



УДК 547.9:542.953.2

СИНТЕЗ ОЛИГО- И ПОЛИНУКЛЕОТИДОВ

XVI. СИНТЕЗ ФРАГМЕНТОВ 59—70 и 71—77 СТРУКТУРНОГО ГЕНА ВАЛИНОВОЙ тРНК ДРОЖЖЕЙ *

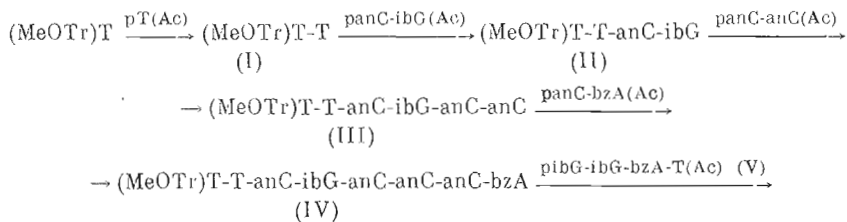
*Берлин Ю. А., Ефилов В. А., Колосов М. Н.,
Чахмахчева О. Г., Шингарова Л. Н.*

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

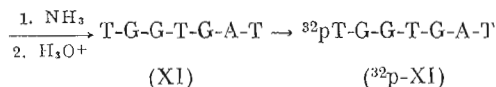
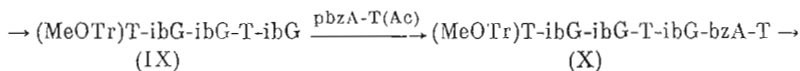
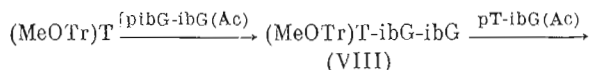
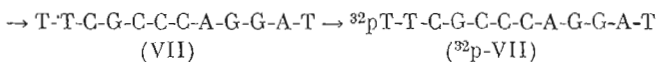
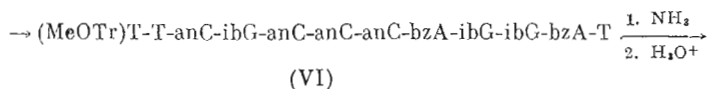
Осуществлен химический синтез додекадезоксирибонуклеотида Т-Т-С-С-С-С-А-
-G-G-A-T и гептадезоксирибонуклеотида Т-G-G-T-G-A-T, комплементарных участкам
59—70 и 71—77 валиновой тРНК дрожжей.

В развитие работы по получению фрагментов структурного гена валин-
новой тРНК дрожжей мы предприняли химический синтез двух сегментов
значущей цепи этого гена — гептадезоксинуклеотида Т-G-G-T-G-A-T
(XI), комплементарного 3'-концевому участку 71—77, и додекадезоксин-
нуклеотида Т-Т-С-С-С-С-А-G-G-A-T (VII), комплементарного смеж-
ному участку 59—70 молекулы тРНК^{Val}.

Исходным веществом в обоих синтезах служил 5'-О-монометокситри-
тилтимидин. Первым этапом синтеза додекануклеотида (VII) было взаимо-
действие метокситритилтимидина с ацетатом тимидиловой кислоты с обра-
зованием динуклеозидмонофосфата (I). Дальнейшее наращивание олиго-
нуклеотидной цепи проводилось динуклеотидными блоками вплоть до
стадии октануклеотида (IV), который был превращен в конечное соедине-
ние (VI) конденсацией с ацетатом тетра-нуклеотида (V). Первые два веществ-
ва в этой цепи превращений — (I) и (II) — выделяли с помощью избира-
тельной экстракции органическими растворителями, а на последующих
стадиях использовали анионообменную хроматографию.



* Сообщение XV см. [1]. Используются следующие нестандартные сокращения:
TPS — 2,4,6-триизопропилбензолсульфохлорид, ТЕАВ — бикарбонат триэтиламмони-
ния. Все упоминаемые в этой статье нуклеотиды принадлежат к дезоксирибозе, поэтому
префикс d ради краткости всюду опущен, т. е. А — дезоксиаденозин, С — дезоксици-
тидин, G — дезоксигуанозин, Т — тимидин.



При получении гептануклеотида (XI) цепь строилась последовательным присоединением к метокситритилтимидину динуклеотидных блоков. Тринуклеотид (VIII) выделяли экстракцией, причем переход от нуклеотида сразу к значительно более гидрофильному тримеру делает экстракционный метод выделения особенно эффективным. При получении пентануклеотида (IX) непрореагировавший тринуклеотид (VIII) отделяли экстракцией, а для выделения продукта конденсации (IX) использовали анионообменную хроматографию. После удаления защитных групп конечные додекануклеотид (VII) и гептануклеотид (XI) дополнительно очищали хроматографией в нейтральном и кислом растворе мочевины.

Структуры промежуточных и конечных соединений были доказаны последовательным сопоставлением спектральных характеристик и нуклеотидного состава (см. таблицу), а также с помощью нуклеотидных карт.

Экспериментальная часть

Общие сведения об эксперименте см. [2]. В работе использованы мононуклеотиды производства СКТБ БАВ Главмикробиопрома (Новосибирск), динуклеотид *panC-anC* производства НИС Новосибирского университета, [γ - ^{32}P] ATP (Amersham), ацетилцеллюлоза (Schleicher und Schüll), целлюлоза MN-300 (Serva), DEAE-целлюлоза DE-23 (для колоночной хроматографии) и DE-41 (для гомохроматографии) фирмы Whatman, DEAE-сефадекс А-25 (Pharmacia), фосфодиэстераза змеиного яда (КФ 3.4.1) фирмы Worthington. Т4-Полинуклеотидкиназа (КФ 2.7.1.78) была любезно предоставлена М. Ф. Шемякиным и А. В. Честухиным (Москва). Хроматографию на бумаге Ватман № 1 проводили в системах EtOH — 1 М AcONH₄, 7 : 3; pH 7,5 (А) и *n*-PrOH — конц. NH₃—H₂O, 11 : 2 : 7 (Б), ТСХ — на пластинках Silufol UV₂₅₄ в водном ацетонитриле. N-Защитные группы удаляли обработкой 25% водным NH₃ (2 мл на 20 ОЕ олигонуклеотида, 5 сут при 20°) с последующим упариванием и хроматографией в системе Б. Для удаления монометокситритильной группы олигонуклеотида, лишённые N-защитных групп, обрабатывали смесью уксусная кислота — пиридин — вода, 14 : 1 : 3 (5 мл на 20 ОЕ олигонуклеотида, 36 ч при 20°), раствор упаривали и хроматографировали в системе Б. Нуклеотидный состав полученных веществ определяли ферментативным гидролизом, как описано ранее [3]. Характеристики полученных олигонуклеотидов приведены в таблице.

1. (MeOTr)T-T (I). Смесь 2,0 г (3,9 ммоль) (MeOTr)T [4] и 3,53 г (8,0 ммоль) pT(Ac) высушили трехкратным упариванием с пиридином, затем

Олигонуклеотид	R _{дрТ} в системе		УФ-характеристики					Нуклеотидный состав					
	A	B	λ _{макс} , нм	$\frac{\epsilon_{260}}{\epsilon_{280}}$	$\frac{\epsilon_{270}}{\epsilon_{280}}$	$\frac{\epsilon_{260}}{\epsilon_{280}}$	dT	дрТ	dpG	dpC	dpA		
(MeOTr)T-T (I)	2,0												
T-T		1,3	267	0,85	1,01	0,88	1,0	1,0					
(MeOTr)T-T-anC-ibG (II)	1,7	0,95	263, 310п	0,86	0,98	0,74	1,02	0,99	1,0	0,92			
T-T-C-G			262	0,82	1,10	1,12							
(MeOTr)T-T-anC-ibG-anC-anC (III)	1,3	0,60	275, 300п	0,85	1,05	0,81	0,95	0,95	1,0	3,3			
T-T-C-G-C-C			268	0,84	1,11	1,22							
(MeOTr)T-T-anC-ibG-anC-anC-bzA (IV)	0,60	0,25	283	0,85	0,96	0,68	0,97	1,0	0,85	4,2	1,1		
T-T-C-G-C-C-A		0,82	266	0,84	0,91	0,90							
pibG-ibG-bzA-T (V)			262, 278	0,96	0,78	0,52							
pG-G-A-T		0,38	256	0,92	0,92	0,67							
T-T-C-G-C-C-A-G-G-A-T (VII)	1,9	0,10	260	0,88	0,88	0,76							
MeOTr)T-ibG-ibG (VIII)			261	0,83	0,83	0,72							
T-G-G		1,05	258	0,83	0,93	0,78	0,9		2,0				
(MeOTr)T-ibG-ibG-T-ibG (IX)	1,5	0,65	258	0,95	0,88	0,66	0,85	1,0	3,2				
T-G-G-T-G			257	0,85	0,96	0,87							
(MeOTr)T-ibG-ibG-T-ibG-bzA-T (X)	1,2	0,45	264, 278п	0,93	0,86	0,64	2*	2*	3*	4*	2*		
T-G-G-T-G-A-T (XI)			258	0,93	0,86	0,36							1*

* Определено на основании нуклеотидной карты, рис. 5

прибавили 25 мл пиридина и 6,08 г (20 ммоль) TPS и выдержали 5 ч при 20°. Реакционную смесь при -20° обработали 12 мл трибутиламина в 30 мл пиридина и 30 мл воды, оставили на 20 ч при 4° и упарили досуха. Остаток растворили в 150 мл 0,1 М ТЕАВ и последовательно проэкстрагировали эфиром (4 × 150 мл), этилацетатом (2 × 100 мл) и смесью этилацетат — бутанол, 9 : 1 (4 × 100 мл), контролируя ход извлечения с помощью ТСХ. Объединенные экстракты, содержащие бутанол, упарили досуха, остаток при 0° растворили в 100 мл смеси EtOH — Py — 2 н. NaOH, 2 : 1 : 3, и выдержали 10 мин при 0°. Раствор нейтрализовали даэксом-50 (PyH⁺), смолу отфильтровали и промыли 50% пиридином, фильтрат упарили с пиридином и остаток осадил из пиридина эфиром. Выход динуклеозидмонофосфата (I) 2,58 г (75%). Водный слой после экстракции упарили с пиридином и остаток осадил из пиридина эфиром; возврат рТ 40%.

2. (MeOTr)T-T-anC-ibG (II) получен взаимодействием 2 г (2,2 ммоль) (MeOTr)T-T, 1 г (1,0 ммоль) ranC-ibG(Ac) [5] и 1,2 г (4,0 ммоль) TPS в 6 мл пиридина в условиях опыта 1. Экстрагировали из 100 мл 0,1 М ТЕАВ последовательно эфиром (3 × 100 мл), этилацетатом (2 × 100 мл), смесью этилацетат — бутанол, 17 : 3 [2 × 100 мл; возврат (I) 40%] и смесью хлористый метилен — бутанол, 7 : 3 (3 × 100 мл). Из водного раствора выделили ranC-ibG (возврат 24%). Объединенные экстракты, содержащие хлористый метилен, досуха упарили с пиридином, остаток растворили в 5 мл спирта и 5 мл пиридина и обработали 10 мл 2 н. NaOH (15 мин при 0°). После нейтрализации и осаждения (см. опыт 1) получили 1,2 г (63%) тетрауклеотида (II).

3. (MeOTr)T-T-anC-ibG-anC (III) получен взаимодействием 0,7 г (0,4 ммоль) (MeOTr)T-T-anC-ibG (II), 1,8 г (1,8 ммоль) ranC-anC(Ac) (перед использованием динуклеотид хроматографировали на DEAE-целлюлозе в ТЕАВ) и 2 г (6,5 ммоль) TPS в 15 мл пиридина в течение 5 ч при комнатной температуре. Реакцию прекращали добавлением при -20° равного объема воды. Через 20 ч при 0° реакционную смесь обработали 30 мл 2 н. NaOH (15 мин), нейтрализовали даэксом-50 (PyH⁺), смолу отфильтровали, фильтрат нанесли на колонку с DEAE-целлюлозой (HCO₃⁻, 2,5 × 40 см), предварительно уравновешенную 0,05 М ТЕАВ, и хроматографировали в ТЕАВ (1,3 л 0,3 М в воде; 0,5 л 0,05 М в воде; 2 л 0,05 М — 2 л 0,5 М в 40% спирте), собирая фракции по 12 мл/7 мин. Фракции 292—321 объединили, упарили с пиридином и остаток осадил из пиридина эфиром. Выход гексануклеотида (III) 10 500 OE₂₈₀ (35%); возврат ranC-anC 82%.

4. (MeOTr)T-T-anC-ibG-anC-anC-bzA (IV) получен взаимодействием 0,28 г (0,08 ммоль) гексануклеотида (III), 0,6 г (0,6 ммоль) ranC-bzA(Ac) [6] и 0,55 г (1,8 ммоль) TPS в 4 мл пиридина в условиях опыта 3. Хроматографировали на колонке с DEAE-целлюлозой (HCO₃⁻, 2 × 35 см) в градиенте концентрации ТЕАВ и спирта (1 л 0,1 М ТЕАВ в 10% спирте — 1 л 0,6 М в ТЕАВ в 40% спирте), собирая фракции по 10 мл/5 мин. Из фракций 155—180 выделили 5000 OE₂₈₀ (47%) октануклеотида (IV); возврат ranC-bzA 48%. Октануклеотид рехроматографировали на колонке с DEAE-целлюлозой (HCO₃⁻, 1,5 × 25 см) в градиенте концентрации ТЕАВ в 40% спирте (0,05—0,6 М, 1 л), собирая фракции по 8 мл/4 мин. Из фракций 70—90 выделили 3200 OE₂₈₀ вещества.

5. pbzA-T получен конденсацией 3 г (5,3 ммоль) (CNEt)pbzA и 6 г (13,6 ммоль) рТ(Ac) в присутствии 9,15 г (30 ммоль) TPS в 40 мл пиридина по методике опыта 3. Хроматографировали на колонке с DEAE-сефадексом (HCO₃⁻, 2,5 × 50 см) в линейном градиенте концентрации ТЕАВ в 10% спирте (0,05—0,45 М, 7 л), собирая фракции по 35 мл/10 мин. Из фракций 180—208 выделили 76 000 OE₂₈₀ pbzA-T (57%), возврат рТ 65%.

6. pibG-ibG-bzA-T (V) получен взаимодействием 0,43 г (0,4 ммоль) (CNEt)piB-ibG [5], 0,45 г (0,45 ммоль) pbzA-T(Ac) и 0,6 г (2,0 ммоль) TPS в 5 мл пиридина в условиях опыта 3. Хроматографировали на колонке

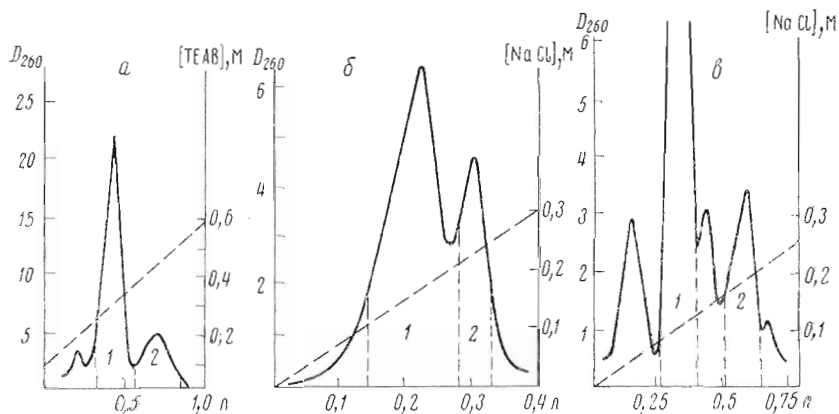


Рис. 1. Выделение защищенных олигонуклеотидов (VI) и (X): *a* — выделение додекануклеотида (VI) хроматографией на колонке с DEAE-целлюлозой (HCO_3^- , 1×20 см) в линейном градиенте концентрации TEAB в 30% спирте, скорость элюции 120 мл/ч. Пик 1 содержит 3000 OE_{260} тетра-нуклеотида (V), пик 2 (1000 OE_{260}) содержит додекануклеотид (VI); *b* — рехроматография вещества из пика 2 (рис. 1а) на колонке с DEAE-целлюлозой (Cl^- , $1,5 \times 30$ см) в линейном градиенте концентрации NaCl в 7 М мочеvine и 0,01 М трис-НСI, pH 7,5, скорость элюции 75 мл/ч. Пик 1 (580 OE_{260}) содержит смесь октануклеотида (IV) и пирофосфата тетра-нуклеотида (V), пик 2 содержит 170 OE_{260} додекануклеотида (VI); *c* — выделение гептануклеотида (X) хроматографией на колонке с DEAE-целлюлозой (Cl^- , $1,5 \times 30$ см) в линейном градиенте концентрации NaCl в 7 М мочеvine и 0,02 М трис-НСI, pH 7,5, скорость элюции 105 мл/ч. Пик 1 содержит 1300 OE_{260} динуклеотида pbzA-T, пик 2 содержит 270 OE_{260} гептануклеотида (X)

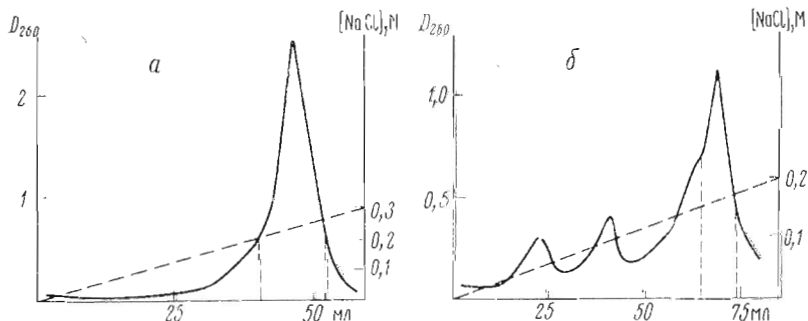


Рис. 2. Выделение додекануклеотида (VII) и гептануклеотида (XI) хроматографией на колонке с DEAE-целлюлозой (Cl^- , $0,5 \times 3$ см) в линейном градиенте концентрации NaCl в 7 М мочеvine и 0,01 М трис-НСI, pH 7,5: *a* — выделение додекануклеотида (VII); скорость элюции 14 мл/ч, центральная часть пика содержит 25 OE_{260} ; *b* — выделение гептануклеотида (XI); скорость элюции 36 мл/ч, центральная часть основного пика содержит 10 OE_{260}

с DEAE-целлюлозой (HCO_3^- , 2×30 см) в линейном градиенте концентрации TEAB в 10% спирте (0,05—0,4 М, 2 л), собирая фракции по 8 мл/6 мин. Из фракций 140—175 выделили 4300 OE_{270} (22%) тетра-нуклеотида (V). Возврат pbzA-T 20%.

7. (MeOTr)T-T-anC-ibG-anC-anC-anC-bzA-ibG-ibG-bzA-T (VI) получен взаимодействием 500 OE_{280} (6 мкмоль) октануклеотида (IV), 150 мг (75 мкмоль) 3'-О-ацетата тетра-нуклеотида (V) и 80 мг (260 мкмоль) TPS в 2 мл пиридина в условиях опыта 3. Условия хроматографии додекануклеотида (VI) приведены на рис. 1, *a*; возврат тетра-нуклеотида (V) 45%. Додекануклеотидную фракцию (пик 2) рехроматографировали (см. рис. 1, *b*), выход соединения (VI) 250 OE_{260} (30%). Фракции,

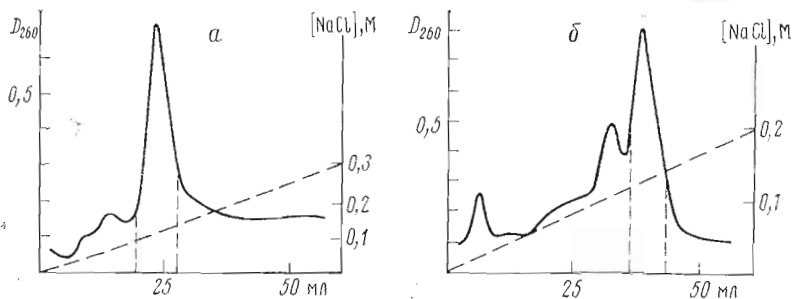


Рис. 3. Рехроматография додекануклеотида (VII) и гептануклеотида (XI) на колонке с DEAE-целлюлозой (Cl^-) в линейном градиенте концентрации NaCl в 7 М мочевины, pH 3,5: *a* — додекануклеотид (VII); колонка $0,5 \times 3$ см, скорость элюции 40 мл/ч, центральная часть основного пика содержит 4 OE_{260} ; *б* — гептануклеотид (XI); колонка $0,2 \times 3$ см, скорость элюции 30 мл/ч, центральная часть основного пика содержит 5 OE_{260}

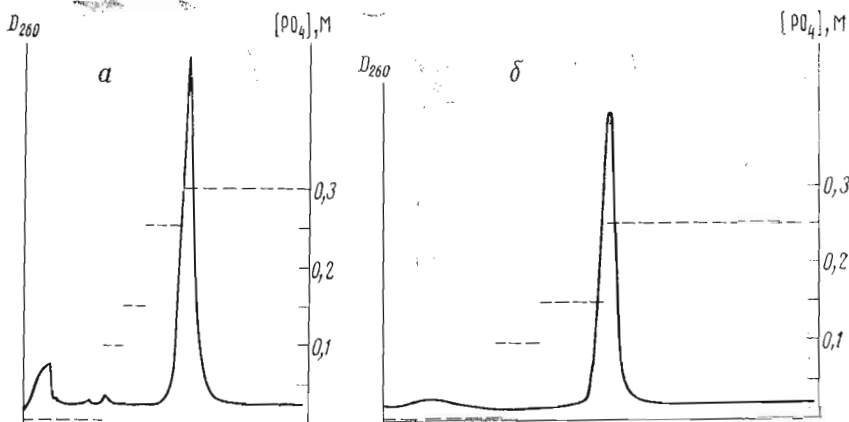
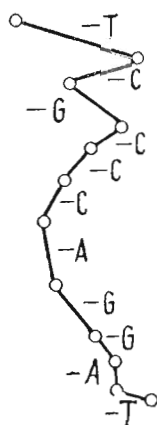
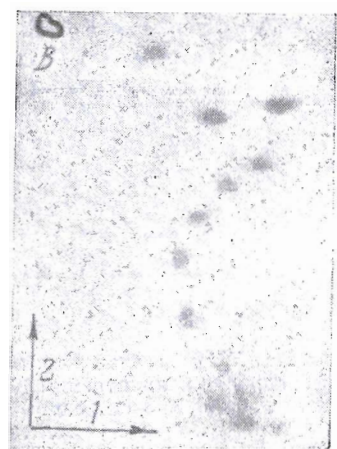


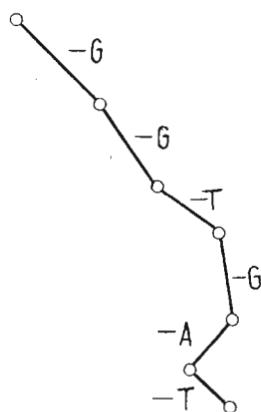
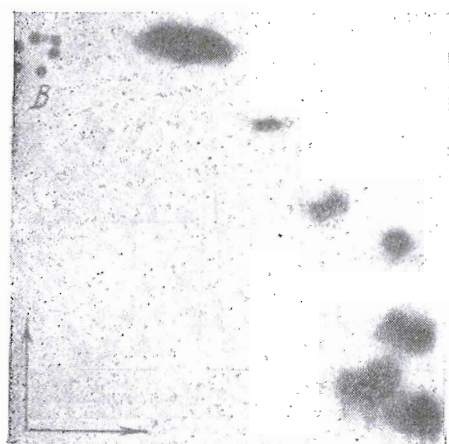
Рис. 4. Микроколоночная хроматография (данные В. П. Демушкина) на DEAE-целлюлозе ($0,65 \times 60$ мм) в ступенчатом градиенте концентрации Na-фосфатного буфера, pH 3,5 (объем градиента 600 мкл) при 60° , запись на МСФП-1 при 260 нм (1 OE /шкала): *a* — додекануклеотид (VII); скорость элюции 82 мкл/ч; *б* — гептануклеотид (XI); скорость элюции 330 мкл/ч

содержащие додекануклеотид, разбавили в 3 раза водой и нанесли на колонку с DEAE-целлюлозой (HCO_3^- , $2,5 \times 5$ см). Колонку промыли 500 мл 0,05 М TEAB, затем нуклеотид элюировали 50 мл 1 М TEAB, элюат несколько раз упарили со спиртом до полного удаления триэтиламина и остаток растворили в 20 мл 0,01 М трис-НСl, pH 7,5.

8. *T-T-C-G-C-C-C-A-G-G-A-T* (VII). 40 OE_{260} додекануклеотида (VI) обработали 3 мл 25% водн. NH_3 (5 сут при 20°), упарили досуха, добавили 2 мл смеси $\text{AsOH} - \text{Pu} - \text{H}_2\text{O}$, 14 : 1 : 3, и оставили на 24 ч при 20° . Раствор упарили, остаток растворили в 7 М мочевины, содержащей 0,01 М трис-НСl (pH 7,5), и хроматографировали на колонке с DEAE-целлюлозой (Cl^-) (рис. 2, *a*). Выход додекануклеотида (VII) 25 OE_{260} . Часть вещества (7 OE_{260}) рехроматографировали на колонке с DEAE-целлюлозой (Cl^-) в градиенте концентрации NaCl в 7 М мочевины при pH 3,5 (рис. 3, *a*). Центральную часть пика (4 OE_{260}) обессолили, как описано в опыте 7, и вещество растворили в 0,4 мл 0,01 М трис-НСl, pH 7,5. На рис. 4, *a* приведена кривая микроколоночной хроматографии додекануклеотида (VII).



a



б

Рис. 5. Двухмерное разделение продуктов частичного гидролиза меченых олигонуклеотидов (^{32}p -VII) и (^{32}p -XI) фосфодиэстеразой змеиного яда: направление 1 — электрофорез на ацетилцеллюлозе при pH 3,5, направление 2 — гомохроматография на DEAE-целлюлозе, В — пятно киселенцианола FF. а — додекануклеотид (^{32}p -VII), б — гептануклеотид (^{32}p -XI)

9. ^{32}p -T-T-C-G-C-C-C-A-G-G-A-T (^{32}p -VII) получен взаимодействием 0,1 ОЕ₂₆₀ (1 нмоль) додекануклеотида (VII), 3 нмоль (14 мкКи) [γ - ^{32}P]АТР и 8 мкл Т4-полигуклеотидкиназы (фракция VI [7]) в растворе, содержащем 0,01 М MgCl₂, 0,005 М меркаптоэтанол и 0,05 М трис-НСl, pH 7,5 (общий объем инкубационной смеси 30 мкл), и выделен гель-фильтрацией на колонке с сефадексом G-50 (сверхтонкий; 0,5 × 30 см; 0,05 М ТЕАВ в качестве элюента). Фракции, отвечающие ^{32}p -VII (8 · 10⁶ имп/мин), объединили и лиофилизовали, остаток растворили в 30 мкл буфера, содержащего 1 мМ MgCl₂ и 10 мМ трис-НСl, pH 8,9.

10. Частичный гидролиз ^{32}p -T-T-C-G-C-C-C-A-G-G-A-T (^{32}p -VII). 2 мкл раствора меченого додекануклеотида (^{32}p -VII) смешали с 1 мкл раствора суммарной тРНК (1 мг/мл) и полученную смесь разделили на три равные части, к каждой из которых прибавили 1 мкл раствора фосфодиэстеразы змеиного яда (в том же буфере, что и нуклеотид) с концентрацией фермента 100, 200 и 400 мкг/мл. Пробу инкубировали 30 мин при 20° и смешали, после чего проводили электрофорез на ацетилцеллюлозе (длина

полоски 55 см, 1 ч при 5000 В, пиридин-ацетатный буфер, рН 3,5) и гомохроматографию в тонком слое ДЕАЕ-целлюлозы (длина 20 см, 2% гомосмесь [8]) во взаимно перпендикулярных направлениях. Радиоавтограмма полученной нуклеотидной карты (пленка РТ-1, экспозиция 4 ч) приведена на рис. 5, а.

11. (MeOTr)T-ibG-ibG (VIII) получен взаимодействием 1,52 г (2,95 ммоль) (MeOTr)T, 0,30 г (0,295 ммоль) ribG-ibG(Ac) [5] и 0,35 г (1,15 ммоль) TPS в 7 мл пиридина в условиях опыта 2. Тринуклеозиддифосфат (VIII) извлекли смесью хлористый метилен — бутанол, 3 : 7. Выход 175 мг (40%); возврат (MeOTr)T 80%.

12. (MeOTr)T-ibG-ibG-T-ibG (IX) получен взаимодействием 180 мг (0,12 ммоль) (MeOTr)T-ibG-ibG (VIII), 490 мг (0,5 ммоль) pT-ibG(Ac) [5] и 500 мг (2,0 ммоль) мезитилсульфонилмидазолида [9] в 4 мл пиридина в течение 4 суток при 20°. Реакционную смесь разложили прибавлением равного объема воды, затем обработали 8 мл 2 н. NaOH (10 мин при 0°), нейтрализовали дауэксом-50 (РуН⁺), смолу отфильтровали, фильтрат упарили досуха, остаток растворили в 50 мл 0,05 М ТЕАВ и смесью хлористый метилен — бутанол, 8 : 2 (2 × 50 мл) извлекли мезитилсульфокислоту и непрореагировавший тринуклеозиддифосфат (VIII). Водный слой нанесли на колонку с ДЕАЕ-целлюлозой (НСО₃⁻, 2 × 30 см) и хроматографировали в ТЕАВ (0,5 л 0,2 М в воде, 0,25 л 0,05 М в воде, 1 л 0,1 М — 1 л 0,45 М в 50% спирте), собирая фракции по 10 мл/14 мин. Из фракций 65—110 выделили 2500 ОЕ₂₆₀ пентануклеотида (IX); возврат pT-ibG 80%. После рехроматографии в 50% спирте (колонка 1,5 × 20 см; 0,05—0,45 М ТЕАВ, 1 л) центральная часть пика (фракции 37—55) содержала 2000 ОЕ₂₆₀ (25%) пентануклеотида (IX).

13. (MeOTr)T-ibG-ibG-T-ibG-bzA-T (X) получен взаимодействием 500 ОЕ₂₆₀ (0,0075 ммоль) пентануклеотида (IX), 75 мг (0,08 ммоль) pbzA-T(Ac) и 90 мг (0,28 ммоль) TPS в 0,5 мл пиридина аналогично опыту 3. Условия хроматографии приведены на рис. 1, в. Фракции 92—112 обессолили, как описано в опыте 7. Выход гептануклеотида (X) 270 ОЕ₂₆₀ (38%); возврат pbzA-T 58%.

14. T-G-G-T-G-A-T (XI) получен из гептануклеотида (X) в условиях опыта 8. Кривые хроматографического разделения в 7 М мочевины при рН 7,5 и 3,5 приведены на рис. 2, б и 3, б, кривая микроколоночной хроматографии — на рис. 4, б.

15. ³²pT-G-G-T-G-A-T(³²p-XI) и его частичный гидролиз. Фосфорилирование гептануклеотида (XI) и его частичный гидролиз проводили аналогично опыту 9. Радиоавтограмма нуклеотидной карты приведена на рис. 5, б.

ЛИТЕРАТУРА

1. Берлин Ю. А., Каган М. З., Колосов М. Н., Коробко В. Г. (1976) Биоорган. химия, 2, 1063—1072.
2. Берлин Ю. А., Бочарова Т. Н., Вульфсон А. Н., Колосов М. Н., Коробко В. Г. (1976) Биоорган. химия, 2, 762—772.
3. Берлин Ю. А., Дьяков В. Л., Колосов М. Н. (1974) Биохимия, 39, 747—751.
4. Schaller H., Weimann G., Lerch B., Khorana H. G. (1963) J. Amer. Chem. Soc., 85, 3821—3827.
5. Берлин Ю. А., Болдырева Е. Ф., Ефимов В. А., Колосов М. Н., Коробко В. Г., Полякова И. А., Чахмахчева О. Г., Чушурунова О. А. (1973) Химия природы, соедин., 402—410.
6. Берлин Ю. А., Ефимов В. А., Колосов М. Н., Коробко В. Г., Шингарова Л. Н. (1975) Биоорган. химия, 1, 1738—1745.
7. Richardson C. (1965) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 54, 158—165.
8. Jay E., Vambara R., Padmanabhan R., Wu R. (1974) Nucleic Acids Research, 1, 331—353.
9. Берлин Ю. А., Ефимов В. А., Колосов М. Н., Коробко В. Г., Чахмахчева О. Г., Шингарова Л. Н. (1975) Биоорган. химия, 1, 1121—1129.

Поступила в редакцию
26.V.1976

SYNTHESIS OF OLIGO- AND POLYNUCLEOTIDES. XVI. THE SYNTHESIS OF THE
59—70 AND 71—77 FRAGMENTS OF THE STRUCTURAL GENE FOR
A YEAST tRNA^{Val}

BERLIN Yu. A., EFIMOV V. A., KOLOSOV M. N.,
CHAKHMAKHCHEVA O. G., SHINGAROVA L. M.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy
of Sciences of the USSR, Moscow*

The chemical synthesis of the deoxyribonucleotides d(T-T-C-G-C-C-A-G-G-A-T) and d(T-G-G-T-G-A-T) complementary to the 5'-terminal segments 59—70 and 71—77 of the yeast tRNA₁^{Val} has been carried out by the phosphodiester approach according to the 1 + 1 + 2 + 2 + 2 + 4 and 1 + 2 + 2 + 2 schemes. Triisopropylbenzenesulphonyl chloride and mesitylenesulphonyl imidazolide were used as condensing reagents. The homogeneity of the oligonucleotides synthesized was proved by microcolumn anion-exchange chromatography, and their structure was substantiated by fingerprinting.
