a cura di Pierfausto Seneci
Dipartimento di Chimica organica - Università di Milano

"Chemical Detectives": raramente ho visto un titolo così intrigante. Se aggiungete poi che la rivista che lo riporta è *Science,* capirete il mio immediato interesse.

Il titolo in questione, ed un breve commento che lo segue (*Science,* 2006, **311,** 1565), fanno da introduzione a due review e ad alcuni lavori trattanti nuove tecnologie, od applicazioni di tecnologie al problema della rivelazione (detection in inglese, da cui chemical detectives) di composti o materiali presenti in percentuali minime, o addirittura infinitesime, in campioni complessi.

La prima review (R.G. Cooks *et al., Science,* 2006, **311,** 1566) tratta delle applicazioni della cosiddetta "ambient mass spectrometry", cioè della spettrometria di massa in cui il campione da analizzare non richiede alcun trattamento ma, appunto, può essere analizzato nelle sue condizioni native (ad esempio, solido e non dissolto; a pressione ambiente e non sotto vuoto). La tecnica descritta si chiama DESI (desorption electrospray ionization) e si basa sulla generazione di uno spray di microgoccioline cariche che colpiscono la superficie del campione da analizzare, sequestrano sia piccole molecole che macromolecole dal campione stesso, le ionizzano e le trasportano come ioni non solvatati allo spettrometro. La tecnica funziona sia con piccole che grandi molecole organiche o bioorganiche, polari od apolari; è una tecnica soft, che non provoca frammentazione e permette l'identificazione dei pesi molecolari di componenti del campione; ha un'altissima sensibilità (basso femtomolare); ha un basso numero di falsi positivi o negativi in esperimenti di standardizzazione.

Fra gli esempi riportati, la rivelazione di tracce di esplosivi nello screening dei bagagli in aeroporti; l'analisi di campioni legati ad analisi criminologiche; l'analisi della stabilità di compresse e formulazioni farmaceutiche stoccate; la caratterizzazione qualitativa e qualitativa dei componenti di miscele biologiche complesse (urine, tessuti) per scopi di metabolomica. Interessante è a mio avviso anche l'uso della tecnica DESI per l'analisi "tal quale" di campioni di piante allo scopo di identificare la presenza di nuovi prodotti naturali ad attività farmacologica.

La seconda review (R.M. Wightman, *Science,* **311,** 1570) tratta dell'uso di microelettrodi voltametrici, di dimensioni uguali o inferiori al micron, per l'osservazione e la caratterizzazione di eventi chimici in sistemi biologici compartimentalizzati, quali tessuti o cellule. La natura di questi microelettrodi rileva reazioni di ossidoriduzione di una vasta gamma di composti; la loro miniaturizzazione ed accuratezza garantisce la comprensione di fenomeni che accadono a livello perfino cellulare; la possibilità di muoverli seguendo traiettorie definite e precise permette di studiare sistemi compatti pluricellulari, come parti di tessuti; le loro caratteristiche permettono sia l'osservazione di fenomeni che avvengono in tempi rapidissimi (millisecondi al massimo) sia di fenomeni prolungati.

A livello di cellule, sono stati misurati flussi di ossigeno in colture di *Escherichia coli*, in dipendenza dall'aggiunta di varie concentrazioni di ione argento; la generazione di anione superossido e di derivati dell'anidride nitrica in condizioni di stress ossidativi è stata misurata in fibroblasti sani e in fibroblasti cancerogeni, per osservarne le differenze. A livello di tessuti, si è determinata la velocità di trasporto di un composto, l'idrochinone, attraverso la pelle di topi nudi, determinando come le aree intorno ai follicoli siano le più permeate; e si è determinata una mappa di permeabilità all'ossigeno di tessuti cartilaginei bovini.

Un esempio intrigante riguarda il meccanismo di secrezione di neurotrasmettitori da neuroni isolati via esocitosi, poi riportato a studi simili su insiemi cellulari comprendenti regioni sinaptiche per determinare sia il flusso di uno o più neurotrasmettitori specifici, che l'orizzonte temporale in cui il fenomeno accade. Lo stesso approccio, in collaborazione con dei farmacologi, ha permesso di valutare il ruolo della dopamina e del suo rilascio nel comportamento di ratti, ad esempio in situazioni di dipendenza e ricerca della soddisfazione (cocaina erogata premendo una leva), correlando il rilascio di dopammina all'aspettativa del "premio" da parte dell'animale.

Lo stesso numero di *Science* riporta anche tre lavori che descrivono metodi innovativi per la rilevazione a livello cellulare (o, spesso, molecolare) di un fenomeno di rilevanza biologica. Il primo (G. Shekhawat *et al., Science,* 2006, **311,** 1592) parla di microtravi a mensola (microcantilevers) su scala nanometrica, su cui vengono "ancorati" specifici ligandi; le loro oscillazioni una volta in contatto con un mezzo biologico sono determinate dall'interazione dei ligandi immobilizzati con il proprio partner di legame. Il secondo (M.J. Thorpe *et al., Science,* 2006, **311,** 1595) riporta approcci innovativi nell'identificazione e riconoscimento di tracce di composti in sistemi inorganici (tracce di esplosivi) od organici (analisi dell'alito per la diagnostica), utilizzando la tecnica chiamata "broadband cavity ringdown spectroscopy". L'ultimo (J. Yu *et al., Science,* 2006, **311**, 1600) riporta un avveniristico metodo per la rilevazione della produzione in tempo reale di una singola copia, o di più copie di una proteina in *Escherichia coli*, usando rilevazione ottica e costrutti contenenti proteine fluorescenti; metodi simili avranno sicuramente un impatto sulla comprensione di fenomeni biologici legati alla presenza di proteine presenti in poche unità all'interno di cellule fisiologicamente vive e normali.