (1 : 1 об.) в течение 1 ч. Фигурными скобками выделены результаты отдельных экспериментов.

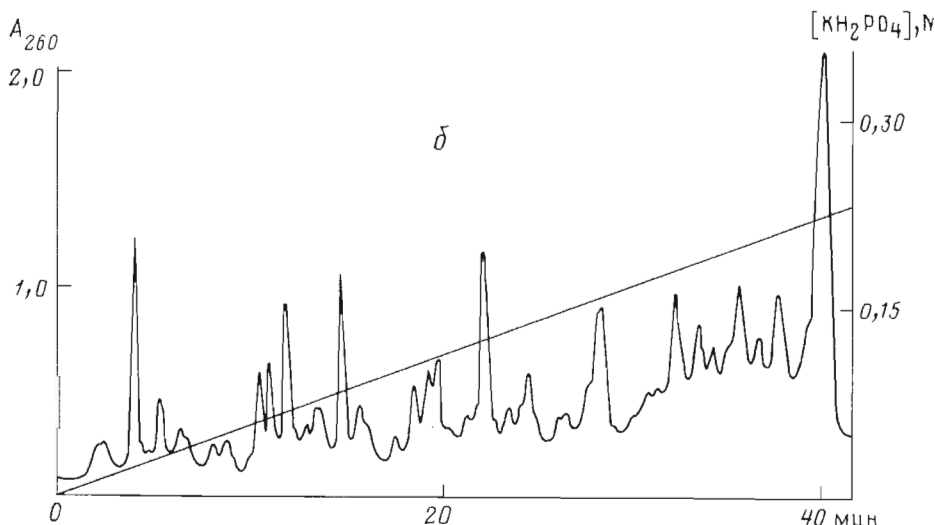
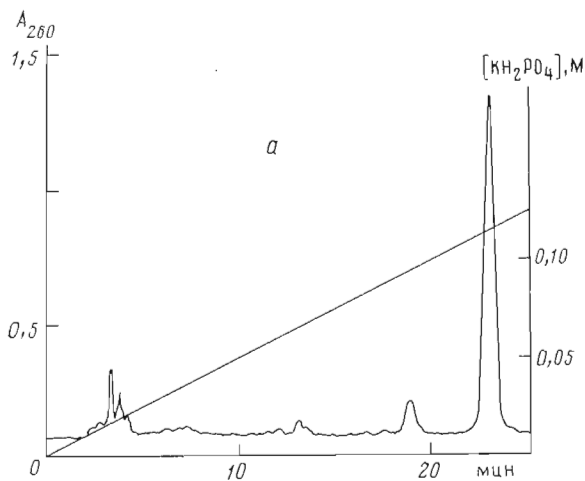
** Определена по количеству нуклеотида.

водных (I) (табл. 1). На полученных носителях был осуществлен одновременный автоматизированный синтез модельного гептамера АСТСТТТ по способу, аналогичному описанному ранее [1]. После проведения шести циклов наращивания цепи, отщепления от носителя и удаления всех защитных групп гептамер выделяли из реакционной смеси методом ионообменной ВЭЖХ (рисунок). Средний выход на стадию конденсации в синтезе АСТСТТТ для различных типов бумажных носителей после ВЭЖХ составлял 80—87%.

Наряду с получением производных (I) мы осуществляли ряд химических модификаций бумажных дисков с целью получения производных (II) — (IV), необходимых для дальнейшей работы (схема). Среди таких производных были сегментные носители со слейсерной группой (II) в виде остатка аминокапроновой кислоты (табл. 1) для сравнения выходов на первых стадиях конденсации [7] (по данным [3], падение выхода на первых стадиях конденсации наблюдается и в твердофазном синтезе олигонуклеотидов на бумажных дисках). Производные (IV) получены для проверки возможности одновременного автоматизированного синтеза олигодезоксирибонуклеотидов на сегментных носителях в направлении 5' → 3'. Модификацию бумажных дисков в этом случае осуществляли с помощью 5'-О-сукцинатов защищенных нуклеотидов (VII) (способ А) и через промежуточное образование карбоксильных производных (III) (способ Б). Количество присоединенного нуклеотида определяли спектрофотометрически после обработки носителей (IV) конц. аммиаком (табл. 1). При этом для производных (IV), полученных по способу А, нагрузка нуклеотида оказалась в 1,6—1,9 раза выше, чем при получении по способу Б.

При различных способах химической модификации бумажных носителей с целью получения производных (II) и (IV) мы вновь обратили внимание на низкую воспроизводимость при достижении определенной нагрузки. Кроме того, оказалось, что при одновременной модификации дисков из всех типов исследуемых бумаг нагрузка функциональных групп для бумаг разных типов заметно менялась от эксперимента к эксперименту (табл. 1). Очевидно, что наблюдаемое изменение количества функциональных групп для дисков из одного типа хроматографической бумаги в различных экспериментах определяется не только возможным из-

* Результаты использования производных (II) и (IV) в автоматизированном синтезе олигодезоксирибонуклеотидов будут предметом отдельного сообщения.



Ионообменная ВЭЖХ реакционных смесей в синтезе олигонуклеотидов: *a* – АСТСТТТ на бумажном диске на основе FN-16, *б* – ТСАТТТТТСТАТАСАААТТА на диске из хлопчатобумажной ткани (арт. 1503) (после полного удаления всех защитных групп). Колонка (3,2×250 мм) с анионообменником «Полисил СА» [6], градиент 0,02–0,3 М KH_2PO_4 (рН 6,5) в 30% ацетонитриле, скорость элюции 1,5 мл/мин

менением условий реакции химической модификации, но во многом и свойствами выбранной в качестве носителя бумаги.

Реакционная способность целлюлозы, которая является основой исследованных нами хроматографических бумаг, обусловлена главным образом наличием в каждом составляющем ее полимерную цепь элементарном звене одной первичной и двух вторичных гидроксильных групп. Однако на химические свойства целлюлозы значительно влияет и надмолекулярная структура, образованная множественными водородными связями, которая может затруднять диффузию реагентов к ОН-группам носителя [8]. Обычно количество доступных ОН-групп (прежде всего первичных) в целлюлозе находят тритилированием [9]. Мы воспользовались реакцией тритилирования для оценки количества химически доступных ОН-групп в различных типах хроматографических бумаг. После обработки дисков диметокситритилхлоридом в абс. пиридине в течение 4 ч при 20° С и тщательной промывки определяли степень модификации по количеству диметокситритилкарбинола (табл. 2). И в этом случае оказалось, что количество химически доступных ОН-групп для бумаг разных типов менялось от эксперимента к эксперименту.

Количество реакционноспособных ОН-групп на бумажных дисках, определенное в реакции с $(\text{MeO})_2\text{TrCl}$ (мкмоль/г) *

Тип бумаги	а	б(2)	а	б(2)	а	б(2)	в	а	б(0,5)	б(1)	б(3,5)
Filtrak FN-1	20	344	24	340	26	325	331	26	339	341	325
FN-3	38	356	103	347	57	338	354	25	329	343	339
FN-12	36	353	45	337	54	349	351	36	355	312	338
FN-16	58	361	101	364	34	352	370	46	337	330	377
Whatman 1	25	342	51	326	28	336	352	22	346	343	343
Whatman 3MM	21	335	77	335	31	330	336	220	356	323	356

* а — диски без предварительной обработки; б — диски предварительно обрабатывали 0,1 н. HCl (в скобках указана продолжительность обработки, ч); в — диски предварительно обрабатывали смесью конц. аммиака — пиридина (1:1 по объему) в течение 1 ч. Фигурными скобками выделены результаты отдельных экспериментов.

В целом на основании результатов тритилирования можно заключить, что количество химически доступных ОН-групп у носителей на основе хроматографических бумаг невелико (<100 мкмоль/г). Существует несколько способов повысить реакционную способность целлюлозы, среди которых наиболее употребимы кислотная и щелочная обработки [9–11]. В результате кислотной обработки целлюлозы частично гидролизуются глюкозидные связи, при этом снижается степень полимеризации и изменяется надмолекулярная структура целлюлозы. В случае хроматографических бумаг оказалось, что обработка целлюлозных дисков разбавленной минеральной кислотой, например 0,1 н. HCl, приводит к значительному увеличению количества реакционноспособных ОН-групп. Это подтверждается последующей модификацией бумажных дисков с помощью сукцината (V) (табл. 1) и диметокситритилхлорида (табл. 2). Высокая воспроизводимость результатов в экспериментах по диметокситритилированию бумажных дисков, предварительно обработанных разбавленной минеральной кислотой, свидетельствует о возможности использования кислотной обработки при получении сегментных носителей на основе целлюлозы со стабильно большим количеством первого нуклеозида. Что касается продолжительности обработки бумажных дисков 0,1 н. HCl, то, как видно из данных табл. 2, это время может быть достаточно коротким (0,5–1 ч). Дальнейшее увеличение продолжительности кислотной обработки не приводит к существенному увеличению количества реакционноспособных ОН-групп, но оказывает отрицательное действие на механическую прочность бумажных дисков.

Увеличение емкости целлюлозы после обработки ее разбавленными кислотами следует учитывать в олигонуклеотидном синтезе на бумажных дисках: при многократном удалении диметокситритильной защитной группы действием кислот на целлюлозном носителе могут появляться новые реакционноспособные ОН-группы, которые в следующем цикле наращивания цепи будут реагировать с фосфатным компонентом. Это может привести к ошибке в определении выхода на стадиях конденсации и общего выхода продукта по $(\text{MeO})_2\text{TrOH}$, а также к появлению более коротких последовательностей в реакционной смеси после отщепления от носителя.

Другим употребимым способом повышения реакционной способности целлюлозы является щелочная обработка [10, 11]. При этом происходит набухание целлюлозы и разрыв значительного числа межмолекулярных водородных связей, что в конечном счете также приводит к изменению надмолекулярной структуры целлюлозы. Однако, как оказалось, при обработке бумажных дисков 17% NaOH в условиях [11] происходит столь сильное набухание целлюлозы, что диски теряют механическую прочность и даже частично растворяются. В то же время нами установлено, что обработка бумажных дисков смесью конц. аммиака — пиридина (1:1 по объему) в течение 0,5–1 ч проходит достаточно мягко. Количество реак-

цношспособных ОН-групп в результате такой обработки значительно возрастает, что подтверждается последующей модификацией дисков с помощью диметокситригидрохлорида (табл. 2). Присоединение первого нуклеозида к дискам, предварительно обработанным смесью конц. аммиака и пиридина, также приводит к получению целлюлозных носителей со стабильно высокой нагрузкой (табл. 1).

Таким образом, показано, что и кислотная, и щелочная обработка бумажных дисков значительно увеличивает реакционную способность целлюлозы при последующей химической модификации. Подобраны мягкие условия обработки дисков кислотой или щелочью, которые не вызывают заметного ухудшения механической стабильности бумажных дисков. Следует, однако, заметить, что при кислотном гидролизе целлюлозы образуются новые функциональные группы — альдегидные, которые могут приводить к появлению побочных продуктов при последующем синтезе олигонуклеотидов, поэтому щелочная обработка бумажных дисков кажется нам более приемлемой для повышения реакционной способности целлюлозы.

В синтезе олигонуклеотидов на бумажных дисках было установлено, что с ростом числа циклов наращивания цепи прочность дисков заметно снижается, они разбухают, продолжительность промывок дисков растворителями и растворами реагентов возрастает [1]. Поэтому наряду с бумажными дисками мы исследовали возможность использования в автоматизированном синтезе олигонуклеотидов носителей на основе целлюлозных тканей (льняных и хлопчатобумажных), которые механически более прочны и легче промываются жидкостями [12]. Образцы целлюлозных тканей в виде нити, отрезка ленты или диска, края которого были фиксированы с помощью химически инертного материала, модифицировали обычным образом с целью получения производных (I). Количество первого нуклеозида составляло при этом 34—74 мкмоль/г для хлопчатобумажных тканей разных артикулов и 44—98 мкмоль/г — для льняных. Обработка образцов носителей на основе целлюлозных тканей конц. аммиаком или смесью конц. аммиака и пиридина позволила увеличить количество первого нуклеозида при последующей модификации до 210 мкмоль/г для хлопчатобумажных тканей и до 150 мкмоль/г — для льняных. Дальнейшие испытания полученных носителей в автоматизированном синтезе олигонуклеотидов показали, что более пригодны хлопчатобумажные ткани, так как они быстрее отмываются различными растворителями и растворами.

Проверку сегментных носителей на основе хлопчатобумажной ткани (арт. 1503) проводили одновременно с бумажными дисками в автоматизированном синтезе модельного гептамера АСТСТТТ по способу [1]. Средний выход на стадию конденсации на дисках из ткани после ВЭЖХ составлял 78%, что сравнимо с выходом на бумажных дисках. В то же время в одновременном синтезе целевого олигомера ТСАТТТТТСТАТАСААТТА на дисках из бумаги Whatman 3ММ и хлопчатобумажной ткани (арт. 1503) на установке «Виктория-2» выход продукта после ВЭЖХ (рисунок) в расчете на первый нуклеозид составил 1,6% для диска из ткани и лишь 0,6% для бумажного диска [12]. При этом к концу синтеза бумажные диски разбухали, а после отщепления олигомера и полного удаления всех защитных групп вообще теряли форму, тогда как диски из хлопчатобумажной ткани внешне не изменялись. В целом носители на основе целлюлозных тканей кажутся весьма перспективными для использования в сегментном подходе, особенно при синтезе протяженных олигомеров длиной более 20 оснований, а также при разработке схем полностью автоматического одновременного синтеза большого числа олигонуклеотидов.

Экспериментальная часть

В работе использовали диски диаметром 1 см на основе хроматографических бумаг Whatman 1, Whatman 3ММ (Whatman, Англия), FN-1, FN-3, FN-12, FN-16 (Filtrak, ГДР) и целлюлозных тканей — хлопчатобумажных (арт. 274, 284, 1503) и льняных, содержащих до 40% лавсана (арт. 062157).

6-N-Диметокситритиламинокапроновой кислоты получали по методике [7], 5'-О-сукциаты защищенных нуклеотидов синтезировали по способу, использованному для приготовления нуклеозид-3'-О-сукциатов [13]. Имобилизацию первого нуклеозидного звена при получении производных (I) осуществляли по методу [7].

Твердофазный синтез в реакторе колоночного типа установки «Виктория-2» [14] проводили в случае гектамера АСТСТТТ одновременно на всех образцах исследуемых целлюлозных носителей, а в случае олигомера ТСАТТТТСТАТАСЛААТТА — на дисках из бумаги Whatman 3MM и хлопчатобумажной ткани (арт. 1503) в автоматическом режиме. Последовательность операций, условия полного удаления защитных групп и выделения целевых олигонуклеотидов методом ионообменной ВЭЖХ аналогичны описанным в работе [1]. Другие реагенты и методы эксперимента описаны ранее [1, 4].

Имобилизация 6-N-диметокситритиламинокапроновой кислоты. Смесь бумажных дисков (общая масса 0,24 г), 0,8 ммоль кислоты (VI) и 0,6 мл MeIm высушивали азеотропным упариванием с абс. пиридином (3×10 мл), прибавляли 6 мл абс. пиридина и 2,4 ммоль TPS и выдерживали 1 ч при 20° С. Диски промывали абс. пиридином (3×10 мл), прибавляли 0,3 мл MeIm, 3 мл абс. пиридина и 0,6 мл уксусного ангидрида. Через 5 мин диски промывали пиридином (3×10 мл), хлороформом (5×10 мл), пентаном (2×10 мл) и высушивали на воздухе. Емкость полученных носителей определяли спектрофотометрически по количеству (MeO)₂TrOH (табл. 1).

Имобилизация 5'-О-сукциатов защищенных нуклеотидов (получение производных (IV), способ А). Смесь 8 бумажных дисков (общая масса 0,09 г), 0,2 ммоль 5'-О-сукциата защищенного нуклеотида (VII) (Nuc=Thd) и 0,15 мл MeIm высушивали азеотропным упариванием с абс. пиридином (3×5 мл), прибавляли 2 мл абс. пиридина и 0,5 ммоль TPS. Смесь встряхивали до растворения TPS и выдерживали 3 ч при 20° С, диски промывали абс. пиридином (3×5 мл), прибавляли 2 мл абс. пиридина, 0,2 мл MeIm и 0,4 мл уксусного ангидрида. Через 5 мин диски промывали последовательно пиридином, хлороформом, пентаном и высушивали на воздухе.

Для определения количества присоединенного нуклеотида образцы носителей (IV) (по одному диску для каждого типа бумаги) заливали 5 мл конц. аммиака и выдерживали 60 ч при 20° С, изредка встряхивая. Из раствора отбирали аликвоту, упаривали ее досуха, растворяли в воде. Количество присоединенного нуклеотида определяли спектрофотометрически (табл. 1).

Введение якорной карбоксильной группы и имобилизация защищенного нуклеотида (получение производных (III) и (IV), способ Б). Смесь 8 бумажных дисков и 0,2 мл MeIm высушивали азеотропным упариванием с абс. пиридином, прибавляли 3 мл абс. пиридина, 2 ммоль янтарного ангидрида и выдерживали 20 ч при 20° С. Прибавляли 0,4 мл уксусного ангидрида и через 0,5 ч диски промывали пиридином (3×10 мл), 70% водным пиридином (3×10 мл) и пиридином (3×10 мл).

К полученным таким образом производным (III) прибавляли 0,2 ммоль защищенного нуклеотида (VIII) (Nuc=Thd), 0,15 мл MeIm, смесь высушивали азеотропным упариванием с абс. пиридином, прибавляли 2 мл абс. пиридина и 0,5 ммоль TPS. Смесь выдерживали 3 ч при 20° С и прибавляли 0,1 мл СН₃ОН. Через 0,5 ч диски промывали последовательно пиридином, хлороформом, пентаном. Количество присоединенного нуклеотида определяли как описано выше для производных (IV), полученных по способу А (см. табл. 1).

Обработка бумажных дисков кислотой. 48 бумажных дисков (по 8 для каждого типа исследуемых бумаг) заливали 15 мл 0,1 н. HCl, дегазировали и выдерживали при 20° С. Через определенные промежутки времени (0,5; 1,2 и 3,5 ч) часть дисков отбирали, промывали водой до нейтрального значения pH, затем пиридином (4×10 мл), пентаном (3×10 мл) и высушивали на воздухе.

Обработка дисков смесью конц. аммиак — пиридин. 30 бумажных дисков (по 5 для каждого типа исследуемых бумаг), 3 диска из хлопчатобумажной и 3 из льняной ткани (края дисков из целлюлозных тканей фиксировали полиэтиленом) заливали 10 мл пиридина, дегазировали, прибавляли 10 мл конц. аммиака и выдерживали 1 ч при 20° С. Диски промывали водой до нейтрального значения pH, ацетоном (4×15 мл), пентаном (3×15 мл) и высушивали на воздухе.

Определение количества реакционноспособных OH-групп. 12 бумажных дисков, полученных после обработки 0,1 н. HCl в течение 2 ч, 12 дисков, обработанных смесью конц. аммиака — пиридина, и 6 дисков без предварительной обработки высушивали упариванием с абс. пиридином, прибавляли 12 мл абс. пиридина и 2 ммоль (MeO)₂TrCl. Смесь выдерживали 4 ч при 20° С, диски тщательно промывали пиридином (8×15 мл) и пентаном (3×15 мл), высушивали на воздухе. Количество OH-групп определяли спектрофотометрически по (MeO)₂TrOH (табл. 2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Ломакин А. И., Ястребов С. И., Никулин А. Е., Куличков В. А., Попов С. Г. // Биоорганич. химия. 1987. Т. 13. № 3. С. 370—378.
2. Frank R., Heikens W., Heisterberg-Moutsis G., Blöcker H. // Nucl. Acids Res. 1983. V. 11. № 13. P. 4365—4377.
3. Matthes H. W. D., Zenke W. M., Gründström T., Staub A., Wintzerith M., Chambron P. // EMBO J. 1984. V. 3. № 4. P. 801—805.
4. Ломакин А. И., Попов С. Г. // Биоорганич. химия. 1985. Т. 11. № 7. С. 927—933.
5. Ott J., Eckstein F. // Nucl. Acids Res. 1984. V. 12. № 23. P. 9137—9142.
6. Ястребов С. И., Попов С. Г. // Биоорганич. химия. 1986. Т. 12. № 5. С. 661—669.

7. Ломакин А. И., Ястребов С. И., Попов С. Г. // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 2. С. 213–219.
8. Энциклопедия полимеров. Т. 3. М.: Сов. энциклопедия, 1977. С. 854.
9. Энциклопедия полимеров. Т. 3. М.: Сов. энциклопедия, 1977. С. 859.
10. Энциклопедия полимеров. Т. 1. М.: Сов. энциклопедия, 1972. С. 859.
11. Petrus L., Gemeiner P. // Chem. zvesti. 1984. V. 38. № 1. P. 133–138.
12. Ломакин А. И., Попов С. Г. Способ твердофазного синтеза олигонуклеотидов. Заявка на авт. свид. № 3963020/24-04 от 9.10.1985 г. Положительное решение от 21.08.1986 г.
13. Gait M. J., Singh M., Sheppard R. C., Edge M. D., Greene A. R., Heathcliffe G. R., Atkinson T. C., Newton C. R., Markham A. F. // Nucl. Acids Res. 1980. V. 8. № 5. P. 1081–1096.
14. Ломакин А. И., Ястребов С. И., Попов С. Г. // Биоорган. химия. 1985. Т. 11. № 7. С. 920–926.

Поступила в редакцию

26.XI.1986

После доработки

27.II.1987

AUTOMATED SYNTHESIS OF OLIGODEOXYRIBONUCLEOTIDES. VI. STUDIES OF PROPERTIES OF SEGMENTAL SUPPORTS BASED ON CELLULOSE

LOMAKIN A. I., POPOV S. G.

*All-Union Research Institute of Molecular Biology, Koltsovo,
Novosibirsk Region*

The course of development of the rapid automated synthesis of oligodeoxyribonucleotides, various cellulose supports have been studied. Mild acid or aqueous ammonia treatment of Whatman or Filtrak paper disks is shown to improve characteristics of the supports, increasing the capacity in terms of the first immobilized nucleoside. New segmental supports based on cotton or flax were prepared and used successfully in automated synthesis of oligodeoxyribonucleotides on «Victoriya-2» synthesiser.