

# La vita e la chimica strumentale

All'Università di Firenze è in piena attività, col sostegno finanziario della Commissione Europea, il CERM- centro di ricerca, trasferimento di conoscenze e alta formazione nel settore della risonanza magnetica nucleare (NMR) applicata alle scienze della vita

di Gianni Fochi



La cosiddetta Ellisse, l'edificio che al CERM ospita due spettrometri NMR operanti a 800 e 900 MHz.

Il parco degli spettrometri NMR di cui si avvale questa struttura è tra i più avanzati al mondo, grazie al Consorzio Interuniversitario Risonanze Magnetiche di Metalloproteine Paramagnetiche (CIRMMP) fondato nel 1994 dagli atenei di Firenze, Siena e Bologna. Abbiamo rivolto alcune domande al professor Ivano Bertini, fondatore e direttore del CERM, oltre che accademico dei Lincei e insignito di lauree honoris causa in varie Università europee.

## **Cosa l'ha spinto in gioventù a studiare chimica?**

A dir la verità, il liceo non m'aveva molto incoraggiato in questa direzione; tuttavia

la passione per le scienze in me si faceva sentire. Fra le materie possibili, ho poi scelto un po' per esclusione: la medicina mi pareva troppo poco scientifica, e anche l'ingegneria m'appariva così; la geologia la sentivo un pochino senz'anima. Ho preso in considerazione la fisica, ma mi sembrava troppo difficile. Mi rimase la chimica, a cui m'iscrissi senza troppa convinzione. Questo perché non la conoscevo: appena l'ho conosciuta, l'ho amata subito fin da matricola, perché ho scoperto che riunisce in sé altre scienze, fra cui la fisica, perché richiede il lavoro manuale, perché dà un senso di completezza.

## **Quale settore ha poi cominciato a coltivare negli studi e nella ricerca?**

Mi sono indirizzato sempre più verso la chimica delle scienze della vita, cosa che m'ha fatto scoprire il valore intellettuale di questa disciplina. Sono molto fiero d'essere un chimico che si occupa di problemi importanti per l'umanità, problemi che si ricollegano ai meccanismi chimici della vita.

## **Nel CERM gli aspetti biochimici o biologici vengono affrontati da suoi collaboratori con preparazione specifica?**

No, purtroppo non esiste una preparazione specifica. Il chimico, con una visione

atomico-molecolare delle sostanze implicate nei processi vitali, è l'unico che può affrontare i problemi biologici che noi affrontiamo, al livello a cui noi li affrontiamo. Ci occupiamo per esempio di biologia strutturale: capire la struttura delle biomolecole, capire come interagiscono nella loro conformazione tridimensionale è pane per i chimici. Solo riuscendo a svelare il meccanismo a questo livello, si può intervenire nei casi in cui una cura sia necessaria.

**Ma almeno non si tratterà di chimici "normali"; saranno piuttosto chimici che, nel corso dei loro studi, si sono formati come specialisti di strumentazione, dal**

**momento che il vostro lavoro si basa su una strumentazione molto complessa.**

Sono proprio chimici normali, che crescono imparando qui al CERM il loro mestiere così speciale. Del resto la risonanza magnetica nucleare è "territorio" dei chimici in quanto tali, la strutturistica a raggi X è nel patrimonio dei chimici. Siamo noi chimici che per natura usiamo strumenti, compresi vari tipi di spettrometri, adatti a risolvere le strutture. Qui al CERM i giovani imparano a servirsi anche di tecniche di biologia molecolare e d'ingegneria genetica, che servono a preparare i campioni. Fra l'altro, la rivoluzione avvenuta una quindicina d'anni fa o anche meno nelle scienze della

vita con la lettura del genoma, ha spazzato via il vecchio ruolo dei biochimici, che dovevano isolare qualche microgrammo di proteina da quintali di materiale biologico. Ora, individuato il gene giusto, la proteina che vuoi studiare la produci. Chi è entrato nella ricerca allo scoppio di questa rivoluzione, o negli anni immediatamente seguenti, s'è trovato subito all'avanguardia. Con le nostre competenze di chimici, noi abbiamo potuto inserirci in grandi progetti europei, che forniscono le collaborazioni necessarie per la parte di biologia molecolare e d'ingegneria genetica. Così siamo perfettamente in condizione di fare cose interessanti dal nostro punto di vista di chimici.

## Metabolomica

La metabolomica è una disciplina emergente che affronta l'analisi di centinaia di migliaia di metaboliti a basso peso molecolare in tessuti biologici intatti o in fluidi quali l'urina, il siero, il plasma, la saliva. Dal quadro complessivo dei metaboliti si può avere un indice accurato dello stato di salute d'un essere umano. La spettroscopia NMR consente quest'analisi con solo un trattamento preventivo minimo del campione, e fornisce una sorta d'impronta digitale, che aiuta a collegare vari tipi di patologia coi metaboliti presenti e le deviazioni dei loro rapporti quantitativi dalla norma. Mirando a cercare differenze fra gli individui sani e quelli malati o anche solo potenzialmente a rischio, il CERM ha creato un'ampia raccolta di spettri NMR delle urine di persone adulte: un migliaio di spettri. I dati ricavabili spettroscopicamente vengono anche sottoposti a tecniche computazionali avanzate, nonché a tecniche standard (analisi dei componenti principali e regressione multilineare).

## METALLI IN BIOLOGIA

Al CERM è in corso un progetto di genomica strutturale su alcune metalloproteine, le quali hanno un ruolo nell'omeostasi dei metalli all'interno dell'organismo, cioè nel mantenimento del loro livello giusto: trattenere la quantità necessaria, impedire l'accumulo di dosi pericolose. Le proteine appartenenti alla classe dei metallochaperon li trasportano e li affidano a enzimi che permettono loro d'attraversare le membrane. Il CERM ha determinato struttura e dinamica d'azione per alcune di queste proteine in organismi eucarioti e procarioti, con riferimento soprattutto a metalli quali rame, nichel, zinco e cadmio. Patologie possono insorgere a causa di mutazioni naturali, e il CERM ha studiato proteine mutanti, per poter comprendere la loro relazione con la malattia riscontrata. Per esempio, la cupro-proteina umana zinco-superossidodismutasi SOD1: alcune mutazioni nel gene che codifica la sua biosintesi sono state associate alla SLA (sclerosi laterale amiotrofica), forma neurodegenerativa familiare. Anche nei mitocondri sono stati individuati dei metallochaperon: partecipano alla formazione di composti "a grappolo" (cluster) ferro-zolfo e d'enzimi contenenti rame, come la citocromo-c-ossidasi e la SOD. Il CERM ha chiarito il meccanismo ossidoriduttivo che, con un sistema relay a disolfuro, determina il ripiegamento d'una classe di proteine mitocondriali. È stato individuato a livello molecolare il trasferimento elettronico, basato sul ponte a disolfuro, tra l'ossidasi mia40 e i suoi substrati Cox17 e Tim10.



**2- Spettrometro NMR operante a 700 MHz, impiegato per esperimenti nella ricerca di principi attivi farmaceutici.**



Il professor Ivano Bertini, direttore del CERM, nel suo studio. Al collo, una bolo tie raffigurante Lorenzo il Magnifico (quattrocentesco signore di Firenze).

## NMR Multidimensionale

È grazie allo sviluppo di nuovi metodi basati sull'NMR che questa spettroscopia continua a estendere il suo campo d'applicazione. Di recente l'obiettivo è stato puntato sull'isotopo  $^{13}\text{C}$  del carbonio, sia in soluzione sia allo stato solido, con esperimenti di NMR multidimensionale. La polarizzazione del nucleo  $^1\text{H}$  è stata sfruttata come punto di partenza per l'NMR eteronucleare: s'è lavorato ad aumentare la sensibilità e nello stesso tempo a sfruttare la grande dispersione degli spostamenti (shift) chimici in tutte le dimensioni. Ciò si presta particolarmente allo studio di proteine grandi e intrinsecamente disordinate. La disponibilità di strumenti sempre più sensibili ha stimolato una grande varietà d'approcci sperimentali, allo scopo d'abbreviare ulteriormente i tempi di misura. Si sono aperte le porte alle indagini su proteine molto impegnative: per esempio proteine paramagnetiche o grandi aggregati multimerici.

## UNA BIOBANCA NEL CUORE DELLA TOSCANA

Organizzare le infrastrutture necessarie per raccogliere e rendere disponibili per ricerche mediche e cliniche campioni biologici e i dati scientifici a essi relativi: ecco un'altra realizzazione del CERM, che ha messo insieme una banca di materiale genetico, proteine, cellule, tessuti e fluidi biologici, il tutto associato con una gran quantità d'informazioni scientifiche. Un ausilio potentissimo per tutti i progetti di ricerca in cui l'importanza dei risultati dipende dal numero di casi in esame. Naturalmente, perché le conclusioni abbiano significato occorre che i materiali biologici vengano raccolti e conservati tramite procedimenti standard: altrimenti vengono a mancare l'uniformità necessaria per i confronti, la garanzia di qualità e l'integrità dei campioni stessi. In poche parole, essi devono essere simili il più possibile a quelli appena raccolti. D'altra parte le sostanze che costituiscono il metaboloma sono in genere estremamente sensibili alle condizioni in cui vengono trattate e immagazzinate. I metaboliti possono subire trasformazioni chimiche rapidissime per effetto d'eventuali enzimi residui. Tenendo conto di questo, il CERM collabora con la biobanca europea Da Vinci, situata anch'essa a Sesto Fiorentino, applicando la metabolomica basata sull'NMR del protone alla ricerca delle procedure più adatte a raccogliere, trasportare e conservare materiale biologico. Lo scopo è mettere protocolli di crioconservazione e di funzionamento delle biobanche a disposizione di tutto il mondo della ricerca nel settore.

### Che cosa la diverte di più nel suo lavoro?

È proprio il fare una ricerca che ti porta a capir qualcosa di nuovo nei meccanismi materiali della vita. Per esempio, col professor Claudio Luchinat stiamo studiando il collagene. Se il collagene viene danneggiato, nascono molte patologie. Eh!... riuscire a scoprire quali specie catalizzano la sua degenerazione! Quasi a ogni articolo scientifico che pubblichiamo in questo settore, diamo un contributo alla conoscenza di come funzionano la salute e la malattia. La

soddisfazione è grande. All'inizio della mia carriera professionale sono partito col treno della chimica di coordinazione, che poco prima del 1970 era all'apice, era la scienza di frontiera. Era una bella ricerca, però desideravo aiutare di più l'umanità: più che con i contributi che davo allo studio dei processi catalitici applicabili sia all'indagine scientifica in sé sia all'industria. Così, da chimico inorganico, ho cominciato a studiare i metalli nei sistemi biologici, e mi sono divertito e mi diverto davvero.

© RIPRODUZIONE RISERVATA

### bibliografia

- S. Polvani, M. Calamante, V. Foresta, E. Ceni, A. Mordini, A. Quattrone, M. D'Amico, C. Luchinat, I. Bertini, A. Galli, *Gastroenterology*, 2011, 140, 709-720.
- Bertini, I. C. Felli, L. Gonnelli, M. V. Vasanth Kumar, R. Pierattelli, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2011, 50, 1-4.
- L. Banci, I. Bertini, S. Ciofi Baffoni, T. Kzyreva, P. Palumaa, *Nature*, 2010, 465, 645-648.
- I. Bertini, G. Cavallaro, K. S. McGreevy, *Coord. Chem. Rev.*, 2010, 254, 506-524.
- P. Turano, D. Lalli, I. C. Felli, E. C. Theil, I. Bertini, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, 107, 545-550.
- M. Mori, F. Kateb, G. Bodenhausen, M. Piccioli, D. Abergel, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, 132, 3594-3600.
- T. Madl, I. C. Felli, I. Bertini, M. Sattler, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, 132, 7285-7287.