

---

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Themenstellung.....</b>	<b>5</b>
<b>3. Theoretischer Hintergrund .....</b>	<b>7</b>
<b>3.1 Bioorthogonalität .....</b>	<b>7</b>
<b>3.2 Bioorthogonale Markierungsmethoden.....</b>	<b>9</b>
<b>3.3 Kupferfreie postsynthetische Markierungsmethoden.....</b>	<b>10</b>
<b>3.3.1 Ringspannungsgesteuerte Azid-Alkin-Cycloaddition (SPAAC).....</b>	<b>10</b>
<b>3.3.2 „Photoclick“-Reaktion.....</b>	<b>12</b>
<b>3.3.3 Diels-Alder Cycloaddition mit inversem Elektronenbedarf (iEDDA).....</b>	<b>15</b>
<b>3.4 Cyclopropene zur postsynthetischen Markierung.....</b>	<b>20</b>
<b>3.5 Metabolische Markierung von DNA.....</b>	<b>24</b>
<b>3.6 Enzymatische Methoden zur DNA-Synthese .....</b>	<b>26</b>
<b>4. Hauptteil .....</b>	<b>29</b>
<b>4.1 Teil I: 1-MCP-modifizierte Nukleoside zur bioorthogonalen Markierung von DNA</b>	<b>29</b>
<b>4.1.1 Untersuchungen 1-methylcyclopropenmodifizierter Uridin-Derivate.....</b>	<b>29</b>
4.1.1.1 Synthese des dUTPs 12 .....	29
4.1.1.2 Triphosphatsynthese und Primerverlängerung .....	32
4.1.1.3 Einbau- und Markierungsexperimente des entschützten dUTPs 1 .....	38
<b>4.1.2 1-MCP-modifiziertes 7-Deaza-dATP als orthogonaler Baustein .....</b>	<b>42</b>
4.1.2.1 Synthese des 7-Deaza-dATPs 2 .....	42
4.1.2.2 Einbau und Markierung des Deaza-dATPs 2 .....	45
<b>4.1.3 Mehrfachmodifikationen eines DNA-Strangs .....</b>	<b>48</b>
<b>4.1.4 <i>In-vivo</i>-Zellexperimente .....</b>	<b>55</b>

---

4.2 Teil II: Nucleoside mit möglichst kleiner Cyclopropenmodifikation.....	61
4.2.1 Synthesestrategie zum Nucleosid 30.....	61
4.2.2 Synthese des direktverknüpften Nucleosid-Triphosphats 3.....	65
4.2.3 Einbau des minimalmodifizierten dUTPs 3 mittels PEX und iEDDA .....	68
4.3 Teil III: 3-Methylcyclopropen zur photoinduzierten Markierung von DNA .....	75
4.3.1 Synthese des 3-MCP-modifizierten dUTP 4 .....	75
4.3.2 Enzymatischer Einbau des „Photoclick“-Bausteins 4 .....	78
4.3.3 Markierung der 3-MCP-modifizierten DNA .....	80
5. Zusammenfassung und Ausblick.....	87
6. Experimenteller Teil .....	91
6.1 Verwendete Chemikalien und Geräte.....	91
6.1.1 Analytik .....	91
6.1.2 Reagenzien und Präparatives Arbeiten .....	93
6.1.3 Spektroskopische Methoden.....	97
6.1.4 Primerverlängerung und DNA-Markierung.....	98
6.2 Synthesevorschriften und Analytik.....	101
6.3 Enzymatische DNA-Synthese .....	151
6.3.1 Artificielle Nucleosid-Triphosphate.....	151
6.3.2 Durchführung der Primerverlängerung .....	152
6.3.3 Postsynthetische DNA-Markierung .....	156
6.4 <i>In vivo</i> -Zellexperimente.....	157
6.5 Anhang.....	160
7. Abkürzungsverzeichnis .....	173
8. Literaturverzeichnis .....	183
9. Appendix .....	191
10. Ehrenwörtliche Erklärung .....	196