

# Quando ricerca e Mac si incontrano

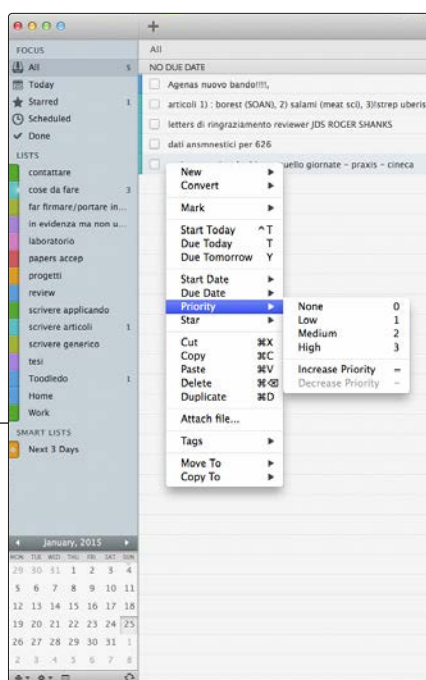
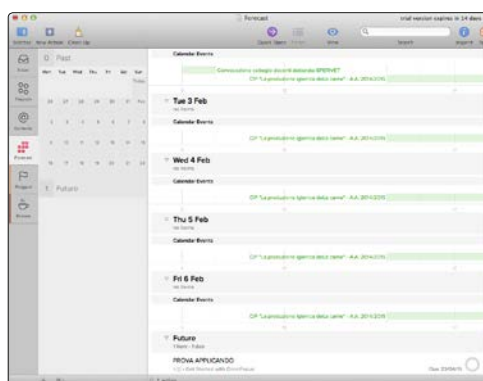
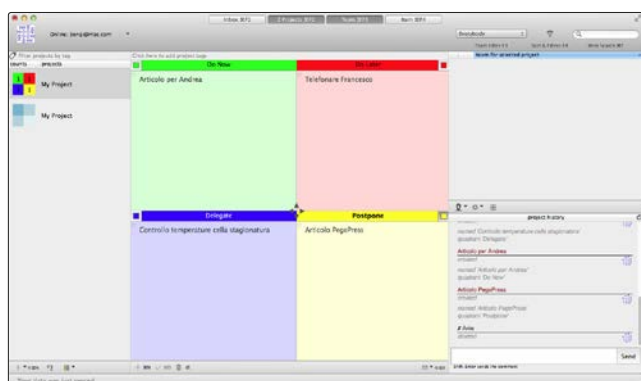
Rassegna di applicazioni utili per i laboratori e i ricercatori che utilizzano computer della Mela, prendendo come esempio l'attività di un biologo molecolare

di Beniamino T. Cenci Goga

La vita professionale del ricercatore, che sia un borsista alle prime armi o un affermato scienziato, è ormai un compromesso tra studio, pianificazione degli esperimenti, esecuzione della sperimentazione e quindi acquisizione, elaborazione e presentazione dei dati. Nella nostra trattazione, passeremo in rassegna software per OS X utili per il laboratorio e il ricercatore, suddividendo il campo di azione tra: project management e gestione tempistica; biologia molecolare; statistica e grafici; gestione della bibliografia.

## **Gestione tempistica e project management**

Per la pianificazione e la gestione delle risorse ci viene incontro il concetto di GTD, ossia di *Getting Things Done*, un sistema di produttività individuale concepito da David Allen nel suo best seller dal titolo analogo. Senza approfondire le teorie di Allen, qui ci basta semplificare il concetto dell'importanza o priorità dell'evento da realizzare facendo ricorso al concetto espresso da Stephen Covey in "First Things First", e all'uso di una matrice di quattro quadranti, come nell'applicazione **Priority Matrix Team** ([www.appfluence.com](http://www.appfluence.com), **figura 1**), in cui le nostre attività sono raggruppate in quattro quadranti a seconda dell'importanza e dell'urgen-



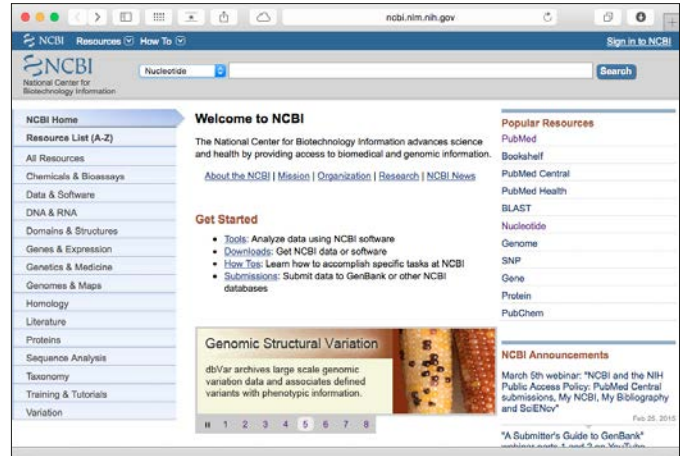
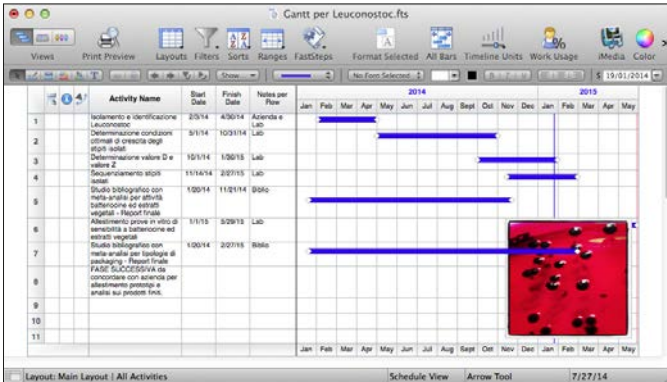
# 01 03 02

**01.** I quattro quadranti di Priority Matrix Team; il software è disponibile per diverse piattaforme e con vari piani di licenza **02.** Le priorità di 2Do elencate dal menu contestuale dell'applicazione **03.** Omni Group è una software house nota per le sue applicazioni di produttività: qui OmniFocus con gli appuntamenti di Calendario

za, così da avere subito tutte le attività sott'occhio. Un'applicazione analoga, anche se non dotata della visualizzazione grafica, è **2Do** ([www.2doapp.com](http://www.2doapp.com)), in grado di interfacciarsi non solo con il sistema di gestione toodledo.com, ma anche con Dropbox e iCloud. Con **2Do** è possibile attribuire a ciascuna attività (task) la data di inizio e fine e la priorità (**figura 2**), così da realizzare in effetti una classificazione degli impegni in linea con i concetti di Stephen Covey. Una valida alternativa è **OmniFocus** ([www.omnigroup.com](http://www.omnigroup.com), **figura 3**) che, interfacciandosi con Calendario, permette una gestione continua degli eventi.

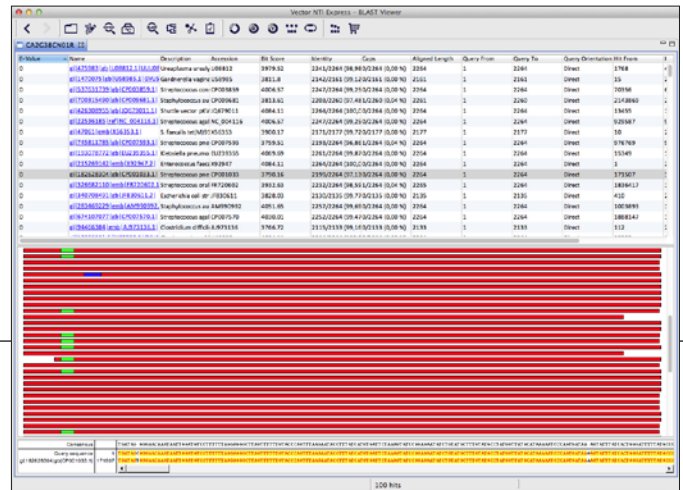
A chi invece deve gestire gruppi di lavoro, suggeriamo il sempreverde e pluripremiato **FastTrack Schedule** ([www.aecsoftware.com](http://www.aecsoftware.com) e [www.videocom.it](http://www.videocom.it)). FastTrack

Schedule aiuta a organizzare, tenere traccia e gestire i progetti attraverso una rappresentazione grafica a barre dell'inizio e della fine delle attività, unitamente a un grafico del tempo. Nell'ambito della gestione dei progetti, questo tipo di tabella si chiama grafico Gantt, o meglio Gantt chart, dal nome dell'ideatore, Henry Gantt. Sebbene FastTrack Schedule sia configurabile per funzionalità tipo "To-Do", con la possibilità di assegnare a ciascun'attività o "task" lo status di completata, non iniziata, in-progress o cancellata, noi riteniamo che per un più modesto uso per le "cose da fare" sia ridondante e forse costoso, ancorché funzionale. Il supporto per il cloud è ancora in embrione e la versione per iOS (FastTrack Schedule Go) molto immatura, ma l'utilizzo del programma è intuitivo e, una volta che l'utente ha familiarizzato con la terminologia e la visualizzazione in orizzontale del tempo, con pochi colpi di mouse riuscirà a motivare e seguire passo-passo i propri collaboratori (**figura 4**). Utile la possibilità di esportare gli eventi verso Calendario anche se si sente la mancanza di una versione per web.



04 05  
06

**04.** FastTrack Schedule (di AEC Software e distribuito in Italia da VideoCOM): diagramma di Gantt a prova del revisore più severo **05.** Il sito del National Center for Biotechnology Information, il vero punto di partenza e pane quotidiano per un ricercatore **06.** Il modulo di ricerca di Vector NTI Express offre una lista di organismi e il loro codice genetico decifrato



## Il laboratorio a colpi di bit

Negli anni '80 Kary Mullis, con gli studi sulla PCR (*polimerase chain reaction*), condotti presso i laboratori della Cetus a Emeryville, nella Silicon Valley, getta le basi per il premio Nobel che gli verrà assegnato nel 1993. La reazione si basa sulla capacità di due oligonucleotidi, detti *primer*, di legarsi con sequenze di basi azotate complementari alla molecola su cui si trova il tratto di cui fare copie multiple.

Per impostare il lavoro sono disponibili diverse possibilità, sia online sia sotto forma di pacchetti software. Le soluzioni online o open source e gratuite sono ormai una miriade e la scelta dei pacchetti residenti su computer trova la sua ragion d'essere solo nel caso in cui il nostro laboratorio conduca sofisticate analisi di sequenziamento e diagnostica.

Di solito, la scelta indipendente inizia con una visita al "PubMed" sul sito del National Center for Biotechnology Information della U.S. National Library of Medicine ([ncbi.nlm.nih.gov](http://ncbi.nlm.nih.gov), **Figura 5**), dove, nella sezione "Nucleotide", è possibile andare alla ricerca del gene

che ci interessa, sia digitandone il nome, sia il numero di accesso, se noto. Il software residente nel sito si incarica di andare alla ricerca del gene nella banca dati e in pochi secondi lo mostra nella sua interezza. Un'alternativa, a pagamento, residente su computer è **Vector NTI Express** ([lifetechnologies.com](http://lifetechnologies.com)), interamente sviluppata per OS X. Con Vector NTI Express il laboratorista può archiviare e tenere traccia delle sue ricerche (**figura 6**).

Trovato il gene che ci interessa nelle banche dati non resta che progettare la coppia di oligonucleotidi necessaria per la copia multipla di parte del gene. Al solito, per chi non ha bisogno di soluzioni residenti su computer, un ottimo sito ad accesso gratuito è [bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/genefisher2](http://bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/genefisher2) dove andare a inserire la sequenza ottenuta in precedenza (**figura 7**) per ottenere una lista di coppie di oligonucleotidi



All Primers

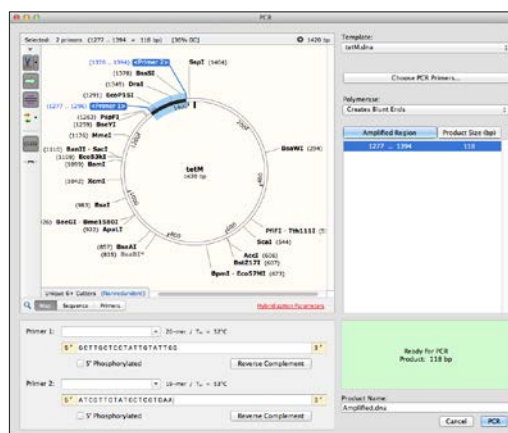
Sort for:  Sense Primer  Anti-sense Primer  Product

#	Rating	Sequence	Position	Length bp	Tm °C	GC %	Hairpin ΔG kcal/mol	Self Dimer ΔG kcal/mol	Cross Dimer ΔG kcal/mol
1.	88,2	CTTTCTCC...	1177	20	59,9	45,0	0,0	0,0	0,0
	88,2	ATGCTTGA...	1194	19	50,1	42,1	0,0	0,0	0,0
	89,3			118	58,8				
2.	88,0	TTATCTGA...	1062	20	50,4	45,0	0,0	0,0	-1,0
	88,0	CCCTCCAT...	1209	19	50,3	47,4	0,0	0,0	
	88,7	TDDGCTTC...	839	20	50,4	45,0	0,0	0,0	-0,4
3.	86,8	CACATCCA...	1205	21	50,8	42,9	0,0	0,0	0,0
	88,2	GGATTTAT...	1185	21	50,8	42,9	0,0	0,0	-0,3
	88,8	ATCCTGTA...	1194	19	50,1	42,1	0,0	0,0	0,0
4.	88,0			210	72,1				-0,3
	88,0	TTATCTGA...	1062	20	50,4	45,0	0,0	0,0	0,0
	88,0	CAGTCCGT...	1213	18	49,7	50,0	0,0	0,0	0,0
5.	88,0			152	72,7				-1,1
	88,0	TTATCTGA...	1062	20	50,4	45,0	0,0	0,0	0,0
	86,0	TCCCTCCA...	1210	18	51,1	50,0	0,0	0,0	-1,0
6.	88,0			149	72,4				
	87,2								

07. L'interfaccia di GeneFisher sul sito BiBiServ, Bielefeld University Bioinformatics Server, altro appuntamento quotidiano del biologo molecolare

08. I risultati di Primer Premier 09. I punti di attacco dei primer visualizzati in SnapGene: qui è raffigurata la visualizzazione circolare

07  
08 09



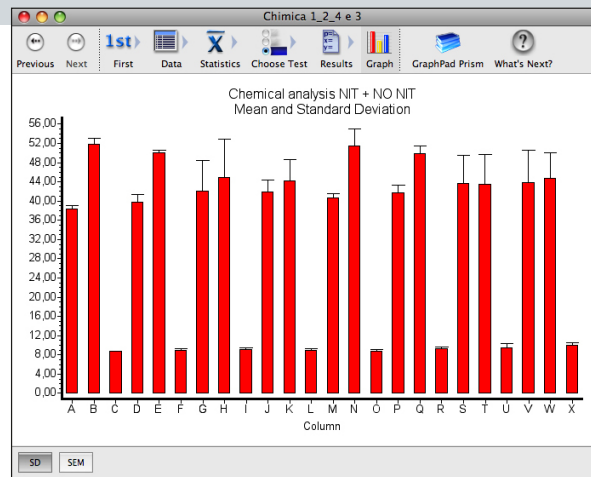
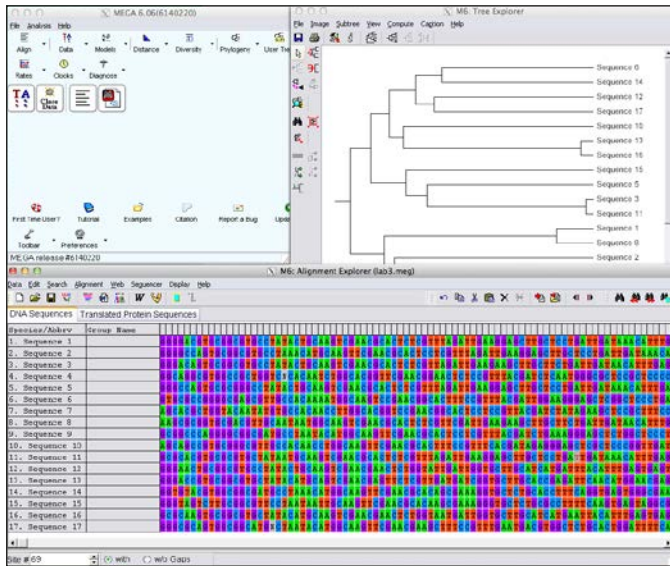
e le loro caratteristiche. Un'ottima alternativa, dedicata a chi, oltre alle attività di laboratorio, deve passare ore e ore al computer ad analizzare le sequenze di DNA, è **Primer Premier** (primerbiosoft.com). Con Primer Premier il ricercatore può davvero sbizzarrirsi: dalla semplice selezione della coppia di oligonucleotidi per eseguire la sua attività diagnostica (figura 8), fino alla ricerca di tutti i possibili allineamenti, passando per la valutazione della specificità della coppia di primer eventualmente selezionata. Chi desidera risparmiare può provare il sito dialign.gobics.de dove, al prezzo di qualche clic in più, può comunque ottenere risultati accettabili. Una verifica finale può essere data in pasto a software specifici, come Primer Premier, che vanno per noi alla ricerca di tutte le possibilità di allineamento nel cosiddetto BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*), mentre la scelta a costo zero prevede di fare una visita alla sezione BLAST del sito di PubMed.

Un biologo molecolare è preso a esempio per la disamina dei software per laboratorio

Per visualizzare in anteprima il probabile risultato delle nostre fatiche, compresa una simpatica rappresentazione della migrazione del DNA sul gel di agarosio, si può fare ricorso a un gradevole programma scritto interamente in Cocoa, **SnapGene** (snappgene.com), che ci mostra il nostro gene, i punti dove

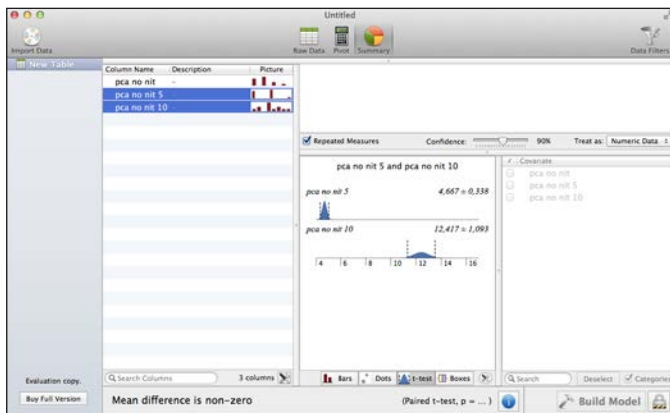
agiranno gli oligonucleotidi (figura 9) e persino come dovrà essere il risultato finale.

Oggi giorno al biologo molecolare non basta più la PCR, ma si deve spingere verso tecniche di sequenziamento e di *next-generation sequencing* e di indagini sulla filogenesi. In questo, un valido aiuto lo può trovare in **Mega** (megasoftware.net), che però è un porting Wine, un po' affrettato, dell'applicazione per Windows (figura 10). Gli stessi sviluppatori suggeriscono, qualora l'utente riscontri malfunzionamenti, di far ricorso ai software di emulazione e virtualizzazione.



10 12  
11

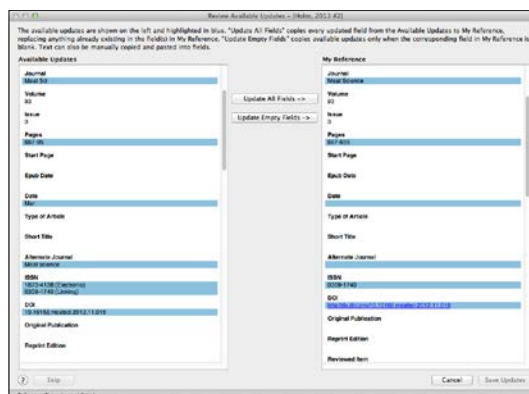
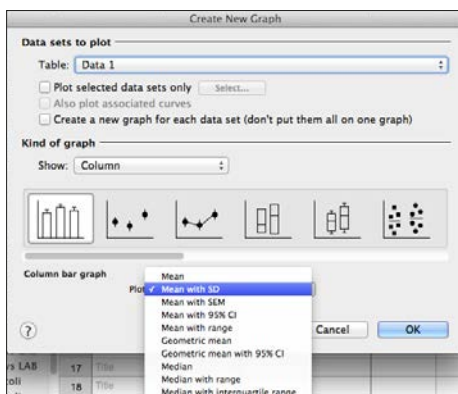
**10.** Allineamento e mappe filogenetiche in Mega: in basso le sequenze amminoacidiche dei tratti di DNA in esame e in alto il grafico della vicinanza molecolare tra gli organismi **11.** Elaborazione statistica con visualizzazione grafica in Wizard Pro, modificabile in tempo reale codificando i parametri statistici **12.** I grafici in InStat: sebbene non supportato da OS X Lion in poi, è ancora un cavallo di battaglia nei laboratori universitari



## Statistica e grafici

Agli utenti già esperti e smalzati e che conoscono almeno i fondamenti della statistica suggeriamo **Wizard Pro** (wizardmac.com). La pagina bianca e imperscrutabile che appare al primo lancio ha lasciato interdetti anche noi, che pur non essendo esperti specialisti della materia, non siamo nemmeno alle prime armi. Superato lo shock iniziale e resici conto che, pur nella gradevole interfaccia e nella pulizia delle forme, Wizard Pro ragiona come il colosso della statistica **SAS** (sas.com) e che desidera un inserimento dei dati da matematico, siamo riusciti ad apprezzarne la velocità di esecuzione e la capacità di generare grafici intelligibili e persino didattici con l'elaborazione che cambia in tempo reale al variare di alcuni parametri (**figura 11**). Ai ricercatori ancora fermi a OS X 10.6, quindi prima della rivoluzione Lion (OS X 10.7), Mountain Lion (10.8),

Mavericks (10.9) e Yosemite (10.10), che crediamo siano ancora molti in ambito accademico e universitario, suggeriamo il sempreverde **InStat** (graphpad.com). InStat non è stato sviluppato da matematici, ma da ricercatori e l'approccio, anche se sconcertante per i duri e puri utenti dei software professionali prodotti da SAS Institute, è estremamente lineare. La prima schermata consente infatti di definire gli obiettivi e il tipo di dati di cui disponiamo, quindi sarà sempre il software a guidarci passo-passo verso la scelta dei test da effettuare, la loro visualizzazione fino alla rappresentazione grafica (**figura 12**). Ai più raffinati, desiderosi di un output elegante e personalizzato, è destinato **Prism**, della stessa software house, che nell'attuale versione 6 per OS X è compatibile con Mavericks e ha solo alcune incongruenze con Yosemite che saranno risolte nell'imminente versione 7. Prism rende l'elaborazione dei dati un'incombenza davvero piacevole. Anche in questo caso la guida passo-passo accompagna l'utente sino alla fine dell'elaborazione, consentendogli di dedicarsi a infinite personalizzazioni (**figura 13**).



13. La scelta dei grafici in Prism, che permette di personalizzare il nostro output

14. Aggiornamento delle referenze in EndNote, che garantisce librerie sempre aggiornate in tempo reale

# 13 14

## Bibliografia e citazioni

Il programma principe in questo ambito è EndNote (endnote.com), un prodotto usato nel mondo da miriadi di ricercatori, scrittori, studenti e gestori di biblioteche. Con EndNote è possibile aggiungere e trasferire file da e per il web, tramite la sincronizzazione con EndNote Web, e allegare file PDF alle citazioni e consultarli senza ricorrere a programmi esterni come Adobe Acrobat. La possibilità di aggiornare le referenze bibliografiche attraverso il comando "Find References Updates", con il quale EndNote si incarica di andare alla ricerca sul web degli aggiornamenti, è una funzione è utilissima perché spesso gli articoli scientifici sono pubblicati online con molto anticipo sulla versione cartacea e la corretta citazione potrebbe andar persa (figura 14). Ricordiamo anche la funzione "Cite While You Write", che consente di inserire le citazioni direttamente nell'elaboratore di testo. Mendeley (mendeley.com) ha sia un'interfaccia web sia un'applicazione desktop e rende facile l'importazione di librerie generate con EndNote, a voler dimostrare con quale aggressività gli sviluppatori cerchino di far breccia tra gli utenti della ben più famosa applicazione. Meno lineare la procedura d'inserimento delle citazione che passa attraverso l'installazione di un plugin per Word. Un'altra valida alternativa a EndNote, che per noi resta comunque l'unica soluzione professionale e coerente con la logica dei Mac user, è Zotero (zotero.org), un open source disponibile sia come plugin per Firefox che in versione standalone.

Mac collegato al microscopio ottico con telecamera digitale della serie DP. Alcune funzioni necessitano di virtualizzazione in ambiente Windows, ma la visualizzazione e il salvataggio delle immagini sono accessibili agevolmente da Mac



pubblicazioni di chi ci ha preceduto e di poterle citare in maniera uniforme e secondo i dettami della rivista per la quale stiamo scrivendo. Ne parliamo nel riquadro "Bibliografia e citazioni".

Anche in quest'ambito, come nelle altre situazioni descritte, le soluzioni sono tantissime e da valutare in rapporto all'utilizzo che ne faremo. Un'applicazione a poco prezzo o persino gratuita può tornare utile in caso di uso saltuario, ma quando da un software dipendono i risultati delle nostre fatiche e quando ripetibilità e affidabilità dei risultati sono l'obiettivo principale, faremo bene a ponderare con accortezza dove depositare il nostro tesoro di numeri e formule.

Il dado è tratto, e a coronamento delle fatiche in laboratorio è giunto il momento di far conoscere al mondo la nostra scoperta. Ed ecco l'ultima fatica: quando si scrive un articolo scientifico è sempre necessario citare chi ci ha ispirato o chi ha sviluppato un metodo che noi abbiamo perfezionato o semplicemente utilizzato. Si tratta quindi di raccogliere in maniera ordinata le