

# ALTERNANZA SCUOLA·LAVORO IN ISS

05-07 / 13-15 Febbraio 2019

**Percorso formativo:**  
**BC13 le sostanze naturali sotto la lente del  
microscopio: scopriamo insieme i loro effetti**



## Studenti:

- A. Avagliano (liceo Volterra)
- C. Bello (liceo Pasteur)
- G. Furfaro (liceo Montessori)
- D. Santoro (liceo Farnesina)

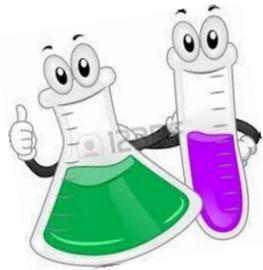
## Tutor:

- Bozzuto Giuseppina
- Calcabrini Annarica
- Colone Marisa
- Condello Maria
- Meschini Stefania
- Molinari Agnese
- Pellegrini Evelin
- Stringaro Annarita
- Toccaceli Laura



## La nostra attività

L'obiettivo di questo percorso è stato quello di valutare gli effetti di una sostanza naturale (Aloe emodin, AE) su una linea cellulare di adenocarcinoma mammario umano, denominata SKBR3. Lo studio è stato condotto trattando *in vitro* le colture cellulari con l'AE a diverse concentrazioni per 24h.



### Dalla teoria:



- I principi di base per la preparazione ed il mantenimento delle colture cellulari;
- I principi di base della microscopia ottica ed elettronica, per valutare gli effetti delle sostanze naturali sulla crescita e sulla morfologia delle cellule tumorali.

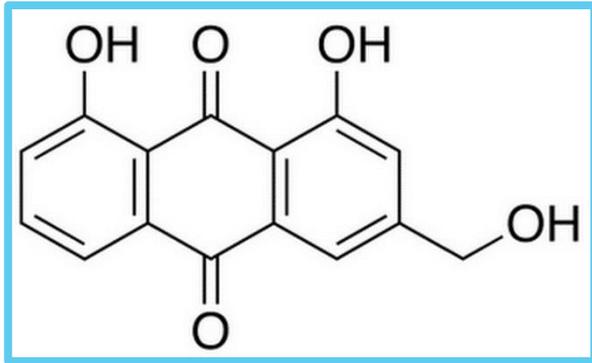
### Alla pratica:



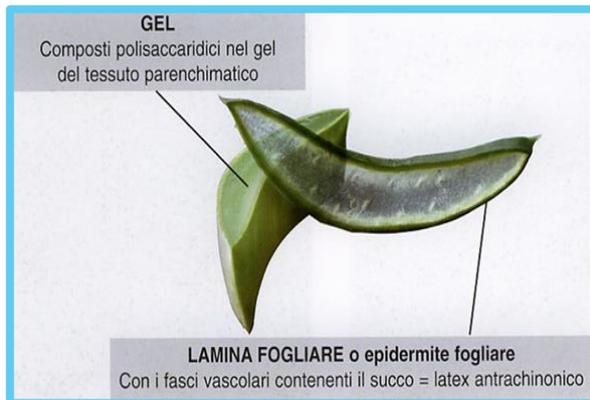
- Semina in sterilità della coltura delle cellule SKBR3 su vetrini;
- Trattamento delle cellule con due diverse concentrazioni di AE per 24h;
- Preparazione per l'osservazione dei campioni ai diversi microscopi;
- Analisi delle immagini al computer con software dedicati.



## Aloe emodin



Principio attivo contenuto nelle foglie di Aloe vera e Aloe arborescens.



## Effetti biologici

- Lassativo;
- Antifungino;
- Antibatterico;
- Epatoprotettivo;
- Antivirale.



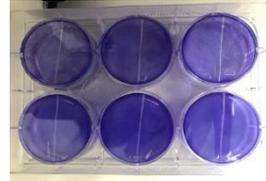
## La semina delle cellule

- ▶ Preparazione della sospensione monocellulare
- ▶ Conta delle cellule contenute nella sospensione
- ▶ Semina delle cellule su vetrini sterili in piastre da 12 pozzetti per trattamento con AE.

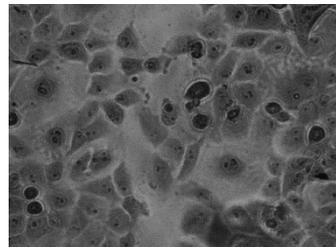
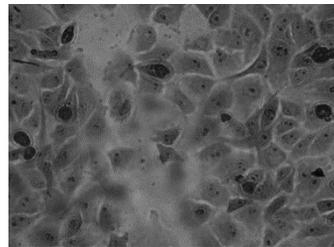


# Valutazione della riduzione della motilità delle SKBR3

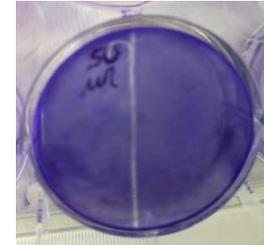
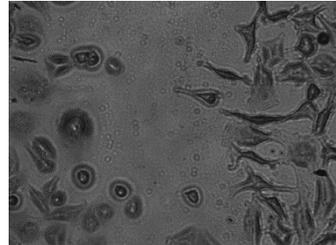
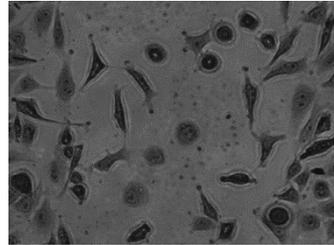
Wound assay 24h



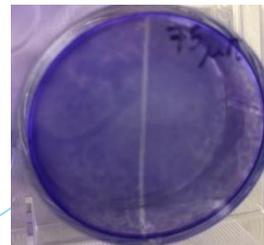
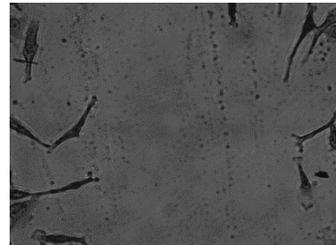
controllo



AE 50  $\mu\text{M}$   
24h



AE 75  $\mu\text{M}$   
24h



# BC13 le sostanze naturali sotto la lente del microscopio

## Microscopia ottica

Usa la luce visibile e lenti di vetro. La capacità d'ingrandimento arriva fino a 1000 volte.  $d = \lambda/2n\sin\alpha$   
Potere risolutivo: 200 nm

### A contrasto di fase

Converte le differenze di fase in differenze di intensità luminosa e viene utilizzato per l'osservazione delle cellule vive.



### Confocale a scansione laser

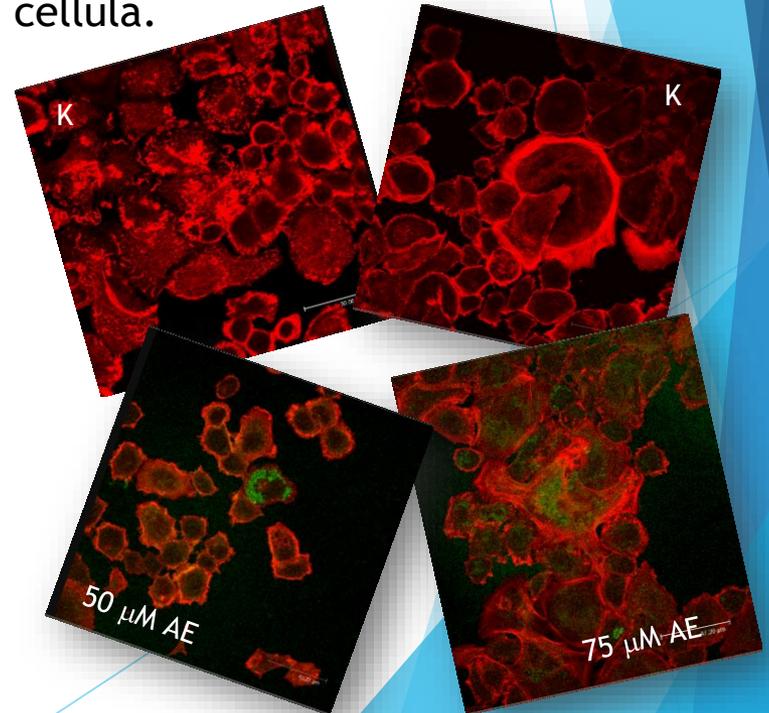
La sorgente luminosa è costituita da uno o più laser per ogni diversa frequenza di eccitazione. Le immagini risultano definite e tridimensionali. Utilizzato per osservare cellule fissate e marcate con fluorocromi.



## Preparazione dei campioni per la microscopia confocale a scansione laser

### Analisi contemporanea:

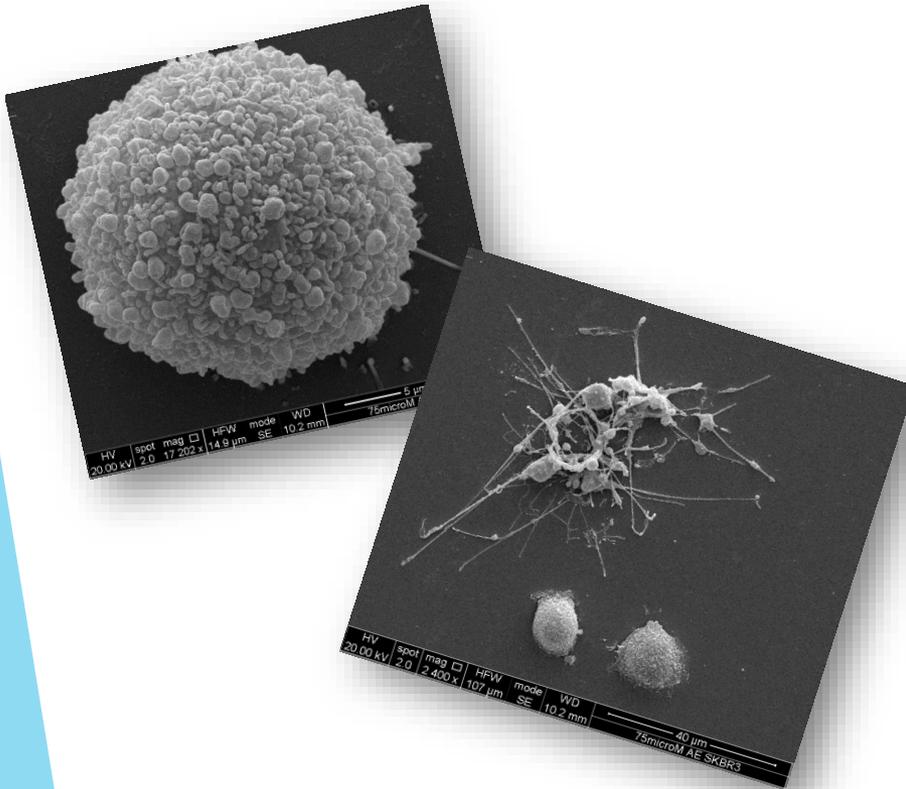
- ▶ Del citoscheletro mediante marcatura con falloidina coniugata con un fluorocromo (rodamina) che si lega ai microfilamenti di actina.
- ▶ Della distribuzione dell'AE (di per sé fluorescente) all'interno della cellula.



# BC13 le sostanze naturali sotto la lente del microscopio

## Microscopia elettronica

Il microscopio elettronico utilizza un fascio di elettroni come radiazione di illuminazione, raggiungendo una più alta risoluzione (1 nm) rispetto al microscopio ottico.



a trasmissione



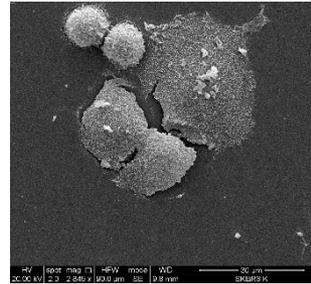
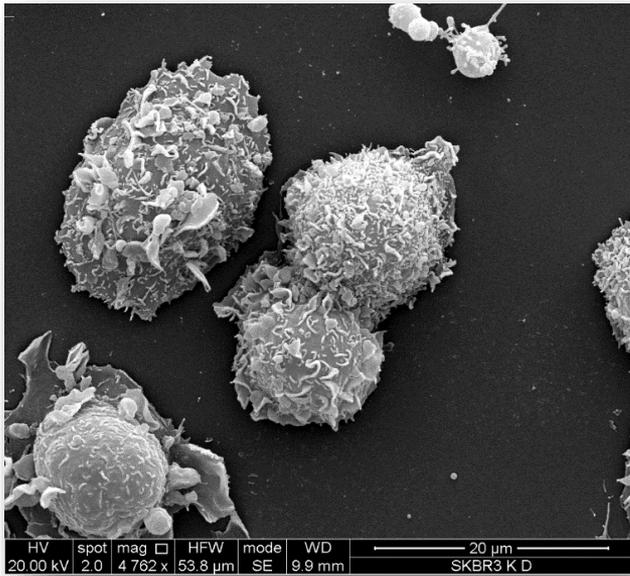
a scansione



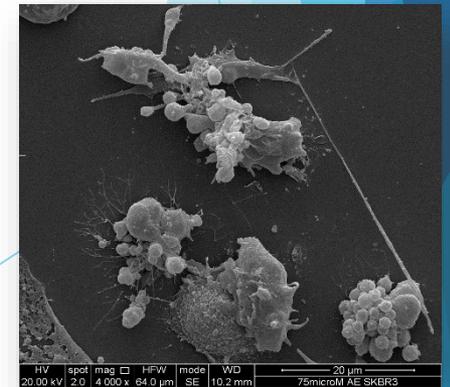
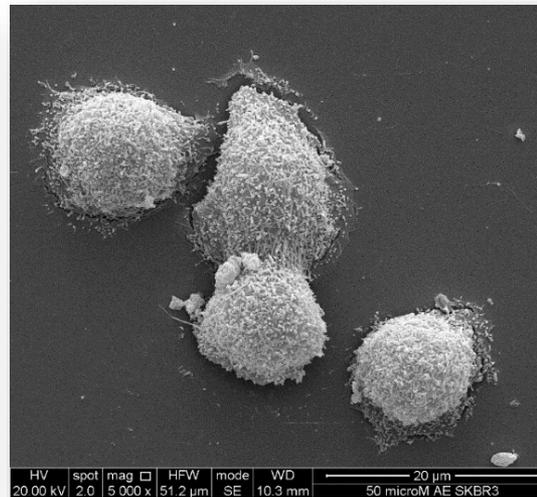
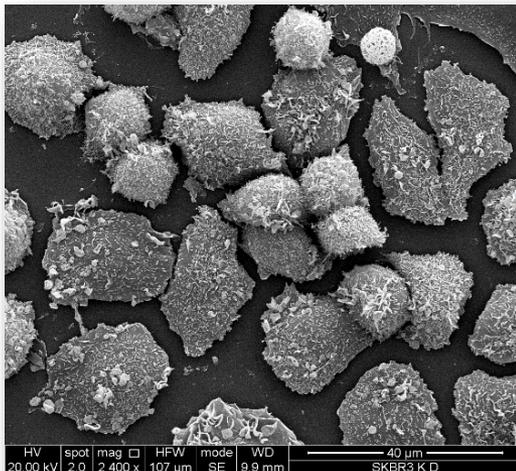
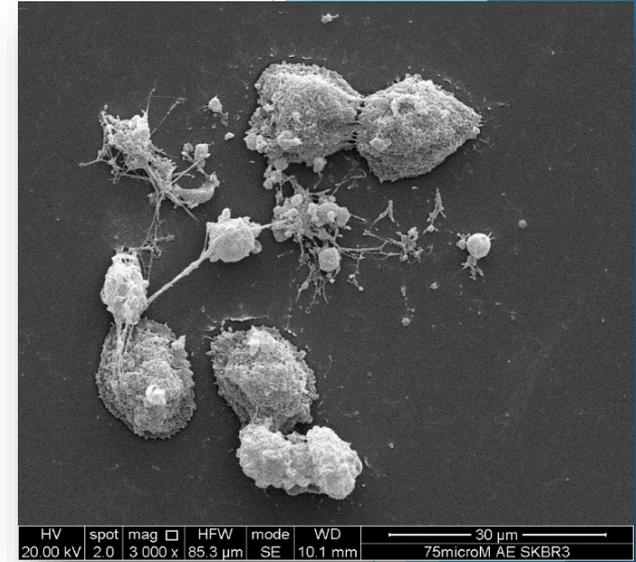
Preparazione dei campioni per la microscopia elettronica a scansione (SEM)

- Fissazione
- Disidratazione
- Essiccamento
- Ricopertura con metallo pesante (oro)

# BC13 le sostanze naturali sotto la lente del microscopio

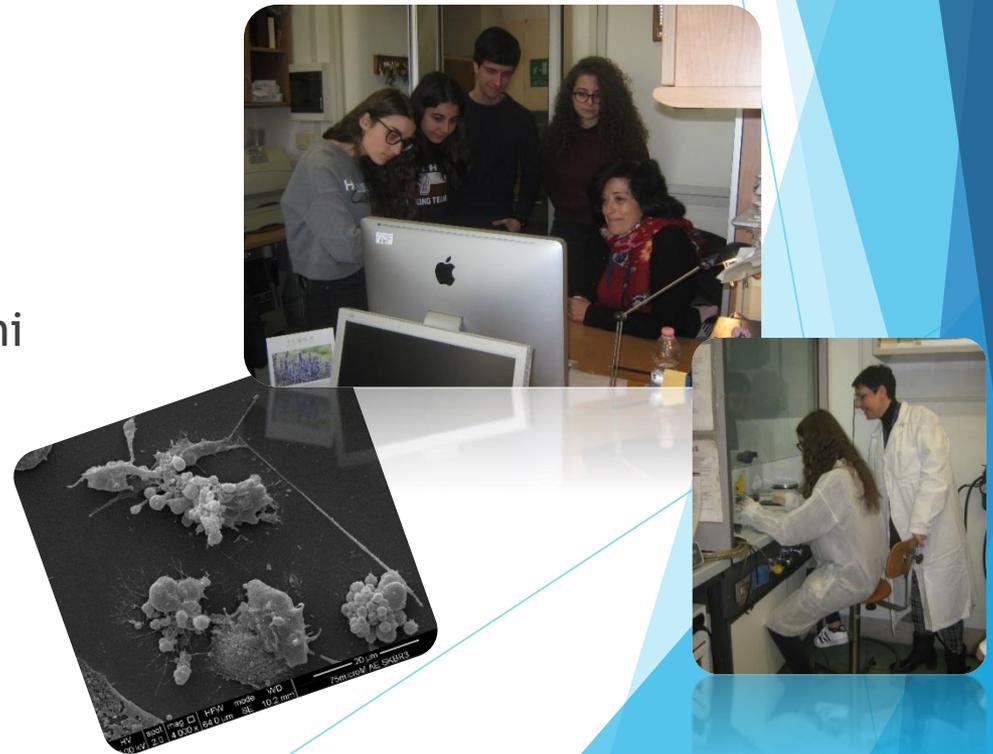


Le nostre  
immagini  
al SEM



## Conclusioni

- ▶ Il nostro lavoro sperimentale svolto *in vitro* ha dimostrato che l'Aloe emodin è in grado di ridurre la proliferazione e la motilità delle cellule tumorali SKBR3;
- ▶ I nostri risultati hanno dimostrato che l'AE è in grado d'indurre importanti alterazioni del citoscheletro e della morfologia di superficie attribuibili all'induzione della morte cellulare.
- ▶ Abbiamo osservato che l'AE viene immagazzinata dalle cellule all'interno di vescicole;



# BC13 le sostanze naturali sotto la lente del microscopio

Il nostro percorso in ISS lo abbiamo vissuto così...



Ringraziamo l'istituto e tutti i tutor per averci offerto l'opportunità di vivere quest'esperienza magnifica.

