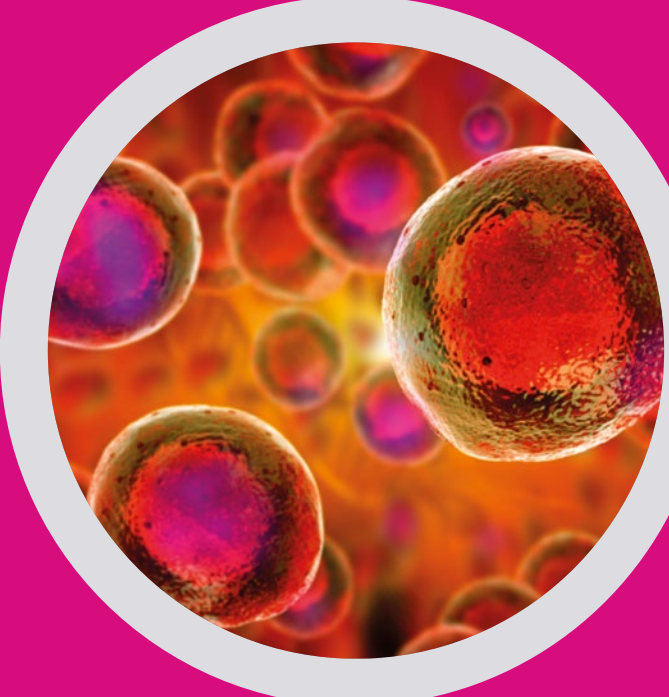


PROCESSI CELLULARI

EuroClone[®]
A C A D E M Y



GUIDA AL MONDO
PROCESSI CELLULARI

 Cell Signaling
TECHNOLOGY[®]


greiner bio-one

eppendorf

LONZA

 Enzo

 cytiva

PER APPROFONDIRE

Approfondisci gli argomenti di tuo interesse: in ogni capitolo troverai collegamenti a risorse scientifiche molto interessanti, a pathway interattivi (con link ad anticorpi specifici o al sito PhosphoSite), webinar,

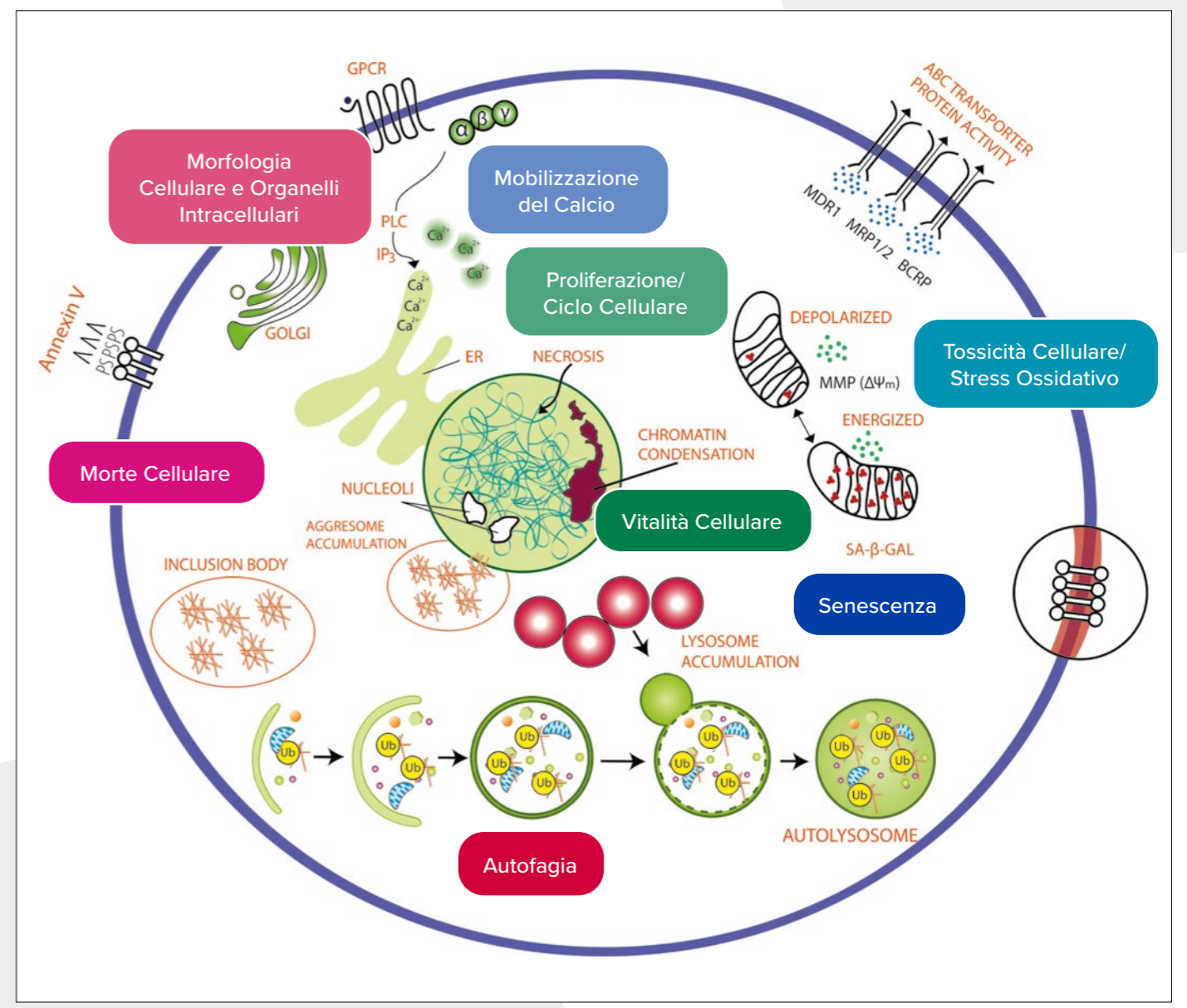
video e molto altro. Per sfruttare appieno i contenuti digitali, scarica la guida in versione pdf multimediale dal [nostro sito](#).

GUIDA AL MONDO DEI PROCESSI CELLULARI

La cellula è un sistema dinamico in cui decine di processi fisiologici si integrano e si coordinano a vicenda per mantenere un delicato equilibrio tra proliferazione e morte cellulare. Qualsiasi perturbazione chimico/fisica porta ad una alterazione dello stato della cellula e ad una sua risposta con attivazione/modulazione di uno o più

processi cellulari. In questa guida presentiamo le migliori soluzioni per l'analisi dei processi cellulari, per investigare la biologia cellulare di base, la sua relazione con diverse patologie e lo sviluppo di nuove molecole, bioterapeutici e terapie cell-based.

01.	VITALITÀ CELLULARE	06.	AUTOFAGIA
02.	PROLIFERAZIONE/ CICLO CELLULARE	07.	MORTE CELLULARE
03.	SENESCENZA	08.	MORFOLOGIA CELLULARE E ORGANELLI INTRACELLULARI
04.	TOSSICITÀ CELLULARE/ STRESS OSSIDATIVO	09.	LETTORI DI MICROPIASTRE
05.	MOBILIZZAZIONE DEL CALCIO	10.	PRODOTTI CORRELATI



L'immagine è gentilmente concessa da Enzo Life Sciences

01. VITALITÀ CELLULARE

La vitalità cellulare è una misura della proporzione di cellule vive all'interno di una popolazione cellulare ed è considerata una stima globale del benessere della coltura cellulare.

I saggi di vitalità cellulare sono finalizzati ad accertare lo stato fisico e metabolico delle cellule e vengono utilizzati per ottimizzare le condizioni di coltura o per determinare

l'impatto di trattamenti specifici sull'omeostasi cellulare, come nel caso degli screening di farmaci (drug screening). Tipicamente, i saggi di vitalità cellulare misurano l'attività metabolica, i livelli di ATP, l'integrità della membrana plasmatica o la proliferazione cellulare. Per raccogliere solidi risultati sperimentali, è raccomandabile eseguire molteplici saggi indipendenti, basati su diverse tecniche.

LINKS

LINK PER APPROFONDIRE:

- [Synopsis of Cell Proliferation, Metabolic Status and Cell Death](#)
- [Vitalità Cellulare e Saggi di Vitalità: overview](#)

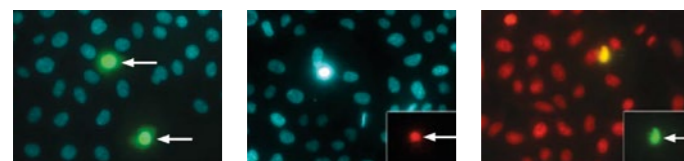


Figura 1. NUCLEAR-ID® Blue/Green dye (ENZ-53004) evidenzia i nuclei delle cellule vive con una fluorescenza blu e i nuclei delle cellule morte con una fluorescenza in verde (freccie).

Figura 2. NUCLEAR-ID® Blue/Red dye (ENZ-53005) evidenzia i nuclei delle cellule vive con una fluorescenza blu e i nuclei delle cellule morte con una fluorescenza in rosso (inserto, freccia).

Figura 3. NUCLEAR-ID® Red/Green dye (ENZ-53006) evidenzia i nuclei delle cellule vive con una fluorescenza in rosso e i nuclei delle cellule morte con una fluorescenza in verde (inserto, freccia).

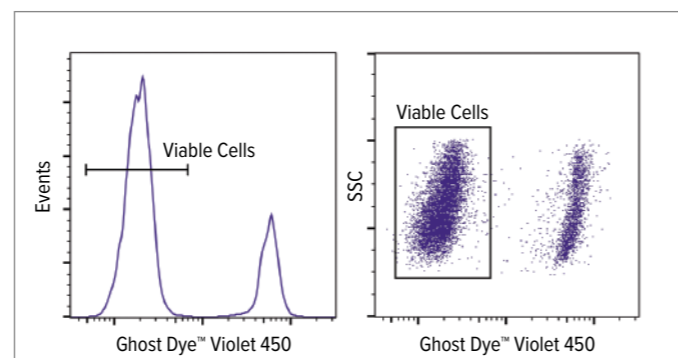


Figura 4. Analisi in citofluorimetria di cellule mononucleate di sangue periferico umano vivo fissato/ permeabilizzato, colorate con Ghost Dye™ Violet 450 Viability Dye. Nel gate sono indicate le cellule vive.

PRODOTTI CHIAVE PER LO STUDIO DELLA VITALITÀ CELLULARE

Marker di vitalità cellulare	Cosa viene misurato	Metodo di rilevazione	Saggio
Attività metabolica	Misura l'attività mitocondriale nelle cellule vitali	Colorimetrico	XTT assay (BK9095S)*
Attività metabolica	Misura l'attività mitocondriale nelle cellule vitali	Fluorimetrico (MP)	Resazurin Cell Viability Kit (BK11884)
Attività delle deidrogenasi	Misura l'attività delle deidrogenasi che riducono il WST-8 a formazano nelle cellule vive	Colorimetrico	Cell Counting Kit-8 (ALX-850-039)*
Integrità della membrana plasmatica	Distingue tra cellule vive e cellule morte utilizzando una doppia fluorescenza	Fluorimetrico (MC, MP, FC)	NUCLEAR-ID® CELL VIABILITY REAGENTS (ENZ-53004 / ENZ-53005 / ENZ-53006)
cAMP	Misura l'attività metabolica determinando i livelli di cAMP in cellule o tessuti di interesse	Colorimetrico	Cyclic AMP XP® Assay Kit (BK4339S)*
cGMP	Misura l'attività metabolica determinando i livelli di cGMP in cellule o tessuti di interesse	Colorimetrico	Cyclic GMP XP® Assay Kit (BK4360S)*
ATP	Rilevazione bioluminescente dell'ATP cellulare	Luminescenza	ViaLight™ Plus Cell Proliferation and Cytotoxicity BioAssay Kit (LOLT07221)
ATP	Misura l'attività metabolica che richiede ATP	Chemiluminescenza	ApoSENSOR™ Cell viability assay kit (ALX-850-247-KI01)

Legenda: FC=Flow Cytometry; MP=Microplate; MC=Microscopy; L=Live cells; F=Fixed cells; P=Permeabilized cells; Vis=Visible; Fluor=Fluorescence

*compatibile con Absorbance 96 Plate Reader

ALTRI PRODOTTI PER LO STUDIO DELLA VITALITÀ CELLULARE

- [Ghost Dye™ Viability Dyes](#): Disponibili con vari spettri di emissione da 450 a 780 nm (eccitabili da laser UV o visibile) questi coloranti non permeano nelle cellule vive e consentono quindi di discriminare facilmente le cellule vive da quelle morte.
- [Trypan Blue](#)

02. PROLIFERAZIONE/CICLO CELLULARE

La proliferazione cellulare può essere intesa come indicatore della vitalità cellulare in quanto solo le cellule vitali sono in grado di dividersi (cytokinesis), mentre cellule in arresto di crescita, senescenti, morte o morenti non lo fanno. Per questo motivo la proliferazione cellulare viene utilizzata anche come indicatore della citotossicità, per determinare l'impatto sulle cellule di uno specifico trattamento chimico/fisico. Spesso la proliferazione cellulare è un processo di per sé oggetto di studio, soprattutto nell'ambito della ricerca sul cancro: mutazioni genetiche identificate nelle cellule cancerose provocano infatti una proliferazione cellulare incontrollata.

La proliferazione cellulare è necessaria per un normale processo di formazione dei tessuti e il loro mantenimento nell'arco della vita; è un processo altamente regolato con numerosissime proteine che controllano i checkpoints del ciclo cellulare. I saggi di proliferazione cellulare misurano la quantità di cellule vitali e in grado di dividersi tramite un'analisi del ciclo cellulare e del contenuto di DNA (le cellule nelle fasi G2 ed M contengono una quantità doppia di DNA rispetto alle cellule in fase G0 e G1), della capacità di sintesi del DNA e dell'espressione di proteine necessarie per la divisione cellulare.

LINKS

LINK PER APPROFONDIRE:

- [Proliferazione Cellulare: overview](#)
- [Pathway interattivo: G2M/DNA damage checkpoint](#)
- [Pathway interattivo: G1/S checkpoint](#)
- [Catalogo: CELESTIAL assay kits and dyes](#)
- [Video: Soluzioni globali per l'analisi cellulare](#)

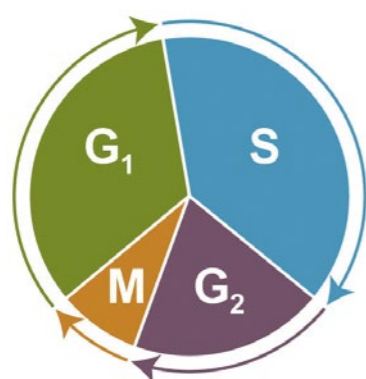


Figura 1. Le fasi del ciclo cellulare. G1 - la cellula aumenta di dimensioni; S - sintesi del DNA e replicazione; G2 - crescita; M - mitosi e divisione cellulare; G0 - quiescenza.

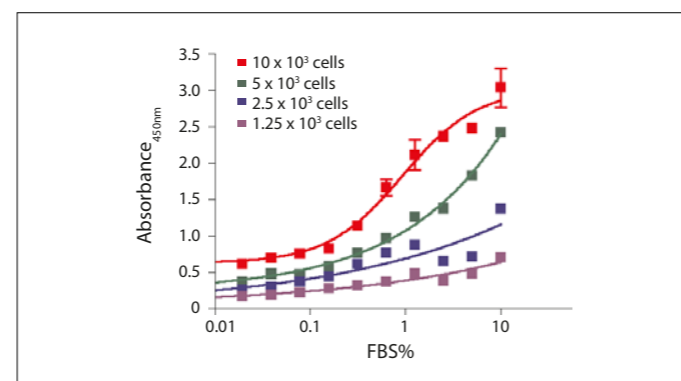


Figura 2. BrdU Cell Proliferation Assay. Cellule C2C12 sono state seminate a varia densità, in terreno serum-free, in una piastra da 96 pozzetti, ed incubate overnight. Successivamente è stato aggiunto alla piastra siero in varie concentrazioni e le cellule sono state incubate per 24 ore. Infine, è stato aggiunto BrdU 10 µM e le cellule sono state incubate per 24 ore. La figura mostra i valori di assorbimento a 450 nm.

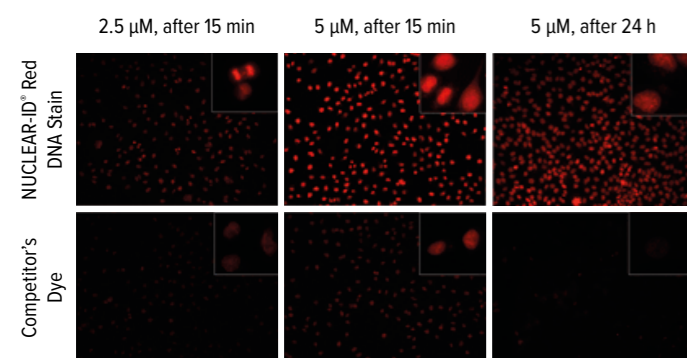


Figura 3. NUCLEAR-ID RED DNA CELL CYCLE KIT. Cellule HeLA sono state fatte crescere fino al 60% di confluenza. Le cellule sono state incubate con NUCLEAR-ID Red DNA Stain o con un dye di un competitor alla concentrazione finale di 2.5 o 5 µM, per 15 minuti a 37°C. Le immagini sono state prese dopo 15 minuti e dopo 24 ore. I risultati dimostrano che il NUCLEAR-ID Red DNA Stain non ha effetti citotossici, può essere utilizzato a concentrazioni più basse e che il segnale perdura più a lungo.

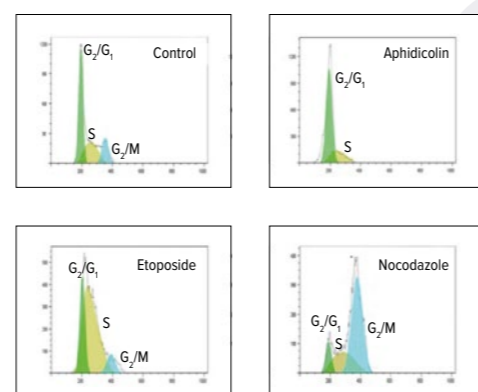


Figura 4. NUCLEAR-ID RED DNA CELL CYCLE KIT. Analisi in citofluorimetria su cellule vive e dimostrazione degli effetti di diversi trattamenti farmacologici su cellule vive sulla progressione del ciclo cellulare: diversi composti bloccano la transizione in diverse fasi.

PRODOTTI CHIAVE PER LO STUDIO DELLA PROLIFERAZIONE E DEL CICLO CELLULARE

Marker di proliferazione	Cosa viene misurato	Metodo di rilevazione	Saggio
Sintesi del DNA	Incorporazione di BrdU nel DNA in corso di sintesi	Colorimetrico	BrdU Cell Proliferation Assay Kit (BK6813)*
Contenuto di DNA	Determina il contenuto di DNA in cellule vive o fissate, monitorando cambiamenti nelle dinamiche del ciclo cellulare	Fluorimetrico (FC, MC)	NUCLEAR-ID® Green cell cycle kit (ENZ-51014-100)
Contenuto di DNA	Determina il contenuto di DNA in cellule vive o fissate, monitorando cambiamenti nelle dinamiche del ciclo cellulare. È compatibile con altre marcature tipo GFP e FITC	Fluorimetrico (FC, MC)	NUCLEAR-ID® Red cell cycle kit (GFP-CERTIFIED) (ENZ-51008-100)
Contenuto di DNA	Determina il contenuto di DNA tramite incorporazione di propidio ioduro (PI) nell'analisi del ciclo cellulare	Fluorimetrico (FC)	Propidium Iodide (PI)/RNase Staining Solution (BK4087S)
Numero di cellule	Misura la divisione cellulare tramite marcatura fluorescente a lungo termine delle cellule	Fluorimetrico (FC)	Cell Proliferation Tracer Kits, (Blue 520 BK53452S or Violet 450 BK48444S)

Legenda: FC=Flow Cytometry; MP=Microplate; MC=Microscopy; L=Live cells; F=Fixed cells; P=Permeabilized cells; Vis=Visible; Fluo=Fluorescence

*compatibile con Absorbance 96 Plate Reader

ALTRI PRODOTTI PER LO STUDIO DELLA PROLIFERAZIONE CELLULARE

- [Cell Cyclyer blockers/inhibitors](#)
- [Cell Cycle Phase Determination Antibody Sampler Kit \(BK17498T\)](#)

03. SENESCENZA

La senescenza cellulare è uno stato di arresto permanente del ciclo cellulare in cui le cellule diventano resistenti a qualsiasi stimolo di proliferazione (siero, passaggio in coltura), tipicamente a seguito di DNA damage; i marker di senescenza possono essere quindi utilizzati a complemento dei saggi di proliferazione.

Le cellule senescenti sono caratterizzate da cambiamenti morfologici e metabolici (maggiori dimensioni e aumentata attività β -galattosidasi a pH 6), riorganizzazione della cromatina, espressione genica alterata e adozione di un fenotipo pro-infiammatorio

conosciuto come Senescence-Associated Secretory Phenotype (SASP).

Il ruolo biologico della senescenza è complesso e delle cellule senescenti sono stati descritti sia effetti protettivi sia effetti deleteri a seconda del contesto fisiologico. Per esempio, se da una parte l'evoluzione in senescenza evita la trasformazione maligna di cellule danneggiate, dall'altra la comparsa di senescenza cellulare può contribuire allo sviluppo di molte patologie legate all'età, inclusi il cancro e le malattie degenerative e infiammatorie dei tessuti.

LINKS

LINK PER APPROFONDIRE:

- [Senescenza Cellulare: overview](#)
- [Senescenza e neurodegenerazione](#)
- [Pathway interattivo: Senescenza](#)

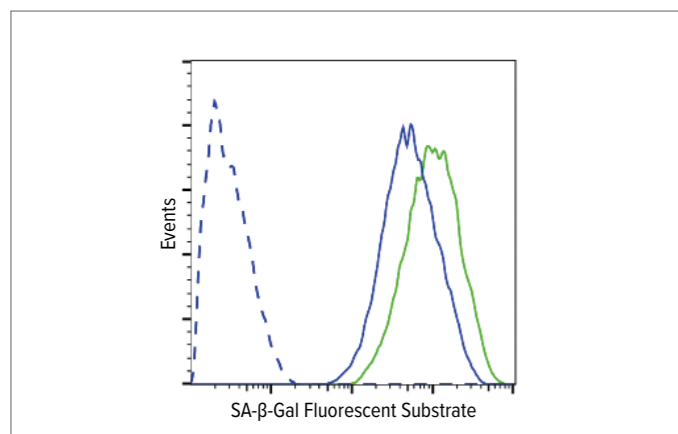


Figura 1. Senescence β -Galactosidase Activity Assay Kit (Fluorescence, Flow Cytometry). Analisi in citofluorimetria di cellule MCF-7, non trattate (blu) o trattate con Etoposide (12.5 μ M, verde) e lasciate a riposo per 3 giorni, utilizzando SA- β -Gal Fluorescent Substrate (linea continua); confronto con cellule non marcate (linea tratteggiata).

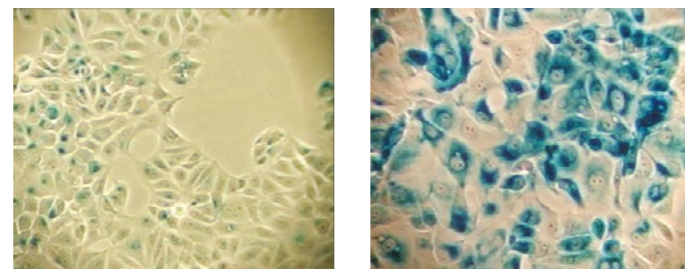


Figura 2. Senescence β -Galactosidase Staining Kit. Marcatura con β -Galactosidase a pH 6.0 di cellule MCF-7 non trattate (sx) o senescenti perchè trattate con etoposide (12.5 μ M, 24h) e lasciate a riposo per 4 giorni (dx).

PRODOTTI CHIAVE PER LO STUDIO DELLA SENESCENZA

Marker di senescenza	Cosa viene misurato	Metodo di rilevazione	Saggio
Attività della β -gal	Marcatura cromogenica delle cellule che mostrano attività della β -galattosidasi	Cromogenico (MC)	Senescence β -Galactosidase Staining Kit (BK9860S)
Attività della β -gal	Quantificazione dell'attività della β -galattosidasi in lisati cellulari	Fluorimetrico (MP)	Cellular senescence activity assay (ENZ-KIT129-0120)
Attività della β -gal	Quantificazione dell'attività della β -galattosidasi in cellule vive	Fluorimetrico (FC)	Cellular senescence live cell analysis assay (ENZ-KIT130-0010)
Attività della β -gal	Quantificazione dell'attività della β -galattosidasi in lisati cellulari	Fluorimetrico (MP)	Senescence β -Galactosidase Activity Assay Kit (Fluorescence, Plate-Based) (BK23833S)
Attività della β -gal	Quantificazione dell'attività della β -galattosidasi in cellule vive	Fluorimetrico (FC)	Senescence β -Galactosidase Activity Assay Kit (Fluorescence, Flow Cytometry) (BK35302S)

Legenda: FC=Flow Cytometry; MP=Microplate; MC=Microscopy; L=Live cells; F=Fixed cells; P=Permeabilized cells; Vis=Visible; Fluo=Fluorescence

ALTRI PRODOTTI PER LO STUDIO DELLA SENESCENZA

- [Senescence Marker Antibody Sampler Kit](#) (BK56062T)
- [Senescence Associated Secretory Phenotype \(SASP\) Antibody Sampler Kit](#) (BK38461T)

04. TOSSICITÀ CELLULARE/STRESS OSSIDATIVO

La tossicità cellulare, o citotossicità, è la capacità di una sostanza di danneggiare una cellula vivente o di causarne la morte. I saggi di tossicità sono utili per determinare la sopravvivenza di una coltura cellulare ad un trattamento con sostanze biologicamente attive (es. farmaci) o ad altri fattori stressanti (es. cambiamenti nel metabolismo, esposizione a raggi UV, ipossia).

La citotossicità può essere misurata indirettamente, tramite saggi di vitalità e proliferazione, oppure direttamente tramite saggi che quantificano indicatori

di morte cellulare (perdita di integrità della membrana plasmatica) o di stress ossidativo (formazione di aggregati proteici e di vescicole lisosomiali, depolarizzazione dei mitocondri, accumulo di specie ossigeno e azoto reattive ROS/RNS).

LINKS

LINK PER APPROFONDIRE:

- [Stress Ossidativo](#)
- [Predictive Toxicology](#)
- [Folding delle Proteine e Aggregazione Proteica nelle malattie neurodegenerative](#)
- [Cellular Landscape: Mitocondri](#)

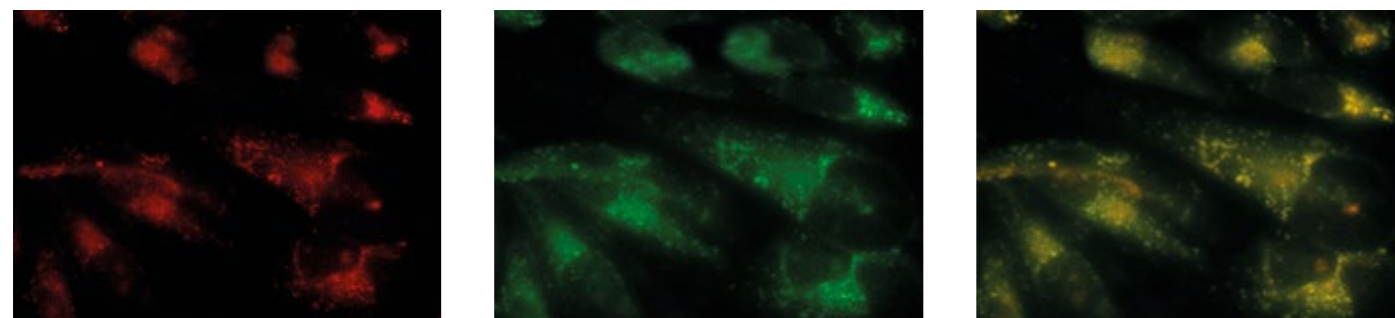


Figura 1. PROTEOSTAT® AGGRESOME DETECTION KIT. Immagini al microscopio in fluorescenza di aggregosomi in cellule HeLA, precedentemente trattate per 12 ore con MG-132 5 μ M, visualizzati

tramite ProteoStat® aggresome dye (a sinistra) che mostrano colocalizzazione con l'anticorpo anti-p62 marcato con fluoresceina (al centro); immagine composta a destra.

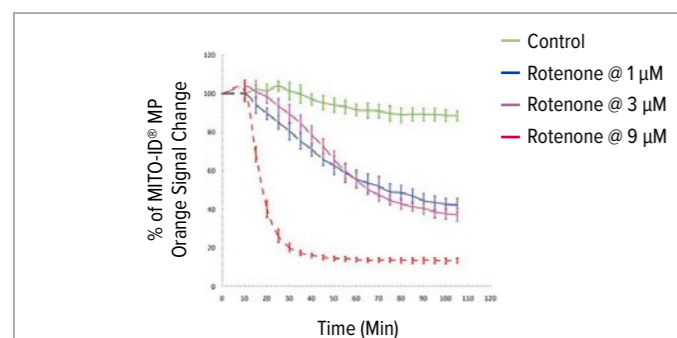


Figura 2. MITO-ID® Membrane potential cytotoxicity kit. Rilevazione in tempo reale di mitotossicità in uno studio di drug screening. Cellule HeLA sono state incubate con il dye MITO-ID per 30 minuti a temperatura ambiente (senza rimozione di siero o terreno). È stato aggiunto Rotenone (concentrazioni finali di 1 μ M, 3 μ M e 9 μ M) che ha progressivamente causato una perdita di potenziale MMP, come dimostrato dalla riduzione della fluorescenza arancione. La misurazione della fluorescenza è stata effettuata con un lettore di micropiastre convenzionale.

PRODOTTI CHIAVE PER LO STUDIO DI TOSSICITÀ/STRESS OSSIDATIVO

Marker di Stress/citotossicità	Cosa viene misurato	Metodo di rilevazione	Saggio
Integrità della membrana plasmatica	Distingue tra cellule vive e cellule morte utilizzando una doppia fluorescenza	Fluorimetrico (MC, MP, FC)	NUCLEAR-ID® CELL VIABILITY REAGENTS (ENZ-53004 / ENZ-53005 / ENZ-53006)
Integrità della membrana plasmatica	Quantifica i livelli di Lactate dehydrogenase rilasciati nel terreno di coltura	Colorimetrico	LDH Cytotoxicity WST Assay (ENZ-KIT157)*
Formazione di aggregosomi	Misura l'accumulo di aggregosomi formati da proteine mal conformate e aggregati proteici in cellule fissate	Fluorimetrico (FC, MC)	PROTEOSTAT® AGGRESOME DETECTION KIT (ENZ-51035)
Lisosomi	Monitora l'accumulo di lisosomi e strutture lysosome-like in cellule vive	Fluorimetrico (MC, MP, HTS)	LYSO-ID® Red cytotoxicity kit (GFP-CERTIFIED™) (ENZ-51015)
Integrità di membrana mitocondriale	Monitoraggio real-time del potenziale di membrana mitocondriale in cellule vive	Fluorimetrico (MP, HTS)	MITO-ID® Membrane Potential Cytotoxicity Kit (ENZ-51019-KP002)
Integrità di membrana mitocondriale	Misura il potenziale di membrana mitocondriale (MMP) in cellule vive	Fluorimetrico (FC, MC, MP, HTS)	MITO-ID® Membrane Potential Detection Kit (ENZ-51018)
MOMP (mitochondrial outer membrane permeability)	Depolarizzazione dei mitocondri in cellule vive	Fluorimetrico (FC, MC, MP)	Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit (II) (BK13296S)
ROS/Superoxide	Discriminazione simultanea dei livelli totali di ROS e superossido in cellule vive	Fluorimetrico (MC, FC)	ROS-ID® Total ROS/Superoxide Detection Kit (ENZ-51010)
ROS	Misura i livelli globali di ROS, ma NON di superossido, in cellule vive	Fluorimetrico	ROS-ID® Total ROS detection kit (ENZ-51011)
Superoxide	Misura il livello globale di superossido in cellule vive	Fluorimetrico	ROS-ID® Superoxide detection kit (ENZ-51012)
Adenylate kinase (AK)	Misura il rilascio nel mezzo di coltura di adenylate kinase (AK) da parte delle cellule danneggiate	Luminescenza	ToxiLight™ Non-Destructive Cytotoxicity BioAssay Kit (LOLT17217)

Legenda: FC=Flow Cytometry; MP=Microplate; MC=Microscopy; L=Live cells; F=Fixed cells; P=Permeabilized cells; Vis=Visible; Fluor=Fluorescence

*compatibile con Absorbance 96 Plate Reader

ALTRI PRODOTTI PER LO STUDIO DI CITOTOSSICITÀ E STRESS OSSIDATIVO

- [SCREEN-WELL® Compound Libraries](#) (Cardiotoxicity, Hepatotoxicity, Nephrotoxicity, etc)
- [Commonly used Chemical Modulators Table](#)

05. MOBILIZZAZIONE DEL CALCIO

Una delle risposte funzionali che la cellula può produrre in seguito ad un trattamento chimico/fisico è la mobilizzazione del calcio dal reticolo endoplasmatico (ER). Il calcio è un messaggero secondario molto importante, coinvolto in moltissimi processi di trasduzione del segnale. Il monitoraggio della sua mobilizzazione dalle riserve intracellulari in risposta all'attivazione di recettori GPCR (G-coupled

protein receptors) è considerato un approccio standard per la caratterizzazione farmacologica di composti e recettori ed è frequentemente implementato negli screening primari.

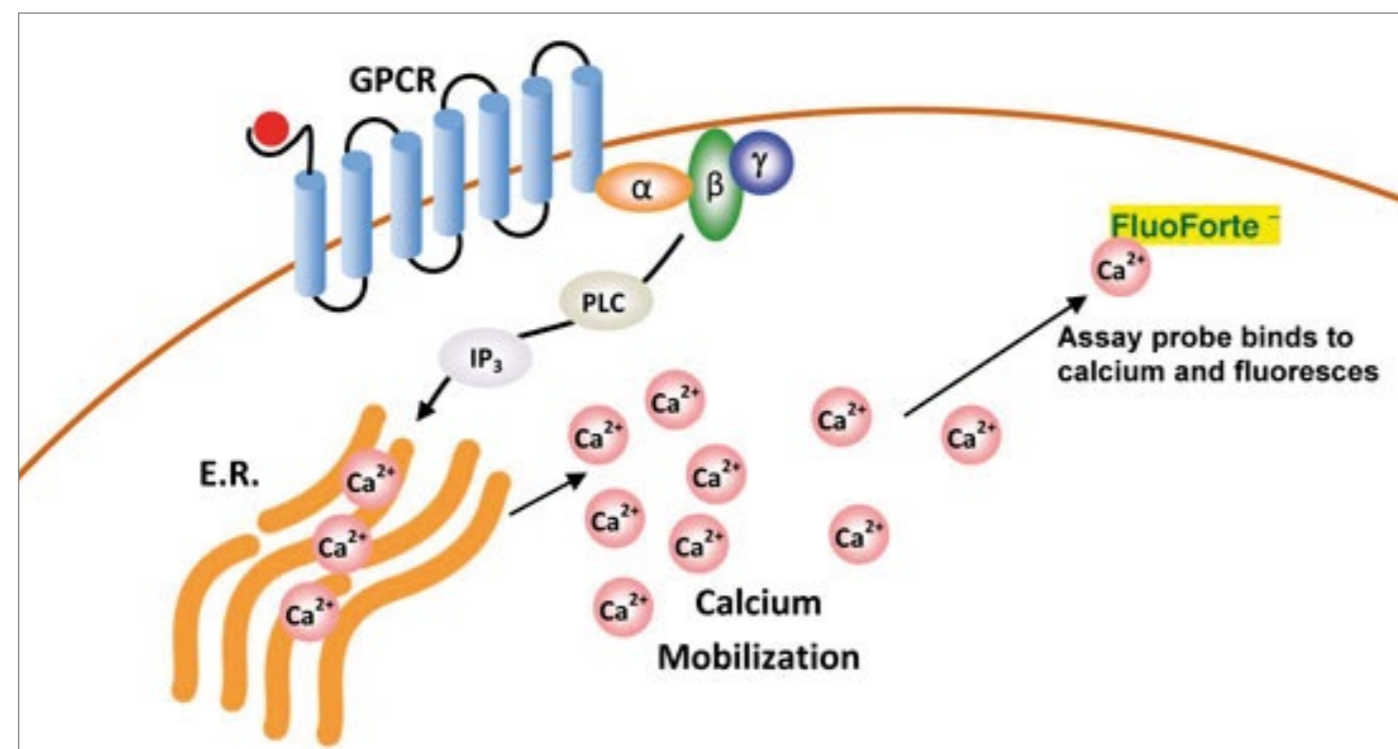


Figura 1. FLUOFORTE® Calcium assay kit. Il dye fluorescente FLUOFORTE è in grado di attraversare passivamente la membrana citoplasmatica ed entrare nella cellula viva dove subisce una

trasformazione e non ne esce più. In presenza di Calcio libero nel citoplasma si attiva la fluorescenza che è tanto più intensa quanto più calcio libero è presente.

LINKS

LINK PER APPROFONDIRE:

- [Catalogo: CELESTIAL® Assay Kits & Dyes](#)
- [Pathway interattivo: G-Protein-Coupled Receptors Signaling to MAPK/Erk](#)
- [Video: Soluzioni globali per l'analisi cellulare](#)

PRODOTTI CHIAVE PER LO STUDIO DELLA MOBILIZZAZIONE DEL CALCIO

Marker di mobilizzazione del calcio	Cosa viene misurato	Metodo di rilevazione	Saggio
Ioni Ca ²⁺	Quantifica i livelli intracellulari di ioni Ca ²⁺ liberi in cellule vive	Fluorimetrico (MC, MP, FC, HTS)	FLUOFORTE® Calcium assay kit (ENZ-51016 / ENZ-51017)
Ioni Ca ²⁺	Quantifica i livelli intracellulari di ioni Ca ²⁺ liberi in cellule vive. Compatibile con altre marcature intracellulari quali GFP e FITC	Fluorimetrico (MC, MP, FC, HTS)	GFP-CERTIFIED® FLUOFORTE® Calcium assay kit (ENZ-51020)

Legenda: FC=Flow Cytometry; MP=Microplate; MC=Microscopy; L=Live cells; F=Fixed cells; P=Permeabilized cells; Vis=Visible; Fluo=Fluorescence

ALTRI PRODOTTI PER LO STUDIO DELLA MOBILIZZAZIONE DEL CALCIO

- [Calcium Ion Regulation Antibody Sampler Kit \(BK8575T\)](#)

06. AUTOFAGIA

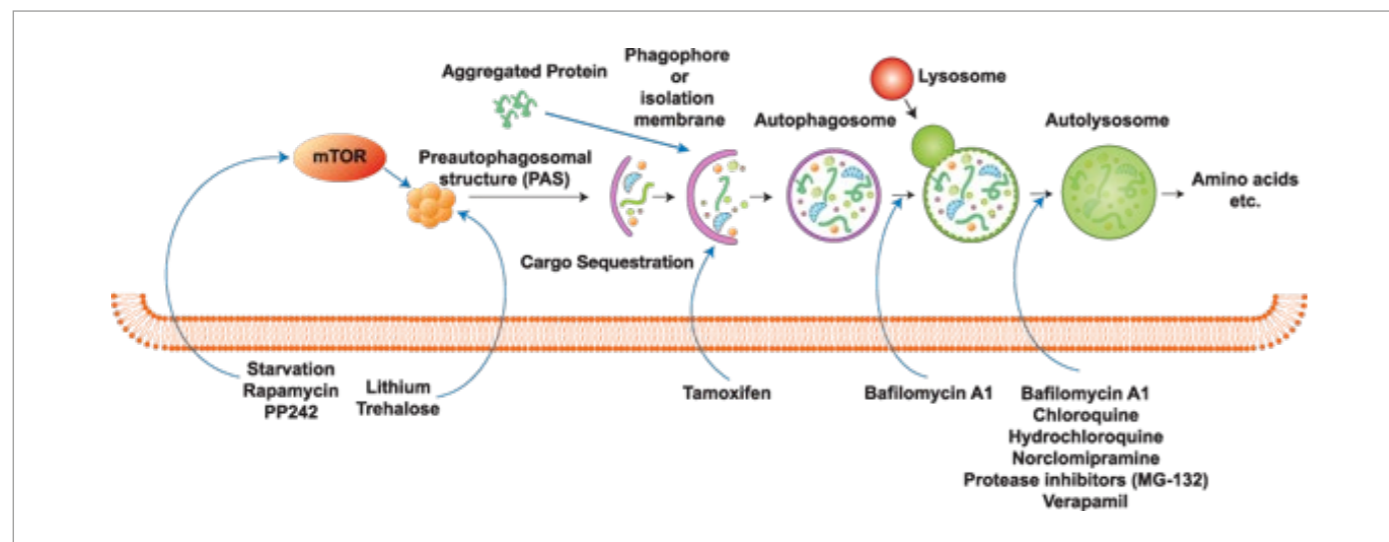
L'autofagia è un sistema dinamico di riciclaggio cellulare che serve a degradare alcuni contenuti citoplasmatici, aggregati proteici, organelli danneggiati o in eccesso, in modo tale che le unità costitutive, quali gli aminoacidi, possano essere riutilizzati per creare nuovi componenti cellulari. Nel processo di autofagia, il materiale da eliminare viene circondato da una porzione di membrana formando un autofagosoma. L'autofagosoma si fonde con un lisosoma creando un autolisosoma e risultando nella degradazione dei componenti cellulari ad opera degli

enzimi lisosomiali. L'autofagia è un processo fisiologico in condizioni basali e si attiva come meccanismo protettivo in caso di esposizione delle cellule a condizioni ostili quali la riduzione di apporto nutritivo e lo stress chimico o ambientale. È ormai ampiamente riconosciuto che l'autofagia abbia un ruolo importante nelle patologie tumorali e neurodegenerative, nelle malattie cardiovascolari e nel diabete.

LINKS

LINK PER APPROFONDIRE:

- [Pathway interattivo: Autofagia](#)
- [Webinar: Advances in AMPK and Autophagy Signaling](#)
- [Application notes: Autofagia](#)
- [Soluzioni globali per lo studio dell'autofagia](#)



L'immagine è gentilmente concessa da Enzo Life Sciences

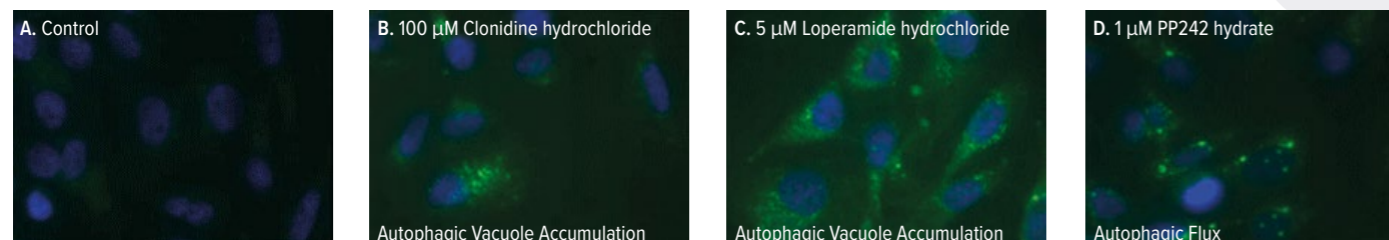


Figura 1. CYTO-ID® Autophagy detection kit. Sia l'accumulo che il flusso autofagico sono visualizzabili tramite microscopia a fluorescenza grazie al CYTO-ID® Autophagy Green dye. Cellule HeLA sono trattate con DMSO 0.2% come controllo negativo (A) o indotte con Clonidine hydrochloride 100 μM (B), Loperamide hydrochloride 5 μM (C) e PP242

hydrate 1 μM (D) per 12 ore a 37°C. Dopo il trattamento, le cellule sono state incubate con CYTO-ID® Green Detection reagent per 10 min a 37°C e poi lavate con l'apposita soluzione. I nuclei sono colorati in blu con Hoechst 33342.

PRODOTTI CHIAVE PER LO STUDIO DELL'AUTOFAGIA

Marker di Autofagia	Cosa viene misurato	Metodo di rilevazione	Saggio
Vescicole autofagiche	Monitoraggio della formazione di pre-autofagosomi, autofagosomi e autolisosomi in cellule vive	Fluorimetrico (MC, MP, FC)	CYTO-ID® AUTOPHAGY DETECTION KITS (ENZ-51031 / ENZ-KIT175)
p62	Misurazione quantitative dei livelli di p62	Colorimetrico	p62 ELISA kit (ADI-900-212)*

Legenda: FC=Flow Cytometry; MP=Microplate; MC=Microscopy; L=Live cells; F=Fixed cells; P=Permeabilized cells; Vis=Visible; Fluo=Fluorescence

*compatibile con Absorbance 96 Plate Reader

ALTRI PRODOTTI PER LO STUDIO DELL'AUTOFAGIA

- [Autophagy Library and Pathway Modulators](#)
- [Autophagy Antibodies and Proteins](#)
- [Autophagy Antibody Sampler Kit \(BK4445T\)](#)

07. MORTE CELLULARE

La morte cellulare ha un ruolo fondamentale e può avvenire in modo diverso, a seconda del contesto cellulare e dello stimolo che innesca il meccanismo di autodistruzione.

L'apoptosi è un tipo di morte cellulare programmata molto ben caratterizzata per la sua importanza nello sviluppo, nell'omeostasi e nella patogenesi di molte malattie come il cancro. Durante l'apoptosi le cellule tipicamente si riducono nelle dimensioni, si formano delle irregolarità sulla superficie della membrana plasmatica, delle frammentazioni a livello nucleare e si osserva la condensazione della cromatina. Il meccanismo di segnalazione che porta all'apoptosi si propaga attraverso la classe di enzimi proteolitici delle caspasi che possono essere attivate da segnali estrinseci (interazione specifica tra ligandi extracellulari e vari death receptor sulla superficie della cellula) o intrinseci in risposta allo stress (perdita del potenziale di membrana mitocondriale e rilascio di citocromo c).

La necrosi è un tipo di morte cellulare non programmata che si attiva in risposta a danno grave o infezione. Durante la necrosi il citoplasma e gli organelli aumentano di volume e questo determina una perdita dell'integrità della membrana e, in ultimo, la lisi con rilascio del contenuto della cellula all'esterno; il processo è accompagnato dall'attivazione di una risposta infiammatoria nelle cellule circostanti. Esistono forme di necrosi programmata (necroptosi e piroptosi) che si attivano rispettivamente tramite segnali pro-infiammatori e infezioni virali e, nelle cellule del sistema immunologico, in risposta a infezioni virali o batteriche.

La NETosis, infine, è una forma unica di morte cellulare programmata caratterizzata dalla rottura della membrana e dalla fuoriuscita di cromatina, istoni e componenti citoplasmatici vari che si organizzano in strutture reticolari chiamate neutrophil extracellular traps (NETs).

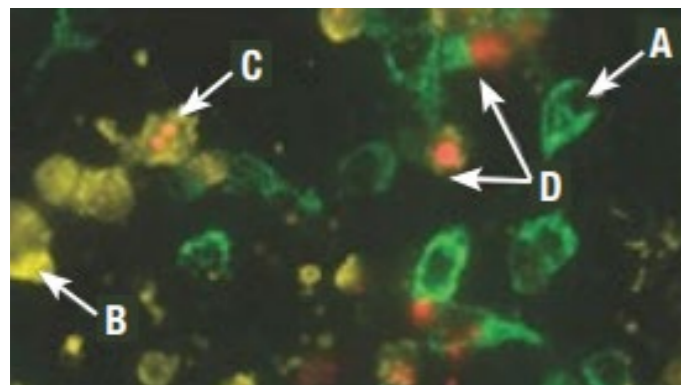


Figura 1. GFP-CERTIFIED® APOPTOSIS/NECROSIS DETECTION KIT. A. Cellule vitali. B. Cellule in fase precoce di apoptosi. C. Cellule in fase avanzata di apoptosi. D. Cellule necrotiche. È un kit citato in oltre 60 pubblicazioni. Nell'articolo su ACS Nano di Machelart et al. (2019), i ricercatori sono stati in grado di monitorare la morte cellulare individuando tramite microscopia confocale le cellule in stato precoce di apoptosi, le cellule necrotiche e quelle in fase avanzata di apoptosi nel loro studio sulle nanoparticelle di poly-β-cyclodextrins (pβCD) e hanno potuto concludere che tali nanoparticelle possono essere una potenziale formulazione farmacologica contro la tubercolosi.

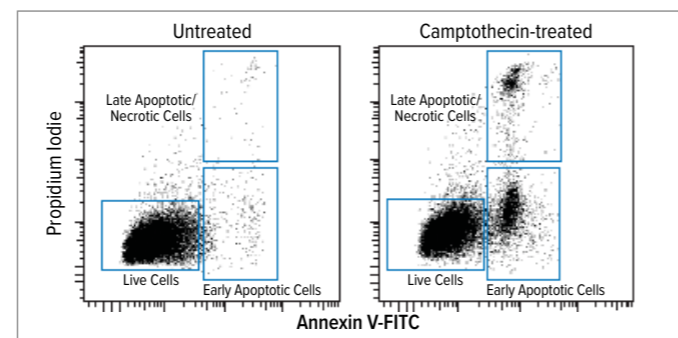


Figura 2. Annexin V-FITC Early Apoptosis detection kit. Analisi in citofluorimetria di cellule Jurkat non trattate (sx) o trattate (dx) con camptothecin 10 μM.

LINK PER APPROFONDIRE:

- [Pathway interattivi: Regolazione dell'apoptosi](#)
- [Pathway interattivi: Inibizione dell'apoptosi](#)
- [Pathway interattivi: Controllo mitocondriale dell'apoptosi](#)
- [Pathway interattivi: Necrosi](#)
- [Synopsis of Cell Proliferation, Metabolic Status, and Cell Death](#)
- [Soluzioni globali per lo studio dell'Apoptosi](#)
- [Morte Cellulare: implicazioni nel cancro e nelle malattie neurodegenerative](#)

LINKS

PRODOTTI CHIAVE PER LO STUDIO DI APOPTOSI/NECROSIS

Marker di Apoptosi/Necrosi	Cosa viene misurato	Metodo di rilevazione	Saggio
Phosphotidyl serine (PS)	In cellule vive, distingue tra cellule sane, in fase precoce di apoptosi, in fase avanzata di apoptosi e in necrosi	Fluorimetrico (MC, FC)	GFP-CERTIFIED® APOPTOSIS/NECROSIS DETECTION KIT (ENZ-51002)
Phosphotidyl serine (PS)	Identifica le cellule in fase precoce di apoptosi in una popolazione cellulare	Fluorimetrico (MC, FC)	Annexin V-FITC Early Apoptosis detection kit (BK6592S)
Condensazione della cromatina	Visualizza la condensazione della cromatina indotta da apoptosi in cellule vive	Fluorimetrico (MC, FC)	NUCLEAR-ID® GREEN CHROMATIN CONDENSATION KIT (ENZ-51021)
Attivazione della cascata delle caspasi	Misura l'attività di caspase-3 e caspase-3-like (cellular DEVDase) in estratti cellulari	Colorimetrico, Fluorimetrico (MC, MP)	CASPASE-3 Cellular Assay Kit PLUS (BML-AK703)*
Frammentazione del DNA	Misura il danno al DNA tramite osservazione della migrazione elettroforetica dei frammenti di DNA su gel	Fluorimetrico (MC)	Comet SCGE assay kit (ADI-900-166)
DNA singolo strand	Misura la presenza di ssDNA e la correla con il numero di cellule apoptotiche. Esclude le cellule necrotiche	Colorimetrico	APOSTRAND™ ELISA apoptosis detection kit (BML-AK120-0001)*
Rilascio del Cytochrome C	Misurazione quantitativa della presenza di Cytochrome C nelle frazioni cellulari citosoliche e mitocondriali	Colorimetrico	Cytochrome c (human), ELISA kit (ADI-900-141)*
ADP/ATP	Usa i cambiamenti nel rapporto ADP/ATP per distinguere tra apoptosi e necrosi	Chemiluminescente	ApoSENSOR™ ADP/ATP ratio assay kit (ALX-850-248-KI01)

Legenda: FC=Flow Cytometry; MP=Microplate; MC=Microscopy; L=Live cells; F=Fixed cells; P=Permeabilized cells; Vis=Visibile; Fluo=Fluorescence

*compatibile con Absorbance 96 Plate Reader

ALTRI PRODOTTI PER LO STUDIO DELLA MORTE CELLULARE

• Induttori

- [Enhanced TNF Ligands - Enzo Life Sciences](#)
- [Apoptosis inducer set](#) (ALX-850-235-KI01)

• Inibitori

- [NecroX 2/5 Necrosis Inhibitors](#)
- [Necrostatin 1/5/7](#)
- [Caspase inhibitors](#)

• Anticorpi

- [Apoptosis Antibody Sampler Kit](#) (BK9915T)
- Necroptosis Markers ([RIP](#) and [RIP3](#) kinases, [Phospho-RIP](#) and [Phospho-RIP3](#) kinases, [MLKL](#), [Phospho-MLKL](#))
- Pyroptosis Markers ([NLRP3](#), [caspase-1](#), [gasdermin-D](#))
- [Caspasi ricombinanti e assay kit](#)

08. MORFOLOGIA CELLULARE E ORGANELLI INTRACELLULARI

Gli organelli intracellulari svolgono delle funzioni chiave nella fisiologia della cellula: degradazione delle proteine, metabolismo dei lipidi, sintesi dell'ATP, modificazioni post-traslazionali, trasmissione del DNA alle cellule figlie. Danno o compromissione degli organelli sono spesso associati all'insorgenza e alla progressione di diverse patologie cardiovascolari, neurodegenerative,

tumorali, autoimmuni e metaboliche. Per questo motivo è utile poter visualizzare gli organelli e osservare la loro co-localizzazione con proteine e target specifici in determinati compartimenti subcellulari, per monitorare la risposta morfologica a stress ambientali e chimici.

LINKS

LINK PER APPROFONDIRE:

- [Struttura Cellulare e Visualizzazione degli Organelli](#)
- [Cellular Landscapes](#)

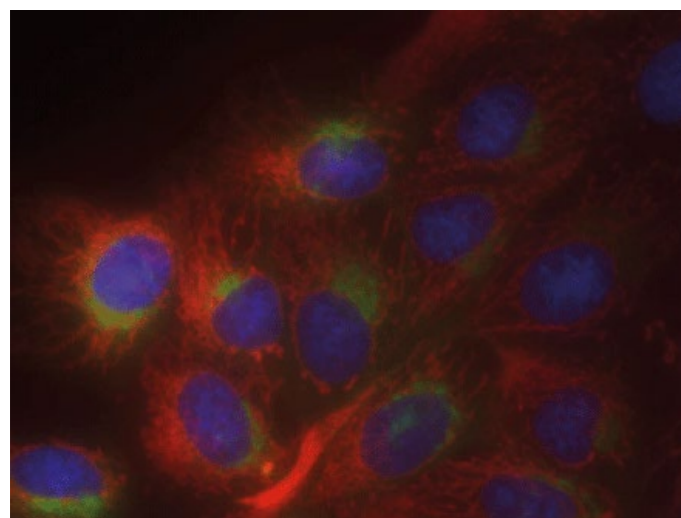


Figura 1. **ORGANELLE-ID-RGB[®] III kit**. Colorazione di cellule epiteliali MDCK; 3 diversi dye fluorescenti (ER-ID[®] Red, GOLGI-ID[®] Green and Hoechst 33342 blue), evidenziano i loro rispettivi target subcellulari con grande precisione.

PRODOTTI CHIAVE PER LO STUDIO MORFOLOGICO DI CELLULE E ORGANELLI

Comparto cellulare	Cellule	Cosa/come viene marcato	Metodo di rilevazione	Saggio
Nucleo	L, F, P	Nucleo con dye rosso	Fluorimetrico (MC, FC)	NUCLEAR-ID [®] RED DNA STAIN (ENZ-52406)
Nucleo	L, F, P	Nucleo con dye blu	Fluorimetrico (MC, FC)	NUCLEAR-ID [®] BLUE DNA STAIN (GFP-CERTIFIED [®]) (ENZ-CHM103)
Nucleo	L	Nucleoli con dye verde	Fluorimetrico (MC)	NUCLELAR-ID [®] GREEN DETECTION KIT (ENZ-51009)
Nucleo	L	Nucleo con dye rosso e nucleoli con dye verde	Fluorimetrico (MC)	TOTAL-NUCLEAR-ID [®] GREEN/RED NUCLEOLAR/NUCLEAR DETECTION KIT (ENZ-51006)
Reticolo endoplasmatico	L, F, P	ER con dye verde o rosso e nucleo con dye blu	Fluorimetrico (MC)	ER-ID Green / Red Assay Kits (ENZ-51025 / ENZ-51026)
Apparato del Golgi	L, F	Golgi con dye verde e nucleo con dye blu	Fluorimetrico (MC)	GOLGI-ID [®] GREEN ASSAY KIT (ENZ-51028)
Lisosomi	L	Lisosomi con dye rosso o verde e nucleo con dye blu	Fluorimetrico (MC)	LYSO-ID Red / Green Detection Kits (ENZ-51005 / ENZ-51034)
Mitocondri	L, F, P	Mitocondri con dye rosso o verde e nucleo con dye blu	Fluorimetrico (MC)	MITO-ID [®] RED (ENZ-51007) / MITO-ID GREEN (ENZ-51022) DETECTION KITS
Organelli multipli	L	ER con dye rosso, Golgi con dye verde e nucleo con dye blu	Fluorimetrico (MC)	ORGANELLE-ID RGB III Assay Kit (ENZ-51032)
Organelli multipli	L	Lisosomi con dye rosso, mitocondri con dye verde e nucleo con dye blu	Fluorimetrico (MC)	ORGANELLE-ID RGB Reagent I (ENZ-53007)
Organelli multipli	L	Lisosomi con dye rosso, ER con dye verde e nucleo con dye blu	Fluorimetrico (MC)	ORGANELLE-ID RGB reagent II (ENZ-53008)
Organelli multipli	L	ER con dye rosso, lisosomi con dye verde e nucleo con dye blu	Fluorimetrico (MC)	ORGANELLE-ID RGB reagent IV (ENZ-53009)
Membrana cellulare	L	Membrana citoplasmatica con dye verde o rosso. Marcatura a lungo termine che passa alle cellule figlie	Fluorimetrico (MC, FC)	CYTO-ID [®] Green long-term cell tracer kit (ENZ-51036) / CYTO-ID [®] Red long-term cell tracer kit (ENZ-51037)

Legenda: FC=Flow Cytometry; MP=Microplate; MC=Microscopy; L=Live cells; F=Fixed cells; P=Permeabilized cells; Vis=Visible; Fluo=Fluorescence

ALTRI PRODOTTI PER LO STUDIO DELLA MORFOLOGIA CELLULARE

- [Organelle Markers](#)

09. LETTORI DI MICROPIASTRE

ENZO LIFE SCIENCE

[Absorbance 96 Plate Reader](#): Lettore ELISA piccolo e compatto, con software facile e versatile per la gestione di protocolli e report custom o pre-impostati.



BMG LABTECH

Ampia gamma di lettori di micropiastre per life science, drug discovery e altre aree di ricerca.



[PHERAstar® FSX](#)

Lettore di micropiastre gold standard per analisi high – throughput screening (hts).

[FLUOstar® Omega](#)

Fluorimetro a filtri multimodale upgradabile con diverse modalità di rilevazione.

[CLARIOstar® Plus](#)

Lettore dotato di monocromatori con tecnologia rivoluzionaria light variable filters (lvf) che garantiscono performance di sensibilità uniche rispetto ai monocromatori convenzionali.

[SPECTROstar® Nano](#)

Spettrometro per misurazioni ultra veloci di DNA/RNA, proteine e Saggi elisa.

LINKS

LINK PER APPROFONDIRE:

Enzo Life Sciences

• [Brochure](#)

• [Flyer](#)

BMG Labtech

• [Catalogo Strumentazione Hightech](#)

10. PRODOTTI CORRELATI



CELLULE PRIMARIE

[Lonza](#)

I saggi cellulari vengono tipicamente effettuati su linee cellulari ma ci sono situazioni in cui è preferibile studiare un processo o una risposta biologica in un sistema che sia il meno artefatto possibile. Per rispondere a questa esigenza, Lonza offre un'ampia offerta di cellule primarie fresche e crioconservate. Tutte le cellule hanno una provenienza eticamente approvata e controllata tramite un rigoroso processo di controllo qualità. Le cellule primarie, provenienti da diversi donatori, sono caratterizzate con dati clinici e demografici.

TERRENI, SIERI E REAGENTI PER LA BIOLOGIA CELLULARE

[Lonza](#) | [Euroclone](#) | [Cytiva](#)

Euroclone, Lonza e Cytiva offrono una gamma completa di terreni di coltura per la crescita di diversi tipi cellulari, soluzioni saline, reagenti per la dissociazione cellulare, amminoacidi, vitamine e una larga scelta di sieri fetali bovini standard e trattati (Irraggiati, inattivati, Dializzati, TET free etc.), approvati USDA o EU.

PIASTRE PER COLTURE CELLULARI

[Greiner Bio-One](#)

Greiner ha un catalogo completo di piastre per colture cellulari e micropiastre specifiche per ogni tipo di saggio/applicazione: HTS, Elisa, Luminescenza e Fluorescenza.

STRUMENTI E CONSUMABILI PER LABORATORIO

[Eppendorf](#) | [Euroclone](#)

I cataloghi Eppendorf ed Euroclone includono le migliori soluzioni per strumenti e consumabili indispensabili in ogni laboratorio: pipette singole o multicanale, pipettatori, puntali, provette, piastre e strips, centrifughe e termoblocchi, e molto altro.

MYCOPLASMA DETECTION

[Lonza](#) | [Euroclone](#)

Euroclone e Lonza sono in grado di offrire un pannello di prodotti adatti per rilevare, prevenire ed eliminare le contaminazioni da Mycoplasma.

Servizi

I nostri servizi sono stati sviluppati per supportare la vita quotidiana dei ricercatori e offrire soluzioni flessibili in risposta alle esigenze dei clienti.

Technical Sales Specialist

Gli specialisti di Euroclone offrono un supporto in grado di soddisfare ogni esigenza del cliente (sia per i prodotti Euroclone che per i prodotti distribuiti) offrendo così un importante supporto diretto sul territorio italiano.

- ✓ Consulenza pre e post vendita
- ✓ Installazione dello strumento
- ✓ Formazione nell'utilizzo degli strumenti
- ✓ Dimostrazioni tecniche e pratiche
- ✓ Assistenza tecnica
- ✓ Risoluzione dei problemi
- ✓ Supporto scientifico

Technical Sales Assistant

L'assistente tecnico si occupa di tutte le esigenze operative post vendita.

- ✓ Fornisce informazioni tecniche
- ✓ Gestisce le richieste in sinergia con il supporto tecnico del fornitore
- ✓ Supporto tecnico sul consumabile

Contatti: tsa@euroclone.it / 800-315911

Qualità

I dispositivi medici, da noi commercializzati e i dispositivi diagnostici in vitro impiegati nella citogenetica sono conformi alle normative europee 2017/745 e 2017/746. Euroclone vende i propri prodotti a marchio in Europa e nei paesi extraeuropei in conformità con le normative internazionali, incluso il regolamento DUAL USE.

Euroclone è un fornitore di aziende nell'area Biotech - Pharma che lavorano in GMP, garantendo prodotti FFM in conformità con l'accordo tecnico di qualità specifico definito con i singoli clienti.

Certificazioni

ISO 9001, ISO 13485 e ISO 14001.

ISO 9001 e ISO 13485 certificano che Euroclone SpA, dal punto di vista della progettazione, sviluppo, assistenza tecnica e commercializzazione dei prodotti per le Life Sciences, i dispositivi medici e i dispositivi diagnostici in vitro, sono conformi alle normative attualmente in vigore.

ISO 14001 certifica che Euroclone opera nel pieno rispetto dell'ambiente e le sue azioni sono caratterizzati da una forte impronta ecologica.

PR 2050_Saggi Cellulari_ed2_0921

EuroClone®
serving science through innovation

Euroclone SpA Società a Socio Unico
Via Figino, 20/22 - 20016 Pero (MI)
Tel. +39 02.381951 - +39 02.38101465
info@euroclone.it - www.euroclone.it

Quality Management System Certified to ISO 9001
and ISO 13485 international standard



**PER RICHIEDERE UN PREVENTIVO
CONTATTA IL TUO AGENTE DI ZONA**

Per vedere l'intero portafoglio prodotti visita il sito
www.euroclone.it