# microscopie

Anno IX - n. 2 (18) - Settembre 2012

Attività SISM 2012 Dreiländertagung MC 2013 Ernst Ruska Prize 2013

SIE

Società Italiana Scienze Microscopiche

www.sism.it

# Enabling discovery



Exploring alternative energy sources and storage solutions. Discovering new materials with lighter weight and greater strength. Resolving global challenges through increased understanding of chemical reactions, catalysts and nanomaterials. FEI's Research customers are working to build a better future through comprehensive knowledge of both man-made and natural substances. By studying material interfaces, observing reactions of materials under different environmental influences, and quantifying elemental composition and distribution, they are making the contributions that are having a positive impact throughout the world. Whether working at sub-micron or sub-Ångström scales, investigating the limits of material structure and properties, or performing routine imaging and analysis, FEI's Research customers are making a difference.

www.fei.com/research

**FEI**<sup>™</sup> Explore. Discover. Resolve.

# SOCIETÀ ITALIANA SCIENZE MICROSCOPICHE

Presidente AMELIA MONTONE

via Campi 213/a Modena

Microscopiche

Editore

Stampa

Editing

http://www.sism.it

PIME Editrice srl

via Vigentina 136

27100 PAVIA. Italy

VAT no. 00280810185

E-mail: info@pagepress.org

Direttore Responsabile Manuela Malatesta

Comitato di Redazione

Tel.: +39.059.2055232 - Fax: +39.059.2055600 E-mail: andrea.tombesi@unimore.it

Organo Ufficiale della Società Italiana Scienze

via Vigentina 136, 27100 PAVIA, Italy

E-mail: tipografia@pime-editrice.it

Tipografia PIME Editrice srl

Consiglio Direttivo della Società Italiana Scienze Microscopiche

Phone: +39.0382.572169 - Fax +39.0382.572102

PAGEPress via G. Belli 7, 27100 Pavia, Italy Phone: +39.0382.1751762 - Fax: +39.0382.1750481

# ndice

Presidente AMELIA MONTONE ENEA, Dipartimento Tecnologie Fisiche e Nuovi Materiali C.R. Casaccia via Anguillarese, 301 00123 Roma Tel.: +39.06.30484762/4764 - Fax: +39.06.30483176 E-mail: amelia.montone@enea.it	Editoriale del Presidente	3
Vicepresidenti ROBERTO BALBONI CNR, Istituto per la Microelettronica e i Microsistemi Sez. Bologna via P. Gobetti, 101 40129 Bologna Tel.: +39.051.6399186 - Fax: +39.051.6399216 E-mail: baboni@bo.imm.cnr.it	Verbale del CD di Gennaio 2012 Attività promosse dalla SISM nel 2012 Resoconto della Giornata di Studio SISM di Pula	4 7 15
ELISABETTA FALCIERI Dipartimento di Scienze dell'Uomo, dell'Ambiente e della Natura (DiSUAN), Università degli Studi di Urbino Campus Scientifico - Località Crocicchia 61029 Urbino (PU) Tel.: +39.0722.304284 - Fax: +39.0722.304244 E-mail: elisabetta.falcieri@uniurb.it	Notizie Eventi nazionali Eventi internazionali EMS News	16 24
Direttore responsabile del bollettino MANUELA MALATESTA Dipartimento di Scienze Neurologiche, Neuropsicologiche, Morfologiche e Motorie, Sezione di Anatomia e Istologia Università degli Studi di Verona strada Le Grazie, 8 37134 Verona TeL: +39.045.8027157/8425115 - Fax: +39.045.8027163 E-mail: manuela.malatesta@univr.it	EMS Newsletter October 2011 EMS Newsletter February 2012 EMS Newsletter May 2012 Contributi scientifici	34 45 36
Consiglieri CRISTIANO ALBONETTI Istituto per lo Studio dei Materiali Nanostrutturati (ISMN) - CNR via P. Gobetti 101, 40129 Bologna	The role of $\alpha$ -actinin in Z-disks assembly: a morphological point of view V. Baldassarri, S. Salucci, P. Ferri, E. Falcieri, S. Burattini	37
Tel.: +39.051.6398531/6398523/6398526 Fax: +39.051.6398540 E-mail: c.albonetti@bo.ismn.cnr.it	Diaminobenzidine photoconversion allows detection of fluorescently-labelled nanoparticles at transmission electron microscopy after embedding in epoxy and acrylic resins	45
RITA MUSETTI Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Udine via delle Scienze, 208 33100 Udine Tel.: +39.0432.558521 - Fax: +39.0432.558600 E-mail: rita.musetti@uniud.it	<i>B. Cisterna, M. Costanzo, M. Giagnacovo, V. Galimberti, M. Malatesta, C. Zancanaro</i> Atomic structure and crystallographic shear planes in epitaxial TiO <sub>2</sub> anatase thin films	50
ANDREA TOMBESI CIGS, Centro Interdipartimentale Grandi Strumenti Università di Modena e Reggio Emilia	R. Ciancio, A. Vittadini, A. Selloni, C. Aruta, U. Scotti di Uccio, G. Rossi, E. Carlino	

### **ISCRIZIONE**

Possono iscriversi alla Società i ricercatori e gli operatori professionali comunque attivi nel campo delle diverse microscopie. Per l'iscrizione alla Società è necessario compilare la richiesta di associazione ed inviarla al Presidente. La scheda di associazione può essere compilata direttamente sul sito web della società all'indirizzo www.sism.it oppure può essere reperita in questo periodico ed inviata via fax. Le richieste verranno valutate dal Consiglio Direttivo nella prima riunione utile e l'ap-provazione dei nuovi Soci sarà comunicata personalmente agli interessati. Dopo tale comunicazione il nuovo socio può procedere al pagamento della quota sociale secondo le modalità riportate sotto.

### QUOTA SOCIALE

La quota sociale è di euro 35 per i soci ordinari e di euro 25 per i non strutturati. I soci non strutturati, unitamente alla quota sociale, dovranno far pervenire al Presidente della Società una dichiarazione attestante il proprio status. Modalità di pagamento:

- a) mediante carta di credito dal sito www.sism.it
- b) mediante invio di un assegno bancario non trasferibile intestato a S.I.S.M.
- l'assegno deve essere spedito alla Dott.ssa Amelia Montone, ENEA, Dipartimento Tecnologie Fisiche e Nuovi Materiali, C.R. Casaccia, Via Anguillarese, 301 - 00123 Roma
- c) mediante bonifico bancario intestato a S.I.S.M. codice IBAN IT44V010053888000000023074 Presso BNL-Anguillara S. Causale: "NOME del SOCIO"

### SEDE SOCIALE

Dott.ssa Amelia Montone ENEA, Dipartimento Tecnologie Fisiche e Nuovi Materiali C.R. Casaccia, Via Anguillarese 301, 00123 Roma Tel +39.06.30484762/4764 Fax +39.06.30483176 E-mail: amelia.montone@enea.it P.IVA 05089821002 C.F. 801 C.F. 80181630155

In copertina: Mioblasti in coltura di Valentina Baldassarri e collaboratori

Aut. Trib. n. 688 S.P. del 26 marzo 2008

# SOCIETÀ ITALIANA SCIENZE MICROSCOPICHE

# Richiesta di associazione

Si ricorda che le richieste di associazione verranno valutate dal Consiglio Direttivo e l'approvazione dei nuovi Soci verrà comunicata personalmente agli interessati.

Il pagamento della quota di associazione deve essere effettuato solo dopo il ricevimento della comunicazione dell'approvazione, da parte del Direttivo, della richiesta di associazione.

Il sottoscritto rischiede l'ammissione alla SISM in qualità di: □ Socio ordinario (35 euro)

□ Socio non strutturato (25 euro)

Titolo, Nome e Cognome

Data di nascita					
Titolo di studio e qualifica	ı				
Tipo di istituzione					
Università	CNR	🖵 Industria		☐ Altro ente pubblico di ricerca	
Istituto/Ente/Ditta					
Dipartimento					
Indirizzo					
Città			CAP		
Telefono			Fax	E-mail	
Indirizzo cui inviare la cor	rrispondenza, se di	verso dal preceden	te		
Settore di attività					
□ Biomedico	🗅 Scienza dei ma	teriali	Commerciale	□ Altro (specificare)	
Come deliberato nell'As Questi stessi dati saran EMS per distribuire il N l'Annuario dei Soci EMS Se si desidera che i prop Chiedo che il mio indi Chiedo che il mio num	semblea Generale to pertanto automa otiziario in forma e 5. pri dati personali n irizzo privato non e nero di telefono/fa	del 24/09/2001 ogni aticamente inviati a elettronica, per ann on compaiano nell' compaia nell'annua x non compaia nell	Socio SISM è anche Socia nche all'EMS, di cui la SIS unciare informazioni impo annuario EMS, selezionare rio EMS 'annuario EMS	o EMS. SM fa parte. I dati dei Soci sono utilizzati dalla Segreter ortanti come Congressi, Corsi, Scuole e per pubblicare e l'apposita opzione.	ia
Data	_			Firma —	

Inviare via fax a:

ENEA, Dipartimento Tecnologie Fisiche e Nuovi Materiali C.R. Casaccia, Via Anguillarese, 301 00123 Roma Tel +39.06.30484762/4764 Fax +39.06.30483176

# **F**ditoriale

# Cari Amici,

si è svolto a Manchester il 15° Congresso dell'EMS dal 16 al 21 settembre 2012. La Conferenza ha visto la partecipazione di oltre 1700 delegati, oltre a diverse centinaia di espositori che hanno animato gli spazi a disposizione delle aziende con una mostra strumentale davvero ricca. L'organizzazione è stata eccellente, anche grazie alla davvero impressionante struttura del Manchester Central; unico neo, gli spazi angusti concessi all'esposizione poster nonostante le ampie disponibilità di superficie. Dal punto di vista scientifico la parte del leone l'hanno ancora fatta le applicazioni degli strumenti di nuova generazione; nonostante ciò vi è ancora la possibilità di vedere presentazioni scientifiche che puntano sullo sviluppo di metodologie di indagine di microscopia. La SISM ha elargito il premio SISM per favorire la partecipazione di giovani e meritevoli ricercatori italiani.

Nel corso del Congresso si è riunito il General Council dell'EMS la cui principale decisione è stata l'assegnazione del prossimo Congresso Europeo che si svolgerà a Lione (Francia), presumibilmente dal 28/08 al 02/09 del 2016. Nel corso della riunione il presidente Paul Midgley ed il segretario Nick Schryvers hanno voluto ringraziare con una targa Marco Vittori Antisari (membro uscente dell'EMS Executive Board) per l'impegno profuso nel sostenere la Società. L'assemblea generale dell'EMS ha sancito che il Microscopy Conference 2013 di Regensburg sarà estensione dell'EMS ed ha eletto il nuovo Executive Board in cui il presidente uscente Paul Midgley sarà sostituito da Roger Wepf (EMEZ ETH Zurich), mentre Nick Schryvers è stato confermato segretario della Società. A Manchester si sono infine brevemente incontrati i rappresentanti delle società del Program Committee del MC2013 di Regensburg per l'organizzazione scientifica delle sessioni della Conferenza. Sul sito (http://www.mc2013.de/) potete già trovare moltissime informazioni ed i topic che sono stati accuratamente selezionati da tutti i Membri dello Scientific Program Committee; a questo proposito vorrei aggiungere che è stata organizzata una riunione tra i Presidenti delle Società che parteciperanno alla conferenza proprio a Regensburg: è stata un'ottima occasione per vedere la location del Congresso e per ammirare la città, davvero passeremo là una settimana piacevole!

Per quanto riguarda l'IMC 2014, l'International Microscopy Congress che si terrà a Praga (*www.imc2014.com*), si stanno già raccogliendo le proposte per *chairman* ed *invited speaker*.

Sono già conclusi due degli eventi SISM organizzati nel 2012 e gli altri due si terranno in questi ultimi mesi dell'anno, all'interno della Rivista sono presenti i resoconti delle attività svolte ed i programmi degli eventi in corso.

Con rammarico devo comunicarvi che meno della metà dei Soci sono in regola con il pagamento delle quote associative, vi ricordo che i Soci morosi da oltre due anni sono considerati decaduti dalla Società e questo comporta la cancellazione dall'elenco dei Soci SISM e dall'elenco dei Soci EMS, vi prego quindi di mettervi in regola al più presto per permettere alla Società di continuare a pagare quanto dovuto al'EMS e all'IFSM.

Nell'ultima riunione del Consiglio Direttivo abbiamo iniziato a valutare le possibili iniziative SISM 2013, e attendiamo con piacere anche altri suggerimenti o proposte!

Ringrazio, infine, il Consiglio Direttivo per l'ottimo lavoro svolto e le Ditte che ci hanno supportato.

Buon lavoro!

Amelia Montone

# Consiglio direttivo della SISM

# Verbale della riunione del 17 gennaio 2012

Dipartimento di Scienze Anatomiche Umane, Via Irnerio 48, Bologna

Il giorno 17 gennaio 2012, alle ore 11:00, presso il Dipartimento di Scienze Anatomiche Umane, aula C, in Via Irnerio 48, a Bologna è convocata una riunione del Consiglio Direttivo SISM, per discutere il seguente OdG:

- 1. Approvazione del verbale della riunione precedente.
- 2. Risultati elezioni rinnovo componenti CD 2012-2013.
- 3. Nomine dei Vicepresidenti e del Direttore Responsabile della Rivista.
- 4. Responsabile sito web.
- 5. Situazione economica della Società.
- 6. Attività SISM 2012.
- 7. Rivista Microscopie e sito web.
- 8. Premio SISM 2012.
- 9. Vincitori dei Premi Carla Milanesi.
- 10. Approvazione ammissione nuovi Soci.
- 11. Varie ed eventuali.

Sono presenti: Amelia Montone, Roberto Balboni, Elisabetta Falcieri, Manuela Malatesta, Rita Musetti e Andrea Tombesi. Assenti giustificati: Cristiano Albonetti. Presiede Amelia Montone; svolge le funzioni di segretario verbalizzante Roberto Balboni.

- 1. Il verbale della riunione del Direttivo del 5 settembre 2011 viene approvato all'unanimità.
- 2. Il Direttivo prende atto dei risultati della elezione alle cariche sociali. Per la carica di Presidente risulta eletta Amelia Montone, mentre sono eletti alle cariche di Consiglieri Andrea Tombesi, Elisabetta Falcieri, Roberto Balboni, Manuela Malatesta, Cristiano Albonetti e Rita Musetti.
- 3. Il direttivo riconferma Elisabetta Falcieri e Roberto Balboni alla vicepresidenza e Manuela Malatesta quale responsabile della rivista "Microscopie".
- 4. R. Balboni sarà il nuovo responsabile del sito web della Società.
- 5. Il Presidente Montone relaziona sulla situazione economica della società. Le entrate sono sostanzialmente costituite dalle sponsorizzazioni delle Ditte, dalle quote dei soci e dalle iscrizioni alle scuole e corsi; in quest'ultimo anno un'ulteriore entrata prevista è legata al congresso svoltosi ad Urbino. Non vi sono state uscite al di fuori di quelle ordinarie legate all'attività della società, quali le spese

per la rivista, i premi e le borse e la contabilità ordinaria. Per quanto riguarda il congresso di Urbino, il bilancio non è ancora stato chiuso sia a causa di ritardi dovuti alla società Italymeeting che per problemi normativi relativi alla tracciabilità dei pagamenti con le istituzioni. Il Congresso si è comunque chiuso con un buon attivo, che ha permesso di aggiornare il campus scientifico universitario con nuove attrezzature.

6. La Società prevede le seguenti attività per l'anno 2012.

- Una Scuola di microscopia confocale organizzata da E. Falcieri a Urbino nel mese di dicembre, presumibilmente nei giorni 13 e 14. La scuola avrà un taglio applicativo e tratterà la microscopia confocale applicata al citoscheletro. Si pensa di utilizzare il campus universitario con inizio il pomeriggio e prosecuzione il giorno dopo.

- R. Balboni conferma l'organizzazione della scuola TEM in Scienza dei materiali, prevista per novembre 2012 a Bologna. Il programma è in corso di definizione; vi è l'intenzione di mantenere la formula su due settimane (la seconda settimana a febbraio 2013) e di riconsiderare il programma ed il taglio delle lezioni per farne una scuola di base rivolta a chi si approccia al TEM nel campo dei materiali.

- Corso Base integrato di microscopia confocale e microscopia elettronica in trasmissione organizzato da A. Tombesi a Modena il 12-14 settembre 2012. Si tratterà di un corso articolato in tre giornate, prevalentemente rivolto all'ambiente biomedico.

- Giornate di studio su Le Microscopie e i beni culturali Organizzata da S. Podda (CRS4, Sardegna Ricerche) in Località Piscina Mannu - Pula (CA). L'iniziativa si svolgerà il 19 giugno e si propone di approfondire l'utilizzo di SEM e TEM nel campo della conservazione e restauro del patrimonio artistico.

- 7. Il sito web e la Rivista dovranno aggiornare i riferimenti relativi ai nuovi consiglieri. Verranno pubblicati sulla rivista 'Microscopie' gli articoli dei vincitori del premio C. Milanesi.
- 8. Il Direttivo delibera che il Premio SISM per l'anno 2012 consisterà in un contributo di partecipazione al European Microscopy Congress 2012, EMC2102, che si svolgerà a Manchester UK, dal 16 al 21 settembre 2012. Si delibera altresì che la scadenza del bando è fissata alla stessa data di scadenza di presentazione degli abstract per il congresso, attualmente fissata per il 16 marzo 2012. Il premio sarà costituito da due borse di 1000 € ciascuna, una per il settore biomedico e una per il settore scienza dei materiali.
- 9. Il CD proclama vincitori del Premio Carla Milanesi Settore Biomedico: Marzia Giagnacovo Settore Materiali: Alessandro Gambardella.
- 10. Il Consiglio Direttivo approva l'ammissione dei soci: Dott.ssa Ing. Simona Podda Dott.ssa Elena Sonia Olivetti Dott. Rolando Pedicini Dott. Rolando Pedicini Dott.ssa Ing. Eleonora Santecchia Dott. Nicolò Mazzucco Dott. Federico Barella Dott. Francesco De Angelis Dott.ssa Bruna Sinjari Dott.ssa Stefania Carapezzi Dott. Albert Minj Dott.ssa Alice Scarpellini Dott.ssa Maria Longobardi
- 11. Elisabetta Falcieri ha richiesto il patrocinio per il XXII Incontro Annuale Del Gruppo Italiano di Patologia Ultrastrutturale SIAPEC-IAP (GIPU), Urbino, 29-30 Giugno 2012, il CD approva.

Si propone di poter effettuare riunioni del Direttivo in teleconferenza in casi in cui si renda necessaria una riunione in tempi brevi.

Il Presidente relaziona circa lo stato dell'organizzazione dei congressi di Manchester 2012 e Regensburg 2013.

Alle ore 14:30, null'altro essendovi da deliberare, il Presidente dichiara chiusa la seduta. Il Consiglio Direttivo è stato aperto ai Rappresentanti delle Ditte per illustrare le iniziative e le attività del 2012.

Amelia Montone Roberto Balboni Elisabetta Falcieri Manuela Malatesta Rita Musetti Andrea Tombesi

# Elenco delle attività promosse dalla SISM nel 2012

1. Scuola teorico-pratica "Pier Giorgio Merli" di Microscopia Elettronica in Trasmissione in Scienza dei Materiali

Istituto CNR-IMM Bologna, novembre 2012 - febbraio 2013

La scuola, organizzata congiuntamente dalla SISM e dal CNR-IMM di Bologna, si rivolge a ricercatori e microscopisti che desiderano acquisire una qualificata introduzione alle tecniche di microscopia elettronica in trasmissione applicata alla Scienza dei Materiali. Oltre ai principi di funzionamento dello strumento, ai partecipanti verrà fornito un quadro teorico di base della disciplina ed una descrizione delle principali applicazioni nell'indagine strutturale ed analitica. Gli argomenti trattati comprendono: ottica e diffrazione elettronica, teoria del contrasto, risoluzione atomica con tecniche di imaging coerenti (HREM) e incoerenti (STEM con rivelatore HAADF), olografia elettronica, tecnica CBED, metodi analitici (EDX e EELS). La scuola sarà strutturata in una parte teorica, durante la prima settimana (prevista per novembre 2012), ed una parte pratica la seconda settimana (febbraio 2013). Durante la parte pratica i partecipanti avranno la possibilità di operare direttamente allo strumento utilizzando le metodologie trattate teoricamente; nella parte pratica è anche prevista una sezione dedicata alla preparazione dei campioni.

Sarà possibile la partecipazione all'intero corso, o alla sola parte teorica. Per informazioni: Dr. Roberto Balboni (balboni@bo.imm.cnr.it), Dr. Andrea Parisini (parisini@bo.imm.cnr.it)

# 2. Workshop teorico-pratico "La microscopia confocale nello studio del citoscheletro" Campus E. Mattei, Urbino, 13-14 dicembre 2012

L'evento, organizzato dalla SISM, con il supporto del Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente dell'Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo", si svolgerà il 13 e il 14 dicembre 2012 presso il campus E. Mattei di Urbino.

Il citoscheletro, come è noto, è un argomento di carattere trasversale e di ampio interesse, che riveste una sempre maggiore importanza sia nella ricerca biomedica di base che in numerosi ambiti più specifici. La presenza, inoltre, in commercio, di un numero sempre più alto di validissimi anticorpi monoclonali, oltrechè di una grande varietà di fluorocromi, ne permette una crescente caratterizzazione in microscopia confocale. Il Workshop si articolerà in una parte pratica, dedicata ai metodi di preparazione per la microscopia confocale, alle caratteristiche dei vari fluorocromi, all'analisi e all'elaborazione dell'immagine nonchè all'osservazione di campioni dedicati. Inoltre, relatori di indiscussa autorevolezza illustreranno, nell'Aula Magna del Campus, i loro dati più recenti sulle più note componenti citoscheletriche. Il Workshop è dedicato a ricercatori di varia provenienza e di interesse biomedico, con particolare attenzione al ruolo del citoscheletro. La SISM si riserva di proporre quote di iscrizione molto basse e differenziate, oltrechè comprensive del pernottamento/prima colazione nelle stanze delle residenze universitarie.

Per informazioni: Prof. Elisabetta Falcieri (elisabetta.falcieri@uniurb.it)

Scuola teorico-pratica "Pier Giorgio Merli" di Microscopia Elettronica in Trasmissione in Scienza dei Materiali

# Cari colleghi,

la Scuola TEM "Piergiorgio Merli" 2012 in Scienza dei Materiali, organizzata dall'Istituto CNR-IMM di Bologna e dalla SISM, è giunta alla sua quarta edizione. Il successo delle precedenti edizioni ci ha spinto a confermare la suddivisione della scuola in due settimane, la prima, dedicata alla teoria alla base di questa tecnica d'indagine si svolgerà presso l'Area della Ricerca del CNR di Bologna dal 19 al 23 Novembre 2012 e la seconda, dedicata ad esercitazioni pratiche al microscopio elettronico con sorgente Schottky in dotazione al nostro Istituto, si svolgerà nella stessa sede dal 4 al 8 Febbraio 2013.

È ancora possibile effettuare l'iscrizione direttamente sul sito SISM (www.sism.it) oppure inviando la scheda d'iscrizione per e-mail a Roberto Balboni o Andrea Parisini o via fax al n. 051.6399216. La brochure con le informazioni relative al calendario della Scuola e alle modalità di iscrizione è scaricabile sullo stesso sito, cosí come sul sito della Scuola.

La scuola si rivolge a ricercatori e microscopisti che desiderano acquisire una qualificata introduzione alle tecniche di microscopia elettronica in trasmissione applicata alla Scienza dei Materiali, fornendo un quadro teorico di base della disciplina e una descrizione delle principali applicazioni nell'indagine strutturale ed analitica. Tra gli argomenti trattati vi sono diffrazione elettronica a fascio parallelo e convergente (CBED), risoluzione atomica con tecniche coerenti (HREM) e incoerenti (HAADF-STEM), olografia elettronica e metodi analitici (EDS e PEELS). Gli studenti che parteciperanno alla parte pratica opereranno al microscopio *TECNAI F20* sotto la guida dei docenti, per esercitarsi nell'applicazione pratica delle nozioni acquisite durante la prima parte della Scuola. Sarà inoltre mostrato l'utilizzo di programmi di simulazione e di elaborazione dei dati sperimentali, indispensabile corredo di numerose tecniche di indagine.

Durante la settimana teorica, nel pomeriggio di giovedì 22 novembre, sarà organizzata una tavola rotonda dal titolo "Microscopia elettronica, divulgazione scientifica e politica della ricerca" attualmente in preparazione, aggiornamenti sull'iniziativa verranno pubblicati sul sito della scuola appena disponibili.

Un cordiale saluto...

Roberto Balboni e Andrea Parisini



# Scuola di Microscopia Elettronica "Pier Giorgio Merli"



# Corso Teorico Pratico di Microscopia Elettronica in Trasmissione in Scienza dei Materiali

Bologna, Area della Ricerca del CNR

19 - 23 Novembre 2012 Corso teorico

4 - 8 Febbraio 2013 Corso pratico

Direttori: Roberto Balboni Andrea Parisini

**Docenti:** Aldo Armigliato, Roberto Balboni, Gianluca Calestani (Univ. Parma), Franco Corticelli, Giorgio Lulli, Andrea Migliori, Vittorio Morandi, Giuseppe Nicotra, Luca Ortolani, Andrea Parisini.

> Scuola Organizzata dall' IMM Sezione di Bologna e dalla Società Italiana di Scienze Microscopiche (SISM)



La scuola avrà una durata di due settimane e si rivolge a ricer-catori e microscopisti che desiderano acquisire una qualificata introduzione alle tecniche di microscopia elettronica in tras-missione applicata alla scienza dei materiali. Ai partecipanti verrà fornita una descrizione dello strumento ed un quadro teorico di base della disciplina e una descrizione delle principali applicazioni nell'indagine strutturale ed analitica. Gli arpari applicazioni nel integne strutturale dei antica. Gia ar-gomenti trattati saranno: ottica e diffrazione elettronica, ele-menti di cristallografia, teoria del contrasto, risoluzione at-omica con tecniche di imaging coerenti (HREM) e incoerenti (STEM con rivelatore HAADF), olografia elettronica, tecnica CBED, metodi analitici EDS e EELS. La scuola sarà strutturata in una parte teorica, durante la prima settimana, ed una parte partica la seconda scittimana. comerandenta apphe ul'intra pratica la seconda settimana, comprendente anche un'intro-duzione alla preparazione dei campioni. Sarà possibile la partecipazione all'intero corso, o alla sola parte teorica, ma non alla sola parte pratica.

Durante la parte pratica gli studenti potranno operare al mi-croscopio TECNAI F2OT sotto la guida dei docenti, per esercitarsi nell'applicazione pratica delle nozioni acquisite durante la prima parte della Scuola. Saranno inoltre illustrati programmi di simulazione e di elaborazione dei dati sperimentali, indispensabile corredo di numerose tecniche di indagine. A richiesta sarà possible effettuare un test finale di valutazione dell'apprendimento per il riconoscimento di Crediti Formativi Universitari.

La scuola è initiolata a Pier Giorgio Merli, per rendere omaggio all'eccezionale impegno che Pier Giorgio, valente scienziato nel campo della Microscopia Elettronica e Presidente della Società Italiana di Microscopia Elettronica dal 1984 al 1987. ha sempre profuso nell'insegnamento e nella diffusione di questa disciplina, con le numerosissime scuole e iniziative di cui è stato promotore.

### Lun

Ma

edi 19 Novembre		11:30 - 13:00	Microanalisi a raggi X di film sottili II	
9:00 - 9:30	Registrazione dei partecipanti		(A. Armigliato)	
9:30 - 10:00	Presentazione della Scuola	13:00 - 14:30	Pranzo	
10:00 - 11:30	Strumentazione–Sorgenti elettroniche (A. Migliori)	14:30 - 17:30	Incontro e dibattito su Microscopia Elettronica, divulgazione scientifica e politica della ricerca	
11:30 - 12:00	Pausa caffé			
12:00 - 13:30	Ottica elettronica e danno da radiazione	Venerdi 23 Novembre		
	(G. Lulli) 9:00 - 11		Spettroscopia a perdita di energia degli	
13:30 - 15:00	Pranzo		elettroni (G. Nicotra)	
15:00 - 16:00	Introduzione alla correzione delle aberra-	11:00 - 11:30	Pausa caffé	
	zioni (L. Ortolani)	11:30 - 13:00	Aggiornamenti strumentali: presentazioni	
16:00 - 16:30	Pausa caffé		da parte delle Ditte	
16:30 - 18:30	Elementi di cristallografia (G. Calestani)	13:00 - 14:30	Pranzo	
rtedi 20 Novemb	pre	14:30 - 15:30	Elementi di Olografia Elettronica (L. Ortolani)	
9:30 - 11:00	Interazione elettrone-materia (R. Balboni)	15:20 16:20	Discussione a conclusione della narte	
11:00 - 11:30	Pausa caffé	15:50 - 16:50	teorica.	

11:30 - 13:30 Diffrazione elettronica a incidenza singola e a fascio convergente (R. Balboni)

15:00 - 16:30 Teoria cinematica e dinamica I (A. Migliori)

17:00 - 18:00 Teoria cinematica e dinamica II (A. Migliori)

Pausa caffé

Pausa caffé

(A. Armigliato)

Pausa caffé

Pranzo

Microscopia elettronica ad alta risoluzio-ne I (A. Parisini)

Microscopia elettronica ad alta risoluzio-ne II (A. Parisini)

Microscopia elettronica a scansione in

Microscopia elettronica a scansione in

Microanalisi a raggi X di film sottili 1

trasmissione 1 (V. Morandi)

trasmissione II (V. Morandi)

Pranzo

16:30 - 17:00 Pausa caffé

13:30 - 15:00

Mercoledi 21 Novembre

9:00 - 11:00

11:00 - 11:30

11:30 - 13:00

13:00 - 14:30

14:30 - 16:00

16:00 - 16:30

16:30 - 18:00

Giovedi 22 Novembre 9:30 - 11:00

11:00 - 11:30

Parte pratica 7 -11 febbraio 2011

Gli studenti verranno divisi in due gruppi A e B i quali parteciperanno alternativamente a sessioni al microscopio (M) o a simulazioni (S) al calcolatore. (CB: Coffee Break)

	9	10	11		12	13	14		15	16	17		
Lun 4	М							A Int	troduzione al TEM	СВ	B Introduzione al TEM		
	S							B li alla	ntroduzione diffrazione	СВ	A Introduzione alla diffrazione		
Mar-5 M		A Diffraz	ione El	ettronic	а	1 		B Diffrazione Elettronica			lettronica		
	S	B Indicizzazione diffrazione	СВ	B Pro	grammi per la mulazione	Pranzo		A Ir	ndicizzazione liffrazione	СВ	A Programmi per la simulazione		
Mer 6	М	1	A HREN	1			B HREM		M				
	S	B Simulazione HREM	СВ	B Ir Met. p	ntro STEM / prep. campioni	Pranzo		Pranzo		Simu	A lazione HREM	СВ	A Intro STEM / Met. prep. campioni
Gio 7	М	Î	STEN	A		Pranzo		B STEM		M			
	S	B Prep. campioni TEM	СВ	Prep.	B campioni TEM			Prep.	A campioni TEM	СВ	A Prep. campioni TEM		
Ven 8	м	A EDX		СВ	BE	EDX			Chiusura				
	S	B Elaborazione spett per l'analisi quantita	ri EDS ativa	СВ	A Elaborazion per l'analisi	e spettri EDS P quantitativa		anzo	Corso	6			

# SCHEDA ISCRIZIONE

Cognome:			
Nome:			
Qualifica:			
ndirizzo:			
Tel:	Fax	::	
E-mail:			
	Scuola Teorica		Scuola Teorico-Pratica
	Socio SISM		Non Socio
	Non strutturato		

### DATI PER LA FATTURAZIONE

Per le fatture emesse a persona fisica è necessario fornire indirizzo di residenza e codice fiscale. Per i dipendenti di enti pubblici, al fine di usufruire dell'esenzione iva, è necessario fornire i dati dell'università e/o dipartimento di afferenza)

### INTESTAZIONE

(Ente, Università, Dipartimento o Persona fisica)

INDIRIZZO: .....

......

PARTITA IVA / C.F.

PER INFORMAZIONI

Dott. R. Balboni: balboni@bo.imm.cnr.it Dott. A. Parisini: parisini@bo.imm.cnr.it

# **ISCRIZIONE**

È possibile effettuare l'iscrizione entro il 15 Ottobre 2012, direttamente sul sito <u>www.sism.it</u> oppure inviando la scheda d'iscrizione per e-mail (<u>balboni@bo.imm.cnr.it</u>, parisini@bo.imm.cnr.it) o per fax (051 6339216), unitamente alla copia del versamento della quota d'iscrizione. Le **quote d'iscrizione** comprendono l'accesso ai lavori, il materiale didattico, i coffee breaks e i pranzi alla mensa CNR. È previsto uno sconto del 20% per i soci SISM che risultano iscritti al 30 aprile 2010. È altresí previsto un ulteriore sconto del 30% sulle quote indicate al netto dell'IVA per studenti, dottorandi e personale non strutturato.

# Parte teorica :

Quota completa	€ 700 + IVA
Quota soci SISM	€ 560 + IVA

### Parte teorica e pratica :

Quota completa € 1700 + IVA

Quota soci SISM € 1360 + IVA

A fronte del pagamento sarà rilasciata regolare fattura. Si ricorda che per i dipendenti di Enti Pubblici la quota è esente da IVA (art. 10 DPR 633/72). Le quote d'iscrizione possono essere versate attraverso:

Carta di credito (sul sito www.sism.it)

Bonifico bancario intestato a S.I.S.M:

IBAN: IT44V010053888000000023074

Presso BNL-Anguillara Sabazia (ROMA)

Causale: "Cognome del partecipante+ BOTEM2012"

Assegno bancario non trasferibile intestato a S.I.S.M., da inviare a: Dott.ssa Amelia Montone, ENEA, Dipartimento Tecnologie Fisiche e Nuovi Materiali, C. R. Casaccia,

Via Anguillarese, 301, 00123 Roma

Chi farà richiesta di associazione alla SISM sarà esonerato dal versamento della quota associativa per l'anno 2011.

### INFORMAZIONI LOGISTICHE

Informazioni relative alla logistica ed all'alloggio, possono essere ottenute contattando: Giorgia Giovannini, CNR – IMM Sezione di Bologna Tel: 051 6399143

giovannini@bo.imm.cnr.it

# Microscopia Elettronica, divulgazione scientifica e politica della ricerca

Una riflessione, a partire dall'esperienza delle trasmissioni RAI del 1976, su divulgazione e politica delle infrastrutture di ricerca in Italia.



Nel 1976, **Pier Giorgio Merli, Lucio Morettini** (CNR-LAMEL, oggi IMM) e **Giuseppe Morandi** (Dipartimento di Fisica Università di Bologna) curarono una serie di 4 trasmissioni sulla Microscopia Elettronica per la rubrica "Sapere" della RAI TV.

Le prime tre puntate furono dedicate a divulgare la tecnica e a ripercorrere il suo sviluppo storico, evidenziando il suo stretto rapporto con lo sviluppo della società. Nell'ultima puntata si tenne una tavola rotonda sullo stato della Microscopia Elettronica in Italia, confrontato alla situazione di altri paesi europei.

A oltre 35 anni di distanza riteniamo utile trarre spunto da quella esperienza e dal contesto socio culturale e scientifico in cui si svolse, per proporre una riflessione sull'attualità.

Come sono cambiate motivazioni, modalità e finalità della divulgazione scientifica rispetto ad allora? Che risposta hanno avuto le aspettative relative allo sviluppo della Microscopia Elettronica e delle sue applicazioni ai settori avanzati della ricerca?

Oggi come allora la Microscopia Elettronica italiana ha l'esigenza di rinnovare la strumentazione per rispondere alle richieste che vengono dai settori emergenti della ricerca (allora principalmente la microelettronica, oggi la nanoscienza). Oggi come allora i costi elevati della strumentazione rendono auspicabile una razionalizzazione nell'investimento delle risorse, attraverso la creazione di centri nazionali di eccellenza, dotati delle apparecchiature e delle competenze più avanzate.

Di questi temi e di altri ad essi connessi discuteremo con relatori, ospiti e pubblico:

mercoledì 21 novembre ore 14.30 presso l'Area di Ricerca CNR-INAF di Bologna (Aula 215/216)

L'iniziativa si svolge nell'ambito della Scuola di Microscopia Elettronica in Scienza dei Materiali "**Pier Giorgio Merli**" che si tiene biennalmente presso la sede di Bologna del CNR-IMM. Maggiori dettagli sul sito della Scuola: http://temschool.bo.imm.cnr.it





# Workshop teorico-pratico

# La microscopia confocale nello studio del citoscheletro

Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo" Società Italiana di Scienze Microscopiche Campus Scientifico "Enrico Mattei", via Ca' le Suore 2, Urbino 13-14 dicembre 2012

# MODULO D'ISCRIZIONE

# da far pervenire a **Prof. Elisabetta Falcieri** Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente E-mail: elisabetta.falcieri@uniurb.it **Entro e non oltre il 10 novembre 2012**

# Indicare la modalità di versamento della quota d'iscrizione:

- Degamento con carta di credito, tramite il sito www.sism.it
- Bonifico bancario intestato a: S.I.S.M., IBAN: IT 44 V 01005 38880 0000 00023074, presso BNL di Anguillara Sabazia (ROMA), indicando come causale "Cognome del partecipante + URB"

# Quote d'iscrizione:

Studenti, Dottorandi, Assegnisti e Soci SISM	$100 \in + IVA^*$
Personale strutturato/dipendente	$130 \in + IVA^*$

\* Si ricorda che per i dipendenti di Enti Pubblici la quota è esente da IVA. Ai giovani non strutturati è richiesto di presentare una lettera di certificazione del proprio status.

 $\Box$  (A richiesta) Pernottamento al Collegio Internazionale, con prima colazione  $30 \in$ 

A fronte del pagamento verranno rilasciate regolari fatture.

# Dati per la fatturazione (obbligatorio):

Per le fatture emesse a persona fisica è necessario fornire indirizzo di residenza e codice fiscale personale. Per i dipendenti di enti pubblici, al fine di usufruire dell'esenzione IVA, è necessario fornire i dati dell'università e/o dipartimento di afferenza.

Intestazione (Ente, Università, Dipartimento o Persona fisica)	
Indirizzo	

# Resoconto della Giornata di Studio SISM

# Giornata di Studio "Le microscopie e i beni culturali: Tecniche Applicazioni e Prospettive"

# Pula (CA), 19 giugno 2012 Parco Scientífico e Tecnologico della Sardegna

Direzione scientifica: Amelia Montone (ENEA CR Casaccia), Anna Musinu (Università degli Studi di Cagliari), Simona Podda (Sardegna Ricerche/CRS4)

La giornata, organizzata dalla SISM in collaborazione con il Laboratorio di Telemicroscopia di Sardegna Ricerche e l'Università degli Studi di Cagliari, ha affrontato un tema che oggigiorno sta diventando fondamentale nel campo della conservazione dei beni culturali, ovvero come le diverse tecniche microscopiche e analitiche possono aiutare chi, in forme diverse, si interessa alla tutela del patrimonio culturale. L'incontro ha visto la partecipazione di oltre 40 persone tra tecnici, ricercatori, rappresentanti delle sovraintendenze e studenti.

Sardegna ricerche, ente ospitante e sponsor principale, ha voluto presentare in apertura dei lavori le linee programmatiche del P.O.R. 2007-2013 e i finanziamenti che la Regione Sardegna mette a disposizione per chi intende aprire una attività come spin-off e start up soprattutto nel settore dei beni culturali, punto fondamentale degli obbiettivi.

La prima parte della giornata è stata dedicata alla presentazione dei principi base della microscopia elettronica e delle tecniche utilizzate nell'ambito della conservazione del patrimonio artistico come la microanalisi a raggi x. Gli studenti hanno potuto così conoscere il funzionamento di uno strumento complesso e le sue potenzialità analitiche.

Nella seconda parte si è voluto dare spazio alla presentazione di casi di studio in diversi settori come la caratterizzazione di pigmenti, smalti e i loro leganti, il lapideo, la caratterizzazione di manufatti metallici e l'archeo-botanica. In conclusione è stata presentata una carrellata di tecniche per l'acquisizione e la visualizzazione 3D di siti e reperti archeologici.

Il filo conduttore di tutte le presentazioni è stata la consapevolezza della necessità di un approccio interdisciplinare nell'affrontare lo studio di materiali e reperti. Tutti i relatori hanno sottolineato l'importanza di lavorare in team eterogenei in cui l'archeologo e il restauratore sono affiancati da chimici, geologi e ingegneri non dimenticando il ruolo fondamentale dell'informatica nella elaborazione dei dati raccolti con le diverse tecniche analitiche.

Nello specifico gli argomenti trattati e i relativi relatori sono stati i seguenti:

- Microscopia elettronica a scansione (SEM) e microanalisi a raggi X (EDS)" (A. Montone, ENEA CR Casaccia)
- La microscopia elettronica per lo studio e la conservazione delle opere d'arte: alcuni casi di studio (M.P. Riccardi, UniPv)
- Archeologia e beni culturali in epoca nuragica in Sardegna (G. Tanda, UniCa)
- Utilizzo della microscopia in archeobotanica: identificazione e studio dei resti vegetali del passato (M. Ucchesu, UniCa)
- Diagnostica e restauro dei materiali lapidei: un caso di studio (il Cimitero monumentale di Bonaria) (G. Carcangiu. P. Meloni, UniCa)
- Tecniche di acquisizione 3D di siti e reperti archeologici, visualizzazione e stampa 3D (R. Pintus, CRS4)

Si ringraziano infine le società Assing Spa, Bruker Italia Srl, FEI Company Italia, Gambetti, Jeol Italia, che hanno messo a disposizione materiale illustrativo, presentando le ultime novità sul SEM.

Si ringrazia inoltre il Dott. Cesare Mou, il Dott. Giuseppe Enna e la Dott.ssa Elodia Musu per l'ottima organizzazione e il supporto tecnico.

Simona Podda

# Eventi nazionali

# 2012

**Convegno "Contributi delle microscopie allo studio delle colture cellulari"** Istituto Superiore di Sanità Roma, 8-9 ottobre 2012

Corso teorico-pratico "Aspetti teorici e applicativi della microscopia elettronica e della microanalisi" Bruker Italia Milano, 9-10 ottobre 2012

**50° della Fondazione. IGB Porte Aperte: Raccontare la Scienza** Istituto di Genetica e Biofisica "Adriano Buzzati-Traverso", CNR Napoli, 23 novembre 2012

# 2013

**35° Congresso Nazionale della Società Italiana di Istochimica** S. Margherita di Pula (CA), 12-14 giugno 2013 Informazioni: cmaxia@unica.it, perra@unica.it Eventi nazionali



# Presentazione del Convegno

La letteratura scientifica degli ultimi anni sta confermando che le tecniche microscopiche, sia quelle più semplici e tradizionali e sia quelle più sofisticate ed avanzate, continuano a fornire notevoli e preziosi contributi in numerosi settori della ricerca biomedica. In particolare, molti ricercatori ed operatori del Servizio Sanitario Nazionale che utilizzano modelli sperimentali in vitro per lo svolgimento della propria attività di ricerca e/o di assistenza medica, si avvalgono delle potenzialità applicative delle metodiche morfologico-ultrastrutturali. Attualmente le colture cellulari costituiscono un fondamentale modello sperimentale sia in quanto, molto spesso, rappresentano un valido metodo alternativo alla sperimentazione animale, sia perché costituiscono un modello insostituibile per la comprensione dei meccanismi di azione a livello cellulare e subcellulare. E' necessario, tuttavia, che le cellule in coltura siano ben caratterizzate per quanto riguarda la loro origine istologica, stato di proliferazione, stato di salute, morfologia, parametri fisiologici, ecc. La microscopia ottica e le relative tecniche citochimiche possono fornire un notevole contributo in tal senso. L'impiego delle più sofisticate tecniche di microscopia elettronica può essere, invece, molto utile per lo studio delle modificazioni ultrastrutturali e funzionali a carico dei componenti subcellulari indotte da stati patologici, da esposizione a farmaci o xenobiotici, conseguenti all'induzione di apoptosi, ecc. Infine, l'applicazione di tecniche microscopiche avanzate su modelli cellulari in vitro si sta dimostrando sempre più utile ai fini dell'individuazione dei target cellulari di nuove molecole con promettente attività farmacologia e dell'ottimizzazione dei percorsi diagnostici e terapeutici relativi a numerose patologie.

Il convegno si propone di spiegare i principi di base delle principali tecniche microscopiche, di illustrare le tecniche di preparazione delle cellule in coltura per la loro osservazione in microscopia ottica ed elettronica, di dimostrare le potenzialità applicative delle scienze microscopiche.

### Programma

Lunedì 8 ottobre

- 09.00 Registrazione dei partecipanti
- 09.30 Saluto di benvenuto e introduzione ai lavori Enrico Garaci, Giuseppe Arancia, Stefania Meschini
- 09.45 PRINCIPI DI MICROSCOPIA OTTICA E TECNICHE DI OSSERVAZIONE Davide Di Martino
- 10.45 Coffee break
- 11.15 OSSERVAZIONE AL MICROSCOPIO OTTICO DELLE COLTURE CELLULARI Annarica Calcabrini
- 12.00 MICROSCOPIA A FLUORESCENZA Giacomo Cozzi
- 13.00 Lunch

- 14.00 LIVE CELL IMAGING TECNICHE DI MICROSCOPIA TIME LAPSE Sergio Caserta
- 14.45 LA MICROSCOPIA CONFOCALE A SCANSIONE LASER Tommaso Cerullo
- 15.45 Coffee break
- 16.15 SEMINARIO CONTRIBUTI DELLA MICROSCOPIA CONFOCALE ALLO STUDIO DEI MECCANISMI DI FARMACORESISTENZA DELLE CELLULE TUMORALI Stefania Meschini

# Martedì 9 ottobre

- 09.00 IL MICROSCOPIO ELETTRONICO A TRASMISSIONE (TEM) Andrea Valdrè
- 10.00 OSSERVAZIONE AL MICROSCOPIO ELETTRONICO A TRASMISSIONE DEI COMPONENTI CELLULARI Giuseppe Arancia
- 10.45 Coffee break
- 11.15 IL MICROSCOPIO ELETTRONICO A SCANSIONE (SEM) Marco Vittori Antisari
- 12.00 MICROSCOPIA A SCANSIONE A IONI DI ELIO (HIM) Giulio Lamedica
- 13.00 Lunch
- 14.00 OSSERVAZIONE AL MICROSCOPIO ELETTRONICO A SCANSIONE DELLE CELLULE IN COLTURA Giuseppe Formisano
- 14.45 LA CITOCHIMICA ULTRASTRUTTURALE AL TEM E AL SEM Annarita Stringaro
- 15.30 Coffee break
- 16.00 MICROGRAFIE DIGITALI Andrea Tombesi
- 16.45 SEMINARIO IMPIEGO COMBINATO DI VARIE TECNICHE MICROSCOPICHE IN RICERCHE DI NANOMEDICINA Agnese Molinari
- 17.30 Chiusura del Convegno

# Relatori

Arancia Giuseppe Associazione Italiana di Colture Cellulari, Roma Calcabrini Annarica

Istituto Superiore di Sanità, Roma Caserta Sergio Università Federico II, Napoli **Cerullo Tommaso** 

Leica Microsystems, Milano Cozzi Giacomo Nikon, Firenze

Di Martino Davide Carl Zeiss, Milano

Formisano Giuseppe

Istituto Superiore di Sanità, Roma

Garaci Enrico Presidente Istituto Superiore di Sanità, Roma

Lamedica Giulio Assing, Roma

Meschini Stefania Istituto Superiore di Sanità, Roma

Molinari Agnese Istituto Superiore di Sanità, Roma Stringaro Annarita Istituto Superiore di Sanità, Roma **Tombesi** Andrea Università di Modena e Reggio Emilia, Modena Valdrè Andrea

FEI Italia, Milano

Vittori Antisari Marco ENEA, C.R. Casaccia, Roma

### **RESPONSABILI SCIENTIFICI**

Giuseppe Arancia Associazione Italiana di Colture Cellulari, Roma

Stefania Meschini Dipartimento Tecnologie e salute Istituto Superiore di Sanità, Roma

### SEGRETERIA SCIENTIFICA

Maria Condello Dipartimento Tecnologie e salute Istituto Superiore di Sanità Viale Regina Elena 299 - 00161 Roma Tel.: 0649903610 e-mail: maria.condello@iss.it

Carlo Leonetti Associazione Italiana di Colture Cellulari, Roma e-mail: leonetti@ifo.it

### SEGRETERIA TECNICO-ORGANIZZATIVA

Monica Brocco Dipartimento Tecnologie e salute Istituto Superiore di Sanità Viale Regina Elena 299 - 00161 Roma Tel.: 0649906216 Fax: 0649903096 e-mail: monica.brocco@iss.it

Alessia Medici Dipartimento Tecnologie e salute Istituto Superiore di Sanità Viale Regina Elena 299 - 00161 Roma Tel.: 0649906222 Fax: 0649903096 e-mail: alessia.medici@iss.it

# **INFORMAZIONI GENERALI**

Sede: Istituto Superiore di Sanità, Aula Bovet Ingresso:Viale Regina Elena 299, Via del Castro Laurenziano 10

Destinatari e numero massimo partecipanti Il convegno è destinato prioritariamente al personale del Servizio Sanitario Nazionale e di altri enti di promozione e tutela della salute. Saranno ammessi un massimo di 90 partecipanti.

### Modalità di iscrizione

La quota di partecipazione è di 100 euro per i Soci dell'Associazione Italiana di Colture Cellulari (AICC) in regola con il pagamento della quota annuale e di 150 euro per i non Soci (comprendente la quota associativa all'AICC per l'anno 2013 di 50 euro). La partecipazione è gratuita per i dipendenti dell'Istituto Superiore di Sanità ma

limitata al numero di posti che si renderanno disponibili in seguito all'iscrizione dei partecipanti esterni.

La quota di partecipazione dovrà essere versata mediante bonifico bancario sul c/c nº 614/821752 intestato ad Associazione Italiana di Colture Cellulari c/o Deutsche Bank, Sportello 614 di Marano di Napoli, Via Falcone 59/61, 80016 Marano di Napoli (NA)-codice IBAN: IT63B031043995000000821752

specificando nella causale (iscrizione convegno microscopie di "nome cognome") La domanda di partecipazione, scaricabile dal sito www.iss.it, dovrà essere debitamente compilata, firmata ed inviata alla Segreteria Tecnica per fax (06/49903096) o via e-mail (monica.brocco@iss.it) entro il 10 settembre 2012. Saranno accettate domande di partecipazione fino al raggiungimento della capienza massima dell'aula. L'accettazione della domanda verrà comunicata entro il 20 settembre 2012. Il versamento della quota di partecipazione dovrà essere effettuato entro il 28 settembre 2012 e la relativa ricevuta dovrà essere esibita al momento della registrazione.

### Non sono previsti crediti ECM

### Attestati

Al termine della manifestazione, sarà rilasciato un attestato di partecipazione a chi ne farà richiesta.

Per ogni informazione attinente alla manifestazione, si prega di contattare la Segreteria Scientifica:

Maria Condello Tel: 0649903610 e-mail: maria.condello@iss.it

Per informazioni generali: Ufficio Relazioni Esterne - Convegni Lun.-Ven. ore 9 – 15 tel. 06 4990.4121-4122

Evento realizzato con il contributo non condizionato di: ASSING **FEI ITALIA** LEICA MICROSYSTEMS

NIKON CARL ZEISS

Le immagini della copertina derivano da micrografie eseguite presso il reparto Metodi Ultrastrutturali per Terapie Innovative Antitumorali dell'ISS

# Eventi nazionali







Aspetti teorici e applicativi

della microscopia elettronica

e della microanalisi

9 - 10 Ottobre 2012

Bruker Italia Viale V. Lancetti 43 20158 Milano Tel. 02 70636370 Fax. 02 2361294

# Scopo dell'iniziativa:

Offrire agli iscritti l'occasione di conoscere le potenzialità analitiche dei nuovi strumenti e insieme agli specialisti di prodotto Tescan a.s. , Gambetti Srl e Bruker raccogliere e affrontare esperienze ed esigenze analitiche reali di ciascun partecipante.

Le sessioni teoriche tratteranno dei più recenti progressi tecnologici e applicativi e saranno seguite da parti pratiche di dimostrazione strumentale.

In particolare saranno a disposizione i seguenti strumenti Tescan:

- Lyra3 GM FE-SEM a doppia colonna (elettronica ed ionica)
- Vega3 LMU con emettitore in Tungsteno a pressione variabile.

I due strumenti saranno completi di Microanalisi **Bruker Quantax**<sup>TM</sup> dotata dei nuovi rivelatori **XFlash**<sup>TM</sup> della 6th generazione e di **EBSD CrystAlign** per l'analisi cristallografica.

# Località e modalità di partecipazione :

L'evento si terrà nei giorni 9 e 10 Ottobre 2012 presso l'auditorium degli uffici di Bruker Italia a Milano

La partecipazione è a titolo gratuito, verranno offerti pranzo e coffe break.

L'organizzazione è a vostra disposizione per eventuali prenotazioni alberghiere (a carico del partecipante) o altre necessità.

Al fine di ottimizzare le sessioni pratiche si prevede di limitare il numero dei partecipanti a 20 per giornata.

Il termine ultimo per le adesioni è Venerdì 27 settembre 2012.

N.B : Il workshop si terrà in lingua Inglese

### **Programma Preliminare:**

### 09-10 Ottobre 2012

09.30 - 10.00	Registrazione partecipanti e benvenuto
10.00 - 11.00	Presentazione Tescan: Tecnologia Tescan e presentazione degli strumenti esposti
11.00 - 11.15	Coffee Break
11.15 - 12.15	Presentazione Bruker: Tecnologia Bruker e presentazione microanalisi ed EBSD espost
12.15 - 13.30	Pranzo
13.30 - 15.00	Sessioni applicativo/pratiche sugli strumenti e su campioni reali
15.00 - 15.15	Coffee Break
15.15 - 17.00	Sessioni applicativo/pratiche sugli strumenti e su campioni reali

### Come Raggiungere gli uffici Bruker Italia:

### In auto:

Provenendo dalla A4 Torino-Venezia, utilizzare l'uscita Cormano oppure viale Certosa; provenendo da sud dalla tangenziale ovest, utilizzare l'uscita Via Novara.

### Con i mezzi pubblici:

Passante Ferroviario, Linea S1, S2, S5, S6, S10, fermata Lancetti Metropolitana Linea Gialla, fermata Maciachini Tramvia Linea 2, fermata Lancetti; Filobus Linea 92, fermata Lancetti/Resegone; Filobus Linea 90-91, fermata Lancetti/Bernina

Modulo di Iscrizione Nome & Cognome			09 - 10 Ottobre 2012 Bruker Italia Viale V. Lancetti 43 Milano
Giornata di partecipazione	9 Ottobre	10 Ottobre	
Società			
Indirizzo			
Città C	Cap		
Telefono F	Fax		
email S	ito		
Di cosa si occupa			
Quali tecniche analitiche utilizza			
Con quali materiali lavora			
Interessi particolari nelle sessioni			

Il termine ultimo per le adesioni è venerdì 27 settembre 2012.

Compilare il modulo e spedirlo via email a sales@gambetti.it oppure via fax al numero 02-9052778

# Eventi nazionali

1962 - 2012

Istituto di Genetica e Biofisica "Adriano Buzzati-Traverso"

# IGB Porte Aperte: Raccontare la Scienza 23 Novembre, 2012

Aula Conferenze CNR Via Pietro Castellino, 111 - Napoli

Sotto l'Alto Patronato del Presidente della Repubblica Con il patrocinio dell'Accademia Nazionale dei Lincei e dell'Accademia Pontaniana

# L'Istituto di Genetica e Biofisica nel 50° della Fondazione si apre alla città

Lo studio della biologia ha influenzato costantemente la società attraverso nuove scoperte in grado di cambiare il modo di rapportarsi alla natura, ma anche grazie al contributo delle nuove tecnologie utili per lo sviluppo economico. Per concludere le celebrazioni dei primi 50 anni di attività, l'Istituto di Genetica e Biofisica "Adriano Buzzati-Traverso" organizza un convegno nazionale su temi centrali della biologia, dello sviluppo economico e del rapporto tra scienza e società. Durante la sessione mattutina si dibatterà su questi argomenti con tre dei massimi esperti italiani nel panorama internazionale. Nel pomeriggio, per un'interazione sempre maggiore con la città, le scuole ed i giovani, tre ricercatori dell'Istituto introdurranno temi scientifici di primo piano nella scienza contemporanea, in linea con la costante attività di divulgazione scientifica e formazione svolta dall'Istituto nel corso di questi 50 anni. L'Istituto, fondato nel 1962 da Adriano Buzzati-Traverso, pioniere nella ricerca e nell'insegnamento della biologia e della genetica, è infatti un'istituzione fortemente radicata a Napoli, operante in continua osmosi con la città e soprattutto con le nuove generazioni che si sono affacciate e avvicendate con entusiasmo alla ricerca scientifica e che l'Istituto ha contribuito a formare nei suoi 50 anni di attività.

# IGB "ABT" - CNR

Via Pietro Castellino, 111 – 80131 Napoli Tel. +39 081 6132111 – Fax +39 081 6132706 segreteria@igb.cnr.it - www.igb.cnr.it

# Programma

Biologia, Sviluppo Economico e Società

10.00 Saluto del Presidente del CNR, Prof. Luigi Nicolais, e delle Autorità

10.30 - 11.00 Gilberto Corbellini - Università La Sapienza, Roma Come le scoperte della biologia hanno influenzato il nostro modo di vivere

11.00 - 11.30 Edoardo Boncinelli - Università Vita - Salute, San Raffaele, Milano Il nostro futuro biologico

11.30 - 12.00 Alberto Quadrio Curzio - Accademia Nazionale dei Lincei Ricerca scientifica e sviluppo economico

12.00 Rinfresco

**Informare e Formare** 

15.00 Introduzione: Anna Pascucci - Presidente Nazionale ANISN, Napoli Le sfide dell'educazione scientifica

15.30 - 16.00 Antonio Simeone - IGB - CNR, Napoli Sviluppo di un organismo e ruolo delle cellule staminali

16.00 - 16.30 Adriana La Volpe - IGB - CNR, Napoli DNA, stabilità genomica e fertilità

16.30 - 17.00 Roberto Defez - IGB - CNR, Napoli OGM: perchè capirne di più

# 2012

# NIBSC / JEOL / LEICA CryoEM -Workshop

October 1-5, 2012 NIBSC Imaging laboratory, Potters Bar, London, UK Organization: NIBSC with JEOL (UK) Ltd and LEICA

# The Aurion ImmunoGold Silver Staining Fall Workshop

October 8-10, 2012 University of Minnesota, Characterization Facility, Minneapolis Organization: Aurion and Electron Microscopy Sciences

# **Glienicke Workshop 2012**

Electron Microscopy in Infectious Diseases - Diagnostics and Research October 11-12, 2012 Robert Koch-Institut, Berlin, Germany

# Conference on Coherent Raman Scattering Microscopy (microCARS2012)

October 14-16, 2012 Naurod (near Frankfurt/Main airport), Germany

# **JEELS 2012**

October 23-25, 2012 Aix les Bains, France

# **NVvM Materials Science 2012**

October 25, 2012 Eindhoven University of Technology, The Netherlands Organization: Dutch Microscopy Society (NVvM)

# Conference on In-Situ and Correlative Electron Microscopy (CISCEM)

November 6-7, 2012 Saarbrücken, Germany

# **LEEM/PEEM-8**

International Workshop on Low Energy Electron Microscopy and Photo Electron Emission Microscopy November 11-15, 2012 Hong Kong, China

# **CryoMicroscopy Group Meeting**

November 14, 2012 Birmingham, UK Organization: Cryo Microscopy Group (CMG)

# **MRS Fall Meeting 2012**

Symposium: Quantitative In situ Electron Microscopy November 25-30, 2012 Hynes Convention Center, Boston, Massachusetts, USA

# **MSSA 2012**

December 4-7, 2012 University of Cape Town, South Africa Organization: Microscopy Society of Southern Africa

# 2013

# Winterschool 2013 - A Practical Course in Advanced Microscopy

January 20-25, 2013 ETHZ and UNI Zurich, Switzerland Flyer

# Nagoya Symposium "Frontiers in Structural Physiology"

January 22-24, 2013 Nagoya, Japan Organizers: Kaoru Mitsuoka, Tom Walz and Da-Neng Wang

# Focus on Microscopy 2013 March 24-27, 2013

Maastricht, The Netherlands

# **Requimte Atomic Force Microscopy Workshop**

March 25-28, 2013 University of Porto, Portugal

# 2013 MRS Spring Meeting & Exhibit

Symposium EEE: Materials Education - Toward a Lab-to-Classroom Initiative April 1-5, 2013 Moscone West, San Francisco, USA

# 40th Annual Meeting of SCUR 2013

May 12-14, 2013 Salzburg, Austria Organization: Society for Cutaneous Ultrastructure Research (SCUR)

# **QEM2013 - Quantitative electron Microscopy**

Advanced School on quantitative electron microscopy techniques May 13-24, 2013 Saint-Aygulf, France Organization: CEMES (Toulouse, France), LPS (Paris, France), UMET (Lille, France), INA (Zaragoza, Spain)

# EDGE (Enhanced Data Generated by Electrons) 2013

International Electron Energy Loss Spectroscopy Meeting May 26-31, 2013 Sainte-Maxime, France Organization: Société Française des Microscopies (SFµ)

# 55th Symposium of the Society for Histochemistry

Intermediate Filaments in Health & Disease June 11-14, 2013 Prague, Czech Republic Organization: Society for Histochemistry

# International Conference on Intergranular and Interphase Boundaries in

Materials IIB2013 June 23-28, 2013 Athena Palace Village, Halkidiki, Greece

# **MC2013**

August 25-30, 2013 Regensburg, Germany Organization: DGE, ASEM, SSOM, CSEM, CSMS, HSM, SDM, SISM, SSM, TEMD

# Microscopy at the Frontiers of Science 2013 (mfs2013)

3rd Joint Congress of the Portuguese and Spanish Microscopy Societies and Israel Society for Microscopy as invited guest September 17-20, 2013 Tarragona, Spain

# **PICO 2013**

October 10-12, 2013 Kasteel Vaalsbroek, The Netherlands Organization: Ernst Ruska-Centre (Jülich) and Triebenberg Laboratory (Dresden)

# **2014**

# **IMC2014**

18th International Microscopy Congress September 07-12, 2014 Prague, Czech Republic Organization: Czechoslovak Microscopy Society (CSMS)



# Online tools; how to find the right meeting?

Have your been to a conference this year? And how would you or have you found it? For many people it's challenging to find a meeting or course in their interest. Often people rely on meetings they hear about from others or on the few conference posters hanging on their floor.

To simplify the search for an interesting meeting a group of PhD students has developed a new tool: <u>www.biomeeter.com</u>. This website gives an overview of conferences organized in all aspects of biology. It is open source so everybody can not only find but also add their meeting. It's launched in April and already contains over 400 conferences, a number that's increasing every day.

All the added meetings are categorized so you can search both by keyword and category. The latter makes it easy to get a good overview of the meetings organized in your field. Furthermore there is the option to search for conferences by location. This helps you finding a meeting in a specific country.

Website of Focus on Microscopy



Announcing:

Focus on Microscopy 2013 Maastricht, The Netherlands March 24 - March 27, 2013



### Dear colleagues,

After this year's successful conference in Singapore we would like to announce the next conference in the FOM series. It will take place in Maastricht, The Netherlands from Sunday March 24 to Wednesday March 27, 2013. Please note that this is in the week before Easter 2013.

The conference will start around 17:30h in the afternoon on Sunday the 24th of March with a plenary opening session followed by a welcome reception. A number of free tutorials are planned for the Sunday afternoon starting from 14:00h. After the close of the conference on March 27 a conference excursion/dinner is planned.

The conference will take place at the MECC Conference Center in Maastricht, a 10 minutes walk from the center of the city and close to the University of Maastricht.

Details regarding registration, abstract submission, deadlines, etc. will become available at a later moment on this website. When you wish to be kept informed please leave your email address here.

Maastricht is a beautiful city with a great history: inhabited from 550 BC onwards, a Roman army camp until AD 388, a medieval city with city rights and walls from 1204 and finally becoming what it is today, an enchanting, intimate city on the river Meuse (Maas) where it is good to be. It has the highest density of pubs and restaurants in the Netherlands!

This year's conference, FOM2012, in Singapore has been very successful, drawing for the FOM conferences in Asia a record number of attendees. Well over 300 contributions were presented in a mix of invited and submitted, plenary, parallel and poster sessions. The FOM 2012 Singapore presentations together with attached one-page abstracts can be found here.

Focus on Microscopy 2013 is the continuation of a yearly conference series presenting the latest innovations in optical microscopy and their application in biology, medicine and the material sciences. Key subjects for the conference series are the theory and practice of 3D optical imaging, related 3D image processing, and reporting especially on developments in resolution and imaging modalities. The conference series covers also the rapidly advancing fluorescores labeling techniques for the confocal and multi-hoton 3D imaging of -live-biological specimens.

### Typical topics of the present and upcoming FOM conference will include:

• Theory and practice of confocal and multiphoton-excitation microscopy • 3D and 4D live cell and tissue imaging • Super-resolution, nanoscopy imaging: from PSF engineering (4pi, SIM, STED), fluorescent activation/quenching, stochastic/centroid (PALM, STORM and related techniques) to TIRF • Adaptive optics for microscopy • Developments in phase/interference microscopies • Light sheet microscopy • Advanced fluorescence imaging/spectroscopy: FRET, FRAP, FLIM, FCS • Coherent non-linear microscopies: SHG, THG, SFG, CARS, • Developments in phase/interference microscopies • Light sheet microscopy • Advanced spectroscopy imaging • Correlative light/selectron microscopy • Laer manipulation and tracking, photo-activation • Bio- and nanomaterials, biosensors • OCT, endoscopy • Fast acquisition, automated and high-throughput microscopy techniques • 3D image processing and visualization for multidimensional data

For the 2013 conference, topics on 'Optics and Microscopy for medical research and diagnostics' will receive special attention

A technical exhibition will be an integral part of the Maastricht 2013 conference.

All information about the previous FOM conferences of the last 10 years can be found on this website under button "Past conferences". From 2004 onwards also one page abstracts in PDF format of the presented contributions are available in the listed program of the conferences. Also please note the website "Search" function.

Welcoming you on behalf of the FocusOnMicroscopy society to the Maastricht FOM2013 conference and exhibition:

Marc van Zandvoort, Maastricht University, The Netherlands
 Fred Brakenhoff, University of Amsterdam, The Netherlands

The FOM2013 conference incorporates the

26th International Conference on 3D Image Processing in Microscopy
 25th International Conference on Confocal Microscopy

Main sponsors and supporting organizations of Focus on Microscopy 2013:



www.afmbiomed.orc

# 5<sup>th</sup> AFM BioMed Conference May 7-11, 2013

After Barcelona 2007 (Spain), Monterey 2008 (USA), Red Island 2010 (Croatia) and Paris 2011 (France), AFM BioMed Conferences has the pleasure to announce the V<sup>th</sup> conference on AFM for Life Sciences and Nanomedicine, on May (7) 7th-11th 2013 (including training) in Shanghai, China.

The conference will be hosted by Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai Jiao Tong University and Shanghai Normal University. Scientific session will happen in Shanghai Synchrotron Radiation Facility (SSRF). The Conference will be chaired by Professor Jun Hu, Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences.

# First Call for Papers

Featured topics: High-resolution and High-speed Imaging Molecular Force Spectroscopy and Recognition Cellular MechanoBiology AFM in Nanomedicine

nfirmed Session Chairs / Invited Speakers (Plenary Lectures)

/ XI ZHANG

/ Jinfeng JIA

Hirofumi YAMADA Kyoto University, Japan

Giovanni DIETLER EPFL, Lausanne, Switzerland

Daniel NAVAJAS Universitat Bacelona, Spain

Christoph GERBER Universität Basel, Switzerland / Ning GU

We are looking forward to seeing you in Shanghai. The Organizing Committee: Pierre PAROT and Jean-Luc PELLEQUER, CEA Marcoule, France Daniel NAVAJAS, University of Barcelona, Spain; Sanjay KUMAR, Berkeley, USA Vesna SVETLICIC, Rudjer Boskovic Institute, Zagreb, Croatia; Simon SCHEURING, Inserm, Marseille, France; Jun HU, Shanghai Institute of Applied Physics, Shanghai, China











Shanghai JiaoTong University, China

Academy of Sciences, Beijing, China

Tsinghua University, China

Southeast University, China

/ Xiaohong FANG Institute of Chemistry, Chinese



August 25–30, 2013 • Regensburg/Germany Organized by

DGE – German Society for Electron Microscopy e. V. ASEM – Austrian Society for Electron Microscopy SSOM – Swiss Society for Optics and Microscopy SISM – Italian Society of Microscopical Sciences CSMS – Czechoslovak Microscopy Society MMT – Hungarian Society for Microscopy SSM – Serbian Society for Microscopy CSEM – Croatian Society for Electron Microscopy SDM – Slovene Society for Microscopy

mages: Reinbard Rachel • University of Regensburg, Ref. 11/2 – Kommunikation; Margit Adler

# **General Information**

niversität Regensburg

Date

August 25-30, 2013

Venue University of Regensburg Regensburg/Germany

# Topics

www.mc2013.de

• Instrumentation and Methods

Materials Science

University of Regensburg

93053 Regensburg/Germany

Phone +49 941 943 28 37

Fax +49 941 943 28 68

reinhard.rachel@ur.de

Faculty of Biology and Preclin. Med.

Centre for EM/Anatomy

Universitätsstraße 31

Life Sciences

Conference Chair Prof. Dr. Reinhard Rachel

The Microscopy Conference MC 2013 will be organized by the Microscopy Societies of the nine countries shown on the front page of this flyer. It is the 8<sup>th</sup> conference in the series of the Dreiländertagungen, organized by D-A-CH, and the second which is to be organized as Nine-Country-Meeting, with the societies of the MCM as co-organizers.

The official conference language will be English.

Reduced conference fees will be available to members of all participating Societies for Microscopy. The status of an EMS extension for the MC 2013 will be requested. As committees, there will be a Local Organizing Committee, a Scientific Program Committee and an International Scientific Advisory Board.

# **Plenary Lectures**

**Poster Sessions** 

Workshops

# **Industrial Exhibition**

microscopie Settembre 2012

# DCE DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ELEKTRONENMIKROSKOPIE

# Deutsche Gesellschaft für Elektronenmikroskopie e.V.

(German Society for Electron Microscopy)

announces the

# **ERNST RUSKA PRIZE 2013**

for outstanding achievements in the field of electron microscopy.

The Deutsche Gesellschaft für Elektronenmikroskopie invites to propose candidates for the Ernst-Ruska-Prize. The prize is awarded for work carried out by younger scientists pioneering new capabilities of electron microscopy as a scientific technique through innovative instrumentation or novel methods of basic and general interest. Work carried out by pure application of existing techniques will not be considered. The eligible work should not date back more than 7 years. It must be published or it must be accepted for publication at the time of submission of the proposal.

The decision will be made by an independent committee. The Ernst-Ruska-Prize consists of a certificate, a financial award, as well as the honor of giving an *Ernst-Ruska Distinguished Lecture* at the Ceremony of Award. If a group of authors receives the award, they will be awarded jointly. The ceremony will take place at the Microscopy Conference 2013 in Regensburg, Germany, Aug. 25<sup>th</sup>- Aug. 30<sup>th</sup>, 2013.

Proposals including appraisal of the achievement, reprints or preprints, and short CV including list of publications of the authors should be received (on paper and CD) not later than November 30<sup>th</sup>, 2012, addressed to

President of DGE Prof. Dr. Josef Zweck Fakultät für Physik Universität Regensburg 90340 Regensburg GERMANY E-mail: josef.zweck (at) physik.uni-regensburg.de

18<sup>™</sup> INTERNATIONAL MICROSCOPY CONGRESS 7-12 September 2014

PRAGUE, CZECH REPUBLIC



HIP IN PART

MICROSCOPY FOR GLOBAL CHALLENGES touching atoms, molecules, nanostructures and cells by multidimensional microscopy

# **1<sup>ST</sup> ANNOUNCEMENT**

www.imc2014.com

# MAIN DEADLINES

ĺ	September 2013	On-line abstract submission open
		On-line registration available at the website
a		

15 February 2014 Abstract submission deadline **Early registration deadline** 

1 July 2014

Standard registration deadline

# **SCIENTIFIC TOPICS**

**Instrumentation and Techniques** Electron optics and optical elements High resolution TEM and STEM Super-resolution light microscopy and nanoscopy imaging Scanning electron microscopy Analytical electron microscopy Environmental electron microscopy In-situ microscopic techniques and cryo-microscopies Ultrafast and high-throughput microscopies Electron and X-ray diffraction techniques Electron tomography Electron holography and lens-less imaging Surface microscopy, spectromicroscopy and microspectroscopy Focused ion beam microscopy and techniques Scanning probe microscopy and near-field microscopies X-ray, atom probe, neutron and other microscopies Electron microscopy theory and simulations

## **Life Sciences**

Live imaging of cells, tissues and organs Structure and function of cells and organelles High-resolution localization of molecular targets and macromolecular complexes Structure of macromolecules and macromolecular complexes Cellular transport and dynamics Microbiology and virology Parasitology Plant science and mycology Gene-modified organisms and animal science Human health and disease Physiology and pathology Advances in immunohistochemistry and cytochemistry Embryology and development biology Neuroscience



**Material Sciences** 

Nanoobjects and engineered nanostructures, catalytic materials Carbon-based nanomaterials, nanotubes, fullerenes, graphenes Thin films, coatings and surfaces Metals, alloys and metal matrix composites Ceramics and inorganic materials Polymers and organic materials Composite materials and hybrids Semiconductors and materials for information technologies Defects in materials and phase transformations Porous and architectured materials Amorphous and disordered materials, liquid crystals, quasicrystals Magnetic, superconducting, ferroelectric and multiferroic materials Materials in geology, mineralogy and archeology **Energy-related materials** 

### Interdisciplinary Correlative microscopy in life and material sciences

Imaging mass spectrometry in biomedicine Microscopy of single molecule dynamics High-throughput microscopy and it's applications in life and material sciences Biomedical applications of nanoparticles and bio-safety issues Microscopy in forensic science Microscopy in arts, restoration and archeology Three-dimensional reconstructions in microscopy Microscopic image analysis and stereology Advances in sample preparation techniques Multidisciplinary applications of progressive light microscopy imaging techniques In-situ and environmental microscopy of processes in materials and material reactions Materials for medicine and biomaterials

# **CONGRESS SECRETARIAT**

IMC 2014 Congress Secretariat, GUARANT International, Opletalova 22, 110 00 Praha 1, Czech Republic Tel: +420 284 001 444 Fax: +420 284 001 448 E-mail: info@imc2014.com

Get more information and subscribe for updates at www.imc2014.com



# EMS Newsletter 35, October 2011

Dear EMS member,

In September the two EMS Extensions of 2011 took place one after the other in Kiel and Urbino, gathering nearly half of all national member societies of EMS. In Kiel over 900 microscopists and more than 50 companies participated while in Urbino the EMS Board met and the annual General Assembly was held, with 67 members of 15 different societies participating. During the respective conference dinners the plaques for two of the three EMS Outstanding Paper Awards of 2010 were handed over, those in Instrumentation (in Kiel) and Materials Sciences (in Urbino). Around the time this newsletter is published the call for the new 2011 EMS Outstanding Paper Award will be on its way to all members (including the slightly changed nomination rules) and we look forward to receiving many excellent nominations by the deadline in January 2012. Next year, the winning authors will receive their awards at the emc2012 meeting in Manchester.

During the General Assembly in Urbino the regular items including the presidential report, budget and activity prospects were covered and approved. Also the call for bids of the next European Microscopy Congress in 2016 was officially launched, with proposals to be sent to the secretary by January 31, 2012 (see also www.eurmicsoc.org). The chair of emc2012, Debbie Stokes, together with the conference and liaison managers Allison Winton and Jessica Stanley, presented a status report of the preparations of the upcoming emc2012 European congress. An overview of the Congress was presented with details regarding the location, organization, key dates and exhibition. The five Plenary speakers were announced and a preliminary list of session titles and session organizers was shown. There will be six parallel sessions per day. Also some high profile Sunday lectures are planned. There will be four workshop theatres and a poster village with space for 400 posters. With already 65 confirmed stand bookings for the exhibition, well over three quarters of the stand space has already been sold by now. The gala dinner is planned at Old Trafford, the Manchester United football ground. Within a few weeks, the first official announcement on this exciting event will reach microscopists in Europe and throughout the world.

In the coming weeks and months material for the 2011 EMS Yearbook will be gathered at the secretarial office, including reports from EMS sponsored events, the two EMS Extensions and their EMS lecturers, EMS scholarships at these and other meetings, etc. If you have organized or are aware of a particular event in the past year which you feel is relevant for the European microscopy community to commemorate with a short report in the Yearbook (awards, special anniversaries, ...) please give us a note or send us a short text with one or two pictures, so we can include it if space permits (in case we receive too many requests, some can be placed on the respective pages of the website).

Contact Prof. Dr. D. Schryvers, Ph.D. Electron Microscopy for Materials Science (EMAT) Department of Physics University of Antwerp, Belgium Tel.: +32 3 2653247 Fax: +32 3 2653257 nick.schryvers@ua.ac.be

G.I.T. Imaging & Microscopy 04/2011, p 18, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, GIT VERLAG, Weinheim, Germany

www.gitverlag.com www.imaging-git.com



# EMS Newsletter 36, February 2012

Dear EMS member,

Firstly, very best wishes to all for the new year and may we all be enlightened by some fascinating discoveries in the micro- and nanoworld. For European microscopy this year promises to be again very exciting. Over the past few weeks the jury of the EMS Outstanding Paper Award has worked hard comparing the 2011 nominations in the different categories and the winning papers and authors will be announced soon. They will receive their award during a special ceremony at this year's European Microscopy Congress emc2012 in Manchester.

After the deadline of April 1st, members of another jury, for the FEI European Microscopy Award, will start their work to choose the winners for the two guadrennial awards in Physics and Materials Sciences and Optics and Life Sciences. The value of each prize is €5000 and the winners will present a lecture at emc2012 during a special award session. More information on the FEI-EMA prize can be found at http://www.eurmicsoc. org/fei-ema.html (or under the "funding" menu bullet at the EMS website) and we invite all of you to consider worthy candidates for this prestigious prize and to encourage proposals.

The Board will meet on the 21<sup>st</sup> and 22<sup>nd</sup> of February in Lyon to discuss various organizational matters and to prepare the General Assembly and General Council that will be held in Manchester. At this 15<sup>th</sup> European Microscopy Congress bids for the next EMC in 2016 will be presented. With the deadline for a first application set as January 31<sup>st</sup>, we are now working with applicants to ensure a fair competition during the presentations and elections at the General Council in Manchester.

By now the program of emc2012 in Manchester is fixed, plenary and invited speakers have been contacted and have confirmed, including Daniel Shechtman, 2011 Chemistry Nobel Prize Laureate for the discovery of quasi-crystals. Other plenary speakers are Christian Colliex, Peter Dobson, Andreas Engel, Scott Fraser, Jeff Lichtman and Tony Wilson. The abstract submission deadline has been set at Friday, March 16<sup>th</sup>, 2012, so please make sure you submit your abstracts in time so the organizers can properly arrange the sessions and Proceedings in a timely manner.

In the coming weeks you should receive the 2011 EMS Yearbook. Look out for familiar faces in the pictures of reports of meetings you attended or of young researchers you met during one of the sessions.

In a year of an EMC, no EMS Extensions are organized. Smaller events though can still be sponsored and in the first half of 2012 these are: (1) "Quantitative Microscopy of Energy Materials" session at the European MRS spring meeting (May 14-18, Strasbourg, France); (2) "EMBO practical course on Electron Tomography in Life Science" (June 18-23, LUMC, Leiden, The Netherlands). Deadline for applications for sponsored events in the second half of 2012 is March 31, 2012.

Contact Prof. Dr. D. Schryvers Electron Microscopy for Materials Science (EMAT) Department of Physics University of Antwerp, Belgium Tel.: +32 3 2653247 Fax: +32 3 2653257 nick.schryvers@ua.ac.be

G.I.T. Imaging & Microscopy 01/2012, p 14, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, GIT VERLAG, Weinheim, Germany

www.gitverlag.com www.imaging-git.com



# EMS Newsletter 37, May 2012

Dear EMS member,

The Executive Board of the European Microscopy Society (EMS) has accepted the proposals of the Jury of the EMS Outstanding Paper Award for the year 2011. In total 17 high quality papers were nominated by EMS members. Of these 17 papers, the following were selected as award winners:

1. Instrumentation and Technique Development: "Atomic resolution imaging in three dimensions", S. Van Aert, K. Batenburg, M. Rossell, R. Erni, G. Van Tendeloo, *Nature* 470, 376-377 (2011); DOI:10.1038/nature09741

2. Materials Sciences: "Highly monodisperse core-shell particles created by solid-state reactions", V. Radmilovic, C. Ophus, E. Marquis, M. Rossell, A. Tolley, A. Gautam, M. Asta, U. Dahmen, *Nature Materials* 10 710-715 (2011); DOI:10.1038/ NMAT3077

3. Life Sciences: "A Genome-wide multidimensional RNAi screen reveals pathways controlling MHC class II antigen presentation", P. Paul, T. van den Hoorn, M. Jongsma, M. Bakker, R. Hengeveld, L. Janssen, P. Cresswell, D. Egan, M. van Ham, A. ten Brinke, H. Ovaa, R. Beijersbergen, C. Kuijl, J. Neefjes, *Cell*, 145(2) 268-283 (2011); DOI:10.1016/j.cell.2011.03.023 The first authors of these papers will receive their award of  $\in$  1.000 and a metal-on-wood plaque during the award ceremony at the congress dinner of emc2012 in Manchester on Thursday September 20, 2012. On Friday September 3 the winners of the two quadrennial FEI-EM awards of  $\in$  5.000 will present their lectures at emc2012 during a special award session.

At emc2012 several EMS organizational meetings are scheduled. On Monday September 17 the EMS Executive Board will meet at lunchtime. The EMS General Council will meet on Tuesday, again at lunchtime followed by a presentation of the bid for EMC 2016. The EMS General Assembly will take place on Thursday, lunchtime, and will select a new EMS Executive Board to take office from 2012 till 2016.

By the deadline of January 31 only one bid for the organization of the  $16^{th}$  European Microscopy Congress, EMC 2016, was received by the EMS secretarial office. The French Microscopy Society (SF $\mu$ ) has proposed to host the meeting in Lyon (Lyon Convention Centre) from August 28 till September 2, 2016, with Dr. Thierry Epicier (INSA, Lyon, France) acting as congress President. This bid was presented and discussed at the EMS Executive Board meeting last February and several suggestions were made to further improve the bid towards the presentation at emc2012. The organizers of the latter have kindly offered a presentation booth to the bid committee of Lyon in order to present the venue and the congress to the emc2012 attendants.

In 2012, several extended scholarships (early stage career registration fee plus partial travel expenses) are available for early stage career EMS members who will present results of a trans-European research collaboration for participation at emc2012. By the deadline of March 16, the secretarial office received 34 applications. By the time you read this, the selections will have most probably been made and the applicants informed about the decision.

Contact Prof. Dr. D. Schryvers

Electron Microscopy for Materials Science (EMAT) Department of Physics University of Antwerp, Belgium Tel: +32 3 2653247 Fax: +32 3 2653257 nick.schryvers@ua.ac.be

### G.I.T. Imaging & Microscopy 02/2012, p 14, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, GIT VERLAG, Weinheim, Germany

www.gitverlag.com www.imaging-git.com

# The role of α-actinin in Z-disks assembly: a morphological point of view

V. Baldassarri,<sup>1</sup> S. Salucci,<sup>1</sup> P. Ferri,<sup>1</sup> E. Falcieri,<sup>1,2</sup> S. Burattini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>DiSTeVA, Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo", Urbino <sup>2</sup>Istituto di Genetica Molecolare, CNR, Istituti Ortopedici Rizzoli, Bologna

Corresponding author: Dr. Valentina Baldassarri Dipartimento di Scienza della Terra, della Vita e dell'Ambiente (DiSTeVA), Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo" Campus Scientifico "E. Mattei", via Ca' le Suore 2, 61029 Urbino (PU), Italy Tel. +39.0722.304311 - Fax: +39.0722.304244 E-mail: valentina.baldassarri@uniurb.it

# Summary

Sarcomeric  $\alpha$ -actinin is a multitasking protein that provides structural integrity of the sarcomeres in skeletal muscle cells. Furthermore it can modulate receptors and channels and it serves as a scaffold for several signaling pathways.  $\alpha$ -Actinin is crucial for connecting together actin filaments from adjacent sarcomeres, forming the Z-disk and then contributing to proper muscle physiology. The aim of this work was to clear up the role of sarcomeric  $\alpha$ -actinin in Z-disk formation during myogenic differentiation. For this purpose, C2C12 murine skeletal muscle cells were analyzed at three time points of differentiation. Confocal laser scanner microscopy and transmission electron microscopy have been utilized for  $\alpha$ -actinin immunolocalization.

Our results suggest that, when differentiation is induced,  $\alpha$ -actinin links at first membrane-associated proteins, then it aligns longitudinally across the cytoplasm and finally binds actin, giving rise to the Z-disks. A failure in this multistep process can lead to several myopathies involving aberrant accumulation of myofilaments (*e.g.* nemaline rod myopathy), called Z-discopathies. So, further study of  $\alpha$ -actinin behavior could be a useful tool to better understand myofilament organization during myogenic dif-

ferentiation and in correlated pathologies.

Key words:  $\alpha$ -actinin, myogenic differentiation, Z-disk, immunofluorescence, immunogold.

# Introduction

 $\alpha$ -Actinin belongs to the spectrin superfamily of proteins, which includes a wide range of cytoskeletal proteins and in humans is encoded by four genes, which give rise to at least six protein isoforms. The cytoskeletal isoforms (α-actinin-1 and -4) can be observed along microfilament bundles and in adherent junctions, where they are involved in binding actin to the plasma membrane. They are ubiquitously expressed and calcium sensitive. The muscle-specific isoforms ( $\alpha$ -actinin-2 and -3) are necessary for actin filament attachment to the Z-disks in skeletal muscle fibers and to the analogous dense bodies in smooth muscle cells. These isoforms have lost their ability to bind calcium, so their binding affinity to actin is regulated by phosphoinositides (Sjöblom et al., 2008). In the Z-disks, actin filaments from adjacent sarcomeres overlap and are held together to form an highly stable structure (Figure 1), composed by a variable number of  $\alpha$ -actinin cross-links, determining Z-disk width and depending on muscletype. In fact, slow oxidative fibers show more links compared to fast glycolytic ones (Gautel, 2011), because thinner Z-disks produce higher sarcomere-shortening velocities.

Literature evidences that, besides actin-binding, sarcomeric  $\alpha$ -actinins are able to bind other structural proteins, including nebulin and titin. Furthermore, they provide membrane integrity during muscle contractions through their bond to vinculin, integrins and dystrophin, they can modulate membrane receptors and channels and they interact with metabolic proteins (Lek *et al.*, 2009). Not least, they serve as a scaffold to connect the sarcomere to several signaling pathways (Otey and Carpen, 2004). Thus,  $\alpha$ -actinin is a multitasking protein that contributes to proper muscle physiology and it has been shown to be involved in several Z-disk diseases (called Z-discopathies), such as hypertrophic and dilated cardiomyopathy, congenital nemaline myopathy and intranuclear nemaline rod myopathy (Chiu *et al.*, 2010; Ilkovski, 2008).

In our previous studies we have already discussed the myogenic differentiation, particularly that of C2C12 cells (Burattini *et al.*, 2004); in this work we wanted to investigate the Z-disk formation, in the same cell model, which is closely related to  $\alpha$ -actinin behavior. For this purpose, cells were analyzed at three time points of differentiation and carefully monitored by means of inverted microscopy (IM). Confocal laser scanner microscopy (CLSM) and transmission electron microscopy (TEM) were utilized to carry out the immunolocalization of the protein.

# **Materials and Methods**

# Cell culture and treatment

C2C12 adherent myoblasts were grown, in dishes containing a coverslip, in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS), 2 mM glutamine and 1% antibiotics, and they were maintained at 37°C in humidified air with 5% CO<sub>2</sub>. To induce myogenic differentiation, after reaching at least 80% cell confluence, growth medium was replaced with differentiation medium supplemented with 1% FBS (Lattanzi *et al.*, 2000).

Cells were observed at undifferentiated stage  $(T_0)$ , after 4 days of differentiation  $(T_1)$  and finally after 7 days of differentiation  $(T_2)$ , using a Nikon Eclipse TE 2000-S IM equipped with a DN 100 Nikon digital camera system. To ensure cellular viability the trypan blue exclusion assay was carried out (Luchetti *et al.*, 2003; Salucci *et al.*, 2010).

# Immunofluorescence (IF)

For CLSM analysis, IF techniques were carried out on coverslips. Samples were rinsed with 0.1 M PBS pH 7.4 and fixed *in situ* with 4% paraformaldehyde in PBS, for 30 minutes at room temperature (R.T.). After a further washing with PBS, cells were permeabilized with 0.2% Triton X-100 in PBS, for 10 minutes at R.T., and rinsed again with PBS.

For  $\alpha$ -actinin labeling (D'Emilio *et al.*, 2010), samples were treated with 2% bovine serum albumin (BSA) in PBS and 5% normal horse serum (NHS) in the PBS-BSA mixture, for 30 minutes at R.T., and then incubated with a mouse primary antibody against sarcomeric  $\alpha$ -actinin (Sigma; 1:500 in the PBS-BSA-NHS mixture), overnight at 4°C. The next day, samples were rinsed with PBS and incubated with a FITC-conjugated horse antimouse secondary antibody (Vector Laboratories; 1:50 in the PBS-BSA-NHS mixture), for 45 minutes at R.T. in the dark. Specimens were stained with 0.5 µg/mL propidium iodide (PI) in PBS, for 5 minutes at R.T., to visualize cell nuclei, and finally mounted with the Vectashield mounting media for fluorescence. IF analysis was performed, at T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub> and  $T_2$ .

Images were collected with a Leica TCS-SP5 connected to a DMI 6000 CS inverted microscope (Leica Microsystems CMS GmbH) and analyzed using the software Leica Application Suite Advanced Fluorescence (LAS AF). Samples were examined using oil immersion objective lenses (40x N.A. 1.25; 63x N.A. 1.40). Excitation was at 488 nm (FITC) and 543 nm (PI); emission signals were detected at 525 nm and 617 nm, respectively. CLSM images are presented as maximum intensity projections or single-plane images.

# Immunogold

C2C12 myoblasts and myotubes, grown in dishes with coverslips, were washed and immediately fixed *in situ* with 1% glutaraldehyde in 0.1 M phosphate buffer pH 7.4, for 40 minutes. Monolayers were partially alcohol dehydrated and embedded, directly on coverslips, in London Resin White (LRW) acrylic resin (TAAB, England, UK), at 0°C (Luchetti *et al.*, 2002). Coverslips were taken off by dipping in liquid nitrogen. Thin sectioning was preceded by the analysis of toluidine blue-stained semithin sections. Thin sections were collected on 400 mesh nickel grids.

For immunogold technique (Ferri *et al.*, 2009), after distilled water washing, grids were rinsed with BSA 0.1% and Tween 0.05% in 0.05 M Tris buffered saline 1 (TBS1) and treated with normal goat serum (NGS; Sigma; 1:20 in TBS1-BSA mixture), for 15 minutes at R.T. in the dark. Subsequently, samples were incubated with a mouse primary antibody against sarcomeric  $\alpha$ actinin (Sigma; 1:10 in the TBS1-BSA-Tween mixture), overnight at 4°C in the dark. The next day, samples were rinsed with the TBS1-BSA-Tween mixture, with BSA 0.1% in TBS1 and then with BSA 0.1% in 0.02 M Tris buffered saline 2 (TBS2); finally they were incubated with a 30 nm colloidal gold particle-conjugated goat anti-mouse secondary antibody (BBInternational; 1:25 in the TBS2+BSA mixture), for 1 hour at R.T.

Grids were finally stained with 3% uranyl acetate in distilled water and lead citrate, 1 minute each, and analyzed with a Philips CM10 transmission electron microscope.

# Conventional transmission electron

# microscopy

Cells were previously fixed for 40 minutes with 2.5% glutaraldehyde in 0.1 M phosphate buffer. Monolayers were additionally fixed with 1%  $OsO_4$ , for 1 hour, then they were alcohol dehydrated and embedded, directly on coverslips, in araldite. Coverslips were taken off as described above. Thin sectioning was preceded by the analysis of toluidine blue-stained semithin sections. Thin sections were stained with uranyl acetate and lead citrate and analyzed with a Philips CM10 electron microscope (Baldassarri *et al.*, 2011).

# **Results**

All samples showed a good cellular viability at IM, CLSM and TEM.

# Undifferentiated stage (T<sub>0</sub>)

At IM, myoblasts appear fusiform or starshaped, tightly adherent to the substrate and with a smooth surface; they have a central nucleus with prominent nucleoli (Figure 2A).

At CLSM, most myoblasts show a fairly uniform cytoplasmic labeling pattern, with punctate  $\alpha$ -actinin Z-bodies, apparently more concentrated in the perinuclear area (Figure 2B). Instead, a few myoblasts seem to have  $\alpha$ -actinin organized in filaments in close relationship with the plasma membrane (Figure 2C). In both cases, Z-disks are not visible yet. Moreover, in Figure 2C which represents a single-plane image, a certain nuclear labeling can be observed.

The punctate cytoplasmic localization of  $\alpha$ actinin, especially around the nuclear envelope (Figure 2D) and at the focal adhesions (Figure 2E), is confirmed by TEM analysis. Even immuno-



Figure 1. Schematic representation of the sarcomere structure:  $\alpha$ -actinin is shown, by arrows, in the Z-disks.

gold evidences a positivity inside the nucleus, which seems to be mainly located in the euchromatin domains (Figure 2F).

# Intermediate stage of differentiation $(T_1)$

After 4 days in differentiation medium, cells observed at IM appear more elongated compared to myoblasts and they begin to align themselves with each other. These early myotubes are still tightly adherent to the substrate, they show a smooth surface and a variable number of centrally placed nuclei (Figure 3A).

At CLSM, syncytia with few nuclei (2-5) reveal an intense labeling under the plasma membrane and at both ends, but filaments crossing the whole cell are rarely visible (Figure 3B). When the nuclei number increases (>5),  $\alpha$ -actinin filaments become evident along the cytoplasm and, sometimes, nascent Z-disks in the form of cytoplasmic streaks initially assembling below the plasma membrane, can be revealed (Figure 3C).

At TEM, it is possible to observe early myotubes with few nuclei and myofilament bundles clearly visible all along the cytoplasm, in a lateral position with respect to the centrally placed nuclei (Figure 3D). High magnification images reveal  $\alpha$ -actinin staining in these structures (Figure 3E) and just beneath the plasma membrane (Figure 3F). Some nuclear gold particles can also be observed.

# Differentiated stage (T<sub>2</sub>)

After 7 day of differentiation, myotubes cling to each other and, at IM, they appear elongated, with a regular membrane surface and numerous



Figure 2.  $T_0$ . (A) Myoblasts observed at IM; (B) maximum intensity projection of myoblasts observed at CLSM; (C) single-plan image at CLSM; (D-F) myoblasts observed at TEM, using the immunogold technique. A, B, C bar = 25 µm; D bar = 1 µm; E, F bar = 0.5 µm.



Figure 3. T<sub>1</sub>. (A) Early myotubes, after 4 days of differentiation, observed at IM; (B) single-plan image at CLSM; (C) maximum intensity projection at CLSM; (D-F) cells at intermediate stage of differentiation observed at TEM, using the immunogold technique. (*arrow*) Nascent Z-disks. A, C bar = 25  $\mu$ m; B bar = 50  $\mu$ m; D bar = 5  $\mu$ m; E, F bar = 1  $\mu$ m.

central nuclei disposed in a single or double row (Figure 4A).

At CLSM, they appear to be characterized by numerous longitudinal  $\alpha$ -actinin filaments crossing the cell (Figure 4B). The labeling is particularly marked just beneath the plasma membrane and at both cell ends; Z-disks are clearly visible in most myotubes (Figure 4C). It is noteworthy that in myoblasts that do not undergo differentiation and constitute the monolayer below myotubes,  $\alpha$ actinin labeling appear weak or even absent (Figure 4B).

Occasionally, myotubes reveal cytoplasmic areas not labeled (or weakly labeled), nor did they show PI staining. On the other hand,  $\alpha$ -actinin seems to be located along the outlines of this areas (Figure 4D). We can hypothesize that these structures are autophagic vacuoles. In fact, as we can see at TEM (Figure 4E), they contain cellular debris and membranous material.

In general, TEM observation of myotubes confirms the labeling under the plasma membrane and in the myofilament bundles (Figure 4F), although Zdisks are not clearly visible. Even at this stage we can observe a certain nuclear labeling.

# Discussion

Sarcomeric  $\alpha$ -actinin, together with several structural and signaling proteins, is fundamental to maintain proper muscle physiology. In particular, in skeletal muscle tissue it plays a pivotal role in providing structural integrity of the sarcomeres and in anchoring the latter to the plasma membrane; it also contributes to connect many other proteins involved in stretch sensing and signaling.

So, highlighting the multistep mechanisms that result in myofibril and Z-disk assembly is crucial to understand the complex interactions between Z-disk proteins and the molecular basis of the various Z-discopathies.

Our results reveal that in myoblasts ( $T_0$ )  $\alpha$ actinin is uniformly distributed throughout the cytoplasm; spot-like  $\alpha$ -actinin Z-bodies can be observed, but Z-disks are not yet visible. This is in accordance to the fact that in assembling premyofibril structures  $\alpha$ -actinin appears in the form of closely spaced dots and it is recruited to previously polymerized actin fibrils (Crawford and Horowits, 2011).

Few days after differentiation induction  $(T_1)$ ,

myoblasts become spindle-shaped and fuse together to form early myotubes with few nuclei. They show filamentous  $\alpha$ -actinin molecules, probably as a result of the lateral fusion of Z-bodies. At CLSM and TEM, the labeling is evident especially beneath the plasma membrane and at the cell ends, according to the fact that *de novo* sarcomere formation or new sarcomere addition in response to stretch or growth signals begin from the cell periphery (Crawford and Horowits, 2011). With the numerical increase of nuclei,  $\alpha$ -actinin becomes more evident and better organized and occasionally it forms nascent Z-disks.

After 7 days in differentiation medium, myotubes  $(T_2)$  appear intensely labeled;  $\alpha$ -actinin is arranged into longitudinal arrays across the cytoplasm and almost all myotubes show evident Z-disks at CLSM.

Since  $\alpha$ -actinin is responsible for sarcomere anchorage to the plasma membrane, probably this is why we observe an intense membrane labeling in each differentiation stage. So we can hypothesize that when differentiation is induced  $\alpha$ -actinin, which is uniformly distributed in myoblasts, links at first membrane-associated proteins, such as vinculin and integrins, then it forms punctate Zbodies, it aligns longitudinally across the cytoplasm and finally it links actin, nebulin and titin, thereby giving rise to the Z-disks.

 $\alpha$ -Actinin presence inside the nucleus has been observed, in this work, at all time points, both at CLSM and TEM; probably, this is related to  $\alpha$ actinin involvement in several signaling pathways (Lin *et al.*, 2010) and in chromatin remodeling (Young and Kothary, 2005) and to its role in the enhancement of nuclear receptor transcriptional activation (Huang *et al.*, 2004). Furthermore, this supports the idea that  $\alpha$ -actinin participates to signaling and transcription in each step of myogenic differentiation.

It is well known that during myogenic differentiation a portion of cells undergo spontaneous apoptosis; interestingly, myoblasts which do not undergo differentiation nor apoptosis and remain visible as a monolayer below myotubes, do not show  $\alpha$ -actinin labeling at CLSM. A probable explanation is that in these quiescent cells  $\alpha$ actinin organization undergoes involution, because it is no longer required. Furthermore, it will be interesting to confirm the presence of autophagic vacuoles, observed by means of both CLSM and TEM, in conjunction with  $\alpha$ -actinin



Figure 4.  $T_2$ . (A) Myotubes observed at IM; (B, D) maximum intensity projections of myotubes at CLSM; (C) single-plan image of myotubes at CLSM; (E) myotubes analyzed by means of conventional TEM; (F) myotubes observed at TEM, using the immunogold technique. (*arrow*) Z-disks; (*asterisk*) autophagic vacuoles. A, B, C, D bar = 25 µm; E bar = 2 µm; F bar = 0.5 µm.

labeling and to identify their content.

Altogether, our data outline a probable role for  $\alpha$ -actinin during Z-disk (and sarcomere) assembly, but further experiments are needed to better characterize this process at the molecular level. Moreover, it would be useful to test this research on skeletal muscle biopsies too, because myotubes constitute a differentiated and functional model but they are not muscle fibers yet.

The characterization of  $\alpha$ -actinin behavior during myogenic differentiation is of great importance, given also that a failure in the multistep process of Z-disks assembly could be involved in the pathogenesis of several Z-discopathies, like the nemaline rod myopathy.

# Acknowledgments

Mr. Oliviero Rusciadelli and Mr. Lorenzo Bedini are thanked for their skillful technical assistance.

The research was supported by Urbino University and by Italian Ministry of Education, University and Research (PRIN 2009).

# References

- Baldassarri V, Salucci S, Battistelli M, Burattini S, Canonico B, Papa S, et al. Preliminary data of C2C12 cell death induced by physical agents. Proceedings of the 34th Congress of the Italian Society of Histochemistry. Eur J Histochem 2011;55:22.
- Burattini S, Ferri P, Battistelli M, Curci R, Luchetti F, Falcieri E. C2C12 murine myoblasts as a model of skeletal muscle development: morpho-functional characterization. Eur J Histochem 2004; 48:223-33.
- Chiu C, Bagnall RD, Ingles J, Yeates L, Kennerson M, Donald JA, et al. Mutations in alpha-actinin-2 cause hypertrophic cardiomyopathy: a genome-wide analysis. J Am Coll Cardiol 2010;55:1127-35.
- Crawford GL and Horowits R. Scaffolds and chaperones in myofibril assembly: putting the striations in striated muscle. Biophys Rev 2011;3:25-32.
- D'Emilio A, Biagiotti L, Burattini S, Battistelli M, Canonico B, Evangelisti C, et al. Morphological and biochemical patterns in skeletal muscle apoptosis. Histol Histopathol 2010;25:21-32.
- Ferri P, Barbieri E, Burattini S, Guescini M, D'Emilio A, Biagiotti L, et al. Expression and subcellular localization of myogenic regulatory factors during the differentiation of skeletal muscle C2C12 myoblasts. J Cell Biochem 2009;108:1302-17.
- Gautel M. The sarcomeric cytoskeleton: who picks up the strain? Curr Opin Cell Biol 2011;23:39-46.
- Huang SM, Huang CJ, Wang WM, Kang JC, Hsu WC. The enhancement of nuclear receptor transcriptional activation by a mouse actin-binding protein, alpha actinin 2. J Mol Endocrinol 2004;32:481-96.
- Ilkovski B. Investigations into the pathobiology of thinfilament myopathies. Adv Exp Med Biol 2008;642: 55-65.

- Lattanzi G, Ognibene A, Sabatelli P, Capanni C, Toniolo D, Columbaro M, et al. Emerin expression at the early stages of myogenic differentiation. Differentiation 2000;66:208-17.
- Lek M, Quinlan KG, North KN. The evolution of skeletal muscle performance: gene duplication and divergence of human sarcomeric α-actinins. Bioessays 2009;32:17-25.
- Lin WS, Lu KM, Chung MH, Liu ST, Chen HH, Chang YL, et al. The subcellular localization and protein stability of mouse alpha-actinin 2 is controlled by its nuclear receptor binding motif in C2C12 cells. Int J Biochem Cell Biol 2010;42:2082-91.
- Luchetti F, Burattini S, Ferri P, Papa S, Falcieri E. Actin involvement in apoptotic chromatin changes of hemopoietic cells undergoing hyperthermia. Apoptosis 2002;7:143-52.
- Luchetti F, Canonico B, Della Felice M, Burattini S, Battistelli M, Papa S, et al. Hyperthermia triggers apoptosis and affects cell adhesiveness in human neuroblastoma cells. Histol Histopathol 2003; 18:1041-52.
- Otey CA, Carpen O.  $\alpha$ -Actinin revisited: a fresh look at an old player. Cell Motil Cytoskeleton 2004;58:104-11.
- Salucci S, Battistelli M, Burattini S, Squillace C, Canonico B, Gobbi P, et al. C2C12 myoblast sensitivity to different apoptotic chemical triggers. Micron 2010;41:966-73.
- Sjöblom B, Salmazo A, Djinovi-Carugo K.  $\alpha$ -Actinin structure and regulation. Cell Mol Life Sci 2008; 65:2688-701.
- Young KG, Kothary R. Spectrin repeat proteins in the nucleus. Bioessays 2005;27:144-52.

# Diaminobenzidine photoconversion allows detection of fluorescently-labelled nanoparticles at transmission electron microscopy after embedding in epoxy and acrylic resins

B. Cisterna, <sup>1</sup>\* M. Costanzo, <sup>1,2</sup>\* M. Giagnacovo, <sup>3</sup> V. Galimberti, <sup>3</sup> M. Malatesta, <sup>1</sup> C. Zancanaro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurological, Neuropsychological, Morphological and Movement Sciences, University of Verona, Italy

<sup>2</sup>Consorzio Intéruniversitario Nazionale per la Scienza e la Tecnologia dei Materiali (INSTM) <sup>3</sup>Department of Biology and Biotechnology, Laboratory of Cell Biology, University of Pavia, Italy

\*These authors contributed equally to the work

Corresponding author: Dr. Barbara Cisterna Dipartimento di Scienze Neurologiche, Neuropsicologiche, Morfologiche e Motorie, Università di Verona, Strada Le Grazie, 8 37134 Verona, Italy. Tel. +39.045.8027157 - Fax: +39.045.8027163 E-mail: bacys79@gmail.com

# Summary

Photoconversion is a correlative technique used to combine the capabilities of conventional light microscopy with the high spatial resolution and fine specific localization provided by transmission electron microscopy. In fact, photoconversion allows to translate fluorescence signals into electron-dense diaminobenzidine (DAB) deposits which are detectable in ultrastructural analysis. In this view, photoconversion may have promising application as a method for detecting fluorescently-labelled nanoparticles (NPs); in fact, the intracellular localization of NPs may elucidate the dynamic process of cell internalization, as well as their organelle targeting and final fate. Our previous study showed that photoconversion can be used to track the intracellular location of fluorescently-labeled chitosan NPs in Epon embedded samples. In this work we verify whether photoconverted samples can be suitably processed to transmission electron microscopy not only for morphological analysis but also for immunocytochemistry. Cells loaded with fluorescent NPs in vitro were fixed with aldehydes and photoconverted, and embedded in either epoxy or acrylic resins. Results demonstrate that specimens embedded in acrylic resin were of sufficiently high quality in terms of organelle preservation and definition while having much higher potential for cytochemical analyses than the samples embedded in epoxy resins for pure morphology.

# Introduction

Photoconversion is a correlative technique used in order to combine the capabilities of light microscopical method with the unique power of resolution of Transmission Electron Microscopy (TEM).

Plugging the gap between these two microscopy techniques (Garini *et al.*, 2005; Heintzmann and Ficz, 2006; Sartori *et al.*, 2007), photoconversion allows to translate fluorescence signals into elec-

tron-dense diaminobenzidine (DAB) deposits which are detectable with ultrastructural analysis. In fact, illumination with high energetic light oxidizes the fluorescent dye with the production of a stable DAB reaction product (Sosinsky *et al.*, 2007), which appears as a fine granular precipitate at the sites where the fluorescent marker was located. Thus, the information that can be obtained with conventional light microscopy is completed by the high spatial resolution and fine specific localization provided by TEM.

conventional epoxy resin-embedded samples.

# Maranto (1982) first realized the photoconversion of a non-stable fluorescent marker molecule **Materials and Methods**

oped for neuronal mapping through the injection **Cell cultures** of lucifer-yellow in neurons, this method has been Bat neuron

Rat neuronal B50 cells were cultured in Dulbecco Modified Eagles Medium (DMEM) supplemented with 10% (v/v) fetal calf serum, 1% (w/v) glutamine, 100 U of penicillin and 100 µg/mL streptomycin (Celbio, Milan, Italy), at 37°C in a 5% CO<sub>2</sub> humidified atmosphere. Cells were trypsinized when subconfluent and seeded on glass coverslips in 12 multiwell dishes ( $5\times10^3$  cells per well) for the following fluorescence and TEM preparations. Two days after seeding, the initial medium was replaced with 450 µL of fresh medium plus 50 µL of a suspension of FITC-labelled chitosan NPs (Colonna *et al.*, 2008). The incubation time with NPs varied from 10 min to 24 h.

# Diaminobenzidine (DAB)-photoconversion

B50 cells on coverslips were fixed with 2.5% (v/v) glutaraldehyde and 2% (v/v) paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4, at 4°C for 1 h, and then DAB-photoconversion was performed as follows: cells were washed and incubated with 3,3' diaminobenzidine (20 mg/10 mL in Tris HCl 0.05 M, pH 7.6) under simultaneous irradiation with two 8W Osram Blacklite 350 lamps for 2 h at room temperature (these lamps emits with high intensity in the spectral range between 430 and 470 nm, thus being suitable for FITC excitation).

# Transmission electron microscopy (TEM)

Some DAB-photoconverted cells were washed with phosphate buffered saline (PBS) and then post-fixed with 1% OsO<sub>4</sub> at room temperature for 1 h. The cells were then dehydrated with acetone and embedded in Epon 812. As controls, some samples were processed as described above but omitting both DAB incubation and exposure to the excitation light.

Some other DAB-photoconverted cell samples, after washing in PBS, were dehydrated with ethanol and embedded in LRWhite resin.

Ultrathin sections (80-100 nm) were cut with an Ultracut E Ultramicrotome (Reichert, Wien, Austria), transferred to copper grids, weakly stained with 2.5% aqueous solution of uranyl

particle-base probes, in addition to classical fluorochromes (Giepmans *et al.*, 2006; Sosinsky *et al.*, 2007). Therefore, the fundamental evidence of the immunofluorescence localization of molecules, as well as of their transport pathways and dynamics in living cells (Giepmans *et al.*, 2006; Lippincott-Schwartz and Patterson, 2003; Yuste, 2005; Jyoti *et al.*, 2004) can be integrated by TEM through a detailed characterization of the subcellular structures where the molecules of interest move, interact and carry out their specific function.

into an insoluble stable product. Originally devel-

broadly extended to a wide spectrum of fluores-

cent probes (Sandell and Masland, 1988; Von

Bartheld et al., 1990; Lubke, 1993) including fluo-

rescent proteins, quantum dots and enzyme- or

In this view, photoconversion may have promising application as a method for detecting fluorescently-labelled nanoparticles (NPs): the intracellular localization of NPs may, in fact, helps elucidating the dynamic process of cell internalization, as well as their organelle targets and final fate. Taking into account the growing importance of NPs for their potential application in drug delivery, medical imaging and tissue engineering, the possibility of visualizing NPs in an ultrastructural snap-shot opens amazing perspectives to the investigator; the simultaneous application of fluorescently-labeled nanoparticles photoconversion and immunocytochemistry at TEM would significantly increase the potential of this in situ approach, allowing to analyze the molecular factors involved in different cellular mechanisms of NPs handling.

The aim of this investigation was to verify whether cultured cells containing photoconverted NPs can be processed to allow morphological analysis and ultrastructural immunocytochemistry at a time. To do this, cell samples loaded with fluorescent NPs were fixed with aldehydes and photoconverted, and embedded in acrylic resin: sections from these specimens proved to be of sufficiently high quality, in term of organelle preservation and definition, while having much higher potential for cytochemical analyses than acetate for 2 min and observed in a Philips Morgagni transmission electron microscope (FEI Company Italia Srl, Milan, Italy) operating at 80kV. The microscope was equipped with a Megaview II camera for digital image acquisition.

# **Results**

Photoconverted B50 cells embedded in resins especially suitable for either ultrastructural morphology (Epon) or immunohistochemistry (LRWhite) were observed.

After incubation with DAB and irradiation with high energetic lamps before embedding, NPs were easily recognized in the cytoplasm by the electrondense product of DAB photoconversion. This typical granular precipitate was specifically and exclusively located on NPs, which appeared as roundish electron-dense structures occurring in the cytoplasm of cells embedded in epoxy (Figure 1a-b) as well as acrylic (Figure 1c-d) resin. No reaction product was ever observed over organelles or free in the cytosol.

In epoxy resin-embedded specimens (Figure



Figure 1. Transmission electron micrographs of B50 cells fixed with aldehydes and post-fixed in osmium tetroxide, and embedded in Epon (a, b) or fixed with aldehydes and embedded in LRWhite (c, d). The NPs (*arrows*), located in the cell cytoplasm (Cy), are detected as electron-dense roundish structures stained by the granular reaction product of DAB photoconversion in both Epon and LRWhite samples. N: nucleus; m: mitochondria. Scale bars: 200 nm.

1a), NPs were unequivocally recognized in a wellpreserved cytoplasm, showing that photoconversion did not damage cell ultrastructure. The nuclear envelope and the inner and outer mitochondria membranes were well preserved due to the post-fixation with osmium tetroxide. Figure 1b shows at a higher magnification the fine granular reaction deposits on the NPs.

In the LRWhite embedded-specimens NPs were clearly detectable thanks to the electron-dense DAB precipitates (Figure 1c-d), and the overall cell morphology was good: despite the lack of osmium tetroxide, the nucleus and the other membrane-bounded cytoplasmic organelles can be easily recognized after uranyl staining (Figure 1c).

In the control samples where DAB incubation and/or light exposure were omitted we never found DAB reaction product (*not shown*).

# **Discussion**

Photoconversion is a unique technique to plug the gap between fluorescence microscopy and electron microscopy. In fact, the former allows to study the localization and function of molecular components, even providing dynamic data on the cell mechanisms in living cells, but it is unable to reveal the ultrastructural context. On the contrary, TEM reveals fundamental data on the cell complexity and the relationships between the molecules of interest and subcellular structures in a correlative image.

Upon illumination, most fluorophores generate oxidizing chemical species such as free oxygen radicals that can locally photo-oxidize DAB (Giepsman *et al.*, 2006), yielding a stable electrondense precipitate. The half-life of these oxidizing chemical species is very short (from 1 ns to 1  $\mu$ s) with a mobility between 1 to 30 nm (Karuppanapandian *et al.*, 2011): thus DAB deposits do localize in close proximity of the real place where photoactive molecules elicited the production of reactive oxygen species upon light irradiation. Precise spatial localization of DAB deposits is allowed by transmission electron microscopy.

Aldehyde fixation preserves a good morphology and signal specificity, and stabilizes the tissue thus reducing the risk of diffusion of the photoconversion reaction products (Deerinck *et al.*, 1994). Moreover, it may be hypothesized that the structure of chitosan NPs itself contributes retaining the DAB precipitates, improving detectability. In addition, using our fixation and embedding procedures we did never observe any interference from the potentially disturbing endogenous oxidative activity of organelles such as peroxisomes or mitochondria (Dantuma *et al.*, 1998; Tabas *et al.*, 1990).

As Malatesta *et al.* (2012) already reported, photoconversion can be used to track the intracellular location of fluorescently-labeled chitosan NPs in Epon embedded samples. Our results confirm and extend this observation: the exposure to osmium tetroxide after photoconversion enhances the electron density of the DAB deposits on the NPs, at the same time making the plasmalemma and all the intracellular membrane systems easily recognizable.

As a fully original finding, we also observed that the photoconversion products on NPs can unambiguously be detected in LRWhite embedded samples: this is extremely interesting since these samples may suitably be used for immunolabelling with specific antibodies thus paving the way to refined molecular investigations. The concomitant application of photoconversion and immunohistochemical techniques will represent an especially penetrating tool for studying the internalization pathways of NPs, their time of permanence and the dynamics of degradation within the cell and, even more important, their interaction with specific organelles which could become the targets for mechanistically oriented treatments.

# Acknowledgments

This work was supported by Fondazione Cariverona, project Verona Nanomedicine Initiative. M.G. and V.G. are PhD students in receipt of a fellowship from the Dottorato di Ricerca in Biologia cellulare and in Genetics,

## References

- Colonna C, Conti B, Perugini P, Pavanetto F, Modena T, Dorati R, *et al.* Ex vivo evaluation of prolidase loaded chitosan nanoparticles for the enzyme replacement therapy. Eur J Pharm Biopharm 2008; 70:58-65.
- Dantuma NP, Pijnenburg MA, Diederen JH, Van Der Horst DJ. Electron microscopic visualization of receptormediated endocytosis of DiI-labelled lipoproteins by diaminobenzidine photoconversion. J Histochem Cytochem 1998;46:1085-90.
- Deerinck TJ, Martone ME, Lev-Ram V, Green DP, Tsien RY, Spector DL, et al. Fluorescence photooxidation with eosin: a method for high resolution immunolocalization and in situ hybridization detection for light and electron microscopy. J Cell Biol 1994; 126:901-10.
- Garini Y, Vermolen BJ, Young IT. From micro to nano: recent advances in high resolution microscopy. Curr Opin Biotechnol 2005;16:3-12.
- Giepmans BNG, Adams SR, Ellisman MH, Tsien RY. The fluorescent toolbox for assessing protein location and function. Science 2006; 312:217-24.
- Heintzmann R, Ficz G. Breaking the resolution limit in light microscopy. Brief Funct Genomic Proteomic 2006;5:289-301.
- Jyoti K, Simon J, Simon SM. Potential and pitfalls of fluorescent quantum dots for biological imaging. Trends Cell Biol 2004;14:497-504.
- Karuppanapandian T, Moon J-C, Kim C, Manoharan K, Kim W. Reactive Oxygen Species in Plants: Their Generation, Signal Transduction, and Scavenging Mechanisms. Aust J Crop Sci 2011;5:709-25.
- Lippincott-Schwartz J, Patterson GH. Development and use of fluorescent protein markers in living cells.

Science 2003;300:87-91.

- Lubke J. Photoconversion of diaminobenzidine with different fluorescent neuronal markers into a light and electron microscopic dense reaction product. Microsc Res Tech 1993;24:2-14.
- Malatesta M, Giagnacovo M, Costanzo M, Conti B, Genta I, Dorati R, et al. Diaminobenzidine photoconversion is a suitable tool for tracking the intracellular location of fluorescently labeled nanoparticles at transmission electron microscopy. Eur J Histochem 2012;56:123-8.
- Maranto AR. Neuronal mapping: a photooxidation reaction makes Lucifer yellow useful for electronmicroscopy. Science 1982;217:953-5.
- Sandell JH, Masland RH. Photoconversion of some fluorescent markers to a diaminobenzidine product. J Histochem Cytochem 1988;36:555-9.
- Sartori A, Gatz R, Beck F, Rigort A, Baumeister W, Plitzko JM. Correlative microscopy: bridging the gap between fluorescence light microscopy and cryoelectron tomography. J Struct Biol 2007;160:135-45.
- Sosinsky GE, Giepmans BNG, Deerinck TJ, Gaietta GM, Ellisman MH. Markers for correlated light and electron microscopy. Meth in Cell Biol 2007;79:575-91.
- Tabas I, Lim S, Xu XX, Maxfield FR. Endocytosed & VLDL and LDL are delivered to different intracellular vesicles in mouse peritoneal macrophages. J Cell Biol 1990;111:929-40.
- Von Bartheld CS, Cunningham DE, Rubel EW. Neuronal tracing with DiI: decalcification, cryosectioning, and photoconversion of light and electron microscopic analysis. J Histochem Cytochem 1990;38:725-33.
- Yuste R. Fluorescence microscopy today. Nat Methods 2005;2:902-4.

# Atomic structure and crystallographic shear planes in epitaxial TiO<sub>2</sub> anatase thin films

R. Ciancio,<sup>1</sup> A. Vittadini,<sup>2</sup> A. Selloni<sup>,3</sup> C. Aruta,<sup>4</sup> U. Scotti di Uccio,<sup>4</sup> G. Rossi,<sup>1,5</sup> E. Carlino<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CNR-IOM TASC Area Science Park, Basovizza 34149 Trieste, Italy

<sup>2</sup>CNR-ISTM and CR-INSTM "Village", c/o Department of Chemical Sciences, University of Padova, Italy
 <sup>3</sup>Department of Chemistry, Princeton University, Princeton, NJ 08544, USA
 <sup>4</sup>CNR-SPIN and Department of Physical Sciences, University of Napoli, 80126 Napoli, Italy
 <sup>5</sup>Department of Physics, University of Milano, 20100 Milano, Italy

Corresponding author: Regina Ciancio CNR-IOM, TASC Laboratory Area Science Park, Basovizza S.S. 14 Km 163.5, 34149 Trieste, Italy Tel. +39.040.375.6467 - Fax: +39.040.226767 E-mail: ciancio@iom.cnr.it

# Summary

We report on the high resolution transmission electron microscopy (HRTEM) and high angle annular dark field scanning transmission electron microscopy (HAADF-STEM) study of TiO<sub>2</sub> anatase thin films grown by pulsed laser deposition on LaAlO<sub>3</sub> substrates. The analysis provides evidence of a peculiar growth mode of anatase on LaAlO<sub>3</sub> that is characterized by the formation of an epitaxial layer at the film/substrate interface. In particular, the film is split into two adjacent slabs of about 20 nm each, both displaying the same Bravais lattice compatible with the anatase tetragonal cell. The formation of two different families of crystallographic shear (CS) superstructures is observed within the film, namely (103)- and (101)-oriented CS plane structures, occurring in the outer film region and in proximity of the film/substrate interface, respectively. HAADF analysis and Energy Dispersive Spectroscopy highlight the occurrence of Al interdiffusion from the substrate into the film region. By combining HRTEM results, image simulation techniques and DFT calculations we determine the atomic structure of the CS planes, and show that they are cubic-TiO-based structures analogous to the Ti<sub>n</sub>O<sub>2n-1</sub> Magnéli phases derived from rutile.

Key words: anatase, composition, segregation, defects and impurities, HRTEM, HAADF.

# Introduction

Transition metal oxides form a broad and diverse class of materials (Rao and Raveau, 1998; Henrich and Cox, 1994) in which TiO<sub>2</sub> holds a prominent role for its unique physico-chemical properties and promising technological applications, ranging from photocatalysis and solar energy conversion to electrodes for regenerative fuel cells and memresistor switching memories (Weinberger and Garber, 1995; Chen and Yang, 1993; Jellison et al., 1997, Chen et al., 2002; Szot et al., 2011). The most common TiO<sub>2</sub> crystalline phases are rutile and anatase. Both structures can be described in terms of a tetragonal lattice where the basic building block consists of chains of distorted TiO<sub>6</sub> octahedra. Their physical and chemical behaviors show significant differences however (Ganduglia-Pirovano et al., 2007). In particular, rutile is the thermodynamically stable bulk phase, whereas anatase is stable in nanomaterials and has a higher photocatalytic activity (Chambers, 2010). Over the last decades, extensive studies have been made to obtain thin film anatase single crystals via a variety of methods (Chambers, 2010; Chang et al. 1991; Murakami et al., 2001; Yamamoto et al., 2001; Lotnyk et al., 2007; Weng et al., 2008; Wang et al., 2010) and on a wide variety of substrates, the choice of these last being of primary importance to obtain high quality thin films. Among all substrates used, LaAlO3 (LAO) is considered an ideal candidate, because of the relatively small lattice mismatch (about 0.2%) (Murakami et al., 2001; Yamamoto et al., 2001; Lotnyk et al., 2007; Weng et al., 2008; Wang et al., 2010; Kennedy and Stampe, 2003) that is a prerequisite to obtain anatase thin films of good crystalline quality with clean and sharp TiO<sub>2</sub>/LAO heterointerfaces. To date, in spite of the impressive advances in the heteroepitaxial growth of TiO2, a detailed understanding of the functional properties of the binary material is still lacking, mainly because they are strongly related to the presence and type of defects. A systematic investigation of defects requires a careful characterization of microstructure and of local chemical properties both of the film and of the film/substrate interface. The interfacial microstructures of TiO<sub>2</sub>/LAO have been previously investigated, (Murakami *et al.*, 2001; Weng *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2010); however, the understanding of the film growth modes is still far from being complete. In this context, high-resolution cross-sectional TEM provides a unique opportunity to ascertain the presence of structural defects at the atomic scale and to follow the evolution of the nanostructure across the growth direction.

In this work, we provide a full characterization of the nanostructure and of the type of defects in epitaxial anatase  $TiO_2$  thin films grown on (001) LAO substrates. By resorting to cross-sectional high resolution transmission electron microscopy (HRTEM) and high angle annular dark field (HAADF) scanning TEM (STEM) analyses, we determine the nanostructural assessment of the TiO<sub>2</sub> films versus growth direction and draw conclusions on the role of atomic interdiffusion from the substrate towards the film. In particular, we show the existence of two different growth modes within the TiO<sub>2</sub> films resulting in the formation of two adjacent slabs characterized by two distinct Magnélilike superstructures. By combining HRTEM experiments, HRTEM image simulation techniques, and density functional theory (DFT) calculations we determined the atomic structure of the two superlattices and investigated the thermodynamic stability of these superstructures as a function of the oxygen supersaturation during film growth.

# **Materials and Methods**

TiO<sub>2</sub> films were deposited by pulsed laser deposition on (001) LAO substrate held at 700°C in a 10<sup>-1</sup> mbar oxygen atmosphere. A KrF excimer laser beam (248 nm, 25 ns duration full width half maximum) was focused on a stoichiometric target with a fluence of  $2J\times$ cm<sup>-2</sup>. The growth process was monitored in situ by reflection high-energy electron diffraction (RHEED), by taking sequences of diffractions at different stages of the growth.

Cross-sectional samples in the [010]  $\text{TiO}_2$  zone axis suitable for TEM/STEM analyses have been obtained by a conventional polishing technique followed by dimpling and ion milling. The ion mill process was performed following a well-established protocol to avoid preferential sputtering at the substrate/film interface (Carlino, 2008). TEM/STEM experiments were performed using a TEM/STEM JEOL 2010 UHR field emission gun microscope operated at 200 kV with a measured spherical aberration coefficient  $C_s$ =(0.47±0.01) mm. The microscope is equipped with an Oxford system for energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS) studies. HAADF images were acquired using an illumination angle of 12 mrad and a collection angle 88≤2 $\theta$ ≤234 mrad. HRTEM image simulations were performed by JEMS simulation package program (Stadelmann, 2006).

DFT calculations were performed using the Perdew-Burke- Ernzerhof (Perdew et al., 1996) parametrization of the generalized gradient approximation (GGA), both without and with the inclusion of onsite Coulomb repulsion U on the Ti 3d states (Anisimov et al., 1991). For the latter, the computed (Cococcioni and deGironcoli, 2005) value U = 3.5eV was employed. We adopted the plane-wave pseudopotential scheme as implemented in the QUANTUM ESPRESSO package (Giannozzi et al., 2009) with the computational setup extensively tested in Ref. (Marzari et al., 1999) For the GGA+U calculations, we used the GGA-optimized lattice constants but reoptimized the internal degrees of freedom. More details on the calculations are in Ref (Ciancio et al., 2012).

# **Results and Discussion**

A representative overview of the TiO<sub>2</sub>/LAO crosssectional region is given in the bright field image of Figure 1a obtained under multi-beams conditions with the primary electron beam parallel to the [010] crystal direction of the film. From this figure, one can see that substrate surface is rather flat and it is entirely covered by the anatase TiO<sub>2</sub> for a thickness of about 40 nm, as expected from the deposition process. More interestingly, the bright field TEM image shows that the film is divided into two adjacent regions of about 20 nm thicknesses each (hereafter called I and II) running parallel to the [100] LAO crystallographic direction and characterized by different diffraction contrast. Diffractograms computed over several areas of the two regions reveal no differences between the Bravais lattice of I and II, both being compatible with the anatase

tetragonal cell. At a closer inspection, HRTEM shows that the two slabs are characterized by a modulated structure typical of the existence of crystallographic shear (CS) planes. In particular, two different groups of CS planes can be identified: majority CS planes with approximately 1.3-nm spacing and forming an angle  $\phi_{\alpha}=38^{\circ}$  with the [100] direction, in the outer film region whereas minority planes having  $\sim 2.0$  nm spacing and forming an angle  $\phi_{\beta}=68^{\circ}$  with [100], in proximity of the film/substrate interface. Diffractograms taken over the two CS regions and displayed in Figure 1c,d, respectively, show a typical multiple-peak pattern, which indicates a superstructure-like behavior originating from the CS planes in the film and defining two new superlattices. In each diffractogram, the distance between the spots [red and green arrows in Figure 1c,d, respectively] is strictly related to the 1.3- and 2.0-nm periodicity of the TiO<sub>2</sub>-modulated structure. The arrowed peaks can thus be interpreted as satellite peaks of the  $d_{hkl}$  superlattices. The normal to the  $(hkl)_A$  shear planes lies along the  $c^*$  direction of the new superlattices and it is given, for a phase  $Ti_nO_{2n-1}$ , by the relation  $c^*=nd_{hkl}^*$ .

Recurrent CS planes have been previously observed in slightly reduced  $TiO_{2-x}$  rutile systems and attributed to the occurrence of oxygen vacan-

cies within the samples. In particular, at low concentration  $(x < 10^{-4})$  the oxygen vacancies are initially accommodated as point defects. At greater reduction, CS planes are formed and point defects eliminated. A great example is represented by the mixedvalence  $Ti_n O_{2n-1}$  Magnéli phases which are stable for intermediate stoichiometries between  $Ti_2O_3$  and TiO<sub>2</sub> (Magnéli, 1978; Thomas, 1984). Available investigations on reduced TiO<sub>2-x</sub> phases have generally focused on rutile, where Magnéli phases have been detected and extensively characterized both experimentally and theoretically (Bursill et al., 1969; Bursill and Hyde, 1971; Anderson and Tilley, 1970; Bursill and Blanchin, 1984; Leonov et al., 2006; Liborio and Harrison, 2008; Liborio et al., 2009). The nature of similar CS structures in anatase is largely unknown, though experimental evidence of their existence has been reported previously (Chambers et al., 2002b). Starting from the HRTEM results, we built two  $Ti_n O_{2n-1}$  (n=6) superstructures by removing either (101) or (103) layers of O atoms in the anatase structure. In analogy with the Ti<sub>n</sub>O<sub>2n-1</sub> Magnéli phases of rutile, the microstructure of the two superstructures consists of alternate slabs of oxidized (TiO<sub>2</sub>) and reduced (TiO) stoichiometry (see Figure 2), but extra Ti interstitials can be easily accommodated. In fact, DFT results indicate that phases of Ti<sub>7</sub>O<sub>11</sub> stoi-



Figure 1. (a) Bright field TEM image of the TiO<sub>2</sub>/LAO film in the [010] TiO<sub>2</sub> zone axis showing the splitting of the film into adjacent regions (I and II) with different diffraction contrast. (b) HRTEM image of the TiO<sub>2</sub>/LAO interfacial region, taken in the [010] zone axis, of the film showing the presence of two types of modulations characterized by different spacing (d<sub>101</sub> and d<sub>103</sub>). Diffractograms taken over the region containing (c) (103) and (d) (101) CS planes. The satellite peaks around the (000) reflection are indicated by arrows in the two diffractograms.

chiometry are particularly favored. Nevertheless, the latter is preferentially formed in the region close to the interface due to the smaller lattice mismatch with substrate (Ciancio *et al.*, 2012). It is remarkable that the separation between the two CS regions coincides with the critical thickness, t ~20 nm, at which the growth mode of the TiO<sub>2</sub> films changes.

We used the optimized structural models described above to simulate HRTEM images of the two CS regions directly comparable to the experimental ones. Figure 3a shows a HRTEM image focused at the (103) CS region. Throughfocus/through-thickness series of images were calculated for a range of crystal thickness and TEM objective lens defocus values in the [001] zone axis of the modeled structures. By matching the characteristics of the experimental images with these simulations, it was possible to find the thickness/defocus window in which the details of the CS planes are reproduced by the simulation. The best image matching was obtained at 6 nm thickness and 74-nm underfocus values. We draw attention to the following special features of the images, which have been considered important for image matching:

- Brighter contrast fringes occur at the CS planes. These have approximately 1.3 nm spacing and are inclined 38° with respect to the [100] direction of the anatase film.
- Dark low-contrast is observed between the CS planes.
- The most intense white spots occur midway within the CS planes.

The good agreement between the resulting simulated image (Figure 3b) and the experimental one confirms that the structure of the film is well described by the theoretical model. The line profiles across the intensity maxima measured along the relevant segments in the experimental and simulated images are shown in Figure 3c,d, respectively.

The comparison between the HRTEM experimental image and the simulated image of the (101) CS model is shown in Figure 4. Although the orientation and spacing of the (101) CS planes in the theoretical model agree with the experimental ones, a discrepancy is observed in the linear arrangement of the brighter contrast spots running along the long vector of the monoclinic model cell, which coincides with the [100] anatase direction. Indeed, line scan profiles taken across the intensity maxima in the simulated image show a discontinuous spacing between the bright contrast spots, whereas in the HRTEM image the intensity maxima constantly repeat over distances comparable to the long vector of the monoclinic cell. Such a discrepancy may be related to the Al interdiffusion between the substrate and the film region that we measured over the first 20 nm of the films by scanning TEM and HAADF and Energy dispersive spectroscopy.

Figure 5 shows a typical HAADF-STEM image of



Figure 2. (a) wire-frame model of the anatase- $TiO_2$  structure viewed down the [010] direction; the O atoms removed in the formation of a (103) and (101) CS plane are highlighted in the structure. (b)-(d) Ball models of the anatase- TiO<sub>2</sub> structure and of the  $Ti_6O_{11}$  optimized superstructures formed by (103) and (101) CS planes, respectively. All structures are viewed down the [010] anatase direction. White lines indicate CS planes, and black lines indicate the projected unit cell, *i.e.*, the conventional body-centered tetragonal cell for anatase and the base-centered monoclinic cells for the superstructures. Large and small spheres are oxygen and titanium ions, respectively. Ions at the CS planes are shown in color to highlight the local structure.



Figure 3. (a) HRTEM image focused at the film region containing (103) shear planes and taken in the [010] zone axis of the anatase film. (b) Simulated image obtained from the (103) CS modeled structure obtained at 6 nm thickness and 74-nm underfocus values. Line scans across image intensity maxima calculated along the line of the (c) experimental and (d) simulated image.



Figure 4. (a) HRTEM image focused at the film region containing (101) shear planes and taken in the [010] zone axis of the anatase film. (b) Image simulation calculated from the (101) CS modeled structure obtained at 6 nm thickness and 74-nm underfocus values. Line scans across phase maxima calculated along the line of the (c) experimental and (d) simulated image.

the TiO<sub>2</sub>/LAO interfacial region. Contrast variations are seen between the two slabs of the film. Since STEM dark field experiments produces images whose contrast is approximately proportional to the square of the average atomic number of the illuminated area (brighter contrast being associated with heavier elements), we can conclude that the region close to the substrate has a higher density compared to the outer region of the film. EDS analysis performed across the overall film/substrate interfacial region reveals indeed an Al diffusion from the substrate towards the film which runs out after the first 20 nm. Cationic interdiffusion has been observed also in TiO<sub>2</sub> anatase thin films deposited on SrTiO<sub>3</sub> substrates and has been addressed as a consequence of a peculiar reactivity of TiO<sub>2</sub> anatase with perovskite substrates (Ciancio, 2012b). The observation of a (101) CS-like structure in the region closest to the interface poses intriguing questions on the for-



Figure 5. (Upper panel) HAADF/STEM image of the TiO<sub>2</sub>/LAO interfacial region. (Lower panel) EDS elemental profile of Al acquired on the area displayed in the image.

mation energies of the shear structures in relation with the growth modes of the film and on the capability of the (101) CS structure in driving  $Al^{3+}$  ions diffusion below the critical thickness of the film. The elucidation of the structure of the (101) CS region close to the interface requires, in addition to the work done for the pure phase, the determination of the density of Al impurities and their localization. This refinement is a work in progress and represents a challenge for future investigations.

# Conclusions

In summary, we investigated the nanostructural arrangement of anatase TiO2 thin films on LAO substrates. HRTEM, HAADF and EDS analyses unveiled the existence of two different types of defective regions within the film nanostructure characterized by interdiffusion phenomena connected to a peculiar reactivity of TiO<sub>2</sub> with perovskite substrates. By combining image simulations and first principle calculations, we demonstrated that both consist of defective phases of TiO<sub>2</sub> anatase with Ti<sub>6</sub>O<sub>11</sub> stoichiometry, each characterized by shear planes with different crystallographic orientation and interstitial Ti inclusions. Their microstructure consists of alternate slabs of anatase and of [Ti<sub>2</sub>O<sub>3</sub>] blocks, resembling the Magnéli phases of rutile. We investigated the phase diagrams of these structures, determining their stability vs. alternative defective structures at different Oxygen chemical potentials. The results allowed to understand how (103) CS are prevalent in the film bulk, while (101) are mostly observed close to the interface with the substrate due to a better epitaxial matching. These results pave the way towards the optimization of manufacturing technologies based on anatase by the control of oxygen vacancies and to the technological application of Magnéli phases in anatase.

# **Acknowledgments**

We thank E. Cociancich for the assistance in the TEM specimen preparation. R.C.'s research activity has received funding from the European Community's Seventh Framework Programme 2007-2011 under grant agreement no.212348 NFFA and Progetto strategico NFFA (fondi-MIUR).

# References

- Anisimov VI, Zaanen J, Andersen OK. Band theory and Mott insulators: Hubbard U instead of Stoner I. Phys Rev B 1991;44:943-54.
- Carlino E, in Beam Injection Based nanocharacterization of advanced materials, ed. Salviati G, Sekiguchi T, Heun S, Gustafsson A, Research Signpost 37/661 Fort P.O. Trivandrum-695 023, Kerala, India, 2008, p. 237.
- Chambers SA. Epitaxial growth and properties of doped transition metal and complex oxide films. Adv Mater 2010;22:219-48.
- Chambers SA, Wang CM, Thevuthasan S, Droubay T, McCready DE, Lea AS. Epitaxial growth and properties of MBE-grown ferromagnetic Co-doped TiO2 anatase films on SrTiO3(001) and LaAlO3(001). Thin Solid Films 2002;418:197-210.
- Chang HLM, You H, Guo J, Lam DJ. Epitaxial TiO2 and VO2 films prepared by MOCVD. Appl Surf Sci 1991;4849:12-8.
- Chen JP, Yang RT. Selective Catalytic Reduction of NO with NH3 on SO–24/ TiO2 Superacid Catalyst. J Catal 1993;139:277-88.
- Chen G, Bare SR, Mallouk TE. Development of supported bifunctional electrocatalysts for unitized regenerative fuel cells. J Electrochem Soc 2002;149: A1092-9.
- Ciancio R, Carlino E, Rossi G, Aruta C, Scotti di Uccio U, Vittadini A, et al. Magnéli-like phases in epitaxial anatase TiO2 thin films, Phys Rev B 2012;86:104110.
- Ciancio R, Carlino E, Aruta C, Maccariello D, Granozio FM, Scotti di Uccio U. Nanostructure of buried interface layers in TiO2 anatase thin films grown on LaAlO3 and SrTiO3 substrates. Nanoscale. 2012;4:91-4.
- Cococcioni M, deGironcoli S. Linear response approach to the calculation of the effective interaction parameters in the LDA+U method. Phys Rev B 2005; 71:035105.
- Ganduglia-Pirovano MV, Hofmann A, Sauer J. Oxygen vacancies in transition metal and rare earth oxides: Current state of understanding and remaining challenges. Surf Sci Rep 2007;62:219270.
- Giannozzi P, Baroni S, Bonini N, Calandra M, Car R, Cavazzoni C, et al. QUANTUM ESPRESSO: a modular and open-source software project for quantum simulations of materials. J Phys Condens Matter. 2009;21:395502.
- Henrich VE, Cox PA. The surface science of metal oxides, Cambridge University Press, Cambridge, 1994.
- Jellison GE, Modine FA Boatner LA. Measurement of the optical functions of uniaxial materials by twomodulator generalized ellipsometry: rutile (TiO2). Opt Lett 1997;22:1808-10.

- Kennedy RJ, Stampe, PA. The influence of lattice mismatch and film thickness on the growth of TiO2 on LaAlO3 and SrTiO3 substrates. J Cryst Growth 2003;252:333-42.
- Lazzeri M, Vittadini A, Selloni A. Structure and energetics of stoichiometric TiO2 anatase surfaces. Phys Rev B 2011;63:155409.
- Lotnyk A, Senz S, Hasse D. Epitaxial growth of TiO2 thin films on SrTiO3, LaAlO3 and yttria-stabilized zirconia substrates by electron beam evaporation. Thin Solid Films 2007;515:3439-47.
- Marzari N, Vanderbilt D, De Vita A, Payne MC. Thermal contraction and disordering of the Al(110) surface. Phys Rev Lett 1999;82:3296.
- Murakami M, Matsumoto Y, Nakajima K, Makino T, Segawa Y, Chikyow T, et al. Anatase TiO2 thin films grown on lattice-matched LaAlO3 substrate by laser molecular-beam epitaxy. Appl Phys Lett 2001; 78:2664-6.
- Perdew JP, Burke K, Ernzerhof M. Generalized gradient approximation made simple. Phys Rev Lett 1996; 77:3865-8.
- Rao CNR, Raveau B. Transition Metal Oxides: Structure, properties, and synthesis of ceramic oxides 2nd ed., Wiley-VCH, New York, 1998.
- Sanchez del Rìo M, Dejus RJ, XOP: Recent developments. SPIE Proc 1998;3448:340.
- Stadelmann P. JEMS Electron Microscopy Software 2006, JAVA version 3.0505W2006, http:// cimewww.epfl.ch/people/stadelmann/jemsWebSite/ jems.html.
- Szot K, Rogala M, Speier W, Klusek Z, Besmehn A, Waser R. TiO2-a prototypical memresistive material. Nanotechnology 2001;22:254001.
- Yamamoto S, Sumita T, Sugiharuto T, Miyashita A, Naramoto H. Preparation of epitaxial TiO2 films by pulsed laser deposition technique. Thin Solid Films 2001;401:88-93.
- Wang Z, Zeng W, Gu L, Saito M, Tsukimoto S, Ikuhara Y. Atomic-scale structure and electronic property of the LaAlO3/ TiO2 interface. J Appl Phys 2010;108: 113701.
- Weinberger B, Garber R. Titanium dioxide photocatalysts produced by reactive magnetron sputtering. Appl Phys Lett 1995;66:2409-11.
- Weng X, Fisher P, Skowronski M, Salvador PA, Maksimov O. Structural characterization of TiO2 films grown on LaAlO3 and SrTiO3 substrates using reactive molecular beam epitaxy. J Cryst Growth 2008;310:545-50.
- Windt DL. IMD- Software for modeling the optical properties of multilayer films. Comput Phys 1998;12: 360-70.

# I VANTAGGI DEI SOCI SISM

Essere Soci SISM (Società Italiana Scienze Microscopiche) vuol dire far parte di una Società Scientifica che, nata dalla consolidata tradizione scientifica della SIME (Società Italiana di Microscopia Elettronica), opera con uno spirito di forte dinamicità nei diversi settori della Microscopia, è sempre attenta alle continue evoluzioni tecniche e scientifiche in ambito Biologico, Biomedico e in Scienza dei Materiali e ha voluto fare della integrazione tra Ricercatori, Tecnici e quanti sono interessati alle applicazioni ed al progresso delle Scienze Microscopiche il suo obiettivo costante. La Società promuove Congressi Scientifici a livello nazionale ed internazionale, organizza e sponsorizza Scuole, Corsi teorico-pratici, Workshops, Seminari su specifici temi di particolare interesse e/o attualità per favorire l'aggiornamento teorico-applicativo di ricercatori, operatori professionali e personale specializzato delle aziende del settore.

Essere Soci SISM vuol dire:

- far parte dell'EMS (European Microscopy Society, www.eurmicsoc.org) e usufruire delle opportunità offerte dalla Società Europea in termini di informazioni, aggiornamenti, Corsi e Congressi a cui si può partecipare con quote ridotte;
- avere la possibilità di ricevere la rivista semestrale Microscopie che contiene informazioni riguardanti non solo le attività della Società, ma anche le novità che possono offrire le Ditte legate al settore, recensioni su pubblicazioni di interesse per i microscopisti, articoli scientifici e contributi dai diversi Centri di Microscopia che, diffusi su territorio nazionale, offrono grandi potenzialità in termini di strumentazioni e di competenze scientifiche facilmente condivisibili tra i Soci SISM;
- essere informati delle attività, Congressuali e non, che coinvolgono il mondo della microscopia in tutti i suoi aspetti;
- partecipare con quote vantaggiose a tutte le attività della Società;
- partecipare con quote vantaggiose alle iniziative accreditate secondo il progetto ECM (Educazione Continua in Medicina);
- avere la possibilità, per i giovani non strutturati, di usufruire di premi e borse di studio intese a favorire la partecipazione a Congressi di Microscopia nazionali ed internazionali e a premiare la ricerca svolta;
- avere libero accesso, a richiesta, a materiale didattico e scientifico prodotto dalla Società su argomenti di particolare attualità e interesse;
- avere la possibilità, per i Soci che siano promotori di attività di spin-off, di partecipare, con quote vantaggiose, alle iniziative della Società.

In conclusione, essere Soci della SISM vuol dire far parte di una Comunità di Microscopisti attiva, dinamica e in continua evoluzione non solo su scala nazionale, ma anche in un contesto europeo.

Per maggiori informazioni si prega di consultare il sito all'indirizzo www.sism.it.

# **ISTRUZIONI AGLI AUTORI**

I manoscritti devono rispecchiare, nel loro contenuto, le principali aree di interesse scientifico della Società (biologia, medicina, ambiente e scienza dei materiali). Saranno considerati per la pubblicazione lavori di carattere sia metodologico che applicativo.

Gli Autori devono inviare, per e-mail al Direttore Responsabile, il manoscritto, in lingua inglese, almeno 40 giorni prima della pubblicazione della rivista stessa. Gli Autori saranno avvisati dell'accettazione del lavoro, sempre via e-mail, dopo che i componenti del Consiglio Direttivo avranno revisionato il manoscritto e suggerito eventuali modifiche.

In occurate incomplete di tabelle e didascalie, dovrà essere fornito in un unico file in formato .DOC, mentre le figure dovranno essere in formato .TIF o .JPG ed avere una risoluzione pari o superiore a 300 dpi alle dimensioni finali di stampa.

La prima pagina deve riportare il titolo del lavoro, il nome ed il cognome degli Autori, con relative affiliazioni, e l'indirizzo completo dell'Autore di riferimento. La seconda pagina deve contenere il riassunto e cinque parole chiave. Il lavoro deve essere diviso in paragrafi secondo il seguente ordine: Introduzione, Materiali e Metodi, Risultati, Discussione e Bibliografia. Quest'ultima deve essere redatta in ordine alfabetico e secondo lo schema sotto riportato:

- Montone A, Grbovic Novakovic J, Vittori Antisari M, Bassetti A, Bonetti E, Fiorini AL, et al. Nano-micro MgH2-Mg2NiH4 composites: Tayloring a multichannel system with selected hydrogen sorption properties. Int J Hydrogen Energy 2007;32:2926-34.
- Beridze T. Satellite DNA. Springer-Verlag, Berlin, 1982.
- Mc Conkey DJ, Orrenius S. Cellular signaling in thymocyte apoptosis. In: Tomei LD, Cope FO, eds. Apoptosis: The Molecular Basis of Cell Death. Curr Comm Cell and Mol Biol, vol. 3. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1991, pp. 227-46.

Ai lavori di uno stesso autore pubblicati nello stesso anno deve essere aggiunto un suffisso dopo la data (a, b, etc).

Nel testo, i riferimenti bibliografici vanno riportati tra parentesi e devono contenere il cognome dell'autore, l'anno di pubblicazione e l'eventuale suffisso. Nel caso di due autori, vengono riportati entrambi i cognomi; nel caso di tre o più autori, va riportato il cognome del primo autore seguito da "et al.".

Le didascalie delle figure e le tabelle devono essere allegate alla fine del testo, su pagine separate. Le figure devono essere numerate progressivamente nello stesso ordine in cui compaiono nel manoscritto. Le fotografie saranno stampate a colori solo se necessario e il costo sarà addebitato agli Autori.

In base a criteri di rilevanza scientifica e qualità artistica, potrà essere scelta per la copertina una figura dai lavori accettati per la pubblicazione.

# TARIFFE INSERZIONI PUBBLICITARIE

La rivista Microscopie è una pubblicazione a carattere tecnico-scientifico edita dalla Società Italiana Scienze Microscopiche (SISM) che viene distribuita a tutti i soci. La rivista ha periodicità semestrale ed è stampata in b/n in formato A4 con copertina a colori. A pagamento possono essere inserite pagine interne a colori.

Le tariffe per le inserzioni pubblicitarie sono le seguenti:

Pagina interna b/n	€ 400,00
Pagina interna colore	€ 600,00
Seconda o terza di copertina (colore)	€ 800,00
Quarta di copertina (colore)	€ 1000,00

I prezzi si intendono per singola pagina, IVA esclusa.

Il materiale pubblicitario, di elevata qualità, deve essere fornito su supporto digitale e deve essere inviato almeno 15 giorni prima della pubblicazione della rivista al seguente indirizzo:

Manuela Malatesta Dipartimento di Scienze Neurologiche, Neuropsicologiche, Morfologiche e Motorie, Sezione di Anatomia e Istologia Università degli Studi di Verona strada Le Grazie, 8 37134 Verona Tel. +39.045.8027157/8425115 Fax +39.045.8027163 E-mail: manuela.malatesta@univr.it

Date di pubblicazione della rivista: 15 Marzo e 15 Settembre.

# With FEI solutions, discovery begins.











Helios NanoLab<sup>™</sup> DualBeam<sup>™</sup>

monochromated FE-SEM technology

Ultra to extreme high resolution

and best-in-class FIB performance

and 3D nanoscale characterization,

delivers the ultimate solution

for the most stringent surface

Magellan<sup>™</sup> Family The first and only monochromated FE-SEM to offer eXtreme High Resolution (XHR), sub-nanometer performance over the full 1 kV to 30 kV acceleration voltage range. Its versatile design allows for precise characterization and analysis on a large variety of materials.

# Nova<sup>™</sup> NanoSEM Series

FEI's most flexible ultra-high resolution SEM features excellent low kV imaging and high current for analytical applications. Its unique low vacuum mode expands the range of samples that can be investigated to uncoated, heavily charging or contaminating samples.

### Versa 3D<sup>™</sup> DualBeam<sup>™</sup> Our most versatile DualBeam,

with a highly configurable platform, and flexible detector and analytical options, provides the ability to work with a wide range of traditional and non-traditional samples.

Quanta<sup>™</sup> SEM Series The most versatile SEM platform with high, low and ESEM<sup>™</sup> vacuum modes for imaging and analysis of any sample, even supporting

in situ dynamic experiments.

# Inspect<sup>™</sup> SEM Series

Ideal for routine characterization and inspection, this solid imaging and analytical SEM provides flexibility and ease of use for a variety of applications, making it well-suited for the multi-sample or multi-user laboratory.









# Titan<sup>3™</sup> G2 60-300 S/TEM

The ultimate performance in Cs-corrected S/TEM imaging, ideal for atomic scale chemical and bonding state analysis and for 2D and 3D materials characterization. Its acoustic enclosure provides ultimate stability and facility for full remote operation.

# Titan<sup>™</sup> G2 S/TEM Family Deep sub-Ångström S/TEM

imaging performance, the largest high tension range, monochromator technology, and ChemiSTEM™ atomic scale chemical mapping combine to make Titan the TEM of choice for the most stringent materials research applications.

# Tecnai Osiris<sup>™</sup> S/TEM

Our fully digital, 200 kV S/TEM system delivers revolutionary analytical performance and outstanding imaging quality in TEM and STEM modes. Embedded detectors and ChemiSTEM technology support sub-nm chemical analytics and 3D EDX tomography.

# Tecnai<sup>™</sup> G2 Series

Combines automation, ultra high resolution imaging and no-compromise analytical performance into an easy to use platform for high contrast, high throughput S/TEM imaging and characterization over a wide variety of materials.

# Vion<sup>™</sup> Plasma FIB

Combining FEI's novel Xe plasma source with FIB, the Vion offers up to 20x faster materials removal for high speed cross-sectioning, excellent polishing at low current or kV, imaging with high contrast and resolution imaging as well as access to a rich selection of prototyping capabilities



Explore. Discover. Resolve.

© 2011. We are constantly improving the performance of our products, so all specifications are subject to change without notice. The FEI logo, Helios NanoLab, DualBeam, Nova, Versa 3D, Quanta, Titan<sup>3</sup>, Titan<sup>3</sup>, Titan<sup>3</sup>, Tican<sup>3</sup>, Cenai Osiris, Tecnai, Vion, Inspect, ChemiSTEM, ESEM are trademarks of FEI Company, and FEI is a registered trademark of FEI Company. All other trademarks belong to their respective owners. FL0010-2011