

## ELENCO LABORATORI DI RICERCA DEL DIPARTIMENTO

I Laboratori di Ricerca fanno riferimento alle tre Sezioni del Dipartimento DiSCOG e sono dislocati in edifici diversi come di seguito indicati:

### Sezione di Oncologia e Immunologia, Ospedale Busonera-IOV

- **Stabulario** (*Responsabile Prof Antonio Rosato*), attrezzato per ospitare circa 6.000 topi in sperimentazione e allevamento; classificato come SPF; dotato di una stanza P3 con dispositivo di isolamento Microcage per il contenimento di agenti patogeni; attrezzato per tecniche di “embryo transfer”. E' dotato di una piattaforma estremamente avanzata per l'imaging nei piccoli animali, comprendente: 1)una apparecchiatura di fluorescenza (ExploreOptics, GE) e uno strumento in tomografia computerizzata (ExploreLocus, GE); 2) una apparecchiatura per la bioluminescenza (Lumina II, Perkin-Elmer).
- **Laboratorio di Biosicurezza di livello 3 (BL3)** (*Responsabile Prof.ssa De Rossi*). E' di circa 200 mq, è attrezzato e abilitato per la manipolazione di agenti biologici di gruppo di rischio 3°. E' inoltre accreditato dal Ministero della Salute per l'impiego di microorganismi geneticamente modificati di classe 3. Il laboratorio BL3 è dotato di cinque cappe BioHazard, tre dedicate alla preparazione di colture cellulari e due alla produzione di microorganismi geneticamente modificati, quattro incubatori, due ultracentrifughe, un congelatore (-80°C), due congelatori (-20°C), due combinati (+4°C/-20°C) per lo stoccaggio dei reagenti. La presenza di un'autoclave passante permette la decontaminazione di tutto il materiale utilizzato in BL3 e da eliminare. Il laboratorio ospita più di 30 persone afferenti a DiSCOG (personale strutturato, specializzandi, dottorandi, borsisti/contrattisti) ed e' disponibile anche per ricercatori esterni, appartenenti all'Universita' di Padova o ad altre strutture.
- **Laboratorio di Citofluorimetria**. E' dotato dei più recenti e avanzati strumenti di citofluorimetria a flusso, sia per l'analisi policromatica fino a 18 colori, sia per effettuare separazioni di popolazioni cellulari fino a 6 vie. Gli strumenti presenti sono:
  - Citofluorimetro a flusso LSRII (Becton Dickinson) equipaggiato con 4 laser per analisi multiparametrica a 18 colori.
  - Citofluorimetro a flusso MOFLO Astrios (Beckman Coulter) dotato di 5 laser e modulo sorter a 4 vie.
  - Citofluorimetro a flusso FACSCalibur (Becton Dickinson) con 2 laser per analisi a 4 colori.
  - Citofluorimetro a flusso Epics XL (Beckman Coulter) dotato di 1 laser per analisi a 2 colori.

Il laboratorio inoltre è dotato di strumenti per analisi di routine (FACSCalibur e Epics XL).

- **Laboratorio di Genomica funzionale** (*Responsabile dott.ssa Susanna Mandruzzato*). E' possibile eseguire analisi a livello di RNA e di DNA anche con servizio a pagamento per clienti esterni al nostro Dipartimento. Dal 2003 ad oggi abbiamo accumulato un'esperienza di ibridizzazione di oltre 700 chips di espressione, comprendenti l'analisi di geni, miRNA ed esoni utilizzando campioni umani, murini, di ratto e di lievito. Più recentemente abbiamo inoltre attivato il nuovo kit di analisi per Oncoscan FFPE, dedicato all'analisi del “copy number” e di perdita di eterozigosi (LOH) di campioni di tumore solido in cui il DNA è degradato dall'inclusione in paraffina. Il nostro servizio inoltre utilizza il saggio DMET che costituisce l'attuale golden standard per gli studi di farmacogenetica che consente di scoprire i biomarcatori di sensibilità ad un farmaco, di identificare la popolazione di pazienti a

rischio di eventi avversi, di ottimizzare la selezione dei pazienti da arruolare nei trial clinici e di investigare il meccanismo di azione dei farmaci.

Infine nel laboratorio di genomica funzionale è possibile eseguire analisi di mutazioni e stato di metilazione a livello di DNA mediante pirosequenziamento.

E' attrezzato con i seguenti strumenti:

- Piattaforma Affymetrix per l'analisi di acidi nucleici costituita da forno di ibridazione, modulo per la marcatura dei microarray, scanner per la lettura degli array e software per l'acquisizione dati.
- Stazione di ibridazione a-Hyb (Miltenyi Biotec) per l'analisi dei microRNA .
- Strumento per Real-time PCR 7900HT (Applied Biosystems).
- Strumento per Real-time PCR Light Cycler 480 II (Roche).
- Pirosequenziatore Q96 (Quiagen).

- **Laboratorio di Batteriologia molecolare.** In questo laboratorio si esegue l'amplificazione e la produzione di plasmidi codificanti per vettori retrovirali e lentivirali. Gli strumenti disponibili comprendono: una autoclave, una ultracentrifuga Optima L-90K, una ultracentrifuga Avant J-25, una ultracentrifuga Sorval RC-5B, una cappa biohazard per rischio biologico, un agitatore/rotatore Heidolph, una centrifuga da banco eppendorf ed un incubatore da piastre.
- **Laboratorio 1 di Biosicurezza livello 2.** In questi laboratori si eseguono trasfezioni di vettori ad espressione eucariotica di tipo non virali e la trasduzione di tipi cellulari con vettori retrovirali. Gli strumenti disponibili comprendono: una cappa a triplo stadio di filtrazione assoluta di Classe II Steril-CTH con la canalizzazione verso l'esterno del locale della quota d'aria in espulsione, e tre cappe di sicurezza biohazard di classe II Steril-VBH, quattro incubatori da laboratorio a CO<sub>2</sub>, due centrifughe, un contatore "Countess" della ditta Invitrogen e due microscopi ottici.
- **Laboratorio 2 di Biosicurezza livello 2 :** Il laboratorio P2 è dotato di due cappe a triplo stadio di filtrazione assoluta di Classe II Steril-CTH con la canalizzazione verso l'esterno del locale della quota d'aria in espulsione, e due cappe di sicurezza biohazard di classe II Steril-VBH, 3 incubatori da laboratorio a CO<sub>2</sub> Heraeus e uno della ditta Thermo-Scientific, un microscopio Olympus, due centrifughe (Jouan BR4 e Heraeus Megafuge 1.0R), un contatore "Countess" della ditta Invitrogen, ed un elettroporatore Microporator Digital-Bio. L'attività svolta in P2 è inerente ai virus oncogeni HHV8/KSHV, EBV e HTLV1, ed a studi di farmacogenetica.
- **Laboratorio di Citogenetica.** Si occupa della ricerca di alterazioni cromosomiche acquisite nelle patologie oncoematologiche mediante analisi citogenetica classica, ibridazione in situ fluorescente (FISH) in metafase e nei nuclei in interfase e multicolor FISH (mFISH). La dotazione tecnologica del laboratorio consta di microscopi a fluorescenza, di un sistema automatico di acquisizione delle metafasi (Metafer, MetaSystems), di software dedicati per la cariotipizzazione (IKAROS, MetaSystems) per l'analisi FISH (ISIS, MetaSystems) e per l'mFISH (MetaSystems).
- **Laboratorio di Immunologia Molecolare.** Dotato della piattaforma CellSearch (Janssen Diagnostics) per l'arricchimento e la conta delle cellule tumorali circolanti (CTC). La piattaforma è l'unica ad aver ottenuto l'approvazione della FDA per l'utilizzo in clinica, nel monitoraggio delle neoplasie metastatiche mammarie, del colon-retto e della prostata. Essa è composta complessivamente da tre blocchi: un sistema di campionamento (CellSave® preservative Tubes); un robot destinato alla concentrazione dei campioni (CellTracks® AutoPrep system) ed un sistema di analisi (CellTracks® Analyzer II) costituito da un

microscopio semiautomatico dotato di lampada a mercurio e del relativo software per lo scanner dei vetrini. La piattaforma può essere utilizzata sia per l'analisi del numero di cellule tumorali circolanti presenti in 7,5 ml di sangue, sia per la purificazione delle stesse cellule da destinare a successive manipolazioni.

**Laboratorio radioisotopi.** Il laboratorio è un'area controllata e sorvegliata, destinata alla lavorazione con sorgenti radioattive non sigillate (Cr51, 3H-timidina, P32, I125) ad accesso limitato al personale autorizzato. È dotato delle seguenti attrezzature: 1) Topcount [Perkin-Elmer, Modello : 9906 6Det ½ (SPC2)] contatore di emissioni beta (per determinazione incorporazione di tracciante radioattivo); 2) Harvester (Packard, Modello: Filtermate 196) raccogliatore di colture cellulari su filtro di quarzo (per la determinazione dell'incorporazione di tracciante radioattivo in vitro); 3) cappa chimica 4) incubatore (Heraeus, Modello: B 5061 EK CO2) per test in vitro di incorporazione radiotraccianti; 5) stufetta per incubazioni a secco

## **Sezione di Chirurgia, Policlinico e Campus Biomedico di Via Orus, 2**

- **Laboratorio di Biologia cellulare**, dislocato presso il piano rialzato del Policlinico (*responsabile Prof Cillo*). Gli strumenti in esso presenti sono: 1 cappa gelaire a flusso laminare per colture cellulari, 2 incubatori per colture cellulari heraeus bbd40, 1 real time per applied biosystem, 1 tissue lyzer per omogenizzazione campioni
- **Laboratorio di Biologia molecolare** per la gestione della biobanca della Clinica Chirurgica I. Dislocato al piano rialzato del Policlinico è di circa 18 mq ed è attrezzato per la manipolazione, lo stoccaggio temporaneo ed il controllo qualità di tessuti ed emoderivati della biobanca della Clinica Chirurgica I. Gli strumenti presenti sono: due centrifughe refrigerate per la manipolazione di sangue, un congelatore -20°C e uno combinato +4°C/-20°C per lo stoccaggio temporaneo di emoderivati e reagenti, un tank locator 4plus per lo stoccaggio temporaneo di biopsie in azoto liquido, uno spettrofotometro (Beckmann), un termociclatore e un termociclatore per qPCR (Applied Biosystem, 7300 Real-Time PCR System) per il controllo qualità, una cappa BioHazard, un incubatore, un lettore per piastre a 96 pozzetti, un microscopio (VIS+UV) laborlux S Leitz e un microscopio invertito DMIRB Leica dedicati alle colture cellulari.
- **Laboratorio di Biologia Molecolare, Biosequencing Core e Banca Tissutale**, dislocato presso il Campus Biomedico di Via Orus. Il laboratorio è dedicato in parte alla biologia molecolare e a questo proposito sono presenti tutti gli strumenti idonei tra cui uno strumento per la Real-Time PCR (light Cycler .Roche) un termociclatore (T Personal Biometra) e uno spettrofotometro per nano-quantità (Nanodrop 1000). Esiste una zona dedicata al sequenziamento (Sequenziatore 3130x –Applied Biosystem). Sono presenti inoltre una cappa dedicata per attività con derivati biologici (Cytosafe –N, Faster) e due cappe chimiche; 2 centrifughe refrigerate e un disgregatore di tessuti (Mixer Mill). Fanno riferimento al laboratorio, in quanto costituenti la Banca Tissutale: n. 5 freezer – 80°C ; 1 freezer -40°C; 1 frigo combinato +4/-20°; 2 frigoriferi +4°C da banco; Contenitori criogenici Autofill K24 e K10 a carica automatica; 5 contenitori criogenici a carica manuale.
- **Laboratorio di Bio-Ortopedia**, dislocato presso la Clinica Ortopedica. L'attività del laboratorio è focalizzata sullo studio dei meccanismi cellulari e molecolari alla base dei principali processi fisiopatologici dei tessuti muscolo-scheletrici. Contiene la strumentazione e le apparecchiature per la biologia cellulare (cabina a flusso laminare verticale, Incubatore a CO2, Microscopio rovesciato, Agitatore con cupola termostatica, Omogenizzatore, Spettrofotometro UV/VIS, Centrifuga refrigerata, Frigorifero +4°C,

Frigorifero -30°C tropicalizzato, bagno termostatico, Dewar 34 lt), biologia molecolare Gene AMP PCR system, Cella elettroforetica) e analisi morfologiche (Microtomo per inclusioni in paraffina, Bagno stendifette, Piastra asciugavetrini, Microscopio ottico da laboratorio, Stufa per paraffina)

### **Sezione di Gastroenterologia, Monoblocco e Campus Biomedico di Via Orus, 2**

- **Laboratorio di Gastroenterologia**, dislocato al VI piano del Monoblocco – Azienda Ospedaliera di Padova. Gli strumenti di rilevante interesse presenti sono: un HPLC Waters Alliance 2695; una Ultracentrifuga J2-21M/E Beckman; un Real Time Sequence Detection System ABI Prism 7900 HT (situato presso Bunker Semeiotica - contributo all'acquisto).
- **Due laboratori di Biologia molecolare**, dislocati presso il Campus Biomedico di Via Orus. Gli strumenti di rilevante interesse presenti sono: un Sistema fotodocumentativo Uvitec Alliance Mini; un Bioanalizzatore Agilent 2100; uno Spettrofotometro di Assorbimento Atomico- Perkin Elmer 3100.