



Titolo dell'attività: LE COLTURE CELLULARI PER GLI STUDI BIOLOGICI

Docenti responsabili: Erika Cottone/Patrizia Bovolin

Obiettivi formativi: Il progetto didattico è finalizzato all'utilizzo delle colture di cellule animali *in vitro* come modello per svariati studi nel campo della biologia sperimentale. Nel corso dell'intera esperienza, gli studenti acquisiranno competenze teorico-pratiche e concetti chiave concernenti le tecniche sulle colture cellulari animali, nonché vedranno l'applicazione pratica delle colture di adipociti come modello sperimentale per la valutazione degli effetti obesogeni di alcuni interferenti endocrini contenuti nelle plastiche.

Attività proposte agli studenti: Il progetto si articolerà in parti teoriche e attività pratiche svolte in laboratorio, le quali daranno allo studente la possibilità di seguire e svolgere in prima persona le fasi dell'attività di messa in coltura delle cellule, conta cellulare, valutazione della crescita dopo alcuni giorni, colorazione istochimica delle cellule per la valutazione dell'accumulo di lipidi e interpretazione dei risultati.

Organizzazione delle attività:

Attività	Luogo	Ore
1. Lezione teorica introduttiva - Le colture cellulari <i>in vitro</i>	Laboratorio morfologico e laboratorio di colture cellulari, 1° piano, via Accademia Albertina 13, Torino	2 (1° giorno)
2. Attività pratica - Coltura <i>in vitro</i> di una linea cellulare		3 (1° giorno)
3. Attività pratica - Valutazione della crescita cellulare		1 (2° giorno)
4. Lezione teorica - Le plastiche e gli interferenti endocrini: gli adipociti come modello per lo studio di potenziali effetti obesogeni		1,5 (2° giorno)
5. Attività pratica - Colorazione istochimica delle cellule e interpretazione dei risultati		2,5 (2° giorno)
Totale		10 (in 2 giorni)

Moduli per gruppi di circa 20-25 studenti

Descrizione dettagliata delle attività e relativi obiettivi specifici:

1. **Lezione teorica introduttiva - Le colture cellulari *in vitro*.** Nel corso del primo incontro verrà fornita una conoscenza scientifica delle attrezzature e delle principali tecniche utilizzate in biologia cellulare. Si capirà l'utilità di coltivare cellule *in vitro*, quali tipi di colture esistono, quali sono le condizioni di coltura, i principi di sterilità, l'osservazione al microscopio, la conta cellulare. A tal fine verrà proiettato un video propedeutico all'attività pratica svolta successivamente.

2. **Attività pratica di laboratorio - Coltura *in vitro* di una linea cellulare di preadipociti.** Gli studenti, suddivisi in gruppi, avranno modo di allestire le colture cellulari. Lavorando in cappe biohazard per garantire la sterilità, i preadipociti verranno staccati dalla piastra di coltura, si procederà alla loro conta

mediante utilizzo del microscopio, quindi le cellule verranno piastrate a differenti densità nelle piastre di coltura e tenute in incubatore per 3 giorni.

3. Attività pratica di laboratorio - Valutazione della crescita cellulare. Mediante l'utilizzo di un microscopio collegato al proiettore, si procederà al controllo della crescita cellulare dei preadipociti piastrati durante il 1° giorno di attività. Gli studenti potranno valutare la diversa densità cellulare, proporzionale al numero iniziale di cellule piastrate.

4. Lezione teorica - Le plastiche e gli interferenti endocrini: gli adipociti come modello per lo studio di potenziali effetti obesogeni. Verrà spiegato agli studenti che alcune molecole presenti come additivi nelle plastiche (es. ftalati, bisfenoli, organofosfati) sono oggi riconosciute come interferenti endocrini, in grado di avere effetti nocivi sul sistema endocrino (ormonale) animale e dell'uomo. In particolare gli "obesogeni" o "interferenti metabolici", promuovono l'accumulo di tessuto adiposo, alterandone il differenziamento cellulare e aumentando i depositi di grasso. Verrà spiegato che i modelli cellulari *in vitro* di adipogenesi possono essere utilizzati per testare la potenziale interferenza metabolica di diversi classi di composti, quantificando il differenziamento in adipociti maturi e la loro capacità di aumentare l'accumulo lipidico.

5. Attività pratica di laboratorio - Colorazione istochimica degli adipociti e interpretazione dei risultati. Su adipociti trattati o meno con alcuni plastificanti per alcuni giorni, gli studenti effettueranno una colorazione istochimica specifica per individuare gli accumuli intracellulari di lipidi, quindi si procederà all'osservazione al microscopio e all'interpretazione dei risultati che permetterà di valutare se le molecole oggetto di studio hanno *in vitro* effetti obesogeni.

Metodologie per la verifica dei risultati acquisiti:

- una breve relazione da parte degli studenti
- un questionario di autovalutazione

Periodo: da Settembre a Dicembre