



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TRIESTE

P.le Europa, 1 – I-34127 – TRIESTE

XIX CICLO DEL
DOTTORATO DI RICERCA IN
NANOTECNOLOGIE

**EFFETTI DI AFFOLLAMENTO SU REAZIONI
BIOCHIMICHE DI DNA IMMOBILIZZATO SU
SUPERFICI**

DOTTORANDO
MATTEO CASTRONOVO

COORDINATORE DEL COLLEGIO DEI DOCENTI
CHIAR.MO PROF. **MAURIZIO FERMEGLIA**,
(UNIVERSITÀ DI TRIESTE)

TUTOR
CHIAR.MO PROF. **GIACINTO SCOLES**

RELATORE
DOTT.SSA. **LOREDANA CASALIS**

Aprile 2008

Sommario

Dagli array di nuova generazione atti alla detection di DNA ci si aspetta il raggiungimento di sensibilità elevatissime, assieme ad una drastica diminuzione delle minime quantità di materiale genetico necessario per eseguire misure dirette (ovvero senza bisogno di ricorrere alla PCR e a marcatori), fino a raggiungere il limite di singole cellule. Per raggiungere questi obiettivi noi proponiamo una nuova strategia di fabbricazione per la miniaturizzazione di array di DNA alle nanoscale, che permette altresì il controllo della qualità di impacchettamento delle bio-molecole depositate.

Ci siamo serviti del *NanoGrafting*, una tecnica di nano-litografia basata sulla microscopia a forza atomica (AFM), per fabbricare nanopatches molto ordinati di molecole di DNA a singolo filamento [(ss)-DNA] funzionalizzate con tioli, dentro monostrati auto-assemblati (self-assembled monolayer - SAM) di tioli inerti sopra a superfici d'oro. Mediante la modulazione di un parametro fabbricativo (o di scrittura), in particolare il numero di linee di scansione, siamo riusciti a variare controllatamente la densità delle molecole di DNA depositate. I nostri risultati possono essere riassunti con i seguenti due punti:

- 1) Combinando misure accurate di altezza e compressibilità, prima e dopo l'ibridizzazione, abbiamo dimostrato che patches di DNA *nanograftati* ad alte densità si ibridizzano con alta efficienza, e che, contrariamente a quanto asserito dalla

letteratura corrente, non è la densità delle molecole di DNA sonda a far diminuire drasticamente la loro efficienza di ibridizzazione nel caso di monostrati di DNA auto-assemblati, bensì la loro bassa qualità in termini di regolarità strutturale.

2) Reazioni enzimatiche di restrizione Dpn II sono state svolte sopra a nanopatches di DNA al variare della loro densità e della loro forma geometrica planare. Mediante la misura dell'altezza dei nanopatches siamo riusciti a dimostrare che la capacità degli enzimi Dpn II di legarsi e reagire sui siti di riconoscimento specifici delle molecole di DNA dipende significativamente dalla densità molecolare dei nanopatches. In particolare l'inibizione della reazione segue un andamento a gradino in corrispondenza di valori di densità nei patches relativamente bassi. Tali risultati suggeriscono che, a causa delle dimensioni degli enzimi, sia possibile regolare l'efficienza delle reazioni enzimatiche dentro nanostrutture di DNA, immobilizzate su superfici, solamente variando la densità molecolare del DNA sulla superficie senza il bisogno di introdurre alcuna ulteriore variabile fisica o chimica nel sistema.