2022 20 giugno – 1° luglio

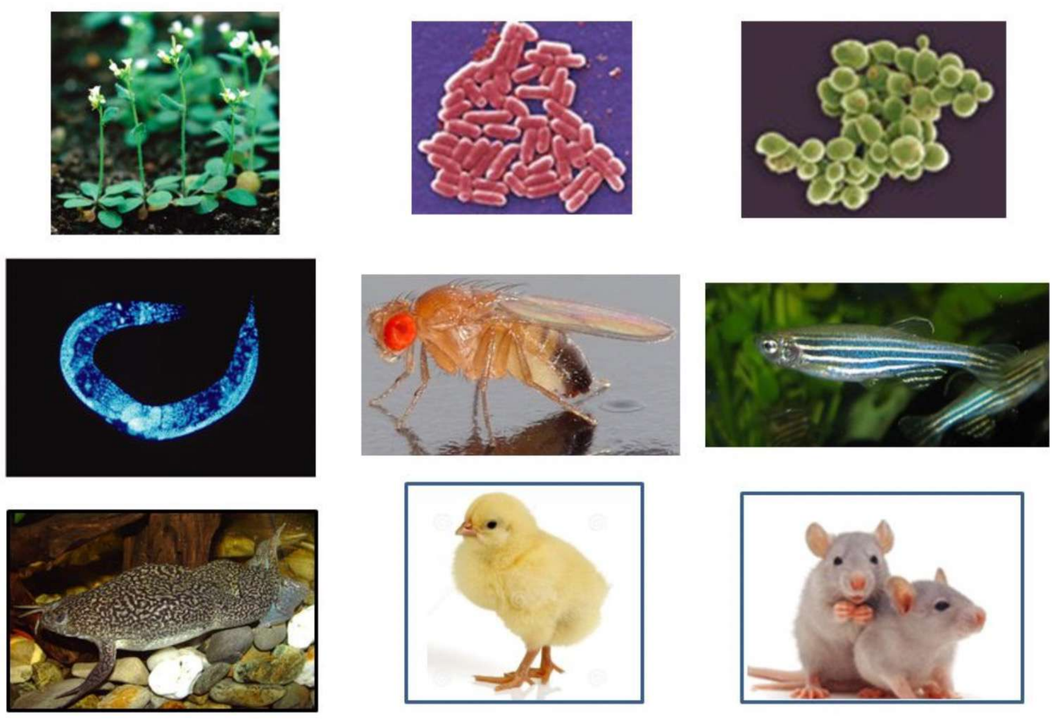
Dipartimento di Biologia

Stage DiBio

Attività di mercoledì 29 giugno: Preparazione poster

Descrivi le linee di ricerca nel laboratorio del tuo tutor – docente

Organismi modello

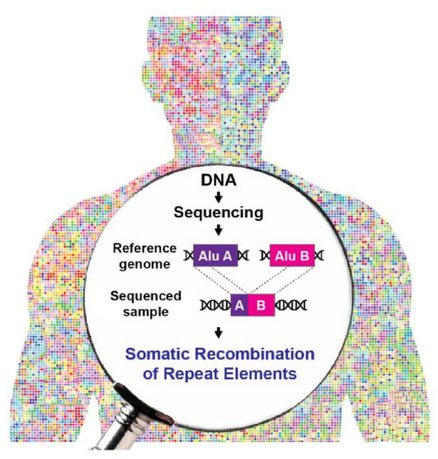


Drosophila melanogaster

Biologia vegetale

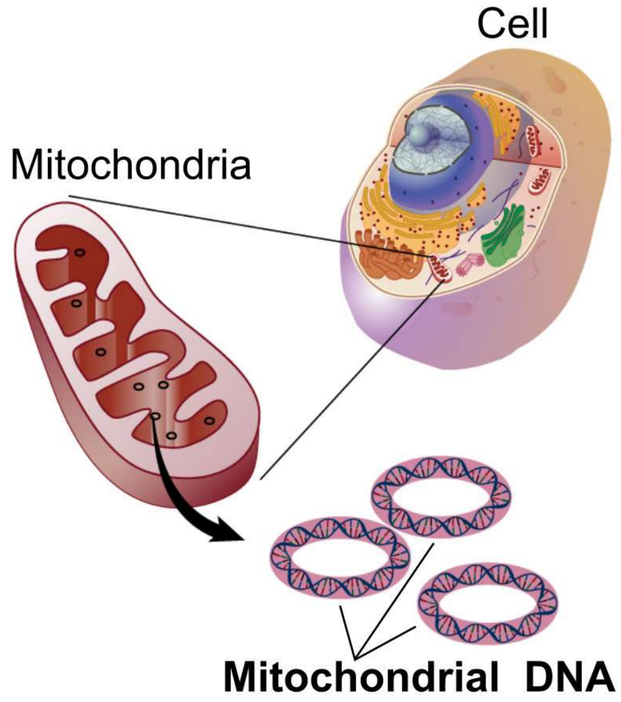
Genomica & Informatica

Genomica umana



Ecologia

Organelli bioenergetici



GLI ORGANISMI MODELLO

Unità di ricerca: Biologia cellulare e genetica dello sviluppo

Anna Gaetan, Giulia De Angeli, Stefano Bazzo, Aurora Facchin, Mihret Coccioli, Silvia Fasolato.

Un organismo modello è un organismo studiato per comprendere particolari fenomeni biologici, in base al presupposto che le acquisizioni fatte sull'organismo modello possano fornire indicazioni sugli altri organismi.

CARATTERISTICHE
- poco costoso e facile da allevare,
- piccole dimensioni,
-sicuro,
-facile da reperire,
- sviluppo rapido con ciclo vitale breve,
- progenie numerosa,
- otticamente accessibile,
- genoma compatto.

ZEBRAFISH
- pesce tropicale d'acqua dolce
- vertebrato
- cordati
- lavora a temperature simili a quelle umane
- differenze maschi e femmine

Analisi comportamento degli zebrafish nei rapporti maschio-femmina
- Come avviene la scelta del maschio da parte della femmina?
- Come influisce il fluido ovarico sugli spermatozoi?

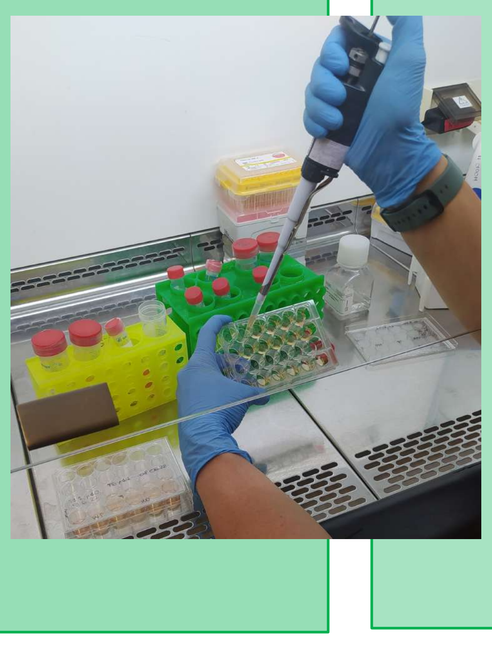
PCR

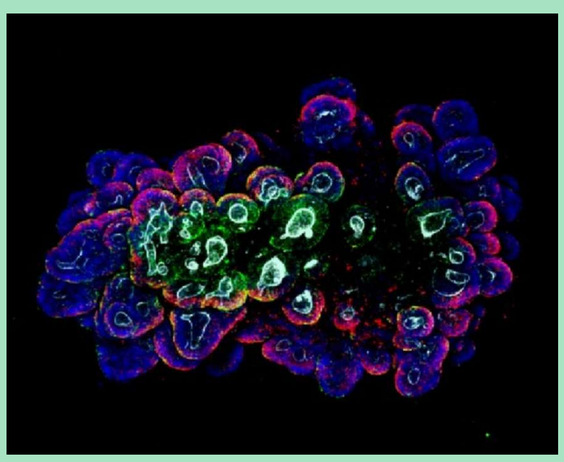
La reazione a catena della polimerasi (PCR), è una tecnica di biologia molecolare che consente l'amplificazione di frammenti di acidi nucleici dei quali si conoscono le sequenze nucleotidiche iniziali e terminali. Questa tecnica consente di ottenere in vitro molto rapidamente la quantità di materiale genetico necessaria per le successive applicazioni.

TOPO

Il topo viene utilizzato come organismo modello per lo studio delle vie molecolari coinvolte nell'infezione immunitaria causata dal cancro al colon-retto.
Lo studio si occupa:
- dei meccanismi che compromettono la presentazione dell'antigene MHC-II e il recettore CD300e
-il rapporto tra epitelio intestinale e sistema immunitario

Col termine "organoidi" si intendono strutture multicellulari tridimensionali derivanti da cellule staminali pluripotenti indotte in grado di riprodurre l'architettura di organi e tessuti umani permettendo così lo studio di un ampio spettro di malattie.

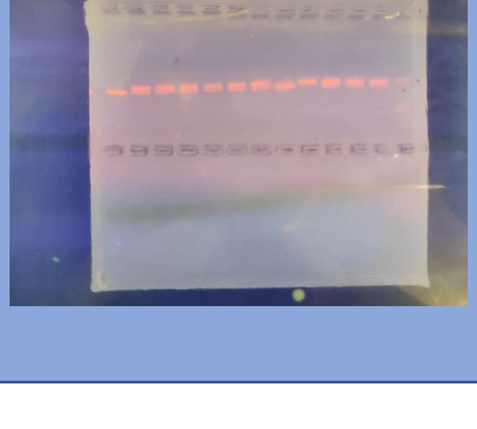




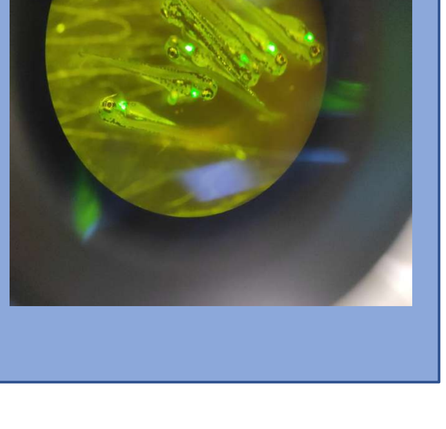
Genotyping

E' il processo per determinare le differenze nella composizione genetica di un organismo, confrontandola con quella di un altro.
Questa tecnica permette di rivelare gli alleli che un individuo ha ereditato dai suoi genitori, evidenziando eventuali patologie:

malattie mitocondriali



miocardie



2022 20 giugno – 1° luglio Dipartimento di Stage DiBio

DROSOPHILA MELANOGASTER

Il moscerino della frutta

La Drosophila Melanogaster, più nota come il moscerino della frutta, è un organismo modello allevato nei laboratori per studiare in maniera più semplificata il genoma umano. In particolare:

-la genetica del comportamento
-il ciclo circadiano
-le malattie neurodegenerative

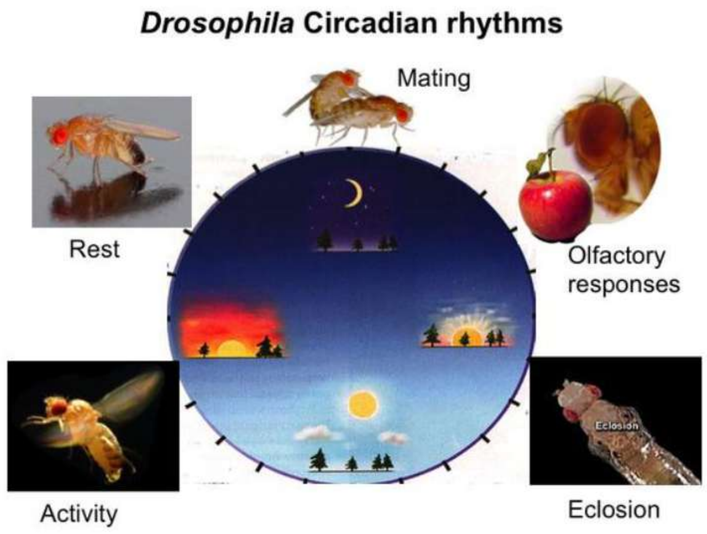
Ricerca del Dott. Agostini

-Soggetto di studio: proteina DJ-1
-Se questa proteina non funziona causa il Parkinson
-Studia l'effetto della mancanza di questa proteina a livello dell'autofagia
-L'autofagia è un processo fondamentale che distrugge componenti cellulari vecchi
-Quindi, l'attività di DJ-1 influenza il funzionamento dell'autofagia? Se si come?

Struttura della proteina DJ-1

Il Ciclo Circadiano

-Il ciclo dura circa 24h e si ripetono certi processi fisiologici
-I ritmi circadiani del moscerino hanno schemi bimodali
-Il picco è dall'alba al tramonto
-si adatta alle fasi della gionata
-E' fondamentale per la salute psico-fisica

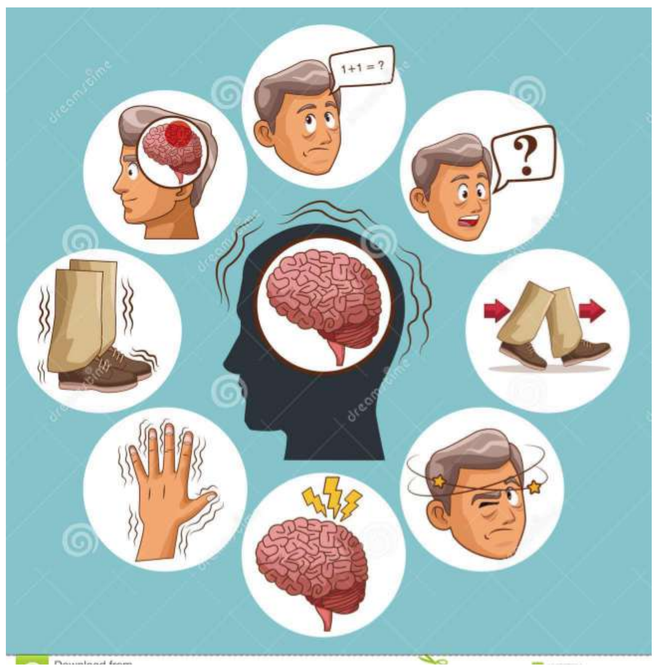


Drosophila di sesso maschile

Drosophila di sesso femminile (vergini)

Il Parkinson

-È un disturbo cerebrale che provoca movimenti involontari
-I sintomi iniziano gradualmente e peggiorano con il tempo
-Le persone più a rischio sono gli uomini in età avanzata (50-60 anni)
-Le forme di Parkinson sono spesso, ma non sempre, ereditarie. Posso essere anche sporadiche
-Si manifesta quando i neuroni dopaminergici e le terminazioni che producono noradrenalina vengo danneggiati o distrutti



Ricerca della Prof.ssa Mazzotta

- E' stato inserito all'interno di tubicini ciascun moscerino maschio selezionato
- Si inseriscono i moscerini all'interno di celle, in cui viene alterato il periodo di buio e quello di luce
- Un raggio puntato al centro del tubicino segnala quando questo si muove. Se il moscerino sta fermo 5 o più minuti significa che sta dormendo
- Lo scopo dell'esperimento è quello di determinare l'effetto della variazione dei periodi di buio e luce sulle funzioni fisiologiche dei moscerini

Creato da:

Raju D'Angelo[1]
Giada Daniele[2]
Marta Terrazzan[3]

Created with BioRender Poster Builder

1: LAS Amedeo Modigliani 2: IS Max Planck 3: IIS Pietro Scalcerle

2022 20 giugno – 1° luglio

Dipartimento di Biologia

Stage DiBio

BIOLOGIA VEGETALE

Chiara Benvegnù[1]
Nicole Bertoldini[2]
Andrea Caronia[3]
Teresa Mion[4]
Vanessa Rossi[5]
Matilde Ruffino[6]

Analisi dell'impatto degli inquinanti sui cianobatteri e isolamento delle diverse specie di alghe dai campionamenti.

Estrazione delle ficobilirproteine da coltivazioni di cianobatteri.

Confronto tra pomodori coltivati in agricoltura biologica rispetto quelli trattati con pesticidi, andando a concludere elecando pregi e difetti dei risultati ottenuti.

Analisi del campione ottenuto dopo aver frullato soluzione bianca con buccia di pomodoro, e dopo la centrifuga

Coltivazione e mantenimento di organismi modello in vitro, quali :"carota, tabacco, soia echinacea e arabidapsi", osservazione di celle prelevate da alcuni calli o colture cellulari,

Studio sullo stress idrico e salino delle piante, cambio del terreno di coltivazione (M/S) per le talle di tabacco all'interno di cappe ed estrazione DNA

osservazione della crescita delle talee ed esaminazione dei terreni di colture cellulari, comprendente un trapianto di alcuni esemplari di tabacco all'interno di nuovi terreni di cultura.

Introduzione all'uso di PCR real time,

ed all'eletttroforesi su gel di agarosio.

Created in BioRender.com bio

[1]Liceo Fogazzaro, Vicenza [2]Liceo Berto, Treviso [3]IIS Ferrari-Fermi, Verona [4]IIS Einstein, Padova [5]Liceo Quadri, Vicenza [6]IIS Veronese-Marconi, Venezia

2022 20 giugno – 1° luglio

Dipartimento di Biologia

Stage DiBio

GENOMICA E BIOINFORMATICA

Boscolo Nata Ilaria — IIS Veronese - Marconi
Crescenzio Pietro — Liceo Scientifico L.B. Alberti
De Benetti Lucia — IIS P.Scalcerle
De Bona Irene — Licei Galilei Tiziano

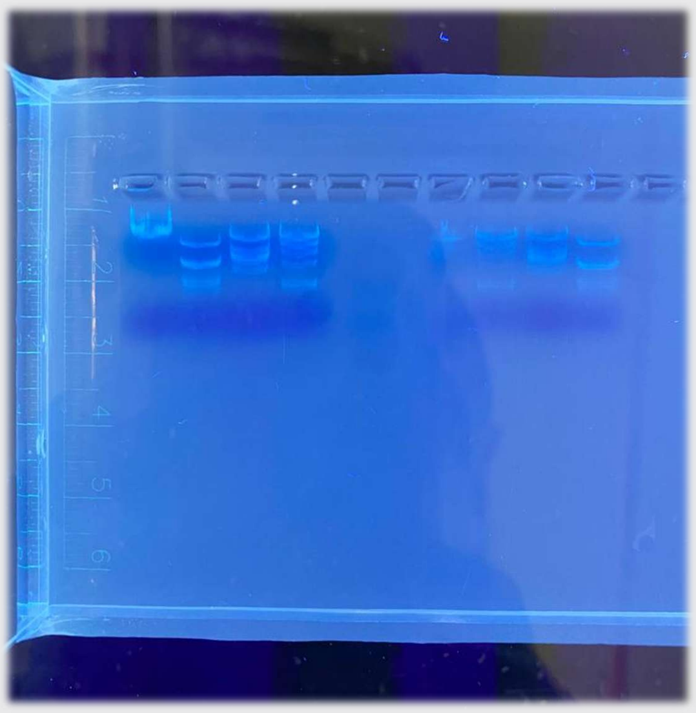
Dall' Università degli Studi di Padova
il professor Occhi Gianluca,
il professor Vezzi Alessandro,
il professor Campanaro Stefano,
la professoressa Rampazzo Alessandra.

INTRODUZIONE

La genomica si occupa dello studio del genoma degli organismi viventi e si basa sulla bioinformatica per l'elaborazione dei dati che produce. La bioinformatica invece è una disciplina scientifica dedicata alla risoluzione di problemi biologici a livello molecolare con metodi informatici.

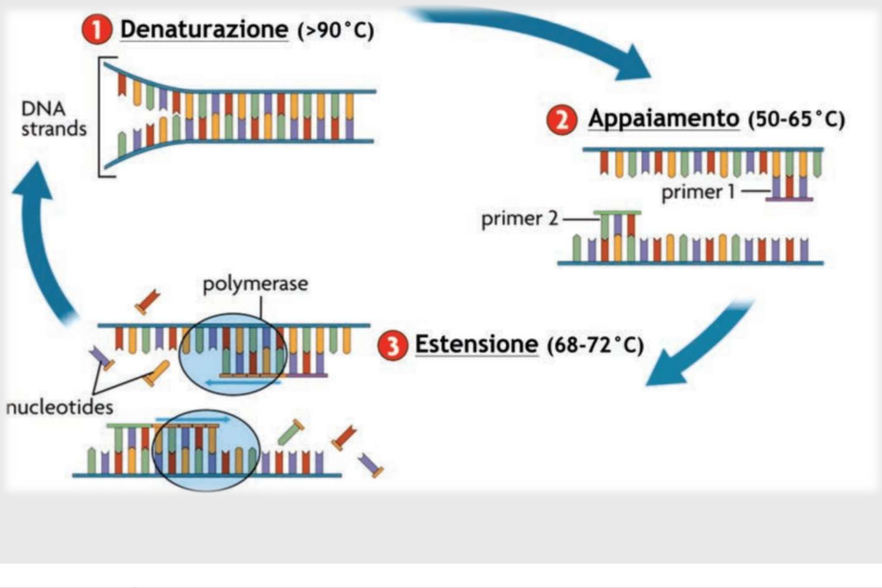
ELETTROFORESI SU GEL

La tecnica dell'elettroforesi su gel, permette di differenziare i segmenti in base alla lunghezza della sequenza nucleotidica.
I frammenti separati sul gel sono molecole funzionalmente attive che possono essere recuperate e impiegate per esperimenti successivi.



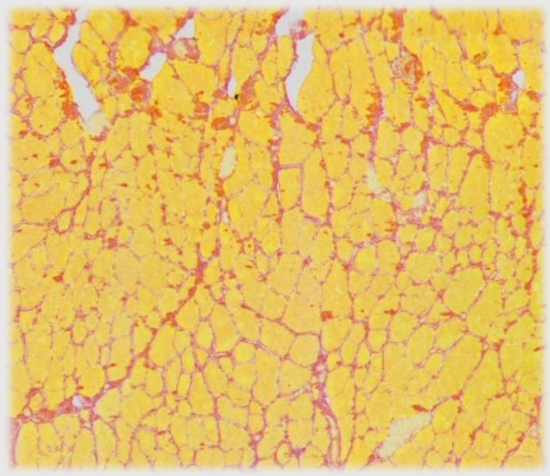
PCR

PCR Consente di ampliare il numero di copie di un gene effettuando cicli successivi di replicazione del DNA. Ogni ciclo della PCR comprende:
1.denaturazione del DNA;
2.appaiamento dei primer ai filamenti stampo;
3. allungamento dei filamenti di nuova sintesi.



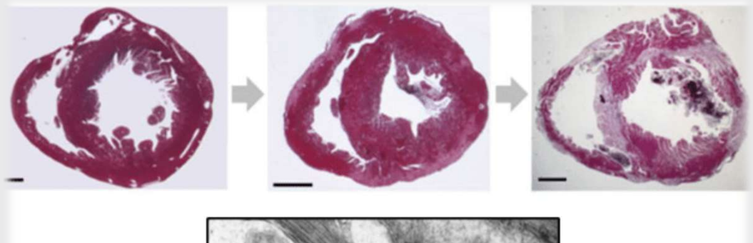
DISTROFIA MUSCOLARE

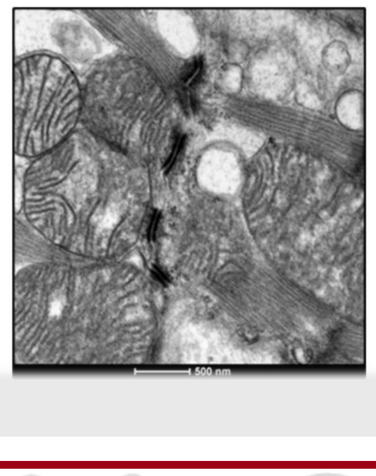
Malattia recessiva legata al cromosoma X causata dalla mutazione del gene della distrofina, indispensabile per la contrazione dei muscoli, che porta alla morte delle fibre muscolari scheletriche sostituite da tessuto fibro-adiposo insieme ad una grave infiammazione.
In questo studio si è studiata l'efficacia di un nuovo farmaco.



CARDIOMIOPATIA ARITMOGENA

Malattia genetica cardiaca che causa la perdita delle fibre muscolari cardiache sostituite da tessuto fibroso adiporoso. Utilizzando i topi come organismo modello è stato possibile studiare degli organismi transgenici con una mutazione su gene della desmogenina 2 (DSG2) riportata anche nei pazienti.





QUBIT

Il fluorimetro Qubit è uno strumento di laboratorio che serve a misurare la concentrazione di DNA, RNA e proteine estratte. Sfrutta uno spettrometro per misurare la luminescenza dei campioni combinati con dei coloranti fluorescenti.

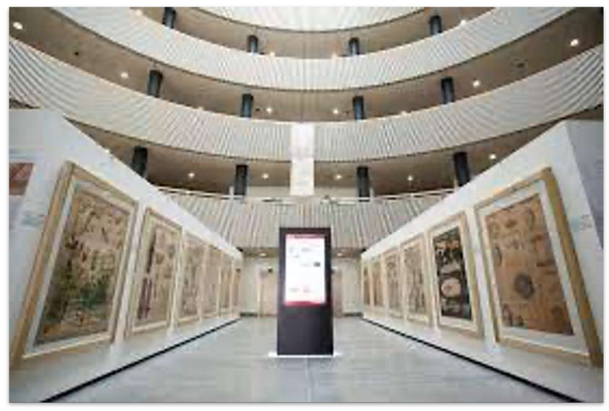
NEXTSEQ 500

Il campione di DNA o RNA estratto viene messo dentro una cartuccia illumina che poi verrà utilizzata dal sequenziatore per l'analisi.

GENOMA DI MICRORGANISMI ANAEROBICI (BIOGAS)

Il protocollo di estrazione del DNA di microrganismi anaerobici è costituito da più fasi: - rimozione dei batteri attaccati al campione iniziale; - lisi cellulare (la distruzione delle membrane cellulari permette la 'liberazione' del DNA) - eliminazione dei residui; - precipitazione e analisi del DNA.

Andrea Toninello[1], Massimo Malchiodi[2], Agnese Micheletti[3]



GENOMICA UMANA

Introduzione:

L'Unità di Genetica Umana Molecolare e Genomica Funzionale è un gruppo di ricerca recentemente costituito con l'obiettivo di integrare due discipline storicamente presenti nel Dipartimento di Biologia, quali la genetica umana molecolare e la genomica funzionale.

La genomica funzionale è un campo della biologia molecolare che ha come obiettivo principale quello di descrivere le funzioni dei diversi geni e dei loro prodotti grazie all'utilizzo delle grandi moli di dati ottenuti dai progetti di sequenziamento genomici e trascrittomici. In questo ambito l'attività di ricerca dell'Unità si concentra su due grandi temi:

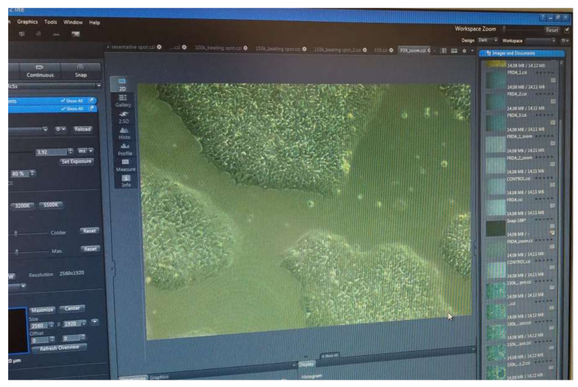
- lo studio della variazione trascrizionale del muscolo scheletrico e cardiaco in stati patologici come l'atrofia/ipertrofia, le malattie infiammatorie, le distrofie e i tumori;
- lo sviluppo di nuove procedure, software e modelli per l'analisi e l'integrazione di grandi quantità di dati genomici.

La genetica umana, studia invece la struttura e la funzione dei geni nonché i meccanismi molecolari attraverso i quali specifiche caratteristiche biologiche sono ereditate ed espresse nell'uomo. Fra i principali scopi di questa disciplina vi è quello di chiarire il ruolo dei geni e delle loro mutazioni nella determinazione di caratteri fenotipici e in particolare delle malattie ereditarie sia mendeliane che complesse, tra cui il cancro.

Andrea Toninello
Tutor: Prof.ssa Bellin

Agnese Micheletti
Tutor: Prof. Lanfranchi

Massimo Malchiodi
Tutor: Prof. Vitiello



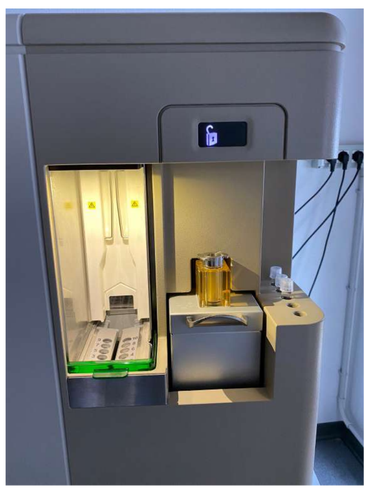
Cellule IPS al microscopio che crescono unite in piccoli gruppi, le "colonie"

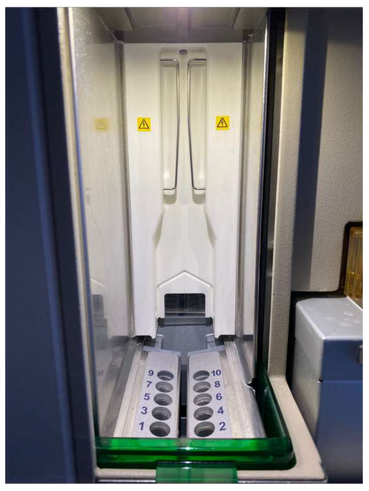
La prof.ssa Bellin nel suo laboratorio studia le malattie genetiche che colpiscono il cuore, causando cardiopatie e disturbi del ritmo cardiaco. Lo fa utilizzando la tecnologia delle IPS, ossia cellule prelevate dalla pelle dei pazienti malati e che vengono poi rese staminali in laboratorio e poi moltiplicate e usate per ricreare mini tessuti cardiaci su piastre di coltura.

Cellule IPS che stanno diventando miociti del cuore dentro l'incubatrice e cappa a flusso laminare (sotto) per manipolare le cellule e i loro terreni di coltura

Questi micro tessuti sono quasi identici al tessuto del cuore del paziente che ha fornito le cellule originali e quindi possono essere usati per studiare la malattia e/o per cercare una cura specifica

In uno dei laboratori del prof. Lanfranchi è utilizzato il **citometro**.

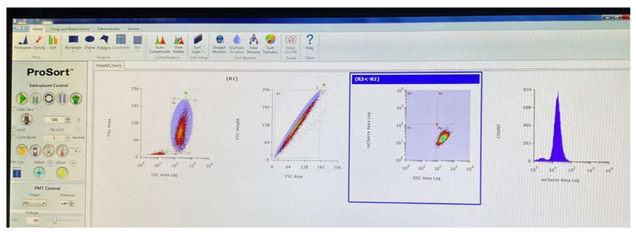




La **citometria** è una tecnica di laboratorio che utilizza un fascio di luce laser per la rilevazione, il conteggio, la caratterizzazione e, utilizzando strumenti avanzati, la separazione di cellule in sospensione.

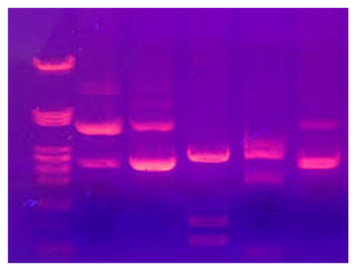
Il **citometro** è in grado di misurare contemporaneamente alcuni parametri morfologici derivanti dall'attraversamento di singole cellule da parte di un fascio di luce laser.

Questi parametri sono indicati in grafici di questa tipologia.



il prof. vitiello con il suo gruppo di ricerca lavora sulla cardiomiopatia, e nello specifico per trovare delle sostanze che rendano migliore la qualità della vita di chi ne soffre

per questo si sono utilizzati come organismi modello dei topi geneticamente modificati per avere i geni responsabili della malattia attivi (che sono gli stessi che la causano nell'uomo)



per riuscire a distinguere i topi sani da quelli malati sono state utilizzate la tecnica della PCR e dell'elettroforesi su gel combinate

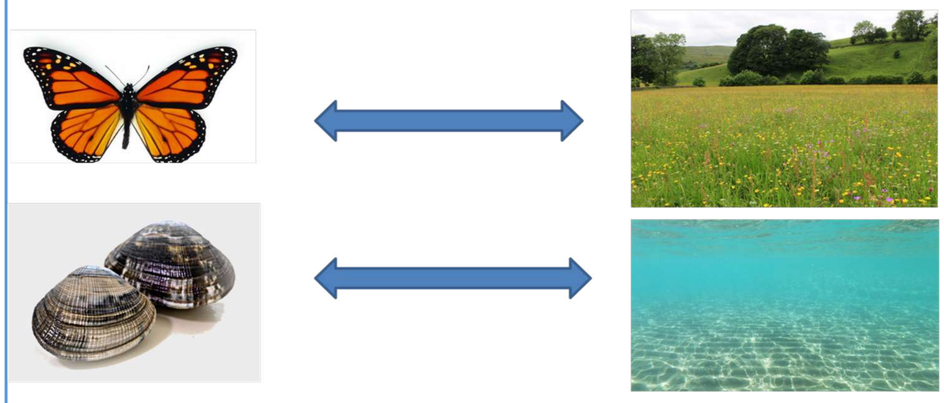
per poter costruire i vetrini con il tessuto cardiaco da osservare al microscopio è stato utilizzato questo strumento:il criostato

1: IIS Cattaneo-Mattei
2: IIS Copernico-Pasoli
3: Liceo Berto

ECOLOGIA

Analisi di DNA nelle popolazioni

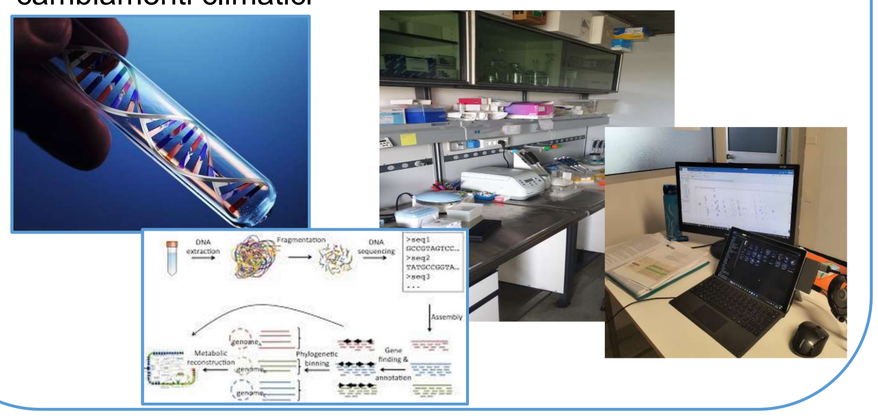
L'**ecologia** è una branca della biologia, focalizzata nello studio che intercorre tra gli organismi e l'ambiente



Analizza le specie presenti in un dato ambiente naturale, il rapporto che incorre tra di loro e il numero dei vari individui

OBIETTIVI:

- quantificare la variabilità genetica
- variazione di specie nel tempo
- monitoraggio della biodiversità…
- studio sull'adattamento delle popolazioni in rapporto ai cambiamenti climatici



Campionamento

Uscite sul campo per la ricerca di esemplari della specie da studiare;

Dopo aver raccolto vari esemplari si procede con l'isolamento della specie interessata allo studio.

Più esemplari si raccolgono e più saranno precise le analisi successive.

vogliamo

- isolamento delle cellule
- lisi della membrana
- isolamento dell'acido nucleico
- preparazione del campione a base dna

PCR

Elettroforesi in gel

Ricerca biodiversità- Organismi Antartici

•Versare in una vaschetta, dove è stato appoggiato un pettine, il gel di agarosio
•Una volta solidificato, togliere il "pettine" in modo che si formino dei pozzetti
•Deporre il gel in una apposita vasca e coprirlo con una soluzione tamponata

•Inserire nei pozzetti la soluzione di DNA dove è stato aggiunto un colorante e della fluorescenza (in un pozzetto si inserisce la soluzione priva di DNA)
•Applicare un campo elettrico che porta il DNA a migrare verso il polo positivo a velocità variabile

Morfologia

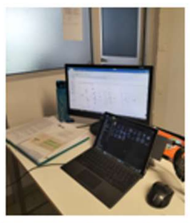
100piedi e farfalle

Per poter verificare come le due specie siano diverse in un luogo rispetto in un altro è importante il **CONFRONTO**.
Si esegue a livello:
•Morfologico
•DNA

Spettri NMR

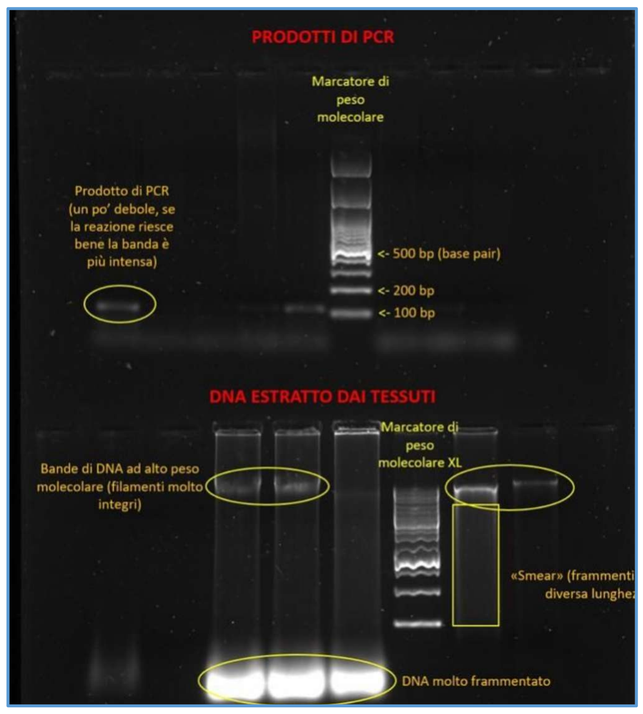
Adattamento dei molluschi ai cambiamenti climatici

Si tratta di una tecnica analitica usata per capire la composizione chimica e molecolare del campione, attraverso radiazioni magnetiche. Serve per quantificare la presenza di proteine, lipidi e acidi nucleici.



•Preparare i campioni ricavati dalle ostriche
•Attraverso l'utilizzo dello spettofotometro ricavare il grafico
•Leggere il grafico per capire le varie vie metaboliche attraverso la concentrazione degli acidi nucleici, proteine e lipidi

RISULTATO



Chiara Besazza [1], Giorgia Prando [2], Lara Fongher [3], Patrick Viel [4], Marta Ancora[5], Giacomo Abadianni[6], Elia Marchesin[7]

1. IS Max Planck - Villorba (TV), 2. Liceo Cornaro - Padova, 3. ITBA Vendramin-Corner - Venezia, 4. IIS Einstein - Piove di Sacco (PD), 5. IS Giorgi-Fermi - Treviso, 6. Liceo Alberti - Abano Terme (PD), 7. Liceo Quadri - Vicenza

ANALISI MITOCONDRIALE

INTRODUZIONE

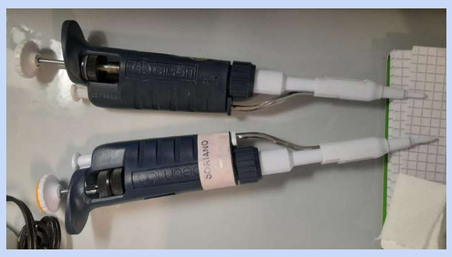
Analisi e studio di organelli bioenergetici, in particolar modo i mitocondri, e i vari ambiti di applicazione

OBIETTIVI

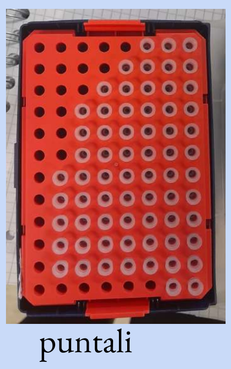
- Studio delle malattie mitocondriali nel processo dell'embriogenesi
-Purificazione proteine
-Analisi della comunicazione tra i mitocondri e il reticolo endoplasmatico con la segmentazione dell'immagine
-

QUANTIFICAZIONE DEL DNA

campioni di DNA



pipette a singolo canale



puntali

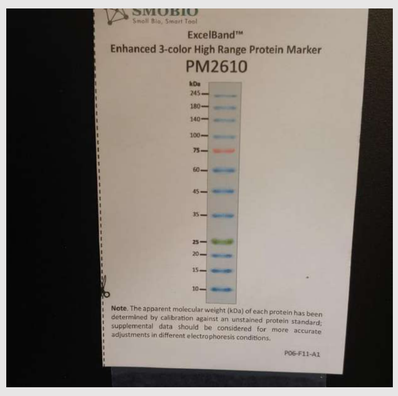
nanodrop

Attraverso l'utilizzo dello spettrofotometro NanoDrop abbiamo potuto verificare la purezza del campione, confrontando i valori ottenuti con gli indici di contaminazione

ESPRESSIONE E PURIFICAZIONE DELLE PROTEINE

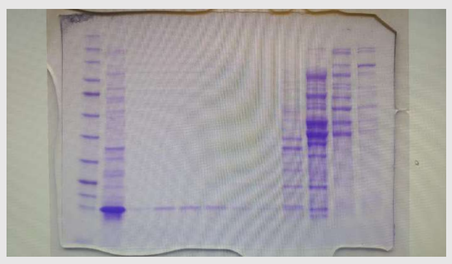
L'espressione dele proteine è stata svolta attraverso un vettore, in questo caso E.coli.

Su un gel di membrana si potevano visualizzare delle bande di diverso colore, più o meno intenso.
In questo gel di membrana nell'asse delle ascisse si trovavano le diverse fasi in cui le proteine sono state portate e sull'asse delle ordinate i diversi livelli del marcatore proteico ad alto range.



leggenda marcatore proteico ad alto range

schema proteine su gel di membrana



Lo scopo dell'esperienza era riuscire a rendere la proteina pura solamente in una banda che corrisponde a circa a 15kDa, dopo averla fatta passare attraverso varie fasi.

SEGMENTAZIONE DELL'IMMAGINE

Dalle immagini che si ricavano dall'operetta bisogna fare la segmentazione per poterle successivamente analizzare.

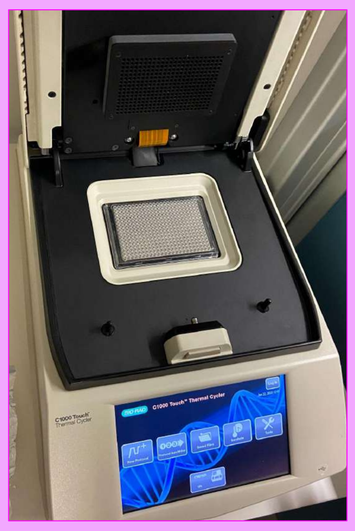
1. Si sceglie l'**oggetto**
2. **Parametri:**
   a. morfologia
   b. sfericità
   c. area
   d. volume
   e. spessore
   f. n° di frammentazione
3. **Proprietà texture** (ovvero proprietà che descrivono come l'intensità di fluorescenza è distribuita in una determinata porzione dell'immagine)
   es
   a. Spot
   b. Hole
   c. Edge
4. Intensità **TRM**(= Tomografia a Risonanza Magnetica)
5. Si rimuove il background
6. Si fa partire l'analisi dopo aver controllato che funzioni con altre immagini.

Microscopio operetta e il computer

AMPLIFICAZIONE E QUANTIFICAZIONE DEL DNA

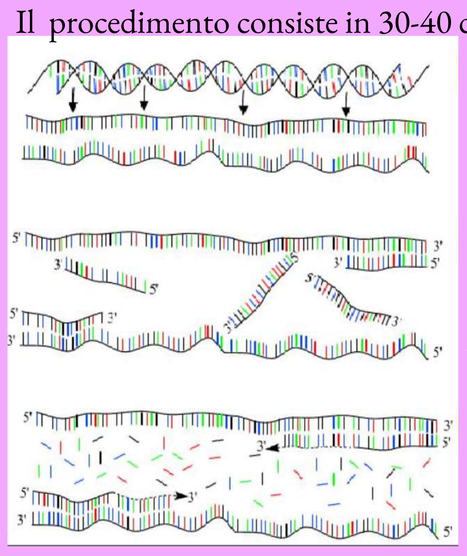
Metodo utilizzato: **REAL TIME PCR**-reazionedi polimerizzazione a catena

A differenza della PCR convenzionale, nella PCR in tempo reale l'accumulo del prodotto di amplificazione viene quantificato dopo ogni ciclo



Campioni a diversa concentrazione all'interno del termociclatore

Il procedimento consiste in 30-40 cicli di 3 step:

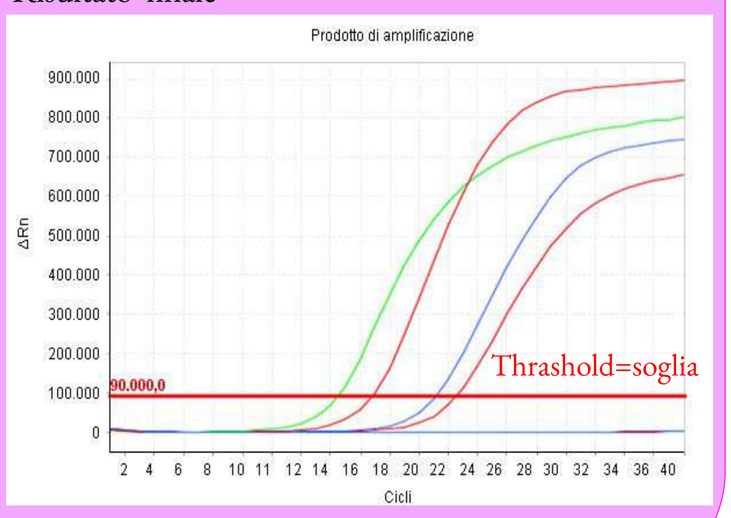


1: **Denaturazione**
1 minuto 94°C

2: **Appaiamento**
45 secondi 54°C

3: **Estensione**
2 minuti 72°C

Risultato finale



Mescolin Camilla, Edoardo Sforzin,
Elena Bertani, Matilde Knijff