

A1 Titolo dell'attività di ricerca

Biosensori piezoelettrici, ottici e elettrochimici per contaminanti organici e batteri

A2 Responsabile

(aggiungere eventuale referente del Dipartimento se il Responsabile non è un afferente ad esso)

Responsabile: Raffaele Velotta

A3 Personale Dipartimento di Fisica (Professori e Ricercatori)

Prof. Ordinari: Raffaele Velotta

A4 Collaborazioni con altri enti

- CNR-IMM
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale per il Mezzogiorno (Portici)
- Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria – CREA (Caserta e Pontecagnano)
- Institute of Complex Systems, Juelich Forschungszentrum

A5 Personale strutturato ricercatore o tecnologo altri enti convenzionati

A6 Altro personale di ricerca (Assegnisti, Borsisti)

Assegnisti: Bartolomeo Della Ventura

Borsisti Post-doc: Riccardo Funari

A7 Dottorandi di Ricerca

- Chiara Schiattarella
- Martina Cimafonte (dottorato in biotecnologie)

B1 Breve descrizione della linea di ricerca

(max 1000 caratteri)

Questa linea di ricerca è nata sulla base di un risultato ottenuto nel 2011 con il quale abbiamo dimostrato che anticorpi pre-irraggiati con radiazione UV (258 nm) al femtosecondo tendono, quando posti successivamente a contatto con superfici d'oro, a depositarsi su queste "funzionalizzandole". In altri termini, gli anticorpi si legano alla superficie rendendola capace di interagire solo con gli antigeni riconosciuti dagli anticorpi. Questa tecnica di funzionalizzazione, che abbiamo denominato PIT (Photonic Immobilization Technique) ha il vantaggio di essere veloce, semplice e riproducibile al contrario di procedure che coinvolgono proteine intermedie e reazioni chimiche che richiedono lunghi tempi di incubazione. Sebbene la nostra ricerca si sia principalmente concentrata finora all'applicazione della PIT alla microbilance a cristalli di quarzo (QCM), poiché le superfici d'oro sono presenti in molti altri trasduttori, questa tecnica è potenzialmente interessante in moltissime tecniche di biosensing come la Surface Plasmon Resonance (SPR) e i sensori elettrochimici.

B2 Descrizione attività svolta nel triennio 2014-2016

(max 2000 caratteri)

Affinché un anticorpo (immunoglobulina) funzionalizzi in modo corretto una superficie d'oro è necessario non solo che si legni covalentemente alla superficie, ma anche che la sua orientazione sia tale che almeno una delle due regioni "variabili" (cioè la parte dell'anticorpo in grado di riconoscere l'antigene) sia esposta. Ciò può essere realizzato dalla PIT che si basa su un meccanismo molecolare nel quale un triptofano (Trp) eccitato dall'assorbimento di un fotone UV, trasferisce un elettrone alla coppia cisteina-cisteina (Cys-Cys), la quale "si apre" lasciando libero un residuo di tiolo che si lega covalentemente all'oro. La triade è localizzata in particolari zone della macromolecola così che il tiolo prodotto si lega all'oro in modo da ancorare l'anticorpo alla superficie d'oro con la regione variabile esposta. Poiché la triade Trp/Cys-Cys è presente in tutte le immunoglobuline, abbiamo che la PIT è applicabile per la funzionalizzazione di superfici d'oro contro moltissimi contaminanti di interesse ambientale e per la sicurezza alimentare.

Nel triennio 2013-2015 abbiamo applicato la PIT essenzialmente alle QCM realizzando un biosensore con la sensibilità tipica di questo trasduttore unita alla specificità fornita dagli anticorpi. Tra i risultati più rilevanti menzioniamo quelli che ci hanno consentito di ottenere limiti di rivelazione (LOD) per i) il parathion (un pesticida proibito nella UE) di 15 ppb (limite di legge per acqua potabile di 1 ppb) e ii) la patulina (una micotossina della mela) di 20 ppb (limiti di legge di 50 ppb e 10 ppb per succhi di frutta e "baby food", rispettivamente). La possibilità di rivelare il legame di questi contaminanti "leggeri" (poche centinaia di Dalton) con la superficie funzionalizzata è stata ottenuta attraverso una procedura di "zavorramento" della molecola leggera con proteine molto più pesanti (decine di migliaia di Dalton).

B3 Descrizione attività programmata nel triennio 2017-2019

(max 2000 caratteri)

Nel prossimo triennio intendiamo proseguire la nostra attività di ricerca secondo le seguenti linee.

- 1) Applicazione delle QCM a contaminanti diversi inclusi, ad esempio, i batteri (collaborazione con IZSM e CREA). Questa linea di ricerca è molto prossima all'applicabilità industriale dei risultati e contiamo di procurarci le risorse necessarie alla ricerca attraverso proposte anche in collaborazione con aziende.
- 2) Investigazione dei meccanismi microscopici alla base della PIT (Juelich). Questa linea passa attraverso la modellazione dell'interazione radiazione-anticorpo che richiede necessariamente un approccio interdisciplinare. È implicito l'interesse scientifico a perseguire questo obiettivo viste le potenzialità della PIT.
- 3) Applicazione della PIT ad altri trasduttori. Il candidato naturale è un sensore basato sulla risonanza plasmonica di superficie (SPR), ma intendiamo applicare le competenze sviluppate nel nostro gruppo anche alle nanotecnologie disponibili presso il CNR.IMM.

C1 Pubblicazioni scientifiche nel triennio 2014-2016/7

(indicare il numero complessivo nel triennio e elencare le più significative (max 10))

N. complessivo: 12

Pubblicazioni più significative:

- 1) B. Della Ventura, M. Iannaccone, R. Funari, M. Pica Ciamarra, C. Altucci, R. Capparelli, S. Roperto, and R. Velotta, *Effective antibodies immobilization and functionalized nanoparticles in a quartz-crystal microbalance-based immunosensor for the detection of parathion*. PLoS One **12**, e0171754, (2017). DOI: 10.1371/journal.pone.0171754
- 2) B. Della Ventura, A. Ambrosio, A. Fierro, R. Funari, F. Gesuele, P. Maddalena, D. Mayer, M. Pica Ciamarra, R. Velotta, and C. Altucci, *Simple and Flexible Model for Laser-Driven Antibody–Gold Surface Interactions: Functionalization and Sensing*. ACS Appl. Mater. Interfaces **8**, 21762–21769 (2016). DOI:10.1021/acsami.6b04449
- 3) R. Funari, B. Della Ventura, C. Altucci, A. Offenhaeusser, D. Mayer and R. Velotta, *Single Molecule Characterization of UV-Activated Antibodies on Gold by Atomic Force Microscopy*. Langmuir **32**, 8084-8091 (2016). DOI:10.1021/acs.langmuir.6b02218
- 4) B. Della Ventura, I. Rea, A. Calio, P. Giardina, A. M. Gravagnuolo, R. Funari, C. Altucci, R. Velotta, and L. De Stefano, *Vmh2 hydrophobin layer entraps glucose: A quantitative characterization by label-free optical and gravimetric methods*. Appl. Surf. Sci. **364**, 201-207 (2016). DOI: 10.1016/j.apsusc.2015.12.080
- 5) F. Itri, D. M. Monti, B. Della Ventura, R. Vinciguerra, M. Chino, F. Gesuele, A. Lombardi, R. Velotta, C. Altucci, L. Birolo, R. Piccoli, A. Arciello, *Femtosecond UV-laser pulses to unveil protein–protein interactions in living cells*. Cell Mol Life Sci **73**, 637-648 (2016). DOI: 10.1007/s00018-015-2015-y
- 6) B. Della Ventura, R. Funari, K. K. Anoop, S. Amoroso, G. Ausanio, F. Gesuele, R. Velotta, C. Altucci, *Nano-machining of biosensor electrodes through gold nanoparticles deposition produced by femtosecond laser ablation*. Appl. Phys. B **119**, 497-501 (2015). DOI: 10.1007/s00340-015-6091-3
- 7) R. Funari, B. Della Ventura, R. Carrieri, L. Morra, E. Lahoz, F. Gesuele, C. Altucci, R. Velotta, *Detection of parathion and patulin by quartz-crystal microbalance functionalized by the photonics immobilization technique*. Biosens Bioelectron **67**, 224-229 (2015). DOI: 10.1016/j.bios.2014.08.020
- 8) M. Valadan, D. D'Ambrosio, F. Gesuele, R. Velotta, C. Altucci, *Temporal and spectral characterization of femtosecond deep-UV chirped pulses*. Laser Phys. Lett. **12** 025302 (2015). DOI: 10.1088/1612-2011/12/2/025302
- 9) S. Lettieri, A. Avitabile, B. Della Ventura, R. Funari, A. Ambrosio, P. Maddalena, M. Valadan, R. Velotta, C. Altucci, *Nano- and femtosecond UV laser pulses to immobilize biomolecules onto surfaces with preferential orientation*. Appl. Phys. A **117**, 185-190 (2014). DOI: 10.1007/s00339-014-8340-4
- 10) M. Micciarelli, M. Valadan, B. Della Ventura, G. Di Fabio, L. De Napoli, S. Bonella, U. Rothlisberger, I. Tavernelli, C. Altucci, R. Velotta, *Photophysics and Photochemistry of a DNA-Protein Cross-Linking Model: A Synergistic Approach Combining Experiments and Theory*. J. Phys. Chem. B **118**, 4983-4992 (2014). doi: 10.1021/jp4115018

C2 Presentazioni a Conferenze internazionali e nazionali

(solo se lo speaker è tra il personale elencato nel punto A3)

- 1) B. Della Ventura, M. Iannaccone, R. Funari, C. Altucci, R. Capparelli, R. Velotta
Effective antibodies immobilization and nanoparticle ballasting in a QCM-based sensor for the detection of light analytes. Biosensors 2016, 25–27 May 2016. Gothenburg, Sweden

C3 Presentazioni di brevetti internazionali e nazionali

D1 Progetti di ricerca attivi

(Progetti di Enti di ricerca, Progetti Europei, Progetti MIUR, PON, POR, ...)

- 1) *Biosensori piezoelettrici a risposta in tempo reale per applicazioni ambientali e agro-alimentari* finanziato dalla Fondazione con il SUD per lo Sviluppo del Capitale Umano ad Alta Qualificazione (2013-17). Circa k€620.