

PROGRAMMA DI LABORATORIO DI TECNICHE CELLULARI E MOLECOLARI APPLICATE

(AA 2012-2013)

Il corso si articola in quattro moduli in ognuno dei quali viene svolta una diversa esperienza pratica. Le conoscenze di base, comuni ai quattro moduli, e che dovranno ritenersi acquisite per il superamento della prova finale comprendono:

teoria e pratica della preparazione delle soluzioni (molarità, peso molecolare, percentuali, diluizioni); uso dei principali strumenti di misura volumetrica (pipettatrici automatiche, micropipettatrici); concetti di base di colture cellulari eucariotiche; colorazioni cellulari e di tessuto; analisi colorimetrica in spettrofotometria.

MODULO FISIOPATOLOGIA (Adriano Angelucci, Patrizia Sanità)

Colture cellulari, concetti di base: colture primarie, continue, linee cellulari tumorali e trasformate, i requisiti di crescita in vitro (nutrienti, pH, temperatura, substrato adesivo), numero di replicazioni, confluenza e passaggio di crescita. Strumentazioni e metodologie necessarie a mantenere le condizioni di sterilità. Conta cellulare con camera di conta. Microscopio a contrasto di fase. Test di vitalità con trypan blue. Saggio di adesione su substrati fisiologici. Colorazione con Crystal violetto. Analisi semiquantitativa tramite lettura dell'assorbanza.

MODULO DI FISIOLOGIA I (Andrea Tartarini)

Valutazione in un estratto tissutale della concentrazione proteica totale (mg/ml), attraverso metodo Lowry. Valutazione, nello stesso estratto tissutale della prima esercitazione, della concentrazione di nucleotide ciclico (pmoli/ml di cAMP), attraverso saggio enzimatico EIA (Enzymatic Immuno Assay). Dal rapporto tra i valori ottenuti nelle due esercitazioni si ottengono i valori normalizzati necessari per il confronto con i vari estratti tissutali.

MODULO DI FISIOLOGIA II (Fabiana Di Marco)

Taglio al criostato; preparazione di un vetrino istologico; osservazione al microscopio ottico e a fluorescenza; analisi funzionale retinica tramite elettroretinografia; analisi delle varie componenti dell'elettroretinogramma

MODULO DI FARMACOLOGIA (Carmignani, Volpe, Cesare)

Test di genotossicità in vitro. Scelta del sistema test, determinazione delle concentrazione da saggiare. Test della cometa e test dei micronuclei: esecuzione del test, osservazione dei vetrini, valutazione del danno.

I protocolli e le dispense sono disponibili presso la copisteria di Coppito I o scaricabili dal sito: www.adrianoangelucci.it (link: laboratorio TCMA)

Il Responsabile

Prof. Adriano Angelucci