

Prova pratica a vista, quesito 2

Procedura per la registrazione elettrofisiologica

- 1. Descrivere quale delle soluzioni messe a disposizione andrebbe ad utilizzare nelle diverse fasi della procedura sperimentale.
 - Nel caso della pulizia di una matrice di elettrodi quale soluzione userebbe?
 - Nel caso di preparazione alla piastratura delle cellule su un substrato di coltura quale soluzione userebbe?
 - Nel caso di una registrazione intracellulare quale soluzione userebbe per riempire il capillare di registrazione?
 - Quale soluzione utilizzerebbe per ricoprire il filamento dell'elettrodo di registrazione con uno strato di AgCl e quale procedura seguirebbe?
 - -Nel caso di una registrazione extracellulare su microchip quale soluzione userebbe come mezzo di registrazione?
 - Se una volta collegato ed inserito l'elettrodo di registrazione, vedesse che il segnale non è stabile e fluttua su un'ampia scala, quali sono le prime cose che le verrebbe in mente di controllare?

Soluzione 1: KCl 3M

Soluzione 2: Candeggina

Soluzione 3: Tichopur R33

Soluzione 4: (in mM): 135.0 NaCl, 5.4 KCl, 1.0 MgCl2, 1.8 CaCl2, 10.0 glucose, 5.0 HEPES

Soluzione 5: 140.0 KCl, 2.0 MgCl, 5.0 EGTA, 5.0 HEPES

Soluzione 6: 10 µg/ml poly-L-lysine in L15 medium supplemented with 5% FBS

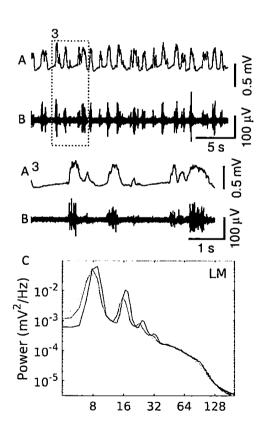
Soluzione 7: DMEM with GlutaMAX-1, supplemented with 10% FBS, 1 u/ml penicillin, and 1 µg/ml streptomycin



Prova pratica a vista, quesito 1

Analisi di tracciati sperimentali di registrazione elettrofisiologica.

1. Analizzare le caratteristiche delle registrazioni elettrofisiologiche riportate in figura.



- indicare se si tratta di registrazioni intracellulari o extracellulari
- indicare la relazione tra il tracciato A e quello B
- indicare dei possibili filtri in frequenza con cui ottenere il tracciato A e il tracciato B
- che cosa rappresenta il grafico indicato come C
- è ragionevole concludere che il grafico in C corrisponda al tracciato in A



Prova pratica a vista, quesito 3

Disegno di una configurazione sperimentale di acquisizione

- 1. Descrivere gli elementi fondamentali da considerare in una configurazione di acquisizione sperimentale inserendo i componenti elencati in un diagramma funzionale.
 - il segnale elettrofisiologico e' di tipo analogico. Quale componente fondamentale tra quelli indicati è richiesto per la sua visualizzazione in un'interfaccia software?
 - in un esperimento di current o voltage clamp, esiste un controllo attivo della corrente o del potenziale di membrana. Quale/i componente/i devono essere utilizzati per tenere sotto controllo questo parametro sperimentale?
 - una volta collegate le connessioni richieste per la registrazione ci si rende conto che il segnale risente in modo eccessivo di rumore elettrico introdotto dalle alimentazioni degli apparecchi presenti nella configurazione. Quale componente andrebbe ad esaminare per ridurre il problema?
 - durante la registrazione da una matrice di elettrodi ci si rende conto che alcuni degli elettrodi non rispondono o che mostrano dei segnali fluttuanti. Quale strumento andrebbe ad utilizzare per valutare la funzionalità del sistema?
 - Quali componenti sono fondamentali per il processo di acquisizione dei segnali?

Componente 1: amplificatore

Componente 2: elettrodo di riferimento

Componente 3: messa a terra del sistema di registrazione nel suo complesso

Componente 4: sistema conversione analogico digitale

Componente 5: canali analogici di output Componente 6: canali analogici di input Componente 7: canali digitali di output

Componente 8: sistema per misura dell'impedenza

Componente 9: elettrodo di registrazione