



УДК 547.963.32.07

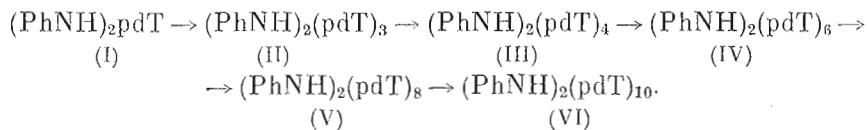
**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ОБРАБОТКИ ДЕКАТИМИДИЛАТА  
КОНДЕНСИРУЮЩИМИ РЕАГЕНТАМИ  
НА ЕГО КОМПЛЕМЕНТАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА***Лебедев А. В., Шешегова Е. А.**Новосибирский институт органической химии  
Сибирского отделения Академии наук СССР*

С использованием в качестве конденсирующего реагента полистиролсульфохлорида синтезирован декануклеотид  $(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_{10}$ . Проведена обработка декатимидила та различными конденсирующими реагентами, применяемыми в олигонуклеотидном синтезе: 2,4,6-триизопропилбензолсульфохлоридом (TPS), *n*-толуолсульфотетразолидом, смесью трифенилфосфин —  $\alpha, \alpha$ -дипиридилдисульфид, TPS в присутствии 4-диметиламинопиридина. Показано, что в результате любой обработки декануклеотида температура плавления комплекса  $\text{poly(A)} - \text{декатимидилат}$  снижается на  $1-3^\circ \text{C}$  в исследуемых условиях по сравнению с исходным препаратом.

Известно, что химически синтезированные олигонуклеотиды, используемые в качестве инициаторов в системе терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы, обеспечивают более низкую скорость включения субстрата, чем олигонуклеотиды, полученные ферментативным путем [1]. Показано, что лигазное сшивание синтезированных химическим способом олигонуклеотидов часто проходит с невысоким выходом [2]. Это указывает на то, что при синтезе олигонуклеотидов могут быть нарушены их функционально важные участки, ответственные за биологическую активность молекулы.

Целью настоящей работы явилось исследование влияния обработки декатимидила та конденсирующими реагентами на образование комплексов с  $\text{poly(A)}$ .

Декатимидилат (VI) синтезировали, используя активные производные *P*-компонента, по схеме



Чтобы исключить влияние конденсирующего реагента на растущую олигонуклеотидную цепь, активацию *P*-компонента проводили с помощью поперечно сшитого полистиролсульфохлорида [3—5]. При получении тетратимидила та (III) в качестве *P*-компонента применяли  $\text{pdT(Ac)}$ , в

Сокращения: TPS — 2,4,6-триизопропилбензолсульфохлорид, TST — *n*-толуолсульфотетразолид, DMAP — 4-диметиламинопиридин, PSCl — полистиролсульфохлорид,  $(\text{PyS})_2$  —  $\alpha, \alpha$ -дипиридилдисульфид.

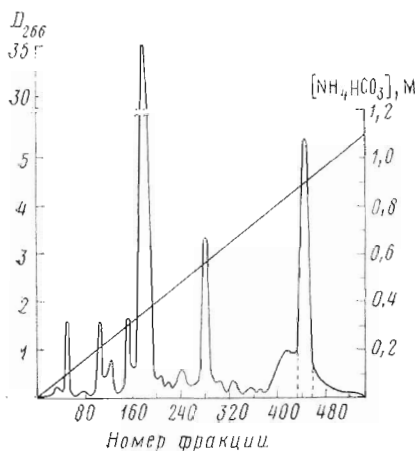


Рис. 1

Рис. 1. Хроматографическое выделение  $(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_{10}$  на колонке (2,6×30 см) с DEAE-молселектом А-25 в  $\text{HCO}_3^-$ -форме в градиенте концентрации бикарбоната аммония (рН~8). Скорость элюции 120 мл/ч; объем фракций 14,5 мл. Фракции 162—198 содержат  $\text{pdTpdT}$ , фракции 425—460 —  $(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_{10}$ . Вещества остальных фракций не идентифицированы

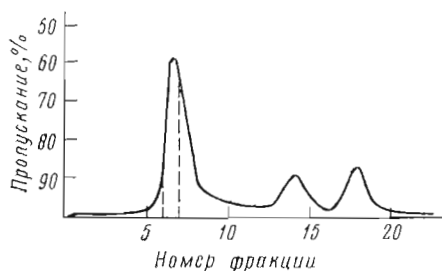


Рис. 2

Рис. 2. Гель-фильтрация на молселекте G-25 (колонка 1×50 см; объем фракций 1,85 мл, скорость 7,4 мл/ч) смеси, полученной после обработки  $(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_{10}(\text{Ac})$  с помощью TPS. Фракция 7 — декануклеотид, 14 и 15 — аммонийная соль триизопронилбензолсульфокислоты, 18 — пиридин. Контроль  $\lambda$  260 нм

остальных случаях —  $\text{pdTpdT}(\text{Ac})$ . Декануклеотид выделяли хроматографией на колонке с DEAE-молселектом А-25 (рис. 1). Гомогенность полученного декатимидилата (VI) (табл. 1) доказывали методом ионообменной хроматографии в микромасштабе, хроматографией на бумаге,  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектроскопией, а также гидролизом фосфодиэстеразой.

Поскольку обработка незацищенного олигомера (VI) конденсирующими реагентами приводила в используемых условиях к 60—80% его превращения в более короткие и более длинные, чем декатимидилат, олигонуклеотиды, соединение (VI) перед применением ацетилировали по 3'-ОН-группе.

Обработку декатимидилата конденсирующими реагентами проводили в условиях, приближенных к условиям химического синтеза олигонуклеотидов [6—10] (см. табл. 1). Но время обработки было в 4—10 раз продолжительнее, чем требуется для проведения одной стадии конденсации. Это в известной мере моделировало воздействие конденсирующего реагента на мономерные звенья нуклеотидной цепи в процессе многостадийного олигонуклеотидного синтеза.

После обработки конденсирующими реагентами декануклеотид из реакционной смеси выделяли гель-фильтрацией на молселекте G-25. Условия разделения были стандартизованы для всех смесей (см. «Экспериментальную часть»). В контрольном эксперименте по разделению смеси декатимидилат + триизопронилбензолсульфокислота + пиридинийхлорид во фракции 7 выходит декатимидилат (рис. 2), поэтому во всех случаях анализировали только фракцию 7. По данным ионообменной хроматографии в микромасштабе на DEAE-целлюлозе в системе Томлинсона — Тенера в присутствии 7 М мочевины, препараты всех фракций 7 практически гомогенны. Во фракциях 7 содержалось от 40 до 70% введенного в реакцию декануклеотида (определено по поглощению).

Из данных по илавлению комплексов  $\text{poly(A)}$  с полученными препаратами (табл. 2 и рис. 3) видно, что любая обработка ацетата тимидилата (VI) конденсирующими реагентами приводит к падению температуры

Постадийный синтез  $(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_{10}$  (см. схему)

Соединение	Реагент, моль/моль ОН-компонента		Объем смеси *, мл	[ОН-компонент], $10^{-2}$ М	Время реакции, сут	Выход		$R_{\text{pdT}}$ в системе		
	P-компонент	PSCl				%	$10^3 \text{OE}_{266}$	А	Б	В
$(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_3^{**}$ (II)	2,2	24	9(4,3)	5,4	5	25	4,4	1,98	1,49	1,13
$(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_4$ (III)	6,3	50	25(10)	1,6	5	65	9,9	1,35	1,69	0,94
$(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_6$ (IV)	6,3	77	25(6,3)	1,0	6	33	5,5	0,51	1,11	0,39
$(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_8$ (V)	15,5	206	6,5(6)	1,5	5	41	2,8	0,05	0,77	0,13
$(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_{10}^{***}$ (VI)	19,2	256	7,2(3)	0,53	2	51	1,8	0,02	0,53	0,06

\* В скобках приведены объемы растворов P-компонента, пропущенные через колонку с PSCl.

\*\* Непрореагировавший  $(\text{PhNH})_2\text{pdT}$  перед хроматографией отделяли экстракцией хлороформом.

\*\*\* Данные  $^{31}\text{P}$ -ЯМР,  $\delta$ , м.д.:  $-5,0$  ( $\text{PhNH}_2$ );  $+1,2$  ( $\text{dTrpdT}$ ). Соотношение концевое и межнуклеотидного фосфатов 1 : 9 (точность интегрирования 10%); 11 mM раствор в  $\text{D}_2\text{O}$ , pH  $\sim 7$ .

Таблица 2

Температуры плавления ( $\pm 0,5^\circ \text{C}$ ) комплексов  $\text{poly(A)}$  с препаратами декатимидилата, выделенными после обработки  $(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_{10}$  (Ac) конденсирующими реагентами \*

Реагент	Температура плавления ( $\pm 0,5^\circ \text{C}$ )	
	А	Б
Без обработки	21,5	21,3
TPS	20,7	20,0
$\text{Ph}_3\text{P}^+(\text{PyS})_2$ (1 : 1)	20,3	—
TPS+DMAP (1 : 3)	—	18,4
TST	18,1	18,0
TST (с очисткой декануклеотида на лихросорбе)	21,2	—

Примечание. А — 0,1 М Na-фосфатный буфер, pH 7,0; Б — 0,05 М трис-HCl, 0,1 М NaCl, pH 7,0 (при  $20^\circ \text{C}$ ).

плавления комплекса  $\text{poly(A)}$  — декануклеотид, т. е. прочность комплекса снижается \*. Это мы связываем с возникновением в декатимидилате модификаций в участках, ответственных за комплементарные взаимодействия с  $\text{poly(A)}$ . Наименьшее влияние на температуру плавления комплекса оказывает обработка его с помощью TPS и смеси  $\text{Ph}_3\text{P}^+(\text{PyS})_2$ , наибольшее — TST и TPS+DMAP. Следовательно, чем выше эффективность конденсирующего реагента в олигонуклеотидном синтезе по образованию фосфоди(или три-)эфирных связей, тем выше степень модификации декануклеотида (при прочих равных условиях). На практике различие в действии конденсирующих реагентов на синтезируемые олигонуклеотиды может быть менее выражено, поскольку времена конденсации с различными реагентами существенно различны [6—10].

Оценить нижнюю границу степени модификации декануклеотида удалось с использованием ионообменной хроматографии в микромасштабе на

\* Снижение температуры плавления комплекса на  $1-3^\circ \text{C}$  (см. табл. 2) свидетельствует о том, что после обработки конденсирующим реагентом в олигонуклеотиде модифицируется в среднем один-два нуклеотидных остатка. Следовательно, в наших условиях степень модификации определяет концентрация, но не избыток конденсирующего реагента (см. выше).

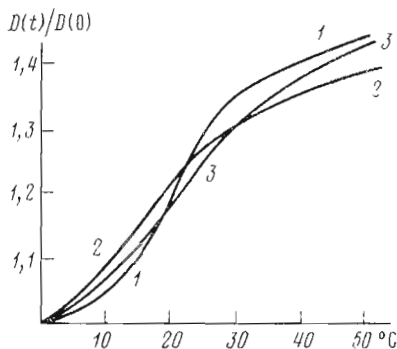


Рис. 3

Рис. 3. Профили плавления в 0,1 М Na-фосфатном буфере (рН 7,0) комплексов poly(A) с препаратом декатимидилата без обработки конденсирующим реагентом (1), после обработки TST (2) и TST с дополнительной очисткой на лихросорбе (см. текст) (3). Контроль  $\lambda$  262 нм

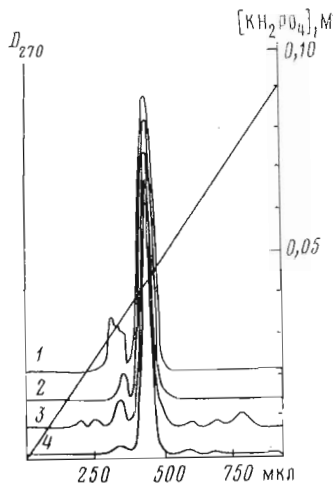


Рис. 4

Рис. 4. Анализ методом ионообменной хроматографии на лихросорбе (колонка  $1 \times 60$  мм, скорость элюции 1,4 мл/ч) фракции 7 (см. рис. 2) декатимидилата, обработанного  $\text{Ph}_3\text{P} + (\text{PyS})_2$  (1), TPS (2), TST (3) и без обработки конденсирующим агентом (4)

лихросорбе, где разделение нуклеотидов происходит в значительной степени по средству, а не по зарядам фосфатных групп (рис. 4). Кроме  $(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_{10}$  появляются дополнительные пики (до 30% от суммарного поглощения), что, с нашей точки зрения, свидетельствует о присутствии модифицированных производных декатимидилата. В случае TST основная фракция была собрана отдельно. Температура плавления комплекса полученного таким образом препарата с poly(A) оказалась равной  $21^\circ\text{C}$ , что значительно выше температуры плавления этого же препарата без дополнительной очистки на лихросорбе (см. рис. 3). Однако комплекс poly(A) с необработанным препаратом  $(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_{10}$  плавится более кооперативно, чем с препаратом декатимидилата, выделенным на лихросорбе. Иными словами, очистка на лихросорбе позволила выделить более чистую фракцию декануклеотида, но не привела к полностью индивидуальному образцу.

Таким образом, в настоящей работе удалось показать, что конденсирующие реагенты могут модифицировать остатки 2'-дезокситимидина в составе декануклеотида. Есть основания ожидать, что производные аденозина и особенно цитидина и гуанозина в еще большей степени подвергаются модификации в процессе их обработки конденсирующими реагентами.

### Экспериментальная часть

В работе использовали 2,4,6-триизопропилбензолсульфохлорид [6], 4-диметиламинопиридин (Bernkamen, Западный Берлин), *n*-толуолсульфохлорид, перекристаллизованный из пентана, абсолютный пиридин (содержание воды не более 0,05%, хранили над молекулярными ситами типа 4 Å), трифенилфосфин (Chemapol, СССР),  $\alpha, \alpha$ -дипиридилдисульфид [11], полиадениловую кислоту (препарат СКТБ БАВ Новосибирска, без дополнительной очистки),  $\text{pdT}(\text{Ac})$  (пиридиниевая соль) и  $\text{pdTpdT}$  (бистриэтиламмониевая соль) — препараты опытного химического производства Новосибирского института органической химии СО АН СССР.

Нисходящую хроматографию проводили на бумаге FN-1 (ГДР) в системах растворителей: А — этанол — 1 М ацетат аммония (7 : 3, pH 7,5); Б — *n*-пропанол — 25% водный аммиак — вода (55 : 10 : 35); В — изомасляная кислота — 25% водный аммиак — вода (66 : 1 : 33).

Ионообменную хроматографию в микромасштабе в присутствии 7 М мочевины проводили на DEAE-целлюлозе в градиенте концентрации NaCl (pH 7,5) или на лихросорбе (Merck, ФРГ) в градиенте концентрации  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH 7,0), используя жидкостный хроматограф «Обь-2» (производство НИОХ СО АН СССР). Анализы проводили в лаборатории ультрамикробиохимии НИОХ СО АН СССР.

Спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР записывали при 30°С на спектрометре НХ-90 (Bruker, ФРГ) на частоте 36,43 МГц. Задержка между импульсами 5 с. Ширина импульса 12 мкс (~60°С).

*n*-Толуолсульфотетразолид синтезировали по общему методу [12] с выходом 30%, т. пл. 82–90°С. Найдено, %: С 43,1; Н 3,57; N 23,3; O 15,0; S 14,2.  $\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ . Вычислено, %: С 42,9; Н 3,57; N 25,0; O 14,2; S 14,3. Дитимидилат ацетилировали как в работе [10] с выходом 65%. Дитимидилат ацетилировали по 3'-ОН-группе по методу [7] и переводили в  $\text{H}^+$ -форму, пропуская через колонку с дауэксом 50×2 в  $\text{H}^+$ -форме.

*Синтез декатимидилата* (VI) проводили, используя в качестве конденсирующего реагента поперечно сшитый полистиролсульфохлорид (содержание  $\text{SO}_2\text{Cl}$ -групп — 5 ммоль/г сухого полимера) — препарат ОХП НИОХ СО АН СССР. Гранулы полимера предварительно измельчали на шаровой мельнице и использовали в работе фракцию 0,050–0,063 мм. Все реакции проводили в предварительно продутой сухим азотом сухой камере при 20–24°С.

Полистирол — сульфохлорид размешивали с абсолютным пиридином (5 мл на 1 г сухого полимера), помещали в колонку (15×90 мм) и промывали абсолютным пиридином со скоростью 3–5 мл/ч, используя поршневой насос, до отсутствия окраски в вытекающем из колонки пиридине. Далее через колонку прокачивали 0,25 М раствор *P*-компонента со скоростью 3–5 мл/ч. Первые 5 мл собирали отдельно (холостой объем колонки), а последующий раствор, содержащий активированный *P*-компонент, собирали в круглодонную колбу, содержащую ОН-компонент. Последний предварительно сушили упариванием с абсолютным пиридином при 40–50°С (3–4 раза). После пропускания *P*-компонента через колонку прокачивали еще 10–20 мл абсолютного пиридина и собирали в колбу с ОН-компонентом.

Реакционные смеси при необходимости концентрировали частичным упариванием пиридина. Смесь оставляли в сухой камере (см. табл. 1), затем добавляли равный объем воды и оставляли на 4–5 ч при 20–25°С. Упаривали до маслообразного состояния и добавляли 40–50 мл смеси пиридин — 25% водный аммиак (1 : 1) для удаления ацетильной защитной группы. После выдерживания в течение 16 ч при 20–25°С многократно упаривали с водой до отсутствия запаха пиридина. Продукты выделяли методом ионообменной хроматографии на колонке (2,6×30 см) с DEAE-молселектом (Reanal, ВНР) в  $\text{HCO}_3^-$ -форме в градиенте концентрации бикарбоната аммония. Скорость элюции 100–120 мл/ч. В случае тритимидилата (II) синтез повторяли 3 раза, продукт объединяли и рехроматографировали на DEAE-молселекте А-25 ( $\text{HCO}_3^-$ -форма). Суммарный выход 9300 ОЕ<sub>266</sub>. После хроматографии объединенные фракции упаривали с добавлением этанола, растворяли в воде и пропускали через колонку с дауэксом 50×2 в триэтиламмониевой форме. Декатимидилат (VI) ацетилировали по 3'-ОН-группе согласно методике [7] и полученный препарат анализировали методом ионообменной хроматографии в микромасштабе на DEAE-целлюлозе и лихросорбе (содержание примесей не более 5%).

Для препарата poly(A) при 22° С  $\epsilon_{257}$  определена с помощью исчерпывающего щелочного гидролиза (10 400 на 1 ммоль оснований). Значение коэффициента молярной экстинкции для  $(\text{PhN})_2\text{pdT}$  (12 800,  $\lambda$  266 нм) определено сопоставлением интегральных интенсивностей пиков  $(\text{PhNH})_2\text{pdT}$  и  $\text{pdT}$ , полученных при разделении поиообменной хроматографией в микромасштабе на DEAE-целлюлозе продуктов фосфодиэстеразного гидролизата  $(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_3$ . (Фосфодиэстераза любезно предоставлена С. Ф. Орешковой, СКТБ БАВ, Новосибирск.) Для  $\text{pdT}$   $\epsilon_{266}$  принимали равной 9600. Коэффициент молярной экстинкции при 266 нм для  $(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_{10}$  определен после исчерпывающего фосфодиэстеразного гидролиза декануклеотида из соотношения  $(\text{PhNH})_2\text{pdT}$  и  $\text{pdT}$  (88 200).

*Обработка  $(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_{10}(\text{Ac})$  конденсирующими реагентами.* Реакции проводили при 20–24° С в сухой камере. Смесь декануклеотида в 40 мкл абс. пиридина и конденсирующего реагента в 20 мкл абс. пиридина (результатирующие концентрации соответственно 2,25 и 130 мМ) выдерживали 20 ч, добавляли 120 мкл 50% водного пиридина, выдерживали 4 ч и упаривали досуха. Остаток обрабатывали 200 мкл 12% водного аммиака (16 ч при 20–24° С), упаривали досуха, остаток перемешивали с 200 мкл 0,05 М бикарбоната аммония и после фильтрования хроматографировали на колонке (1×50 см) с мелкозернистым молекулярным сорбентом G-25 (Reanal, ВНР) в 0,05 М бикарбонате аммония (рис. 2). Во всех экспериментах анализировали только фракцию 7. Полученные препараты декануклеотида упаривали несколько раз с водой для удаления бикарбоната аммония и растворяли в буфере 0,05 М трис-HCl, 0,1 М NaCl (pH 7,0) или в 0,1 М фосфатном буфере ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{NaH}_2\text{PO}_4$ , pH 7,0 [ $\text{Na}^+$ ] 0,14 М).

*Изучение комплексообразования.* Кривые плавления получали на спектрофотометре «Aminco» (США) с двухкоординатным самописцем «Endim 620.02» (ГДР) с использованием медь-константановой термопары. Исследовали эквимольную смесь (в расчете на одно звено А и dT) poly(A) и декатимидилата в соответствующем буфере; принимали, что коэффициент экстинкции  $(\text{PhNH})_2(\text{pdT})_{10}$  не изменяется после обработки конденсирующим реагентом. Образец в ходе анализа нагревали от –2 до 50–60° С, охлаждали до ~0° С, выдерживали 2 ч и повторяли плавление. Результаты двух последовательных экспериментов совпадали в пределах 0,6–0,8° С. За температуру плавления принимали проекцию точки перегиба кривой плавления на ось температур. Точность калибровки термопары и воспроизводимость в регистрации температуры 0,5° С.

Авторы выражают благодарность чл.-кор. АН СССР Д. Г. Кнорре за помощь в постановке задачи и обсуждении результатов работы и В. П. Старостину (НИОХ СО АН СССР) за предоставление детальной методики подготовки полистиролсульфохлорида и колоночной активации Р-компонента.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Kato K., Goncalves J. M., Houts G. E., Bollum T. J. Deoxynucleotide polymerizing enzymes of calf thymus gland. Properties of the terminal deoxynucleotidyl transferase.— J. Biol. Chem., 1967, v. 242, № 11, p. 2780–2789.
2. Sekiya T., Besmer P., Takeya T., Khorana H. G. Total synthesis of the structural gene for the precursor of a tyrosine suppressor transfer RNA from *Escherichia coli*. 7. Enzymatic joining of the chemically synthesized segments to form a DNA duplex corresponding to the nucleotide sequence 1–26.— J. Biol. Chem., 1976, v. 251, № 3, p. 634–641.
3. Загребельный С. Н., Яснецкая С. М., Зарытова В. Ф., Лубенец Э. Г., Хмельницкий А. Г. Применение полистиролсульфохлорида для получения активных производных динуклеотидов и использование их для синтеза олигонуклеотидов.— Биоорган. химия, 1979, т. 5, № 8, с. 1133–1139.
4. Загребельный С. Н., Зарытова В. Ф., Левина А. С., Семенова Л. Н., Ярмолинская Е. В., Яснецкая С. М. Применение арилсульфохлоридов для получения нуклеозид-5'-фосфамидов.— Биоорган. химия, 1978, т. 4, № 6, с. 729–734.

5. Туркин С. И., Потапов В. К., Шабарова Э. А., Зарытова В. Ф., Киорре Д. Г. Применение для синтеза динуклеозидфосфатов активного производного мононуклеотида, отделенного от полистирольного конденсирующего реагента.— Биооргани. химия, 1975, т. 1, № 10, с. 1430—1433.
6. Lohrman R., Khorana H. G. Studies on polynucleotides. LII. The use of 2, 4, 6-triisopropylbenzenesulfonyl chloride for the synthesis of internucleotide bonds.— J. Amer. Chem. Soc., 1966, v. 88, № 4, p. 829—833.
7. Gilham P. T., Khorana H. G. Studies on polynucleotides. I. A new and general method for the chemical synthesis of the C<sub>5</sub>—C<sub>3</sub> internucleotidic linkage. Syntheses of deoxyribo-dinucleotides.— J. Amer. Chem. Soc., 1958, v. 80, № 23, p. 6212—6222.
8. Sood A. K., Narang S. A. A rapid and convenient synthesis of polythymidylic acid by the modified triester approach.— Nucleic Acids Res., 1977, v. 4, № 8, p. 2757—2765.
9. Добрынин В. Н., Коробко В. Г., Северцова И. В., Быстров Н. С., Болдырева Е. Ф., Чернов Б. К., Колосов М. П. Синтез олиго- и полинуклеотидов. XXII. Синтез олигодезоксинуклеотидов, содержащих сайты рестриктаз *E.co* RI и *Bam* I.— Биооргани. химия, 1978, т. 4, № 12, с. 1600—1611.
10. Мишенина Г. Ф., Самуков В. В., Семенова Л. Н., Шубина Т. Н. Использование экстракционного метода для выделения бисзамещенных по концевому фосфату дезокси-нуклеотидов.— Биооргани. химия, 1978, т. 4, № 6, с. 735—739.
11. Marckwald W., Klemm W., Trabert H. Untersuchungen in der Pyridinreihe. II.— Chem. Ber., 1900, v. 33, № 2, p. 1556—1566.
12. Stawinski J., Hozumi T., Narang S. A., Bahl C. P., Wu R. Arylsulfonyltetrazoles, new coupling reagents and further improvements in the triester method for the synthesis of deoxyribooligonucleotides.— Nucleic Acids Res., 1977, v. 4, № 2, p. 353—371.

Поступила в редакцию  
29.X.1980

#### A STUDY OF THE EFFECTS OF DECATHYMIDYLATE TREATMENT WITH CONDENSING REAGENTS ON ITS COMPLEMENTING PROPERTIES

LEBEDEV A. V., SHESHEGOVA E. A.

*Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch  
of the Academy of Sciences of the USSR, Novosibirsk*

Decanucleotide, d(PhNH)<sub>2</sub>(pT)<sub>10</sub>, was synthesized using polyesterene sulfonyl chloride as a condensing reagent. The treatment of decathymidylate by the following condensing reagents used in oligonucleotide synthesis was performed: 2,4,6-triisopropylbenzenesulfonyl chloride (TPS), *p*-toluenesulfonyl tetrazolide, the triphenylphosphine —  $\alpha\alpha$ -dipyridyl disulfide mixture and TPS in the presence of N,N-dimethylaminopyridine. It was shown that the «melting out» temperature for the poly(A)-decathymidylate complex decreased by 1—3° as a result of decathymidylate treating with any of above reagents as compared with the temperature for untreated sample.