



УДК 547.963.32

**КОНФОРМАЦИЯ 2', 3'-О-[4-(N-2-ХЛОРЭТИЛ-N-МЕТИЛАМИНО)-
БЕНЗИЛИДЕН]ОЛИГОЦИТИДИЛАТОВ И СВОЙСТВА ИХ
КОМПЛЕКСОВ С ПОЛИИНОЗИНОВОЙ КИСЛОТОЙ***Райт В. К., Карпова Г. Г., Гринева Н. И.**Новосибирский государственный университет,
Институт органической химии Сибирского отделения
Академии наук СССР, Новосибирск*

Синтезирован ряд 2',3'-О-[4-(N-2-хлорэтил-N-метиламино)бензилиден]овых производных олигорибоцитидилатов, $(pC)_nRCl$. На основании характерных различий в спектрах КД $(pC)_n$ и $(pC)_nRCl$ установлено, что модификация 3'-концевого нуклеотидного звена приводит к нарушению стэкинга оснований в олигонуклеотидной части последних, вероятно, из-за несвойственной для олигоцитидилатов ориентации основания в модифицированном звене, а также из-за искажения конформации рибозофосфатного фрагмента, создаваемого в нем диоксолановым циклом. С увеличением длины олигомерной цепи в $(pC)_nRCl$ стэкинг оснований восстанавливается, и конформации олигонуклеотидной части в $(pC)_8RCl$ и $(pC)_8$ становятся практически идентичными. Стабильность комплексов $(pC)_nRCl \cdot poly(I)$ находится в зависимости от степени нарушения стэкинга оснований в $(pC)_nRCl$. Связывание $(pN)_nRCl$ с комплементарными последовательностями в нуклеиновых кислотах необходимо регулировать избытком олигонуклеотидного реагента.

Селективная модификация нуклеиновых кислот может осуществляться комплементарно адресованными алкилирующими производными олигонуклеотидов [1,2]. На внутрикомплексное алкилирование влияют конформация и стабильность комплексов, образуемых производными олигомеров и нуклеиновыми кислотами, а также пространственная ориентация алкилирующей группировки. Некоторые из этих факторов изучались ранее [3] в модельной системе — трехтяжевом комплексе, одна цепь которого образована $(Ap)_nARCl$, а две другие — $poly(U)$, имеющей основания, не способные алкилироваться данным реагентом [4]. Оказалось, что по стехиометрии и стабильности такие комплексы идентичны комплексам $poly(U)$ с немодифицированными олигодезилатами [5]. Это обстоятельство было интерпретировано таким образом, что в условиях существования тройной спирали бензилиденный заместитель расположен вне спирали и не препятствует стэкингу концевых оснований в $(Ap)_nARCl$ [3].

В продолжение изучения факторов, влияющих на внутрикомплексное алкилирование, нами были синтезированы $(pC)_nRCl$, исследованы их конформация и взаимодействие с $poly(I)$. Помимо того что олигоцитидилаты образуют с $poly(I)$ в определенных условиях только двутяжевый комплекс,

* Сокращения: RCl — 4-(N-2-хлорэтил-N-метиламино)-бензальдегид;
 $(pC)_nRCl$ — 2', 3'-О-[4-(N-2-хлорэтил-N-метиламино)бензилиден]олигоцитидилаты;
 $(Ap)_nARCl$ — 2', 3'-О-[4-(N-2-хлорэтил-N-метиламино)бензилиден]олигодезилатадево-
зины.

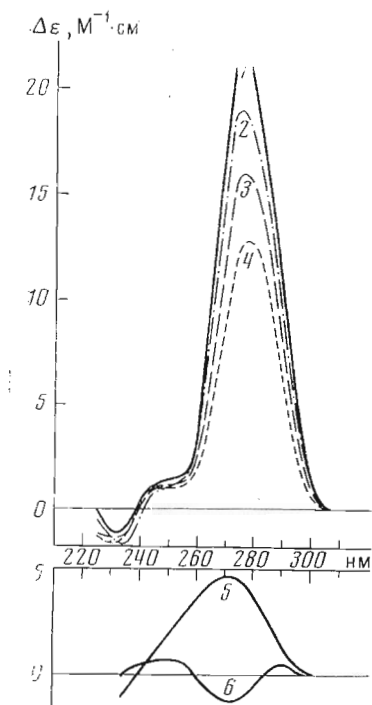


Рис. 1. Спектры КД, снятые при 0–4°. 1 — среднеарифметический спектр серии $(pC)_5 - (pC)_8$, 2 — $(pC)_8RCl$, 3 — $(pC)_6RCl$, 4 — $(pC)_5RCl$, 5 — pC , 6 — $pRCrCl$

$pH > 7$, могут служить сила вращения или интенсивность при λ_{\max} ($\Delta\epsilon_{\max}$) положительной циркулярно-дихроичной полосы в соответствующих спектрах КД [13]. $\Delta\epsilon_{\max}$, например, в пределах серии $SpC - C(pC)_9$ при 0° и концентрации нуклеотидного материала 0,1 мМ изменяется от 12,5 до 18,6 $M^{-1} \text{ см}^{-1}$ [13]. При концентрации 7,5 мМ в спектрах КД $(pC)_5 - (pC)_8$ мы не обнаружили выраженной зависимости $\Delta\epsilon_{\max}$ от длины олигомеров (вариация $\Delta\epsilon_{\max}$ для этих олигонуклеотидов не превышала 6,5%). Кроме того, среднее значение $\Delta\epsilon_{\max}$, равное 21,8 $M^{-1} \text{ см}^{-1}$, оказалось по величине больше значений $\Delta\epsilon_{\max}$ олигоцитидилатов, полученных в [13] экстраполяцией температурной зависимости интенсивностей КД в область отрицательных температур. На этом основании мы считаем, что $(pC)_5 - (pC)_8$ при 0–4° и концентрации 7,5 мМ структурированы стэкингом в равной мере и, по-видимому, ассоциированы посредством взаимодействия концевых оснований, как это было найдено у олигоаденилатов [15].

Из рис. 1 видно, что присутствие бензилиденового заместителя в 3'-концевых нуклеотидных звеньях $(pC)_nRCl$ приводит к падению интенсивности длинноволновой полосы спектра КД. Неизменность коротковолновой части спектров и формы основной полосы КД, некоторый bathochromный сдвиг ее максимума с уменьшением длины модифицированного олигомера указывают на то, что заместитель в $(pC)_nRCl$ снижает долю структурированного, однотипного с немодифицированными олигомерами, состояния.

При рассмотрении факторов, влияющих на различия в пространственной организации $(pC)_n$ и $(pC)_nRCl$, следует учитывать, во-первых, структурное и конформационное несоответствие между их концевыми звеньями и, во-вторых, потенциальную способность фенильного остатка взаимодействовать с азотистыми основаниями.

характеризующийся достаточно высокой стабильностью [6,7], новая модель особенно удобна благодаря тому, что основание матрицы — гипоксантин — активно алкилируется как в инозине [4], так и в тРНК [8].

Необходимые для исследования $(pC)_nRCl$ получены при действии трифторуксусной кислоты на растворы цетилтриметиламмониевых солей олигоцитидилатов, RCl и 2,2-диметоксипропана в безводном диметилформамиде (ср. [9, 10]). Продукты идентифицировали по соотношению олигоцитидилатов и RCl , образующихся при гидролизе этих соединений в кислой среде [11, 12].

Олигорибоцитидилаты, так же как и $oligo(A)$, $oligo(I)$ и $oligo(dC)$, существуют в растворе при определенных условиях в виде одностежечевых спиралей, степень стэкинга оснований в которых специфически зависит от длины олигомера [13, 14]. В случае $oligo(C)$ характер этой зависимости наиболее плавный, т. е. состояние двух взаимодействующих остатков цитозина в олигомерной цепи практически не зависит от состояния соседних остатков и, таким образом, эффект кооперативности очень мал [13, 14].

Мерой степени стэкинга оснований в $oligo(C)$, находящихся в растворе при

Как известно, присоединение к рибозному фрагменту нуклеозидов дополнительного пятичленного цикла, например диоксоланового или такого, как в 2',3'-циклофосфатах, приводит к переориентации рибозы и основания, с которой коррелирует и появление нетипичных ротамеров связи C4'-C5' [16,17]. Качественно похожая ситуация должна реализоваться, по-видимому, и при модификации 3'-концевого звена (pC)_n остатком RCl. Изменения при этом осложняются также и диполь-дипольным взаимодействием фенольного остатка заместителя с азотистым основанием [18], отражением которого является двойной эффект Коттона в спектре КД pRCrCl (рис. 1, б). Так как в однотяжевых структурах, стабилизированных стэкингом, нуклеотидные звенья характеризуются определенным набором торсионных углов, для адаптации звена с отличающимися геометрическими параметрами требуется дополнительная энергия. В предельном случае такие звенья вообще могут быть исключены из последовательности взаимодействующих оснований [19]. В случае же (pC)_nRCl рассмотренные факторы могут, по меньшей мере, препятствовать ассоциации.

Возможность искажения конформации олигомерной части в (pN)_nRCl за счет влияния фенольного остатка обсуждалась ранее [5, 20]. Не исключено, что при выведении из однотяжевой спирали 3'-концевого нуклеотидного звена ковалентно связанный с ним фенольный остаток может вступить в контакт с основанием второго (с 3'-конца) нуклеотидного звена или интеркалировать во внутреннюю часть (pN)_nRCl. Как известно, фенол способен к взаимодействию по типу стэкинга с основаниями денатурированной ДНК, poly(A) и poly(U); с poly(C) фенол, однако, не взаимодействует [21].

Влияние заместителя на олигонуклеотидную часть (pC)_nRCl можно оценить, сравнивая измеренные и рассчитанные Δε_{макс} (табл. 1). Полагая, что пара взаимодействующих оснований в (pC)_n характеризуется Δε_{макс} = 21,8 М⁻¹см⁻¹, неассоциированным, изолированным олигодитидиламатом должны соответствовать интенсивности при λ_{макс}, уменьшенные в n/(n - 1) раз. Таким образом полученные Δε_{макс} довольно близки к значениям Δε_{макс}, приводимым в работе [13] для соответствующих олигомеров. Используя их и Δε при 277 нм для pRCrCl (-1,2 М⁻¹см⁻¹, найдено по спектру б на рис. 1), мы рассчитали в приближении парных взаимодействий Δε_{макс} (pC)_nRCl. Как видно, экспериментально найденный Δε_{макс} (pC)₅RCl соответствует рассчитанному, в случае же (pC)₈RCl измеренный Δε_{макс} оказывается больше рассчитанного и практически совпадает с Δε_{макс} изолированного (pC)₈; для (pC)₆RCl и (pC)₇RCl картина качественно промежуточная. Очевидно, что модификация 3'-концевого звена препятствует контакту прилежащей пары оснований в (pC)₅RCl; в (pC)₆RCl и (pC)₇RCl концевой фрагмент и олигонуклеотидная часть уже взаимодействуют, а у (pC)₈RCl основание 3'-концевого звена находится в стэкинге, возможно не совсем полноценном, с соседним по олигомеру основанием.

Т а б л и ц а 1

Экспериментально определенные и рассчитанные Δε_{макс}(pC)_n и (pC)_nRCl

n	(pC) _n		n	(pC) _n RCl	
	Δε _{макс} [*] , расч.	Δε _{макс} , эксп.		Δε _{макс} [*] , расч.	Δε _{макс} , эксп.
5	17,4	12,8	7	18,7	15,9
6	18,2	14,3	8	19,1	19,0

* Для (pC)_n Δε_{макс}, расч. = $\frac{n-1}{n} \cdot 21,8$, для (pC)_nRCl Δε_{макс}, расч. = $\frac{n-2}{n} \cdot 21,8 - \frac{1}{n} \cdot 1,2$.

Таблица 2

Значения температур плавления комплексов $(pC)_n \cdot poly(I)$ при различных концентрациях комплексов

n	Концентрация, мМ	Т. пл., °С
5	7,5	14,0
6	7,5	23,5
7	0,1	15,5
8	7,5	31,0
	0,1	22,0
	7,5	36,5

ваниями внутренних звеньев в $(pN)_nRCl$ аналогичный эффект, по-видимому, должен иметь место и у таких же производных $olugo(I)$ и $olugo(A)$, причем «исправление» может происходить при меньшей, чем октамер, длине, поскольку у этих олигонуклеотидов степень стэкинга оснований с увеличением цепи растет быстрее, чем у $olugo(C)$ [14].

Различия в конформациях $(pN)_n$ и $(pN)_nRCl$ могут иметь своим следствием разную устойчивость комплексов, образуемых ими с комплементарным полинуклеотидом. Так как в $(pN)_nRCl$ частично нарушен стэкинг оснований и ориентация 3'-концевого основания, очевидно, неблагоприятна для взаимодействия олигомеров, расположенных на матрице по соседству, комплементарные комплексы с олигонуклеотидными реагентами могут иметь меньшую стабильность, чем комплексы с немодифицированными олигонуклеотидами одной и той же степени полимерности. Не исключено, что степень проявления названных факторов в значительной мере зависит от природы комплементарной матрицы, а также от структуры комплексов. Ранее, например, было показано, что по стехиометрии и стабильности комплексы $(Ap)_nARCl \cdot 2poly(U)$ и $(Ap)_nA \cdot 2poly(U)$ не различаются, тогда как по конформации $(Ap)_nARCl$ и $(Ap)_nA$ существенно различны [3, 5, 20].

В области значений pH, при которых возможно формирование только двухтяжевой спирали [7], стабильность комплексов $olugo(C) \cdot poly(I)$, так же как и $poly(C) \cdot olugo(I)$, определяется содержанием ионов магния и концентрацией комплексов [6, 22]. Так, комплекс $C(pC)_5 \cdot poly(I)$ при его концентрации 0,1 мМ в 0,05 М какодилатном буфере, pH 7, содержащем 0,1 М NaCl, имеет температуру плавления около 14°, тогда как в этих же условиях, но в присутствии ионов магния (0,01 М) температура плавления на 6° выше [6]. Увеличение температуры плавления с 9 до 25,9° в случае $poly(C) \cdot I(pI)_6$ было достигнуто за счет повышения концентрации комплекса на два порядка: с 1,43 до 143 мкМ [22].

Так как для эффективного алкилирования в комплементарном комплексе необходима его стабильность при достаточно высоких температурах, мы исследовали комплексообразование $(pC)_nRCl$ и $(pC)_n$ с $poly(I)$ при концентрации нуклеотидного материала 0,015 М; содержание ионов магния также было 0,015 М (NaCl — 0,1 М, pH 7).

Как видно из табл. 2, в этих условиях температура плавления комплексов $(pC)_7 \cdot poly(I)$ и $(pC)_8 \cdot poly(I)$ в среднем на 15° выше, чем при концентрации 0,1 мМ. Несмотря на то что мы лишены прямых данных о стехиометрии комплексов $(pC)_n \cdot poly(I)$, так как кривые смешения нельзя построить из-за осаждения не занятой в комплексе $poly(I)$ ионами магния [23], косвенно на полноту комплексообразования в использованных условиях указывает совпадение спектров КД $(pC)_6 \cdot poly(I)$ и $(pC)_8 \cdot poly(I)$ как между собой (рис. 2), так и со спектром полимерного комплекса (не приводится, чтобы не усложнять рисунок). Кроме того, прямая, проведенная через экспериментальные точки в координатах «обратная длина олигомеров — обрат-

Таким образом, с ростом цепи олигонуклеотидной части в $(pC)_nRCl$ происходит «исправление» ориентации основания модифицированного 3'-концевого звена. Соответствующее этому процессу изменение свободной энергии может быть приблизительно оценено величиной несколько меньшей, чем 0,3 ккал/моль, так как на эту величину различаются свободные энергии взаимодействия пар оснований в пента- и декарибозитидилатах [13]. При условии отсутствия взаимодействия фенильного остатка с осно-

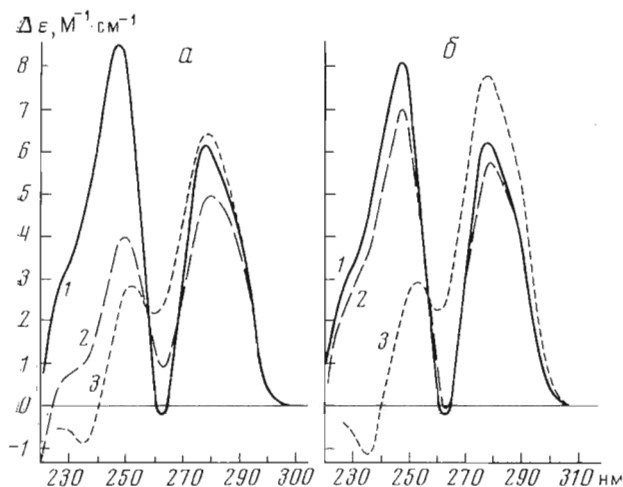


Рис. 2

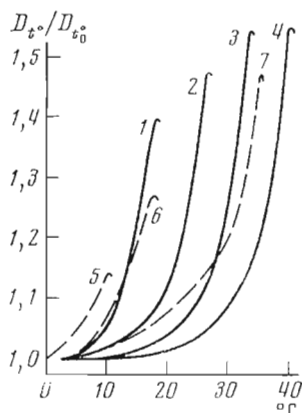


Рис. 3

Рис. 2. Спектры КД комплексов при 0—4°. *a*: 1 — $(pC)_8 \cdot poly(I)$, 2 — $(pC)_8 \cdot RCl \cdot poly(I)$, 3 — $(pC)_8 RCl + poly(I)$. *б*: 1 — $(pC)_8 \cdot poly(I)$, 2 — $(pC)_8 RCl \cdot poly(I)$, 3 — $(pC)_8 RCl + poly(I)$

Рис. 3. Профили плавления комплексов: 1 — $(pC)_5 \cdot poly(I)$, 2 — $(pC)_6 \cdot poly(I)$, 3 — $(pC)_7 \cdot poly(I)$, 4 — $(pC)_8 \cdot poly(I)$, 5 — $(pC)_6 RCl \cdot poly(I)$, 6 — $(pC)_7 RCl \cdot poly(I)$, 7 — $(pC)_8 RCl \cdot poly(I)$. Профили записаны при 245 нм. Вид верхних частей профилей плавления обязан выпадению $poly(I)$ в осадок

ная температура плавления», экстраполируется к значению температуры плавления 84°, совпадающему с приводимым в работе [22].

Взаимодействие $(pC)_n RCl$ с $poly(I)$ коррелирует с качественными выводами о конформации модифицированных олигомеров, сделанными выше. Нам не удалось зарегистрировать образование комплекса $(pC)_5 RCl \cdot poly(I)$, а формально определенные температуры плавлений (температура, при которой изменение оптической плотности равно половине максимального) смесей $(pC)_6 RCl$ и $(pC)_7 RCl$ с $poly(I)$ оказались в среднем на 17,5° ниже, чем температуры плавления комплексов $(pC)_6 \cdot poly(I)$ и $(pC)_7 \cdot poly(I)$. Ход кривых плавления, у которых отсутствуют низкотемпературные плато, меньшие величины гиперхромных эффектов, а также вид спектров КД (рис. 2 и 3) указывают на то, что при 0—4° в этих случаях имеет место равновесие $(pC)_n RCl + poly(I) \rightleftharpoons (pC)_n RCl \cdot poly(I)$, смещение которого влево явно зависит от конформации $(pC)_n RCl$. При взаимодействии же $(pC)_5 RCl$ с $poly(I)$ доля свободной $poly(I)$, по-видимому, настолько велика, что полинуклеотид агрегирует с ионами магния и в результате равновесие полностью смещается влево.

Вместе с тем различия в спектрах КД $(pC)_8 \cdot poly(I)$ и $(pC)_8 RCl \cdot poly(I)$ и в значениях температур плавления этих комплексов минимальны, что подтверждает сделанное нами заключение об адаптации основания 3'-концевого нуклеотидного звена в односторонней спирали $(pC)_8 RCl$. В этом случае следствием модификации является ослабление контактов 3'- и 5'-концевых оснований у молекул $(pC)_8 RCl$, расположенных по соседству на матрице, так как при плавлении $(pC)_8 RCl \cdot poly(I)$ гиперхромный эффект в интервале 0—30° выше, чем у $(pC)_8 \cdot poly(I)$ (рис. 3). Возможно также, что этот участок кривой плавления отражает гетерогенность модифицированного олигомера, обязанную тому, что при синтезе $(pN)_n RCl$ фенильный остаток при C2'' диоксоланового цикла занимает приблизительно в равном соотношении как *цис*-, так и *транс*-положение [24, 25]. Поскольку у таких стереоизомеров различаются расстояния между ароматическими системами

(т. е. между азотистым основанием и фенильным остатком), влияние на ориентацию основания диполь-дипольного взаимодействия может быть несколько различным.

Представленные данные свидетельствуют о том, что при модификации нарушается стэкинг оснований в олигонуклеотидной части $(pC)_nRCl$ в степени, зависящей от длины олигомеров, и это, в свою очередь, приводит к снижению устойчивости комплексов, образуемых $(pC)_nRCl$ с $poly(I)$. Аналогичным должен быть эффект модификации и в случае комплексообразования 2', 3'-бензилидеповых производных других олигонуклеотидов, обладающих родственными $oligo(C)$ свойствами. Ранее, например, было показано, что константа связывания $(Ap)_5ARCl$ с рРНК в 2,5 раза меньше, чем соответствующая связыванию $(Ap)_5A$ [26]. С учетом этого обстоятельства связывание олигонуклеотидных реагентов с комплементарными последовательностями нуклеиновых кислот необходимо регулировать, создавая в реакционной смеси некоторый избыток $(pN)_nRCl$. Сохранение характера зависимости стабильности комплексов $(pC)_nRCl \cdot poly(I)$ от степени дестабилизации стэкинга оснований в $(pC)_nRCl$ поддерживает точку зрения о преимущественном значении стэкинг-взаимодействий в одноязыковой спирали для стабильности двуспиральных нуклеиновых кислот (см., например, [27]).

Что касается одинаковой стабильности комплексов $(Ap)_nA \cdot 2poly(U)$ и $(Ap)_nARCl \cdot 2poly(U)$, то, согласно [22], этот факт объясняется различной, в основном за счет энтропийного фактора, энергетикой процессов образования двух- и трехтяжевых олигомер-полимерных комплексов: эффект энтропийных потерь при образовании последних выражен существенно слабее.

Экспериментальная часть

Полирибонуклеотиды — $poly(I)$ и $poly(C)$ — синтезированы с помощью полинуклеотидфосфорилазы *E. coli* [28]. $(pC)_n$ получали гидролизом $poly(C)$ эндонуклеазой яда кобры, выделенной по описанному методу [29]. Гидролизат $poly(C)$ после трехкратной обработки фенолом в присутствии додецилсульфата натрия фракционировали на DEAE-сефадексе А-25 в 7 М мочеvine в градиенте концентрации хлористого натрия. Фракции подвергали рехроматографии, обессоливали на сефадексе G-10 и лиофилизировали. Длину олигонуклеотидов определяли по составу продуктов их гидролиза панкреатической РНКазой. Молярные коэффициенты экстинкции олиго- и полинуклеотидов, определенные техникой щелочного гидролиза, представлены в табл. 3.

$(pC)_nRCl$ получали аналогично описанному в работах [9, 10], добавляя при -70° к 1–100 мМ растворам цетилтриметиламмониевых солей $(pC)_n$ в диметилформамиде, содержащем 0,75 М RCl и 0,5 М диметоксипропан, трифторуксусную кислоту до конечной ее концентрации в смеси 0,48 М. Смесь выдерживали 45 мин при 20° и затем нейтрализовали при -70° триэтиламином. $(pC)_nRCl$ пересаждали из метанола в эфир. Осадок растворяли в диметилформамиде, переводили в натриевую соль добавлением 1 М NaI в ацетоне и осаждали ацетоном. Соотношение $(pC)_n : RCl$ в препаратах определяли спектрофотометрически, как в [11, 12]. Соединения охарактеризованы хроматографической подвижностью при ВХ на бумаге FN-1 в системе *n*-пропанол — аммиак — вода (55 : 10 : 35); ϵ определяли в 0,05 М какодилатном буфере, рН 7, содержащем 0,1 М $NaCl$, 0,015 М $Mg(CH_3COO)_2$. Результаты синтеза и анализа приведены в табл. 4. $pCRCl$ синтезировали по методике работы [30].

Комплексы $(pC)_nRCl \cdot poly(I)$ готовили непосредственно перед экспериментом, используя свежеприготовленный раствор $(pC)_nRCl$ в 0,05 М какодилатном буфере, рН 7 (буфер А). К преинкубированному при 60° раствору $poly(I)$ в буфере А при 20° добавляли эквивалентное по нуклеотидам

Таблица 3

Молярные коэффициенты экстинкции олиго- и полинуклеотидов при 20° в 0,02 М фосфатном буфере, pH 7

Соединение	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	ϵ , $\text{M}^{-1}\text{см}^{-1}\cdot 10^{-3}$	Соединение	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	ϵ , $\text{M}^{-1}\text{см}^{-1}\cdot 10^{-3}$
poly(I)	248	9,81	(pC) ₆	269	7,24
poly(C)	268	6,58	(pC) ₇	268	7,09
(pC) ₅	269	7,43	(pC) ₈	268	6,97

Таблица 4

Результаты синтеза и анализа (pC)_nRCl

Соединение	Выход, %	R _{pC}	Соотношение (pC) _n :RCl	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	ϵ , $\text{M}^{-1}\text{см}^{-1}\cdot 10^{-3}$
(pC) ₃ RCl	75	2,4	1,00:0,96	—	—
(pC) ₅ RCl	78	2,2	1,00:0,92	267,5	11,6
(pC) ₆ RCl	78	2,0	1,00:0,90	267,5	10,9
(pC) ₇ RCl	75	1,6	1,00:0,90	267,5	9,6
(pC) ₈ RCl	74	1,1	1,00:0,94	267,5	9,3

количество (pC)_n или (pC)_nRCl, затем NaCl и после 20-минутного выдерживания смеси при 0—4° раствор уксуснокислого магния в буфере А. Конечная концентрация компонентов (M): pN — 0,015, NaCl — 0,1, Mg(CH₃COO)₂ — 0,015, какодилат — 0,05 (pH 7). КД спектры при такой концентрации нуклеотидного материала снимали в кювете с длиной оптического пути 0,1 мм на дихрографе CD-185 (Roussel Jouan, Франция). Профили плавления комплексов также снимали в кювете 0,1 мм, используя технику, подробно описанную в [31].

Для количественного учета алкилирования остатков гипоксантина в составе комплексов за время снятия профилей плавления аликвоту раствора комплексов (pC)_nRCl·poly(I) плавил параллельно эксперименту, после чего разбавляли в 5 раз раствором 7 М мочевины в 0,01 М Трис-HCl-буфере, pH 7, и хроматографировали на сефадексе G-75 сверхтонком, уравновешенном этим раствором (колонка — 100 мкл). Оптическую плотность в элюате регистрировали с помощью микроспектрофотометра [32]. Измеряя радиоактивность в высокополимерной и низкополимерной фракциях, рассчитывали долю модифицированных остатков гипоксантина в poly(I). За время плавления в составе комплекса успевают проалкилироваться менее 2% (от общего количества) остатков гипоксантина, и поэтому при обсуждении и анализе свойств (pC)_nRCl·poly(I), последствия внутрикомплексной реакции не учитывались.

Авторы благодарят Г. Г. Шамова (Новосибирский институт органической химии), предоставившего измерительную технику и давшего ряд ценных советов.

ЛИТЕРАТУРА

- Гривева Н. И., Карпова Г. Г. (1974) Молекулярн. биология, 8, 832—844.
- Гривева Н. И., Карпова Г. Г., Мызина С. Д., Фодор И., Баев А. А. (1975) Докл. АН СССР, 223, 1477—1481.
- Барам Г. И., Будкер В. Г., Гривева Н. И., Кворре Д. Г., Козоровицкий А. Я., Шамовский Г. Г. (1971) Докл. АН СССР, 201, 95—98.
- Беликова А. М., Гривева Н. И., Карпова Г. Г. (1972) Химия гетероцикл. соединений, 109—116.
- Гривева Н. И., Зарытова В. Ф., Кабашева Г. Н., Кворре Д. Г., Козоровицкий А. Я. (1971) Докл. АН СССР, 198, 582—584.

6. Michelson A. M., Monny C. (1967) *Biochim. et biophys. acta*, **149**, 107—126.
7. Thiele D., Guschlbauer W., Favre A. (1972) *Biochim. et biophys. acta*, **272**, 22—26.
8. Власов В. В., Кнорре Д. Г. (1974) *Молекулярн. биология*, **8**, 234—243.
9. Барам Г. И., Беликов С. И., Веньямина А. Г., Гринева Н. И., Зарытова В. Ф., Козоровицкий А. Я., Шамо́вский Г. Г. (1972) *Изв. Сиб. отд. АН СССР. Сер. хим.*, вып. 1, 115—120.
10. Власов В. В., Гринева Н. И., Карпова Г. Г. (1974) *Молекулярн. биология*, **8**, 752—761.
11. Власов В. В., Гринева Н. И., Зарытова В. Ф., Кнорре Д. Г. (1970) *Молекулярн. биология*, **4**, 201—204.
12. Гринева Н. И., Зарытова В. Ф., Кнорре Д. Г. (1970) *Изв. Сиб. отд. АН СССР. Сер. хим.*, вып. 2, 111—118.
13. Brahm J., Maurizot J. C., Michelson A. M. (1967) *J. Mol. Biol.*, **25**, 465—480.
14. Tazawa S., Tazawa I., Alderfer J. L., Ts'o P. O. P. (1972) *Biochemistry*, **11**, 3544—3558.
15. Kroon P. A., Kreishman G. P., Nelson J. H., Chan S. I. (1974) *Biopolymers*, **13**, 2571—2592.
16. Shirmer R. E., Davis J. P., Noggle J. H., Hart P. A. (1972) *J. Amer. Chem. Soc.*, **94**, 2561—2572.
17. Yathindra N., Sundaralingam M. (1974) *Biopolymers*, **13**, 2061—2076.
18. Беликова А. М., Гринева Н. И., Зарытова В. Ф., Кабашева Г. Н., Кнорре Д. Г. (1970) *Докл. АН СССР*, **195**, 1337—1340.
19. Olson W. K. (1973) *Biopolymers*, **12**, 1787—1814.
20. Grineva N. I., Kozorovitsky A. Ya., Lomakina T. S. (1972) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **46**, 1603—1606.
21. Leng M., Drocourt J.-L., Helene C., Ramstein J. (1974) *Biochimie*, **56**, 887—891.
22. Tazawa I., Tazawa S., Ts'o P. O. P. (1972) *J. Mol. Biol.*, **66**, 115—130.
23. Eisinger J., Fawaz-Estrup F., Shulman R. G. (1963) *Biochim. et biophys. acta*, **72**, 120—122.
24. Беликова А. М., Гринева Н. И., Кабашева Г. Н. (1972) *Изв. Сиб. отд. АН СССР. Сер. хим.*, вып. 4, 94—100.
25. Belikova A. M., Grineva N. I., Kabasheva G. N. (1973) *Tetrahedron*, **29**, 2277—2283.
26. Гринева Н. И., Карпова Г. Г., Шамо́вский Г. Г. (1974) *Молекулярн. биология*, **8**, 358—371.
27. Danilov I., Zheltovsky N. V., Kudritskaya Z. G. (1974) *Stud. biophys.*, **43**, 201—216.
28. Hennage D. W., Crothers D. M., Ludlum D. V. (1969) *Biochemistry*, **8**, 2298—2302.
29. Василенко С. К., Райт В. К. (1975) *Биохимия*, **40**, 578—583.
30. Веньямина А. Г., Гринева Н. И. (1971) *Изв. Сиб. отд. АН СССР. Сер. хим.*, вып. 4, 111—118.
31. Попов С. Г., Шамо́вский Г. Г. (1976) *Молекулярн. биология*, **10**, 576—583.
32. Власов В. В., Грачев М. А., Комарова Н. И., Кузьмг в С. В., Мензорова Н. И. (1972) *Молекулярн. биология*, **6**, 809—816.

Поступила в редакцию
3.V.1976

После доработки
29.VII.1976

CONFORMATION OF 2', 3'-O-[4-(N-2-CHLOROETHYL-N-METHYLAMINO) BENZYLIDENE] OLIGOCYTIDYLATES AND PROPERTIES OF THEIR COMPLEXES WITH POLYINOSINIC ACID

RYTE V. G., KARPOVA G. G., GRINEVA N. I.

*Novosibirsk State University and Institute of Organic Chemistry,
Siberian Division of the Academy of Sciences of the USSR, Novosibirsk*

A number of 2',3'-O-[4-(N-2-chloroethyl-N-methylamino)benzylidene]oligoribocytidylates, $(pC)_nRCl$, have been prepared. The characteristic differences in CD spectra of $(pC)_nRCl$ and $(pC)_n$ indicate that the modification of the 3'-terminal nucleotide disturbs normal base stacking in the oligonucleotide part of $(pC)_nRCl$. Base destacking is assumed to originate from the abnormal base orientation in the terminal modified nucleotide of $(pC)_nRCl$, as well as the result of distortion of ribose phosphate fragment which is imposed by dioxalane cycle. The increase in the oligonucleotide chain length reduces the effect of the modification on the base stacking, so that starting from octamer the conformations of $(pC)_n$ and oligonucleotide part of $(pC)_nRCl$ are nearly identical. The stability of double-stranded complexes $poly(I) \cdot (pC)_nRCl$ depends on the extent of base destacking in $(pC)_nRCl$.