

Università degli Studi di Padova – Dipartimento di Ingegneria Industriale
Corso di Laurea in Ingegneria Chimica e dei Materiali

Relazione per la prova finale

«Realizzazione di matrici per modelli di tessuto tumorale»

Tutor universitario: *Prof.ssa Monica Dettin*

Laureando: *Alessandro Burtini*

Padova, 9 Luglio 2024

INGEGNERIA TESSUTALE



Medicina rigenerativa

- Rigenerazione di tessuti danneggiati



Ingegneria + Scienze della Terra



- ✓ Tessuti
- ✓ Organi



Modelli *in vitro*

- Studio fisiologia e fisiopatologia



Scaffold 3D \approx Tessuti nativi



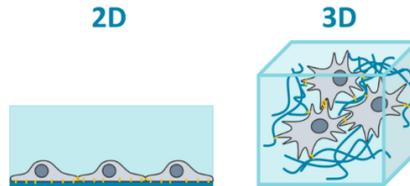
COLTURE CELLULARI

Bidimensionali *in vitro*

- ✗ Ambiente tridimensionale fisiologico delle cellule

Sperimentazione animale *in vivo*

- ✗ Costo elevato
- ✗ Tempi lunghi
- ✗ Problemi etici



Tridimensionali *in vitro*

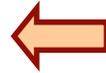
- ✚ Mimare architettura cellulare *in vivo*

SCAFFOLD

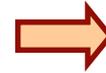
- ✓ Fungono da ECM;
- ✓ Stabilità meccanica;
- ✓ Porosità → adesione, proliferazione, migrazione cellulare e diffusione di nutrienti;
- ✓ Permeabilità.



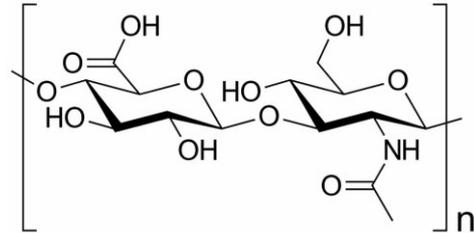
ACIDO IALURONICO (HA)



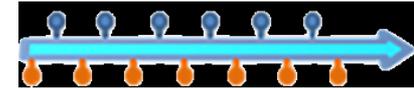
BIOMATERIALI



PEPTIDI AUTOASSEMBLANTI



AEAEAKAKAEAEAKAK

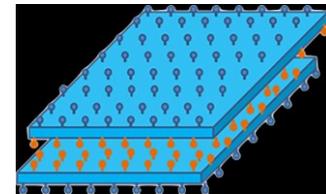


- Polisaccaride lineare
- Componente fondamentale del nostro corpo
- Necessità di esterificazione o reticolazione



- Sequenza specifica di amminoacidi → EAbuK-IKVAV
- Auto-assemblaggio

MODELLI DI MATRICI



MATRICI A BASE DI HA

HA + PEPTIDI

1. HA e peptide in acqua MilliQ
2. Azoto liquido e liofilizzazione
3. Reticolazione con EDC in Etanolo
4. Lavaggi
5. Liofilizzazione



solo HA

➤ Procedimento analogo



Variano le dosi iniziali

REALIZZAZIONE DELLE MATRICI

➤ Giorno 1: Solubilizzazione, pesata pozzetti e liofilizzazione

- ✓ 12 mL MilliQ; 144 mg HA; 7,2 mg SAP
- ✓ 30 pozzetti con 320 mg di soluzione



Solubilizzazione → Unione soluzioni → Pesata pozzetti → Riposo (min.1h) →
→ Azoto liquido → Liofilizzazione

➤ Giorno 2: Reticolazione

- Controllo (idratazione se necessaria) → Preparazione soluzione con EDC →
→ Reticolazione → Riposo (parafilm)

Formula per calcolare la quantità di EDC → $m_{EDC} = V_{SOL} * PM_{EDC} * C_{EDC}$

➤ Giorno 3: Lavaggi: rimozione EDC, tossico per le cellule

↳ 6 lavaggi con Etanolo → 6 lavaggi con acqua MilliQ → Riposo

➤ Giorno 4: Liofilizzazione

↳ Rimozione completa scarto dai pozzetti → Azoto liquido → Liofilizzazione

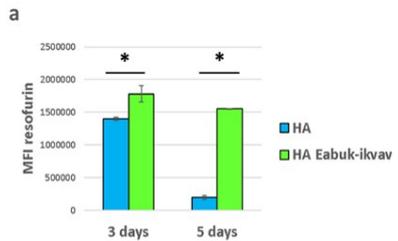
➤ Giorno 5: Ultimo lavaggio

➤ Giorno 6: Fase finale, ulteriore liofilizzazione

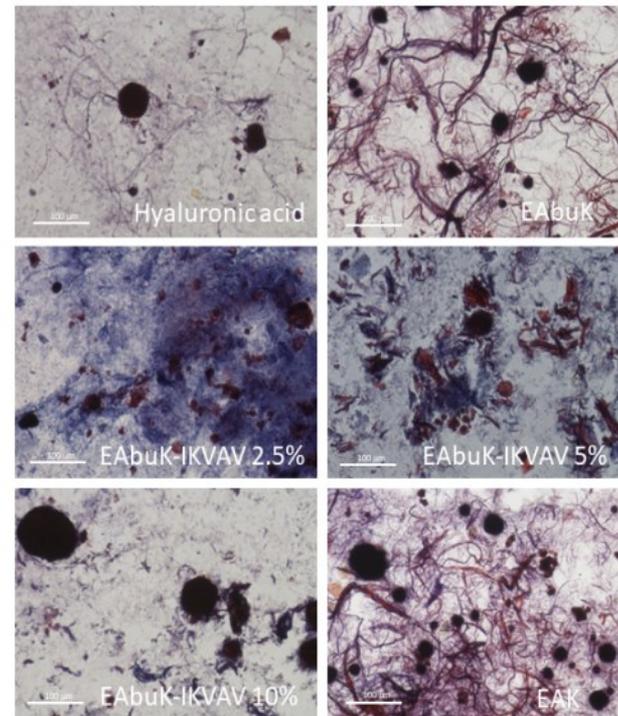
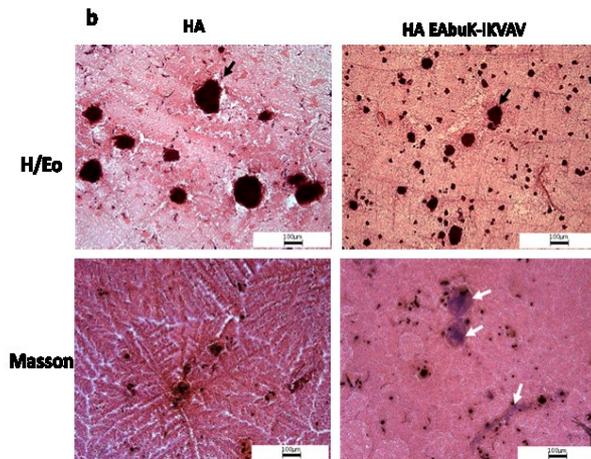
➤ Giorno 7: Risultato



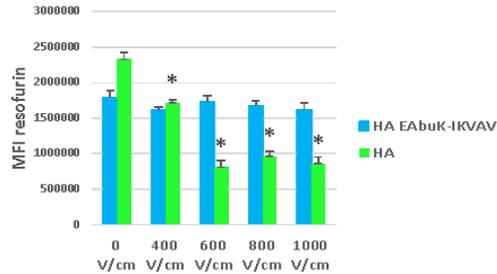
SAGGI BIOLOGICI



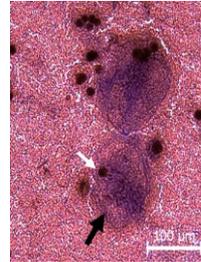
- ✓ Vitalità cellulare
- ✓ Morfologia extracellulare



ELETTROPORAZIONE

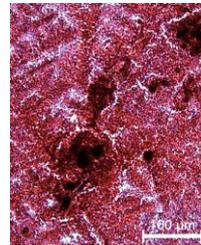


HA-EAbuk-IKVAV culture



3D IKVAV

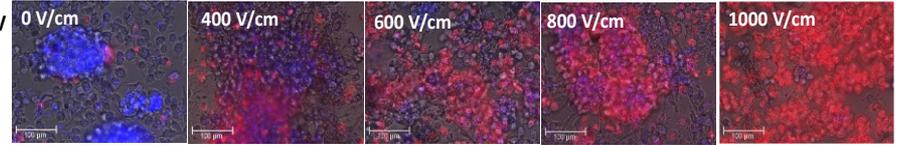
collagen
cell
HA culture



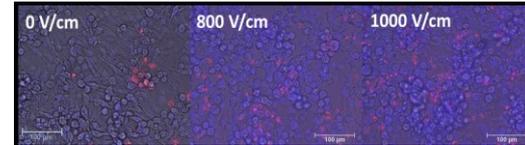
No collagen

SKMEL28

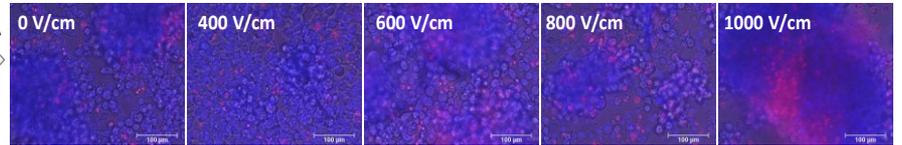
Cell diameter ~18 μm



2D DMEM



3D HA



CONCLUSIONI

Esigenza di trovare un modello di tessuto tumorale *in vitro* che sia il più possibile simile al microambiente tumorale *in vivo*



Realizzazione delle matrici



Dai saggi biologici è emerso che:

- ✓ struttura nano fibrosa dei peptidi auto-assemblanti sembra essere più importante della sequenza adesiva per sostenere la proliferazione cellulare;
- ✓ l'innesto della sequenza adesiva permette di ottenere sferoidi di maggiore dimensione;
- ✓ presenza dei peptidi auto-assemblanti comporta un aumento della componente filamentosa di collagene.



Matrici idonee



GRAZIE PER L'ATTENZIONE