

ALTERNANZA SCUOLA·LAVORO IN ISS

05-08 e 14-16 febbraio 2018

Percorso formativo:

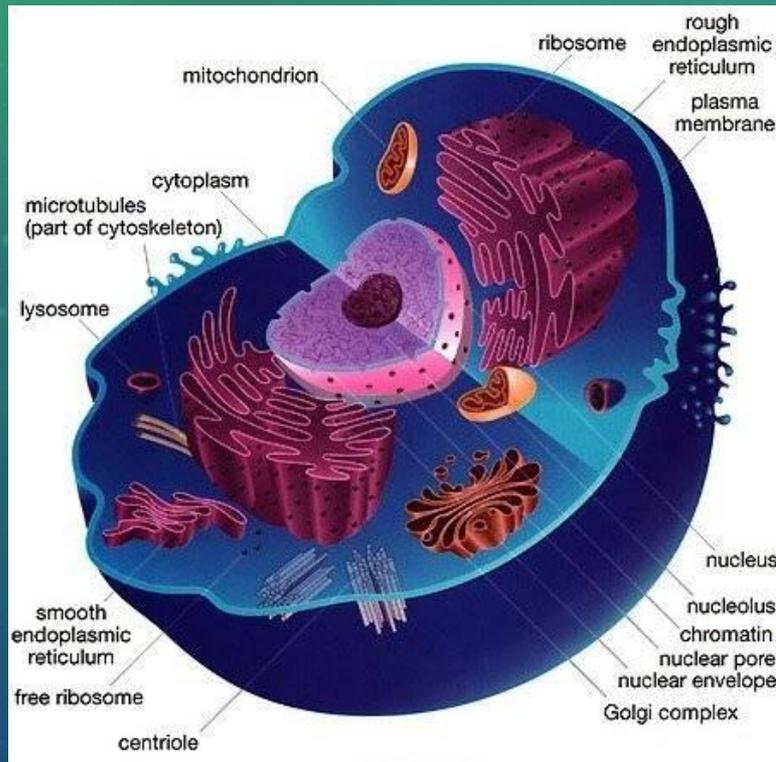
BC18: Viaggio attraverso i compartimenti cellulari :
dalla membrana plasmatica alla secrezione di
vescicole



Tutor: Katia Fecchi, Isabella Parolini
Personale: Zaira Bussaria, Mario Falchi, Daniela Peruzzu, Carla Raggi, Massimo Sanchez, Eleonora Vertecchi.



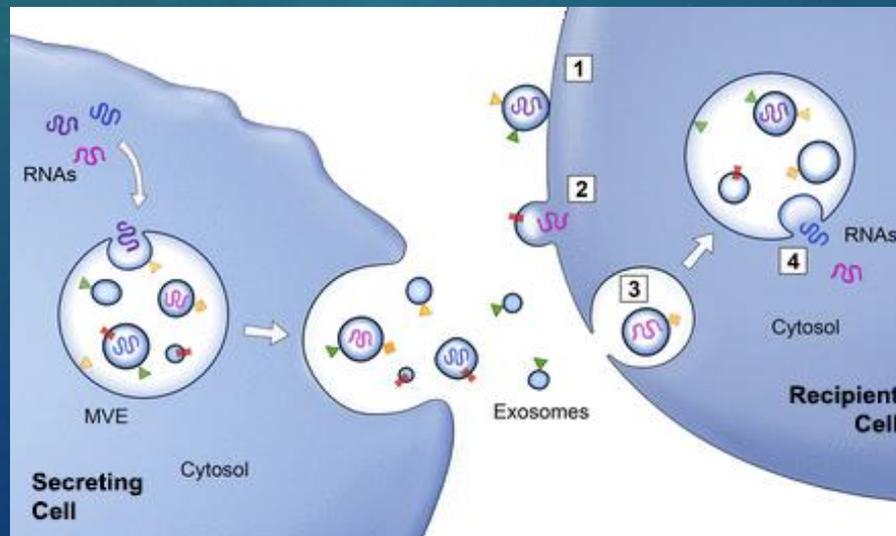
COME E' FATTA LA CELLULA?



La cellula è l'unità fondamentale della struttura degli organismi: è un sistema altamente organizzato, nel quale i diversi organuli sono deputati a svolgere funzioni specifiche.

GLI ESOSOMI

- Gli esosomi sono nanovesicole
- Vengono secreti sia da cellule sane sia da cellule tumorali;
- Si originano dalla cellula dai corpi multivescicolari;
- Hanno un contenuto proteico, lipidico e molecolare caratteristico della cellula produttrice,
- Svolgono un ruolo importante come mediatori di comunicazione intercellulare

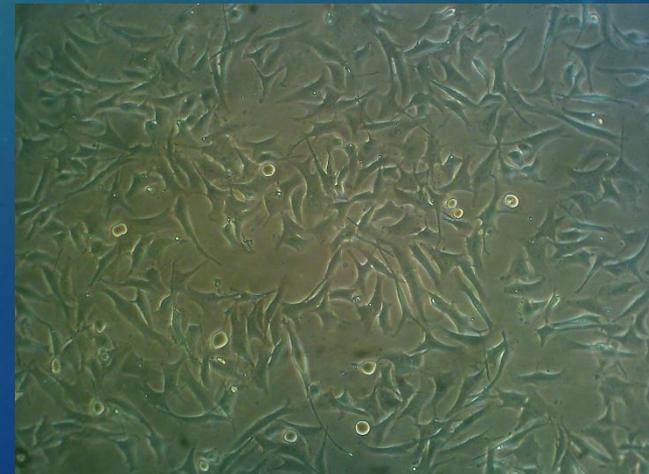
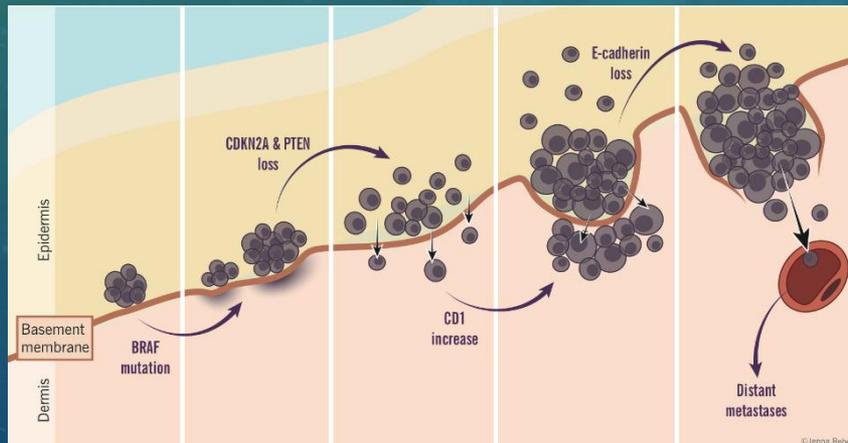


COSA ABBIAMO FATTO?

STEP 1



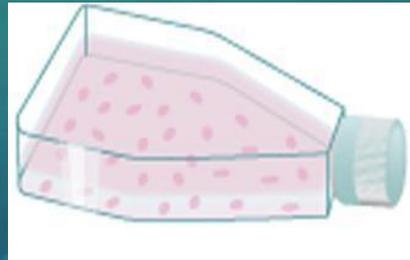
- Analisi al microscopio di colture cellulari di melanoma umano



STEP 2

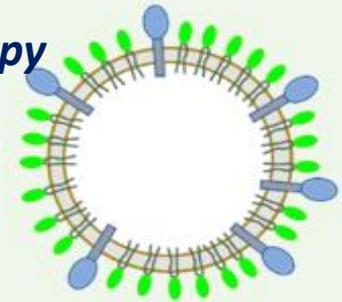
Marcatura delle cellule con BODIPYC16 per produzioni di esosomi fluorescenti:

- Il Bodipy C16 viene incubato con le cellule, che lo trasformano in fosfolipide.
- Le cellule producono esosomi che contengono nella loro membrana il fosfolipide Bodipy C16 che li rende fluorescenti.



Esosomi fluorescenti

**Bodipy
C16**



Fosfolipide fluorescente



Proteina di membrana



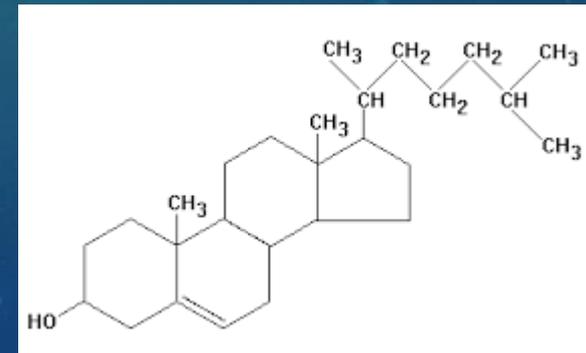
STEP 3

Distinzione in due campioni:

- Uno di controllo
- Uno con inibitore del colesterolo
(U18666A)



- è un composto organico appartenente alla famiglia dei lipidi steroidi.
- è un componente delle membrane cellulari, di cui regola fluidità e permeabilità;



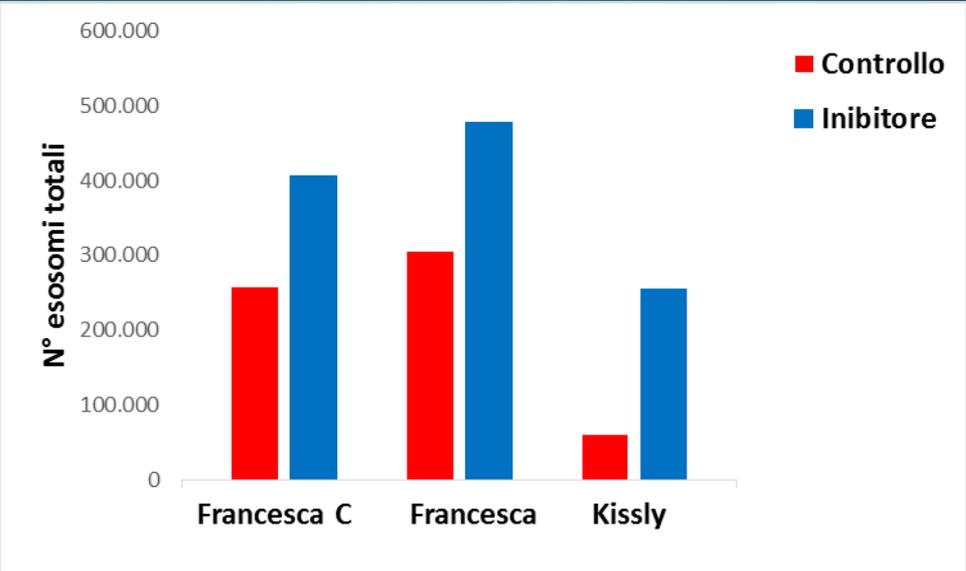
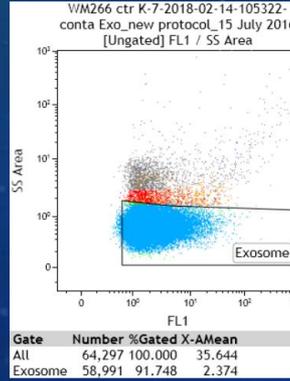
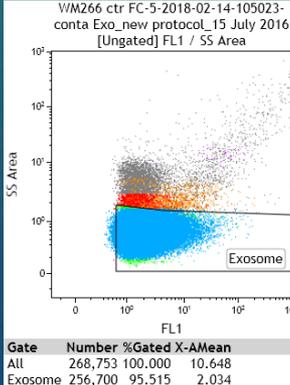
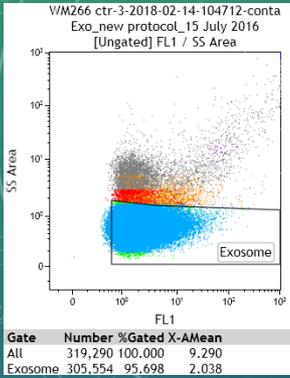
- Analisi delle cellule con 2 strumenti

STEP 4

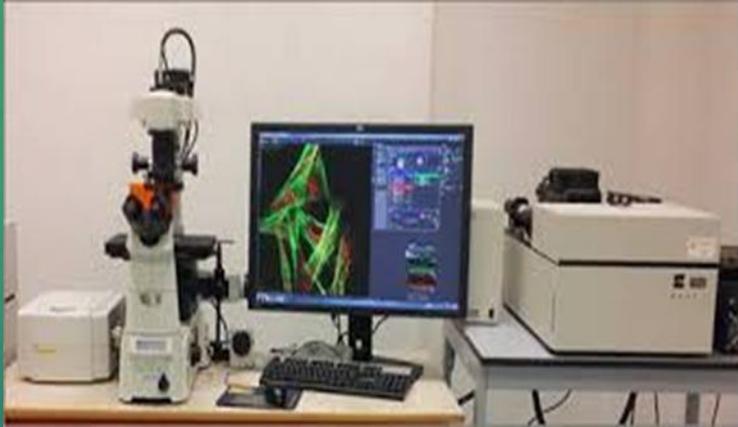
FACS:



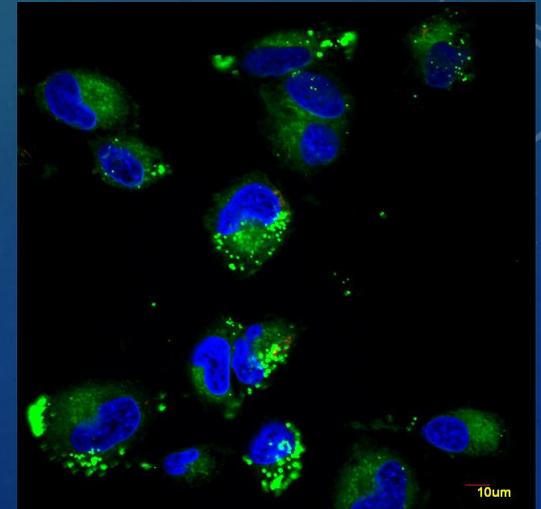
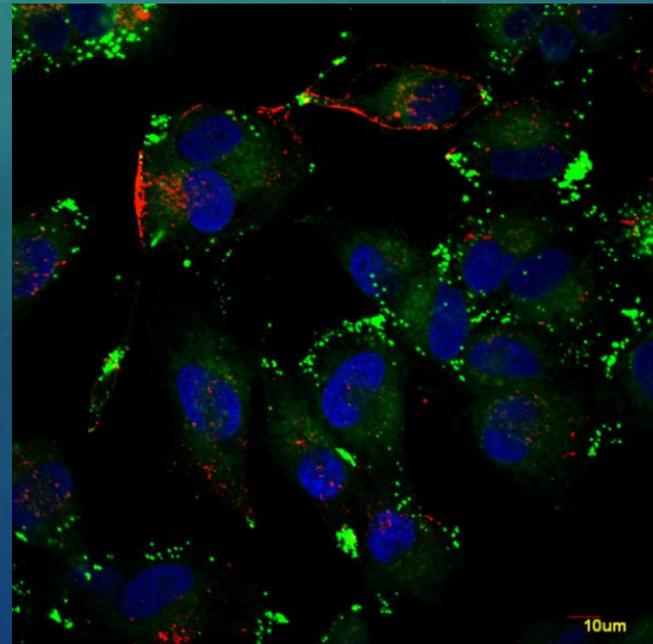
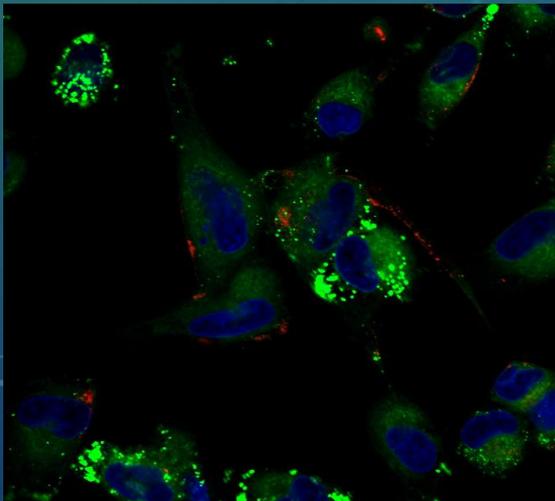
La citofluorimetria a flusso consente l'analisi di sospensioni cellulari e di vescicole, misurandone le caratteristiche fisiche e/o biochimiche. Le cellule in sospensione vengono colpite da un raggio laser.



MICROSCOPIO CONFOCALE:



Il microscopio confocale aumenta la risoluzione delle immagini e mediante il «sezionamento ottico» permette una visualizzazione delle strutture intracellulari in esame.



STEP 5

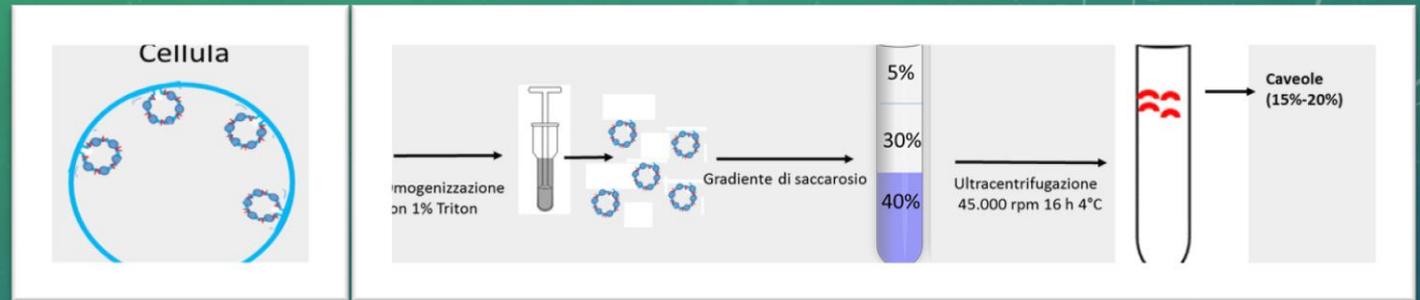
- Abbiamo studiato la caveolina: →



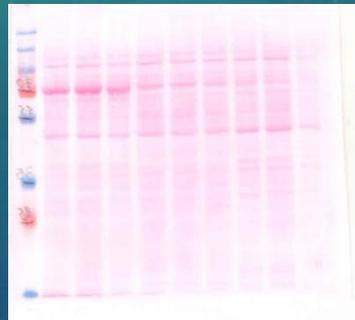
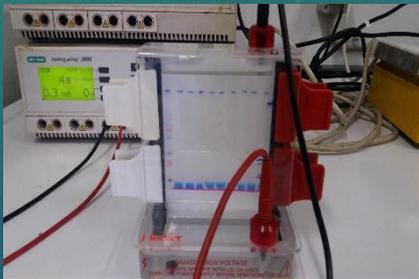
E' la principale proteina strutturale della caveola. A livello funzionale le caveole sono coinvolte in numerosi processi cellulari (endocitosi, trasduzione del segnale, accumulo e regolazione dei lipidi, entrata di alcuni virus) e rappresentano siti importanti per la regolazione dell'interazione tra i diversi recettori e le molecole segnale.



- Studio tramite gradiente di saccarosio:



- Corsa elettroforetica



Incubazione anticorpo primario

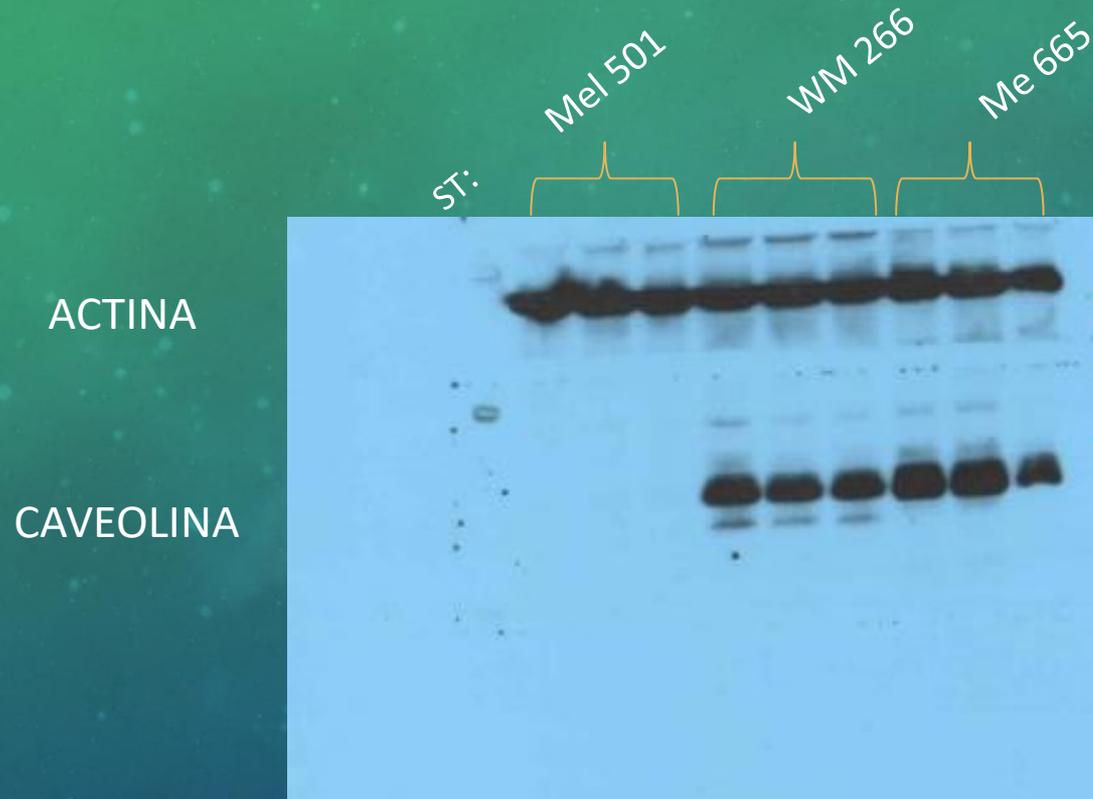


Incubazione anticorpo secondario



- Sviluppo su lastra dei risultati

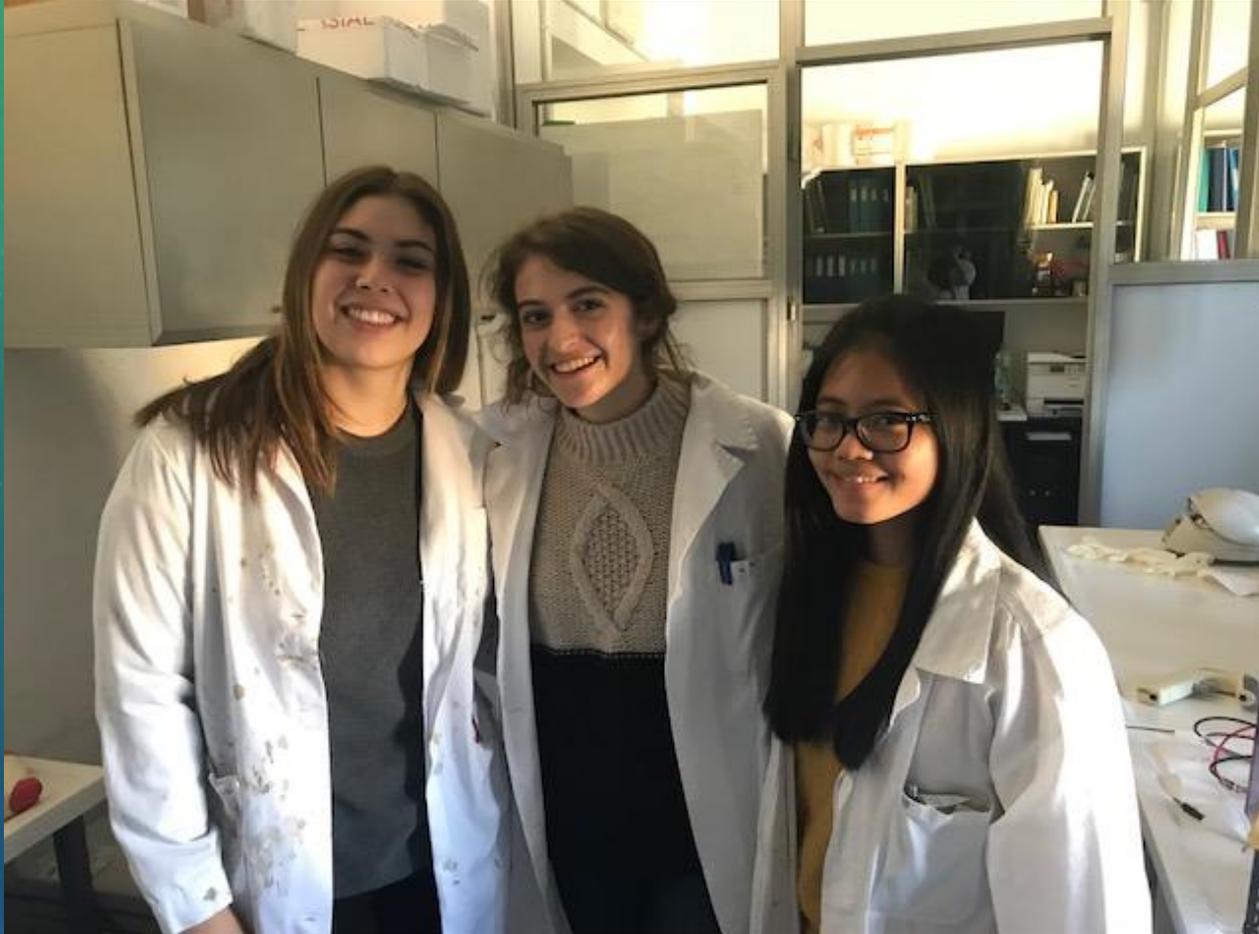
STEP 6



Come volevasi dimostrare...

Le cellule NON metastatiche NON esprimono la caveolina

GRAZIE A TUTTI!



F. B.
K. C.
F. D. C.