

Electrochemical Hybridization Assay for DNA and Asymmetric PCR Products Detection by Labeling with Osmium Tetroxide

This thesis describes the hybridization assay on gold electrodes for electrochemical detection of DNA and polymerase chain reaction (PCR) products by means of the electrochemically active compound osmium tetroxide bipyridine. Single base mismatches introduced to the capture probe section, or the reporter strand section or both, can be discriminated for their different thermal behavior. For the first time, our approach of protective strand has been applied to produce osmium tetroxide-labeled reporter strands. We further optimized protective-strand design, surface-probe density, and hybridization temperature so that we are able to attain a sensitive, fast electrochemical DNA sequence detection assay that does not require high hybridization temperatures. Furthermore, we also investigated how to obtain osmium tetroxide complex-labeled single stranded DNA targets from asymmetric PCR after labeling forward primer with osmium tetroxide compound for electrochemical detection.

Diese Arbeit beschreibt ein Hybridisierungssassay für die elektrochemische Detektion von DNA und PCR-Produkten auf Goldelektroden. Als elektrochemisch aktive Komponente wurde Osmiumtetroxid bipyridin verwendet. Einzelbasenfehlpaarungen an der Einfangsonde, dem Reporterstrang oder ggf beiden, konnte aufgrund des unterschiedlichen thermischen Verhaltens beider ausgeschlossen werden. Zum ersten Mal wurde unser Ansatz eines Schutzstrangs angewendet, um Osmiumtetroxid gelabelte Reporterstränge zu synthetisieren. Wir haben weiterhin den Schutzstran-Design, die Oberflächen zu Probe Dichte und die Hybridisierungstemperatur optimiert, sodass wir im Stande waren, schnelle und sensitive elektrochemische DNA-Sequenz Erkennungssassays durchzuführen, welche keine hohen Hybridisierungstemperaturen benötigten. Weiterhin haben wir die Synthese von Osmiumtetroxid gelabelten Einzestrand-DNA, duchr asymmetrische PCR untersucht. Hierbei wurden die Vorwärts-Primer im Vorfeld, für die elektrochemische Detektion mit Osmiumtetroxid gelabelt.