
1. AUFGABENSTELLUNG

Durch die *in vitro*-Evolution von Nucleinsäuren können heute hochaffine RNAs und DNAs gegen jedes beliebige Targetmolekül entwickelt werden. Die bindenden Nucleinsäuren erkennen ihr Target - ähnlich wie ein Antikörper - mit sehr hoher Spezifität. Im Gegensatz zu den Antikörpern besitzen sie jedoch den enormen Vorteil, daß sie chemisch synthetisierbar sind. Die chemische Synthese von Nucleinsäuren ermöglicht es, diese Liganden durch den Einbau von modifizierten Nucleotiden an spezifischen Positionen innerhalb der Sequenz mit bestimmten Funktionen auszustatten.

Durch Einbau einer fluoreszierenden Base in einen RNA-Liganden soll es im Rahmen dieser Arbeit ermöglicht werden, über die Bindungskonstante eines Liganden-Target-Komplexes und damit auch über die Targetkonzentration in der Testlösung Aussagen treffen zu können. Meßgröße ist hierbei die Änderung der Fluoreszenzintensität der Nucleinsäure bei Komplexbildung. Die Integration der Reportergruppe in den Liganden ermöglicht eine nichtkompetitive analytische Messung und liefert dadurch bessere Ergebnisse als kompetitive Methoden.

Als Reportergruppe wird 1,N⁶-Ethenoadenosin gewählt, das nach Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 300 nm starke Fluoreszenz mit einem Maximum bei 410 nm aufweist. Der Fluorophor soll in der Sequenz des RNA-Liganden ein Adenosin ersetzen, das sich in einer Loop- oder Bulge-Position befindet. Da an dieser Position keine Basenpaarung vorliegt, sollte die räumliche Struktur des Moleküls auch nach Substitution weitgehend erhalten bleiben. Dadurch ist eine vergleichsweise starke Bindung des Targetmoleküls an den neuen RNA-Liganden wahrscheinlich. Die Fluoreszenzintensität der Reportergruppe muß trotz eines möglichen Quenchingeffektes durch den Einbau in ein Oligomer noch ausreichend stark sein. Die Position der Reportergruppe innerhalb des Oligoribonucleotidliganden muß deshalb so gewählt werden, daß bei Bindung des Targetmoleküls an den Liganden ein deutlicher Effekt auf die Fluoreszenzeigenschaften der Testlösung nachzuweisen ist (Fluoreszenzminderung oder -steigerung in Abhängigkeit von der zugegebenen Targetmenge und damit auch von der Konzentration des entstehenden Komplexes).

Ziel der Arbeit ist es, erstmals einen funktionellen, fluoreszierenden Nucleinsäureliganden zur schnellen und nichtkompetitiven Bestimmung von Bindungskonstanten zu entwickeln.