

2. BIOSENSOR SYMPOSIUM

TÜBINGEN 2001

<http://barolo.ipc.uni-tuebingen.de/biosensor2001>

Charakterisierung einer Triazin-Bibliothek mittels markierungsfreier HTS- Reflektometrischen Interferenzspektroskopie.

Oliver Birkert¹, Rolf Tünnemann², Günther Jung², Günter Gauglitz¹

¹ Institut für Physikalische und Theoretische Chemie der Universität Tübingen

² Institut für Organische Chemie der Universität Tübingen

Auf der Morgenstelle 8, D-72076 Tübingen

Tel. 07071-2974667

oliver.birkert@ipc.uni-tuebingen.de www.barolo.ipc.uni-tuebingen.de

Registriernummer der Online-Anmeldung: 148

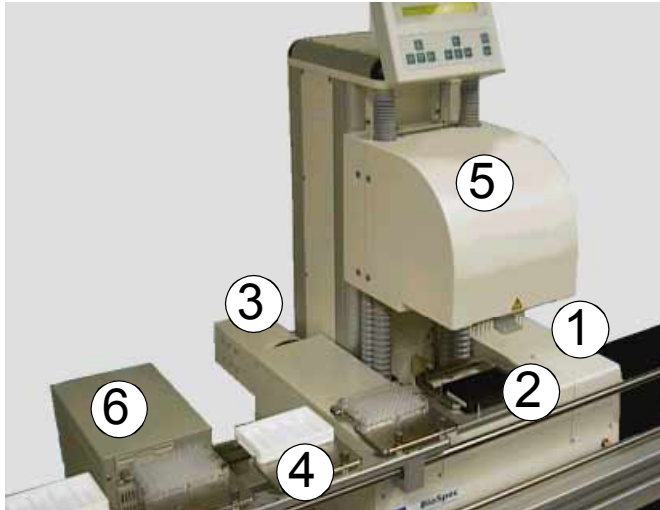
Poster

Mittels kombinatorischer Chemie werden heute große Substanzbibliotheken organischer und bioorganischer Verbindungen hergestellt. Eine der Standardmethoden ist die Synthese an festen Phasen. Beim Screening solcher Bibliotheken auf Aktivität gegenüber einem bestimmten Target bieten solche Verfahren einen Vorteil, die die Aktivitätsbestimmung, direkt an der festen Phase erlauben und somit das aufwendige Abspalten und Aufreinigen der großen Zahl an Einzelsubstanzen von der Festphase ersparen.

Zur Realisierung eines solchen Systems wurde die Festphasensynthese einer Bibliothek in modifizierten Mikrotiterplatten durchgeführt. Die Böden solcher Mikrotiterplatten bestehen aus einer dünnen SiO₂-Schicht, die auf eine Glassubstrat aufgetragen wurde. Eine Modifikation der SiO₂-Schicht mit funktionellen Polymeren und das Einbringen einer Ankergruppe ermöglichen die Festphasensynthese. Darüber hinaus ist die Detektion von biomolekularer Wechselwirkung der fixierten Substanzen mit den zugehörigen Targets mit Hilfe der Reflektometrischen Interferenzspektroskopie von der Plattenunterseite erlaubt. Durch die Polymerschicht wird die zur Testung notwendige Biokompatibilität gewährleistet.

Das Prinzip der Reflektometrische Interferenzspektroskopie (RIfS) [1] basiert auf der Detektion von Weißlichtinterferenz bei Reflektionen an dünnen Schichten auf einem planaren Glatransducer. Aus dem erhaltenen Interferenzmuster lässt sich die optische Schichtdicke der Interferenzschicht berechnen. Durch zeitaufgelöste Messungen können somit Bindungen an diese Schicht in Echtzeit erfasst werden, da diese zu einer Änderung der optischen Schichtdicke und somit zu einer Änderung im registrierten Interferenzspektrum führen.

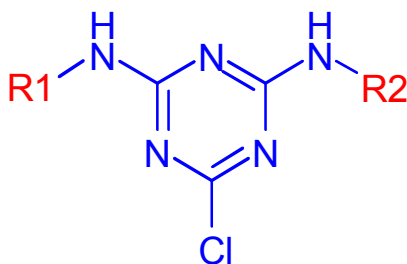
Die Parallelisierung wurde mit Hilfe eines aufgeweiteten, parallelen Lichtstrahls, Interferenzfiltern zur sequenziellen Detektion von ausgesuchten Wellenlängen, einem Transducer in Mikrotiterplattenformat und einer CCD-Kamera als ortsauflösende Detektionseinheit erreicht. Durch das Messen bei sechs unterschiedlichen Wellenlängen kann somit die optische Schichtdickenänderung in allen 96 Wells einer RfS-Mikrotiterplatte simultan mit einer Zeitauflösung von weniger als 20 Sekunden bestimmt werden [2, a].



- 1 Weißlichtquelle mit Filtersystem
- 2 RfS –Mikrotiterplatte
- 3 CCD-Detektionseinheit
- 4 Automatischer Plattentransport
- 5 96-fach Pipettierer
- 6 PC-Ansteuerung

Fig. 1 RfS-Screening-Einheit.

In den 96 Wells einer RfS-Mikrotiterplatte wurde nach einer veränderten Methode von Stankova & Lebl [3] eine Bibliothek von Triazinderivaten synthetisiert. Dabei wurden zwei der im Trichlortriazin vorhandenen Chloratome durch unterschiedliche Reste ersetzt. Einer diese Building Blocks dient dabei gleichzeitig als Ankergruppe. Um die Ergebnisse besser evaluieren zu können, wurde dabei in jeweils zwei Wells dieselbe Substanz synthetisiert. In einigen Wells wurden andere, nicht strukturverwandte Substanzen ebenfalls durch Festphasensynthese synthetisiert.



Diese Bibliothek wurde dann mittels RfS auf Aktivität zu verschiedenen Anti-Triazin-Antikörpern getestet. Unterschiedliche Antikörper zeigten dabei unterschiedlich starke Kreuzreaktivitäten. Für die Antikörper konnten charakteristische Erkennungsmerkmale gefunden werden, die hauptsächlich auf die Größe der Building Blocks zurückzuführen sind.

Fig 2 Aufbau der Bibliothek

Danksagung

Die Arbeiten wurden im Rahmend des Projekts LIBRARIAN II (0310838) durch das BMBF gefördert.

Rolf Tünnemann und Oliver Birkert werden durch das Graduiertenkolleg „Quantitative Analyse und Charakterisierung pharmazeutisch und biochemisch relevanter Substanzen“ der DFG unterstützt.

Literatur

- [1] Schmitt, H-M., Brecht, A., Piehler, J., Gauglitz, G. (1997) *Biosensors Bioelectronics* **12**, 809-816.
- [2] Rothmund, M., Schütz, A., Brecht, A., Gauglitz, G., Berthel, G., Gräfe, D. (1997) *Fresenius J. Anal. Chem.*, **359**, 15ff
- [3] Stankova, M., Lebl, M. (1996) *Mol. Div.* **2**, 75-80.

- [a] <http://barolo.ipc.uni-tuebingen.de/projects/librarian/>