

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-------|--|-----|
| 1 | Einleitung | 1 |
| 1.1 | Templatgesteuerte Primerverlängerungsreaktionen..... | 1 |
| 1.2 | Selektive Erkennung von DNA-tragenden Gold-Nanopartikeln..... | 11 |
| 2 | Aufgabenstellung..... | 23 |
| 3 | Theoretischer Teil..... | 25 |
| 3.1 | Synthese und Umsetzung eines 3'-Aminoxypromers | 25 |
| 3.1.1 | Syntheseplanung | 25 |
| 3.1.2 | Synthese eines 3'-Aminoxypromers..... | 28 |
| 3.1.3 | Alternative Syntheseroute zu einem 3'-Aminoxypromer | 37 |
| 3.1.4 | Verlängerungsreaktionen mit dem 3'-Aminoxypromer (20b)..... | 44 |
| 3.1.5 | Diskussion der Ergebnisse | 49 |
| 3.2 | Orts- und sequenzspezifische Abscheidung von Gold-Nanopartikeln auf Oberflächen | 51 |
| 3.2.1 | Synthese von 3'-Thiol-DNA und einem Thiol-Füllmolekül..... | 52 |
| 3.2.2 | Funktionalisierung von Gold-Nanopartikeln..... | 65 |
| 3.2.3 | Funktionalisierung der Oberfläche durch Organosilane..... | 71 |
| 3.2.4 | Kopplung eines bifunktionalen Linkers auf die Oberfläche..... | 77 |
| 3.2.5 | Immobilisierung von DNA auf der Oberfläche | 79 |
| 3.2.6 | Hybridisierung von Gold-Nanopartikeln auf funktionalisierten Oberflächen.. | 87 |
| 3.2.7 | Vorversuch zur nanoskaligen Strukturierung der Oberfläche und Ausblick.... | 97 |
| 4 | Zusammenfassung | 99 |
| 5 | Experimenteller Teil | 100 |
| 5.1 | Allgemeines | 100 |
| 5.1.1 | Arbeiten unter Schutzgas..... | 100 |
| 5.1.2 | Lösungsmittel und Chemikalien | 100 |
| 5.1.3 | Chromatographie..... | 100 |
| 5.1.4 | Kernresonanzspektroskopie | 101 |
| 5.1.5 | Massenspektrometrie..... | 101 |
| 5.1.6 | Kinetische Auswertung von Primerverlängerungsreaktionen | 102 |
| 5.1.7 | Oligonukleotide und DNA-Synthese..... | 103 |
| 5.1.8 | UV-Spektroskopie..... | 104 |
| 5.1.9 | Aufreinigung von Oligonukleotiden: HPLC und Kartuschenaufreinigung.... | 105 |

| | | |
|--------|--|-----|
| 5.1.10 | Chipreader..... | 106 |
| 5.1.11 | AFM | 107 |
| 5.1.12 | Dip-Pen-Nanolithographie..... | 107 |
| 5.2 | Synthese eines 3'-Aminoxyprimers..... | 108 |
| 5.2.1 | 5'- <i>O</i> -Monomethoxytritylthymidin (8) | 108 |
| 5.2.2 | 3'- <i>O</i> -Mesyl-5'- <i>O</i> -monomethoxytritylthymidin (9)..... | 108 |
| 5.2.3 | 2,3'-Anhydro-5'- <i>O</i> -monomethoxytritylthymidin (10)..... | 109 |
| 5.2.4 | 5'-Monomethoxytrityl-3'- <i>xylo</i> thymidin (11)..... | 109 |
| 5.2.5 | 5'- <i>O</i> -Monomethoxytrityl-3'-phthalimidothymidin (13)..... | 110 |
| 5.2.6 | 3'- <i>O</i> -Phthalimidothymidin (14)..... | 111 |
| 5.2.7 | 3'- <i>O</i> -Phthalimidothymidin-5'- <i>O</i> -yl-cyanoethyl- <i>N,N</i> -diisopropylphosphitamid- (15)..... | 112 |
| 5.2.8 | 5'- <i>O</i> -(<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl)thymidin (21)..... | 112 |
| 5.2.9 | 5'- <i>O</i> -(<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl)-3'-deoxy-3'-oxothymidin (22) | 113 |
| 5.2.10 | 5'- <i>O</i> -(<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl)xylothymidin (23) | 114 |
| 5.2.11 | 5'- <i>O</i> -(<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl)-3'- <i>O</i> -phthalimidothymidin (24) | 114 |
| 5.2.12 | 3'-Aminoxy-5'- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butyldiphenylsilyl)thymidin (25)..... | 115 |
| 5.2.13 | 5'- <i>O</i> -(<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl)-3'-(<i>N</i> -tritylamin oxy)thymidin (26) | 116 |
| 5.2.14 | 3'-(<i>N</i> -Tritylamin oxy)thymidin (27) | 116 |
| 5.2.15 | 3'-(<i>N</i> -Tritylamin oxy)thymidin-5'- <i>O</i> -yl-cyanoethyl- <i>N,N</i> -diisopropylphosphitamid (28) | 117 |
| 5.2.16 | Synthese der 3'-Aminoxyoligonukleotide 17b und 20b | 118 |
| 5.2.17 | Primerverlängerungsreaktionen mit einem 3'-Aminoxyprimer | 119 |
| 5.3 | Synthese einer festen Phase für die Synthese von Thiol-terminierter DNA | 120 |
| 5.3.1 | <i>O</i> -Monomethoxytritylhexaethylenglykol (54)..... | 120 |
| 5.3.2 | <i>O</i> -Monomethoxytrityl- <i>O</i> '-succinylhexaethylenglykol (55)..... | 120 |
| 5.3.3 | Beladung von lcaa-cpg mit <i>O</i> -Monomethoxytrityl- <i>O</i> '-succinylhexaethylenglykol (57)..... | 121 |
| 5.4 | Synthese des 3'-Linkers..... | 122 |
| 5.4.1 | 13- <i>O</i> -[1-(Methylcarbonylthio)undec-11-yl]tetraethylenglykol (38)..... | 122 |
| 5.4.2 | 13- <i>O</i> -[1-(Methylcarbonylthio)undec-11-yl]tetraethylenglykol-1- <i>O</i> -[(2-cyanoethyl)- <i>N,N</i> -diisopropyl]phosphitamid (44) | 122 |
| 5.5 | Synthese von 3'-Mercaptooligonukleotiden | 123 |

| | | |
|--------|---|-----|
| 5.5.1 | 3'-[Mercaptoundecan-tetraethylenglykol-(18-Spacer) ₄]- ATGCTCAACTCT-5' (49b)..... | 123 |
| 5.5.2 | 3'-[Mercaptoundecan-tetraethylenglykol-(18-Spacer) ₄]- GATGACATCCGA-5' (50b) | 123 |
| 5.6 | Synthese der Füllmoleküle | 123 |
| 5.6.1 | 3'-[Mercaptoundecan-tetraethylenglykol-(18-Spacer) ₅ -S'- (51b) | 123 |
| 5.6.2 | 3'-[Mercaptoundecan-tetraethylenglycol-(18-Spacer) ₅ -T-S'- (61b)..... | 124 |
| 5.7 | Synthese von Phosphothioat-DNA | 124 |
| 5.7.1 | 3'-AACTACCATAGAAAAT-(18-Spacer) ₄ -PO ₂ SH-5' (98)..... | 124 |
| 5.7.2 | 3'-ACCAACTGACGCTA-(18-Spacer) ₄ -PO ₂ SH-5' (99) | 124 |
| 5.7.3 | 3'-TTCTTTCTTTT-(18-Spacer) ₄ -PO ₂ SH-5' (100)..... | 124 |
| 5.8 | Reduktion der Thiol-DNA und der Füllmoleküle..... | 124 |
| 5.9 | Herstellung funktionalisierter Goldkolloide..... | 125 |
| 5.10 | Durchführung der orts- und sequenzspezifischen Abscheidung von Gold- Nanopartikeln auf SiO ₂ -Oberflächen | 125 |
| 5.10.1 | Reinigung der SiO ₂ -Oberflächen | 125 |
| 5.10.2 | Silanisierung der SiO ₂ -Oberflächen..... | 126 |
| 5.10.3 | Kopplung des Crosslinkers | 126 |
| 5.10.4 | Immobilisierung der Phosphothioat-DNA auf SiO ₂ -Oberflächen | 126 |
| 5.10.5 | Hybridisierung des Splintstrangs auf SiO ₂ -Oberflächen..... | 126 |
| 5.10.6 | Hybridisierung der funktionalisierten Nanopartikel auf der DNA-tragenden Oberfläche..... | 127 |
| 6 | Anhang | 128 |
| 7 | Abkürzungsverzeichnis..... | 138 |
| 8 | Literaturverzeichnis | 142 |
| | Lebenslauf..... | 151 |
| | Publikationen | 152 |