



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea
Scienze Biologiche

NUOVI SENSORI PROTEICI PER IL RILEVAMENTO DELLA MELATONINA
NEW PROTEIN SENSOR TO DETECT MELATONIN

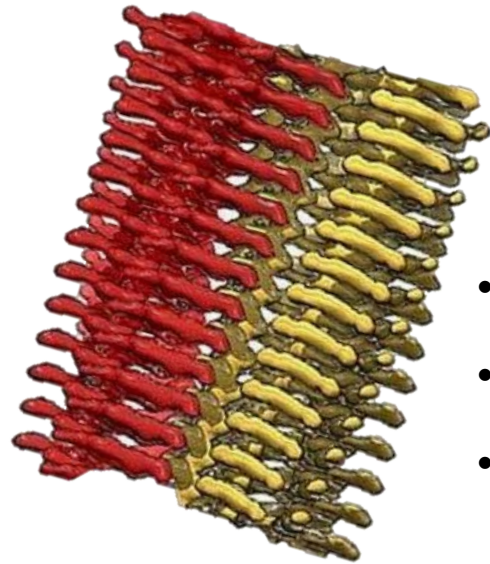
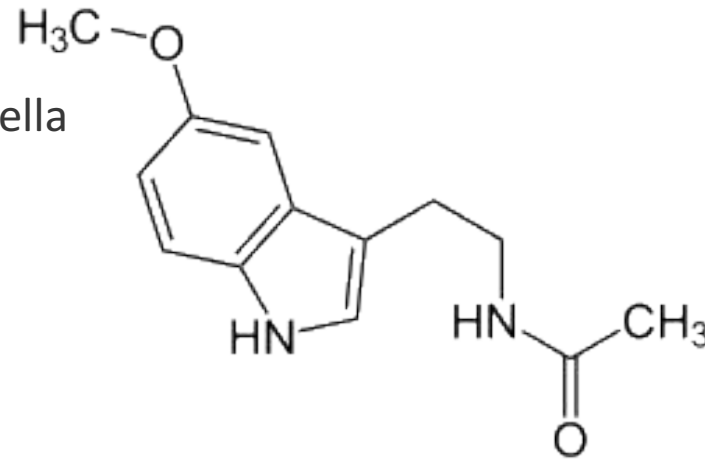
Tesi di Laurea di:
Riccardo Leonetti

Docente Referente
Chiar.ma Prof.ssa **Maria Grazia Ortore**

Sessione Autunnale
Anno Accademico 2021/2022

MELATONINA

- Ormone prodotto dall'epifisi, importante nella regolazione del ciclo sonno-veglia
- Sintetizzata in assenza di luce
- È un importante analita da misurare



FIBRILLE AMILOIDI

- Aggregati costituiti da oligomeri di foglietti β
- Numerose malattie umane associate alle fibrille amiloidi
- Dotate di specifiche proprietà fisiche che fanno sì che possano trovare delle applicazioni come nanomateriali

FIBRILLE AMILOIDI COME SENSORI PER LA MELATONINA

- Fibrille amiloidi ottenute dalla farina di grano tenero di tipo '0' come sensore per la melatonina*
- Attualmente uno dei metodi più utilizzati è il metodo ELISA



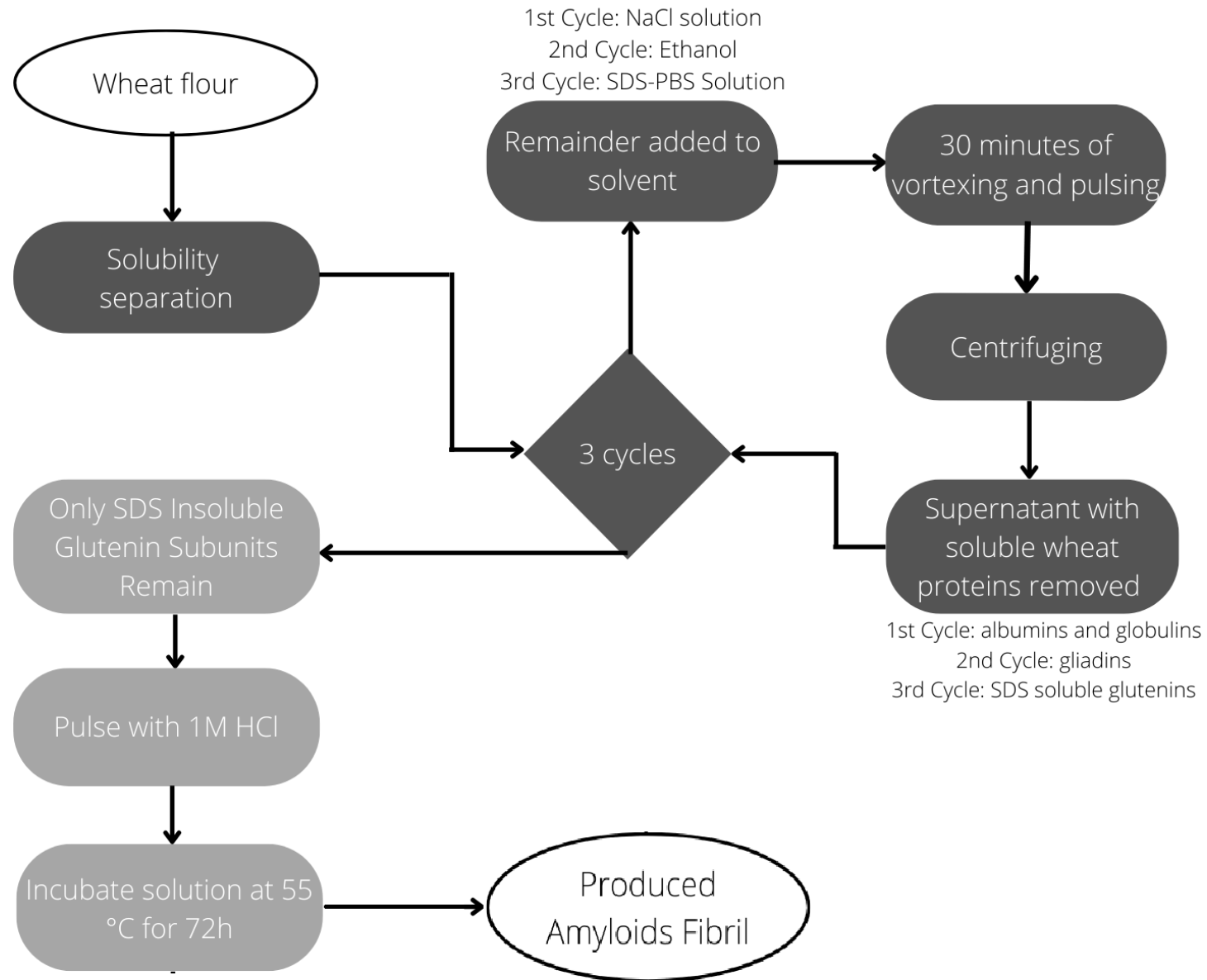
Sensibilità pari a 1 pg/ml

Costi elevati dato l'utilizzo di anticorpi specifici

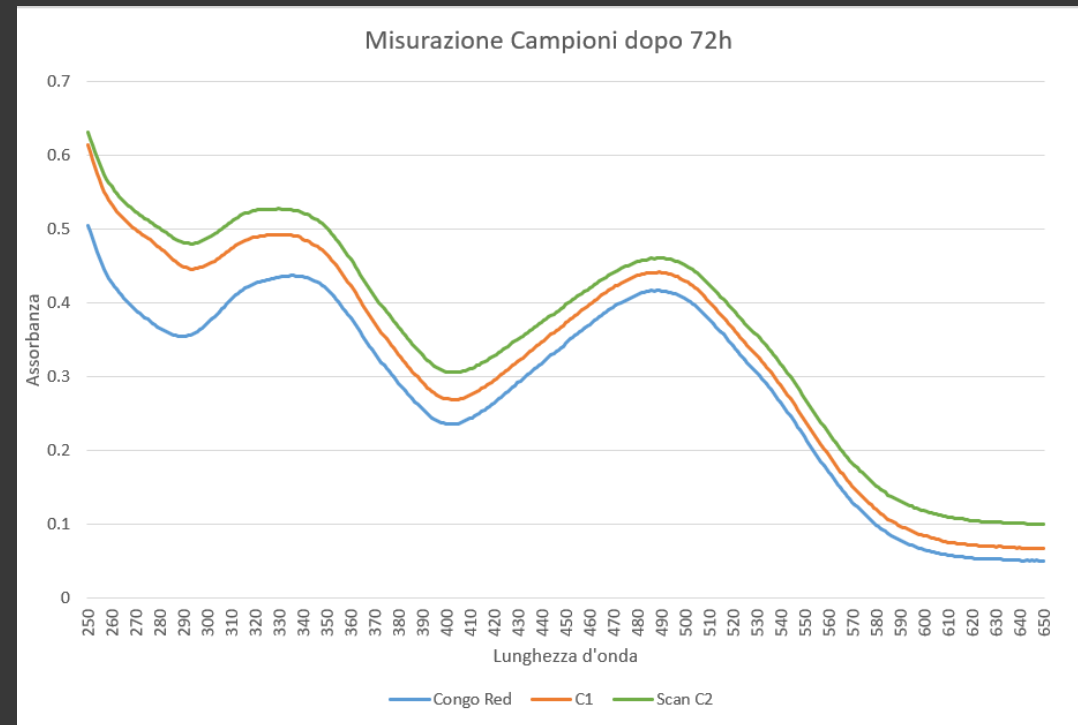
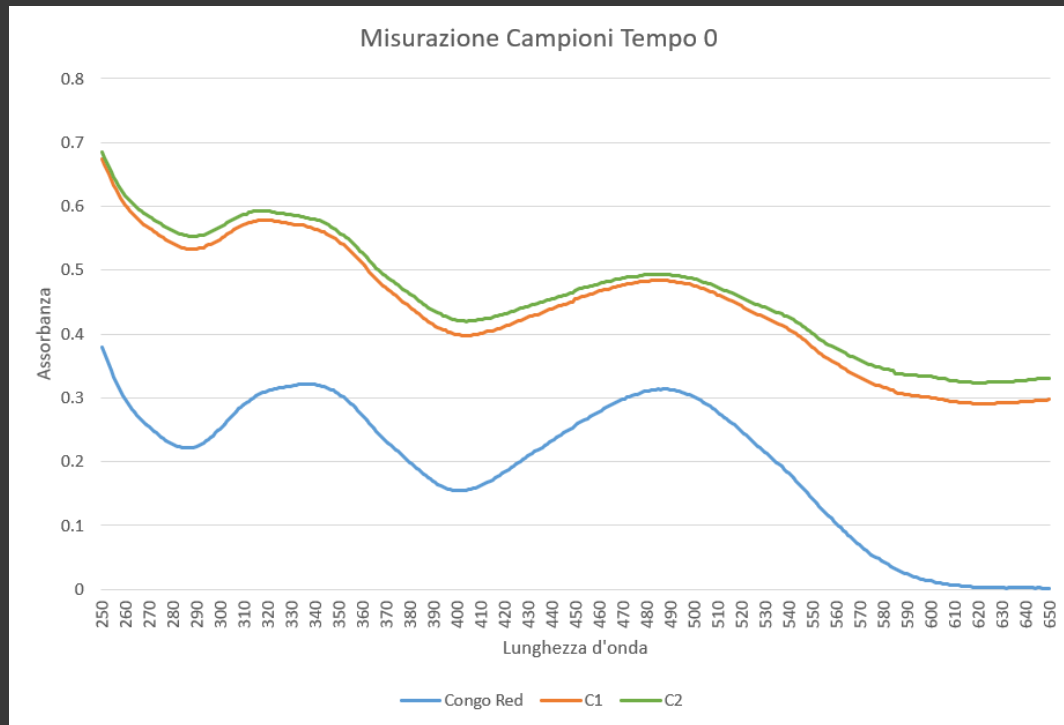
QUESTO NUOVO METODO
POTREBBE RAPPRESENTARE
UN'ALTERNATIVA MENO
DISPENDIOSA PER IL
BIORILEVAMENTO DELLA
MELATONINA

*Hessick E., Pawar M., Souchereau R., Schmitz E., Gouma P. Novel, Inexpensive, and Scalable Amyloid Fibril Formation Method. *Materials* 15 (2022), 1766

FORMAZIONE FIBRILLE AMILOIDI

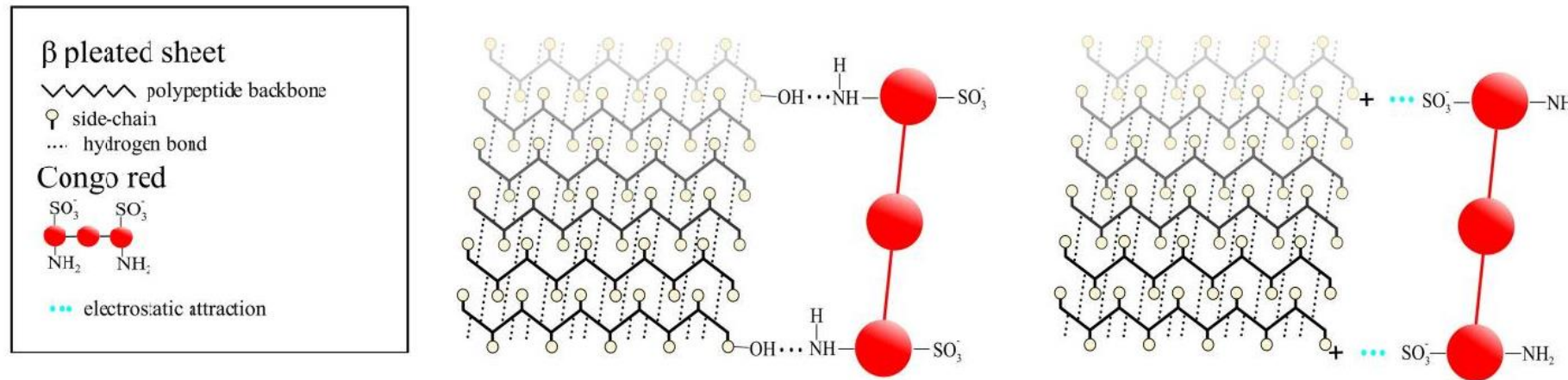


È possibile verificare l'avvenuta fibrillazione mediante analisi spettrofotometriche utilizzando il colorante Congo Red come sonda specifica per le strutture β



BIORILEVAMENTO MELATONINA

Le fibrille amiloidi colorate con il Congo Red hanno particolari proprietà ottiche

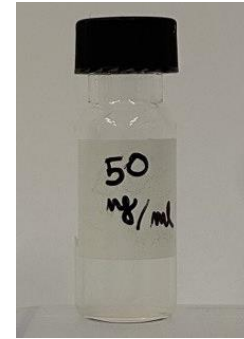
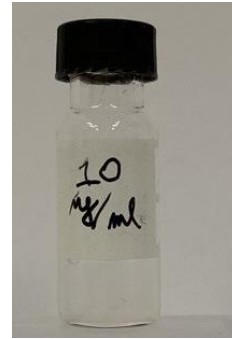


*Yakupova EI, Bobyleva LG, Vikhlyantsev IM, Bobylev AG. Congo Red and amyloids: history and relationship. *Biosci Rep.* 39 (2019)

L'interazione tra la melatonina e le fibrille amiloidi potrebbe andare ad influenzare l'orientamento o il legame del Congo Red provocando un cambiamento di colore, questo permetterebbe ***l'impiego delle fibrille amiloidi come sensori per la melatonina.***

BIORILEVAMENTO MELATONINA

I campioni contenenti fibrille amiloidi sono portati a pH 7 mediante l'aggiunta di NaOH e poi sono state aggiunte diverse concentrazioni di melatonina: 0 ng/ml, 10 ng/ml, 50 ng/ml e 100 ng/ml.

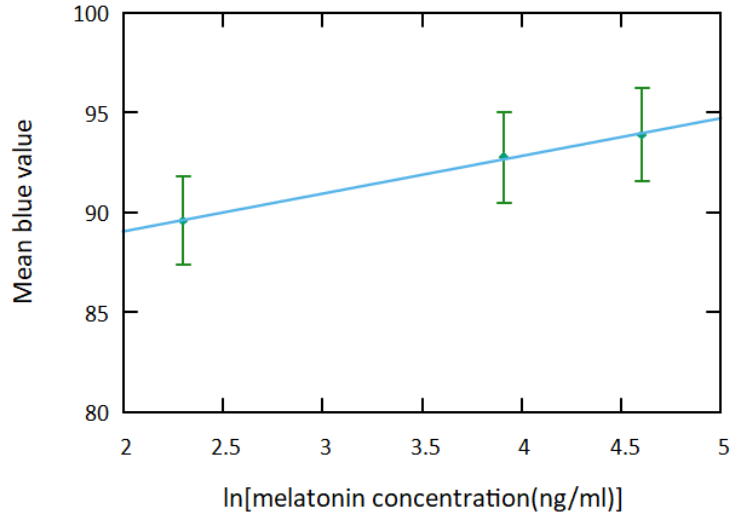


Vengono aggiunti 20 μ l di Congo Red ad ogni campione e sono scattate delle foto 1 minuto e 10 minuti dopo l'aggiunta del colorante

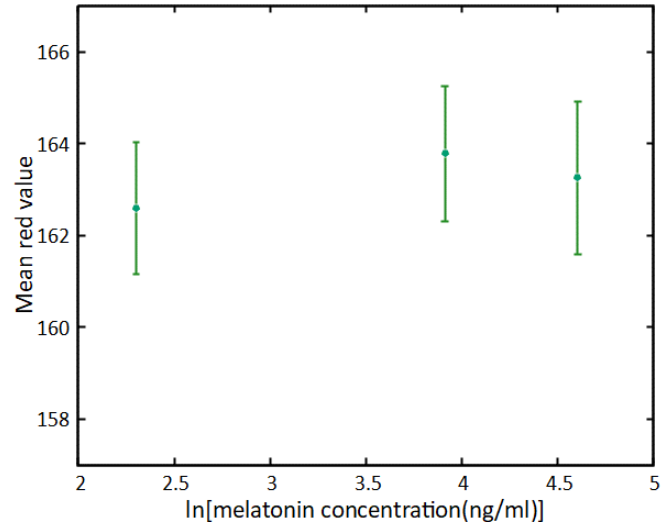


BIORILEVAMENTO MELATONINA

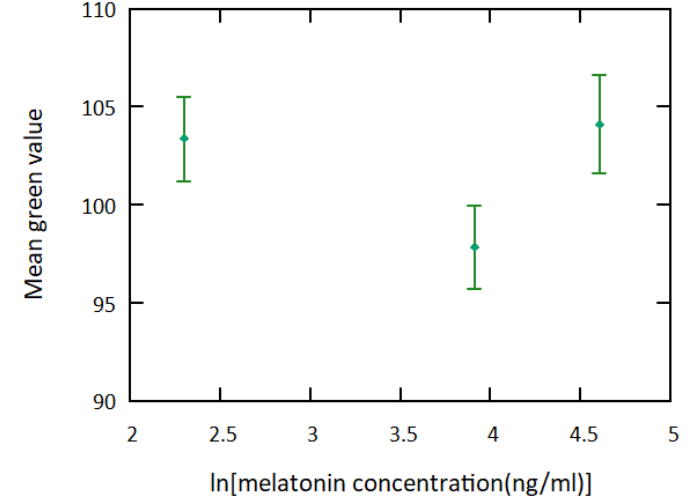
C2 Mean blue value after 1 min



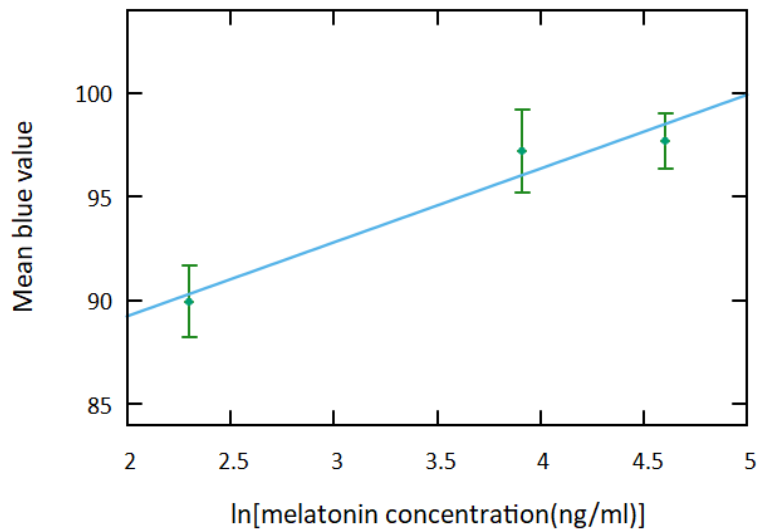
C3 Mean red value after 1 min



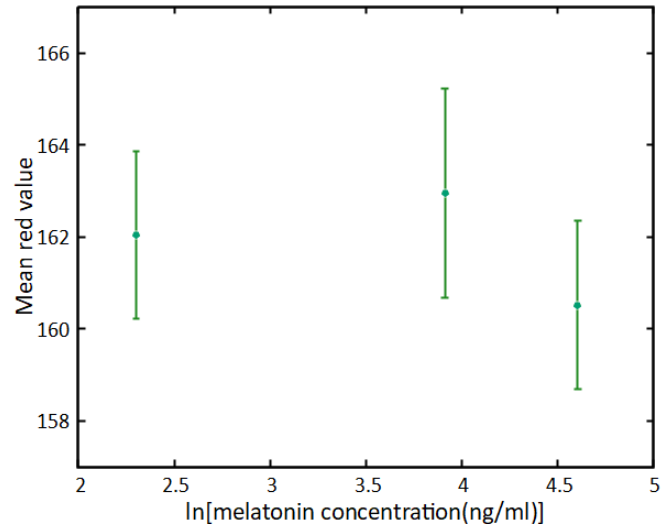
C4 Mean green value after 1 min



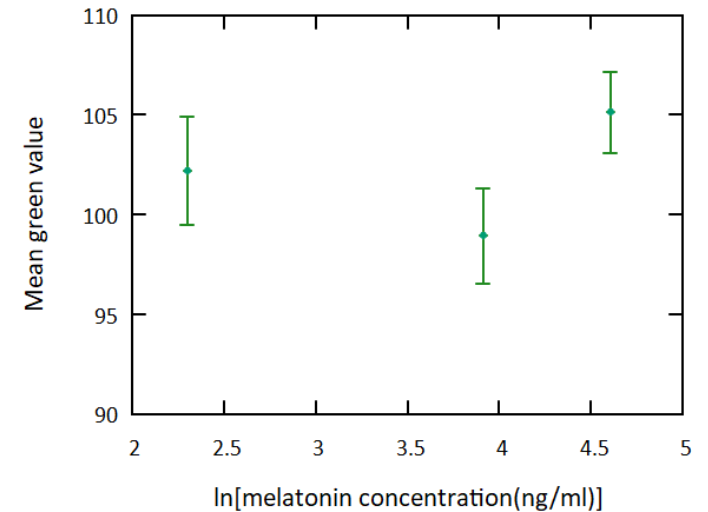
C2 Mean blue value after 10 min



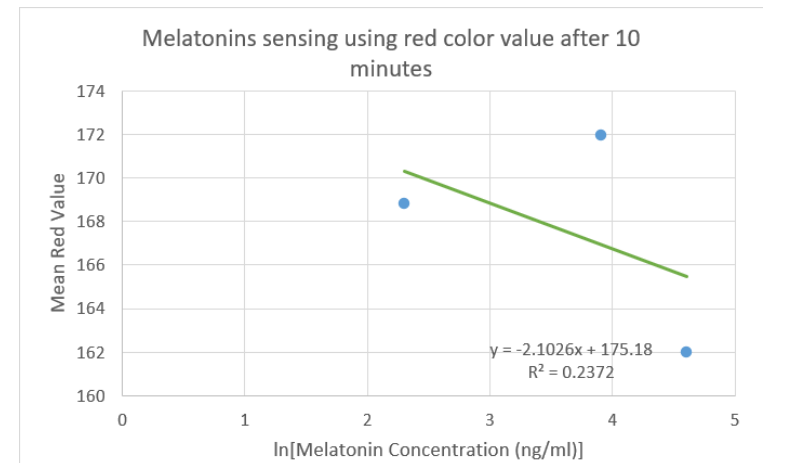
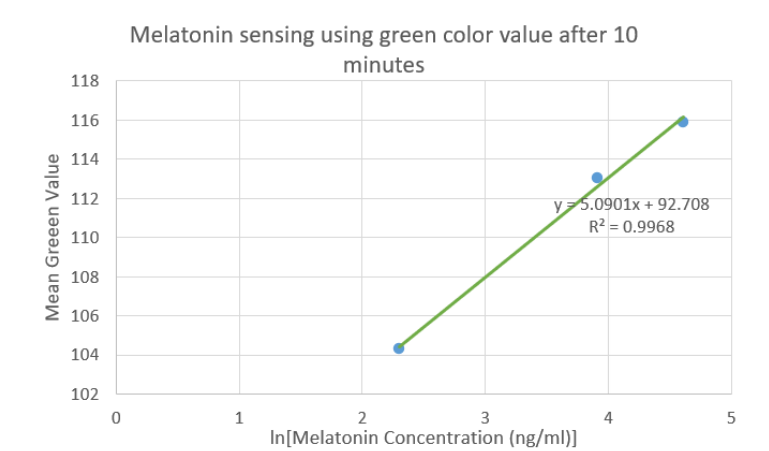
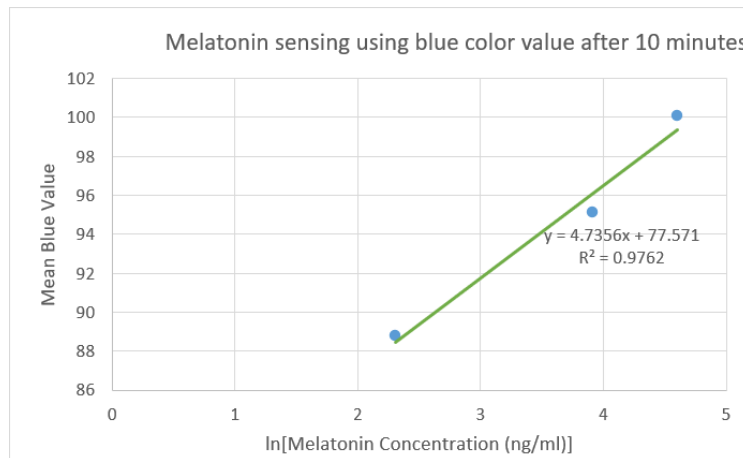
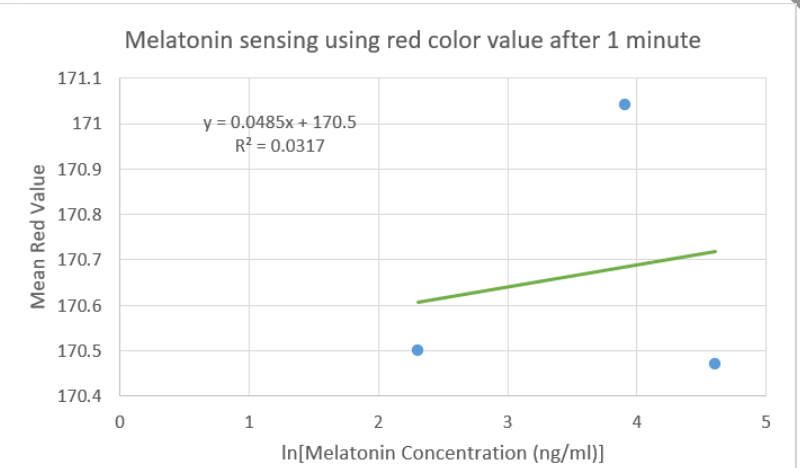
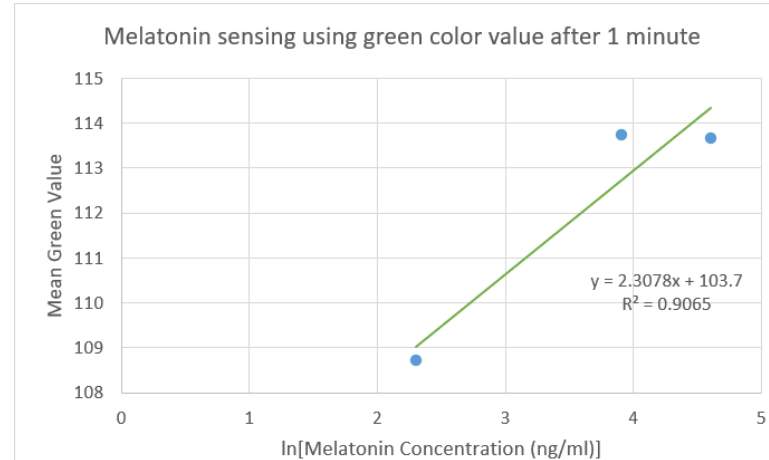
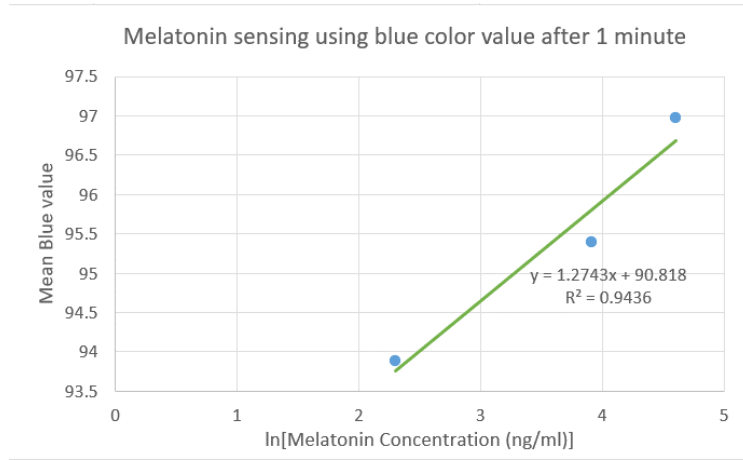
C3 Mean red value after 10 min



C4 Mean green value after 10 min



DISCUSSIONE E CONCLUSIONI



CONCLUSIONI

- Si può evincere un cambiamento del colore al variare della concentrazione della melatonina: il sensore funziona.
- I colori blu e verde, al contrario del rosso, sono quelli che meglio si prestano alla rilevazione della concentrazione della melatonina
- L'effetto non sembra essere molto dipendente dal tempo, al contrario di quanto mostrato nell'articolo citato

PROSPETTIVE FUTURE

- Utilizzo di fibrille amiloidi ottenute da altre proteine come sensori per la melatonina
- Utilizzo delle fibrille amiloidi come sensore per altre biomolecole