

Candidata: Costanza Bencivenni

Titolo elaborato: Utilizzo di nanostrutture d'oro per il miglioramento di prestazioni analitiche di un biosensore di risonanza dei plasmoni di superficie imaging (SPRi)

Relatore: Maria Minunni (maria.minunni@unifi.it)

Correlatore: Simona Scarano (simona.scarano@unifi.it)

Lo scopo di questo lavoro è stato ricercare l'aumento di sensibilità in sensori a DNA con trasduzione SPR per immagini (SPRi), attraverso l'utilizzo di nanoparticelle d'oro a forma di stella (*nanostar*, *Ns*).

In particolare volevamo verificare se l'accoppiamento ottico tra plasmoni superficiali della superficie d'oro del chip e campo elettromagnetico dei plasmoni localizzati delle nanostar, comportasse un aumento delle performance analitiche dello strumento in termini di sensibilità.

Quindi, le Au Ns sono state impiegate sia nella nanostrutturazione della superficie d'oro del biochip, sia all'interno di architetture molecolari (come amplificatore di segnale).

Durante la nanostrutturazione del chip sono stati ottimizzati vari passaggi come: metodi di purificazione delle Ns (cicli di centrifugazione) e quantità di Ns da immobilizzare ed il trattamento per evitare eventuali aggregazioni sulla superficie. Come risultato è stato verificato che con nanostar purificate con un solo ciclo di lavaggio e immobilizzate (diluizione 1/5) con sonda ha fornito il miglior aumento di segnale. Questo equivale ad un accrescimento di sensibilità in saggi di ibridazione DNA-DNA rispetto alla sonda immobilizzata direttamente sulla superficie d'oro del chip e ad un abbassamento del limite di rilevabilità dello strumento per iniezione di target complementare da 10 nM a 5 nM.

Per quanto riguarda l'uso di Au nanostar in architetture molecolari si è ottimizzata la quantità di nanoparticelle con cui funzionalizzare il probe molecolare, le tecniche per rigenerare il chip.

Questo approccio ha fornito un elevato aumento di segnale per funzionalizzazione di target complementare con nanostar a concentrazione 250 nM diluite 1/1000 nella soluzione; tuttavia è stata osservata una risposta aspecifica su una sonda di controllo. La riduzione della risposta aspecifica è tuttora in fase di ottimizzazione, attraverso l'utilizzo di agenti che aumentino la stringenza del riconoscimento molecolare e la modulazione dei flussi di lavoro.