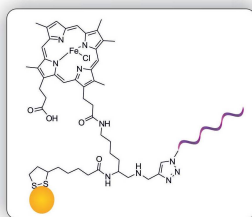
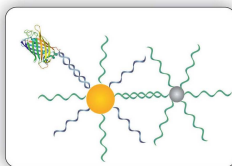




Dania Kendziora (Autor)  
**Biofunktionalisierung von metallischen  
Nanopartikeln zur Entwicklung von Biosensoren**

Dania Marile Kendziora

**Biofunktionalisierung  
von metallischen Nanopartikeln  
zur Entwicklung von Biosensoren**



Cuvillier Verlag Göttingen  
Internationaler wissenschaftlicher Fachverlag

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/6424>

Copyright:  
Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,  
Germany  
Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>



## INHALTSVERZEICHNIS

|  |    |
|--|----|
| Kurzzusammenfassung.....   | 9  |
| 1    Einleitung .....  | 11 |
| 1.1    Synthese und Eigenschaften von metallischen Nanopartikeln.....                              | 11 |
| 1.1.1    Citrat-Methode zur Synthese von Gold Nanopartikeln.....                                   | 13 |
| 1.1.2    Synthese von Gold Nanopartikeln mit Thiol-Liganden .....                                  | 14 |
| 1.1.3    Photochemische Synthese von Gold Nanopartikeln .....                                      | 15 |
| 1.1.4    Polyol-Methode zur Synthese von metallischen Nanopartikeln .....                          | 17 |
| 1.1.5    Synthese von fluoreszenten Gold Nanopartikeln.....  | 18 |
| 1.2    Biofunktionalisierung von metallischen Nanopartikeln.....                                   | 19 |
| 1.2.1    Linker zur Modifikation von Gold Nanopartikeln .....                                      | 20 |
| 1.2.2    Synthese von Gold Nanopartikel-DNA Konjugaten.....  | 21 |
| 1.2.3    Synthese von Nanopartikel-Protein Konjugaten .....  | 23 |
| 1.3    Anwendungen von metallischen Nanopartikeln .....  | 25 |
| 1.3.1    Fluoreszente Nanopartikel als optische Marker und Sensoren .....                          | 26 |
| 1.3.2    Anwendungen von Nanopartikeln in der Oberflächen-verstärkten Raman<br>Spektroskopie ..... | 27 |
| 1.3.3    Anwendungen von Nanopartikeln in der Tumorzellenforschung .....                           | 28 |
| 1.3.4    Verwendung von Nanopartikeln als Biosensoren .....  | 30 |
| 1.4    Aufgabenstellung .....  | 32 |
| 2    Ergebnisse und Diskussion .....   | 34 |
| 2.1    Synthese von Nanopartikeln in Gegenwart von Metallothioneinen .....                         | 34 |
| 2.1.1    Expression und Reinigung von Metallothionein-Fusionsproteinen.....                        | 34 |
| 2.1.2    Photochemische Synthese von metallischen Nanopartikeln .....                              | 36 |
| 2.2    Verknüpfung von Nanopartikeln mit BAG1-Peptiden .....                                       | 41 |
| 2.2.1    Modifikation des trifunktionellen Linkers mit einem Fluoreszenzmarker .....               | 43 |
| 2.2.2    Entfernung der Boc-Schutzgruppe des Atto610-modifizierten Linkers .....                   | 45 |
| 2.2.3    Modifikation von BAG1 Peptiden durch Einführung eines Alkin.....                          | 47 |



|       |  |     |
|-------|--|-----|
| 2.2.4 | Modifikation eines Propargylglycin-BAG1-Peptids durch Kupfer-katalysierte Alkin-Azid Cycloaddition ..... | 59  |
| 2.2.5 | Modifikation von magnetischen Nanopartikeln mit fluoreszent-markiertem trifunktionellen Linker .....     | 62  |
| 2.3   | Synthese und Modifikation von Gold Nanopartikeln zur Anwendung in der Tumorzellenforschung .....         | 67  |
| 2.3.1 | Synthese von Liponsäure-stabilisierten AuNP.....   | 68  |
| 2.4   | Trifunktionelle Linkersysteme zur Modifikation von Gold Nanopartikeln.....                               | 72  |
| 2.4.1 | Synthese von Gold Nanopartikeln mit Boc-geschützten Liponsäure-Linkern .....                             | 73  |
| 2.4.2 | Synthese von Gold Nanopartikeln mit trifunktionellen Liponsäure-Linkern mit freien Aminen .....          | 75  |
| 2.4.3 | Kupfer-katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition zur Modifikation von Alkin-funktionalisierten AuNP.....     | 82  |
| 2.4.4 | Modifizierung der freien Aminogruppe der AuNP-L2a-DNA1 .....   | 86  |
| 2.4.5 | Untersuchung der Voraussetzungen für Immobilisierungsexperimente .....                                   | 89  |
| 2.4.6 | DNA-vermittelte Immobilisierung von AuNP-DNA1-Häm.....   | 93  |
| 2.5   | DNA-vermittelter Aufbau von Protein-AuNP-AgNP Konjugaten zum Nachweis in SERS-Experimenten.....          | 96  |
| 2.5.1 | Synthese des EYFP-DNA4 Konjugats.....  | 97  |
| 2.5.2 | Synthese von Citrat-stabilisierten AuNP .....  | 101 |
| 2.5.3 | Modifikation von Citrat-stabilisierten AuNPs mit DNA-Oligonukleotiden .....                              | 102 |
| 2.5.4 | Test der Stabilität von DNA-modifizierten Nanopartikel .....   | 103 |
| 2.5.5 | Immobilisierung von EYFP-DNA4 auf DNA-modifizierten AuNP.....  | 105 |
| 2.5.6 | Direkte Hybridisierung von DNA-modifizierten Nanopartikeln mit einem fluoreszenten Protein.....          | 106 |
| 2.5.7 | Oberflächen-verstärkte Raman-Spektroskopie des EYFP-AuNP-AgNP Konstrukts ....                            | 109 |
| 3     | Zusammenfassung und Ausblick .....   | 114 |
| 3.1   | Synthese von Nanopartikeln in Gegenwart von Metallothioneinen .....                                      | 114 |
| 3.2   | Verknüpfung von magnetischen Nanopartikeln mit BAG1-Peptiden .....                                       | 115 |
| 3.3   | Synthese und Modifikation von Gold Nanopartikeln zur Anwendung in der Tumorzellenforschung .....         | 116 |



|        |  |     |
|--------|--|-----|
| 3.4    | Trifunktionelle Linker zur Modifikation von Gold Nanopartikeln.....  | 117 |
| 3.5    | DNA-vermittelter Aufbau von Protein-AuNP-AgNP Konjugaten zum Nachweis in SERS-Experimenten.....              | 118 |
| 4      | Material und Methoden .....  | 120 |
| 4.1    | Chemikalien .....  | 120 |
| 4.2    | Pufferverzeichnis.....   | 120 |
| 4.3    | Verwendete Methoden und Geräte.....  | 122 |
| 4.3.1  | Oberflächen-verstärkte Raman Spektroskopie.....  | 122 |
| 4.3.2  | Transmissionselektronenmikroskopie.....  | 122 |
| 4.3.3  | Matrix-unterstützte Laser-Desorption Ionisation.....   | 123 |
| 4.3.4  | UV-Vis und Fluoreszenz-Spektroskopie .....   | 123 |
| 4.3.5  | Schnelle Flüssigkeitschromatographie.....  | 124 |
| 4.3.6  | Hochdruckflüssigkeitschromatographie.....  | 124 |
| 4.3.7  | Polyacrylamid Gelelektrophorese .....  | 125 |
| 4.3.8  | Agarose Gelelektrophorese .....  | 127 |
| 4.3.9  | Färbemethoden für die Gelelektrophorese .....  | 127 |
| 4.4    | Modifikation eines trifunktionellen Linkers mit Atto610-NHS.....   | 128 |
| 4.5    | Modifikation des HA-Peptids mit 3-Ethynylanillin durch Diazokupplung <sup>[178]</sup> .....                  | 129 |
| 4.6    | Kupfer-freie Azid-Alkin Cycloaddition mit Linker für Ene-artige Reaktion <sup>[139]</sup> ....               | 130 |
| 4.7    | Synthese von Gold Nanopartikeln .....  | 131 |
| 4.7.1  | Citrat-Methode <sup>[63]</sup> .....   | 131 |
| 4.7.2  | Synthese von AuNP in Gegenwart von Liponsäure und Liponsäure-Derivaten <sup>[28]</sup> .                     | 132 |
| 4.7.3  | Photochemische Synthese zur Bildung von Nanopartikeln <sup>[29]</sup> .....                                  | 133 |
| 4.8    | Modifikation von Liponsäure-AuNP mit Octadecylamin.....  | 134 |
| 4.9    | Kupfer-katalysierte Azid-Akin Cycloaddition zur Modifikation von AuNP-L2 mit Azid-DNA <sup>[143]</sup> ..... | 134 |
| 4.10   | Kovalente Verknüpfung von Häm mit AuNP-L2a-DNA1 .....  | 135 |
| 4.11   | Rekonstitution von Apo-Myoglobin durch Häm-DNA-AuNPs .....   | 135 |
| 4.12   | Synthese von AuNP-Mb .....   | 136 |
| 4.13   | Synthese des Myoglobin-DNA1 Konjugats.....   | 136 |
| 4.14   | DNA-vermittelte Immobilisierung von AuNP.....  | 137 |
| 4.14.1 | Beschichtung von Mikrotiterplatten mit Streptavidin.....   | 137 |
| 4.14.2 | Immobilisierung von DNA-AuNP .....   | 137 |




---

|        |   |     |
|--------|---|-----|
| 4.14.3 | Bestimmung der Aktivität von Myoglobin durch AmpliFluRed™ .....   | 138 |
| 4.15   | DNA-vermittelter Aufbau von AuNP-AgNP-Protein Konjugaten .....    | 138 |
| 4.15.1 | DNA-Modifizierung von Nanopartikeln durch Ligandenaustausch ..... | 138 |
| 4.15.2 | Synthese von EYFP-DNA4 Konjugaten .....                           | 139 |
| 4.15.3 | Testhybridisierung verwendeter DNA-Sequenzen .....                | 139 |
| 4.15.4 | Hybridisierung von AuNP-DNA2-cDNA4 mit EYFP-DNA4.....             | 139 |
| 4.15.5 | Hybridisierung von AuNP-DNA2-cDNA4 mit AgNP-cDNA2 und EYFP-DNA4.  | 140 |
| 4.16   | Verwendete DNA-Sequenzen .....                                    | 141 |
| 4.17   | Expression von Metallothionein-Fusionsproteinen.....              | 141 |
| 4.18   | Amylose Affinitätschromatographie .....                           | 142 |
| 5      | Abkürzungsverzeichnis .....                                       | 143 |
| 6      | Literatur.....  | 146 |
| 7      | Danksagung.....   | 152 |
| 8      | Lebenslauf .....  | 154 |
| 9      | Publikationen .....   | 155 |
| 10     | Konferenzbeiträge .....   | 155 |