

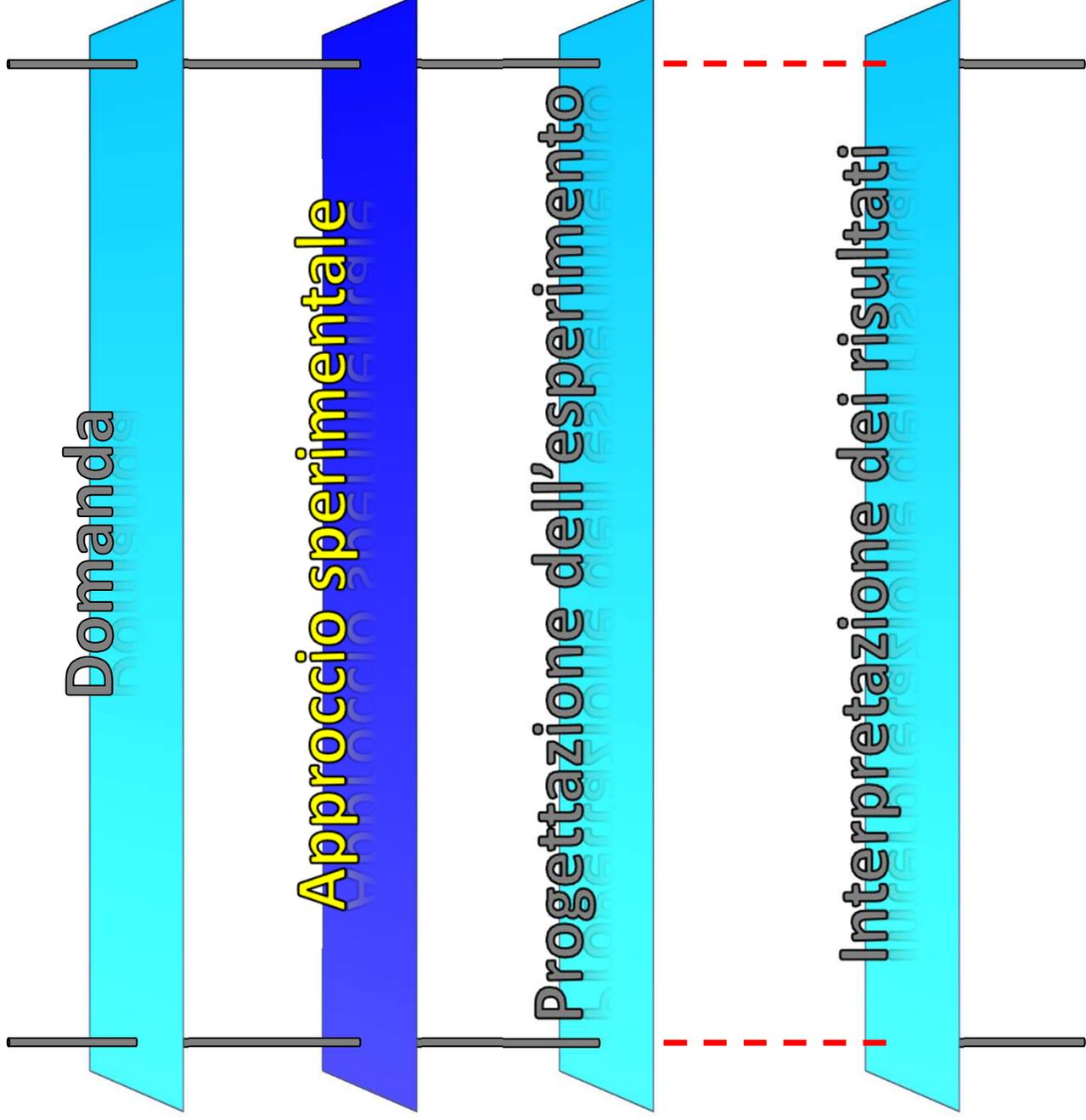
L'approccio sperimentale

Domanda

Approccio sperimentale

Progettazione dell'esperimento

Interpretazione dei risultati





Verifica di ipotesi

Hypothesis-driven research

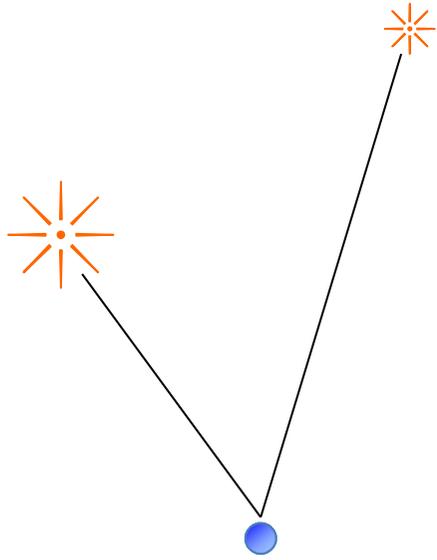
Approccio mirato

Approccio “a tappeto”

“A forza bruta”

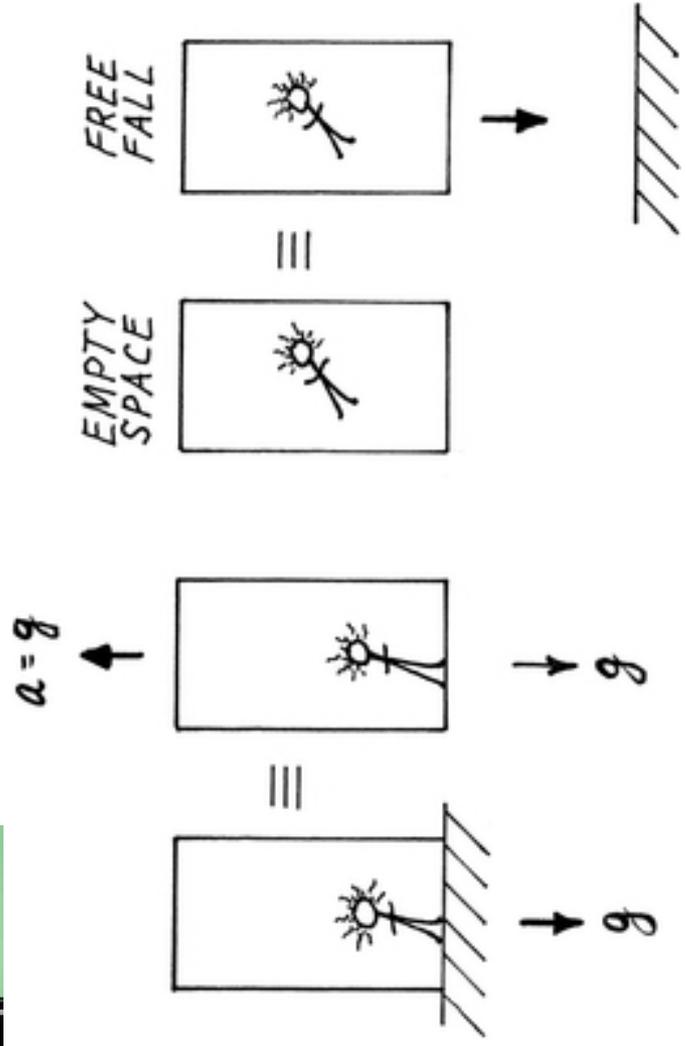
Unbiased

“Fishing expedition”



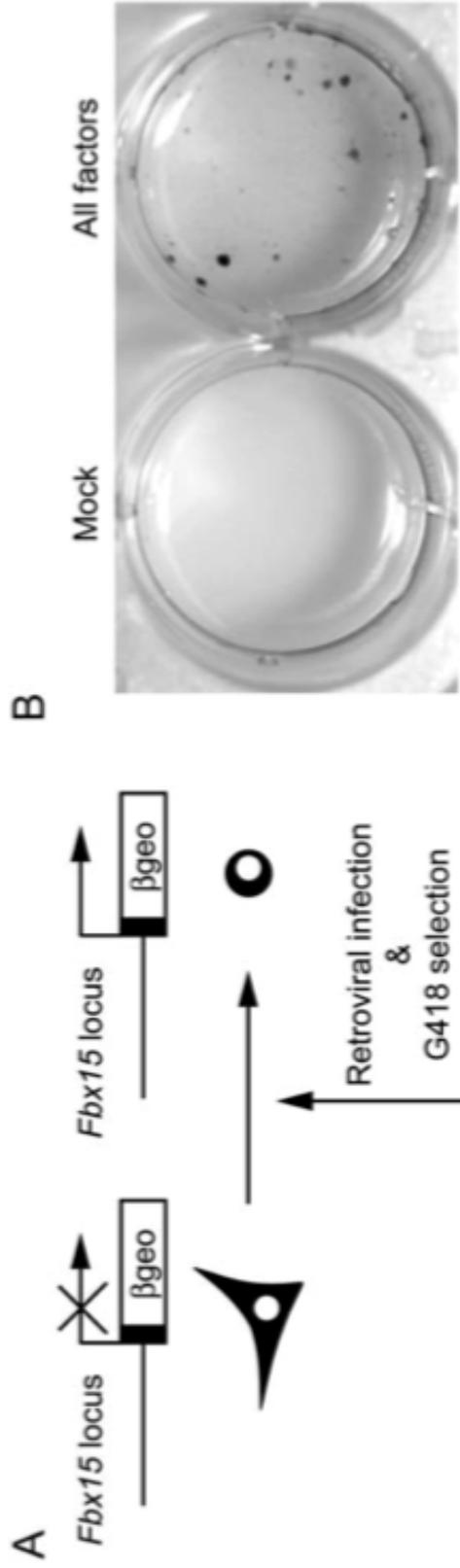
Henrietta Swan Leavitt

Valutare in anticipo le probabilità di successo

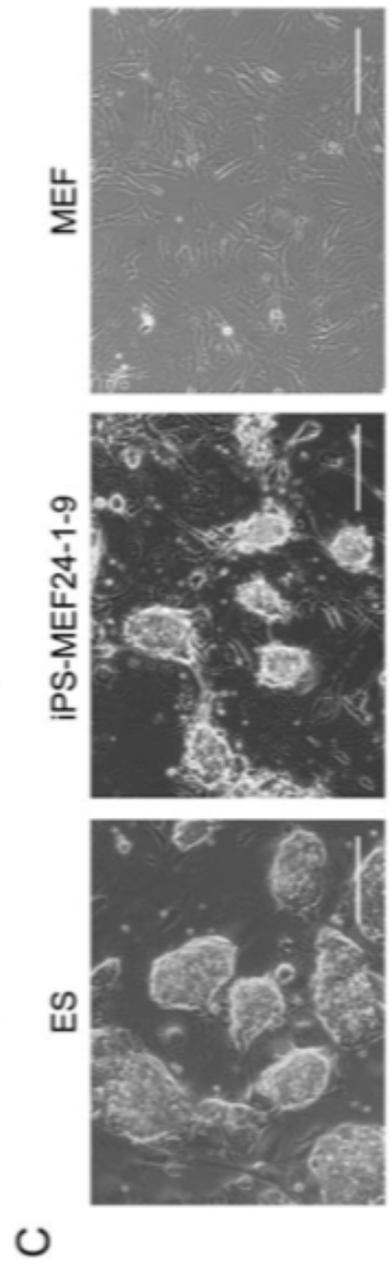
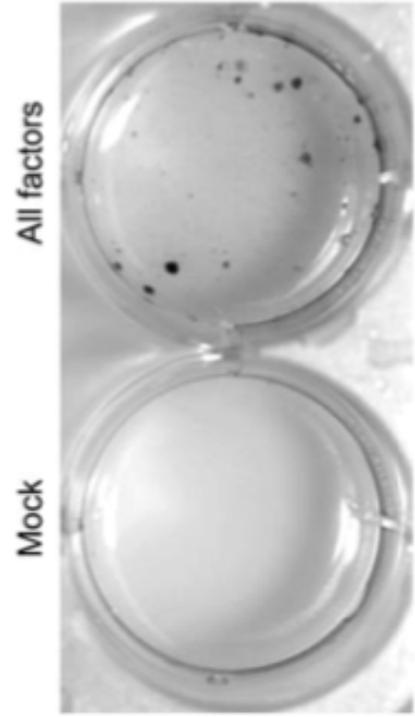


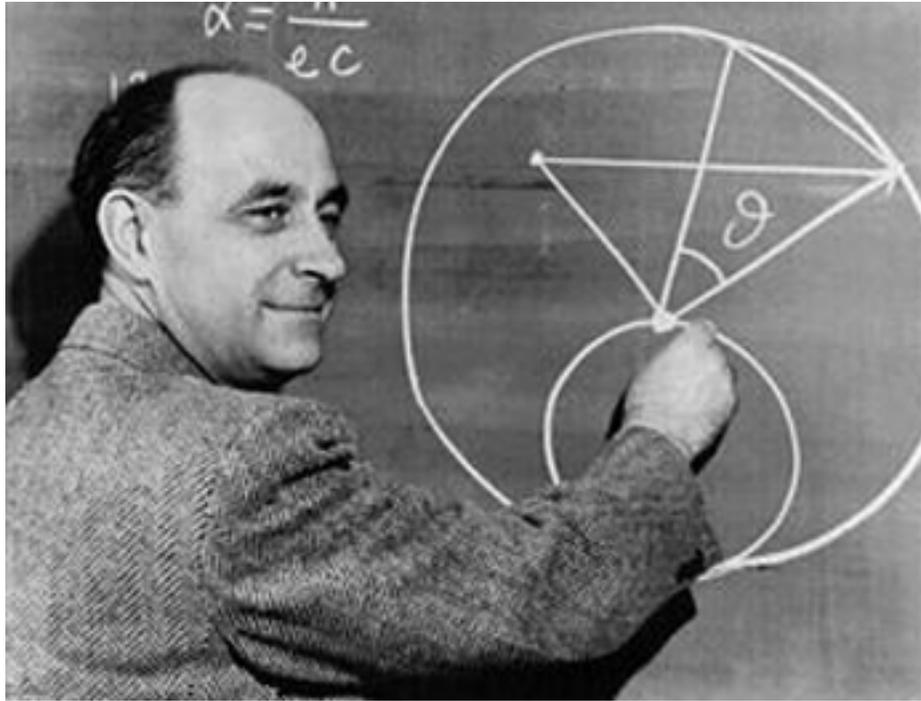
Esperimenti “quick and dirty”





B





Problemi di Fermi

Per risolvere i problemi di Fermi si utilizzano le informazioni note o facilmente acquisibili
spesso utilizzando valori approssimati

In che anno è nato Napoleone?

In che *secolo* è nato Napoleone?

Quanti accordatori di pianoforte ci sono a Chicago?

A Chicago vivono 9.000.000 di persone

In media ci sono due persone per famiglia

Stimiamo che ci sia un pianoforte in una famiglia su 20

Un pianoforte viene accordato una volta l'anno

Un'accordatura richiede circa due ore, inclusi i trasferimenti dell'accordatore

Un accordatore lavora 8 ore al giorno, 5 giorni a settimana, 50 settimane all'anno

Accordature per anno: $9.000.000 / 2 / 20 = 225.000$

Accordature per accordatore per anno: $8 / 2 * 5 * 50 = 1.000$

A Chicago ci sono circa 225 accordatori

how many piano tuners are in Chicago



Examples Random

Input interpretation:

musical instrument
repairers and tuners

people employed

Chicago–Naperville–Joliet,
IL Metropolitan Division

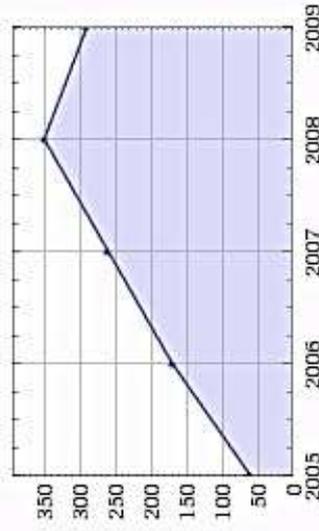
Definition »

Result:

290 people (2009)

Employment history:

Show wage history



Employment summary:

More Show hourly

people employed

290 people

yearly change

– 60 people (– 17%)

Quante persone stanno usando un telefono cellulare nel mondo in questo momento?

La popolazione mondiale è di circa 7,5 miliardi di persone

Supponiamo che due terzi usino un cellulare: 5 miliardi di persone

Io possiedo un telefono cellulare e lo uso circa tre ore al giorno

Ritengo che il mio uso del cellulare sia abbastanza prossimo alla media mondiale

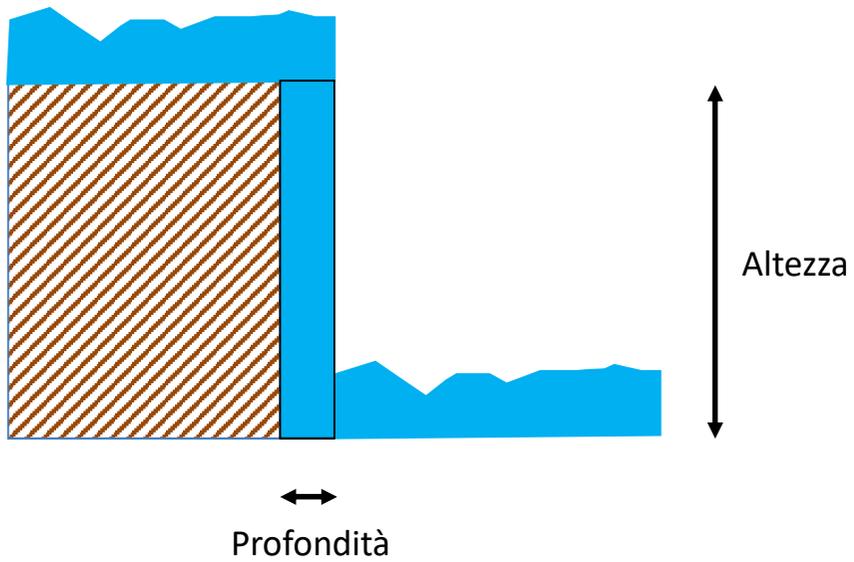
Quindi i 5 miliardi di persone che usano un cellulare lo fanno per 3/24 del giorno

$$5 \times 10^9 / 24 * 3 = 6,25 \times 10^8$$

Circa 625 milioni di persone stanno usando il cellulare in questo momento



Qual è la portata delle cascate del Niagara?



Lunghezza

Altezza

Profondità

Tempo di caduta

Portata

Stimato

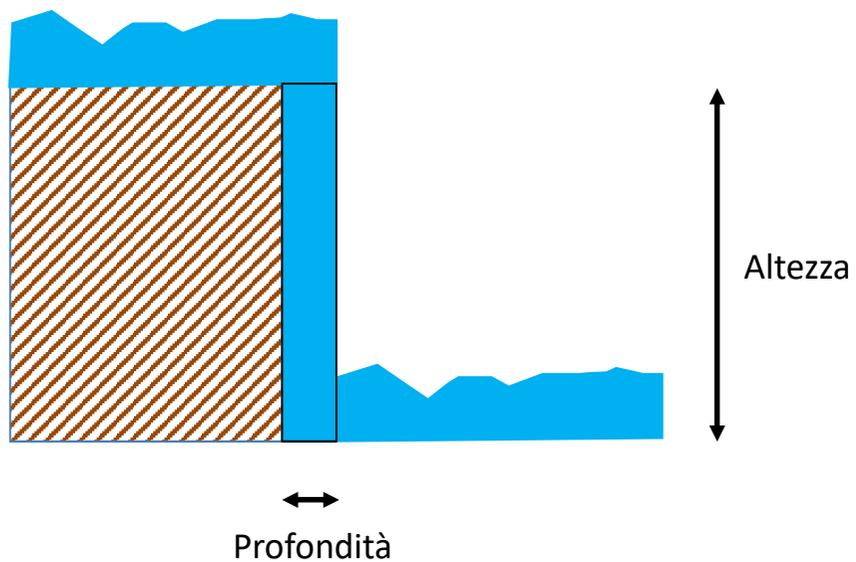
1.000 m

20 m

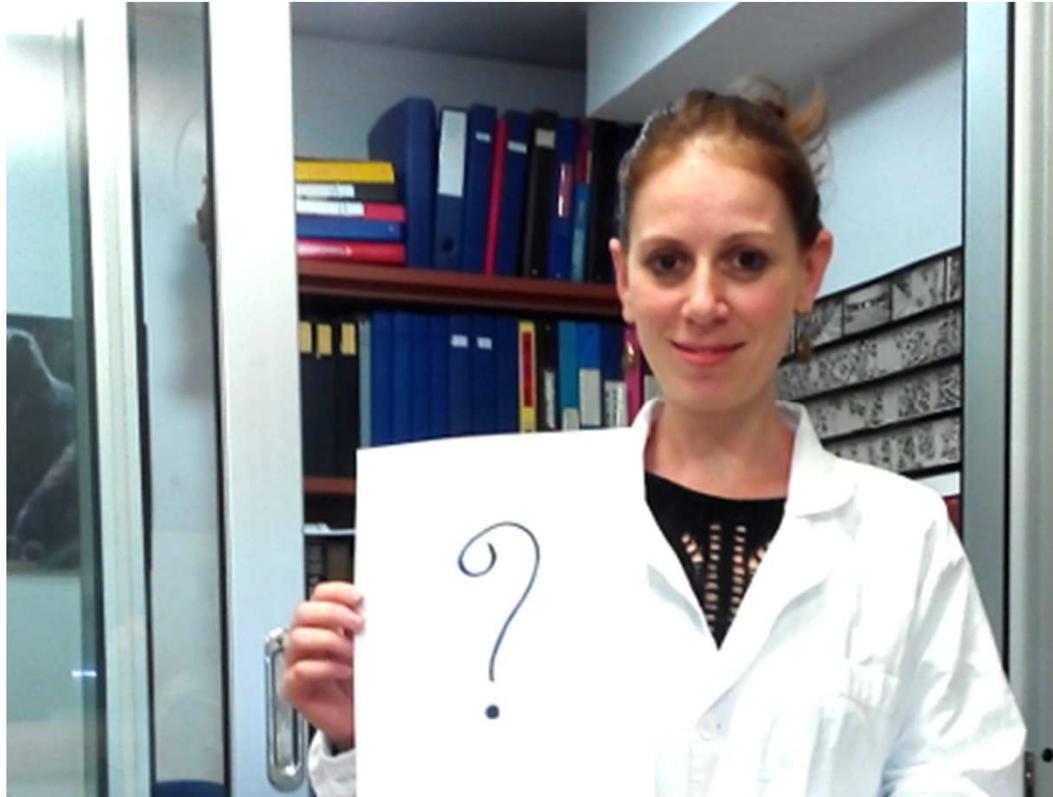
2 m

3 s

13.000 m³/s

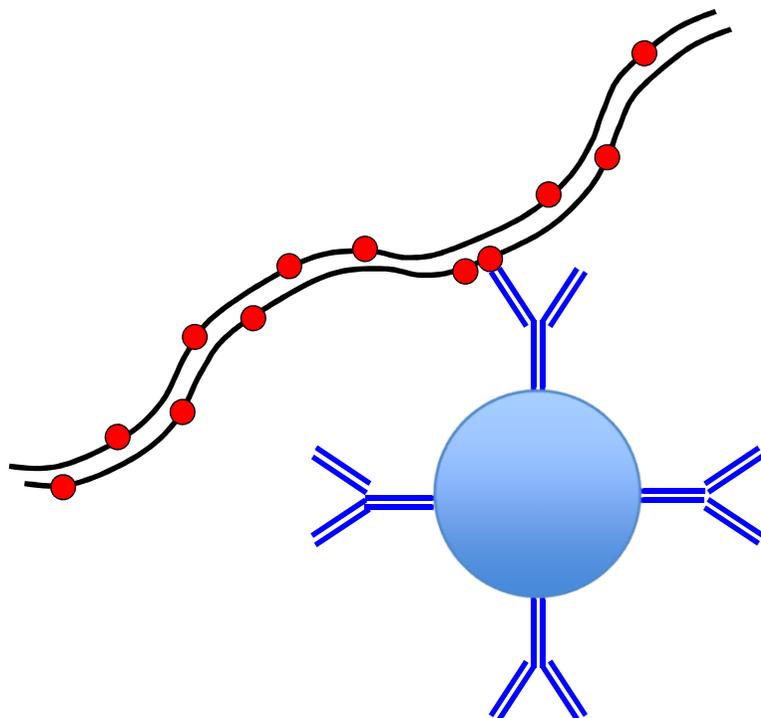


	Reale	Stimato
Lunghezza	1110 m	1.000 m
Altezza	45 m	20 m
Profondità	-	2 m
Tempo di caduta	3 s	3 s
Portata	3340 m ³ /s	13.300 m ³ /s



È sufficiente l'anticorpo che uso nella mia immunoprecipitazione?

Come verificare sperimentalmente che le Ig siano sufficienti?



Immunoprecipitazione con
anticorpi anti-BrdU

2 μ g di anticorpo

150 ng di DNA

È sufficiente l'anticorpo che uso nella mia immunoprecipitazione?

Confrontare la quantità molare delle immunoglobuline (Ig) e del loro bersaglio

Peso molecolare di una Ig \approx 150.000 Da

moli = peso in grammi / peso molecolare

2 μ g di Ig espressi in moli: 2×10^{-6} g / $1,5 \times 10^5$ Da = $1,3 \times 10^{-11}$ moli di Ig

È sufficiente l'anticorpo che uso nella mia immunoprecipitazione? (2)

Il contenuto di G+C nel DNA umano è $\approx 40\%$

Quindi il contenuto di T è pari a circa $60\% / 2 = 30\%$

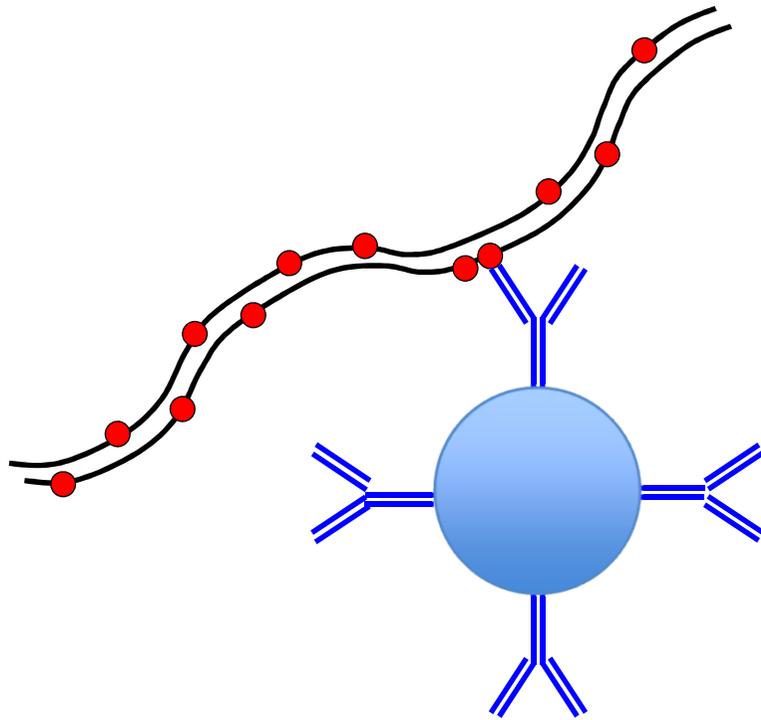
Quindi il 30% dei 150 ng di DNA è costituita da timina: circa 45 ng

Il peso molecolare della timina è circa 330 Da

45 ng di timina, espressi in moli: $4,5 \times 10^{-8} \text{ g} / 3,3 \times 10^2 \text{ Da} \approx 1,3 \times 10^{-10} \text{ moli di timina}$

Ig: $1,3 \times 10^{-11} \text{ moli}$ T: $1,3 \times 10^{-10} \text{ moli}$

La timina è in eccesso molare di circa 10 volte rispetto alle Ig

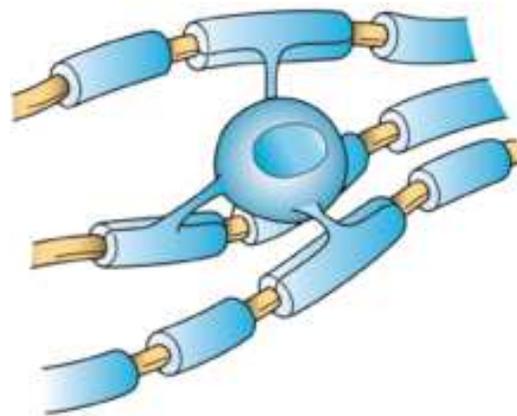


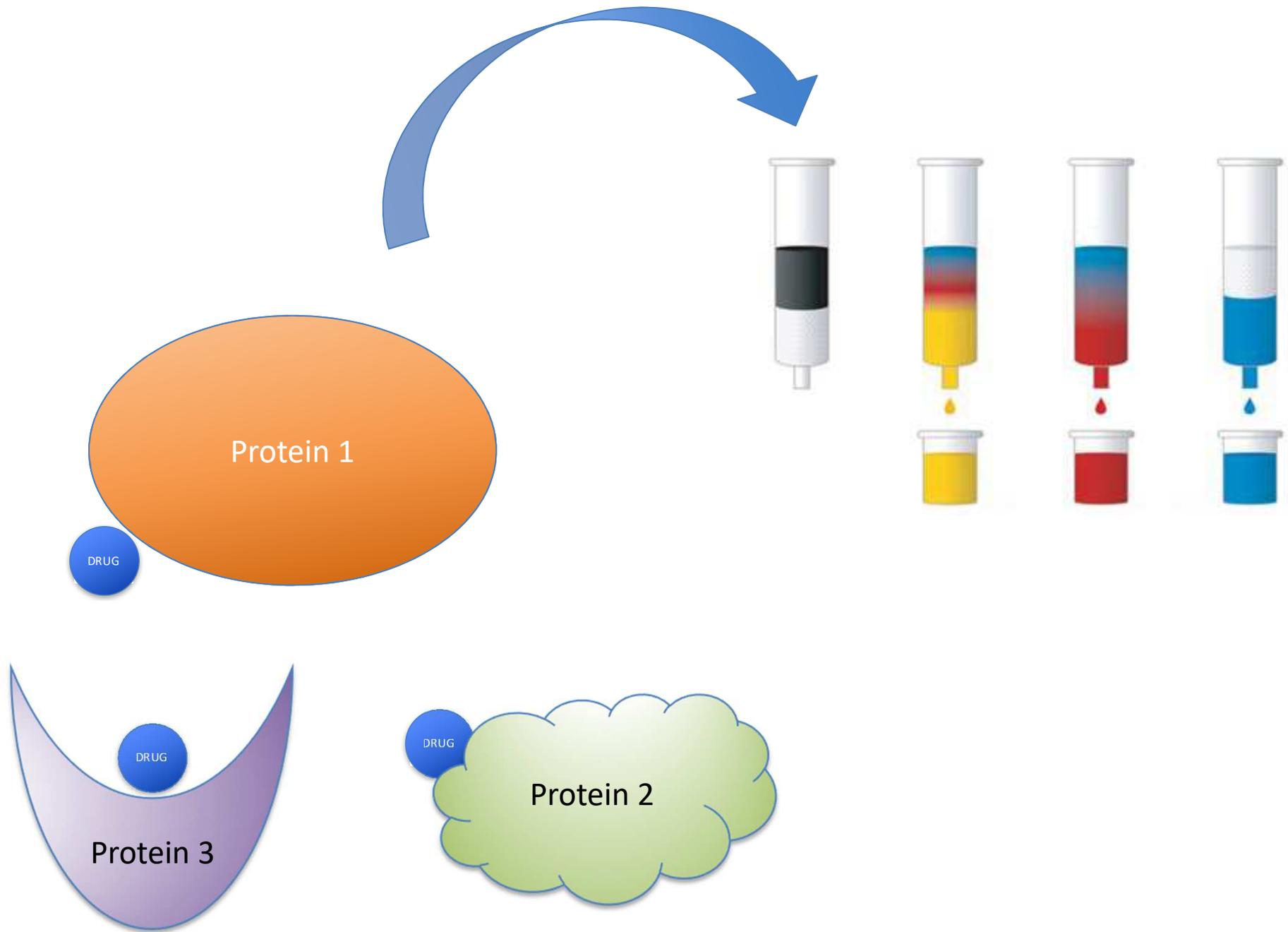
Immunoprecipitazione con
anticorpi anti-BrdU

Vale la pena di procedere a verificare empiricamente se le Ig sono sufficienti



Finding a drug's target(s)





Quanto farmaco vi serve?



Buona domanda: quanto farmaco ci serve?

Ciascun esperimento utilizza 20 μg di estratto cellulare totale

Stimiamo un limite superiore, molto prudentiale, di 1.000 bersagli

Il peso molecolare medio di una proteina è circa 50.000 Da

In un lisato cellulare ci sono — diciamo — 40.000 specie proteiche

Perciò il farmaco legherà $\approx 1/40$ delle proteine cellulari totali: $20\mu\text{g} / 40 = 500 \text{ ng}$

Il peso molecolare del nostro farmaco è 200 Da

Quantità di farmaco equimolare ai suoi bersagli: $X \text{ ng} : 200 \text{ MW} = 500 \text{ ng} : 50.000 \text{ MW}$

Stimiamo che ci servano teoricamente 2 ng di farmaco per esperimento

Quanto DNA c'è in un essere umano?

Una cellula contiene un corredo aploide di 3×10^9 bp

Ma la maggior parte delle cellule è diploide, quindi 6×10^9 bp

Il peso molecolare di un paio di basi (bp) è ≈ 630 Da

Quindi 630 g di DNA (1 mole) contengono 6×10^{23} bp (numero di Avogadro)

10^9 cellule contengono $10^9 \times 6 \times 10^9$ bp = 6×10^{18} bp

10^9 cellule contengono quindi $6 \times 10^{23} / 6 \times 10^{18}$ bp $\approx 10^{-5}$ moli di DNA

In peso, $630 \text{ g} \times 10^{-5} = 6,3 \text{ mg}$ di DNA

Quanto DNA c'è in un essere umano?

Un essere umano pesa 70 kg

Sottraiamo 15% di matrice ossea mineralizzata (10,5 kg): residuo 59,5 kg

Sottraiamo 10% di matrice extracellulare (7kg): residuo 52,5 kg

Il peso specifico del corpo umano è ≈ 1 , quindi 52,5 kg \approx 52,5 l

Assumiamo che la cellula media sia sferica e abbia un diametro di 12 μm e quindi un volume di 905 μm^3

Il volume complessivo delle cellule del corpo umano è 52,5 l = 52,5 x 10¹⁵ μm^3

Quindi il corpo umano contiene 52,5 x 10¹⁵ / 905 = 5,8 x 10¹³ cellule

Ricordiamo che 10⁹ cellule contengono 6,3 mg di DNA

5,8 x 10¹³ / 10⁹ = 5,8 x 10⁴ x 6,3 mg = **365 g di DNA nell'intero corpo umano**

Un ultimo problema: qual è l'emivita dell'acqua nel corpo umano?

Punti notevoli

- La pianificazione di un progetto di ricerca comincia con la definizione dell'approccio sperimentale
- L'identificazione dell'approccio è un momento emozionante e dovrebbe avvalersi del contributo di tutti i componenti del gruppo di ricerca
- È opportuno valutare attentamente le probabilità di successo di un progetto di ricerca, utilizzando strumenti come le stime di Fermi e i risultati preliminari.