

Programma di Citochimica ed Istochimica
a.a.2012-13

(laurea triennale e magistrale)
docente: prof.ssa Ida Ferrandino

Principi generali della disciplina.

Storia dell'istochimica.

Campo di studio della citochimica/istochimica e relazione con le discipline morfologiche e non morfologiche.

Strumenti di osservazione e misura. I microscopi: ottico, a fluorescenza, elettronico a trasmissione. Potere di risoluzione del microscopio. Spettrofotometria.

Citofluorimetria a flusso: principi di base e campo di applicazione.

Applicazioni pratiche in microscopia ottica ed in microscopia elettronica.

Tecniche di allestimento dei preparati:

a) Tecniche di osservazione a fresco;

Metodo delle camere trasparenti. Colture cellulari. Tecnica della goccia pendente.

b) Tecniche per i tessuti morti;

Processazione di un tessuto. Fissazione: aspetti teorici e pratici. Inclusione in paraffina e/o altre resine. Microtomia ed ultramicrotomia. Criotomia. Apposizione di organi.

La colorazione: principi e modalità. I coloranti. Il fenomeno della metacromasia. La colorazione emallume-eosina. La tecnica di colorazione per gli strisci di sangue May-Grunwald/Giemsa.

Le colorazioni istochimiche. Convalidazione delle reazioni: sensibilità e specificità.

Reazioni di controllo. Artefatti ed errori nella pratica cito/istochimica. Il reattivo di Schiff per la rivelazione delle aldeidi.

Rassegna sui principali metodi impiegati per la rivelazione dei:

- glucidi: PAS. Controllo con amilasi;

- acidi nucleici: metodo di Caspersson; reazione di Feulgen; colorazione verde di metile-pironina; test di Brachet; colorazione con la galloccianina;

- proteine: metodi generali: reazione al biureto, impiego di proteasi; reazioni specifiche per i vari gruppi: a) di Millon per i gruppi fenolici; b) diazoreazione per i gruppi fenolici; c) di Sakaguchi per i gruppi guanidinici. Scleroproteine e colorazioni istochimiche per le fibre collagene. Metodo di Galgano. Le fibre reticolari e colorazioni specifiche. Argirofilia ed argentoaffinità. Metodo di Gomori;

- lipidi: Sudan III; Sudan nero B; Oil Red O; Reazione plasmale; metodo di Schultz per il colesterolo ed i colesteridi; metodo alla digitonina per il colesterolo;

- attività enzimatiche: fosfati, esterasi e perossidasi;

- pigmenti: colorazione di Lepehne per l'emoglobina.

Tecniche specifiche:

- Immunocitochimica:

Principi base in m.o. ed in m.e. Anticorpi policlonali ed anticorpi monoclonali: preparazione ed applicazione. Metodo diretto. Metodi indiretti. Coniuganti.

Pre-embedding. Post-embedding. Immunogold. PAP. ABC. Controlli nella pratica immunoistochimica.

- Cariotipo e bandeggiatura dei cromosomi.

- Ibridazione in situ.

- Citochimica delle lectine.
- TUNEL test.
- PAP test e Thin test.
- Istautoradiografia.

Analizzatore di immagine: elaborazione dati.

Testi consigliati:

Manuale pratico di Citochimica ed Istochimica – F. Mannello - Edizione
Quattroventi

Manuale di Istochimica e Tecnica Microscopica – P. Romagnoli – Edizioni V. Morelli