

## 2 Aufgabenstellung

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung eines neuen Verfahrens zur Modifikationsinterferenzanalyse. Die Grundlage bilden 3'-Phosphorothiolate, eine Substanzklasse bei denen das 3'-Sauerstoffatom gegen ein Schwefelatom substituiert wurde. 3'-Phosphorothiolate sollen als Marker zur Identifikation eines Interferenzeffektes einer zweiten Modifikation eingesetzt werden. Die Untersuchungen zur Kombination von Phosphat- und Basenmodifikation unter Verwendung von 3'-Phosphorothiolaten soll an RNA durchgeführt werden, die mittels chemischer Festphasensynthese dargestellt wird.

Die Arbeit gliedert sich in folgende Teilaufgaben:

1. Synthese der 3'-thiomodifizierten Amidite und Optimierung der Bedingungen für die Festphasensynthese.
2. Synthese von vollständig und partiell phosphorothiolat-modifizierten Oligonukleotiden zur Untersuchung der Einbaurate der dargestellten Amidite und zur Untersuchung der Silberspaltung der Phosphorothiolat-Bindung.
3. Durchführung der Interferenzanalyse mit 3'-phosphorothiolat-modifiziertem Hammerhead-Ribozym zur Untersuchung des Effektes der 3'-Phosphorothiolatbindung (Kontrollexperiment).
4. Durchführung der neuen Interferenzanalyse und Identifikation essentieller funktioneller Gruppen des Hammerhead-Ribozyms.
5. Verifizierung der mit der Interferenzanalyse erhaltenen Ergebnisse durch singuläre Substitutionen. Bestimmung der kinetischen Konstanten des Hammerhead-Ribozyms zur Charakterisierung des Interferenzeffektes. Aufzeigen der generellen Anwendbarkeit der neuen Methode.