



UNIVERSITA'
CAMPUS
BIO-MEDICO
DI ROMA

Laboratori di ricerca comuni del Centro Integrato di Ricerca dell'Università Campus Bio-Medico di Roma

Il Centro Integrato di Ricerca (CIR) promuove la ricerca dell'Ateneo e facilita le sinergie tra le diverse Unità di Ricerca (UR) e in generale fra le diverse discipline.

Questo modello permette un proficuo scambio di idee tra ricercatori nei diversi campi, favorendo la creazione di un ambiente di ricerca autenticamente multidisciplinare.

Al fine di facilitare al massimo queste collaborazioni, una serie di laboratori di ricerca sono stati identificati come 'Core Facilities' comuni in cui sono alloggiati servizi d'uso trasversale per l'attività di ricerca di molteplici UR.

Nel seguito viene fornita una breve descrizione dei singoli laboratori di ricerca comuni, delle loro dotazioni di apparecchiature per la ricerca e dei principali servizi offerti.

Per ulteriori informazioni si rimanda al documento "Annuario della Ricerca 2013" scaricabile dal sito istituzionale di Ateneo

<http://www.unicampus.it/organizzazione/il-centro-integrato-di-ricerca-cir>

Laboratorio Criopreservazione

Nell'area di criopreservazione sono presenti **9 congelatori -80°** per la conservazione di materiale biologico e reagenti, è presente inoltre un **freezer -20°** di back up.



Tutti gli apparecchi, attraverso sonde specifiche montate all'interno, sono monitorati con **controllo remoto**, per cui in caso di guasto o di anomalie si attiva un allarme in Control Room (presidiata 24 h su 24); gli operatori comunicano l'allarme al rispettivo proprietario. È in progetto di attivare nei prossimi mesi una **Camera Fredda (+4°C)** per la conservazione di reagenti e per esperimenti da effettuare a freddo, nel locale destinato a questo scopo al piano 1.

Congelatori -80°C

Laboratorio Radioisotopi

I radionuclidi nella forma chimica opportuna (composti marcati) hanno innumerevoli impieghi in ambito scientifico (radiochimica e chimica nucleare). Possono essere usati per esempio per datare fossili, rocce, reperti archeologici (vedi metodo del carbonio-14 e numerosi altri metodi di geocronologia); ma soprattutto in biochimica e tossicologia, per studiare gli effetti e le trasformazioni cui una determinata molecola va incontro per esposizione a basse concentrazioni di elementi e composti chimici; In campo biomedico, le radiazioni emesse da numerosi radionuclidi (sotto forma di radiotraccianti o radiofarmaci) si sono rivelate utili nel diagnosticare svariate patologie e/o distruggere le cellule tumorali.

Le Core Facilities sono dotate di un ampio laboratorio per radioisotopi dedicato in via di attivazione. Dal punto di vista tecnico il laboratorio è già dotato delle necessarie specifiche, con la presenza di un deposito protetto e delle adeguate protezioni in piombo.

A breve sarà dotato di Scintillatore TriCarb 2910TR, uno strumento in grado di misurare radiazioni Beta di radioisotopi utilizzati per saggi di proliferazione cellulare, di binding recettoriale, studi metabolici, di attività enzimatica e di rilascio da sistemi di gel polimerici.



Laboratorio Centrifughe

L'area consta di:

- centrifuga refrigerata
- 2 supercentrifughe
- incubatore oscillante termostato.



Centrifuga refrigerata con RCF max pari a 25000 g

La centrifugazione è una tecnica separativa basata sulle differenze di densità e dimensioni tra le particelle componenti una miscela.

Le centrifughe sono forse gli strumenti più utilizzati in un laboratorio scientifico e servono per separare particelle in soluzione mediante l'applicazione di un campo centrifugo artificiale tramite un sistema ruotante ad alta velocità.

Le **centrifughe preparative** permettono di isolare e recuperare specifici componenti di un campione.

La forza di sedimentazione sviluppata artificialmente dalla centrifuga viene chiamata RCF (Relative Centrifugal Force) ed è indicata con un numero che rappresenta un multiplo della forza di gravità terrestre "x g".

Le **supercentrifughe**, che sviluppano RCF fino a 100.000 g, sono dotate di un sistema di aspirazione che crea il vuoto nella camera di centrifugazione, e di un sistema di refrigerazione che limita il surriscaldamento per attrito del rotore e dei campioni.

È in progetto l'acquisto di un'Ultracentrifuga (con RCF > 100.000 g, anche fino a 600000),

Lo scopo principale di una ultracentrifuga preparativa è quello di separare, preparare e purificare le macromolecole per poi poterle sottoporre a successivi studi. Gli usi principali riguardano la pulizia delle soluzioni di macromolecole da componenti, aggregati e avanzi cellulari prima della loro caratterizzazione con altri metodi quali lo scattering di luce, e la separazione di biopolimeri quali ad esempio gli acidi nucleici (DNA da RNA, DNA plasmidico da DNA cromosomiale).



Supercentrifughe e Incubatore oscillante termostato per la crescita omogenea in terreno di coltura a temperatura controllata

Laboratorio Biochimica Preparativa

L'area consta di:

- sistema per elettroforesi
- produttore di ghiaccio
- produttore di acqua deionizzata e ultrapura
- sistema concentratore
- tavoli con piano antivibrazione

L'elettroforesi è una tecnica analitica e separativa basata sul movimento di particelle elettricamente cariche immerse in un fluido per effetto di un campo elettrico applicato mediante una coppia di elettrodi al fluido stesso. Le particelle si spostano in maniera diversa a seconda della carica ma anche delle dimensioni.

I concentratori sono progettati con caratteristiche innovative per eseguire efficacemente le procedure di concentrazione ed essiccazione di sostanze biologiche e non biologiche presenti in una varietà di solventi.



Il modello SpeedVac SC 110A è un concentratore di piccola capacità progettato per applicazioni di solventi acquosi e evaporazione sotto vuoto. Questo concentratore gestisce una serie di procedure tra cui principalmente la concentrazione del campione con basse concentrazioni di solventi organici non aggressivi come acetonitrile e metanolo. Il modello SC 110A è un concentratore di piccola capacità progettato per applicazioni di solventi acquosi ed evaporazione sotto vuoto. Gestisce una serie di procedure tra cui principalmente la concentrazione del campione con basse concentrazioni di solventi organici non aggressivi come acetonitrile e metanolo.

*Sistema SpeedVac costituito da Concentratore,
Trappola per solventi e Pompa da vuoto ad olio*

Laboratorio Biologia Molecolare e Cellulare

Il Laboratorio è dotato di:

- Spettrofluorimetro
- Termociclatore
- Real Time - PCR

Lo **Spettrofluorimetro** presente è dotato di ottica a monocromatore, cosa che permette all'utente di selezionare qualsiasi lunghezza d'onda dagli UV al NIR per letture in assorbanza, chemiluminescenza e fluorescenza su piastre da 6 a 384 pozzetti e su cuvette.



La grande versatilità dello strumento offre la possibilità di numerosi utilizzi diversi, tra cui:

- quantificazione di proteine, DNA e RNA
- saggi enzimatici e immunochimici
- saggi elisa
- saggi di espressione genica

Spettrofluorimetro Tecan Infinite™ 200Pro



Il **Termociclatore** è in grado di condurre automaticamente le determinate variazioni cicliche di temperatura necessarie all'amplificazione enzimatica di sequenze di DNA in vitro attraverso la reazione a catena della polimerasi (PCR). La PCR è una delle più diffuse metodiche della moderna biologia, tramite essa è possibile amplificare rapidamente una piccolissima quantità iniziale di DNA a scopo di analisi o ricerca scientifica.

Termociclatore Applied Biosystems 2720



Il **Fast Real-time PCR System** consente di realizzare Real-Time PCR quantitativa, ovvero un metodo di amplificazione (reazione a catena della polimerasi o PCR) e quantificazione simultanee del DNA. Si tratta di un sistema molto flessibile che può analizzare piastre da 96 e da 384 pozzetti ed è compatibile con il sistema di TaqMan® Array, offrendo inoltre la possibilità di lavorare in modalità Fast Real-Time PCR. Lo strumento consente di effettuare analisi di gene expression (quantificazione relativa ed assoluta), genotyping (analisi di mutazioni), analisi di metilazione.

7900 HT Fast Real Time PCR System

Laboratorio Lavaggio

Nel laboratorio ci sono attrezzature per la pulizia e la sterilizzazione di strumentazione e consumabile di laboratorio.

Sono presenti:

- 2 autoclavi
- 1 lavavetreria
- 1 stufa

Per sterilizzare si deve usare vapor d'acqua saturo e perché il processo di sterilizzazione sia efficace, il vapore deve giungere a contatto con i microrganismi da distruggere. Ciò è indispensabile perché è la combinazione temperatura + umidità che produce l'effetto sterilizzante del vapore. Lo strumento comunemente usato per la sterilizzazione a vapore è l'autoclave più propriamente definita sterilizzatrice.

Laboratorio Reagentario

Per la sicurezza degli operatori nei laboratori è opportuno che i reagenti chimici in dotazione non siano conservati nei laboratori stessi, bensì in locali adibiti a questo uso esclusivo.

Il **Reagentario delle Core Facilities** è dotato di armadi aspirati per lo stoccaggio di prodotti chimici pericolosi e infiammabili, nonché di armadi per reagenti corrosivi e per solidi.

Nel locale sono conservate anche tutte le schede di sicurezza di tutti i prodotti presenti, in modo che siano facilmente accessibili per la consultazione, soprattutto in caso di emergenza.



Armadi per lo stoccaggio di acidi e basi



Armadi antideflagranti per lo stoccaggio di solventi infiammabili

Laboratorio Camera Oscura



La camera oscura è un mezzo di uso comune che permette di verificare l'esito di esperimenti come il Western Blot. Grazie all'utilizzo di lastre fotografiche ed opportuni liquidi di sviluppo, abbiamo la possibilità di acquisire il segnale di chemiluminescenza indice di possibili variazioni dell'espressione proteica. Rappresenta pertanto un mezzo fortemente attendibile per il completamento di esperimenti di "proteomica".

La Camera è dotata di cappa aspirata, luce giallo-verde, lampada a luce rossa e bancone di lavoro con lavandino.

Cappa aspirata della Camera Oscura per lo sviluppo fotografico

Laboratorio Microscopia

L'osservazione delle strutture biologiche e dei nanomateriali è spesso resa difficile da vari fattori, quali per esempio le loro piccole dimensioni, la loro trasparenza, ecc. La microscopia ha il compito di rendere visibili i campioni biologici sia aumentando fortemente le loro dimensioni, sia aumentandone il contrasto, ovviando alla trasparenza delle cellule.

La strumentazione comprende:

- 2 Microscopi Rovesciati a Fluorescenza con Telecamera
- Microscopio Elettronico a Trasmissione
- Critical Point Dryer

L'area è dotata di 2 microscopi rovesciati a fluorescenza con telecamera, uno della Leica e il secondo, recentemente acquistato, della Nikon.

Quest'ultimo è dotato di un sistema motorizzato ad elevata stabilità e solidità particolarmente indicato per applicazioni di micromanipolazione ed imaging ed è predisposto per tutte le metodiche di osservazione: campo chiaro e scuro, contrasto di fase, contrasto interferenziale, contrasto di Hoffman. Essendo modulare, in futuro potrebbe essere implementato a Microscopio Confocale.

La fluorescenza consiste nella capacità di alcune sostanze di assorbire radiazioni elettromagnetiche di una certa lunghezza d'onda e di emettere una frazione dell'energia assorbita con radiazione elettromagnetica di una lunghezza d'onda differente e superiore a quella assorbita. La tecnica della microscopia a fluorescenza permette di esaminare le sezioni di tessuto in luce ultravioletta, a una lunghezza d'onda (200-400 nanometri) vicina a quella dello spettro del visibile, e i loro componenti vengono analizzati in base alla fluorescenza che emettono nello spettro visibile. Infatti, molti gruppi chimici che fanno parte di svariate molecole biologiche, quando illuminati, sono in grado di assorbire la luce visibile e di riemettere luce, sotto forma di fluorescenza, nello spettro del visibile. Il vantaggio più importante della microscopia a fluorescenza è la sua elevata sensibilità.



Microscopio rovesciato a fluorescenza Leica (Leitz DMRB)



Microscopio Nikon Ti-E con incubatore Okolab

Recentemente il microscopio Nikon è stato dotato del **sistema Okolab**, cioè un incubatore a CO₂ per microscopio rovesciato composto da camera di incubazione, sistema di umidificazione con gorgogliatore esterno, unità di controllo per CO₂ e temperatura da +3°C ambiente a 50°C per lo studio di cellule in vivo, permettendo così di effettuare osservazioni prolungate su campioni biologici.

Il **Microscopio Elettronico a Trasmissione (TEM)** possiede un limite di risoluzione molto più grande di quello ottico. La differenza fondamentale con la microscopia ottica è che non viene utilizzata la luce per rivelare il preparato, ma un fascio di elettroni, che viene accelerato fortemente. Questo produce delle immagini ultrastrutturali del preparato in bianco e nero.

Il TEM è costituito sostanzialmente da un lungo tubo chiuso in cui viene fatto il vuoto da una serie di pompe da vuoto. In alto, vi è un filamento di tungsteno (catodo) che viene fortemente riscaldato, producendo un fascio di elettroni che, attirati da un anodo, vengono accelerati nel vuoto da un'elevata differenza di potenziale (circa 80 – 100 kV). Gli elettroni attraversano una serie di campi magnetici che fungono da lenti (condensatori), per andare poi ad attraversare la sezione ultrafine del campione e raggiungere uno schermo di materiale fluorescente, la cui luminosità rende visibile l'immagine del campione. L'immagine così prodotta non è colorata, ma composta da diversi toni di grigio. Il TEM presente nelle Core Facilities è il modello Tecnai Spirit 12G, che può arrivare oltre i 600 mila ingrandimenti, permettendo così di lavorare non solo su cellule ma anche su nano materiali.



Il **Critical Point Dryer** consente di liofilizzare campioni biologici (ad es. per successiva microscopia SEM) mediante estrazione di CO₂ da fase supercritica. I campioni da liofilizzare, precedentemente sottoposti alla serie crescente degli alcoli, vengono inseriti in un vessel a tenuta che viene riempito con CO₂ liquida, che si sostituisce all'alcol all'interno del tessuto. La CO₂ viene quindi riscaldata al di sopra del punto critico, e successivamente gassificata mediante abbassamento della pressione, consentendo di ottenere un preparato disidratato. Lo strumento da noi in dotazione, il K850, è dotato di riscaldamento termo-elettronico e raffreddamento adiabatico con controllo della temperatura di +5 °C in raffreddamento e +35 °C in riscaldamento. Questo permette il pre-raffreddamento della camera per favorire il riempimento con CO₂ e durante il ciclo di riscaldamento assicura che il punto critico sia ottenuto con precisione.



Laboratorio Stanza Colture Cellulari

Le Core Facilities sono dotate di un Laboratorio per le colture cellulari a disposizione di tutti i ricercatori. Il laboratorio è utilizzato esclusivamente per questo scopo in modo da evitare contaminazioni da tutte le altre lavorazioni. Questo aiuta a mantenere l'ambiente il più pulito possibile permettendo di lavorare in sterilità sotto le cappe a flusso laminare. La stanza è a pressione positiva per evitare la contaminazione dall'esterno e l'accesso avviene attraverso una zona filtro.



Il Laboratorio di Colture Cellulari con le 2 Cappe Biologiche Sono presenti:

- 2 cappe biologiche
- 2 incubatori a CO₂
- Un frigorifero con freezer
- Un microscopio ottico
- Un bagno termostato
- Una centrifuga non refrigerata
- 1 dewar per la conservazione delle cellule in azoto liquido
- 1 dewar per il trasporto in azoto liquido

Cappe Biologiche con luce UV per la sterilizzazione dell'ambiente sottostante

L'incubatore cellulare è un apparecchio utilizzato per mantenere le colture microbiologiche e le colture cellulari.

Mantiene le condizioni ambientali ottimali per le colture, mantenendo stabili alcuni parametri quali la temperatura (solitamente 37°C), umidità e percentuale del gas (comunemente anidride carbonica al 5%). La vitalità delle cellule conservate aumenta in modo esponenziale se queste vengono conservate a temperature molto basse. Le linee cellulari possono durare periodi di tempo praticamente illimitati se mantenute in azoto liquido (T -196°C)



Incubatori del laboratorio delle colture cellulari



Centrifuga non refrigerata, microscopio invertito e Bagno termostato

Laboratorio Camera Bianca

Il Laboratorio Camera Bianca di classe 1000 di 30 mq per la realizzazione di dispositivi miniaturizzati su substrati in Silicio, Quarzo e su substrati flessibili mediante utilizzo di tecnologie a film sottile, per la prototipazione rapida e la fabbricazione di microsistemi.

Il laboratorio è dotato di un sistema per la filtrazione dell'aria ed è suddiviso in due parti separate; un ingresso-vestibolo dove vengono indossati camici, sovrascarpe, guanti e mascherine per accedere alle aree "pulite", e la camera bianca propriamente detta.

L'accesso alla stanza è limitato ai solo operatori addestrati.



La Camera Bianca al momento è attrezzata con:

- Mask Aligner
- Plasma Cleaner
- Spin Coater
- Sputter Coater

Il **Mask Aligner** è uno strumento alla base delle tecniche fotolitografiche. Realizza il patterning di substrati rivestiti da fotoresist, consentendo l'interposizione di maschere ottiche tra una sorgente UV e il substrato da impressionare. Un sistema di microposizionamento consente l'allineamento delle maschere rispetto al substrato per la realizzazione di processi a più strati.



Mask Aligner MJB3 STD Karl Suss



Il **Plasma Cleaner** consente la pulizia dei substrati litografici mediante ossigeno in fase plasma. Può essere utilizzato inoltre per l'attivazione delle superfici (es. vetro e PDMS) che vengono rese fortemente idrofiliche in seguito al processo al plasma. La superficie del componente è fisicamente pulita da un bombardamento ionico. La contaminazione viene convertita nella sua fase gassosa ed eliminata.

Plasma Cleaner Femto Diener



Lo **Spin Coater** consente la deposizione di film su substrati mantenuti in rotazione, a partire da soluzioni o sospensioni in solventi acquosi e/o organici. In particolare, l'apparecchiatura è utilizzata nei processi litografici per la deposizione di film di fotoresist a spessore costante.

Spin Coater P6700 Speciality Coating Systems

Lo **Sputter Coater** è un'apparecchiatura per la deposizione di film metallici mediante "physical vapor deposition (PVD)". La tecnica consiste nell'ablazione di un target metallico investito da un plasma (solitamente Ar) e nella conseguente deposizione degli atomi "scalzati" dal target sui campioni da rivestire. La tecnica viene impiegata nell'industria dei semiconduttori per la realizzazione di film metallici sottili. Lo strumento dispone di target in diversi materiali (Pt, Au, Cu, W, Ni, Cr, Ti). Un utilizzo comune (abbinato a target in Au o Pt) è anche quello di metallizzazione dei campioni per la microscopia SEM.



Sputter coater Bal Tec SCD500

Laboratorio Officina Meccanica

L'Officina è attrezzata per lavorazioni meccaniche di precisione e caratterizzazione su vari tipi di materiali. Da un punto di vista pratico la disponibilità in casa di un tale spazio ha un impatto positivo sui tempi e sul costo di sviluppo di prototipi, riducendo la necessità del ricorso a servizi esterni.

L'officina meccanica al momento è attrezzata con:

- Due stazioni per il rapid prototyping (stampanti 3D)
- Un PC per il controllo delle stazioni di cui sopra
- Una fresatrice universale
- Un tornio parallelo
- Un banco da lavoro attrezzato con morse, visori ed elettrotensili manuali;
- Una stazione di saldatura per componentistica elettronica ed elettromeccanica;
- Un frigorifero per la conservazione di materiali deperibili.
- Una Macchina per prove meccaniche



Officina meccanica (con fresatrice e tornio)

L'officina è abitualmente usata per:

- esecuzione di semplici lavorazioni meccaniche su prototipi di robot e attrezzature;
- assemblaggio di componentistica;
- prove meccaniche su materiali;
- effettuazione di prove, esperimenti e misure che non possono essere condotti in laboratorio (es. prove in acqua dei pesci robot).



La **stampante 3D** permette di avere una riproduzione reale di un modello realizzato con un software di modellazione a 3 dimensioni. Inoltre essa è considerata una forma di produzione additiva mediante cui vengono creati oggetti tridimensionali da strati di materiali successivi.

Offre quindi la possibilità di stampare e assemblare parti composte da diversi materiali con diverse proprietà fisiche e meccaniche in un singolo processo di costruzione.

Una stampante 3D lavora prendendo un file 3D da un computer e utilizzandolo per fare una serie di porzioni in sezione trasversale. Ciascuna porzione è poi stampata l'una in cima all'altra per creare l'oggetto 3D.

Stampante 3D PROJET HD3000



La **Macchina per prove meccaniche** consente di effettuare una varietà di prove meccaniche sui materiali (trazione, compressione, rilassamento dello sforzo, ecc.). Nella sua attuale configurazione, la macchina è dotata di 2 celle di carico (con fondo scala rispettivamente di 10 N e 500 N).

Macchina per prove meccaniche INSTRON 3365