

ALTERNANZA SCUOLA-LAVORO IN ISS

5-8 e 14-16 febbraio 2018



Percorso formativo:

BC 15 Metodologie per lo studio delle microvescicole quali strutture coinvolte in eventi fisiologici e patologici.

A. I.

liceo Avogadro

E. O.

liceo Tasso

L. M.

liceo Morgagni

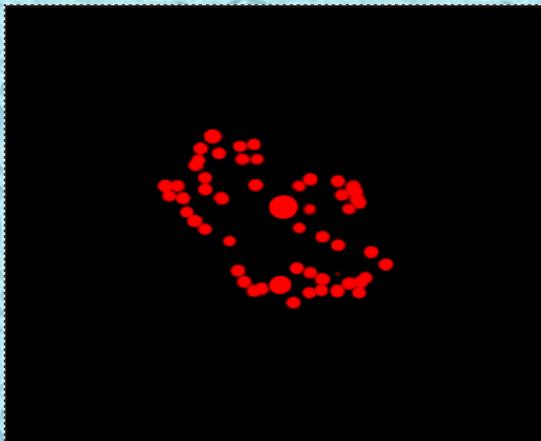
Tutor: Antonella D'Ambrosio, Paola Margutti, Valentina Tirelli, Silvia Zamboni.

Con la partecipazione di: Serena Cecchetti, Francesca Spadaro e Olimpia Vincentini

LE MICROVESICOLE EXTRACELLULARI

Le microvescicole extracellulari sono prodotte da ogni tipo di cellula. Trasferiscono le loro informazioni ad altre cellule dette target che ne vengono così influenzate. Sono rilasciate in condizioni di

- **Omeostasi**
- **Patologiche o di stress**

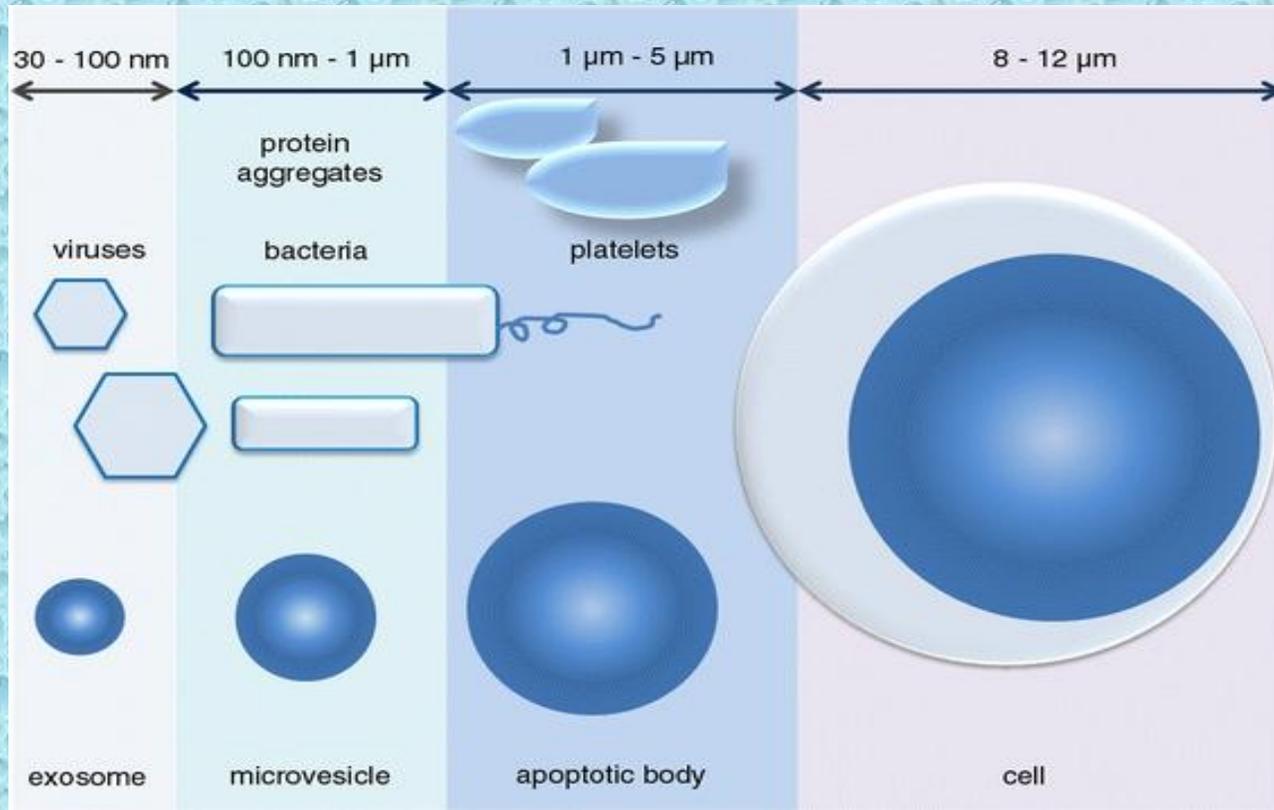


Esse sono presenti in:

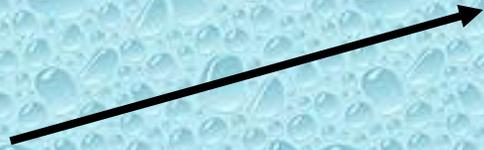
- **Sangue**
- **Urina**
- **Liquido cerebrospinale**
- **E in generale in tutti i fluidi biologici**

Le microvescicole extracellulari si distinguono in 3 classi principali

di derivazione endocitica rilasciate dalle cellule quando i corpi multivescicolari si fondono con la membrana plasmatica



rilasciate per estroflessione della membrana plasmatica (gemmazione)



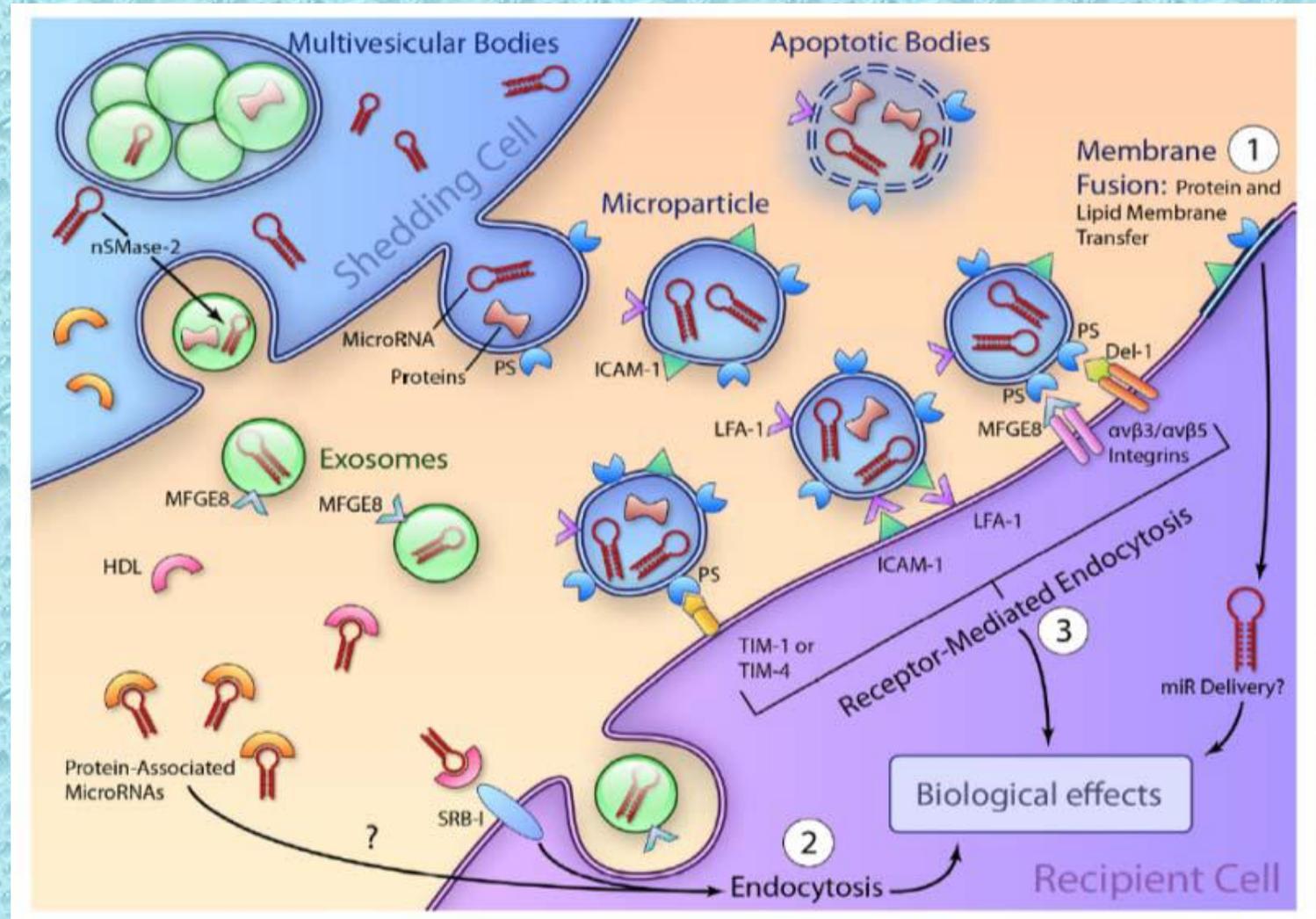
Ectosomi



massiva estroflessione della membrana plasmatica in seguito a morte cellulare programmata (apoptosi)

LE MICROVESICCOLE COME MEDIATORI INTERCELLULARI

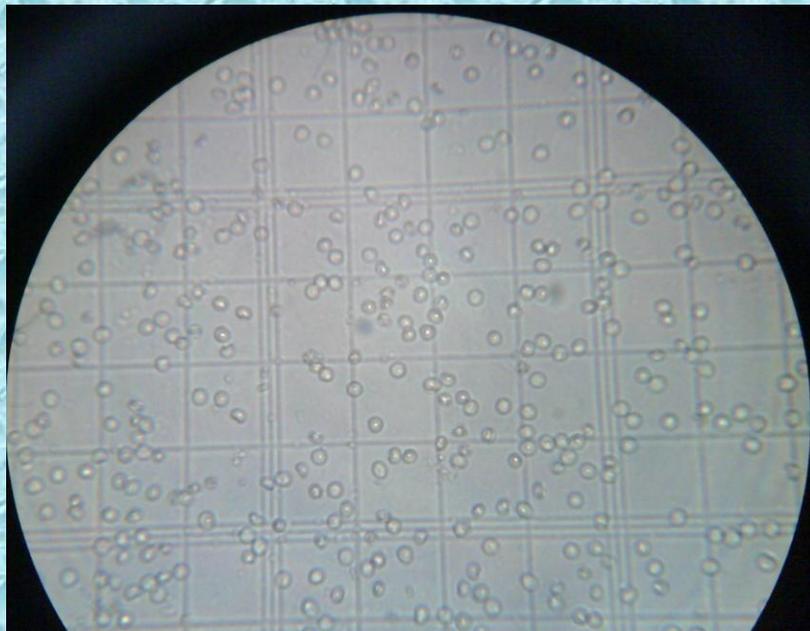
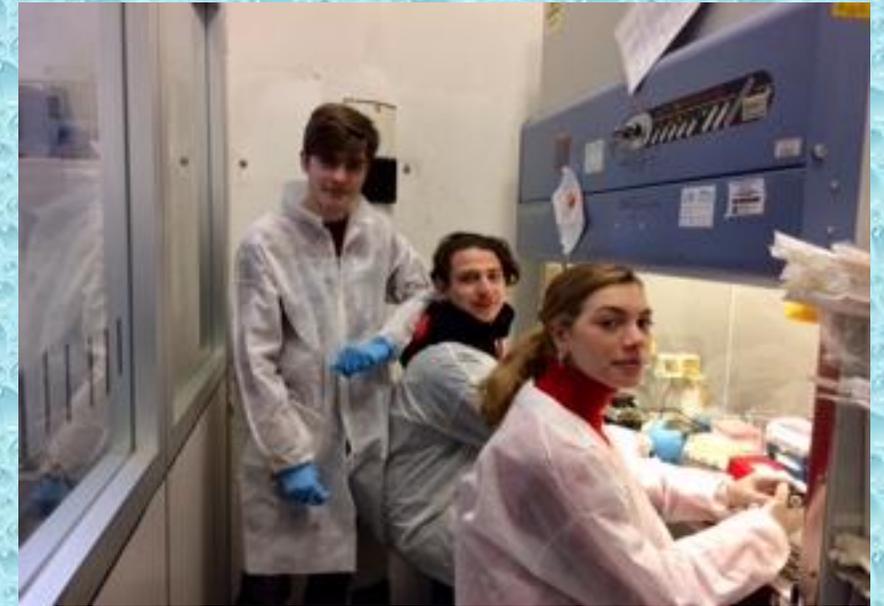
Tipo di vescicola	contenuto
Esosomi e Ectosomi	mRNA microRNA DNA proteine citoplasmatiche proteine di membrana molecole bioattive (citochine, fattori di crescita, lipidi bioattivi)
Corpi Apoptotici	organelli cellulari frazioni nucleari



Una volta rilasciate, le microvesicole extracellulari, sono in grado di trasferire le informazioni contenute al loro interno (proteine, acidi nucleici, lipidi bioattivi) mediante fusione di membrane (1), endocitosi (2), o legame mediato da recettori (3).

Le attività svolte durante il nostro percorso

- **Metodi di sterilizzazione**
 - Autoclave
 - Filtrazione
- **Cappe per operare sterilmente**
- **Crioconservazione delle cellule**
- **Preparazione soluzione tampone di omogenizzazione**



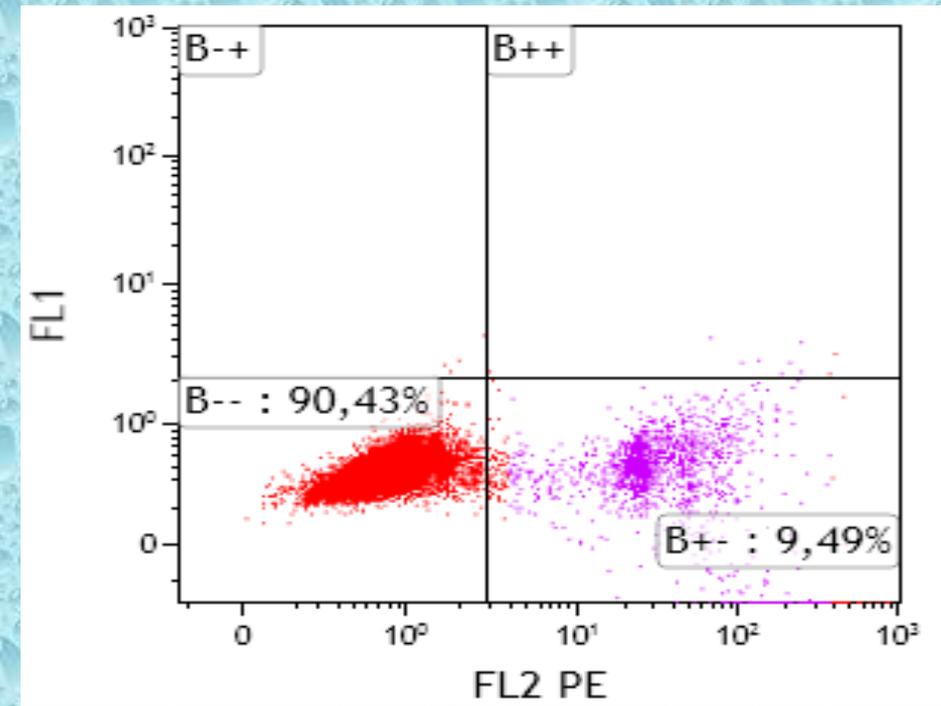
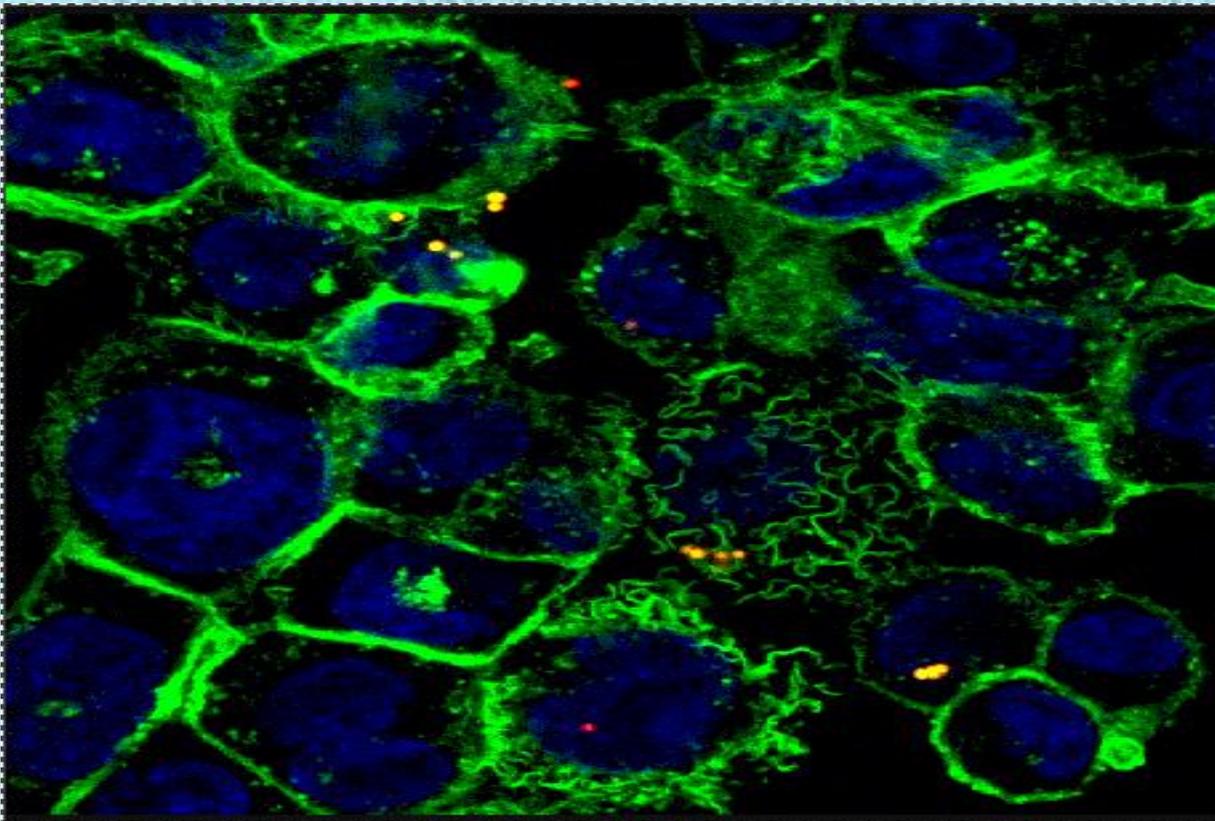
- **Estrazione del DNA dalla cipolla**
 - Rottura cellule e omogenizzazione
 - Deproteinizzazione
 - Precipitazione
 - Corsa del DNA nel gel d'agarosio
- **Conta delle cellule mediante camere contaglobuli, usando il colorante Trypan Blue**

- **Determinazione contenuto proteico delle microvescicole allo spettrofotometro mediante il metodo Bradford**

- **Uso del citofluorimetro per:**

- **-Conta delle microvescicole tramite delle biglie fluorescenti**

- **-Analizzare l'uptake delle microvescicole da parte delle cellule monocitarie**



- **Colorazione delle cellule che hanno inglobato le microvescicole per l'analisi al microscopio confocale**

- **In blu i nuclei**

- **In verde il citoscheletro**

- **In rosso le microvescicole**

Grazie per l'attenzione

