

SERVIZI ALTAMENTE QUALIFICATI PER LO SCREENING DI FARMACI E BIOMATERIALI

Il laboratorio

Le attività di ricerca del laboratorio si concentrano sull'angiogenesi e sulla farmacologia oncologica. Il team possiede competenze specifiche in biologia cellulare, espressione proteica, attività enzimatica e analisi istologica, finalizzate a testare l'efficacia e la sicurezza dei trattamenti. Flessibilità, integrazione, capacità tecnica, elevate conoscenze scientifiche, un approccio costruttivo nel *problem solving* e una gestione efficace dei progetti sono alcune delle risorse utilizzate per costruire partnership solide, sinergiche e di successo.

Proliferazione e sopravvivenza cellulare in vitro

(prezzo per sostanza da testare e per tipo cellulare: 750 Euro)

- Coltura di cellule endoteliali o tumorali umane (o linea cellulare alternativa) in monostrato o in sospensione.
- Curve dose-risposta in almeno 3 concentrazioni diluite (in triplicato, n=3 esperimenti distinti).
- Controlli positivi e negativi di riferimento.
- Saggio MTT a un tempo fisso o conteggio cellulare al microscopio.
- Analisi statistica e relazione scritta.

Migrazione cellulare in vitro tramite *scratch assay* (saggio di graffio)

(prezzo per sostanza da testare e per tipo cellulare: 800 Euro)

- Coltura di cellule endoteliali o tumorali umane (o linea cellulare alternativa).
- Curve dose-risposta a 3 concentrazioni (in triplicato, n=3).
- Controllo positivo e negativo di riferimento.
- Ripristino dell'area della ferita a seguito dello *scratch* (graffio) su monostrato confluento.
- Analisi d'immagine a tempi diversi.
- Analisi statistica e relazione scritta.

Chemiotassi cellulare in vitro tramite camera Transwell

(prezzo per sostanza da testare e per tipo cellulare: 800 Euro)

- Coltura di cellule endoteliali o tumorali umane (o linea cellulare alternativa).
- Curve dose-risposta a 3 concentrazioni (in triplicato, n=3).
- Controllo positivo e negativo di riferimento.

- Conteggio delle cellule al microscopio.
- Analisi statistica e relazione scritta.

Saggio di permeabilità

(prezzo per sostanza da testare: 1500 Euro)

- Coltura di cellule endoteliali umane su inserti Transwell.
- Concentrazione fissa della sostanza (in triplicato, n=3).
- Due tempi di incubazione.
- Controllo positivo e negativo di permeabilità.
- Verifica della morfologia dopo la stimolazione.
- Analisi statistica e relazione scritta.

Saggio di angiogenesi in vitro su Matrigel

(prezzo per sostanza da testare: 1500 Euro)

- Coltura di cellule endoteliali umane.
- Semina su gel 3D di Matrigel.
- Curve dose-risposta a 3 concentrazioni (in triplicato, n=3).
- Controllo positivo e negativo di angiogenesi.
- Analisi d'immagine dell'organizzazione del reticolo endoteliale a tempi diversi.
- Analisi statistica e relazione scritta.

Biologia molecolare ed espressione genica/proteica

(prezzo per sostanza da testare e per tipo cellulare: 800 Euro)

- Studio dei meccanismi d'azione attraverso la valutazione dell'espressione/attivazione di fattori di crescita (HIF1alfa, VEGF), sistemi di segnalazione e cascate enzimatiche (produzione di ROS, metalloproteinasi della matrice), produzione e organizzazione delle proteine citoscheletriche e della matrice extracellulare (laminina, fibronectina, collagene, elastina, acido ialuronico endogeno) su colture cellulari e campioni o sezioni di tessuto. Valutazione dei marcatori delle cellule endoteliali: ICAM-CD54, PECAM-CD31 su colture cellulari e campioni o sezioni di tessuto. Valutazione di marcatori e mediatori infiammatori (isoforme di COX, PGE sintasi, NOS inducibile). Misurazione di mediatori solubili (NO, PGE2, interleuchine, ecc.).
- Coltura di cellule endoteliali o tumorali umane o cellule alternative.
- Concentrazione fissa della sostanza rispetto alle cellule non trattate (in triplicato, n=3).

- Tempo di incubazione appropriato.
- Metodi specifici per ciascun marcatore: RT-PCR / western blot / immunofluorescenza / saggi biochimici / colorazione di sezioni istologiche.
- Analisi d'immagine, analisi statistica e relazione scritta.

Modellizzazione in vitro di processi patologici

(prezzo per singolo modello: 3000 Euro) Sviluppo di modelli in vitro per simulare stati patologici specifici al fine di valutare composti terapeutici o sostanze bioattive.

- **Allestimento di sferoidi multicellulari tumorali:** colture 3D di cellule tumorali in presenza di cellule stromali/endoteliali/immunitarie per ricapitolare il microambiente tumorale (TME). Possibile compartimentalizzazione delle componenti cellulari per valutare la comunicazione specifica cellula-cellula.
- **Modelli di fibrosi:** induzione di fenotipi fibrotici mediante agenti specifici (es. TGF-beta, IL1beta). La valutazione si concentra sull'attivazione dei miofibroblasti e sulla deposizione della matrice extracellulare (ECM) (collagene, fibronectina).
- **Transizione endotelio-mesenchimale (EndMT):** ricapitolazione della transizione dal fenotipo endoteliale a quello mesenchimale. Monitoraggio della perdita dei marcatori endoteliali (CD31, VE-caderina) e dell'acquisizione di marcatori mesenchimali (alfa-SMA, Vimentina).
- **Modelli di infiammazione:** induzione di risposte infiammatorie mediante stimoli specifici (es. LPS, TNF-alfa, IL-1beta). Valutazione del rilascio di citochine, dei mediatori infiammatori (COX-2, iNOS) e delle vie di segnalazione.

Servizi di manipolazione genetica

Ingegneria genetica per esplorare la relazione funzionale tra geni specifici e fenotipi cellulari.

- Silenziamento genico (Loss of Function / Perdita di funzione) (prezzo per gene: 2500 Euro)

- **siRNA (Small Interfering RNA):** per il silenziamento transiente e studi a breve termine.
- **shRNA (Short Hairpin RNA):** per il knockdown genico stabile e a lungo termine tramite rilascio con vettori virali o trasfezione plasmidica.
- Validazione del silenziamento.

- Sovraespressione (Gain of Function / Guadagno di funzione) (prezzo per gene: 2500 Euro)

- **Trasfezione plasmidica / Trasduzione virale:** introduzione di DNA esogeno per aumentare l'espressione di geni specifici, consentendo lo studio dell'iperattività proteica o esperimenti di *rescue* (recupero).

- Validazione della sovraespressione.

Persone di contatto:

- **Prof.ssa Lucia Morbidelli** (lucia.morbidelli@unisi.it)
- **Prof.ssa Sandra Donnini** (sandra.donnini@unisi.it)
- **Dr. Valerio Ciccone** (valerio.ciccone@unisi.it)