

Biosensori –

Cognome e Nome:

n° di matricola:

La durata della prova è di 120 minuti. Non è possibile consultare né libri di testo né appunti.

E' consentito soltanto l'uso della calcolatrice

L'ammissione all'orale prevede un punteggio minimo di 18.

NON SARANNO CORRETTE PARTI DI COMPITO SCRITTE A MATITA

L'orale si terrà Lunedì 12 Gennaio alle 14.30 in aula A11

Esercizio 2

Un biosensore catalitico potenziometrico per la misura di glucosio è realizzato tramite un elettrodo a vetro modificato.

L'enzima GOD ha una K_m di 0.1 M. Si consideri un tipico sensore potenziometrico in cui $K_2=1s^{-1}$, $D_s=D_p$, con $D_s=10^{-10} m^2s^{-1}$, $[E]$ vale 0.03 mM, lo spessore dello strato enzimatico è pari a 1mm.

L'acido gluconico si dissocia in H^+ e $C_6H_{11}O_7^-$ in proporzione 1:1 (ovvero per ogni mole di acido gluconico ne otteniamo una di H^+)

- Schematizzare lo strumento proposto, riportando graficamente la struttura del ph-metro a vetro modificato, le tensioni di elettrodo e la relativa tensione di uscita (V_{AB}) in funzione della concentrazione del substrato **[punteggio: 4]**.
- Progettare e dimensionare un circuito di lettura (*richiesta la risoluzione del circuito*) in grado di soddisfare le seguenti specifiche: **[punteggio: 4]**
 - o Uscita nulla in condizioni di normalità (concentrazione Glucosio pari a 3.9mM)
 - o Uscita pari a -0.4V per concentrazione di Glucosio pari a 4.9mM.
- Determinare la curva di taratura dello strumento e rappresentarla graficamente. **[punteggio: 3]**.
- Immunosensori: descrivere i metodi di lettura TIRF e SPR evidenziando per ognuno di essi se si tratta di un metodo competitivo o meno. (*riportare principio di funzionamento, descrizione schematica del metodo, vantaggi e svantaggi.*) **[punteggio: 4]**

Nota=E0 elettrodo a vetro = 0.059V

ESERCITAZIONE - BIOSENSORI

1° appello 2018

Un biosensore catalitico potenziometrico per la misura di glucosio è realizzato con un elettrodo a vetro modificato. L'enzima GOD ha una K_M di 0,1 M. Considera un tipico sensore potenziometrico in cui $K_2 = 1 \text{ s}^{-1}$, $D_S = D_P = 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, $[E] = 0,03 \text{ }\mu\text{M}$ e spessore dello strato enzimatico di 1 μm . L'acido gluconico in forma di H^+ e $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_7^-$ in proporzione 1:1.

a) Schimmabizzen lo strumento proposto, riportando graficamente la struttura del pHmetro a vetro modificato, le funzioni dell'elettrodo e la tensione di uscita $[V_{AB}]$ in funzione della concentrazione del substrato.

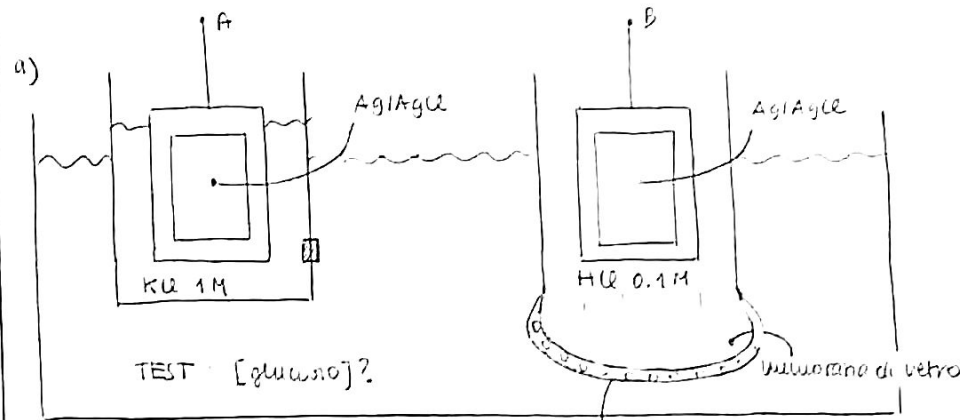
b) Progettare e dimensionare un circuito di lettura in grado di stabilire la specificità:

$V_u = 0$ in condizioni di normalità ovvero $[\text{glucosio}] = 3,9 \text{ }\mu\text{M}$

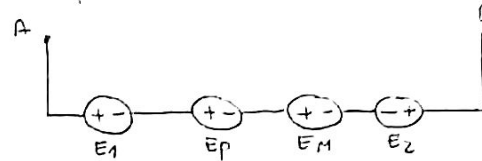
$V_u = -0,4 \text{ V}$ per $[\text{glucosio}] = 4,9 \text{ }\mu\text{M}$

c) Determinare la curva di taratura e rappresentarla graficamente.

d) Derivare i metodi di lettura TIRF e SPR evidenziando per ciascuno almeno un metodo complementare o meno



Interfacce:



$E_1 =$ tra Ag/AgCl e KCl

$E_p =$ ponte salino

$E_m =$ membrana

$E_2 =$ tra HCl e Ag/AgCl

$V_{AB} = E_1 + E_p + E_m - E_2$

dove

$E_1 = E_{Ag/AgCl} + \frac{RT}{F} \ln [Cl^-] = E^0 = 0,22 \text{ V}$

$E_m = E_0 + 0,0256 \ln [H^+] = E_0 - 0,0591 \text{ pH}$

$E_2 = E_{Ag/AgCl} + E_0$
 è lo stesso della E_m e dipende da $[Cl^-] = 0,1 \text{ M}$

$V_{AB} = E_1 + E_m - E_2 = 0,22 + E_0 - 0,0591 \text{ pH} - 0,22 - E_0 = -0,0591 \text{ pH} = 0,0256 \ln [H^+]$

Per legare anche [S] sfruttiamo la formula

$$[P]_{x=0} = \frac{D_S}{D_P} \cdot [S]_{x=L} \cdot \left(1 - \frac{\cosh(\alpha)}{\cosh(L\sqrt{\alpha})} \right) =$$

$$\alpha = \frac{k_1 \cdot [E]}{K_M D_S} \quad \text{allora}$$

$$[P]_{x=0} = K^* \cdot [S]_L = 0,6569 [S]_L \quad \text{circa il 65% del substrato viene prodotto}$$

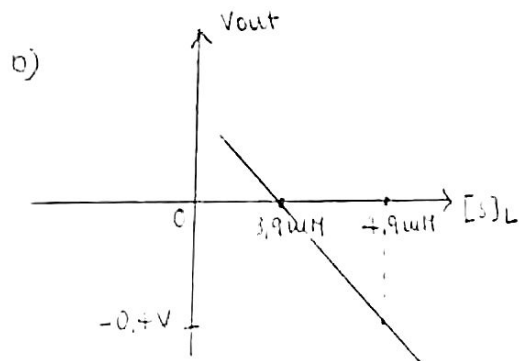
quindi al posto di [H⁺], ovvero il prodotto, inserisco K* [S]_L:

$$V_{AB} = 0,0256 \ln [H^+] = 0,0256 \ln [0,6569 \cdot [S]_L] =$$

$$= 0,0256 \ln [S]_L + 0,0256 \ln [K^*] =$$

$$= 0,0256 \ln [S]_L - 0,01 V =$$

$$= 0,0256 \ln [\text{glucosio}] - 0,01 V. \quad \text{andamento crescente all'aumentare di [glucosio]}$$



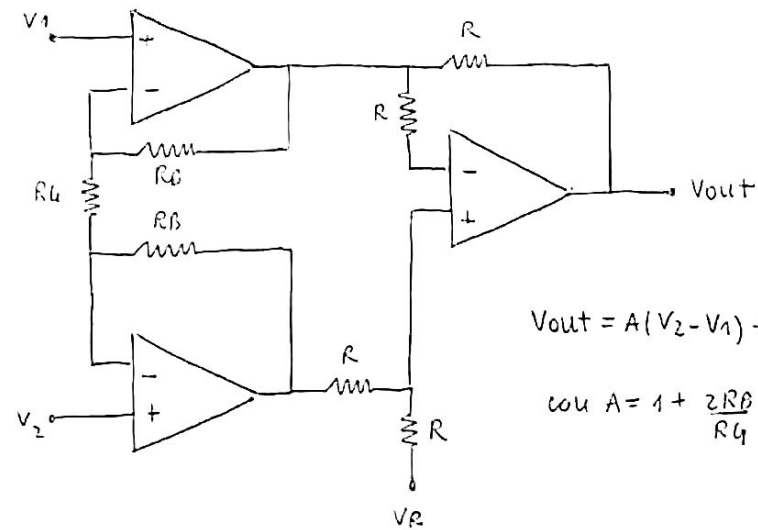
(NB)
caratteristica decrescente e V_{AB} crescente!



Bisogna fare attenzione al collegamento tra circuito e cella.

NB: la caratteristica richiesta V_{out}/pH NON è lineare! E' logaritmica! comunque è decrescente

Circuito a 3 operazionali:



$$V_{out} = A(V_2 - V_1) + V_R$$

$$\text{con } A = 1 + \frac{2R_B}{R_A} > 0$$

L'unica soluzione per ottenere una caratteristica decrescente è collegare:

B → V₂ e A → V₁ allora

$$V_{out} = A(V_B A) + V_R = -A \cdot V_{AB} + V_R =$$

$$= -A \cdot (0,0256 \ln [\text{glucosio}] - 0,01 V) + V_R \quad \text{che decresce all'aumentare della [glucosio]. (ok)}$$

$$= -A \cdot 0,0256 \ln [\text{glucosio}] + A \cdot 0,01 + V_R$$

Regolo le specifiche richieste.

$$\begin{cases} V(3,9 \mu M) = 0 & -A \cdot 0,0256 \ln [3,9 \cdot 10^{-3}] + A \cdot 0,01 + V_R = 0 \end{cases}$$

$$\begin{cases} V(4,9 \mu M) = -0,4 & -A \cdot 0,0256 \ln [4,9 \cdot 10^{-3}] + A \cdot 0,01 + V_R = -0,4 \end{cases}$$

$$\text{si ottiene } A = 68,45 \rightarrow 1 + \frac{2R_B}{R_A} = 68,45 \quad (\text{con } R_B = 1 k\Omega) \\ V_R = -10,40 V \quad \text{allora } R_A = 29,65 \Omega$$

$$\text{Allora } V_{out} = K \cdot \ln [S] + 0 \rightarrow K = -1,76 V \\ 0 = -9 + 9 V$$