

# Sviluppo di un aptasensore piezoelettrico per la proteina MMP-9 applicato alla diagnostica molecolare

**Tesi di Laurea di:** Benedetta Bronzi

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

## **Abstract**

La metalloproteasi di matrice 9 (MMP-9) è una endopeptidasi coinvolta in numerosi processi fisiologici, quali lo sviluppo embrionale ed il rimodellamento tissutale, e patologici, fra cui l'artrite, l'infarto del miocardio e la metastasi tumorale. La correlazione evidenziata fra la concentrazione sierica di questa proteina ed il potenziale invasivo di numerose neoplasie la rende un possibile *marker* tumorale per applicazioni nel campo della diagnostica anticipata.

L'obiettivo di questo lavoro di tesi è stato lo sviluppo di un metodo innovativo per la quantificazione della MMP-9 in campioni di siero umano. A questo scopo è stato messo a punto un aptasensore piezoelettrico, ovvero un biosensore che sfrutta come elemento di riconoscimento biologico una breve sequenza oligonucleotidica (aptamero) selezionata per interagire con elevata affinità e specificità con la proteina in esame, e un cristallo piezoelettrico di quarzo come trasduttore. L'aptamero biotinilato è stato immobilizzato sulla superficie del cristallo, modificata con la streptavidina, sfruttando l'alta affinità di quest'ultima per la biotina; quindi l'aptasensore è stato ottimizzato e applicato all'analisi di soluzioni standard di MMP-9, valutandone le caratteristiche analitiche di sensibilità, riproducibilità e selettività. Lo sviluppo di un sistema "a sandwich" di amplificazione del segnale per mezzo di un secondo aptamero specifico per l'analita ha permesso la riduzione del *detection limit* a 1 pM e del coefficiente di variabilità percentuale (CV%) al 9%. Per studiare la selettività del metodo sono state effettuate delle prove con possibili interferenti.

Successivamente l'aptasensore è stato applicato all'analisi di campioni di siero umano ed è stato valutato l'effetto matrice. Per ridurre il segnale aspecifico prodotto dagli interferenti rilevati nel siero è stato infine sperimentato un pretrattamento del campione basato sull'uso di microsferre magnetiche.