Arany nanorészecskéken immobilizált DNS origami vizsgálata plazmon által felerősített fluoreszcenciával

Gold Nanoparticle-Assisted Fluorescence Analysis of Surface-Bound DNA Origami

Tímea GERZSENYI[1], Duncan SUTHERLAND[2]

[1] Higher Education and Industrial Cooperation Center, University of Miskolc, Miskolc 3515, Hungary, timea.gerzsenyi@uni-miskolc.hu

[2] Interdisciplinary Nanoscience Center, Aarhus University, Aarhus C 8000, Denmark

ABSTRACT

Biological materials in living systems assemble in a bottom-up manner, guided by the molecular information encoded within biomolecules. This intrinsic programming drives not only self-assembly but also the hierarchical organization of increasingly complex structures, achieving near-atomic precision across length scales from the nanometer to the macroscopic. In contrast, *in vitro* fabrication of 3D nanostructures has generally lacked comparable precision and controllability. In the present study, we investigated the assembly of single-stranded DNA molecules immobilized on gold nanoparticle surfaces to form DNA origami structures. The hybridization of complementary DNA strands was facilitated using a freeze–thaw annealing method. We evaluated the binding efficiency of complementary strands introduced at various time points to functionalized nanoparticles. The final structural component was a short, fluorophore-labeled ssDNA comprising only a few nucleotides. The transient binding events of this labelled strand were monitored using total internal reflection fluorescence (TIRF) microscopy. Gold nanoparticles played a significant role due to their localized surface plasmon resonance (LSPR), which significantly enhanced the fluorescent signal (plasmons-enhanced fluorescence) enabling single-molecule resolution in the detection of DNA binding events on individual particles. Data analysis was conducted using Plasmon software in conjunction with custom MATLAB scripts. This approach holds promise for biosensor development, especially for detecting specific DNA sequences in diagnostic platforms. It also enables real-time analysis molecular interactions, including drug-target binding events. This work establishes a versatile platform for the study of molecular recognition, with potential implications for drug delivery, diagnostics and nanotherapeutics.

Keywords: DNA origami, TIRF, qPAINT

ÖSSZEFOGLALÓ

A biológiai anyagok az élő sejtekben alulról felfelé épülnek fel. A biomolekulákba kódolt információt arra használják, hogy irányítsák saját önszerveződésüket, valamint a nagyobb komplexek hierarchikus kialakulását, miközben közel atomi pontosságot tartanak fenn a nanométeres mérettartománytól egészen a makroszkopikus skáláig. Ezzel szemben a 3D szerkezetek *in vitro* előállítása nanométeres méretig általában nem rendelkezett ilyen pontossággal és irányíthatósággal. Ezen kutatás során arany nanorészecskék felületén immobilizált, szimplaszálú DNS molekulákból álló összerendeződést (DNS origami) vizsgáltunk. A komplementer molekulák összekapcsolására fagyasztás-olvasztásos technikát alkalmaztunk. Összehasonlítottuk a funkcionalizált nanorészecskékhez különböző időpontokban hozzáadott komplementer DNS kötődési hatékonyságát. A DNS molekulákból álló struktúra utolsóként hozzáadott, csupán néhány nukleotidból álló kapcsolódási ssDNS-e fluoreszcens festéket hordozott. Ezen jelölt molekula tranziens kötődését vizsgáltuk teljes belső visszaverődésen (TIRF) alapuló fluoreszcens mikroszkóppal. Az arany nanorészecskék szerepe azért jelentős, mert az arany plazmonja felerősíti a fluoreszcens jelet (plasmon enhanced fluorescence), ezáltal

az egy részecskére eső DNS-bekötődés egymolekula szintjén figyelhető meg. Az adatok kiértékeléséhez Plasmon szoftvert és MATLAB programozást használtunk. A nanorészecskék ismert méretűek, így a mikroszkópos eredmények alapján megállapítható, hogy egy nanorészecske felületén milyen sűrűséggel helyezkednek el a DNS összerendeződések. A módszer alkalmazható bioszenzorok fejlesztésére, például az egyedi DNS szekvenciák felismerését lehetővé tevő rendszer kiválóan használható nukleinsav-alapú diagnosztikai eszközökben. Ezen felül a módszer alkalmas molekuláris kölcsönhatások valós idejű vizsgálatára, ideális gyógyszermolekula és célpont (pl. DNS vagy fehérje) közötti kötődések elemzésére. A DNS origami technika és a precíz immobilizálás révén létrehozhatók funkcionalizált nanostruktúrák, amelyeket akár vezérelt hatóanyag-felszabadításra is fel lehet használni a gyógyszeradagolásban.

Kulcsszavak: DNS origami, TIRF, qPAINT