



## Laboratorio RAMSES

### Studi preclinici per la medicina rigenerativa dell'apparato muscolo-scheletrico

Responsabile scientifico e organizzativo: Dott.ssa Brunella Grigolo

Il Laboratorio RAMSES svolge attività di ricerca biomedica relativa all'apparato muscolo-scheletrico. In particolare, vengono effettuate valutazioni precliniche nel campo dell'ingegneria tissutale e delle patologie reumatiche quali l'osteoartrite, con l'obiettivo di creare possibili applicazioni/sviluppi industriali.

#### Attività di ricerca industriale e innovazione tecnologica

- **Rigenerazione di tessuti osteo-cartilaginei.** Il laboratorio presenta competenze relative all'isolamento, crescita, caratterizzazione fenotipica e funzionale e differenziamento di cellule da diversi tipi di tessuto umano e animale (cellule mononucleate, cellule mesenchimali di diversa origine quale midollo osseo e tessuto adiposo, condroцитi, osteoblasti, sinoviociti, tenociti, cellule del legamento, cellule isolate dalla dentina) e/o linee cellulari.
- **Analisi molecolari.** Analisi di valutazione del potenziale replicativo cellulare, del danno e dell'espressione di geni coinvolti nei sistemi di riparo del DNA.
- **Valutazione di costrutti (cellule-biomateriali).** Nel laboratorio vengono effettuate analisi sulle interazioni fra cellule e biomateriali di diversa origine e natura sia in condizioni basali che durante differenziamento (proliferazione, vitalità, espressione di marcatori specifici) allo scopo di caratterizzare sia biomateriali di nuova concezione che fattori di crescita utilizzabili in medicina rigenerativa. Nel laboratorio vengono effettuate analisi ultrastrutturali mediante microscopia SEM e TEM.
- **Valutazioni pre-cliniche avanzate.** La collaborazione con il laboratorio BITTA consente di validare su modelli animali l'uso di terapie cellulari e/o farmacologiche per la rigenerazione tissutale o il trattamento di specifiche patologie (es. malattie reumatiche, osteoartrite, distrofie muscolari). Inoltre l'utilizzo di animali transgenici consente la caratterizzazione del ruolo di specifici geni e proteine coinvolti nei processi patologici.
- **Indagini biomolecolari.** Nel laboratorio vengono svolte indagini atte ad individuare l'espressione di fattori solubili (molecole infiammatorie, fattori di crescita etc.) su biopsie sinoviali, cartilaginee e ossee e su dentina, mediante metodiche istochimiche ed immunoistochimiche e i risultati vengono valutati tramite analisi di immagine computerizzata. Vengono svolte analisi su colture cellulari, sul liquido sinoviale e sul siero o plasma ottenuti da pazienti affetti da varie patologie articolari al fine di valutare la sintesi e secrezione di fattori quali citochine, chemochine etc. sia in condizioni basali, sia in presenza di molecole pro-infiammatorie, fattori anabolici, fattori di crescita e farmaci. Vengono inoltre eseguite analisi di espressione di marcatori proteici mediante citofluorimetria e di Real-Time PCR per la valutazione dell'espressione genica di numerosi geni di interesse.
- **Indagini di proteomica.** Vengono fornite le competenze per la caratterizzazione del profilo di espressione proteica in cellule umane ottenute da tessuti di pazienti con patologie ad alto impatto sociale quali quelle muscolo-scheletriche, per consentire di identificare *markers* di diagnosi precoce, prognosi e potenziali *targets* terapeutici.
- **Supporto scientifico.** Il laboratorio è in grado di fornire *Know how* per la progettazione, stesura e rendicontazione di progetti di ricerca su base nazionale, internazionale e progetti di natura industriale.
- **3D Bioprinting.** Nel laboratorio è attiva una piattaforma di Bioprinting destinata alla fabbricazione di dispositivi *custom made* per applicazioni di medicina rigenerativa dell'apparato muscoloscheletrico e maxillo facciale. Il sistema consente di stampare prodotti in tre dimensioni (3D), utilizzando come punto di partenza immagini radiologiche acquisite da una TAC dual Energy ubicata presso lo IOR. I dispositivi che ne risultano sono ottenuti utilizzando diversi tipi di materiali o sostanze biologiche e/o cellule del tessuto muscoloscheletrico. In particolare, la piattaforma è costituita da due componenti principali: 1) BioFactory, una stampante 3D che costruisce i dispositivi attraverso la polimerizzazione di un idrogel, una sostanza in grado di supportare la crescita di varie tipologie cellulari; 2) 3D Discovery, impiegata già in campo medico, che utilizza un materiale a base di fosfato di calcio, in grado di mimare la struttura ossea.



## Laboratorio RAMSES

Responsabile organizzativo: Dott.ssa Brunella Grigolo  
Responsabile scientifico: Dott.ssa Brunella Grigolo

### Metodiche utilizzate

- Metodiche morfologiche (inclusione, sezione e colorazione di preparati istologici, allestimento di preparati citologici, colorazioni di immunoistochimica, analisi d'immagine).
- Metodiche di biologia cellulare (allestimento di colture primarie da tessuti normali e patologici in condizioni statiche e dinamiche (bioreattore), colture di linee cellulari normali e trasformate, separazioni multiple di popolazioni cellulari, saggi di attività proliferativa e di attività citolitica, transfezione di acidi nucleici, reazioni immunoenzimatiche, colorazioni in immunofluorescenza, citometria a flusso, flow-fish).
- Metodiche di biologia molecolare (PCR, RT-PCR, Real-Time PCR, Western blotting, ibridazione *in situ*).

### Risorse tecnologiche rilevanti

#### Biologia Molecolare

Termociclato per PCR quantitativa

#### Analisi fenotipiche

Citometro a flusso per analisi e sorting

#### Analisi strutturali e ultra-strutturali

Microtomo, Criostato

Microscopi a fluorescenza e con dispositivo per analisi d'immagine

Ultramicrotomo e microscopio elettronico

#### Proteomica

Sistema di dosaggio multiplo su biglie

Cromatografo in fase liquida

#### Colture cellulari

Cappa a flusso laminare, incubatore, microscopio rovesciato

Camera calda

Camera per manipolazione di organismi geneticamente modificati (BCL2)

Apparecchio per l'induzione di pressioni/tensioni

#### 3D Bioprinting

Bioreattore U-Tube System

Stampante per tessuti Bio Factory

Bio stampante 3D Discovery

### Offerte di formazione

Il Laboratorio è in grado di fornire servizi di formazione personalizzata nei settori dell'analisi morfologica, della biologia cellulare e molecolare. Possibili argomenti di formazione strutturata riguardano:

- Allestimento e caratterizzazione di colture primarie di cellule staminali e linee cellulari da vari tipi di tessuto osteoarticolare e tecniche di marcatura cellulare e di biologia molecolare.
- Analisi delle cellule marcate con tecniche di imaging (es: citometro a flusso, microscopia ottica, elettronica e tecniche di imaging molecolare).
- Valutazione ed ottimizzazione pre-clinica dei costrutti (biomateriali con cellule) ottenuti sia in sistemi statici che dinamici (es: flexcell, bioreattori) mediante metodiche di biologia molecolare, immunoistochimica e di imaging (es: SEM, TEM).
- Valutazione di fattori di crescita utili a favorire il riparo tissutale con tecniche di analisi multipla e di biologia molecolare.

### Servizi a tariffa

I Laboratori del RIT hanno stilato un tariffario e per alcune tipologie di valutazioni sono disponibili preventivi ad hoc.

La modulistica specifica è presente nel sito web del Rizzoli all'indirizzo: <http://www.ior.it/ricerca-e-innovazione/dipartimento-rizzoli-rit>.

### Per contattare il Laboratorio:

Segreteria: tel 0516366803 . [ramses@ior.it](mailto:ramses@ior.it)

Dott.ssa Brunella Grigolo - 0516366090 - [brunella.grigolo@ior.it](mailto:brunella.grigolo@ior.it)

Dott. Francesco Grassi - 0516366893 - [francesco.grassi@ior.it](mailto:francesco.grassi@ior.it)