

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'-Aminoxyprimers	25
3.1.1	Syntheseplanung	25
3.1.2	Synthese eines 3'-Aminoxyprimers.....	28
3.1.3	Alternative Syntheseroute zu einem 3'-Aminoxyprimer	37
3.1.4	Verlängerungsreaktionen mit dem 3'-Aminoxyprimer (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> -Mesityl-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) <i>xylo</i> thymidin (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> -tritylaminoxy)thymidin (26)	116
5.2.14	3'-(<i>N</i> -Tritylaminoxy)thymidin (27)	116
5.2.15	3'-(<i>N</i> -Tritylaminoxy)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> -diisopropylphosphitamid (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 -5' (51b).....	123
5.6.2	3'-[Mercaptoundecan-tetraethylenglykol-(18-Spacer) ₅ -T-5' (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