

**Corso di Laurea in Tecniche della Prevenzione
nell'ambiente e nei luoghi di lavoro**

Anno Accademico 2006-2007

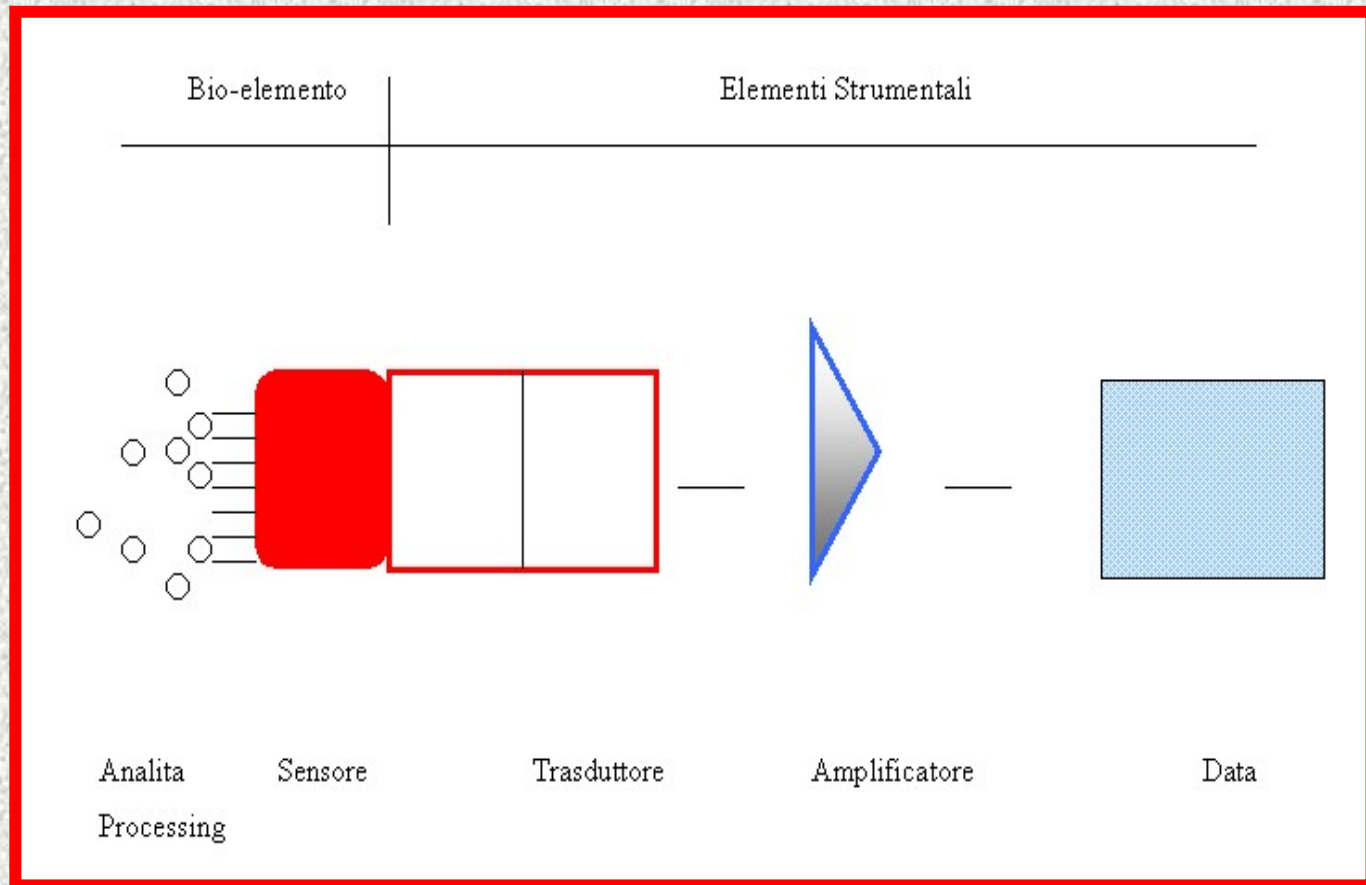
Lezione del 29 marzo 2007, ore 15:00

*Prospettive dello sviluppo dei Biosensori
per il monitoraggio di agenti chimici
e biologici nell'ambito della sicurezza ambientale ed
occupazionale*

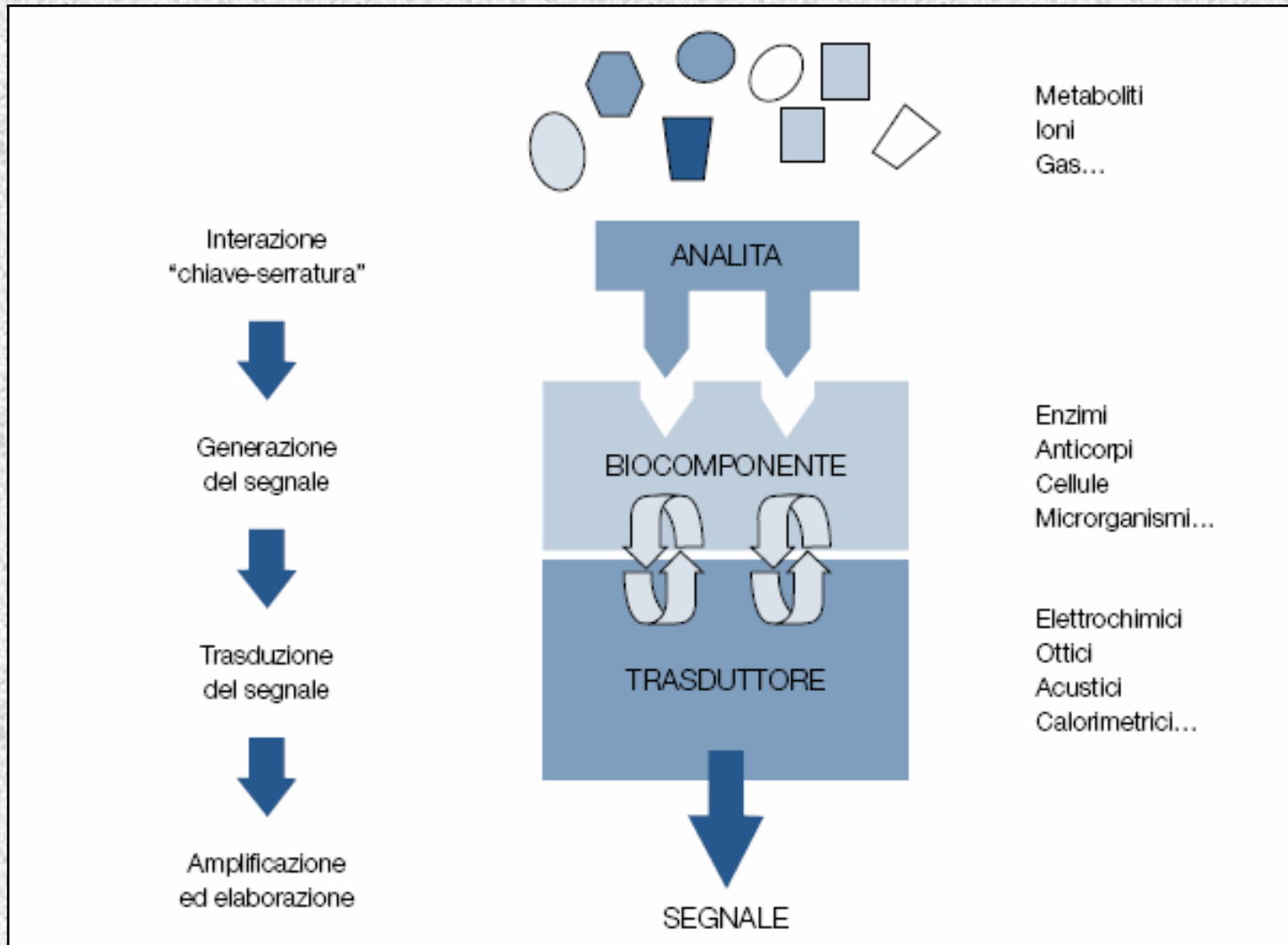
Dr. Lucia Mosiello

definizione di un biosensore

Un biosensore è uno strumento analitico in grado di convertire **un'attività biologica in un segnale quantificabile** di tipo elettrochimico, ottico o acustico, mediante la stretta integrazione dell'elemento biologico sensibile (anticorpi, enzimi, DNA o cellule intere) ad un sistema strumentale di trasduzione del segnale e di analisi dei dati (Turner)



funzionamento di un biosensore



componenti di un biosensore

componente biologica o biosensibile

**Anticorpi
Enzimi
Cellule
Tessuti
DNA**

sistemi di trasduzione

**Elettrochimici
Ottici
Microgravimetrici
Acustici**

possibili associazioni componente biologica/trasduttore

Componenti biologiche	Trasduttori
Cofattori	Ottici
Anticorpi	Fluorescenza
Recettori	Assorbanza
Enzimi	Elettrochimici
Sistemi enzimatici	Amperometria
Membrane Organelli	Potenziometria
Cellule	Conduttimetria
Tessuti	Piezoelettrici
Organismi	Calorimetrici
DNA	Acustici
	Meccanici

Tabella II - Trasduttori utilizzati dai biosensori

Sistemi di trasduzione	Metodo di misura	Applicazioni tipiche
1. Elettrochimici		
a. conduttimetrico	Conduttanza	Reazione della catalisi enzimatica
b. elettrodi enzimatici	Amperometria	Substrati enzimatici e sistema immunologico (Anticorpo-Antigene)
c. transistor a campo elettrico (FET)	Potenziometria	Ioni, gas, substrati enzimatici e antigeni
d. elettrodi a selezione di ioni	Potenziometria	Ioni in terreni biologici, elettrodi a enzima, immunoelettrodi
e. elettrodi gas -sensibili	Potenziometria	Gas, enzimi, organelli, cellule o elettrodi a tessuti, immunoelettrodi a enzimi
f. impedimetrico	Impedenziometria	Immunosensori a enzimi
2. Cristallo piezo-elettrico	Cambiamento della massa	Gas volatili o vapori e antigeni, DNA
3. Optoelettronici, fibre ottiche	Ottico	pH, substrati enzimatici, antigeni, DNA
4. Termistori diodi	Termometria/Calorimetria	Enzimi organelli cellule intere o tessutiensensori per substrato gas antibiotici pollutant vitamine immunologici analiti

Principali caratteristiche ricercate per la realizzazione di un biosensore che lo rendono interessante per applicazioni di prevenzione e sicurezza

Aspetti analitici

alta sensibilità, stabilità, alta selettività, rapidità nell'analisi

Aspetti chimici

rivelazione di basse concentrazione di analita, ridotto pre-trattamento dei campioni

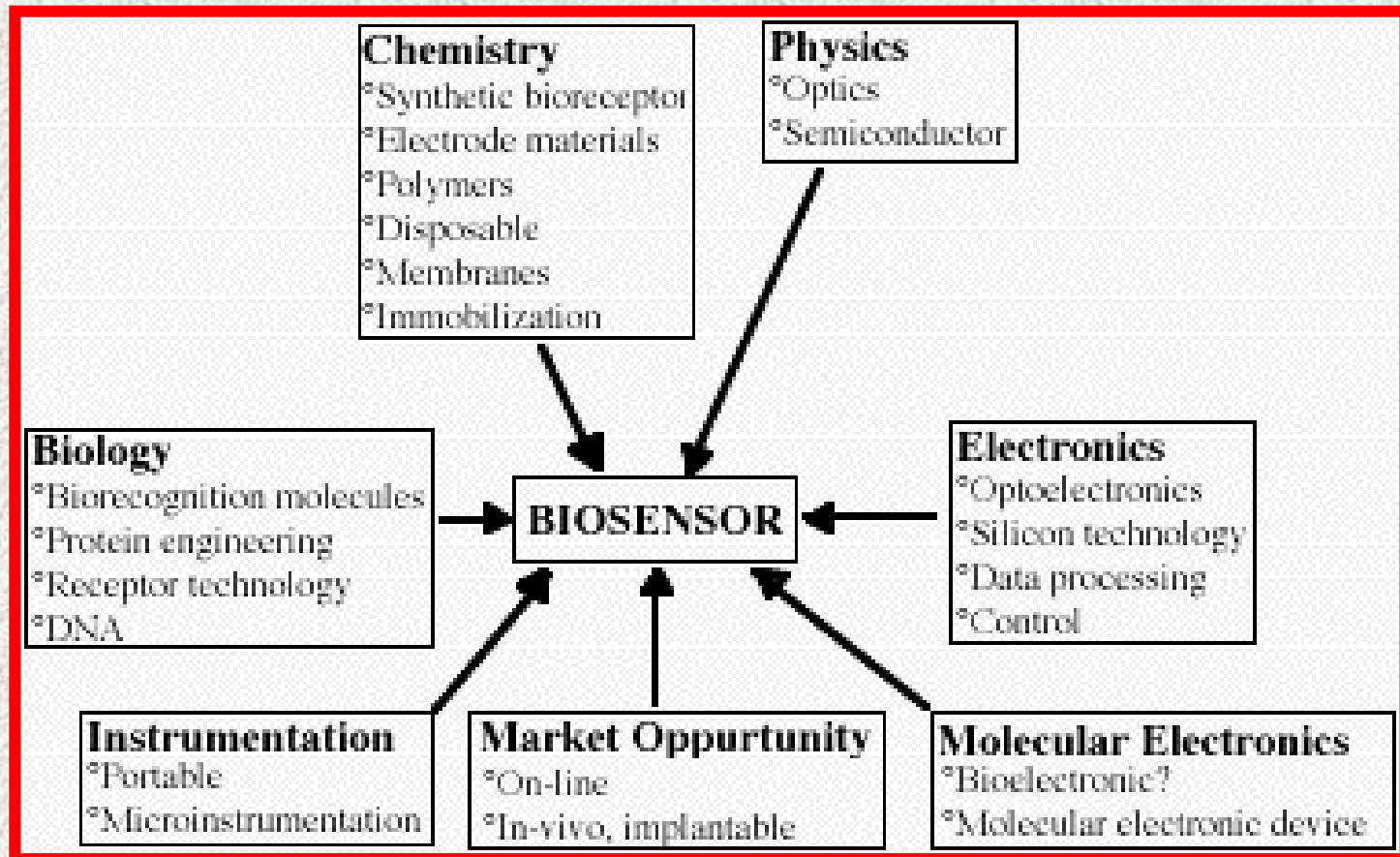
Aspetti fisici

dimensioni ridotte o miniaturizzate, portabilità, economicità, facilità di utilizzo

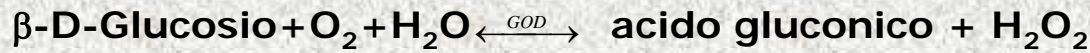
svantaggi

- **bassa stabilità dell'elemento biologico in misure ripetute**
- **possono essere soggetti ad interferenze e a contaminazioni**
- **(a volte) costi elevati**

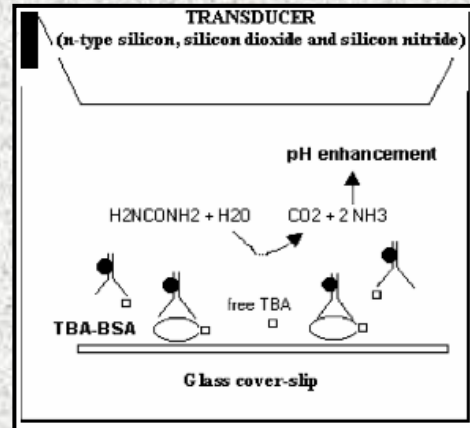
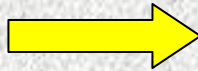
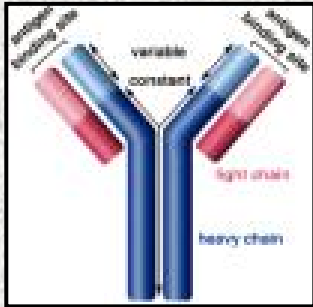
Competenze necessarie per lo sviluppo dei biosensori



biosensori enzimatici

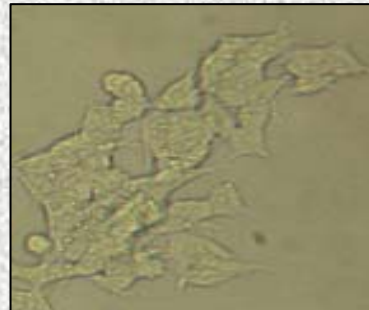


biosensori immunologici



biosensori cellulari

acidificazione del
mezzo extracellulare



il biosensore per la determinazione plasmatica del glucosio

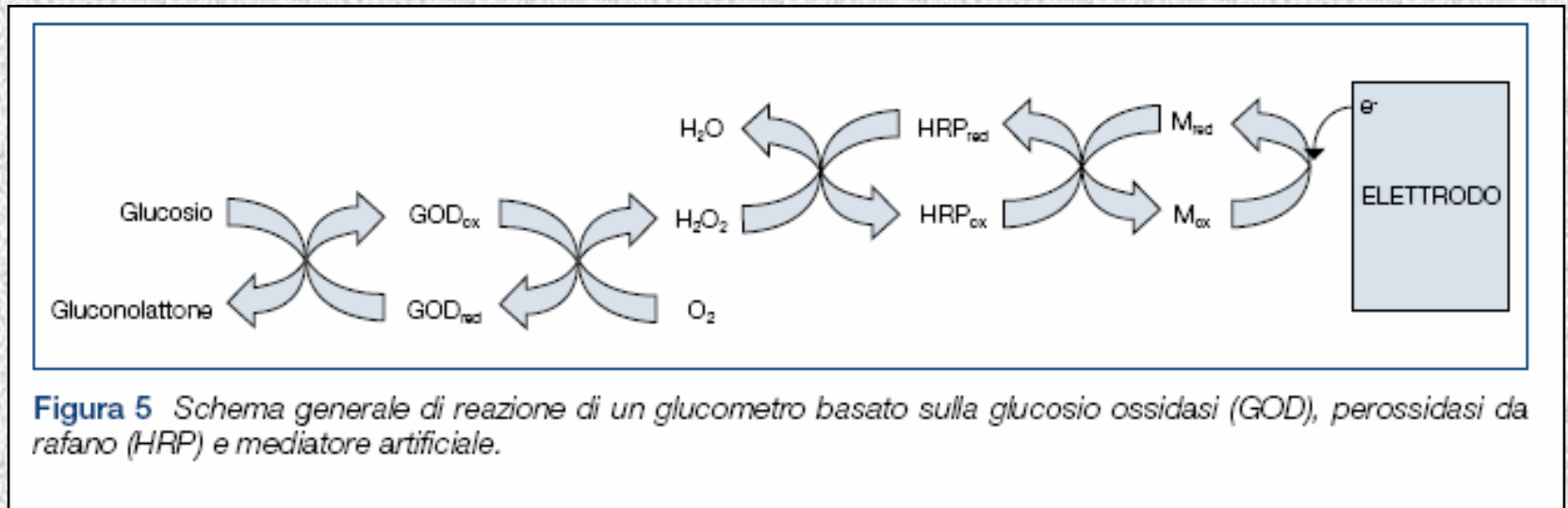


Figura 5 Schema generale di reazione di un glucometro basato sulla glucosio ossidasi (GOD), perossidasi da rafano (HRP) e mediatore artificiale.

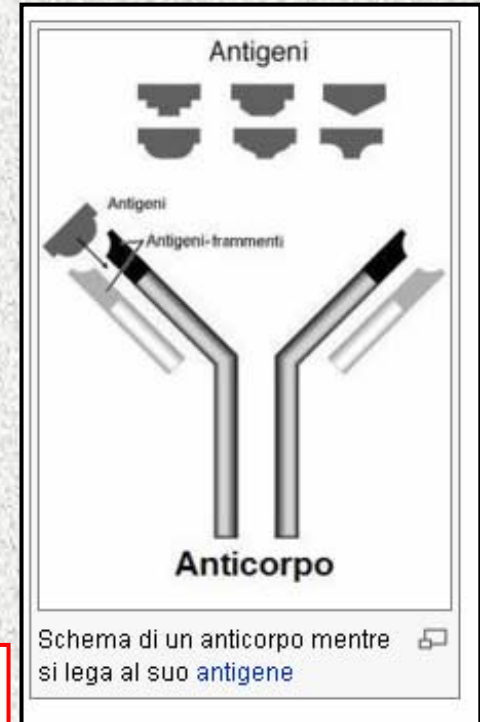
Il principio su cui si basa la misura dei più comuni biosensori elettrochimici (glucometro per diabetici) presenti in commercio consiste nella quantificazione della corrente generata in conseguenza di un evento biologico, una reazione enzimatica ossidativa che risulta proporzionale alla concentrazione del glucosio nel fluido analizzato.

caratteristiche generali degli anticorpi (immunoglobuline)

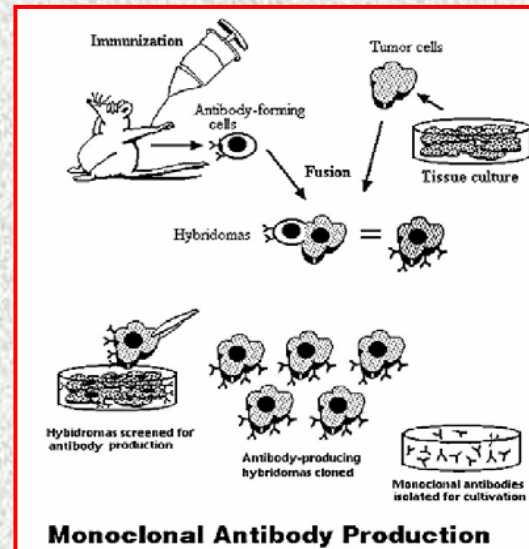
Gli anticorpi o immunoglobuline sono una classe di glicoproteine del siero, il cui ruolo nella risposta immunitaria specifica è di enorme importanza.

Vengono prodotti dai linfociti B degli organismi a sangue caldo quando l'organismo viene a contatto con batteri, tossine o qualunque macromolecola estranea (antigeni).

Essi hanno la capacità di legarsi in maniera specifica agli antigeni.



E' possibile tramite fare produrre anticorpi in vitro da colture cellulari (tecnologia degli ibridomi)
ANTICORPI MONOCLONALI

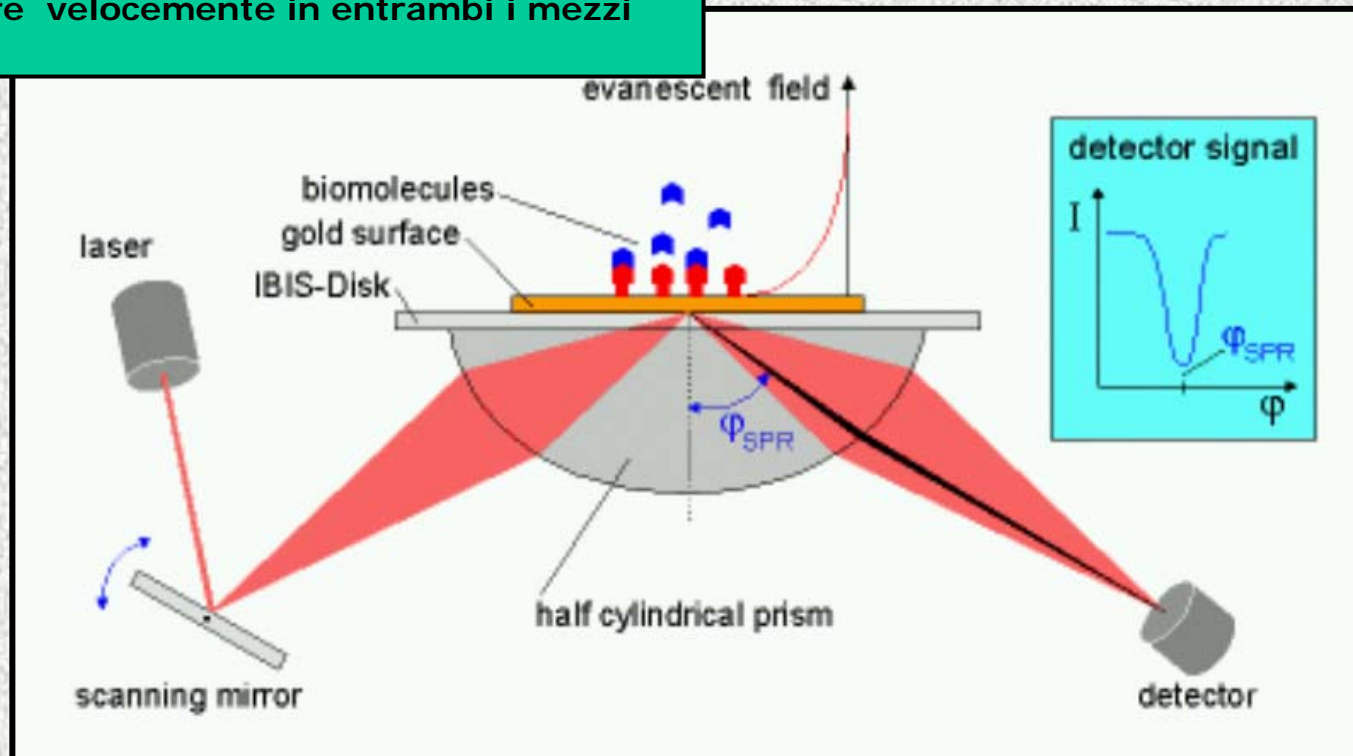


biosensori ottici SPR

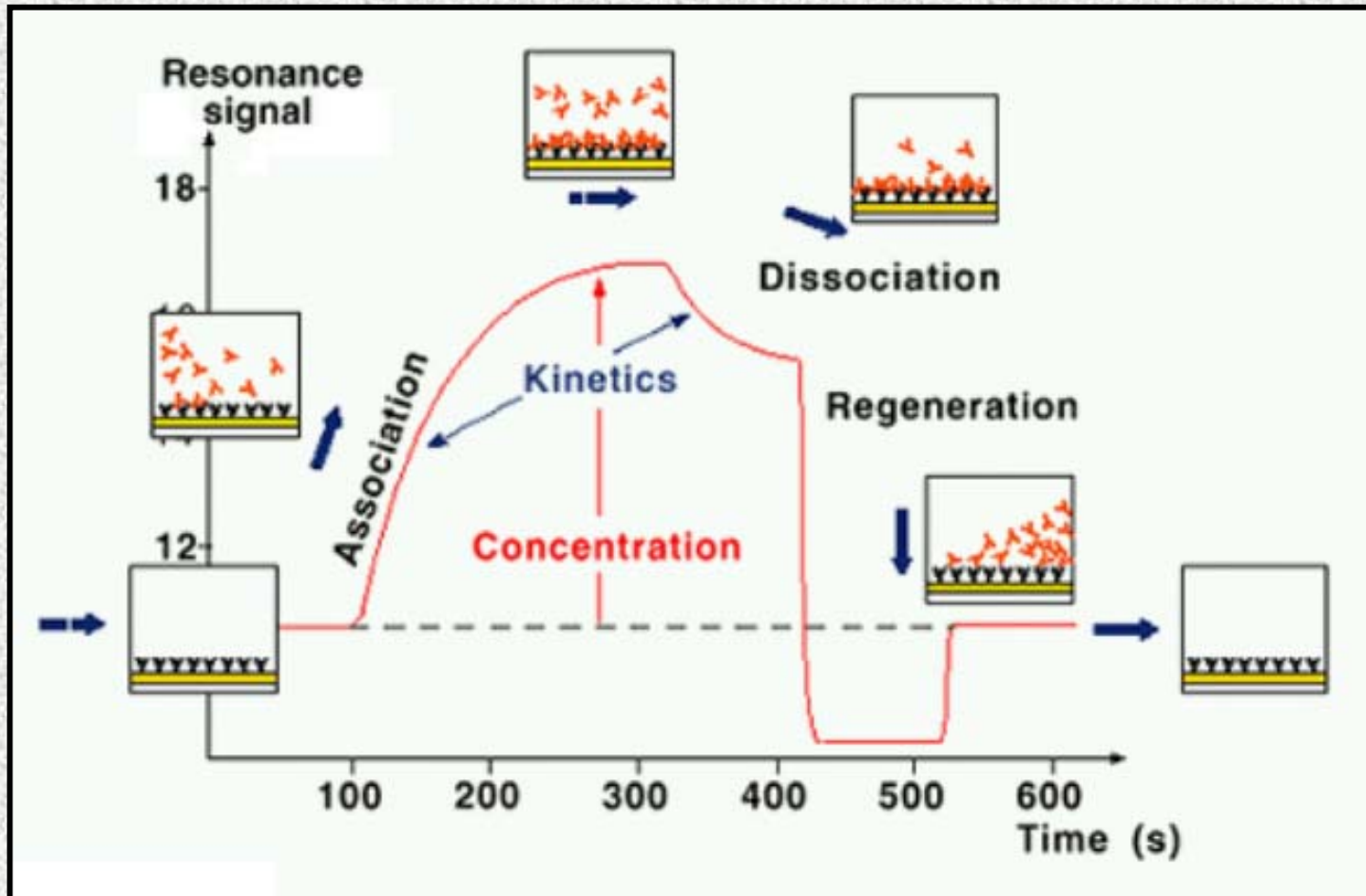
La risonanza plasmonica superficiale (SPR) è una oscillazione della densità di carica che può aver luogo all'interfaccia tra due mezzi con costanti dielettriche di segno opposto, come ad esempio, un metallo ed un dielettrico (materiale caratterizzato da una conducibilità elettrica molto bassa e perciò usato come isolante elettrico).

DEFINIZIONE DI ONDA EVANESCENTE:

L'onda di densità di carica associata con un'onda elettromagnetica, i cui vettori di campo raggiungono il massimo all'interfaccia di due mezzi dielettrici, per poi decadere e svanire velocemente in entrambi i mezzi ("evanescente").



sensorgramma ottenuto da un biosensore SPR



I principali vantaggi legati all'eventuale disponibilità di biosensori per il monitoraggio (in aria) di specifici inquinanti di interesse occupazionale consistono principalmente in:

- possibilità di registrazione in continuo dei livelli di un inquinante, bypassando in tal modo la necessità di effettuare stime puntuali e ripetute, con fase di prelievo, trasporto in laboratorio, esecuzione dell'analisi ed elaborazione grafica dei risultati;
- dimensioni e peso ridotto, con possibilità per il biosensore di essere indossato dallo stesso lavoratore durante l'espletamento della propria mansione;
- possibilità di abbinare il biosensore ad un trasmettitore miniaturizzato per la lettura dei dati a distanza;
- valutazione individuale dell'esposizione più accurata.

aspetti da risolvere: un problema importante legato alla rilevazione e alla misura di sostanze in aria è costituito **dalla necessità di trasferire preliminarmente l'analita dal mezzo aereo in fase liquida**, poiché è solo in questa fase che l'elemento biologico sensibile può legarsi all'analita.

conclusioni

i biosensori sono strumenti estremamente versatili e possono essere proposti come sistemi analitici per la determinazione di molti composti, soprattutto per la velocità nella risposta analitica, la possibilità di effettuare dosaggi on line, la miniaturizzazione e trasportabilità del sistema

tuttavia l'impiego dei biosensori nel settore della sicurezza occupazionale non può al momento essere ipotizzato come sostitutivo delle attuali metodiche di campionamento ed analisi degli inquinanti chimici e biologici, ma come complementare ad essi.