

ALTERNANZA SCUOLA-LAVORO IN ISS

4-7 e 13-15 febbraio 2019



percorso formativo:

BC15 Metodologie per lo studio delle microvescicole quali strutture coinvolte in eventi fisiologici e patologici

Francesca Vicentini
Liceo Farnesina

Rebecca Rosati
Liceo Louis Pasteur

Matteo Cristiani
Liceo Keplero

TUTOR

ANTONELLA D'AMBROSIO, PAOLA MARGUTTI, SILVIA ZAMBONI

(NEURO)

MARIA LUISA DUPUIS

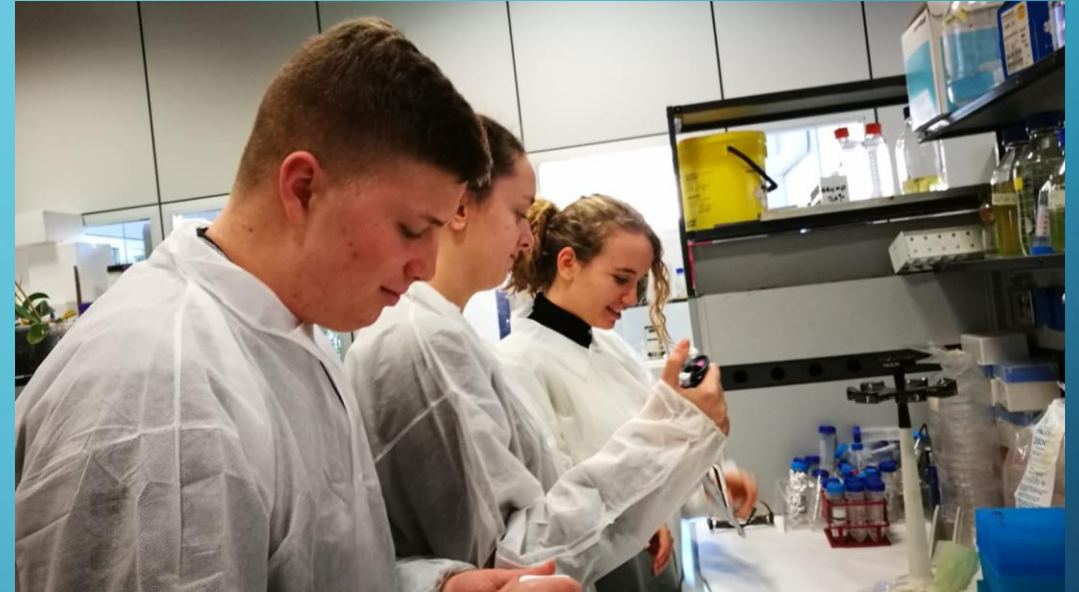
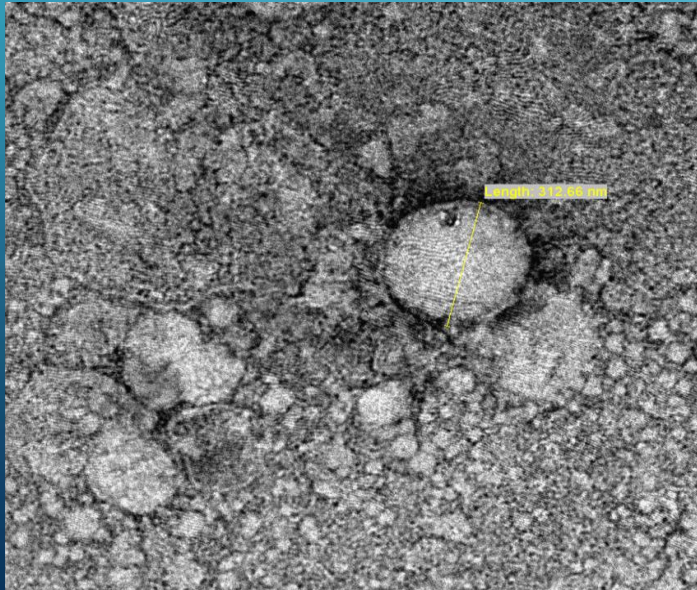
(MEGE)

VALENTINA TIRELLI, FRANCESCA SPADARO

(FAST)

MICROVESCICOLE EXTRACELLULARI

- Derivanti dalle cellule
- Considerate mediatori della comunicazione intercellulare
- Rilasciate dalle cellule in condizione di:
 - omeostasi
 - patologiche
 - stress
- Trasferiscono informazioni ad altre cellule (target);



Presenti in tutti i fluidi biologici:

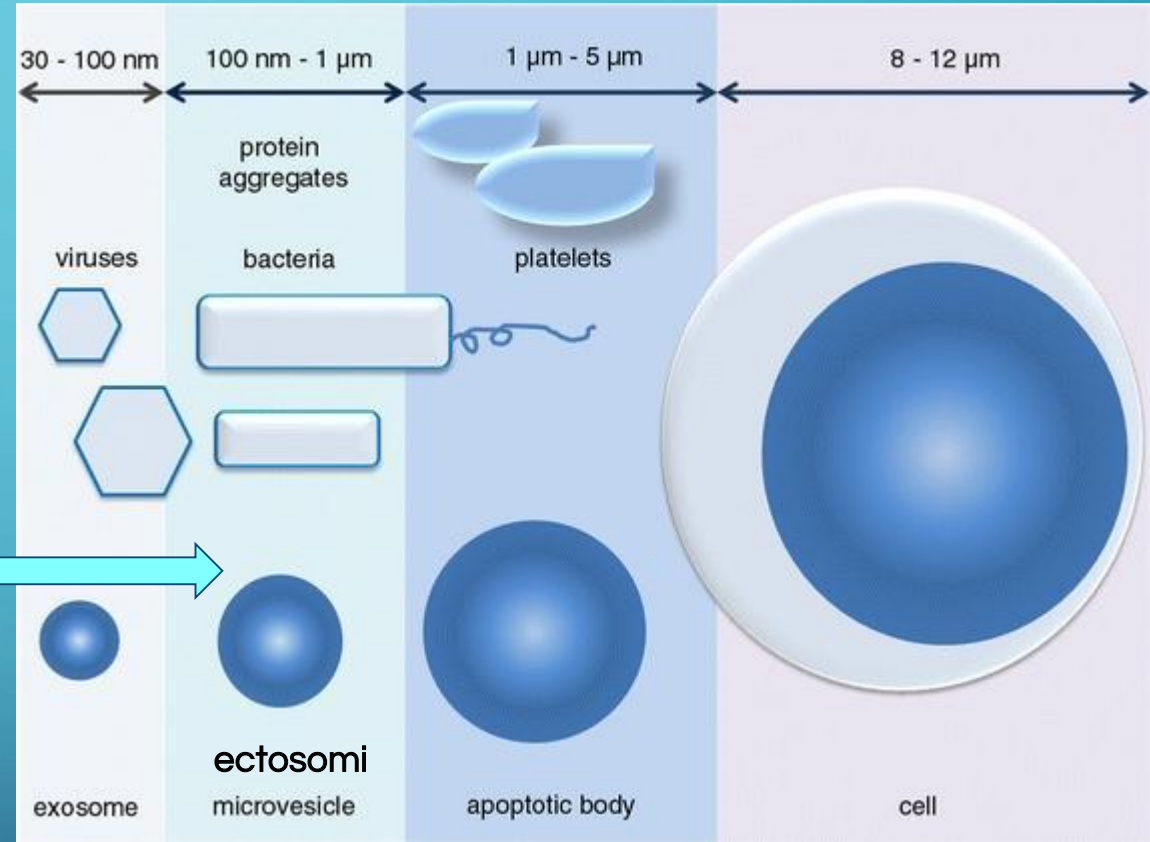
- sangue
- urina
- saliva
- liquido cerebrospinale

Distinzione delle microvescicole:

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

Rilasciate per
estroflessione della
membrana plasmatica
(gemmazione)

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



CONTENUTO DELLE MICROVESCICOLE

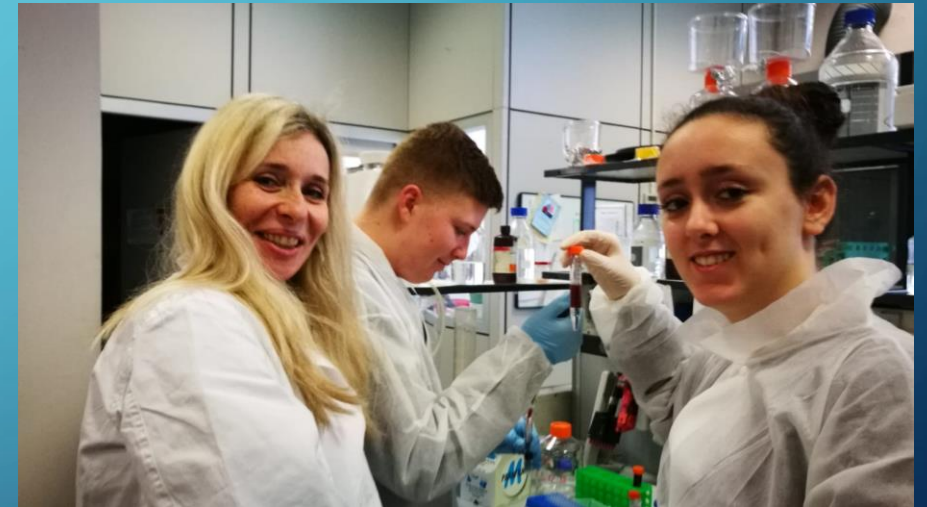
TIPO DI VESCICOLA	CONTENUTO
ESOSOMI E ECTOSOMI	mRNA microRNA proteine citoplasmatiche, proteine di membrana, molecole bioattive
CORPI APOPTOTICI	organelli cellulari frazioni nucleari DNA

IL TRASFERIMENTO DELLE INFORMAZIONI CONTENUTE AL LORO INTERNO AVVIENE MEDIANTE:

- FUSIONE MEMBRANE PLASMATICHE;
- ENDOCITOSI;
- LEGAME MEDIATO DA RECETTORI SPECIFICI;
- RILASCIO CONTENUTO MICROVESCICOLE NELLO SPAZIO EXTRACELLULARE

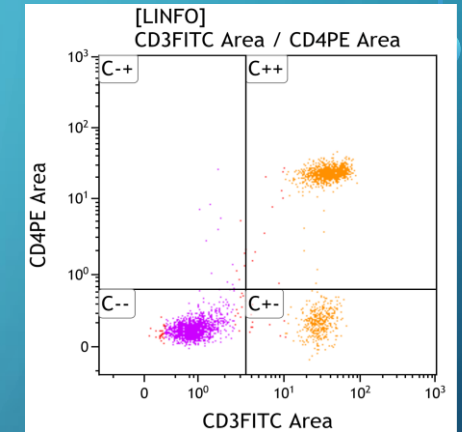
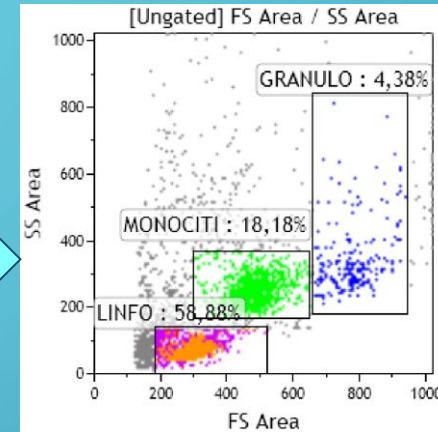
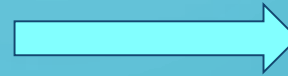
ATTIVITÀ SVOLTE

- **SEPARAZIONE DELLE CELLULE MONONUCLEATE E DELLE MICROVESCICOLE DAL SANGUE PERIFERICO**
 - **STRATIFICAZIONE DEL SANGUE SU GRADIENTE DI FICOLL**
 - **CONTA Vitale DELLE CELLULE MEDIANTE CAMERA CONTAGLOBULI, USANDO COLORANTE TRYPAN BLUE**
 - **PURIFICAZIONE DI MICROVESCICOLE DAL PLASMA E DETERMINAZIONE DEL LORO CONTENUTO PROTEICO (SAGGIO BRADFORD)**

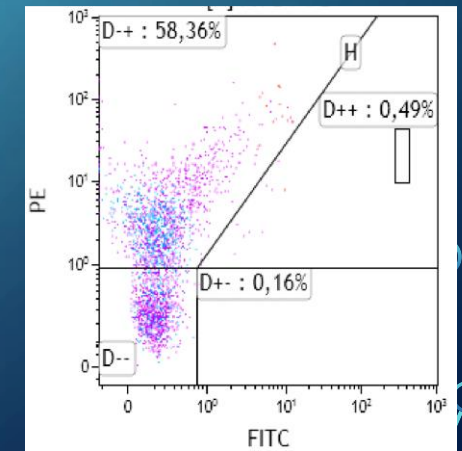
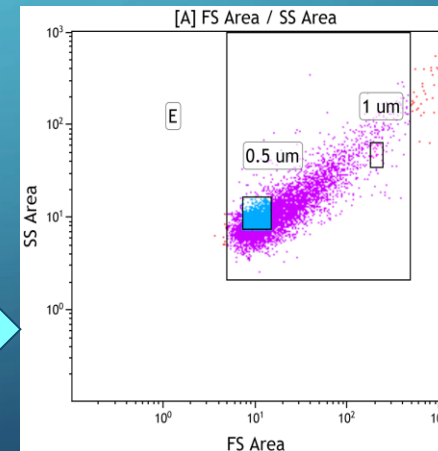
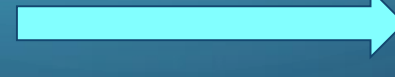


ANALISI AL CITOFLUORIMETRO DELLE CELLULE E DELLE MICROVESCICOLE

- ANALISI DEL FENOTIPO DELLE CELLULE ISOLATE DAL SANGUE CON:
 - ANTICORPI ANTI-CD3 E ANTI-CD4



- OSSERVAZIONE MICROVESCICOLE MARCATE CON PKH26 (COLORANTE LIPOFILICO)



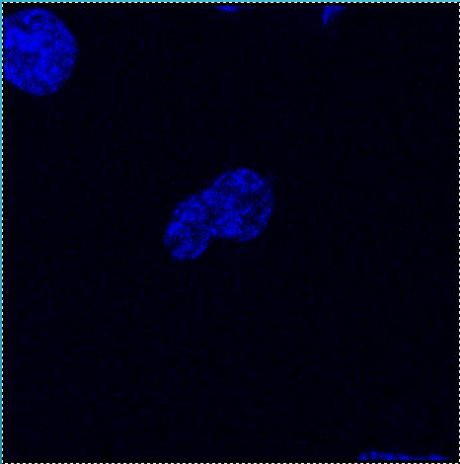
- **ESTRAZIONE DNA DA CIPOLLA :**

1. **OMOGENIZZAZIONE DEL TESSUTO E ROTTURA CELLULE**
2. **DEPROTEINIZZAZIONE**
3. **PRECIPITAZIONE**
4. **CORSA DNA NEL GEL D'AGAROSIO**

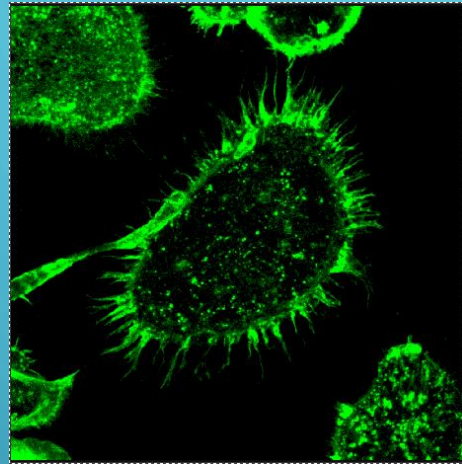


- **IMMUNOFLUORESCENZA: ANALISI AL MICROSCOPIO CONFOCALE DI CELLULE CHE HANNO INGLOBATO LE MICROVESCICOLE**

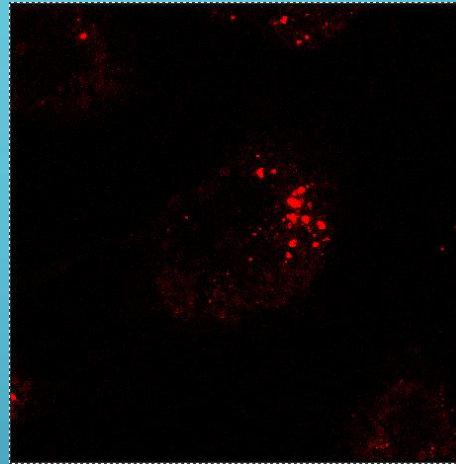
NUCLEO



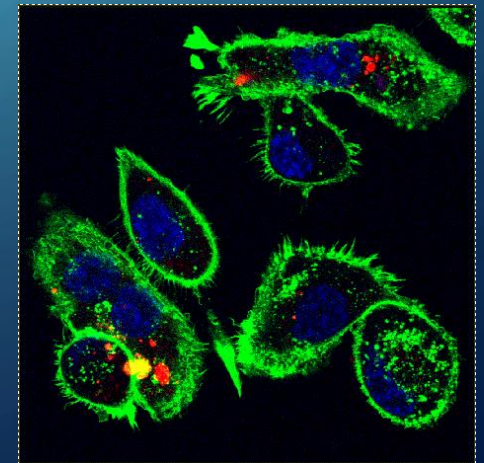
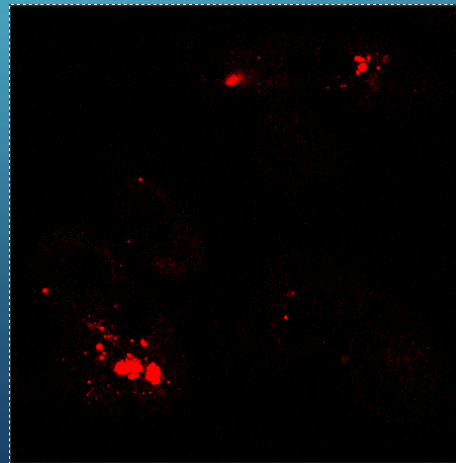
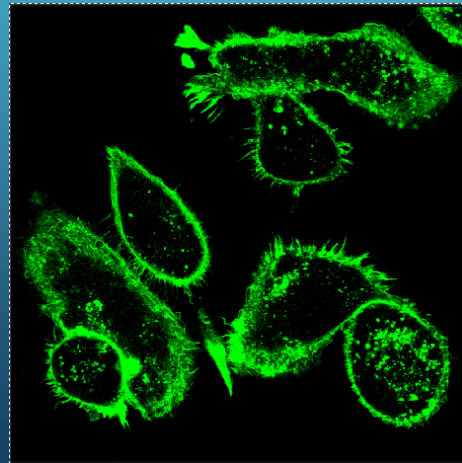
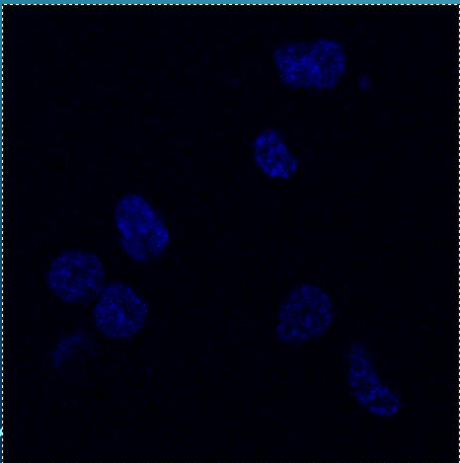
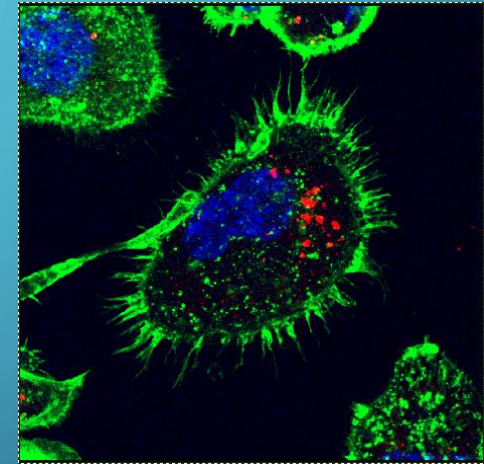
FILAMENTI ACTINA



MICROVESCICOLE



MERGE



THANK YOU!

