

# ALTERNANZA SCUOLA LAVORO IN ISS

05-15 Febbraio 2019

Percorso formativo:

*BC24 SCOPRIAMO INSIEME LA RETINA: MODELLI  
SPERIMENTALI PER LO STUDIO DELLE PATOLOGIE  
RETINICHE*

## Studenti

- *Francesca Maria Marchetti*
- *Alessandra Munzone*
- *Daniele D'Agostino*

## Liceo:

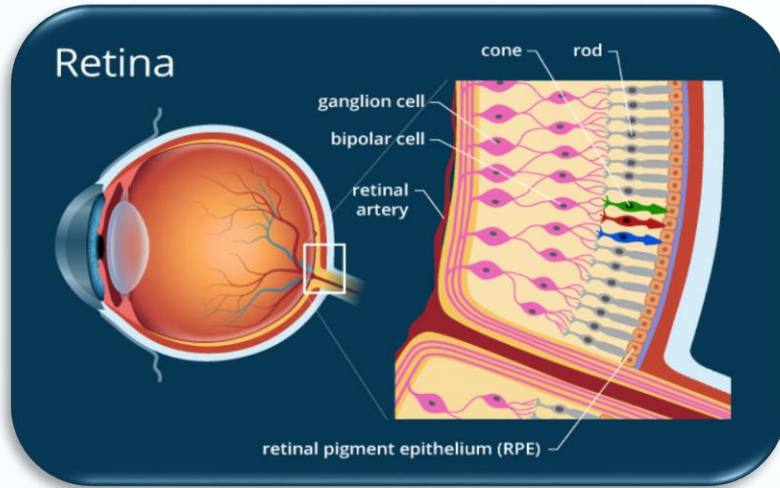
- L.Pasteur
- Volterra
- Keplero

## Tutor/affiliazioni:

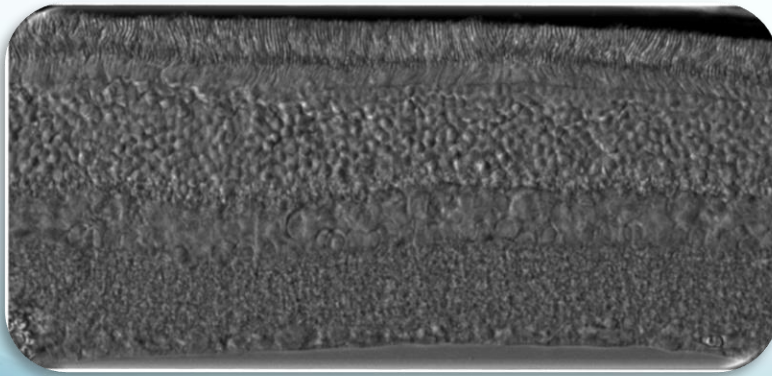
- Andrea Matteucci
- Lucia Gaddini



# LA RETINA



La retina è la membrana più interna dell'occhio, sensibile alla luce, si trova tra due membrane: La coroide e la sclera.

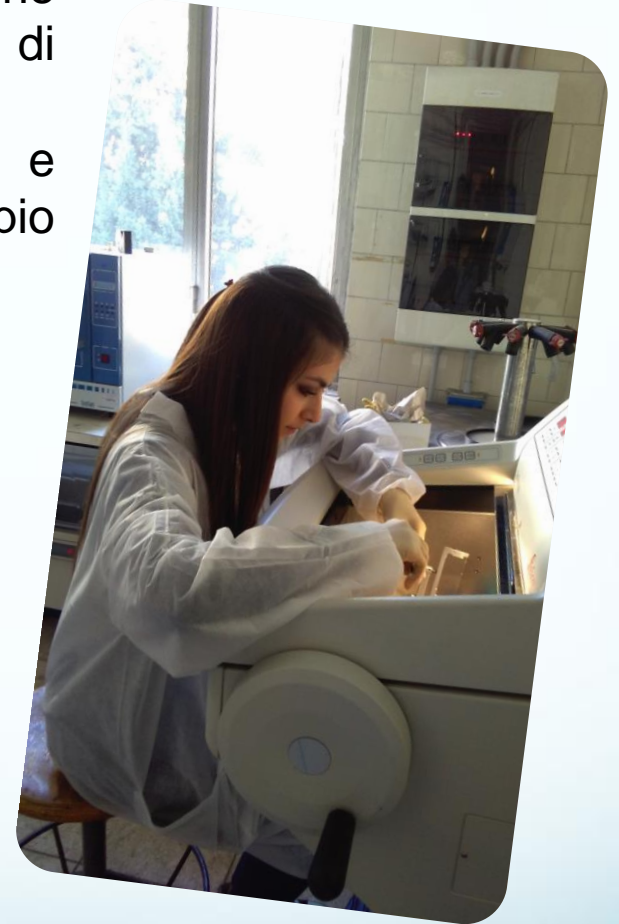
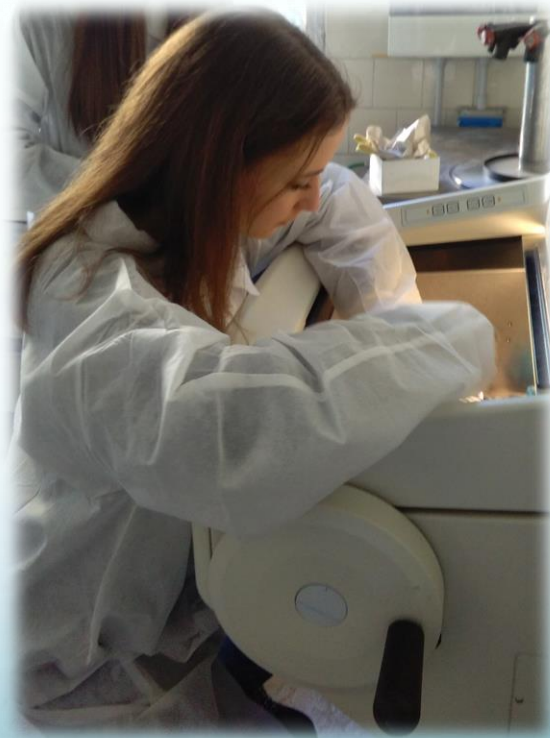


La retina è parte del sistema nervoso centrale ed è costituita da cellule neuronali e gliali (glia di Müller). La parte più esterna della retina è composta da uno strato di fotorecettori (coni e bastoncelli) che contengono la Rodopsina, una proteina in grado di trasformare il segnale luminoso in un segnale chimico.

# CRIOSTATO

Il criostato è uno strumento che si usa per il sezionamento di preparati istologici.

Noi abbiamo preparato e osservato al microscopio sezione di retina di ratto.



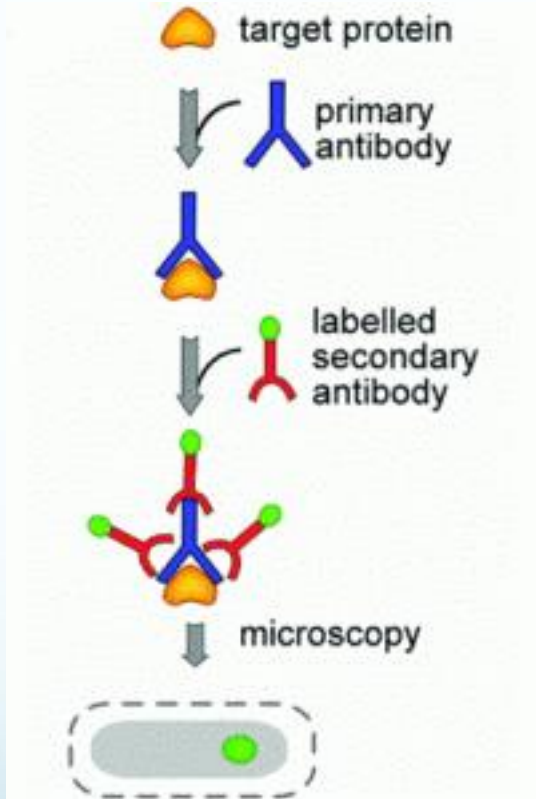
# *COLTURE CELLULARI*

Le colture primarie sono colture cellulari derivate dalla dissociazione di un tessuto di un organo o isolate da fluidi biologici. Le colture vengono mantenute in un incubatore a 37°C con la CO<sub>2</sub> al 5%. Le cellule crescono in terreni di coltura che garantiscono un adeguato apporto di sostanze nutritive.

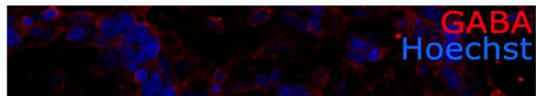
Nei nostri esperimenti abbiamo usato colture primarie di retina miste neuronali-gliali. Le cellule sono state irraggiate con 2 Gy di raggi gamma a diversi stati di differenziamento (DIV 2,8,14).



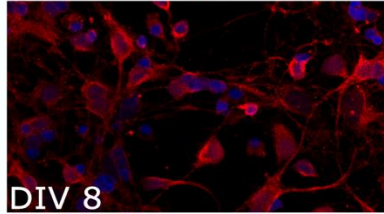
# IMMUNOFLUORESCENZA



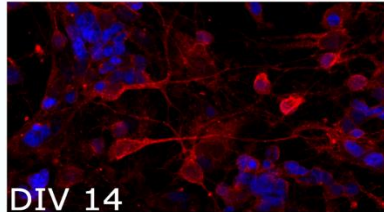
L'immunofluorescenza è una tecnica altamente specifica per la rilevazione di determinati antigeni presenti nel tessuto o nelle cellule del campione da esaminare. Su una sezione di tessuto, o su cellule, si pone l'anticorpo specifico per l'antigene da analizzare (primario). Otterremo così una reazione immunitaria antigene-anticorpo che viene evidenziata utilizzando un anticorpo (secondario), coniugato ad un fluorocromo in grado di legarsi in modo specifico all'anticorpo primario.



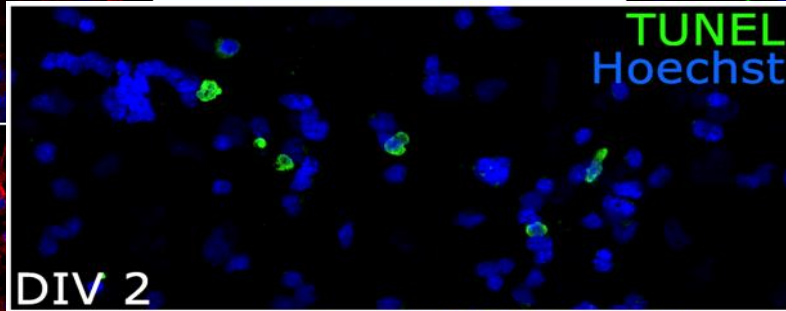
DIV 2



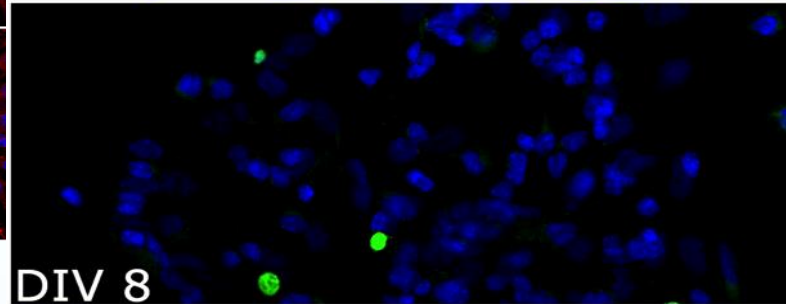
DIV 8



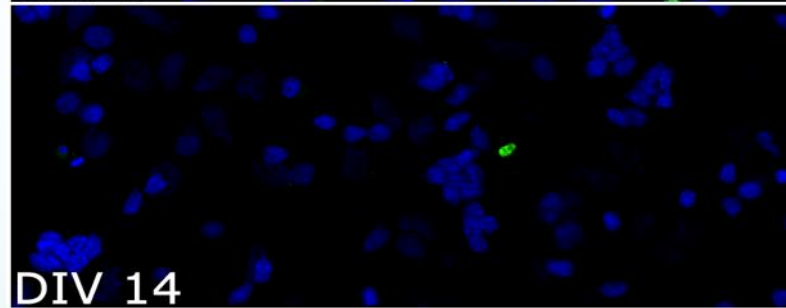
DIV 14



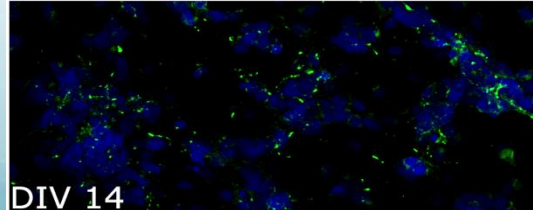
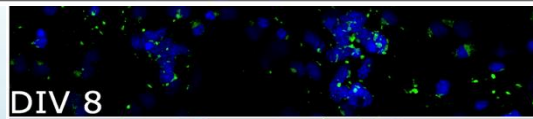
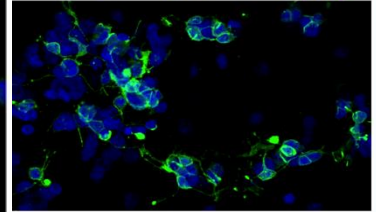
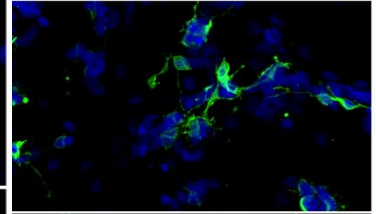
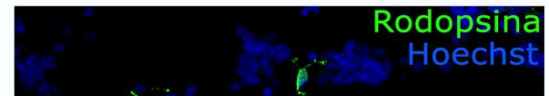
DIV 2



DIV 8

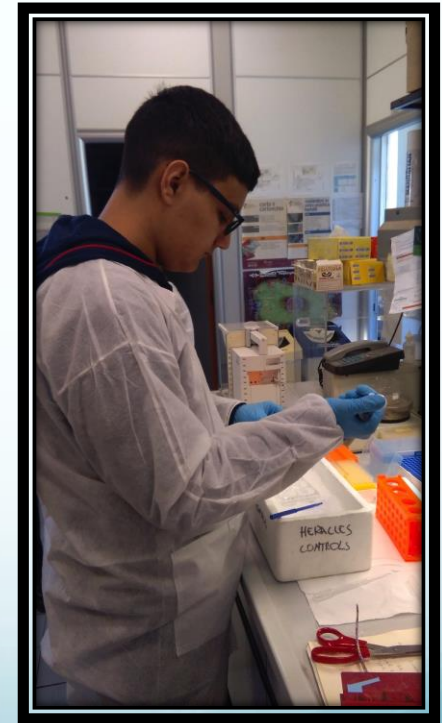
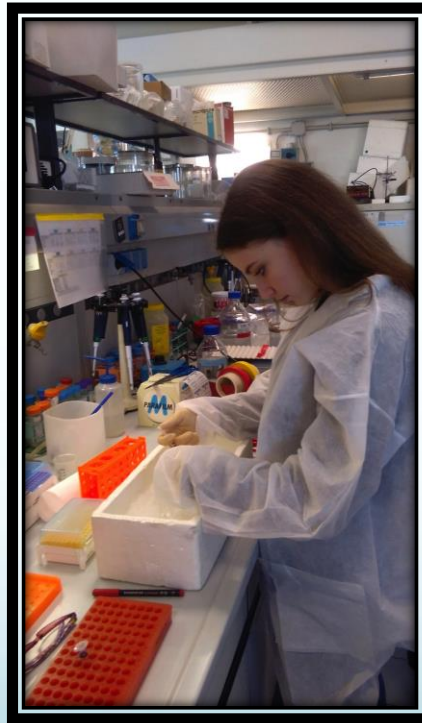
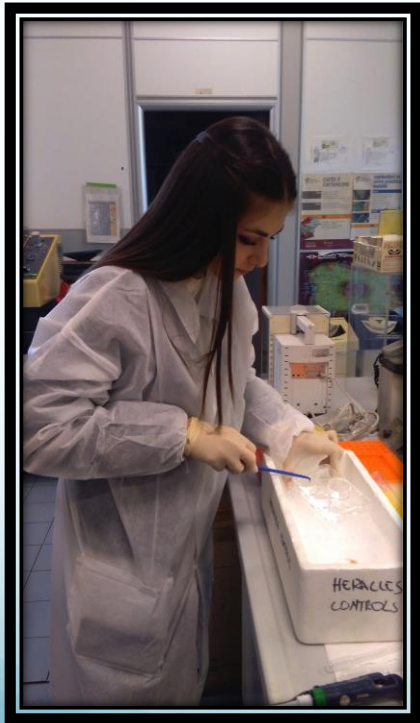


DIV 14

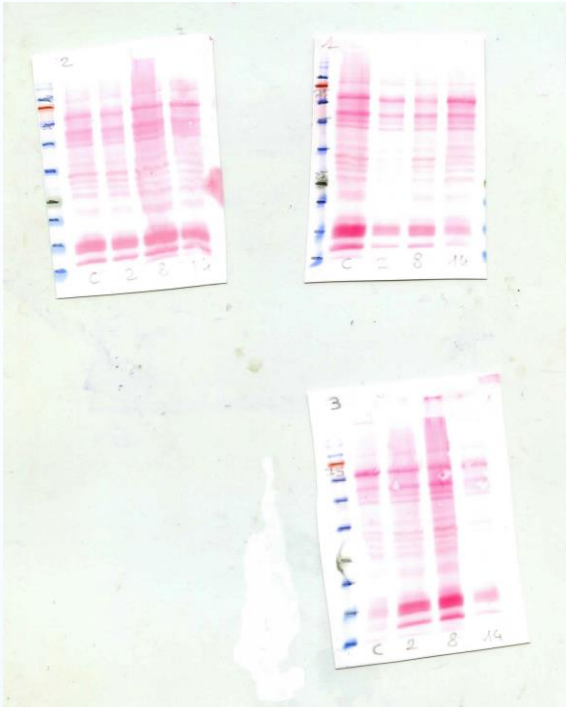


# ELETTROFORESI

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



# WESTERN BLOTTING

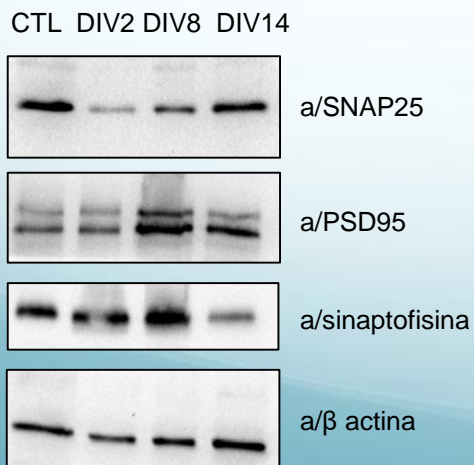


Questa tecnica permette di localizzare una proteina all'interno di un estratto proteico separato tramite elettroforesi. Le proteine vengono trasferite su una membrana di nitrocellulosa e si procede al riconoscimento della proteina mediante l'utilizzo di un anticorpo specifico.

Con il WB abbiamo visto che, dopo l'irraggiamento con raggi gamma, si nota una variazione dell'espressione di alcune proteine neuronali in base allo stato differenziativo delle cellule trattate.

In particolare nelle colture irraggiate a DIV2 risulta più evidente la diminuzione dell'espressione di SNAP25, PSD95 e Sinaptofisina rispetto a DIV8 e DIV14.

Questi risultati, in accordo con quelli ottenuti con il TUNEL, confermano una maggiore sensibilità delle cellule non differenziate all'esposizione a raggi gamma.





GRAZIE PER L'ASCOLTO