



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI
DI GENOVA

Laboratorio di Biofisica Medica - DISC

Responsabile: Prof. Roberto Eggenhöffner

mail roberto.eggenhoffner@unige.it

Tel. 010 353 38219

Corso Europa, 30 - 16132 Genova

www.disc.unige.it

Competenze della Sezione di Biofisica

La Sezione di Biofisica del Dipartimento di Scienze Chirurgiche e diagnostiche integrate (DISC) è impegnata nella ricerca sulle nanotecnologie biofisiche e sullo sviluppo di biosensori, da anni si occupa anche della preparazione e della caratterizzazione di superfici con porosità su scala nanometrica e submicrometrica, con particolare riferimento all'Allumina Porosa ed ai Nanotubi di Titanio per lo sviluppo di nuovi materiali per applicazioni mediche ed odontoiatriche. La Sezione inoltre si è già ampiamente occupata di studi relativi l'impiego e della tecnologia dei microarray e dei NPPA Protein Array nell'ambito del finanziamento FISR (Fondo Integrativo Speciale per la Ricerca) del MIUR sulle Nanotecnologie del DNA. L'applicazione di sensori biologici basati in particolare su voltammetria ciclica ad alta sensibilità per la determinazione di parametri fisiologici rilevanti per la salute dell'uomo.

Biosensori

Un biosensore costituisce un dispositivo composito che combina elementi biologici all'interno di una sezione chimico-fisica. La rilevanza scientifica ed applicativa è dovuta all'alta selettività della risposta biologica; alla versatilità delle apparecchiature chimico-fisiche ed alla possibilità di miniaturizzare la strumentazione. I biosensori sono sinteticamente classificati come *label* o *label-free*. Le tecniche "label" rilevano la variazione della fluorescenza; il segnale ottico viene rilevato anche in piccoli campioni o tracce a seguito di processi biochimici che degradano il materiale biologico in esame. Le tecniche "label-free" presentano per lo più minori inconvenienti di questa natura.

Biosensori elettrochimici

I sensori elettrochimici forniscono una tecnica molto interessante data la conversione diretta di una interazione biologica in un segnale elettrico, facilmente convertito tramite l'elettronica di acquisizione e anche data la capacità dei processi elettrochimici di sfruttare la specificità biologica.

Un sensore elettrochimico si realizza con la disposizione di tre elettrodi su un substrato: un elettrodo di riferimento, un elettrodo di lavoro ed un contro elettrodo. La corrente elettrica, proporzionale alla concentrazione dell'analita, è misurata ad un potenziale fisso o il potenziale può essere misurato in assenza di corrente per avere un segnale specifico dell'energetica delle interazioni biochimiche.

La voltammetria ciclica comprende i vantaggi di entrambe le misurazioni elettrochimiche indipendenti. I biosensori elettrochimici sono normalmente basati sulla catalisi enzimatica di una reazione che produce o consuma elettroni (tali enzimi vengono chiamati enzimi redox). Il biosensore elettrochimico ottimizza le proprietà e le caratteristiche della risposta amperometrica nella voltammetria ciclica, poiché ha una migliore specificità per quanto riguarda l'interazione degli enzimi con gli OP in risposta alla dipendenza della corrente dal potenziale elettrochimico.

Biosensore a QCM

Il biosensore a QCM si avvale della funzionalizzazione ottimale della superficiale del trasduttore per dare luogo ad un immunosensore. In particolare, gli anticorpi anti-lievito vengono immobilizzati sulla superficie del trasduttore QCM con un procedimento chimico appositamente progettato per orientare gli anticorpi. Brevemente, la proteina A (o G), contrassegnata con una singola coda di istidina ad un terminale della proteina, costituisce uno specifico strato orientante di un (sub) monostrato di IgG (specifico contro antigeni di lievito in superficie), in virtù della sua specificità nel legare i frammenti Fc di IgG. La densità di anticorpi in superficie è ottimizzata al fine di massimizzare l'efficienza nel legare il lievito. L'ottimizzazione è effettuata miscelando in opportune quantità relative la IgG con frammenti di Fc. La superficie biofunzionalizzata viene ulteriormente affinata al fine di respingere i segnali falsi positivi così come il fisisorbimento di impurezze e altri eventi non specifici attraverso la passivazione dei siti di fisisorbimento con polimeri di PEG. I campioni devono essere diluiti in una soluzione acquosa tampone e flussati ed esposti alla superficie del biosensore funzionalizzato per l'immediata lettura.

Progetti vinti

- ▶ Ricerca Corrente 2015 Titolo progetto “Cellule staminali: nuovi strumenti in applicazioni cliniche”
- ▶ Zuccato Titolo progetto “Wiring microorganisms: affecting the genetic fate of facultative photosynthetic bacteria by direct electrochemistry”
- ▶ ERA-NET 2016 SusAn (HORIZON 2020) Titolo progetto “New Indicators And On-Farm Practices To Improve Honeybee Health In The Aethina Tumida Era In Europe” finanziato per complessivi € 693.000 in 36 mesi. La Sezione di Biofisica è impegnata allo sviluppo dei biosensori utilizzati dai 7 partners europei ed è consorziata nel progetto con l’Istituto Zooprofilattico del Lazio e della Toscana.
- ▶ Progetto CRT finanziato dalla Cassa di Risparmio di Torino dal titolo «Biomarkers per il contrasto alla moria delle api in Piemonte»
- ▶ Ricerca Corrente 2017 Titolo progetto «Tecnologie Innovative nella Terapia Rigenerativa: Cellule Staminali e Scaffold in Ortopedia Veterinaria»
- ▶ Ricerca Corrente 2018 Titolo progetto «Sviluppo di un protocollo diagnostico per verificare la correlazione tra l’uso di fitofarmaci previsti in viticoltura e la salute delle api mediante l’utilizzo di un nuovo biomarker.»

Attività

- ▶ Studio bioinformatico per l'individuazione di materiale genetico (vettori) idonei per l'immortalizzazione e la riprogrammazione cellulare
- ▶ Produzione di vettori specifici
- ▶ Estrazione e purificazione dei vettori
- ▶ Collaborazione allo sviluppo di protocolli di immortalizzazione e riprogrammazione cellulare
- ▶ Verifica con metodiche molecolari la presenza degli eventi di transfezione nelle cellule transfettate
- ▶ Verifica della specificità e sensibilità dei protocolli selezionati
- ▶ Estrazione RNA e DNA per specifici saggi molecolari.
- ▶ Studio dei target di Lateral Flow, RT-PCR, rRT-PCR Real Time
- ▶ Ricerca neonicotinoidi, piretroidi e pesticidi fosforati tramite biosensori
- ▶ Ricerca di biomarcatori specifici

Collaborazioni

- Istituto Zooprofilattico del Lazio e della Toscana (IZSLT) con sede a Roma
- Istituto Zooprofilattico del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta con sede Genova
- Istituto Zooprofilattico del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta con sede Asti
- Industria Zuccato
- Istituto di Biofisica del CNR in Genova