

# ALTERNANZA SCUOLA·LAVORO IN ISS

05-08 e 14-16 febbraio 2018

Percorso formativo: BC24-Scopriamo insieme la retina:  
modelli sperimentali per lo studio delle patologie  
retiniche

## STUDENTI:

E. G.  
A. S.  
E.M. V.

V classico  
III scienze applicate  
III scientifico

Istituto Gesù-Maria  
Montessori  
Morgagni

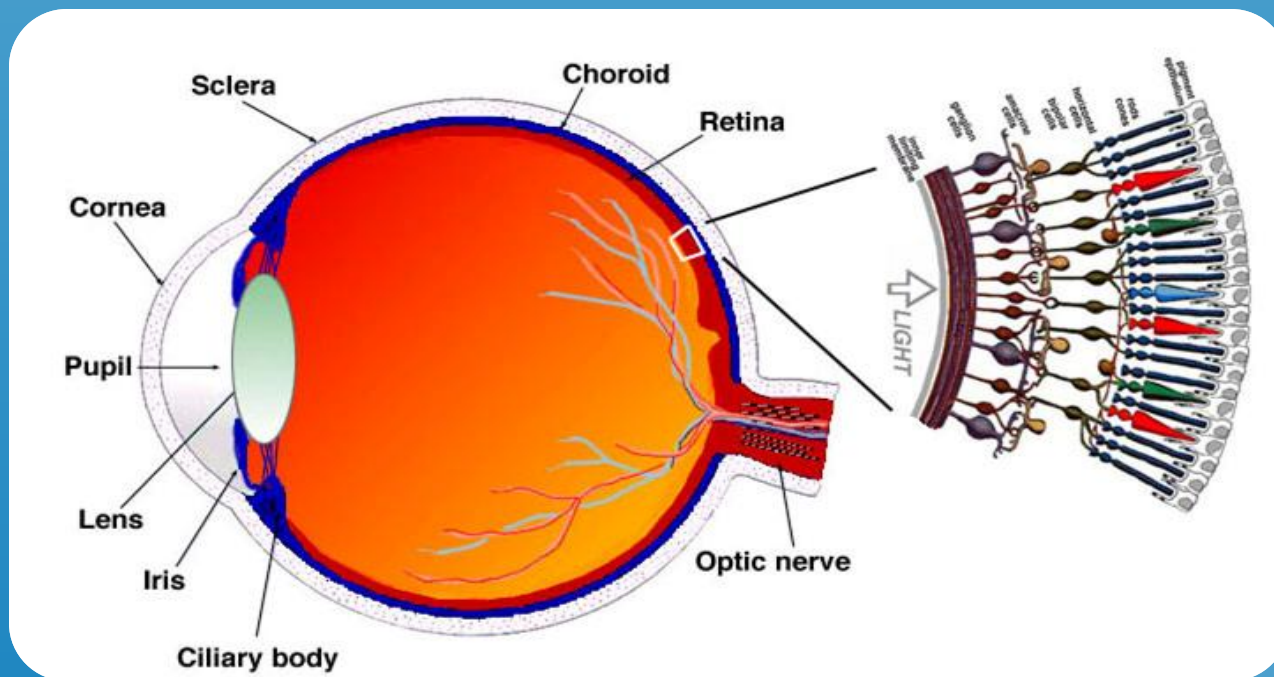
## TUTOR:

Lucia Gaddini  
Andrea Matteucci



# La Retina

La retina è la membrana più interna dell'occhio, sensibile alla luce, si trova tra due membrane: la coroide e la sclera. La retina è parte del sistema nervoso centrale ed è costituita da cellule nervose e gliali disposte con una organizzazione laminare.



# Le Colture cellulari primarie retiniche

Colture primarie: si tratta di colture cellulari derivate dalla dissociazione di un tessuto o un organo o isolate da fluidi biologici.

Nel nostro caso, dopo la dissociazione, le cellule della retina crescono adese ad una superficie polilisinata. Le colture vengono mantenute in incubatore a 37°C con CO<sub>2</sub> al 5%

Le cellule crescono in terreni di coltura che garantiscono un adeguato apporto di sostanze nutritive.



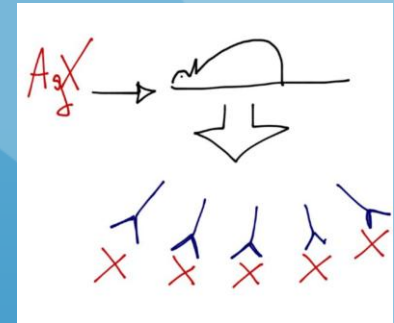
# L'Immunofluorescenza

L'immunofluorescenza è una tecnica che viene usata per individuare, in un campione di origine biologica, la presenza di particolari proteine mediante l'impiego di anticorpi rivelati da molecole fluorescenti: i fluorocromi.

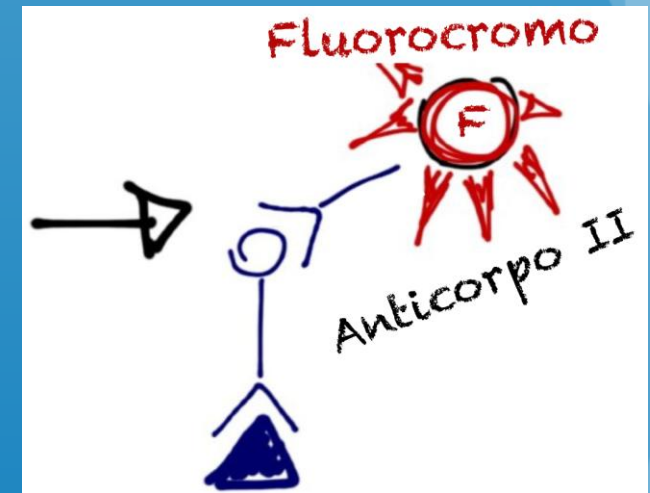
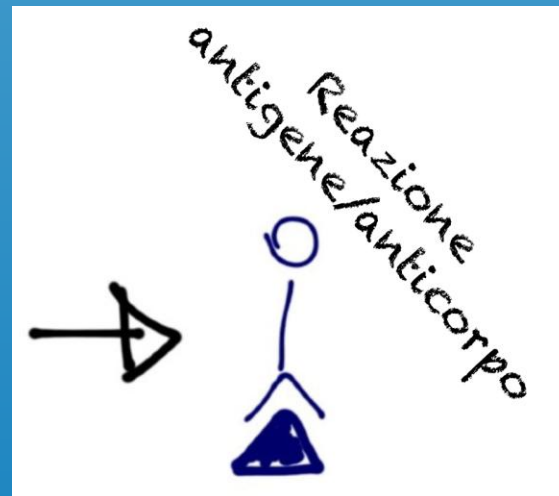


## Gli Anticorpi (primari e secondari)

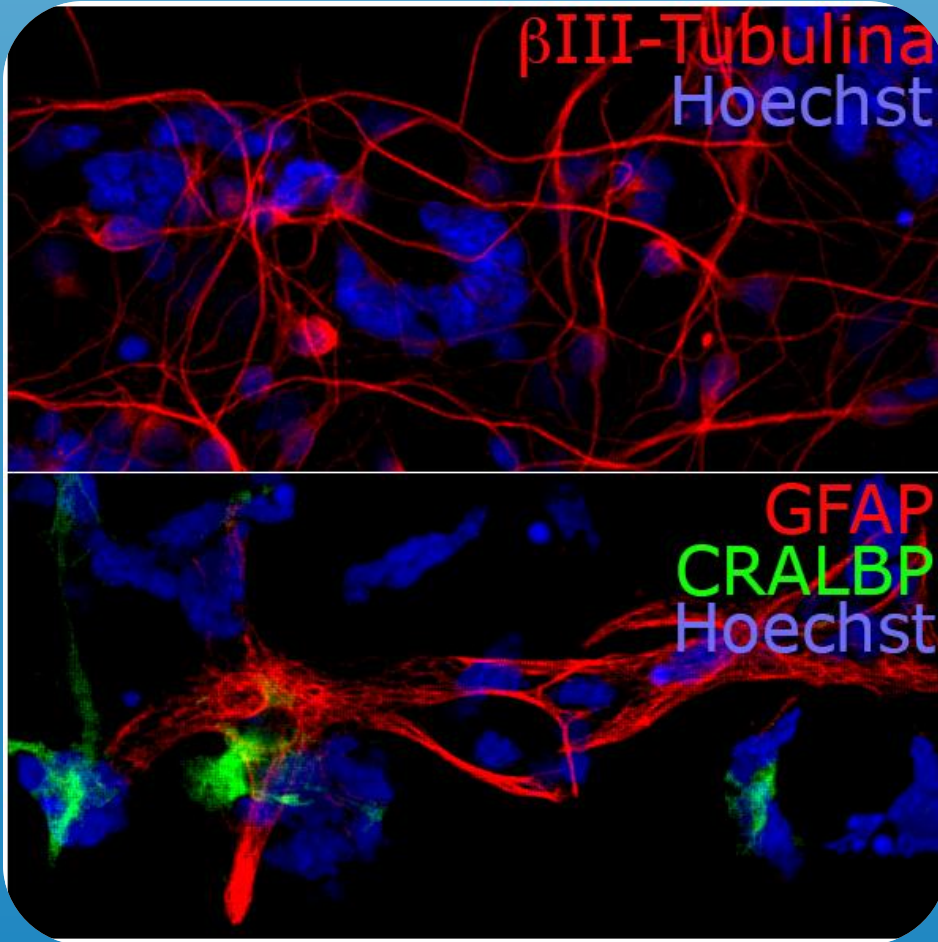
Sostanza di natura proteica (immunoglobulina) che si sviluppa nel corso di una risposta immunitaria provocata da una molecola estranea (antigene) a cui si lega specificamente



## Gli Anticorpi in laboratorio



Abbiamo usato gli anticorpi su colture retiniche “primarie”

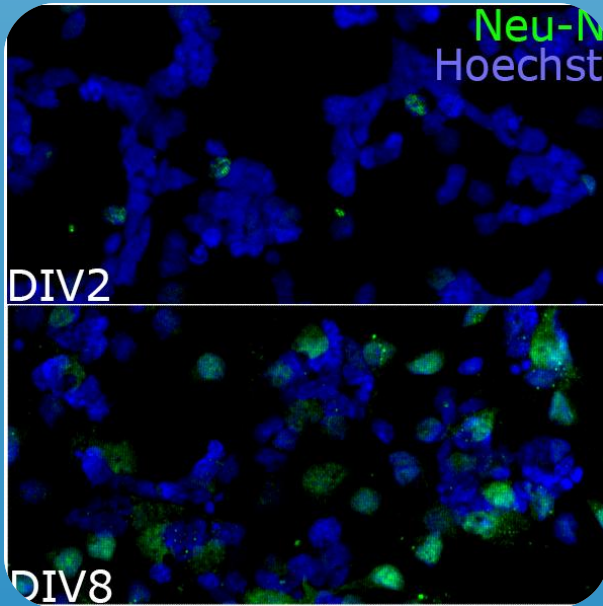


Abbiamo “marcato” i neuroni retinici con  $\beta$ III-Tubulina

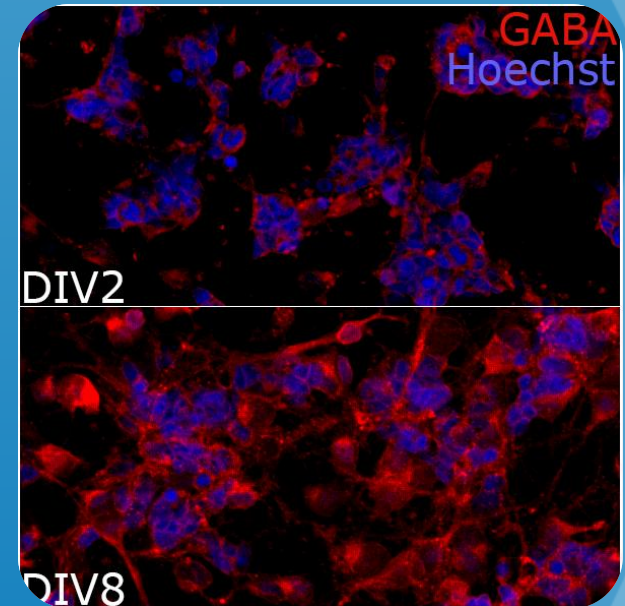
Le cellule gliali con CRALBP e GFAP

Abbiamo visto che i neuroni retinici in coltura sono in grado di differenziarsi

Neu-N è un marcatore di neuroni differenziati

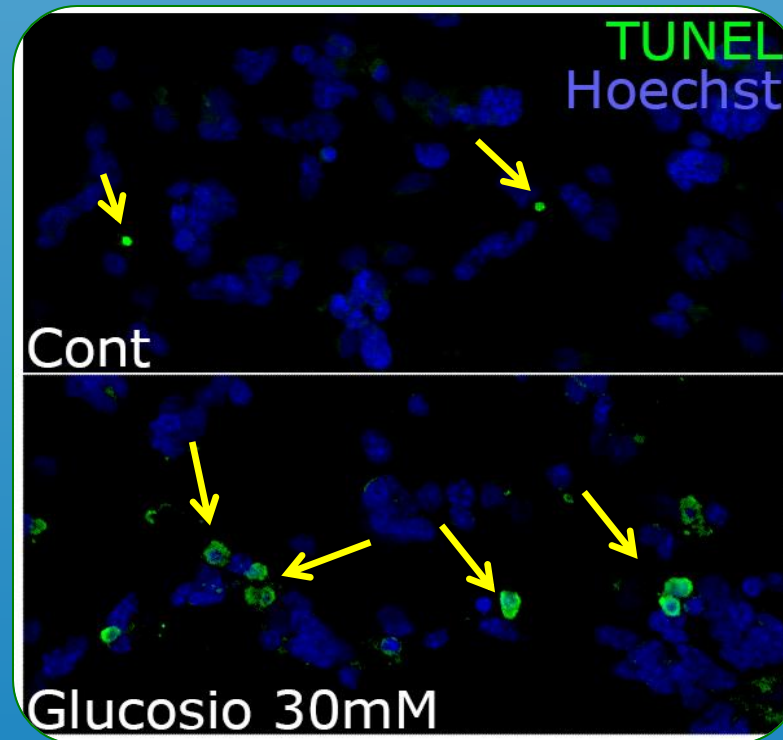


GABA è un neurotrasmettitore inibitorio



## Apoptosi in alte concentrazioni di glucosio (milieu diabetico)

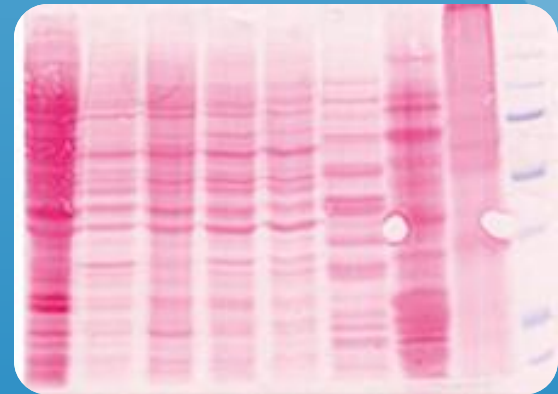
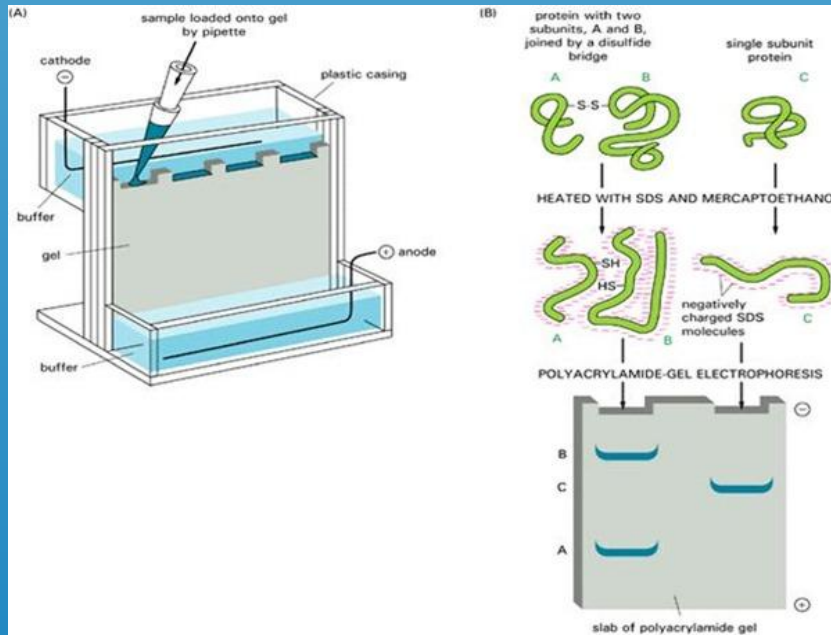
Il TUNEL è un metodo che ci consente di evidenziare nuclei apoptotici nelle colture.





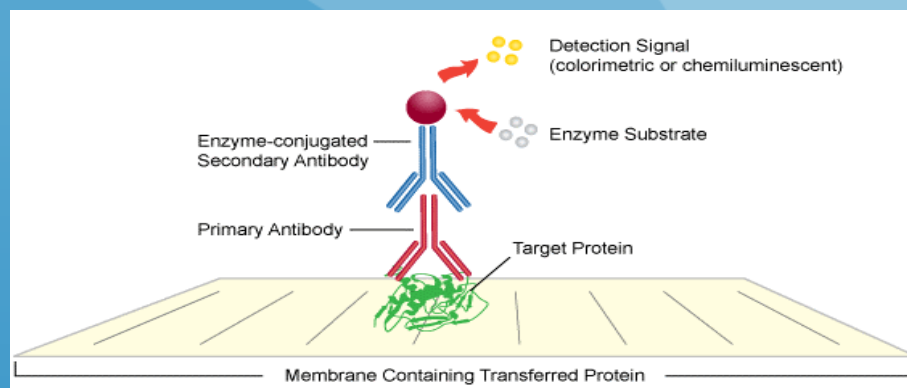
# L'Elettroforesi

L'elettroforesi su gel di poliacrilammide è una tecnica che consente di separare le proteine presenti in un campione mediante l'applicazione di un opportuno campo elettrico. Le proteine vengono separate in base al loro peso molecolare.

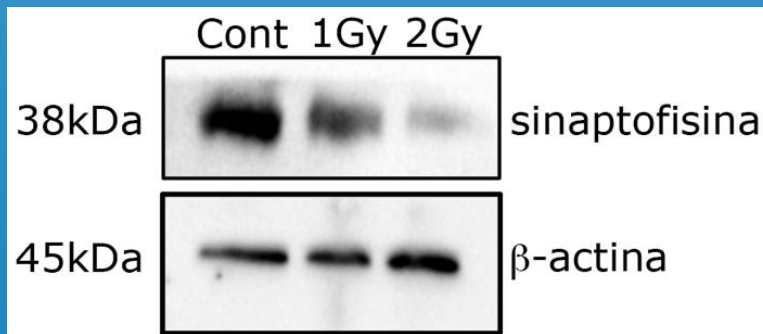


# Western blotting

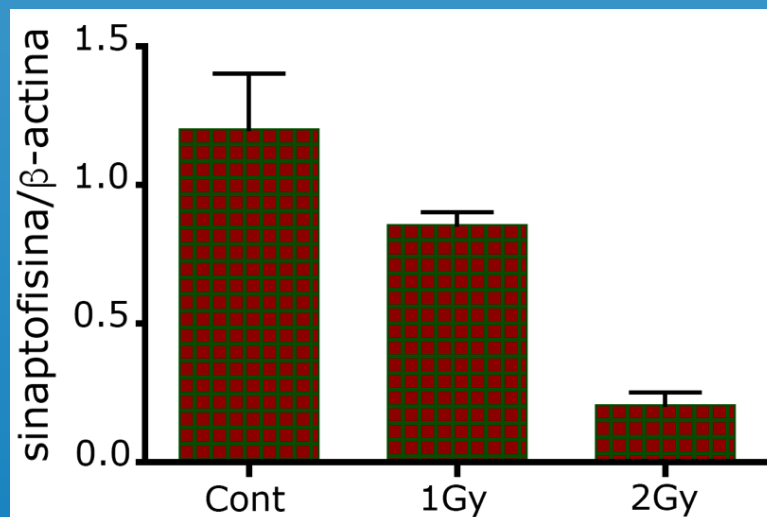
Questa tecnica permette di localizzare una proteina all'interno di una miscela separata tramite elettroforesi. Le proteine vengono trasferite su una membrana di nitrocellulosa e si procede al riconoscimento della proteina mediante l'utilizzo di un anticorpo specifico.

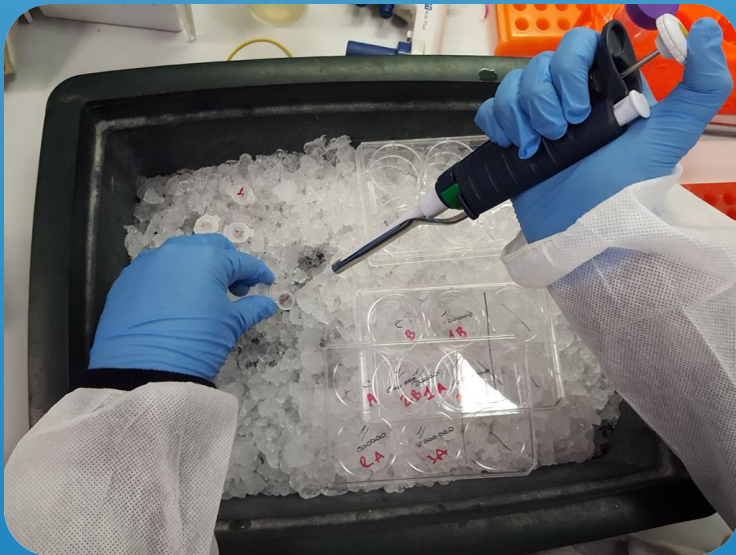
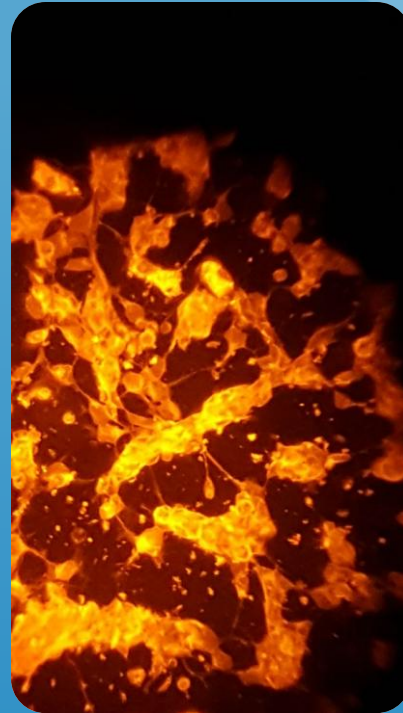
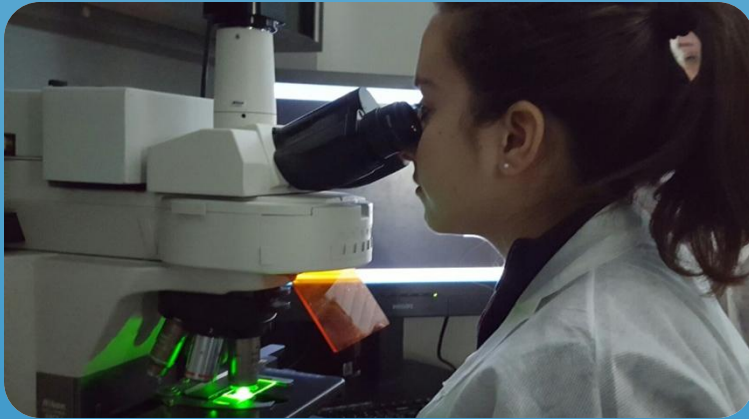


## Irraggiamento



## Analisi densitometrica





Grazie per l'attenzione!

