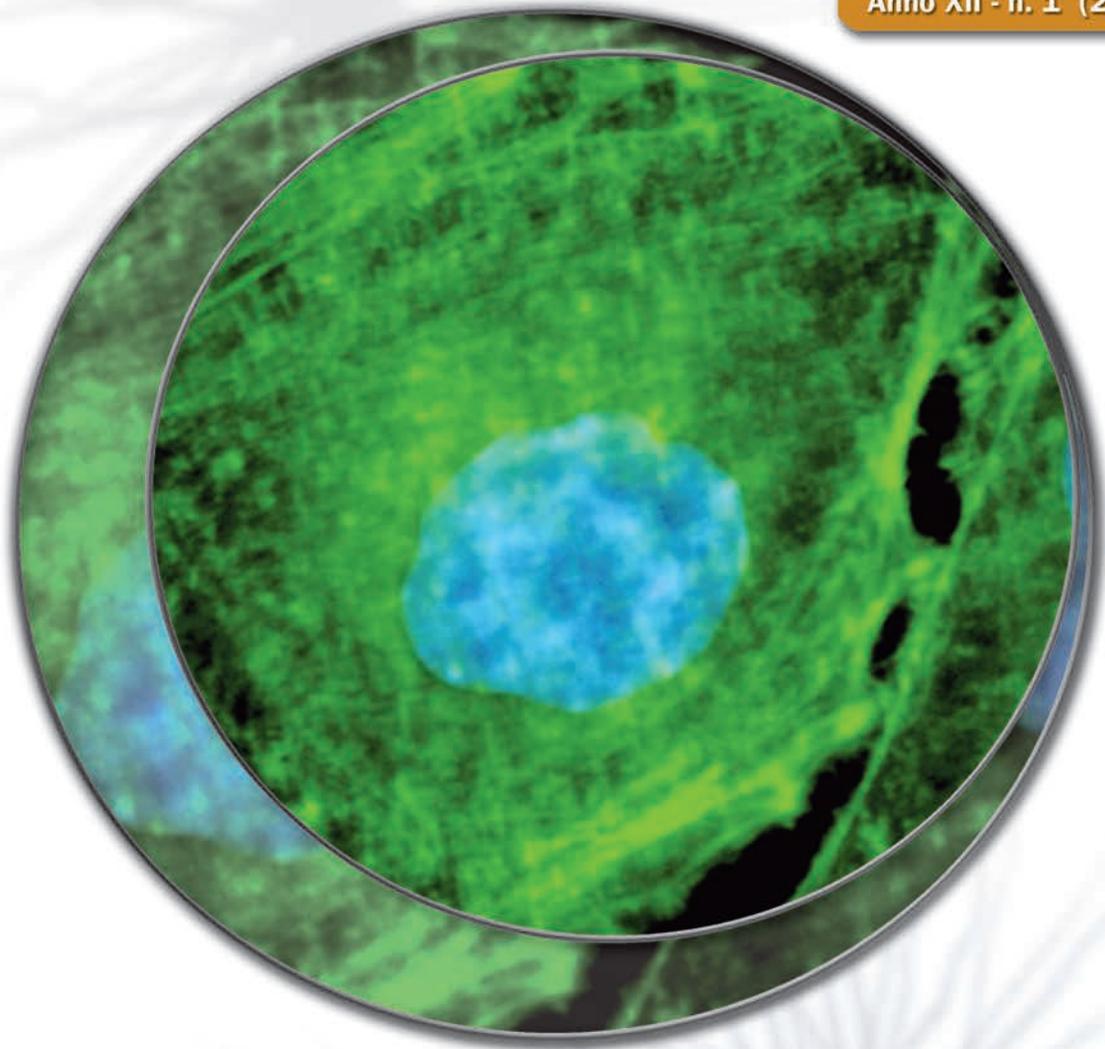


# microscopie

Anno XII - n. 1 (23) - Marzo 2015



Attività SISM 2015

Bando Premi di partecipazione al MCM 2015

Contributi scientifici dei Workshop SISM

Microscopist's Digest



Società Italiana  
Scienze Microscopiche

[www.sism.it](http://www.sism.it)



**Presidente**

ELISABETTA FALCIERI  
Dipartimento di Scienze 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)  
Tel/Fax +39.0722.304284  
E-mail: elisabetta.falcieri@uniurb.it

**Vicepresidenti**

ROBERTO BALBONI  
Istituto per la Microelettronica e i Microsistemi,  
CNR Bologna  
via P. Gobetti 101, 40129 Bologna  
Tel. +39.051.6399186 - Fax: +39.051.6399216  
E-mail: balboni@bo.imm.cnr.it

ANDREA TOMBESI

CIGS, Centro Interdipartimentale Grandi Strumenti  
Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia  
via Campi 213/a, 41125 Modena  
Tel. +39.059.2055232 - Fax: +39.059.2055600  
E-mail: andrea.tombesi@unimore.it

**Direttore responsabile del bollettino**

MANUELA MALATESTA  
Dipartimento di Scienze Neurologiche e del Movimento,  
Sezione di Anatomia e Istologia  
Università degli Studi di Verona  
strada Le Grazie 8, 37134 Verona  
Tel. +39.045.8027157/8425115  
E-mail: manuela.malatesta@univr.it

**Consiglieri**

CRISTIANO ALBONETTI  
Istituto per lo Studio dei Materiali Nanostrutturati (ISMN),  
CNR Bologna  
via P. Gobetti 101, 40129 Bologna  
Tel. +39.051.6398531/6398523/6398526  
Fax: +39.051.6398540  
E-mail: c.albonetti@bo.ismn.cnr.it

REGINA CIANCIO

IOM-CNR TASC  
Area Science Park Basovizza  
S.S. 14 Km 163.5, 34012 Trieste  
Tel. +39.040.3756467 - Fax: +39.040.226767  
E-mail: ciancio@iom.cnr.it

STEFANIA MESCHINI

Istituto Superiore di Sanità  
viale Regina Elena 299, 00161 Roma  
Tel. +39.06.49902783 - Fax: +39.06.4938 7140  
E-mail: stefania.meschini@iss.it

Organo Ufficiale della Società Italiana Scienze  
Microscopiche  
<http://www.sism.it>

**Direttore Responsabile**

Manuela Malatesta

**Comitato di Redazione**

Consiglio Direttivo della Società Italiana Scienze Microscopiche

**Editore**

PAGEPress s.r.l.  
via Giuseppe Belli 7  
27100 Pavia, Italy  
Tel. +39.0382.1751762 - Fax: +39.0382.1750481.  
[info@pagepress.org](mailto:info@pagepress.org) - [www.pagepress.org](http://www.pagepress.org)

**Stampa**

Press Up s.r.l.  
via La Spezia, 118/C 00055 - Ladispoli (RM)  
Tel. e Fax: +39.076152735.

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

In copertina: *Cellula HeLa, marcatura fluorescente di actina  
(verde) e controcolorazione del nucleo (blu).*  
di Manuela Costanzo e collaboratori.

# ndice

**Editoriale del Presidente** 3

**Editoriale del Direttore Responsabile** 5

**Attività SISM**

Verbale del CD di dicembre 2014 7

Attività promosse dalla SISM nel 2015 12

Bando per Premi di partecipazione al MCM 2015 13

**Notizie**

Eventi nazionali 14

Eventi internazionali 18

**Microscopist's Digest** 30

**Contributi scientifici**

Contributi del Workshop  
*La microscopia confocale nello studio dei mitocondri* 31

Contributi del Workshop  
*La microscopia elettronica applicata allo studio dei beni culturali* 37

An easy and inexpensive method to expose adhering cultured cells to ozonization  
*M. Costanzo, B. Cisterna, V. Covi, G. Tabaracci, M. Malatesta* 46

Coprolite specimens from Pietraraja (lower Cretaceous, Southern Italy):  
morphological analysis by scanning electron microscopy  
*G. Russo, P. Raia, M. Lauteri* 53

**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](http://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'approvazione 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](http://www.sism.it)

b) mediante invio di un assegno bancario non trasferibile intestato a S.I.S.M.

l'assegno deve essere spedito alla Prof.ssa Elisabetta Falcieri, Dipartimento di Scienze 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)

c) mediante bonifico bancario intestato a S.I.S.M.

codice IBAN IT4300200802455000103039142

Presso Unicredit, Agenzia 3305 "Bologna Dante"

Causale: "NOME del SOCIO"

**SEDE SOCIALE**

*Prof.ssa Elisabetta Falcieri*

Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente (DiSTeVA), Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo",  
Campus Scientifico "E. Mattei", via Ca' le Suore 2, località Crocchia, 61029 Urbino

Tel/Fax +39.0722.304284

E-mail: [elisabetta.falcieri@uniurb.it](mailto:elisabetta.falcieri@uniurb.it)

P.IVA 05089821002 C.F. 80181630155

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

Tipo di istituzione

- Università  CNR  Industria  Commerciale  Altro ente pubblico di ricerca

Istituto/Ente/Ditta

Dipartimento

Indirizzo

Città

CAP

Telefono

Fax

E-mail

Indirizzo cui inviare la corrispondenza, se diverso dal precedente

Settore di attività

- Biomedico  Scienza dei materiali  Commerciale  Altro (specificare) \_\_\_\_\_

Come deliberato nell'Assemblea Generale del 24/09/2001 ogni Socio SISM è anche Socio EMS.

Questi stessi dati saranno pertanto automaticamente inviati anche all'EMS, di cui la SISM fa parte. I dati dei Soci sono utilizzati dalla Segreteria EMS per distribuire il Notiziario in forma elettronica, per annunciare informazioni importanti come Congressi, Corsi, Scuole e per pubblicare l'Annuario dei Soci EMS.

Se si desidera che i propri dati personali non compaiano nell'annuario EMS, selezionare l'apposita opzione.

- Chiedo che il mio indirizzo privato non compaia nell'annuario EMS  
 Chiedo che il mio numero di telefono/fax non compaia nell'annuario EMS

Data \_\_\_\_\_

Firma \_\_\_\_\_

Inviare via fax a:

Prof.ssa Elisabetta Falcieri

Dipartimento di Scienze 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)

Tel. +39.0722.304284 Fax: +39.0722.304244

# Editoriale

---

Cari Amici e Colleghi,

Negli ultimi mesi si sono concluse con soddisfazione degli organizzatori e – mi sembra – piacere dei partecipanti, alcune attività della nostra società.

In particolare, il 23-24 ottobre 2014 si è svolto ad Urbino, in linea con quello organizzato nel 2012, un workshop teorico-pratico su “La microscopia confocale nello studio dei Mitochondri”. L'argomento è stato scelto perché di carattere trasversale e di sempre maggiore interesse in ambiti specifici ed è stato trattato da relatori esperti del campo, provenienti da vari atenei e enti di ricerca italiani. L'evento ha visto la partecipazione di un ampio numero di persone, tra cui una quarantina di iscritti da ogni parte di Italia e numerosi assegnisti, dottorandi, studenti dell'Università di Urbino. Le esercitazioni pratiche, organizzate su tre sessioni parallele alternate a relazioni tecniche in aula, si sono svolte al microscopio confocale su campioni specifici dedicati. I testi delle relazioni compaiono su questo fascicolo, in una sezione dedicata. Numerosi partecipanti hanno colto l'occasione dell'iscrizione gratuita alla SISM per il 2015.

Come esperienza nuova e dopo diverse sollecitazioni al riguardo, il 6-7 novembre 2015, ancora presso il Campus Scientifico dell'Università di Urbino, si è tenuto il workshop su “La microscopia elettronica applicata allo studio dei Beni Culturali”. L'evento è stato dedicato a professionisti, docenti, ricercatori, restauratori e tecnici operativi nel campo dello studio, della conservazione e del restauro dei beni culturali. Sono state presentate 18 relazioni inerenti le applicazioni della microscopia elettronica alle opere d'arte, in particolare pietre, ceramiche, vetri, metalli, monete, monili, materiali policromi, legno, carta, pergamena, tessuti e materiali polimerici, da parte di esperti di vari atenei italiani, dell'Opificio delle Pietre Dure di Firenze, dell'Istituto Centrale del Restauro di Roma, della Venaria Reale di Torino e di altre prestigiose realtà legate alla conservazione e al restauro dei beni culturali. Questa iniziativa, tra le prime organizzate dalla SISM in questo ambito, ha riscosso grande successo, con una trentina di iscritti, alcune presentazioni da parte di alcune aziende interessate e uno stand con una piccola esposizione strumentale. I testi delle relazioni compaiono su questo fascicolo. Numerosi partecipanti hanno colto l'occasione dell'iscrizione gratuita alla SISM per il 2015 e da più parti è stato richiesto di ripetere il workshop nel 2015.

Nel mese di dicembre, la SISM, e con essa anche la EMS, la società europea di cui siamo soci da anni, hanno dato un importante sostegno alla richiesta di un ERC- Starting Grant, progetto europeo coordinato da Cristiano Albonetti e finalizzato alla diffusione/popolarizzazione della microscopia. Ci auguriamo, nel caso auspicabile di successo, che questa impegnativa iniziativa possa rappresentare un passo avanti per la nostra società, in termini di contatti e di visibilità internazionale.

Nel febbraio scorso si è conclusa la quinta edizione della “Scuola teorico-pratica di Microscopia Elettronica a Trasmissione in Scienza dei Materiali”, organizzata da Roberto Balboni presso i laboratori CNR-IMM di Bologna, con adeguato numero di partecipanti, tra cui qualche presenza internazionale, e piena soddisfazione dei relatori.

Tra le attività 2015, il 19 giugno avrà luogo una novità importante. Manuela Malatesta, assieme ai colleghi dell'Università di Verona, organizzerà una giornata su “Microscopia elettronica e tecniche di imaging per lo studio degli alimenti”. Tale tematica, che viene sempre più frequentemente trattata ai congressi internazionali, e che è sempre più sentita

# Editoriale

---

dalle aziende del settore, rappresenta un nuovo scenario a cui la SISM non può non prestare attenzione: offriremo quindi agli organizzatori tutto il supporto dovuto, augurando loro il giusto successo.

Tra le attività successive, in settembre avremo nuovamente il “Corso di Microscopia Confocale, TEM e STEM: basi teoriche e pratiche” organizzato da Andrea Tombesi a Modena, e, successivamente, una “Scuola SEM”, organizzata da Regina Ciancio presso i laboratori CNR-IOM di Trieste.

Ad Urbino, il 28-30 settembre p.v. verrà nuovamente organizzato il workshop su “La microscopia elettronica applicata allo studio del Beni Culturali”, con anche una parte pratica su campioni dedicati.

Ad Urbino e Pesaro, il 19-21 ottobre verrà organizzato un workshop teorico-pratico su “La microscopia elettronica SEM/ESEM applicata allo studio dell’ambiente”.

Infine, ancora presso il Campus Scientifico di Urbino, il 16 e il 17 novembre, si svolgerà un workshop teorico-pratico dal titolo “Microscopia elettronica e microscopia confocale tra struttura e funzione del nucleo cellulare”

Come attività di formazione e promozione delle microscopie è in corso di organizzazione, a cura di Regina Ciancio assieme al team di microscopisti del IOM-CNR e dell’Università di Trieste, un Master di II livello in Microscopie, che vedrà tra i docenti i maggiori esperti italiani nei vari settori della microscopia. La SISM darà a questa iniziativa, che si propone di valorizzare i nostri ambiti e le nostre tecnologie anche in funzione di possibili sbocchi occupazionali, tutto l’appoggio possibile, auspicando che il Master possa presto diventare a carattere internazionale, come l’alta formazione nel nostro campo merita.

A fine agosto ci sarà, ad Eger, in Ungheria, il MCM2015, Multinational Congress of Microscopy, che vedrà presenti, ancora una volta, tutte le società con cui, da tanti anni, condividiamo la vita scientifica. Molti sono i colleghi italiani coinvolti nell’organizzazione delle sessioni o presenti come invited speaker. Ciò considerato e vista l’opportunità di una numerosa partecipazione anche dei nostri giovani, sempre più in difficoltà a partecipare ai congressi internazionali, nel corso della riunione dello scorso Consiglio Direttivo, è stato approvato di bandire 10 premi di partecipazione di 750 euro ciascuno. Tale bando, con scadenza il 31 marzo p.v. vedrà una graduatoria sulla base del *curriculum vitae* e del lavoro che verrà presentato. Stimolate i vostri giovani collaboratori a cogliere questa opportunità: non è molto ma è un passo importante che stiamo facendo per loro...

Come vedete le iniziative della nostra società sono molte. Lo dobbiamo al sostegno dei soci (a dicembre 2014 gli iscritti erano circa 500) e a tutti coloro che si sono impegnati nelle varie attività, talvolta coraggiosamente, e a quelli che lo faranno. E, ancora una volta, siamo grati alle aziende che, anche in questo momento non facile per tutti, ci supportano, nei modi più vari, ma con continuità e spirito di collaborazione.

Buon lavoro a tutti e spero di incontrarvi, numerosi, ad Eger.

*Elisabetta Falcieri*

# Editoriale

---

Cari Soci,

il 2015 si apre con un evento che mi pare appropriato definire memorabile per la nostra rivista: a partire da questo numero, infatti, *Microscopie* sarà pubblicata sia nel tradizionale formato a stampa, ora completamente a colori, sia online in forma *open access* ([www.pagepress.org/microscopie](http://www.pagepress.org/microscopie)).

È necessario precisare che non tutti i contenuti della rivista saranno accessibili sul web. *Microscopie*, infatti, si compone fondamentalmente di due sezioni: una a carattere informativo dedicata, secondo il dettato del nostro Statuto, alla divulgazione delle attività societarie e degli eventi relativi alle scienze microscopiche, e una prettamente scientifica, in cui sono pubblicati articoli di natura sperimentale e tecnico-strumentale sottoposti a *peer review*. È proprio questa seconda parte ad essere pubblicata online.

In questo modo, ogni articolo viene identificato da un codice DOI, univoco ed immutabile nel tempo, migliorando così la citabilità e il valore del prodotto editoriale; inoltre, la forma *open access* garantisce una immediata ed ampia visibilità anche internazionale, impossibile da ottenere con la sola pubblicazione a stampa. Nel sito web di *Microscopie* è già stato creato un archivio nel quale sono visibili tutti gli articoli scientifici pubblicati dal 2008: invito tutti, soprattutto i più giovani, a scaricare le proprie pubblicazioni e ad aggiornare, nel *curriculum*, i dati bibliometrici.

A garanzia di credibilità ed affidabilità della pubblicazione online, il sito di *Microscopie* si colloca all'interno del portale della PagePress (<http://www.pagepress.org>), una qualificata casa editrice impegnata nella pubblicazione di circa 80 riviste *open access* (molte delle quali presenti nei maggiori indici bibliografici internazionali) e che si occupa, da anni, della composizione e stampa di *Microscopie*.

Con l'apertura del sito web, *Microscopie* diventa, a tutti gli effetti, una rivista internazionale liberamente consultabile, seppur non indicizzata, caratterizzata da due fondamentali vantaggi: 1) la pubblicazione su *Microscopie* è gratuita, a fronte delle centinaia di euro richieste da altre riviste *open access* non indicizzate; 2) *Microscopie* offre garanzie di serietà e continuità, in quanto organo ufficiale di una Società scientifica fondata nel 1956 ed edita da una casa editrice qualificata a livello internazionale, mentre, nel turbolento mondo editoriale attuale, molte delle riviste liberamente accessibili sono frutto di mere speculazioni commerciali e, spesso, scompaiono dopo pochi numeri (portando nell'oblio gli articoli ivi pubblicati a caro prezzo).

Mi auguro, quindi, che tanti Soci colgano questa grande opportunità per sottoporre a *Microscopie* lavori di qualità. Ciò permetterà alla nostra rivista di crescere scientificamente e di farsi apprezzare nel panorama editoriale. Inoltre, se gli articoli pubblicati diventeranno – con continuità – abbastanza numerosi, potremo ottenere il codice ISSN (International Standard Serial Number, un numero internazionale che identifica tutte le pubblicazioni in serie): ciò qualificherà ulteriormente *Microscopie* e, di conseguenza, le nostre pubblicazioni.

Nel sito troverete tutte le informazioni per la sottomissione degli articoli; in questa fase iniziale potrete continuare a spedirli al mio indirizzo di posta elettronica

# Editoriale

---

(*manuela.malatesta@univr.it*) ma, successivamente, sarà attivato il sistema di sottomissione online, assai più rapido ed efficace.

Infine, ricordo che saranno pubblicati in *open access* anche gli atti degli eventi organizzati dalla S.I.S.M.: un modo per divulgarne ulteriormente i contenuti e per dare il giusto riconoscimento ai docenti che, molto spesso, prestano la loro opera in regime di assoluto volontariato.

A questo punto non mi resta che attendere, numerosi, i vostri contributi..... e buon lavoro a tutti!

*Manuela Malatesta*

## Consiglio direttivo della SISM

**Verbale della riunione del 15 dicembre 2014**

*Dipartimento di Scienze Biomediche/Istituto di Anatomia Umana  
Via Irnerio 48, Bologna*

Il giorno 15 dicembre 2014 alle ore 10,30 presso il Dipartimento di Scienze Biomediche/Istituto di Anatomia Umana, in Via Irnerio 48, Bologna si è svolta una riunione del Consiglio Direttivo SISM, per discutere il seguente OdG:

1. Approvazione del verbale della riunione precedente
2. Situazione economica della Società
3. Attività SISM 2014
4. Proposte attività SISM 2015
5. Rivista Microscopie e Sito web
6. Vincitori Contributi di partecipazione IMC14, Praga
7. Aggiornamento MCM2015/Eger; EMC2016/Lione e IMC2018/Sydney
8. Approvazione ammissione nuovi Soci
9. Varie ed eventuali

Sono presenti: *Cristiano Albonetti, Roberto Balboni, Regina Ciancio, Elisabetta Falcieri, Manuela Malatesta, Stefania Meschini.*

Assenti giustificati: *Andrea Tombesi.*

Presiede *Elisabetta Falcieri*; svolge le funzioni di segretario verbalizzante *Regina Ciancio.*

1. Il verbale della riunione del Consiglio Direttivo del 4 febbraio 2014 viene approvato all'unanimità.
2. Il Presidente Elisabetta Falcieri riferisce sulla situazione economica della società (ad oggi circa 33000 euro di attivo). Le entrate sono dovute ai contributi delle Aziende, delle quali FEI, JEOL e Gambetti hanno effettuato la sponsorizzazione completa, mentre Leica e Bruker hanno contribuito agli eventi "La microscopia confocale nello studio dei mitocondri" e "La microscopia elettronica applicata allo studio dei beni culturali", rispettivamente.  
Gli eventi svoltisi nel 2014 hanno realizzato un utile. Tra questi, in special modo, la scuola TEM di Bologna, ancora in corso di svolgimento per la parte pratica, ha realizzato un utile molto alto. Ciò è dovuto alle corpose quote d'iscrizione, giustificate dal particolare target dell'evento e dalla disponibilità dei relatori della struttura.  
Le uscite principali sono rappresentate dalle spese per la Rivista, dall'iscrizione EMS e dalla normale contabilità.  
Il Presidente propone di portare a 3500 euro il compenso annuale della dr.ssa Sara Salucci, che si occupa degli aspetti amministrativi della Società, a cui si chiede un impegno sempre più frequente e oneroso.
3. La scuola EELS, organizzata a Catania da Giuseppe Nicotra, è andata molto bene. A fronte delle spese piuttosto elevate sostenute per l'organizzazione dell'evento e immediatamente rimborsate dalla SISM, la scuola ha prodotto un attivo rilevante e creato l'occasione per il reclutamento di nuovi

soci. I due workshop “La microscopia confocale nello studio dei mitocondri” e “La microscopia elettronica applicata allo studio dei beni culturali” organizzati entrambi ad Urbino, hanno avuto un grande successo con la partecipazione, rispettivamente, di 27 e 26 iscritti, costituendo anch’essa un’occasione per far conoscere la società e reclutare nuovi iscritti.

Anche in questo caso resta alla Società un attivo rilevante.

La scuola congiunta di Microscopia Confocale-STEM presso il CIGS dell’Università di Modena, a cura di Andrea Tombesi, ha avuto, anch’essa, esito molto positivo riscuotendo numerose manifestazioni d’interesse tanto da rendere necessaria la chiusura delle iscrizioni sul sito prima del termine originariamente stabilito.

La scuola TEM in Scienze dei Materiali di Bologna, di cui si è sinora svolta la prima parte teorica, ha avuto un buon successo contando un totale di 13 iscritti. I partecipanti alla parte pratica, che si terrà in Febbraio, saranno 9, tra cui, per la prima volta, un partecipante straniero.

4. Si propongono per l’anno 2015 i seguenti eventi:
  1. Il Presidente propone l’organizzazione di un evento inerente la microscopia degli alimenti: Manuela Malatesta manifesta la sua disponibilità ad organizzare l’evento in giugno 2015 a Verona.
  2. Workshop teorico-pratico su “La microscopia confocale nello studio del nucleo cellulare”, autunno 2015, Università di Urbino, a cura di Elisabetta Falcieri.
  3. Workshop su “La microscopia elettronica applicata allo studio dei beni culturali” autunno 2015, Università di Urbino, a cura di Elisabetta Falcieri.
  4. Il Presidente propone l’organizzazione di un workshop di “Microscopia elettronica a scansione SEM/ESEM in campo ambientale” che possa coinvolgere sia la comunità scientifica operante nel settore ESEM che quella più tradizionalmente coinvolta in SEM e STEM a bassa energia. Il Presidente propone di organizzare l’evento ad Urbino e richiede suggerimenti ed eventuali nominativi da contattare.
  5. Scuola/Workshop SEM, seconda metà 2015, CNR-IOM Trieste, a cura di Regina Ciancio. Si valuterà l’opportunità di estendere l’evento anche al settore scienze della vita e se sia il caso di strutturarlo come scuola o come workshop.

Si approva il patrocinio al seguente evento:

Scuola di Microscopia – Live Imaging – 4-6 Marzo 2015 presso il Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Pozzuoli (NA) organizzata dal Prof. Spartaco Santi dell’ Istituto di Genetica Molecolare del CNR, Bologna.

L’evento su “Contributi delle microscopie allo studio delle colture cellulari”, in collaborazione con AICC e a cura di Stefania Meschini, previsto per il 2015, ISS, Roma, dovrà essere spostato all’anno 2016 a causa di problemi organizzativo/infrastrutturali dell’ISS il cui protrarsi inficia la disponibilità di aule nel periodo originariamente proposto per l’evento.

Nell’ambito di potenziali eventi ed iniziative da proporre nel 2015, Regina Ciancio solleva la necessità di rilanciare la microscopia sul territorio nazionale e suggerisce l’istituzione, attraverso la SISM, di un corso di alta formazione nazionale /internazionale sulle microscopie che possa costituire un viatico per il potenziale reclutamento di nuove forze giovani nel campo della microscopia. Si discute collegialmente e si valuta la possibilità di istituire un corso di Master di II livello, patrocinato dalla SISM presso l’Università di Trieste.

Cristiano Albonetti propone di affiancare all’istituzione del Master la scrittura e successiva pubblicazione di un libro che possa costituire un riferimento ufficiale per la comunità di microscopia nazionale ed internazionale.

5. Manuela Malatesta sottolinea nuovamente la già nota difficoltà di reperimento articoli da pubblicare su Microscopie. A tal proposito, il Presidente propone di verificare se sia possibile introdurre un codice ISSN alla rivista che possa aumentare l’impatto degli articoli pubblicati e incoraggiare la futura sottomissione di lavori alla rivista. Manuela Malatesta rinnova l’invito a far seguire ai workshop la pubblicazione di un piccolo estratto dei Proceedings da pubblicare su Microscopie, cosa di grande utilità ai fini della divulgazione tra i soci dei contenuti degli eventi organizzati e già rivelatasi ampiamente soddisfacente a valle della scuola AFM organizzata da Cristiano Albonetti.
- Manuela Malatesta comunica che la ditta che cura la stampa della rivista si è offerta di stampare la rivista a colori allo stesso prezzo di quella b/n. La possibilità (comunque da confermare) ha incontrato unanime

parere positivo nel Direttivo. Si decide inoltre all'unanimità di mantenere il cartaceo della rivista *Microscopie* e di introdurre anche un archivio on-line sul sito SISM contenente un estratto della rivista con le sole pubblicazioni scientifiche in formato pdf.

Si decide all'unanimità di abbandonare l'idea originaria di introdurre nella rivista una sezione dedicata alle posizioni lavorative: i tempi di pubblicazione (semestrali) della rivista sono troppo lunghi rispetto alla tempistica dell'apertura/chiusura delle chiamate per le posizioni. Si propone, dunque, e si approva all'unanimità di introdurre questa sezione nel sito SISM.

La rubrica *Microscopist' Digest* non sta incontrando i riscontri sperati per cui si decide di mantenerla per un anno e rivalutare successivamente l'opportunità di conservarla o meno.

L'architettura del sito continuerà ad essere gestita da Cosimo Elefante e curata da Roberto Balboni. A tal proposito, Roberto Balboni sottolinea che, nel merito del pagamento delle quote d'iscrizione per la partecipazione agli eventi SISM, non sempre vi è una corrispondenza biunivoca tra le quote d'iscrizione dettagliate nel volantino dell'evento e la possibilità di effettuare l'iscrizione mediante il sito. S'incoraggia dunque una più stretta ed efficace interazione tra l'organizzatore dell'evento e il responsabile del sito affinché la procedura sia resa quanto più coerente e snella possibile. Roberto Balboni comunica di aver comunque fatto già cambiare all'interno del sito la possibilità di esenzione IVA anche per un non strutturato.

6. Il Presidente riferisce sul congresso IMC2014 tenutosi a Praga che è stato molto ben organizzato ed ha avuto esito molto positivo. Molti giovani italiani hanno potuto prendervi parte grazie ai contributi SISM e, tra essi, alcuni hanno potuto beneficiare anche dei contributi EMS.

I vincitori dei contributi SISM per la partecipazione all'IMC2014 sono:

Fabrizio Fabrizi, Padova, e Alessandro Gambardella, Bologna (Scienze dei Materiali)

Giuseppina Bozzuto, ISS, Roma, e Barbara Cisterna, Verona (Scienze della Vita).

Al fine di supportare un numero sempre maggiore di giovani ricercatori italiani non strutturati a partecipare ai congressi di microscopia, il Presidente propone di aumentare il numero e l'importo dei futuri Contributi SISM. Si decide dunque all'unanimità di aumentare il numero di borse per il prossimo MCM di Eger, mettendo a disposizione 8 borse (4 in scienze dei materiali e 4 in scienze della vita) dell'importo di 700€ ciascuna.

7. Il Presidente relaziona sullo stato di organizzazione dei prossimi congressi, oggetto di discussione a Praga. Per il prossimo MCM2015 (Eger, 23-28 agosto, 2015) sono stati definiti i titoli delle sessioni scientifiche e i chair. Per quanto riguarda l'EMC2016 (Lione, 28 agosto - 2 settembre 2016), a Praga c'è stata una riunione preliminare che non ha evidenziato particolari problematiche. Piuttosto complessa è stata invece la discussione che ha accompagnato la scelta della sede del prossimo IMC19 che, a seguito di votazione collegiale del IFSM, si svolgerà a Sydney, 9-13 settembre 2018.

8. Il Consiglio Direttivo approva l'ammissione dei seguenti soci:

Dott.ssa Angeloni Livia (Socio non strutturato)

Settore di attività: Scienza dei Materiali

Tipo Istituzione: Sapienza Università di Roma

Dott.ssa Elena Barbieri (Socio ordinario)

Settore di attività: Biologia molecolare

Tipo Istituzione: Università di Urbino

Sig. Chiodini Stefano (Socio non strutturato)

Settore di attività: Scienza dei materiali

Tipo Istituzione: CNR Bologna

Dott. Felici Tiziano (Socio non strutturato)

Settore di attività: Biologia molecolare

Tipo Istituzione: Università di Urbino

Dott. Giordano Francesco

Settore di attività: Biologia

Tipo Istituzione: Università di Urbino

Prof. Innocente Davide (Socio non strutturato)

Settore di attività: Biologia e chimica

Tipo Istituzione: Università di Urbino

Dott. Lavacchi Alessandro (Socio ordinario)

Settore di attività: Scienze dei materiali  
Tipo Istituzione: CNR (Laterina)  
Dott.ssa Lucchetti Donatella (Socio non strutturato)

Settore di attività: Biologia cellulare  
Tipo Istituzione: Università Cattolica del Sacro Cuore  
Prof.ssa Mastrodonato Maria (Socio ordinario)

Settore di attività: Biologia cellulare  
Tipo Istituzione: Università degli studi di Bari Aldo Moro  
Dott. Mio Antonio Massimiliano (Socio non strutturato)

Settore di attività: Scienze dei Materiali  
Tipo Istituzione: CNR (Catania)  
Dott. Passeri Daniele (Socio non strutturato)

Settore di attività: Scienze dei Materiali  
Tipo Istituzione: Sapienza Università di Roma  
Dott. Pintus Davide (Socio ordinario)

Settore di attività: Biologia  
Tipo Istituzione: Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna  
Dott.ssa Reggente Melania (Socio non strutturato)

Settore di attività: Scienze dei Materiali  
Tipo Istituzione: Sapienza Università di Roma  
Dott.ssa Rossi Roberta (Socio ordinario)

Settore di attività: Biologia  
Tipo Istituzione: Università di Bari  
Dott.ssa Ruggeri Rosa (Socio non strutturato)

Settore di attività: Scienze dei Materiali  
Tipo Istituzione: CNR Catania  
Dott. Scuderi Mario (Socio non strutturato)

Settore di attività: Scienze dei Materiali  
Tipo Istituzione: CNR Catania  
Dott.ssa Torrisi Rosa Lucia (Socio non strutturato)

Settore di attività: Scienze dei Materiali  
Tipo Istituzione: Laboratorio di failure analysis (Catania)  
Dott.ssa Vallino Marta (Socio ordinario)

Settore di attività: Biologia  
Tipo Istituzione: CNR (Torino)  
Dott.ssa Viaggiu Emanuela (Socio non strutturato)

Settore di attività: Biologia  
Tipo Istituzione: Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"  
Dott.ssa Pamela Priori (Socio non strutturato)

Settore di attività: Biologia  
Tipo Istituzione: Università degli Studi di Urbino  
Dott.ssa Maria Carmela Maiese (Socio non strutturato)

Settore di attività: Biologia  
Tipo Istituzione: Università degli Studi dell'Aquila  
Dott.ssa Serena Maggio (Socio non strutturato)

Settore di attività: Biologia molecolare  
Tipo Istituzione: Università degli Studi di Urbino  
Dott.ssa Anna Rita Diaz (Socio non strutturato)

Settore di attività: Biochimica  
Tipo Istituzione: Università degli Studi di Urbino  
Dott. Giosuè Annibalini (Socio non strutturato)

Settore di attività: Biologia molecolare  
Tipo Istituzione: Università degli Studi di Urbino  
Dott.ssa Cinzia Calcabrini (Socio non strutturato)

Settore di attività: Biochimica e farmacologia  
Tipo Istituzione: Università degli Studi di Urbino

Dott.ssa Francesca Romana Mariotti (Socio non strutturato)

Settore di attività: Biologia

Tipo Istituzione: Fondazione Santa Lucia

Dott.ssa Giacomina Galizzi (Socio non strutturato)

Settore di attività: Biologia

Tipo Istituzione: IBIM-CNR (Palermo)

Dott.ssa Vania Gelmetti (Socio non strutturato)

Settore di attività: Biologia

Tipo Istituzione: Istituto CSS-Mendel (Roma)

Dott. Giusto Antonio (Socio ordinario)

Settore di attività: (Scienze dei Materiali)

Tipo Istituzione: ARPAM (Pesaro)

9. Attualmente la SISM organizza due tipologie di eventi: scuole, solitamente con un target specifico aperte ad un ristretto numero di partecipanti e caratterizzate da quote alte d'iscrizione; workshop, a più ampio spettro tematico e quindi rivolte ad un pubblico più esteso e caratterizzate da quote più basse. Si decide di conservare le due tipologie di profili con la proposta di aumentare leggermente le quote d'iscrizione agli workshop.

Poiché, per il pagamento delle quote d'iscrizione, è prevista una riduzione per i soci o per chi decide di diventarlo contestualmente all'evento, si propone di riservare quest'agevolazione a coloro che risultino iscritti alla SISM entro la data di pubblicazione del volantino dell'evento sul sito.

Andrea Tombesi ha preparato una proposta di questionario da inviare a contatti individuati tra i laboratori distribuiti sul territorio nazionale operanti nel settore della microscopia. Per un'ampia distribuzione, Roberto Balboni propone di interfacciarsi con le aziende perché possano esse stesse suggerire potenziali destinatari e favorire una maggiore diffusione del questionario.

Andrea Tombesi propone nuovamente l'introduzione del pagamento tramite Paypal sul sito SISM. Per far questo occorre stabilire un ponte con la banca di riferimento della società. Stefania Meschini propone di verificare se le banche abbiano già convenzioni esistenti col sistema Paypal così da avvalersi del supporto dell'attuale banca di riferimento della SISM. Il Presidente provvederà ad informarsi presso Unicredit.

Alle ore 14:00, null'altro essendovi da deliberare, il Presidente dichiara chiusa la seduta.

*Elisabetta Falcieri  
Roberto Balboni  
Manuela Malatesta  
Cristiano Albonetti  
Regina Ciancio  
Stefania Meschini*

## Elenco delle attività promosse dalla SISM nel 2015

**Workshop su “Microscopia elettronica e tecniche di imaging per lo studio degli alimenti”** a cura della Prof.ssa Manuela Malatesta, del Prof. Andrea Sbarbati e dei loro collaboratori.  
19 giugno 2015, Verona

**Workshop teorico-pratico su “La microscopia elettronica applicata allo studio dei beni culturali”** a cura della Prof.ssa Elisabetta Falcieri e dei suoi collaboratori.  
28-29 settembre 2015, Urbino

**Workshop teorico-pratico su "La microscopia elettronica SEM/ESEM nello studio dell'ambiente"**, a cura della Prof.ssa Elisabetta Falcieri, del Prof. Pietro Gobbi e dei loro collaboratori.  
19-21 ottobre 2015, Urbino/ Pesaro

**Workshop teorico-pratico su "Microscopia elettronica e microscopia confocale tra struttura e funzioni del nucleo cellulare"**, a cura della Prof.ssa Elisabetta Falcieri e dei suoi collaboratori.  
16-17 novembre 2015, Urbino

**“Scuola/Workshop SEM”** a cura della Dott.ssa Regina Ciancio.  
Seconda metà 2015, Trieste

E per il 2016.....

**Workshop su “Contributi delle microscopie allo studio delle colture cellulari”**, in collaborazione con l'Associazione Italiana per le Colture Cellulari, a cura della Dott.ssa Stefania Meschini.  
Aprile 2016, ISS, Roma



**S.I.S.M.** Società Italiana Scienze Microscopiche

### PREMI DI PARTECIPAZIONE AL MCM 2015, Eger (HU)

Si comunica che la Società Italiana Scienze Microscopiche in collaborazione con le Aziende del settore della Microscopia, bandisce

#### n. 10 PREMI

dell'importo di € 750,00 ciascuno, per favorire la partecipazione di ricercatori italiani al MCM2015 ([www.mcm2015.com](http://www.mcm2015.com)) che si terrà in Ungheria a EGER, dal 23 al 28 agosto 2015.

I Premi sono riservati a **ricercatori che non hanno una posizione permanente**.

I partecipanti devono inviare **entro il 30 marzo p.v.** (scadenza anche del congresso):

- 1) **Domanda**
- 2) Copia dell'**Abstract** (completo di tutto) inviato al Congresso
- 3) Un **Curriculum Vitae** di massimo due pagine con autocertificazione della propria posizione lavorativa.

L'iscrizione alla SISM, alla data della domanda, a parità di giudizio, costituirà titolo preferenziale.

Per partecipare alla selezione del bando, che verrà effettuata a giudizio insindacabile del Consiglio Direttivo, la documentazione richiesta va inviata per e-mail al Presidente della SISM, prof.ssa Elisabetta Falcieri ([elisabetta.falcieri@uniurb.it](mailto:elisabetta.falcieri@uniurb.it)).

Al ricevimento della documentazione verrà inviata una e-mail di conferma dell'avvenuta ricezione.

E' fatto obbligo, per i vincitori, di partecipare per tutta la durata del Congresso, pena esclusione dalla graduatoria.

I risultati della selezione verranno comunicati per e-mail ai candidati e pubblicizzati sulla pagina web della SISM, all'indirizzo [www.sism.it](http://www.sism.it)

Urbino, 11 febbraio 2015

Il presidente SISM

#### **PRESIDENTE**

**Prof.ssa Elisabetta Falcieri**

Dipartimento di Scienze delle Terra, della Vita e dell' Ambiente (DiSTeVA) - Università degli Studi di Urbino Carlo Bo, Campus Scientifico "E.Mattei"

Via Ca' le Suore 2, località Crocicchia, 61029 Urbino

Tel. 0722-304284 Email: [elisabetta.falcieri@uniurb.it](mailto:elisabetta.falcieri@uniurb.it)

Sede Sociale S.I.S.M.:

Dipartimento di Scienze delle Terra, della Vita e dell'Ambiente (DiSTeVA) - Università degli Studi di Urbino Carlo Bo, Campus Scientifico "E. Mattei", Via Ca' le Suore 2, località Crocicchia, 61029 Urbino

SISM P.IVA 05089821002 C.F. 80181630155

## Eventi nazionali

### 2015

**Give your microscope a hand!! Le nanotecnologie a “portata di..... mano”**

26-27 Marzo 2015

Sapienza Università di Roma e Centro per le Nanotecnologie (CNIS), Roma

*info@2mstrumenti.com*

**AIMN 2015: XII Congresso Nazionale dell’Associazione Italiana di Medicina Nucleare ed Imaging Molecolare**

Rimini, 16-19 Aprile 2015

*http://www.aimnrimini2015.org/*

**Attualità in citometria e citologia diagnostica**

Bergamo, 14 Maggio 2015

*http://www.sibioc.it/upload/670\_Evento%20BG%205\_2015\_def.pdf*

**LXI Convegno del Gruppo Embriologico Italiano e 36° Congresso nazionale della Società Italiana di Istochimica: Congresso congiunto**

Pisa, 7-10 Giugno 2015

*http://www.gruppo-embriologico.it/*

**NanoItaly 2015**

21-24 Settembre 2015

Sapienza Università di Roma, Roma

*www.nanoitaly.it*

**Citopatologia aspirativa: tecniche di prelievo, di guida ecografica e di valutazione microscopica della adeguatezza diagnostica**

Napoli, 12-17 Ottobre 2015

*http://www.unina.it/studentididattica/postlaurea/perfezionamento/dettagli.jsp?cont=344*

**Workshop Luce, Imaging, Microscopia, Spettri di applicazione (LIMS 2015)**

15-16 Ottobre 2015

ENEA C.R. Frascati

*<http://www.frascati.enea.it/LIMS2015/index.html>***Corso Interattivo di Citomorfologia Ematologica:  
Le Sindromi Mielodisplastiche nella Classificazione WHO 2008**

(evento AIPACMeM in collaborazione con SIMeL)

6-7 Novembre 2014, Roma

*E-mail: [segreteria nazionale@aipacmem.it](mailto:segreteria nazionale@aipacmem.it)**<http://www.sipmel.it/it/convegno.php/106259>*

SAPIENZA – UNIVERSITA' DI ROMA  
CNIS – CENTRO PER LE NANOTECNOLOGIE

26 – 27 MARZO 2015

***Give your microscope a hand!! Le nanotecnologie a “portata di..... mano”.***

**Workshop Teorico – Pratico sulle più avanzate tecnologie per la manipolazione, il trattamento, e la valutazione metrologica di campioni all’interno del SEM/FIB.**

L’incontro si ripromette /prefigge di fare il punto sulle ultime novità scientifiche nel settore delle nanotecnologie, intese come interazione tra operatore e campione in un ambito di caratterizzazione strutturale e funzionale dei nanomateriali

**Programma.**

9.30 – 10.00 Registrazione e benvenuto ai partecipanti

10.00 Presentazione del CNIS e sue finalità (Prof. Maria Sabrina Sarto – Direttore CNIS)

10.30 Andrew J. Smith (Kleindiek GmbH) Electrical Probing Applications for semiconductor devices

11.00 Gian carlo Gazzadi (CNR-Ist. Nanoscienze S3 – Modena) Force Measuring applications on Nanoparticles

11.30 Francesco Mura (CNIS – Sapienza Università di Roma) Nanosoldering on semiconductor devices

12.00 Andreas Rummel ( Kleindiek GmbH) Electrical Probing and Failure Localization

12.30 Stefano Pergolini (Key Sight Italia) Nanoindentation and electrical probing on nanoparticles.

**INTERVALLO**

14.30 - 18.00 Prove Pratiche su FIB Zeiss Auriga

18.00 Conclusione e F.A.Q.

La partecipazione è gratuita, ma a numero limitato. Gli interessati sono pregati di confermare al più presto la loro partecipazione all’indirizzo: [info@2mstrumenti.com](mailto:info@2mstrumenti.com)

Roma, 21-24 settembre 2015  
Sapienza Università di Roma  
Chiostro del Sangallo



Siamo lieti di annunciare NanoItaly 2015, che si terrà dal 21 al 24 settembre 2015 nel Chiostro rinascimentale del Sangallo, Sapienza Università di Roma.

Un evento che intende mettere in contatto ricercatori e tecnologi provenienti da enti di ricerca e laboratori industriali, allo scopo di presentare idee innovative, scambiare conoscenze multidisciplinari e trasferire know-how nel vasto campo delle nanotecnologie, permettendo l'integrazione di idee e informazioni tra i diversi ambiti di applicazione.

La rivoluzione del "mondo nano"

- opera in tutti i campi scientifico/tecnologici
- **MODIFICA** concetti e metodi
- richiede l'integrazione di competenze diverse
- elimina le barriere tra le discipline tradizionali

Il **PROGRAMMA** di NanoItaly 2015 sarà fortemente orientato verso le applicazioni delle nanotecnologie e suddiviso in diverse sessioni tematiche in parallelo. E' previsto l'intervento di relatori altamente qualificati, provenienti dal panorama accademico e industriale, sia italiano che internazionale. Sono inoltre previste sessioni dedicate ad attività di formazione e aggiornamento, nonché spazi dedicati al fund raising e alla presentazione di progetti europei.

Sarà presente un'area espositiva, in cui aziende, università e centri di ricerca potranno incontrare tutti i partecipanti. Si registra già un'ampia partecipazione e consenso da parte delle più qualificate società italiane ed europee **CON** interessi nei diversi settori delle nanotecnologie. Sul sito web ufficiale [www.nanoitaly.it](http://www.nanoitaly.it) saranno a breve pubblicate informazioni sull'evento, lo schema preliminare delle sessioni e la composizione del Comitato Scientifico.

NanoItaly 2015 vuole essere un forum **APERTO** alla discussione di tematiche riguardanti tutte le aree interessate dalle nanotecnologie. In particolare l'edizione di quest'anno prevede la presenza di sessioni su:

- aeronautica & aerospazio
- agroalimentare
- beni culturali
- energia & **AMBIENTE**
- grafene e nanomateriali di Carbonio
- green chemistry
- micro- e nano-fabbricazioni
- modellistica e simulazione
- nanomedicina
- nanotossicologia
- sensori e diagnostica
- tecniche di nanocaratterizzazione

Ulteriori sessioni su altre tematiche sono in **CORSO** di definizione e si sollecitano suggerimenti al riguardo da tutti coloro che intendono contribuire all'evento.

NanoItaly 2015:

- si rivolge sia a chi ha già competenze nel settore nanotech e a chi desidera acquisirle;
- fornisce informazioni dettagliate sui prodotti più innovativi di aziende attive nel mondo nanotech;
- rappresenta un'occasione per presentare i propri risultati scientifici al mondo **INDUSTRIALE**.

La partecipazione, senza alcuna quota di **ISCRIZIONE**, è aperta a tutti coloro che sono interessati a seguire i tumultuosi sviluppi delle nanotecnologie sia nella ricerca di base che nelle sue applicazioni. L'incontro tra comunità scientifiche e tecnologiche tradizionalmente separate tra loro si configura come il mezzo ideale per costruire una nuova comunità integrata in **GRADO** di definire nuovi obiettivi ed influenzare il trasferimento di competenze nanotecnologiche dai laboratori alle imprese ed ai mercati.

Parte integrante di NanoItaly è la presenza di aziende nazionali e straniere, con l'esposizione dei **MODELLI** più recenti di apparati ed attrezzature per lo studio dei nanomateriali e nanosistemi. Attenzione verrà data ad aspetti specifici delle nanotecnologie, quali la sicurezza ed i costi di produzione.

La presenza di investitori, personalità del mondo dell'industria e della politica completa la visione a largo raggio che NanoItaly intende offrire ai suoi partecipanti.

Per informazioni tecniche e organizzative:

Dott.ssa Cristina Gippa  
[cristina.gippa@nanoitaly.it](mailto:cristina.gippa@nanoitaly.it)  
[cristina.gippa@gmail.com](mailto:cristina.gippa@gmail.com)

COMITATO PROMOTORE di NanoItaly 2015:

Francesco Cubadda (ISS)  
Luciana Dini (Università del Salento)  
Fabrizio Pirri (Politecnico di Torino)  
**MARCO** Rossi (Sapienza Università di Roma)  
Pietro Siciliano (IMM-CNR)  
Maria Letizia Terranova (Università di Tor Vergata)  
Marco Vittori Antisari (ENEA)

Per informazioni scientifiche: [nanoitaly2015@nanoitaly.it](mailto:nanoitaly2015@nanoitaly.it)

La presente comunicazione è stata inoltrata utilizzando dati raccolti da elenchi professionali e pubblici. Qualora non desideriate **RICEVERE** in futuro comunicazioni dallo scrivente, potete cancellarvi scrivendo al seguente **LINK**.

## Eventi internazionali

**2015****5<sup>th</sup> Erlangen TEM-School 2015**

March 23-26, 2015

CENEM, Erlangen, Germany

**Workshop on Integrated CLEM**

March 26, 2015

MPI-CBG Dresden, Germany

**Focus on Microscopy 2015**

March 29 - April 1, 2015

Göttingen, Germany

**19<sup>th</sup> International Conference on Microscopy of Semiconducting Materials (MSM-XIX)**

EMS sponsored event

March 29 - April 2, 2015

Murray Edwards College, University of Cambridge, UK

**4<sup>th</sup> Porto AFM Training Workshop**

March 30 - April 2, 2015

UCIBIO@Requimte / University of Porto, Portugal

**Transmission Electron Microscopy in Life Sciences**

March 30 - April 3, 2015

Institute of Molecular Genetics, AS CR, Prague, Czech Republic

**2015 MRS Spring Meeting & Exhibit****MRS Symposium ZZ: Materials Information Using Novel Techniques in Electron Microscopy**

April 6-10, 2015

San Francisco, USA

**Soft Matter CryoTEM Workshop**

April 13-17, 2015

Eindhoven University of Technology, The Netherlands

**PICO 2015 - Third Conference on Frontiers of Aberration Corrected Electron Microscopy**

April 19-23, 2015

Kasteel Vaalsbroek, The Netherlands

Organization: Ernst Ruska-Centre (Jülich)

**RMS Botanical Microscopy Meeting**

April 20-23, 2015

University of Exeter, UK

**3<sup>rd</sup> Croatian Microscopy Congress**

April 26-29, 2015

Zadar, Croatia

**14<sup>th</sup> European Workshop on Modern Developments and Applications in Microbeam Analysis**

EMAS workshop

May 3-7, 2015

Portorož, Slovenia

**ISM2015****The 49<sup>th</sup> annual meeting of the Israel society for microscopy**

May 17-18 2015

Bar-Ilan university, Ramat-Gan, Israel

**1<sup>st</sup> Slovene Microscopy Symposium**

May 18-19, 2015

Piran, Slovenia

**2<sup>nd</sup> Uppsala Spectroscopy Workshop**

EMS sponsored event

May 18-20, 2015

Uppsala, Sweden

**ELMI 2015: 15<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Light Microscopy Initiative (ELMI)**

May 19-22, 2015

Sitges, Barcelona, Spain

**7<sup>th</sup> Aberration-corrected Electron Microscopy and EELS School**

June 1-5, 2015

McMaster University, Hamilton, Canada

Hosted by the Canadian Centre for Electron Microscopy

**Advanced Course on Cryo-Electron Tomography**

EMS sponsored event

June 6-7, 2015: Optional Pre-Course

June 8-12, 2015: Main Part

Vienna, Austria

**FEBS Practical Course “Advanced Imaging of molecular complexes in living cells”**

June 8-12, 2015

Amsterdam, The Netherlands

**Workshop on Transmission Electron Microscopy**

June 8-19, 2015  
Antwerp, Belgium

**SCANDEM2015**

June 9-11, 2015  
University of Jyväskylä, Finland

**15<sup>th</sup> Euroseminar on Microscopy Applied to Building Materials**

June 16-19, 2015  
Delft, The Netherlands

**05<sup>th</sup> International Colloids Conference**

June 21-24, 2015  
Amsterdam, The Netherlands

**Live-Cell Imaging**

June 23-25, 2015  
University of East Anglia, Norwich, UK

**Advanced course Correlative Light Electron Microscopy**

June 25-30, 2015  
UMC Utrecht, The Netherlands

**Microscience Microscopy Congress, incorporating EMAG 2015**

EMS extension  
June 29 - July 2, 2015  
Manchester Central, Manchester, UK

**Biannual congress of the French Microscopy Society, sfm2015**

June 30 - July 3, 2015  
Nice, France

**14<sup>th</sup> Int Congress for Stereology & Image Analysis**

July 6-10, 2015  
Liege, Belgium

**International Conference on Electron Microscopy and XXXVI Annual Meeting of the Electron Microscope Society of India (EMSI)**

July 8-10, 2015  
Navi Mumbai, India

**IAM Nano 2015**

**International Workshop on Advanced and In-situ Microscopies of Functional Nanomaterials and Devices**

July 8-10, 2015  
Hamburg, Germany

**Microscopy & Microanalysis (M&M2015)**

August 2-6, 2015  
Portland OR, USA

**ESRIC Super-Resolution Summer School 2015**

August 3-7, 2015  
Edinburgh, UK

**Multinational Congress on Microscopy**

EMS extension  
August 23-28, 2015  
Eger, Hungary  
Organization: ASEM, CMS, CSMS, HSM, SISM, SSM, SDM, TEMD

**Electron Crystallography School – ECS2015**

August 28-31, 2015  
Duga Uvala, Croatia

**31<sup>st</sup> European Conference on Surface Science (ECOSS-31)**

August 31, September 4, 2015  
Barcelona, Spain

**Microscopy Conference (MC) 2015**

September 6-11, 2015  
Göttingen, Germany

**Microscopy at the Frontiers of Science 2015 (MFS2015)**

EMS sponsored event  
September 9-11, 2015  
Porto University, Portugal

**XXIII Conference on Applied Crystallography**

September 20-24, 2015  
Krynica Zdrój, Poland

**2016****ISM2016 - ISM Golden Jubilee conference**

**The 50<sup>th</sup> annual meeting of the Israel society for microscopy**  
May 31 - June 2, 2016  
Haifa, Israel

**16<sup>th</sup> European Microscopy Congress (EMC2016)**

August 28 - September 2, 2016  
Lyon Convention Centre, Lyon, France

## Eventi internazionali

**FOM**  
2015

Home

Background  
Committee  
Program  
Registration  
Abstracts  
Travel  
Accommodation  
Conference dinner  
Visa requirements  
Tourist info  
Sponsors &  
Exhibitors  
General/exhibitor  
contacts  
Dates & deadlines

Stay informed!

Past conferences

Search FOM  
database

Website of Focus on Microscopy

**FOM**  
2015

Announcing  
Focus on Microscopy 2015  
Göttingen, Germany  
March 29 - April 1, 2015



**Change to Summer time in Germany:** In the night from Saturday 28 March to Sunday 29 March the clock is moved forward from 02:00 to 03:00 local time.

Dear colleagues,

The next Focus on Microscopy FOM 2015 meeting is nearing. It will take place in Göttingen, Germany in the week before Easter 2015 from Sunday March 29 to Wednesday April 1 2015. To see the program of the upcoming conference, just click on 'program' in the column on the left.

The conference will take place at the Lokhalle event center, Bahnhofsallee 1b, Göttingen, Germany, which is located directly behind the ICE train station. Further information: [www.lokhalle.de](http://www.lokhalle.de). Details regarding registration, abstract submission, deadlines, etc. can be found under the various links to the left of the present home page of this website. When you wish to be kept informed please leave your email address [here](#).

Tutorial workshops are offered before the start of the conference on Sunday 29 March afternoon from 14:00 to 16:45. Attendance is free for conference participants. Subjects and speakers are:

- **A tutorial on wavefront shaping with spatial light modulators: the next generation of possibilities**  
M. Ritsch-Marte (Medizinische Universität of Innsbruck, Austria)
- **Fluorescence imaging techniques: acquisition and quantitative analysis of fluorescence images**  
T. Zimmermann (Center for Genomic Regulation, Spain)
- **Easy ways to high- and super-resolution fluorescence microscopy: Image scanning microscopy (ISM), and stochastic optical fluctuation imaging (SOFI), and metal-induced energy transfer (MIET)**  
J. Enderlein (Georg August University Göttingen, Germany)
- **Clearing techniques for 3D-imaging of tissues**  
T. Lagerweij, A. Azaripour, T. Würdinger & C. Van Noorden (Neuro-oncology Research Group, Cancer Center Amsterdam, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands)

The main program of the conference will start at 5:30h in the afternoon on Sunday March 29 with a plenary opening session followed by a welcome reception. After the close of the conference on April 1 a conference dinner is planned.

Göttingen is a vibrant university city located in the heart of Germany, in the south of Lower Saxony, between the Harz mountains and the Weser River. As 'City of Science', education and research strongly determined its historic city life and continues to do so in the present. Göttingen is well known for its Georg-August-University. Famous scientists, like Gauss and Lichtenberg, lived and worked here and have crowned Göttingen with 43 Nobel prize laureates. The picturesque half-timbered houses in the historic city centre, its medieval city hall and the 'Gänselesel' together with the many students and visitors from all over the world contribute to a unique city atmosphere. More info about Göttingen can be found at [here](#).

Focus on Microscopy 2015 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 fluorescence labeling techniques for confocal and multi-photon 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 • Super-resolution, nanoscopy imaging: from PSF engineering (4pi, SIM, STED), fluorescent activation/quenching, stochastic/centroid (PALM, STORM, GSDIM, SOFI and related techniques) to TIRF • 3D and 4D live cell and tissue imaging • Adaptive optics for microscopy • Developments in phase/interference microscopies • Light sheet microscopy • Advanced fluorescence imaging/spectroscopy: FRET, FRAP, FLIM, FCS • New fluorescence probes, proteins, quantum dots, single molecule imaging • Coherent non-linear microscopies: SHG, THG, SFG, CARS. • Developments in phase/interference microscopies • Multi-dimensional fluorescence and Raman spectroscopy imaging • Correlated light/electron microscopy • Laser manipulation and tracking, photo-activation • Bio- and nanomaterials, biosensors • OCT, endoscopy • Fast acquisition, automated and high-content microscopy • 3D image processing and visualization for multidimensional data

At the 2015 conference the topic "Super-resolution techniques and applications" will receive special attention, this also in connection with the recently awarded Nobel Prize in this field.

A technical exhibition will be an integral part of the upcoming FOM 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. Please note also the [Search FOM database](#) button for full searches through the whole FOM archive over the years.

<b>Deadline for the submission of abstracts</b>	January 20, 2015
<b>Acceptance of contributions, draft program on the web</b>	February 10, 2015
<b>Deadline for early registration</b>	February 25, 2015
<b>FOM2015 Conference</b>	March 29 - April 1, 2015
<b>Easter Sunday 2015</b>	April 5, 2015

Welcoming you on behalf of the FocusOnMicroscopy society to the Göttingen FOM2015 conference and exhibition:

- Gertrude Bunt, University Medical Center, Göttingen, Germany
- Fred Wouters, University Medical Center, Göttingen, Germany
- Fred Brakenhoff, University of Amsterdam, The Netherlands

The FOM2015 conference incorporates the

- 28th International Conference on 3D Image Processing in Microscopy
- 27th International Conference on Confocal Microscopy

Main sponsors and supporting organizations of Focus on Microscopy 2015:



## Eventi internazionali

The Microscience Microscopy Congress 2015, 29 June - 2 July 2015, Manchester Central, UK



HOME / ABOUT / CONFERENCE / EXHIBITION / FEATURES

An international conference with six parallel sessions

[Register for mmc2015](#) [Register Now](#)

is open for the mmc2015 conference and exhibition

## mmc2015: all about microscopy

As from 2015, the Microscience Microscopy Congress series is switching to a new biennial **SLOT** in the microscopy calendar, and will unite with the well-established EMAG conference series hosted by the Electron Microscopy and Analysis Group of the Institute of Physics. This move brings together the two premier events on the UK microscopy calendar under the banner of mmc2015.

The **conference** expands from the four parallel sessions of mmc2014 to six, and will feature the **BEST** from both worlds in the microscopical sense – from the life and physical sciences, and from light and electron microscopy.

The Conference will run side-by-side with **Europe's largest exhibition** of microscopy and imaging equipment, with over one hundred companies demonstrating the widest range of equipment and consumables.

If this isn't enough, the event is also packed with features such as **training opportunities on The Learning Zone, workshops, competitions and social events.**

We **LOOK** forward to seeing you in Manchester.

[View Conference Sessions](#) [Register for mmc2015](#) [Discover the Exhibition](#)

### mmc2015 Congress App

The essential pocket guide to the Congress is now available to download

Follow us

Subscribe to our newsletter

Your email address

Subscribe

Share this page

mmc2015 news

mmc2015 Registration Open  
posted 6 DAYS ago by mmc\_office

mmc2015 Congress App Launched  
POSTED 9 DAYS ago by mmc\_office

Abstract Submission Deadline Extended!  
posted 21 days ago by mmc\_office

Using the site  
[Terms & Conditions](#)  
[Privacy Policy](#)  
[Site Map](#)  
If you notice inaccuracies or omissions on the mmc2015 site, please report them to [web@mmc2015.org.uk](mailto:web@mmc2015.org.uk)

Organisation  
The Microscience Microscopy Congress 2015 is organised by the Royal Microscopical Society in ASSOCIATION with the Electron Microscopy and Analysis Group of the Institute of Physics.

The Microscience Microscopy Congress has been designated an EMS Extension meeting by the European Microscopy Society.

Contact  
Office of mmc2015  
Royal Microscopical Society  
37/38 St Clements Street  
Oxford  
OX4 1JA  
United Kingdom  
t: +44 (0)1865 254760  
e: [contact@mmc2015.org.uk](mailto:contact@mmc2015.org.uk)

Dear Prof Falcieri

I am contacting you as the President of the Italian Society of Microscopical Sciences to bring to your attention the Royal Microscopical Society's flagship event – The Microscience Microscopy Congress 2015 (mmc2015).

The mmc2015 will be taking place in Manchester, UK from 29 June – 2 July 2015 and will incorporate not only EMAG 2015, the popular conference organised by the Electron Microscopy and Analysis Group of the Institute of Physics, but also the annual Scanning Probe Microscopy and Frontiers in BioImaging Meetings. The Congress aims to attract microscopists from undergraduate students upwards, from all fields and techniques of microscopy by offering a varied yet inclusive conference and exhibition. Enhancing its standing in the microscopy calendar, mmc2015 has been designated as an EMS Extension by the European Microscopy Society.

The mmc2015 conference boasts a huge six parallel sessions in the scientific programme, complemented by five internationally-renowned Plenary Speakers. The conference covers light and electron microscopy across both the life and physical sciences. Pre-Congress workshops are also on offer to give delegates a more hands-on approach to the latest topics before the Congress gets fully underway. There will be poster sessions taking place each day, which will provide excellent opportunities for presenting science and networking. To encourage as many students as possible to attend, the student registration fees have been kept low, and RMS bursaries are also available to assist with travel costs.

The mmc2015 exhibition is proud to be one of the largest microscopy and imaging exhibition that will be seen in 2015, with over 100 companies ready to showcase their very latest products and services. The mmc series is known for the abundance of free training opportunities available throughout the exhibition. This year 4 commercial workshop areas will run for the entirety of each day with industry experts offering visitors the chance to refine their skillset and learn new techniques. The Learning Zone, from the RMS is unique to the mmc series and offers a full seminar programme each day and numerous microscopes to experiment with specialists on hand to answer any questions and offer practical demonstrations.

The Microscience Microscopy Congress 2015 is set to be the biggest and best yet and I would be grateful if you could disseminate the details to your membership to notify them of the opportunities available in Manchester this summer.

Abstract Submission is currently open and Registration will open in the next 2 weeks.

Further information can be found at [www.mmc2015.org.uk](http://www.mmc2015.org.uk)

As an EMS Extension for 2015, the European Microscopy Society are offering scholarships to early career researchers to assist them in attending mmc2015. Details of the scholarships can be found at <http://www.eurmicsoc.org/scholarships.htm>

Thank you in advance and hope to see you at mmc2015

Prof Peter Nellist

President of the Royal Microscopical Society Mel Reedman

Marketing & Communications Co-ordinator

Royal Microscopical Society (RMS)

37/38 St Clements, Oxford OX4 1AJ, UK

Direct tel: +44 (0) 1865 254763

RMS office: +44 (0) 1865 254760

Fax: +44 (0)1865 791237

[www.rms.org.uk](http://www.rms.org.uk)

Find us on facebook: [www.facebook.com/RoyalMicroscopicalSociety](http://www.facebook.com/RoyalMicroscopicalSociety)

Follow us on twitter... @RoyalMicroSoc

Date for your Diary – Microscience Microscopy Congress 2015 (mmc2015) Conference  
29 June – 2 July 2015 Exhibition 30 June – 2 July 2015 at Manchester  
Central [www.mmc2015.org.uk](http://www.mmc2015.org.uk)

Follow mmc on twitter @RMSmmc



- News
- HZG im Dialog
- Events**
- Contact
- Publications
- Visit us
- Order press releases and brochures
- Press echo
- Media
- RSS-Feed
- History

08.07.2015 - 10.07.2015

## IAM Nano 2015 - Workshop on Advanced and In-situ Microscopies, Hamburg

Location **HOTEL**  Empire Riverside, Hamburg

We kindly invite you to join us at IAMNano 2015 - The International Workshop on Advanced and In-situ Microscopies of Functional Nanomaterials and Devices. The conference will take **PLACE**  from July 8-10 2015 in the Hanseatic City of Hamburg and will bring together scientists from around the world working in the field of electron microscopy for a lively **EXCHANGE**  of most recent research results and new ideas.

For **MORE**  information please visit the IAM Nano 2015 website.

<http://www.iamnano2015.com/>



# MCM2015

## Multinational Congress on Microscopy

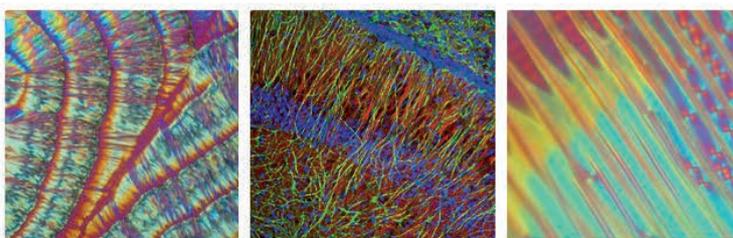
August 23-28 • 2015 • Eger • Hungary

Registration &  
Online Submission &  
Room Reservation

[HOME](#)

## Welcome

It is our pleasure to host the 12th Multinational Congress on Microscopy in Eger, Hungary during 23-28 August, 2015. On behalf of the MCM2015 Organizing Committee, we extend a warm and cordial invitation to you.



The aim of MCM conferences is to bring together leading experts and emerging young researchers applying many types of microscopic techniques in the field of life or material sciences as well as provide a **FORUM** for new directions.

[Conference Invitation](#)

[Symposia and Chairs](#)

[Conference Call](#)



EMS Extension  
2015

Exhibitors & Partners

Platinum Partner



Gold Partner



Silver Partner



Bronze Partner



[More Exhibitors & Partners](#)

[Download Exhibitor &  
Sponsor Kit](#)

General Information ▾ Program ▾ Registration & Abstracts ▾ Travel & Accommodation ▾ Sponsorship & Exhibition ▾ Contact






**MC 2015**  
Göttingen

**SEPTEMBER 6-11**  
**GÖTTINGEN/GERMANY**

**REGISTRATION** 

Please click here to register for the MC 2015.

**Abstract Submission**

Please click here to submit your abstract(s).

**HOTEL ACCOMMODATION** 

Please click here to find a list of selected hotels.

LATEST NEWS

- January 13, 2015 [Information about the cultural program](#)
- December 16, 2015 [Emailing Invitation and Call for Abstracts](#)
- December 11, 2015 [Timetable update -> 4th slot on Wednesday](#)
- December 11, 2015 [Registration now open](#)

WELCOME NOTE AND INVITATION

Dear Colleagues,

It is a special pleasure and honor to officially invite you to participate in the Microscopy Conference 2015 (MC 2015). It will be held at the Georg-August University Göttingen, Germany, from September 6-11, 2015 and organized by the German Society for Electron Microscopy e. V. (DGE) following the great success of the MC 2009 in Graz, the MC 2011 in Kiel and the MC 2013 in Regensburg. The conference aims at highlighting new developments in instrumentation, methods as well as outstanding results in materials science and life science. A focused session on 'Dynamic microscopy of energy conversion processes' will be organized by the Cooperative Research Center 1073, 'Atomic scale **CONTROL** of energy conversion'. We are confident that at least 900 participants from all over Europe and overseas will attend the conference and contribute to the success of the conference. The scientific program will consist of plenary talks on important current topics. Latest developments in the fields of instrumentation & methods, materials science and life science will be highlighted by invited talks as well as contributed oral and poster presentations.

The venue of the conference is the main campus of the Georg-August-University Göttingen, in the center of Germany. As on previous conferences, the MC 2015 will host a large **TRADE** exhibition, which aims to show the latest equipment from the manufacturers of all different kinds of microscopy and microscopy techniques, as well as suppliers of accessories and consumables, preparation tools, image analysis systems, and all important publishers in the field. The exhibition area on the central campus of the Georg-August-University Göttingen is surrounded by the lecture halls making the exhibition an integral part of the Conference. This will help the MC 2015 to become a comprehensive source of information for anybody interested in microscopy, in physical, materials or life science.

In case of any questions, **PLEASE** contact:  
 Conventus Congress Management & **MARKETING** GmbH  
 Ms Francesca Rustler/Ms Kristin Jansen  
 Carl-Pulfrich-Straße 1  
 07745 Jena/Germany  
 Phone +49 3641 31 16-341/31 16-351  
 Fax +49 3641 31 16-243  
[francesca.rustler@conventus.de](mailto:francesca.rustler@conventus.de)/[kristin.jansen@conventus.de](mailto:kristin.jansen@conventus.de)

We are convinced that this outstanding opportunity will bring your valuable and new products closer to the European microscopy community.

We welcome you to Göttingen and to the MC 2015!

Prof. Dr. Michael Seibt, Georg-August-University Göttingen  
 - Chairman of the MC 2015 -



Prof. Dr. Michael Seibt

<b>GENERAL INFORMATION</b>	<b>REGISTRATION &amp; ABSTRACTS</b>	<b>ACCOMMODATION</b>	<b>CONTACT</b>
General Information Göttingen Press Links & Announcements Mailing List Review 2013	Registration Abstracts	By car By train Accommodation	GTC IMPRINT
		<b>SPONSORSHIP &amp; EXHIBITION</b>	
		Sponsorship & Exhibition Sponsors Industrial Exhibition Media Cooperation	



**emc2016**  
Lyon • France  
www.emc2016.fr

# The 16<sup>th</sup> European MICROSCOPY CONGRESS

Lyon Convention Center - 28<sup>th</sup> August - 2<sup>nd</sup> September

HOME

PROGRAMME

REGISTER

SUBMIT AN ABSTRACT

LYON - COME AND STAY

You are here: [Home](#)

## GENERAL INFORMATION

- The Congress
- Committees
- Congress Venue
- Why come to Lyon?
- Key Dates
- The IFSM
- The EMS
- The SFμ

## SCIENTIFIC PROGRAMME

- Programme Overview
- Submit an abstract

## REGISTER

## SPONSORS

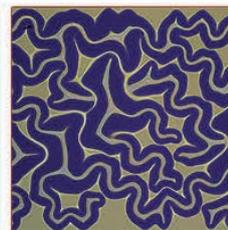
- Participate, exhibit and communicate
- Become a sponsor
- Confirmed sponsors

## VISITOR INFORMATION

- Travel information
  - How to come?
  - About Lyon

## Best wishes for 2015!

The EMC 2016 team wishes you a very happy new year with wonderful microscopy results!



Dear colleagues, dear partners

On behalf of the French Society of Microscopy SFμ, we would like to warmly welcome you in the charming and cultural city of Lyon for the 16<sup>th</sup> European Microscopy Congress - EMC2016, from August 28<sup>th</sup> to September 2<sup>nd</sup>, 2016, organized under the auspices of the European Microscopy Society (EMS) and the International Federation of Microscopy Societies (IFSM).

After having hosted the International Congress on Electron Microscopy in Grenoble in 1970, then in [PARIS](#) in 1994, it is a great pleasure and a great honour for us to invite you to be part of this new international event on microscopy that will be again in France.

Since the 12<sup>th</sup> European Congress on Electron Microscopy EUREM in Brno, Czech Republic in 2000, this European meeting, which is held every four years, has evolved to cover not only electron microscopy but a much larger panel of [ALL](#) the microscopies. We clearly intend to promote in the next EMC2016 a pluri- and multi-disciplinary atmosphere, mixing, photonic, near field, ionic and electron-based approaches, with an extension to complementary techniques such as spectroscopies, atom probe and X-ray tomography.

Our goal is to organize an unforgettable meeting for all attendees, and offer you, as partner companies and exhibitors, fruitful conditions to participate, animate, [EXCHANGE](#), and show to the whole community all your expertise and new products, on booths or during workshop sessions. This remains a definitive driving force for better knowledge and advances not only in microscopies, but more generally in science for the human being safety, care and comfort.

## Interviews



Dirk Van Dick

## Organized by



Under the  
auspices of



## Key Dates

7-12 September 2014: EMC 2016 had a booth on the IMC2014 exhibition in Prague and officially launched its website

Winter 2014/2015: Announcement of the composition of the EMC2016 International Scientific Advisory Board

Autumn 2015: Early Bird REGISTRATIONS open

Autumn 2015: Tentative preliminary Programme.

28 August – 2 September 2016: EMC 2016, Lyon Convention Centre

Dr. Thierry EPICIER  
Conference President

Dr. Pascale BAYLE-GUILLEMAUD  
Conference Vice-President

Didier BLAVETTE  
SFμ President (2014)



**An estrogen analogue and promising anticancer agent refrains from inducing morphological damage and reactive oxygen species generation in erythrocytes, fibrin and platelets: a pilot study**

*Repsold L., Pretorius E., Joubert A.M.*

*Cancer Cell Int.* 14:48, 2014. doi: 10.1186/1475-2867-14-48

2-Methoxyestradiol is known to have antitumour and antiproliferative action in vitro and in vivo. However, when 2-methoxyestradiol is administered per os, it is rapidly oxidized by 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase in the gastrointestinal tract. Therefore, 2-methoxyestradiol is prevented to reach tissue concentrations able to exert its antitumour effects. To overcome this limit, 2-methoxyestradiol analogues have been designed in silico: these compounds act as antitumour agents by altering mitochondrial functions, promoting the formation of reactive oxygen species and altering microtubule dynamics both in vitro and in vivo.

This pilot study investigates the morphological effect of one of these analogues, the 2-ethyl-3-O-sulphamoyl-estra-1,3,5(10)16-tetraene (ESE-16), on erythrocytes and platelet samples by means of scanning electron microscopy, transmission electron microscopy and flow cytometry.

This is a very interesting paper in which the studies on novel in silico-designed analogues are paralleled by morphological and quantitative analyses, with the aim to develop and validate an efficient antitumour agent.

*Stefania Meschini  
Istituto Superiore di Sanità*

**Autofluorescence spectroscopy and imaging: a tool for biomedical research and diagnosis**

*Croce A.C., Bottiroli G.*

*Eur. J. Histochem.* 58: 2461, 2014. doi: 10.4081/ejh.2014.2461

Native fluorescence, also called autofluorescence, is the natural emission of light in the UV-visible to near-IR spectral range by biological structures, when they have absorbed light at suitable wavelengths. This is a well-known phenomenon since the beginning of the 20th century, and a strict relationship has been observed between the presence of many endogenous fluorophores with the functional properties and the structural features of the living systems.

In this paper, the authors briefly summarized the history and technological progresses related to autofluorescence, and reviewed, as underlined in introduction, some selected topics deserving special interest in biomedical research and diagnosis. In fact, this review article provides a broad description of the wide-ranging attention the scientific community has given to autofluorescence of biological substrates. This allows the reader to understand that endogenous fluorophores are exceptionally powerful tools for investigating even subtle changes in the metabolic properties of cells and tissues, thus becoming suitable intrinsic biomarkers to discriminate physiological and pathological conditions. Autofluorescence properties of the biological tissues allow to perform optical biopsies, and to carry out non-invasive (or minimally invasive) diagnosis, in situ, in vivo, and in real-time: it may thus be envisaged that, in the future, the interest for autofluorescence will continue and further increase, thanks to the continuous improvement in instrumentation, devices and analytical procedures.

*Carlo Pellicciari  
Università di Pavia*

## Workshop teorico-pratico

# La microscopia confocale nello studio dei mitocondri

23-24 ottobre 2014, Università di Urbino

### I mitocondri: breve stato dell'arte

E. Barbieri

Dipartimento di Scienze Biomolecolari, Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"

E-mail: elena.barbieri@uniurb.it

Il mitocondrio non può essere considerato solo come la centralina energetica delle cellule. Partendo dagli studi evolutivi di Lynn Margulis<sup>1</sup> "On the Origin of Mitosing Cells" e quindi dalla teoria endosimbionta per cui i mitocondri si introducono nella cellula come organismi procarioti esterni, circa 1,5 miliardi di anni addietro, si prendono in esame le evidenze più recenti riguardo la biologia dei mitocondri.

I mitocondri nelle cellule non sono unità discrete a se stanti come spesso descritti nei testi, la morfologia mitocondriale è, infatti, complessa, dinamica e continuamente rimodellata dagli eventi di fusione e fissione per rispondere a specifiche esigenze cellulari. Nei mitocondri si evince l'esistenza di una struttura simile ad un reticolo costituito da un sistema continuo di membrane mitocondriali. La presenza di una struttura reticolare che interagisce con gli organelli come il citoscheletro o il reticolo endoplasmatico, presente soprattutto nelle cellule ad alta richiesta energetica, potrebbe avere un considerevole vantaggio per soddisfare le richieste energetiche per il mantenimento dell'omeostasi metabolica cellulare nei vari distretti cellulari. Il ciclo vitale dei mitocondri prevede quindi periodi di fusione e fissione che avvengono sia a livello della membrana mitocondriale interna che di quella esterna e sono controllati da GTPasi appartenenti alla famiglia delle dinamine. La vita di un mitocondrio è di circa 10 giorni: dopo un evento di fissione, i mitocondri entrano in una condizione di stato solitario nel quale sono più lunghi di circa ~20-volte rispetto al periodo di fusione.<sup>2</sup> In questa fase può avvenire mitocondriogenesi, in genere in seguito ad un

adattamento energetico come ad esempio in seguito a digiuno o esercizio fisico. Quando un mitocondrio è vitale, mantiene un potenziale di membrana polarizzato e può fondere con un altro mitocondrio. Tuttavia, se il mitocondrio depolarizza, perde di funzionalità, rimarrà solitario e potrà essere digerito tramite i lisosomi (mitofagia).

I mitocondri noti principalmente per svolgere una funzione critica nel mantenimento dei depositi energetici cellulari, sono altresì coinvolti in diversi importanti meccanismi molecolari, quali la termogenesi, i processi di apoptosi cellulare e come sito di eventi di trasduzione dei segnali cellulari, i quali possono aiutare nel coordinare l'espressione dei geni nucleari e mitocondriali stessi. Un malfunzionamento mitocondriale, per disfunzioni o mutazioni a carico del DNA mitocondriale (mtDNA) può essere associato o la causa di alcuni processi coinvolti nell'insorgenza di patologie croniche non trasmissibili quali la sindrome metabolica, il diabete, l'obesità e il cancro ed anche nell'invecchiamento.

In maniera particolare la restrizione calorica e l'esercizio fisico regolare e costante possono essere importanti strategie che permettono di controllare l'assunzione di energia e promuovere la spesa energetica tramite un incremento del metabolismo ossidativo.<sup>3,4</sup> Infatti, l'esercizio aerobico è riconosciuto come uno dei migliori strumenti per potenziare non solo la performance fisica, ma anche portare benefici per la salute e prevenire e trattare molte delle patologie croniche degenerative dette "moderne".

### Bibliografia

1. Lynn Sagan (1967) On the origin of mitosing cells. *J Theor Biol* 14 (3): 255-274.
2. Hales, K. G. (2010) Mitochondrial Fusion and Division. *Nature Education* 3(9):12.
3. Martin-Montalvo A. and Cabo R.D. (2013) Mitochondrial metabolic reprogramming

- induced by calorie restriction. *Antioxid Redox Signal* 20;19(3): 310-20.
4. Barbieri E., Sestili P., Vallorani L., Guescini M., Calcabrini C., Gioacchini A. M., Annibalini G., Lucertini F., Piccoli G., and Stocchi V. (2013) Mitohormesis in muscle cells: a morphological, molecular, and proteomic approach. *Muscles Ligaments Tendons J* 3(4): 254-266.

## I fluorocromi mitocondriali

B. Canonico

DiStEVA, Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"

E-mail: barbara.canonico@uniurb.it

L'analisi della funzione mitocondriale può essere eseguita mediante numerosi fluorocromi. La caduta del potenziale di membrana può essere rilevata, sia al citofluorimetro che in microscopia a fluorescenza e confocale, grazie a coloranti cationici lipofili; i diversi fluorocromi, essendo carichi elettricamente, risentono del potenziale della membrana plasmatica oltre che di quello mitocondriale. La necessità di mantenere l'integrità cellulare sconsiglia l'uso di tecniche di fissazione e/o permeabilizzazione quando si utilizzino fluorocromi la cui permanenza a livello mitocondriale dipende dal metabolismo mitocondriale stesso. Questi ultimi (JC-1, TMRE, ecc) possono essere considerati marcatori della funzionalità del mitocondrio, mentre altre sonde fluorescenti in grado di legare i mitocondri indipendentemente dallo stato energetico e dal loro potenziale di membrana, sono considerati marcatori di massa/numero (Mitotracker, NAO, ecc). Nelle cellule vitali con elevato potenziale di membrana, JC-1 si localizza a livello della membrana mitocondriale sotto forma di aggregati a fluorescenza rossa (gli aggregati reversibili si formano in presenza di un elevato numero di molecole vicine). Al contrario, nelle cellule dove è avvenuta una caduta del potenziale di membrana, il colorante rimane in forma monomeric a livello citoplasmatico, dando una fluorescenza verde diffusa. La tetrametilrodamina etil estere (TMRE) è un colorante cationico che da un forte segnale di fluorescenza, esibendo un modesto legame aspecifico e bassa tossicità. Il TMRE è un marcatore solubile alle membrane e si accumula all'interno dei mitocondri in base al loro  $\Delta\Psi$ , viene eccitato a 488 nm ed emette fluorescenza a 580 nm. Massa mitocondriale: questo parametro deve essere studiato in quanto è un marcatore

dell'integrità della cellula e deve rimanere relativamente costante durante le analisi. Esistono anche in questo caso più sonde fluorescenti, una di queste è rappresentata dall'arancio di nonil-acridina (NAO), capace di legarsi alle cardiolipine della membrana mitocondriale interna. Il Mitotracker Green FM (MT) è un colorante che diffonde passivamente attraverso la membrana plasmatica e si accumula all'interno dei mitocondri attivi, misurandone la massa dei mitocondri; esibisce fluorescenza verde.

## La microscopia confocale applicata allo studio dei mitocondri in cellule e tessuti

C. Ciacci, P. Ambrogini, S. Burattini

DiStEVA, Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"

E-mail: caterina.ciacci@uniurb.it

I mitocondri sono organelli dinamici, coinvolti in molte funzioni cellulari, tra cui l'attivazione dell'apoptosi, l'autofagia, il controllo del metabolismo e il signalling intracellulare. Essi partecipano a vari processi quali lo sviluppo, la progressione dei tumori, la neurodegenerazione e l'invecchiamento, e vi sono evidenze sempre crescenti dell'esistenza di un legame stretto tra disfunzioni mitocondriali e malattie umane. I mitocondri rispondono continuamente alle variazioni sia di disponibilità di substrati che di fabbisogno energetico cellulare, così da mantenere costanti i livelli intracellulari di ATP; si va affermando l'idea che la fosforilazione reversibile di proteine mitocondriali svolga un ruolo fondamentale in questo controllo metabolico, ma le vie di signalling coinvolte sono ancora poco conosciute.

La microscopia confocale consente l'analisi dell'integrità/funzionalità mitocondriale attraverso l'impiego di molteplici fluorocromi disponibili in commercio.

Per l'analisi del potenziale di membrana ( $\Delta\Psi$ ) abbiamo utilizzato: 1) il 5,5',6,6'-tetracloro-1,1',3,3'-tetraetil-benzimidazolcarbocianina ioduro (JC-1), fluorocromo ampiamente adottato in studi sull'apoptosi per monitorare lo stato dei mitocondri; 2) la tetrametilrodaminaetilestere (TMRE), marcatore solubile che si accumula all'interno dei mitocondri in base al loro  $\Delta\Psi$ , definendone il loro stato funzionale; 3) il CMX-Ros (Mitotracker red), il cui accumulo nei mitocondri è dipendente dal loro potenziale di membrana.

Per lo studio della massa/numero mitocondriale, importante al fine di rivelare l'integrità della cellula, sono disponibili diverse sonde fluorescenti. Allo scopo abbiamo utilizzato: 1) il 10-N-nonil-arancio di acridina (NAO), capace di legare la membrana mitocondriale interna, a livello delle cardiolipine, indipendentemente dallo stato energetico e dal potenziale di membrana mitocondriale; 2) il Mitotracker Green FM (MTG), colorante che diffonde passivamente attraverso la membrana plasmatica e si accumula all'interno dei mitocondri attivi.

I fluorocromi mitocondriali sono stati utilizzati in cellule vive e non fissate isolate dalla ghiandola digestiva di mitilo *Mytilus galloprovincialis* e in mioblasti di topo C2C12 dopo fissazione in paraformaldeide 4% (PFA). Sono stati, inoltre, utilizzati su sezioni coronali di 50 µm di spessore ottenute mediante taglio al vibratomo di cervello di ratto, fissato in PFA 4% immediatamente dopo il prelievo.

I risultati ottenuti suggeriscono di non fissare e/o permeabilizzare il campione quando si desidera studiare funzionalità e/o integrità mitocondriali, in quanto sia le cellule che le sezioni sottoposte a procedura di fissazione non hanno fornito una marcatura specifica.

## Sonde e anticorpi fluorescenti

G. Mazzini

*IGM-CNR e Dipartimento di Biologia e Biotechnologie "Lazzaro Spallanzani", Università degli Studi di Pavia, Pavia*

*E-mail: mazzi@igm.cnr.it*

La microscopia in fluorescenza (sia convenzionale che confocale) è oggi supportata da una varietà di marcatori che consentono ai ricercatori che operano nel campo della biologia cellulare di poter esplorare gran parte dei componenti cellulari. Per poterlo fare al meglio è importante conoscere in dettaglio le caratteristiche chimico-fisiche dei marcatori per poterli al meglio adeguare alla altrettanto ampia e tecnologicamente variegata disponibilità strumentale. Per quanto riguarda gli strumenti vi è una continua evoluzione condizionata principalmente dalla disponibilità di nuove sorgenti di luce (dalle lampade ai laser ed oggi i diodi ad alta emissione) ed è fondamentale conoscere le specifiche della parte ottica di illuminazione/emissione per poter sfruttare al meglio le prestazioni analitiche di ogni strumento. La qualità di quanto osserveremo al microscopio a fluorescenza sarà frutto della perfetta combinazione

delle prestazioni strumentali con la nostra capacità di aver scelto il marcatore(i) più idoneo ed averlo utilizzato al meglio sul campione.

Per semplicità didattica possiamo dire che ogni fluorocromo è caratterizzato da una scheda tecnica che potremmo definire come la sua carta di identità. Questa "carta" è abbastanza dettagliata e riporta molte informazioni importanti per l'utilizzatore che deve imparare a leggerle e poi interpretarle. Per far questo è importante anche sapere dove reperire queste informazioni ed è ovvio che quanto si faceva un tempo per via cartacea (libri e manuali) possiamo farlo oggi più facilmente e rapidamente attraverso "internet"...molto utile (anzi indispensabile) in questo senso il sito della "Molecular Probes" dove possiamo consultare un "mitico Handbook" <http://www.lifetechnologies.com/us/en/home/references/molecular-probes-the-handbook.html>.

Numerosi fluorocromi utilizzati per lo studio dei mitocondri vengono impiegati per la loro spiccata metacromasia in condizioni redox mentre altri sono normalmente utilizzati per marcature specifiche delle componenti mitocondriali. Più in generale possiamo affermare che esistono sonde in grado di definire le strutture (potremmo anche denominarli marcatori morfologici e che sfruttano legami di varia natura da covalenti a ponti di idrogeno) perchè a queste si legano più o meno specificamente. Questi sono certamente utilizzati con finalità meno ambiziose ma con migliore riproducibilità, stabilità ed affidabilità. Altri fluorocromi che potremmo definire più in generale funzionali e le cui caratteristiche spettrofluometriche sono modulate dalle attività funzionali (potenziale di membrana e potenziale redox) sono senz'altro di più ambita applicazione ma con diverse criticità di impiego che vanno certamente conosciute e quindi monitorate per un loro corretto impiego.

Infine un cenno particolare viene riservato agli anticorpi marcati con molecole fluorescenti che meriterebbero un capitolo a parte per la loro grandissima importanza analitica sia in microscopia e forse ancor più in citometria a flusso. Brevi cenni alle due differenti metodologie di marcatura ovvero diretta ed indiretta. Qualche consiglio pratico sulla gestione dei reagenti che sono (quelli direttamente coniugati) sostanzialmente dei complessi chimici abbastanza instabili nel tempo ed occorre conoscere i principali "trucchi" di conservazione ed uso per farli durare nel tempo (considerati anche i costi sempre più elevati).

## Mitocondri e linea germinale: il contributo di un sistema inusuale di eredità mitocondriale

M. Passamonti, L. Milani

Dipartimento di Scienze Biologiche Geologiche e Ambientali, Università degli Studi di Bologna

E-mail: marco.passamonti@unibo.it

Il ruolo dei mitocondri nel differenziamento della linea germinale dei metazoi è un aspetto particolarmente poco studiato. Tuttavia vi sono evidenze dirette ed indirette che i mitocondri abbiano un ruolo nella costituzione del plasma germinale. Inoltre, un altro aspetto poco conosciuto è la natura e la dimensione del cosiddetto 'bottleneck mitocondriale', il meccanismo per cui tutti i mitocondri di un nuovo individuo derivano da un piccolissimo gruppo di mitocondri 'fondatori', presenti nelle cosiddette cellule germinali primordiali (PGCs). Non è ancora chiaro se esistano meccanismi specifici per proteggere il DNA mitocondriale delle cellule germinali dagli stress ossidativi derivati dalla colocalizzazione con specie chimiche altamente reattive prodotte dalla fosforilazione ossidativa, un aspetto che è stato messo in relazione, tra l'altro, con i processi di invecchiamento. Il nostro gruppo affronta da qualche anno queste problematiche studiando un modello eteroplasmico inusuale, noto come Doubly Uniparental Inheritance (DUI), presente in alcune specie di molluschi bivalvi. Mentre le femmine DUI sono normalmente omoplasmiche per il genoma mitocondriale di tipo F, i maschi possiedono due tipi di mitocondri, con genoma anche molto diverso (tipo F e tipo M). Il tipo F è trasmesso dall'uovo ed è presente nel tessuto somatico di entrambi i sessi; il tipo M è trasmesso dallo spermatozoo. Le due varianti segregano in maniera sesso-specifica durante lo sviluppo embrionale. La DUI è un modello sperimentale unico per lo studio dei suddetti aspetti, che normalmente viene effettuato mediante l'induzione artificiale dell'eteroplasmia, procedura che può modificare o compromettere i processi sotto esame. Al contrario, nel maschio DUI l'eteroplasmia è naturale e le interazioni nucleo-mitocondri sono il risultato dell'evoluzione. Abbiamo utilizzato, unitamente ad approcci biomolecolari, la microscopia confocale per localizzare la linea germinale durante lo sviluppo embrionale e lo stadio adulto della specie DUI *Ruditapes philippinarum* e la sua colocalizzazio-

ne con il prodotto di un gene mitocondriale sovranumerario esclusivo del genoma di tipo M (la proteina RPHM21). Queste osservazioni sembrerebbero confermare un ruolo del DNA mitocondriale M nella trasmissione dei mitocondri maschili alla progenie e potrebbero suggerire un suo coinvolgimento nella determinazione del plasma germinale maschile nel maschio DUI. Ulteriori analisi sono tuttora in corso per confermare e/o chiarire tale ruolo.

Inoltre, abbiamo effettuato dei saggi di attività mitocondriale in vivo, evidenziando che entrambi i gameti presentano mitocondri attivi e funzionali. I risultati finora ottenuti non sembrerebbero in accordo con le teorie che postulano la soppressione dell'attività mitocondriale dei mitocondri dell'oocita per preservare l'integrità del proprio DNA.

## L'associazione dei mitocondri alle unità di rilascio del calcio è controllata da età ed attività muscolare

L. Pietrangelo,<sup>1</sup> P. Ambrogini,<sup>2</sup> S. Sartini,<sup>2</sup>  
A. Michelucci,<sup>1</sup> H. Kern,<sup>3</sup> S. Boncompagni,<sup>1</sup>  
F. Protasi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CeSI - Centro Scienze dell'Invecchiamento & DNISC - Dpt. di Neuroscienze, Imaging e Scienze Cliniche: Sez. di Fisiologia e Fisiopatologia; Università degli Studi "G. d'Annunzio", Chieti, Italia;

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente, Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo", Italia

<sup>3</sup>Ludwig Boltzmann Institute of Electrical Stimulation and Physical Rehabilitation, Vienna, Austria

E-mail: f.protasi@unich.it

È noto che le persone anziane hanno ridotta resistenza alla fatica: uno dei possibili motivi è l'incapacità dei loro muscoli di produrre energia in maniera efficiente. Le fibre muscolari necessitano immediatamente all'arrivo del potenziale d'azione di  $Ca^{2+}$  ed ATP per poter attivare e mantenere nel tempo la propria contrazione. Per questo motivo esse sono sotto il controllo diretto di due importanti organelli: a) le unità di rilascio di  $Ca^{2+}$  (URC), i siti in cui avviene l'accoppiamento eccitazione-contrazione (EC); e b) i mitocondri, le centrali energetiche della cellula che producono la maggior parte dell'ATP necessario al muscolo attraverso la fosforilazione ossidativa. Interessante il fatto che nel muscolo scheletrico URC e mitocondri sono funzionalmente e strutturalmente collegati tra loro, con l'ingresso di  $Ca^{2+}$  nella matrice mitocondriale

che va a stimolare la catena respiratoria, aumentandone così la produzione di ATP.

In questo studio portato avanti a Chieti, in collaborazione con il Ludwig Boltzmann Institute a Vienna e con l'Università di Urbino, abbiamo ipotizzato: a) che questa inefficienza metabolica dei muscoli nelle persone anziane possa in parte essere dovuta alla compromessa interazione fra mitocondri e URC; e b) che questi cambiamenti siano solo in parte il risultato dell'invecchiamento, ma che l'inattività conseguente ai cambiamenti di stile di vita degli individui anziani rappresenti un cruciale co-fattore da tenere in grande considerazione.

Per testare queste ipotesi abbiamo studiato usando microscopia elettronica (ME): a) biopsie muscolari di soggetti adulti, anziani sedentari ed anziani sportivi; b) muscoli EDL (Extensor Digitorum Longus) di topi adulti, invecchiati ed invecchiati allenati; c) muscoli EDL di ratto adulto temporaneamente denervato prima e dopo aver lasciato al nervo sciatico il tempo di re-innervare le fibre muscolari.

Nei campioni bioptici umani e nei muscoli EDL di topi e ratti abbiamo prima quantificato la frequenza ed il posizionamento sia delle URC che dei mitocondri in ME. I risultati di queste analisi quantitative - in realtà frutto di tre progetti integrati - ha portato ai seguenti risultati:

- a) l'invecchiamento e l'inattività portano ad una diminuzione considerevole del numero sia di URC che dei mitocondri;
- b) l'invecchiamento e l'inattività determinano anche un cambiamento di posizione ed orientamento di una percentuale di URC e mitocondri, con URC che tendono a diventare longitudinali e mitocondri che si spostano dalla corretta posizione alla banda I del sarcomero verso la banda A;
- c) i cambiamenti elencati in a) e b) fanno sì che l'associazione fra URC e mitocondri venga parzialmente compromessa (diminuzione pari a circa 30%);
- d) l'esercizio fisico sia nei soggetti anziani che nei topi allenati è in grado di prevenire molti di cambiamenti legati all'invecchiamento sopra descritti, dato supportato dal recupero analogo che si ottiene nei ratti re-innervati dopo il periodo transitorio di immobilizzazione del muscolo.

In molte pubblicazioni, alterazioni e dis-funzioni mitocondriali sono state proposte come possibile causa della diminuzione della funzionalità muscolare con l'invecchiamento. In questo lavoro abbia-

mo aggiunto un nuovo aspetto che potrebbe influenzare negativamente la capacità dei mitocondri di produrre energia nel muscolo invecchiato: il loro non corretto posizionamento e la loro diminuita associazione ai siti di rilascio di  $Ca^{2+}$  nelle fibre scheletriche. Le implicazioni di questi studi potrebbero essere significative: a) l'inattività, e non solo l'invecchiamento, è alla base delle modificazioni a carico del muscolo scheletrico che ne mettono in pericolo la funzionalità; e b) l'attività muscolare è un efficace terapia anti-ageing capace di preservare la corretta interazione fra gli organelli che abbiamo studiato.

### **Ridistribuzione della proteina mitocondriale AIF nel corso dell'apoptosi**

C. Pellicciari

*Dipartimento di Biologia e Biotecnologie "Lazzaro Spallanzani", Università degli Studi di Pavia*

*E-mail: pelli@unipv.it*

Apoptosis Inducing Factor (AIF) è una proteina di 67 kDa, codificata da un gene che mappa sul cromosoma X (nella regione A6 del topo e Xq25-26 nell'uomo); è altamente conservata, mostrando il 90% di identità nei mammiferi, ed essendo presente ubiquitariamente, in forme AIF-simili, anche nei batteri. Negli eucarioti, AIF possiede un segnale di localizzazione mitocondriale nella sua porzione N-terminale e due sequenze di localizzazione nucleare.

Normalmente, la sua forma matura, parzialmente troncata, di 62 kDa si trova nello spazio intermembrane dei mitocondri, legata alla membrana interna; ha la funzione di regolare l'assemblaggio e la stabilizzazione dei complessi I e III della catena respiratoria, e la sua attività redox è essenziale per il processo di fosforilazione ossidativa. Attraverso l'impiego di tecniche di immunocitochimica in fluorescenza multicolore, la microscopia confocale ha permesso di chiarirne la ridistribuzione dinamica nel corso della morte cellulare regolata (in particolare in apoptosi e parthanatos). In conseguenza della caduta del potenziale di membrana dei mitocondri e per l'apertura del poro di transizione della permeabilità mitocondriale, AIF viene degradato proteoliticamente e la sua forma troncata di 57 kDa passa nel citoplasma e poi nel nucleo, dove se ne riconosce la presenza nelle fasi precoci della morte cellulare regolata. In tali fasi, AIF è coinvolto nella condensazione e emarginazione della

cromatina e, associandosi a ciclofilina A ed alla forma fosforilata dell'istone H2AX, induce la degradazione endonucleasica del DNA cromatinico in frammenti ad alto peso molecolare (> 50 kb). Da questo punto di vista, il rilascio di AIF dai mitocondri può essere considerato come un evento distintivo delle fasi iniziali di apoptosi.

Nelle fasi tardive, invece, AIF esce dal nucleo e passa nel citoplasma, tornando ad essere immunocitochimicamente rilevabile nei mitocondri. La ricomparsa di AIF nei mitocondri dipende da una sua sintesi *de novo*, e può essere interpretata come un meccanismo adattativo volto al recupero della funzionalità mitocondriale.



## Workshop

## La microscopia elettronica applicata allo studio dei beni culturali

6-7 novembre 2014, Università di Urbino

### Indagini sulle pitture parietali romane di area vesuviana

P. Baraldi

Dipartimento di Scienze Chimiche e Geologiche,  
Università di Modena e Reggio Emilia, via G. Campi,  
183, 41100 Modena

E-mail: [pietro.baraldi@unimore.it](mailto:pietro.baraldi@unimore.it)

Vengono esposti i risultati ottenuti nel corso di alcune campagne di studi in area vesuviana mediante la microscopia Raman. Questa tecnica ha avuto negli ultimi venti anni uno sviluppo considerevole con applicazioni soprattutto nel campo dei Beni Culturali. La possibilità di indagare in maniera non distruttiva o su microcampioni la composizione, sia inorganica che organica, di materiali archeologici e artistici ha consentito di ampliare le nostre conoscenze sui materiali e le tecniche impiegate in antico. Nel caso dell'area vesuviana, sono state indagate pitture di Pompei, Ercolano, Oplontis e le ville imperiali di Stabia. È stata posta attenzione non solo ai pigmenti delle pitture murali, ma anche ai reperti strumentali sopravvissuti e a quelli indicativi di tecniche pittoriche differenti, che sono in grado di indicare alcuni cammini della loro evoluzione dall'età repubblicana a quella imperiale.

### Il legno nei beni culturali: le differenti tecniche microscopiche al servizio del processo di identificazione della specie legnosa

C. Capretti

CNR-IVaLSA, via Madonna del Piano 10, 50019 Sesto Fiorentino (FI)

E-mail: [capretti@ivalsa.cnr.it](mailto:capretti@ivalsa.cnr.it)

Il punto di riferimento principale nello studio di manufatti lignei appartenenti ai Beni Culturali è sicuramente la Norma UNI 11161 "Beni Culturali – Manufatti lignei – Linee Guida per la conservazio-

ne, il restauro e la manutenzione": essa stabilisce che tra le informazioni che è necessario reperire su tali manufatti vi è l'identificazione della/e specie legnosa/e di cui il manufatto è costituito. Dalla specie legnosa scaturiscono caratteristiche del materiale legno e informazioni sul reperto che sono imprescindibili per una ottimale gestione di quest'ultimo: è, quindi, necessario utilizzare tutte le tecniche a disposizione per poter arrivare con la maggior precisione possibile ad acquisire questo dato. La Norma UNI 11118 chiarisce quali sono le tappe di questa indagine.

L'operazione di identificazione è una operazione di confronto tra ciò che si osserva sul campione prelevato dal pezzo da identificare (osservato ad occhio nudo o mediante microscopi) e vetrini o libri di riferimento. Indipendentemente da quale microscopio si utilizzi, è auspicabile avere a disposizione la visione della sezione trasversale e delle due longitudinali (radiale e tangenziale); per questo motivo è molto importante la fase di campionamento: i campioni devono essere più piccoli possibili ma esaudire questo requisito.

Nel caso in cui non sia possibile fare il riconoscimento a livello macroscopico, si passa attraverso l'impiego del microscopio ottico (unica eccezione i carboni) con metodi di preparazione delle sezioni diversi a seconda di dimensione e stato di conservazione dei campioni. Fondamentale è sicuramente anche l'impiego del Microscopio Elettronico e, in particolare quello a Scansione, il quale consente di ottenere delle visioni tridimensionali del legno delle immagini molto nitide e per questo utili allo studio dei diversi elementi diagnostici.

In tutti i casi è necessario utilizzare delle chiavi dicotomiche che fanno da guida nel processo di riconoscimento fino ad arrivare, se non alla specie legnosa, al *taxon* più vicino possibile.

Un piccolo accenno ad un altro impiego importantissimo dei microscopi nello studio del legno nei Beni Culturali, ovvero la caratterizzazione dello stato di conservazione. Tramite l'impiego di

diverse tecniche microscopiche è possibile studiare la morfologia delle cellule legnose e, in alcuni casi, identificare gli agenti del degrado: da ciò scaturiscono importanti informazioni per la successiva fase di restauro del manufatto.

## Il microscopio elettronico a scansione nella caratterizzazione archeometrica dei metalli. Alcuni casi di studio

A. Conventi

*Università IUAV di Venezia, Sistema dei Laboratori, Laboratorio Analisi Materiali Antichi*

*E-mail: alberto@iuav.it*

Si sono presentati tre casi di studio in cui la microscopia elettronica a scansione è risultata estremamente utile ed efficace.

Il primo caso di studio ha riguardato l'analisi di dieci monete d'oro di epoca greca emesse a Siracusa dalla seconda metà del V alla fine del II secolo a.C. I risultati ottenuti indicano che l'oro usato era generalmente molto puro con una percentuale in argento inferiore al 3% sul peso. In alcuni nominali, in elettro, si sono trovate quantità maggiori (dal 4% al 35%) di argento, dando così indicazioni utili ad una migliore conoscenza delle emissioni analizzate. La presenza di piccolissimi (3-10 micron) inclusi di quarzo sembra collegabile alla tecnica di produzione, potrebbe quindi risultare significativa ai fini della determinazione di autenticità di analoghi esemplari.

Il secondo caso di studio presentato è quello relativo allo studio di un certo numero tessere di mosaico a foglia d'oro. Il lavoro effettuato dal laboratorio, in collaborazione con i colleghi Marco Verità e Elisabetta Neri, è stato quello di studiare la composizione della foglia d'oro di una ventina di tessere prodotte anticamente e di origine certa. La ricerca ha confermato quanto reperibile in alcuni trattati in cui si parla della produzione della foglia d'oro, mostrando come in molti casi l'oro utilizzato per produrre la foglia d'oro fosse quello delle monete d'oro circolanti all'epoca della produzione delle tessere. Di conseguenza conoscere la composizione della foglia d'oro può aiutare a datare il periodo di produzione o identificare delle tessere sostituite o riutilizzate.

L'ultimo caso di studio ha riguardato un medaglione in oricalco di epoca romana conservato al Museo Correr di Venezia. Si tratta di un medaglione Romano il cui periodo di coniazione può essere

stimato agli inizi del II secolo d.C raffigurante nel dritto il busto dell'imperatore Adriano e nel rovescio il Ponte Elio. Il suo studio con tecniche diverse (TAC, analisi SEM in elettroni retrodiffusi, analisi EDX, mappatura EDX) in collaborazione con l'Università di Padova ha permesso di riconsiderare e risolvere l'autenticità del manufatto.

## Bibliografia

- M. Asolati, A. Conventi, C. Crisafulli, E. Faresin, G. Salemi; Il medaglione di Adriano con il ponte Elio tra restauro antiquario e recupero virtuale; 2013 in fase di stampa
- A. Conventi, E. Neri, M. Verità; SEM-EDS analysis of ancient gold leaf glass mosaic tesserae. A contribution to the dating of materials; Proceedings of the European Workshop - EMAS 2011

## La microscopia elettronica in pressione variabile per la diagnostica e la conservazione dei Beni Culturali

P. Croveri

*Laboratori scientifici, Centro Conservazione e Restauro "La Venaria Reale", Dipartimento di Chimica - Università degli Studi di Torino*

*E-mail: paola.croveri@unito.it*

Presso i Laboratori Scientifici del Centro Conservazione e Restauro "La Venaria Reale" la tecnica SEM-EDX è utilizzata nell'ambito di attività di ricerca scientifica, didattica (svolgimento di tesi di laurea e laboratori) e di diagnostica chimica finalizzata all'intervento conservativo sulle opere.

In particolare, l'utilizzo della configurazione pressione variabile (VP) ed estesa (EP) è ampiamente applicata sia per indagini di materiali di origine biologica sia in tutti quei casi in cui è necessario impiegare la tecnica in maniera non invasiva, ovvero dove non è possibile effettuare micro-campionamenti sui manufatti.

La morfologia superficiale di opere di dimensioni piccole e medie (fino a 10-15 cm di diametro circa) può essere indagata senza effettuare trattamenti superficiali di grafitizzazione o doratura ed è associata ad analisi EDX qualitative dei materiali presenti (costitutivi e di restauro).

La gamma di materiali dell'arte analizzati è assai ampia, spazia dai materiali pittorici antichi e moderni ai materiali lapidei naturali ed artificiali, dai materiali tessili a quelli cartacei e membranacei, dai materiali lignei ai materiali polimerici

impiegati nel restauro. Inoltre la tecnica VP-SEM si è rivelata essere uno strumento estremamente efficace per la valutazione scientifica e per il controllo degli interventi di pulitura delle superfici (rimozione di sporco, di patine e di materiali sovrammessi nel corso di interventi pregressi di restauro e manutenzione).

## Dalla micro-diagnostica i segreti dell'oreficeria antica

D. Ferro

*I° ricercatore CNR-ISMN Istituto per lo Studio dei Materiali Nanostrutturati Roma; Docente nel Corso di Laurea di Scienze Applicate ai Beni Culturali, Università Sapienza*

*E-mail: daniela.ferro@ismn.cnr.it*

Quanta chimica nell'antichità! La materia è iniziata con una reazione chimica e da allora tutta l'evoluzione della natura è regolata dalla chimica, eppure la consapevolezza dell'esistenza dei processi chimici è avvenuta solo in epoca recentissima rispetto all'origine dell'universo.

L'uomo primitivo iniziò ad operare delle trasformazioni della materia che trovava intorno a lui ponendosi solo l'obiettivo di ottenere un risultato utile al suo scopo senza cercare di capirne le cause o seguirne le fasi del cambiamento. Se il risultato del suo empirismo risultava positivo, si poteva tramandare la procedura, che più tardi poteva anche essere chiamata *ricetta*, ma non si tentava di dare una spiegazione del fenomeno. È questo il principio che guida lo studio delle gioiellerie antiche, dove ogni oggetto è un compendio di micro assemblaggi, saldature, cioè operazioni in generale con scambio di energia, che è possibile individuare solo con la micro-nano diagnostica se accompagnata da considerazioni sulla termodinamica dei processi.

Le apparecchiature basate sulla microscopia SEM coadiuvata dalla microanalisi EDS sono oggi dotate di sempre più dispositivi che permettono una indagine mirata sugli elementi di gioielleria: dalle camere che operano in condizioni di non vuoto, grazie alle quali, anche le dorature a mercurio sono analizzabili, o di detector quali quello per la micro-diffrazione degli elettroni retrodiffusi che ha permesso di mettere in luce un'intenzionale differenziazione nella microstruttura del metallo nelle parti delle fibule in bronzo dove è richiesta una certa elasticità. A fianco ad un sempre più mirato arrangiamento dei parametri strumentali,

si rende oggi necessario un più attento trattamento dei dati analitici. Infatti le nuove presentazioni multimediali rifuggono dall'accettare numeri racchiusi in squadrate tabelle o in involuti grafici, quindi è sorta la necessità di ricorrere a metodi statistici quali la PCA (analisi dei componenti principali), sistemi di correlazione (Pearson ad es.) per una risposta esaustiva e di immediata comprensione, dei valori composizionali EDS. Per il trattamento dei dati morfologici, sistemi informatici di analisi d'immagine consentono l'integrazione di parametri geometrici che, immessi in geodatabase contenenti la coordinata geografica del contesto del gioiello, hanno permesso, attraverso GIS, di collocare particolari tecnologie orafe (età Imperiale Romana), in località definite, fornendo importanti spunti agli archeologi sull'esistenza di botteghe in aree urbane/extraurbane. Con la stessa metodologia si è potuto collocare un monile di provenienza incerta, conservato al MNAO Roma, in una precisa area dell'alto piano iraniano, partendo dalle sovrapposizioni dei confronti delle tecnologie impiegate nella realizzazione. Il risvolto di quanto espresso è che mai, come nel caso dello studio della oreficeria antica, è attestato il rapido alternarsi di nuove procedure analitiche che inducono nuovi sviluppi nelle progettazioni strumentali..... che a loro volta suggeriranno nuove procedure.....

## La microscopia elettronica a scansione nello studio dei materiali ceramici antichi

S. Gualtieri

*CNR- Istituto di Scienza e Tecnologia dei Materiali Ceramici, Faenza*

*E-mail: sabrina.gualtieri@istec.cnr.it*

La microscopia elettronica a scansione unitamente alla microsonda a dispersione di energia applicata ai materiali ceramici antichi, provenienti da scavi archeologici o da complessi architettonici, consente di effettuare studi di tipo archeometrico, ma anche diagnostico.

Attraverso l'osservazione e l'analisi chimica puntuale ed areale possono essere ottenute informazioni utili alla ricostruzione delle tecniche di lavorazione dei materiali stessi oppure possono essere avanzate ipotesi sulla provenienza dei materiali e delle materie prime. In aggiunta, possono essere identificate le forme di degrado risalendo ai meccanismi che le hanno prodotte.

La possibilità di identificare più strati di rivesti-

mento e determinarne la composizione chimica o anche l'individuazione di una zona di interazione tra impasto e rivestimento, o tra rivestimento e rivestimento, sono elementi che contribuiscono, per esempio, alla ricostruzione del processo di lavorazione e di cottura, cui il materiale antico è stato sottoposto.

In particolare l'applicazione di questa tecnica analitica è decisamente utile nello studio di ceramiche antiche caratterizzate dalla presenza di più strati di rivestimento, quali possono essere le ceramiche ingobbiate ed invetriate oppure alcune tipologie di maioliche che presentano, al di sopra dello strato di smalto, un sottile strato di vetrina. Molto utile è anche nel caso di ceramiche sigillate o a vernice nera, in cui il rivestimento è dato un strato di argilla parzialmente vetrificata dello spessore di circa 20-30 micron.

In tutte queste tipologie, l'approccio classico che consiste nella separazione meccanica dello strato di rivestimento dall'impasto, non garantisce l'ottenimento di materiale da analizzare privo di inquinamento. L'utilizzo del microscopio elettronico e della microsonda consente di discriminare i vari strati e ottenerne il relativo chimismo.

### **Applicazioni SEM/EPMA nello studio e nel restauro di opere d'arte: l'esperienza dell'Opificio delle Pietre Dure**

G. Lanterna

*Direttore del Laboratorio di Chimica 1, Opificio delle Pietre Dure, viale Filippo Strozzi 1, 50129 Firenze*

*E-mail: giancarlo.lanterna@beniculturali.it*

*<http://www.opificio-delle-pietre-dure.it/index.php?it/156/aboratorio-scientifico>*

In una struttura come l'Opificio, votata alla conservazione ed al restauro praticamente di tutte le tipologie di opere d'arte, le potenzialità analitiche di uno strumento come il SEM sono sempre state ritenute indispensabili. In tempi remoti con i turni analitici in strutture esterne, poi, dal 1994 con una strumentazione propria, acquisita con la prima gara di appalto europea del Ministero dei Beni Culturali. Lo strumento è stato acquistato con la dotazione più completa, sia per le applicazioni morfologiche (principalmente indagini biologiche e di materiali organici, quali fibre tessili e materiali membranacei, sia per la topografia composizionale (detector BSE ad anello con quattro quadranti) fino alla microanalisi EDS completa

nei software delle capacità di mappe multielemento e di imaging. Nella pratica del laboratorio molti prelievi sono inclusi in resina per studi stratigrafici in cross section; essi mostrano la successione degli strati con cui sono costituite, ad esempio, le policromie, ma anche la stratificazione di patine, incrostazioni e strati di alterazione di manufatti quali i metalli o i materiali lapidei. Il Laboratorio scientifico possiede un archivio di oltre 12.000 cross section, la maggior parte delle quali di policromie pittoriche, che vengono analizzate e documentate prima con la microscopia ottica, in seguito con le micro-spettrofotometrie (FTIR, Raman) ed in ultimo con l'analisi morfologica e chimica con il SEM: questo iter permette oltretutto di conservare le cross section e di poterle analizzare di nuovo con altre e più aggiornate strumentazioni o tecniche analitiche. La caratteristica principale del SEM è di consentire una precisa analisi puntuale, tanto da definirne un'analisi "posizionale", così mirare col raggio un punto di analisi: ciò ha contribuito a correggere importanti attribuzioni archeologiche su leghe di bronzo fortemente alterate, sulle quali tecniche analitiche specifiche, come la ICP, avevano "mediato" i valori composizionali a causa di particolari forme di alterazione e redistribuzione degli alligati. Il SEM utilizzato ha una grande camera porta campioni, tale da poter analizzare dei reperti metallici o dei dettagli conduttivi di circa 15 cm, rendendo così tale tecnica non invasiva. In tal modo sono stati analizzati dei reperti archeologici e di altaoreficeria, oltre allo studio delle patine di alterazione dei metalli. Anche le lamine dei filati metallici, tipici dell'arazzeria, si studiano frequentemente nella loro composizione, manifattura e alterazioni. Un ruolo importantissimo viene svolto nell'analisi delle policromie, dove l'analisi EPMA in tutte le sue varianti, spot, linescan, mappe di distribuzione di elementi ed imaging, conferma gli elementi costituenti gli strati pittorici. Alcuni particolari pigmenti neri (bitumi pirolizzati) o l'alterazione di altri (Azzurrite in Paratacamite, Biacca in plattnerite, decolorazione dello Smaltino) sono verificabili con l'analisi SEM/EDS. In ultimo lo strumento si rivela insostituibile per la ricerca ed il monitoraggio della diffusione di procedimenti e prodotti di restauro nei materiali porosi, quali intonaci, terrecotte, materiali lapidei o legno, rendendo possibile la mappatura di elementi caratteristici dei prodotti di restauro nelle matrici.

## Studio di materiali musivi mediante microscopia elettronica a scansione

M. Macchiarola

CNR - Istituto di Scienza e Tecnologia dei Materiali  
Ceramics, Faenza (RA)

E-mail: [michele.macchiarola@istec.cnr.it](mailto:michele.macchiarola@istec.cnr.it)

Il mosaico, da un punto di vista tecnologico, può essere definito come un manufatto ottenuto mediante l'accostamento di frammenti di piccole dimensioni di materiali di varia natura di forma più o meno regolare, legati fra loro ed al supporto mediante un sistema di malte. Il mosaico quindi è composto da materiali di diversa natura sia per ciò che concerne le tessere (lapidee, vitree, ceramiche, conchiglie, blu egizio, ecc.), che per quanto riguarda le malte (a base di calce, a base di calce e aggiunte ad attività pozzolanica, a base di leganti organici, ecc.). L'importanza della microscopia elettronica con annessa microanalisi (SEM-EDS) nello studio dei materiali musivi ovviamente cambia in base alla loro natura; generalmente consente di completare la caratterizzazione di questi materiali e di comprendere appieno le forme ed i processi di degrado. Le analisi SEM-EDS diventano indispensabili per la caratterizzazione delle tessere o lastre in vetro: identificazione degli opacificanti primari e secondari, caratterizzazione degli inclusi, definizione di disomogeneità composizionali, osservazioni di dettaglio di difetti strutturali e delle forme di degrado, quantificazione degli impoverimenti e arricchimenti dei vari elementi chimici rispetto al vetro originario legati a fenomeni di lisciviazione. La gran quantità di dati ricavati dalle analisi SEM-EDS su tessere (o lastre) in vetro contribuisce in maniera sostanziale a identificare le materie prime utilizzate e a ricostruire le tecniche di produzione, talvolta tipiche di un preciso periodo storico e di una ben definita area geografica. L'impiego della microscopia elettronica può inoltre fornire precise informazioni relative a tecniche e materiali utilizzati in interventi di restauro a cui il mosaico è stato sottoposto in passato.

## Il contributo delle analisi SEM-EDX nello studio dell'evoluzione delle tecniche pittoriche parietali dalle origini al medioevo

P. Pallecchi

Soprintendenza per i Beni Archeologici della Toscana,  
Laboratorio di Analisi, Largo del Boschetto, 3 - 50143  
Firenze

E-mail: [pasquino.pallecchi@beniculturali.it](mailto:pasquino.pallecchi@beniculturali.it)

Con la cultura aurignaziana nel Paleolitico superiore (circa 35.000 anni fa), compaiono le prime tracce di pittura parietale le cui testimonianze si conservano in numerose grotte dell'Europa occidentale. La notevole ricchezza espressiva di queste pitture porta, nel tempo, alla ricerca di dettagli decorativi che impongono l'uso di nuove tecniche e nuovi materiali capaci di migliorare la resa cromatica dei colori. Per la definizione degli aspetti evolutivi delle tecniche pittoriche, la microscopia elettronica a scansione, insieme a quella ottica, assumono un ruolo essenziale consentendo di distinguere gli strati di colore e quelli preparatori, di misurare il loro spessore e di osservare la granulometria e la morfologia dei loro componenti. A completamento delle informazioni la microanalisi EDX permette la determinazione qualitativa e quantitativa degli elementi chimici costitutivi.<sup>1</sup> L'applicazione di queste procedure analitiche sui dipinti aurignaziani della grotta di Fumane (Verona) ha mostrato come le prime pitture parietali sono state realizzate stendendo una sottile pellicola di ematite direttamente sulla superficie della pietra. Sempre l'analisi in microscopia elettronica, in questo caso a trasmissione, ha sottolineato come nel Paleolitico superiore il pigmento rosso venisse prodotto artificialmente per riscaldamento della goethite. A partire dal Paleolitico superiore per un lungo periodo l'evoluzione della pittura riguarda principalmente i caratteri espressivi variando di poco le modalità di realizzazione. È nell'antica Grecia, e poi in Etruria che la tecnica pittorica progredisce: viene ampliata la tavolozza dei colori e questi vengono applicati non più direttamente sulla pietra ma su un sottilissimo strato preparatorio raggiungendo così un netto miglioramento della resa cromatica e dell'adesione al substrato. Le indagini in microscopia elettronica hanno identificato numerose varianti nella realizzazione degli strati preparatori e nella composizione dei colori utilizzati nei dipinti parietali delle tombe pre-romane del sud Italia e della Macedonia (Grecia).<sup>2</sup> Testimonianze di alcune di queste varianti tecnologiche si osservano anche nelle tombe etrusche di Chiusi (VI-V sec. a.C.), dove il colore è applicato su uno strato di argilla che regolarizza il substrato, e nelle pitture delle necropoli etrusche di Sovana (III sec. a.C.) dove compare per la prima volta, in Etruria, l'uso della malta. Qui lo strato di preparazione sulle pareti piane e sulle colonne è un intonachino a base di carbonato di calcio mentre nelle superfici scolpite del timpano è un sottile strato di silice amorfa.<sup>3</sup> Le analisi sulla

tecnica pittorica utilizzata per la decorazione del Sarcofago delle Amazzoni (IV sec. a.C), oltre a riconoscere uno strato preparatorio a base di cerussite e la natura dei numerosi pigmenti, hanno evidenziato l'uso di un colorante estratto da molluschi del genere *Murex* caratterizzato dalla presenza di bromurati cromofori miscelati con cerussite o caolinite. Infine un nuovo passo verso la pittura parietale moderna si osserva alla fine dell'età romana quando compare la pittura murale a fresco che caratterizzerà il medioevo e i periodi successivi.

### Bibliografia

1. C. Giunilia-Mair, G. Albertson, G. Boschian, G. Giachi, P. Iacomussi, P. Pallecchi, G. Rossi, A.N. Shugar, S. Stock, 2010, Surface characterization techniques in the study and conservation of art and archaeological artefacts: a review. *Materials technology*, Vol. 25, no. 5, pp. 245-261.
2. H. Breculaki 2001, L'esperienza del colore nella pittura funeraria dell'Italia pre-romana V-III secolo a.C., Electa, Napoli.
3. G. Barbieri, G. Giachi, P. Pallecchi, 2013, Polychrome rock architectures. Problems of Colour Preservation in the Etruscan Necropolis of Sovana. *Science and Technology for cultural heritage. Papers 2*, Serra ed. Pisa.

### Applicazioni ESEM-EDX per lo studio dei materiali lapidei di interesse architettonico e storico artistico

G. Quarta

CNR - Istituto per i Beni Archeologici e Monumentali - UOS Lecce

E-mail: [g.quarta@ibam.cnr.it](mailto:g.quarta@ibam.cnr.it)

La tecnologia ESEM è stata introdotta nelle applicazioni di microscopia elettronica nei primi anni duemila, quando la Fei-Instrument/Philips iniziò a commercializzare i modelli XL30 ESEM e XL30 ESEM-FEG. Questo tipo di tecnologia suscitò subito l'interesse dei ricercatori operanti nell'ambito delle varie discipline scientifiche, comprese quelle del settore della diagnostica e conservazione dei Beni Culturali, potendone individuare le sue potenzialità innovative. In particolare, attraverso tale tecnologia si ha la possibilità di osservare campioni ad elevato contenuto naturale di umidità o di poter seguire il comportamento della

struttura di alcune sostanze cristalline al variare delle condizioni di umidità. Significativi sono stati gli sviluppi su questo tema che hanno consentito una migliore comprensione delle cinetiche di cristallizzazione di alcune soluzioni saline o dei processi di degrado dei materiali lapidei con elevato contenuto di minerali argillosi a reticolo espandibile. Ma il contributo più importante che la tecnologia ESEM ha dato nel settore dei Beni Culturali risiede nel fatto che tale applicazione consente di osservare a notevoli ingrandimenti e di analizzare chimicamente, mediante microanalisi EDX, campioni di materiali lapidei non conduttivi, senza la necessità di ricoprili con grafite, oro, platino ecc., notoriamente conduttivi e impiegati con regolarità in microscopia elettronica. Sostanzialmente, il campione rimane tal quale e non subisce modificazioni di sorta, rendendo possibile un suo riutilizzo per altre tipologie di analisi, promuovendo a pieno titolo tale metodologia nel campo di quelle non distruttive. Il carattere innovativo e non distruttivo della tecnica, rispetto alla microscopia elettronica convenzionale, ha permesso di ottimizzare sequenze e protocolli analitici in grado di ottenere sullo stesso campione informazioni microstrutturali, mineralogico-petrografiche e chimiche, apportando un utile ed esaustivo contributo di conoscenza su un singolo punto di prelievo, assolutamente non possibile fino a poco più di un decennio fa e, soprattutto, riducendo il numero di campioni da prelevare dai monumenti.

A titolo esemplificativo si riporta la sequenza analitica eseguibile su un campione multistrato tipico di superfici lapidee dipinte o, in generale, di interesse storico artistico trattate, degradate ecc.

Tipologia di analisi	Dati analitici
Microscopia ottica	Parametri morfometrici della microstruttura e tessitura, composizione mineralogica, individuazione della stratigrafia
Microscopia elettronica EDX	Dettaglio microstruttura, riconoscimento morfologico dei costituenti, analisi chimica elementare in modalità spot, square, line scan e maps
Microscopia FT-IR	Analisi chimica molecolare di tipo organico per il riconoscimento di composti organici (leganti antichi e/o prodotti sintetici impiegati per il trattamento di superfici). La metodologia consente anche di riconoscere composti organici presenti in quantità ridotte come i prodotti del degrado

## Applicazione del microscopio elettronico allo studio dei fenomeni connessi alla durabilità delle malte da ripristino impiegate negli edifici storici

D. Salvioni

Mapei S.p.A.

E-mail: [microscopy.lab@mapei.it](mailto:microscopy.lab@mapei.it)

La durabilità delle malte da ripristino impiegate negli edifici storici rappresenta una delle caratteristiche principali che questa categoria di prodotti deve garantire.

Tra le proprietà principali che una malta durabile deve avere possiamo sicuramente elencare la capacità di limitare la risalita di acqua dal suolo, presentare un'alta permeabilità al vapore acqueo e avere una buona resistenza all'aggressione degli agenti atmosferici. Risulta quindi fondamentale una buona inerzia chimica del legante contro i sali solubili in acqua di risalita.

Con lo scopo di valutare l'inerzia chimica dei possibili leganti abbiamo svolto uno studio comparativo tra quattro malte da ripristino sottoposte ad invecchiamento in soluzione ricca di solfati.

Le varie tecniche di microscopia elettronica si sono rivelate fondamentali nello studio e la comprensione dei fenomeni di espansione dei materiali osservati.

## Indagini archeometriche sul patrimonio artistico abruzzese: il contributo della microscopia elettronica

M.P. Staccioli, S. Benacquista

CIET Engineering s.r.l., Castelli-Teramo

E-mail: [centroricerca@iciet.it](mailto:centroricerca@iciet.it)

Gli effetti del terremoto che ha colpito l'Abruzzo nell'aprile del 2009 sono stati particolarmente distruttivi in prossimità dell'epicentro. Il sisma ha causato danni importanti a diverse strutture di interesse storico-artistico, tra queste la chiesa di santa Maria ad Cryptas a Fossa (AQ) e la chiesa di San Giovanni Battista a Castelli (TE).

Restauro e consolidamento di entrambe le strutture sono stati affidati alla ditta ICIET Engineering s.r.l. di Castelli (TE).

Per quanto riguarda la chiesa di S. Maria ad Cryptas, gioiello dell'arte medievale abruzzese, le lesioni degli affreschi interni hanno richiesto un massiccio intervento da parte delle restauratrici

coadiuvato dalle analisi svolte in laboratorio su campioni già distaccati a causa del sisma, da diverse parti del ciclo pittorico. L'identificazione della natura dei pigmenti presenti sui campioni da ricollocare è stato svolto tramite l'impiego delle tecniche di diffrattometria a raggi X (XRD), fluorescenza a raggi X (XRF) e microscopia elettronica (modalità low vacuum) accoppiata a microanalisi (SEM-EDX). Il riconoscimento composizionale dei frammenti ha permesso la corretta ricollocazione dei frammenti durante il restauro.



Chiesa di S. Maria ad Cryptas – Fossa (AQ).



Crocifisso XVI sec. Chiesa di San Giovanni Battista – Castelli (TE).

A seguito del terremoto, la chiesa di San Giovanni Battista, nel centro di Castelli, è divenuta inagibile. Parte delle opere presenti al suo interno sono state trasferite presso il laboratorio di restauro della ICIET. Il crocifisso in terracotta del XVI sec., che ornava una delle cappelle della chiesa, è stato sottoposto a un intervento di ripristino

del suo originale aspetto attraverso la rimozione dei rimaneggiamenti subiti nel XX secolo. Per individuare la natura e lo spessore dei diversi strati di preparazione sovrapposti, prima del restauro, sono state eseguite analisi su alcuni campioni in sezioni lucide stratigrafiche al SEM-EDX. Grazie alla prima analisi con gli elettroni backscatterati (SEM) e alle successive mappe ottenute tramite microanalisi (EDX), è stato possibile risalire alla composizione dei diversi strati individuati.

### **Attacchi biologici su carta e pergamena: l'importanza delle tecniche SEM-EDX per l'analisi dei meccanismi e dei danni**

I. Tosini,<sup>1</sup> F. Pinzari<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Opificio delle Pietre Dure di Firenze; <sup>2</sup>Consiglio per la Ricerca e Sperimentazione in Agricoltura- Roma

E-mail: [isetta.tosini@beniculturali.it](mailto:isetta.tosini@beniculturali.it)

E-mail: [flavia.pinzari@entecra.it](mailto:flavia.pinzari@entecra.it)

I materiali librari ed archivistici o più in generale i materiali cartacei o pergamenei, e quindi prevalentemente organici, sono facilmente attaccabili da macro e microrganismi capaci di utilizzare i composti di cui sono costituiti. Funghi e batteri sono, assieme agli insetti, gli agenti che causano i maggiori danni. Il microbiologo ha come mezzi diagnostici tradizionali, l'isolamento e la coltura in specifici terreni di crescita degli organismi presenti in corrispondenza dell'alterazione e la loro identificazione su base morfologica mediante tecniche per lo più di microscopia ottica.

Studi recenti<sup>1-4</sup> hanno dimostrato che solo una piccola percentuale (5-10%) degli organismi che attaccano i beni culturali possono essere isolati per mezzo dei metodi di coltura classici. Grazie a tecnologie basate sull'estrazione diretta del DNA o dell'RNA dei microrganismi presenti nelle alterazioni e nei materiali, è possibile analizzare e quantificare la diversità biologica presente e soprattutto distinguere i microrganismi contaminanti da quelli effettivamente responsabili del biodeterioramento.<sup>2</sup> Unendo poi le tecniche molecolari alla microscopia elettronica a scansione (SEM) è possibile risolvere molti dei dubbi che si presentano in fase diagnostica. Avviene, infatti, che a fronte di una ricca lista di potenziali responsabili di un danno, sia complesso poter distinguere il ruolo reale delle singole specie nella produzione dell'alterazione osservata nei materiali. Il SEM e la microanalisi permettono, infat-

ti, di documentare il rapporto fisico e chimico fra i microrganismi ed il substrato, sia esso organico o minerale.<sup>3,4</sup> Nel caso della carta e della pergamena grazie alle tecniche SEM-EDS, ed in particolare agli strumenti che permettono di effettuare osservazioni in vuoto variabile, nei quali i campioni non subiscono alterazioni e possono quindi essere usati per ulteriori esami (es. estrazione del DNA o dell'RNA), sono stati fatti molti passi avanti nella comprensione dei meccanismi di produzione di alcuni danni caratteristici.<sup>3,4</sup> Per esempio è emerso chiaramente come in alcuni casi ci siano delle associazioni di più organismi all'origine degli attacchi sui materiali, ed anche come i composti inorganici aggiunti nella manifattura di carta e pergamena abbiano talvolta un ruolo nella formazione della comunità microbica che è all'origine dell'alterazione del substrato.<sup>2,3,5</sup>

### **Bibliografia**

1. Sterflinger, K., Pinzari, F. (2012) The revenge of time: Fungal deterioration of cultural heritage with particular reference to books, paper and parchment. *Environmental Microbiology*, 14 (3), pp. 559-566.
2. Piñar, G.; Sterflinger, K.; Etenauer, J.; Quandt, A.; Pinzari, F. (2014) A Combined Approach to Assess the Microbial Contamination of the Archimedes Palimpsest, *Microbial Ecology*, 1-17, DOI 10.1007/s00248-014-0481-7, Springer US
3. Piñar, G; Sterflinger, K; Pinzari, F. (2014) Unmasking the measles-like parchment discoloration: molecular and micro-analytical approach. *Environ Microbiol.* doi:10.1111/1462-2920.12471
4. Michaelsen A., Pinzari F., Ripka K., Lubitz W., Pinar G. (2006) Application of molecular techniques for identification of fungal communities colonising paper material. *Int. Biodet & Biodegradation* 58, 133-141
5. Pinzari, F., Colaizzi, P., Maggi, O., Persiani, A.M., Schütz, R., Rabin, I. (2012) Fungal bioleaching of mineral components in a twentieth-century illuminated parchment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 402 (4), pp. 1541-1550.

### **SEM e microanalisi a raggi X applicati allo studio del vetro romano colorato**

M. Verità

Laboratorio Analisi Materiali Antichi, Sistema dei Laboratori, Università IUAV, S. Polo 2468, 30125 Venezia

E-mail: [mverita@libero.it](mailto:mverita@libero.it)

La microscopia elettronica a scansione e la microanalisi a raggi X trovano sempre nuove

applicazioni nello studio dei materiali vitrei antichi, in particolare di quelli colorati e policromi, per i quali l'indagine puntiforme è un requisito indispensabile per le analisi.

Recentemente con queste tecniche sono stati analizzati una decina di micro-frammenti dei *sectilia* vitrei della collezione Gorga, appartenenti alla decorazione della villa di Lucio Vero (161-169 AD) a Roma.<sup>1</sup> I campioni sono stati selezionati tra oltre 1000 reperti gialli che costituiscono una preziosa fonte di informazioni per comprendere questa particolare tecnica di colorazione del vetro in epoca romana.

Le indagini hanno riguardato l'osservazione mediante microscopia ottica ed elettronica delle sezioni lucide e la determinazione della composizione chimica quantitativa dei vetri e dei pigmenti mediante microanalisi a raggi X. Dei pigmenti gialli è stata determinata anche la natura cristallografica mediante diffrazione di elettroni retrodiffusi (EBSD).

I risultati delle analisi dimostrano che i vetrai romani utilizzavano ben tre pigmenti gialli (anti-

moniato di piombo, stannato di piombo e antimoniato-stannato di piombo) che venivano usati da soli o in combinazione tra loro per ottenere varie tonalità del colore.

Questi pigmenti venivano preparati per calcinazione di materie prime, aggiungendo anche ferro per aumentare la varietà cromatica. I semilavorati venivano quindi aggiunti al vetro fuso trasparente di tipo natron.

L'ipotesi avanzata da vari autori circa l'uso del solo antimoniato di piombo fino al IV sec. d.C. sostituito in seguito dallo stannato di piombo si è quindi rivelata inesatta. Deve quindi essere riconsiderata l'ipotesi che i due pigmenti possono essere considerati dei "traccianti" per la datazione di reperti vitrei romani.

#### Bibliografia

1. M., Maggetti M., Saguì L., Santopadre P. (2013) Colors of Roman Glass: An Investigation of the Yellow Sectilia in the Gorga Collection, *Journal of Glass Studies* 55, pp. 39-52.



## An easy and inexpensive method to expose adhering cultured cells to ozonization

M. Costanzo,<sup>1</sup> B. Cisterna,<sup>1</sup> V. Covi,<sup>2</sup> G. Tabaracci,<sup>2</sup> M. Malatesta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurological and Movement Sciences, Anatomy and Histology Section, University of Verona, Italy

<sup>2</sup>San Rocco Clinic, Montichiari (BS), Italy

Corresponding author: Manuela Costanzo

Department of Neurological and Movement Sciences, Anatomy and Histology Section, University of Verona

Strada Le Grazie 8, 37134 Verona, Italy

Tel. +39.045.8027272; E-mail: manuela.costanzo@univr.it

### Summary

The regeneration capabilities of low ozone (O<sub>3</sub>) concentrations are usually applied for therapeutic purposes; however, the biological mechanisms accounting for the positive effects of mild ozonization are still largely unknown. Due to the high reactivity of O<sub>3</sub>, the study of the cellular effects of ozonization requires controlled and reproducible experimental conditions. An experimental procedure for treating cell suspensions with O<sub>3</sub> has been already set up; however, it is hardly suitable for adhering cells such as epithelial, connective, muscular and neuronal cells. In the present work, we describe a new, easy and cheap method that, without requiring special equipment, proved to be suitable for treating cell monolayers with low O<sub>3</sub> concentrations.

**Key words:** ozone, *in vitro* culture, epithelial cells.

### Introduction

The regeneration capabilities of low ozone (O<sub>3</sub>) concentrations are usually applied for therapeutic purposes in a large number of diseases (reviews in Re *et al.*, 2008; Elvis *et al.*, 2011; Bocci, 2012); however, the biological mechanisms accounting for the positive effects of mild ozonization are still largely unknown, being basic research in the field of ozonotherapy scarce (for a scientific overview of O<sub>3</sub> therapy, see ISCO3 2012). Some molecular studies suggested that low ozonization prevents cell damage by enhancing antioxidant pathways (review in Sagai and Bocci, 2011), whereas no data are available on the structural and functional effects of low O<sub>3</sub> concentrations on single cells.

To investigate the cellular effects of ozonization it is essential to ensure controlled and reproducible experimental conditions: to do this, 1) an *in vitro* model is preferable since it allows to exclude the confusing influence of the organismic reaction which inevitably occurs in animal models *in vivo*; 2) gas flow rate and O<sub>3</sub> concentration

need to be exactly determined; 3) due to the high O<sub>3</sub> reactivity, rapid and precise handling is necessary; 4) gas administration must take place maintaining the pressure at the normal atmospheric level.

An excellent experimental procedure for treating cell suspensions with O<sub>3</sub> was set up by Larini *et al.* (2003), but it is hardly suitable for adhering cells such as epithelial, connective, muscular and neuronal cells. It is obviously possible to treat these cells in suspension and then allow them to adhere, but this represents a strong perturbation of their physiological condition and may cause artifactual alterations, especially when fine analyses of cell structural components have to be performed. With the aim to investigate the effects of mild ozonization on epithelial cells focussing on the structure and function of some cell organelles, we modified the well-established procedure by Larini *et al.* (2003), setting up an easy and cheap method for treating cell monolayers with low O<sub>3</sub> concentrations under strictly controlled experimental conditions.

## Materials and Methods

### Cell culture and gas treatment

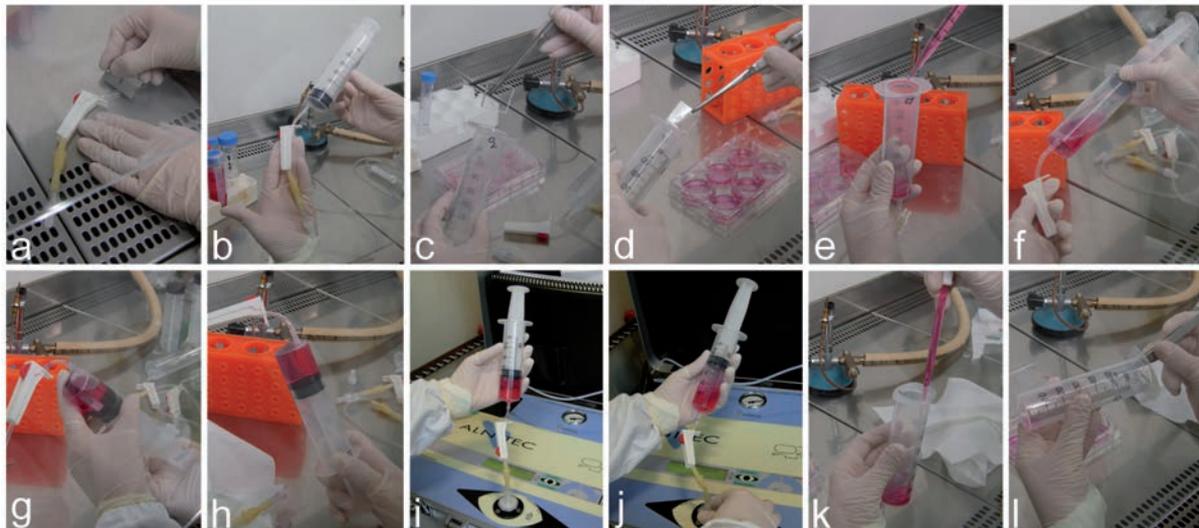
HeLa cells were grown in DMEM (Dulbecco Modified Eagles Medium) supplemented with 10% (v/v) fetal calf serum, 1% (w/v) glutamine, 100 U of penicillin and 100 µg/mL streptomycin (Celbio, Milan, Italy), at 37°C in a 5% CO<sub>2</sub> humidified atmosphere. An appropriate number of cells ( $2.5 \times 10^4$ ) were planted onto glass coverslips (24×24 mm) placed on the wells' bottom in 6 multiwell plastic dishes (Corning Inc., Corning, NY, USA), and treated 24 hours post-seeding.

The different phases of the method are shown in Figure 1. The coverslips were located into a 50 ml polypropylene (O<sub>3</sub> resistant) syringe (Terumo Medical Corporation, Somerset, NJ, USA) containing 20 mL of culture medium. In order to hold up and protect the coverslips during the treatment (which could break them and/or damage the cell monolayer), a piece (25 × 25 × 6.4 mm) of a glass strip for making glass knives for resin sectioning (Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA,

USA) was placed inside the syringe; this allowed to treat two coverslips at the same time. The syringe was connected to a tube from a blood transfusion set (suitable for O<sub>3</sub> therapy) (Aries srl, Mirandola, Italy). The tube length was shortened, by cutting with a sterilized razor blade, to the minimum necessary for handling: 3 cm from the syringe tip to the flow regulator (a portion filled with the culture medium) and 6 cm from the flow regulator to the male conical fitting (a portion containing air).

An OZO2 Futura apparatus (Alnitec s.r.l., Cremona, CR, Italy) which generates O<sub>3</sub> from medical-grade O<sub>2</sub> and allows photometric real-time control of the gas flow rate and O<sub>3</sub> concentration was used to produce O<sub>2</sub> and 10 µg/mL O<sub>3</sub>. The syringe containing the coverslips dipped in 20 mL of culture medium was connected by the tube to the OZO2 Futura output valve and an equal volume of gas (O<sub>2</sub> or 10 µg/mL O<sub>3</sub>) was collected through a sterile filter (Alnitec s.r.l.) in order to avoid contamination.

For air-treated samples, an equal volume of air was aseptically collected in the laminar flow hood.



**Figure 1.** Illustration of the experimental procedure. The tube is cut at the appropriate length (a) and is connected to the syringe tip (b). After removing the plunger, the piece of glass is placed inside the syringe (c) and then the coverslips are located at its two sides (d). The culture medium is gently poured into the syringe (e); then, keeping open the flow regulator, the plunger is introduced (f) and pushed (g) to exclude the air from the syringe (h). After closing the flow regulator, the tube tip is connected to the output valve of the ozone generator by a sterile filter (i). The flow regulator is open, to allow the gas to enter the syringe (j). The flow regulator is closed again and, after 10 minutes, the syringe plunger is removed and the culture medium extracted (k). Finally, the coverslips are removed (l).

After collecting the gas, the syringe was placed in the laminar flow hood and gently moved for 10 min to dissolve the gas in the medium. Then, the coverslips were taken out of the syringe and re-placed in the wells containing fresh culture medium.

As control, cells adhering to coverslips were kept in the well, and then analysed together with treated samples.

All samples were analysed for cell viability, cell morphology and oxidative stress at different times post-treatment (see below).

### Cell viability

To determine the effect of gas exposure on cell survival, control and treated cells (1h, 6h, 24h and 48h after O<sub>3</sub> exposure) were stained for 2 min with 0.1% trypan blue in the culture medium: cells that were permeable to the dye were considered as non-viable and their percentage was estimated by counting on 20 randomly chosen optical fields at 40x magnification in an Olympus BX51 microscope (Olympus Italia Srl, Milan, Italy).

Data were expressed as the mean of three independent experiments  $\pm$  standard error (SE). Statistical comparisons were performed by the one way-Anova test.

### Cell morphology

To evaluate general cell morphology, 24h after treatment the samples were fixed with 4% (v/v) formaldehyde (30 min at room temperature), then with 70% ethanol in water (30 min at -20°C), hydrated with PBS and stained with 0.1% toluidine blue in water for 1 min, rinsed in PBS, and finally mounted in a 1:1 PBS:glycerol mixture.

To visualize the cytoskeletal microfilaments, after treatment the cells were fixed with 4% (v/v) formaldehyde (30 min at room temperature) and 70% (v/v) ethanol in water (30 min at -20°C), rehydrated with PBS, incubated with Alexa 488-conjugated phalloidin (Molecular Probes, Invitrogen, Italy) diluted 1:40 in PBS for 1 h at room temperature, stained for DNA with Hoechst 33342 (0.1  $\mu$ g/mL in PBS for 10 min), rinsed in PBS, and finally mounted in 1:1 PBS:glycerol. These samples were also used to evaluate the percentage of mitotic and apoptotic cells (identified by chromatin morphology) as above described for cell viability. For observation of all samples, an Olympus BX51 microscope was used; for fluorescence microscopy, a 100W mercury lamp was used under the following conditions: 450-480 nm excita-

tion filter (excf), 500 nm dichroic mirror (dm), and 515 nm barrier filter (bf) for Alexa 488; 330-385 nm excf, 400-nm dm, and 420 nm bf, for Hoechst 33258. Images were recorded with a QICAM Fast 1394 Digital Camera (QImaging, Surrey, BC, Canada) and processed with Image-Pro Plus software (Media Cybernetics, Inc., Rockville, MD, USA).

### Detection *in situ* of Reactive Oxygen Species (ROS)

The intracellular sites of ROS (superoxide anion radical and singlet oxygen) production were visualised by the cytochemical method based on a diaminobenzidine (DAB)-Mn<sup>2+</sup>-Co<sup>2+</sup> reaction (Freitas *et al.*, 2002). Briefly, 30 min and 5h post-treatment HeLa cells were incubated for 30 min in a medium containing 12.5 mM DAB, 5 mM MnCl<sub>2</sub> and 40 mM CoCl<sub>2</sub> dissolved in 10% w/v polyvinyl alcohol, in 100 mM Tris-maleate buffer pH 8.0 at 37°C. The cells were then extensively rinsed in hot (60°C) distilled water and finally mounted in PBS:glycerol (1:1). As a positive control of the cytochemical reaction, HeLa cells treated with 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 2h at 37°C were treated as above. The samples were observed in differential interference contrast (DIC) using an Olympus BX51 microscope.

## Results and Discussion

Maintaining cells in a condition as close as possible to the physiological state is essential to evaluate properly the effects of any experimental treatments. In the present study, we verified the reliability of an original experimental procedure to expose cell monolayers to gaseous treatment. In particular, we were interested in setting up a system to expose cell monolayers to O<sub>3</sub>/O<sub>2</sub> gas mixtures, in the frame of a research aimed at investigating the cellular mechanisms responsible for the therapeutic effects of mild ozonization.

We demonstrated that gas (10  $\mu$ g/mL O<sub>3</sub>, O<sub>2</sub> and air) treatment in the syringe does not induce cell death; in fact, trypan blue-positive cells were lower than 1% in all samples for any post-treatment time considered, with no significant difference with control samples (i.e., untreated cells maintained in the well). Accordingly, similar results were found for the apoptotic cell percentage, which was negligible, ranging from 0.10 $\pm$ 0.04

to  $0.12 \pm 0.07\%$  in all samples. The treatment did not affect the mitotic index too, that was found to range from  $0.34 \pm 0.11$  to  $0.53 \pm 0.12\%$ , without significant difference among samples.

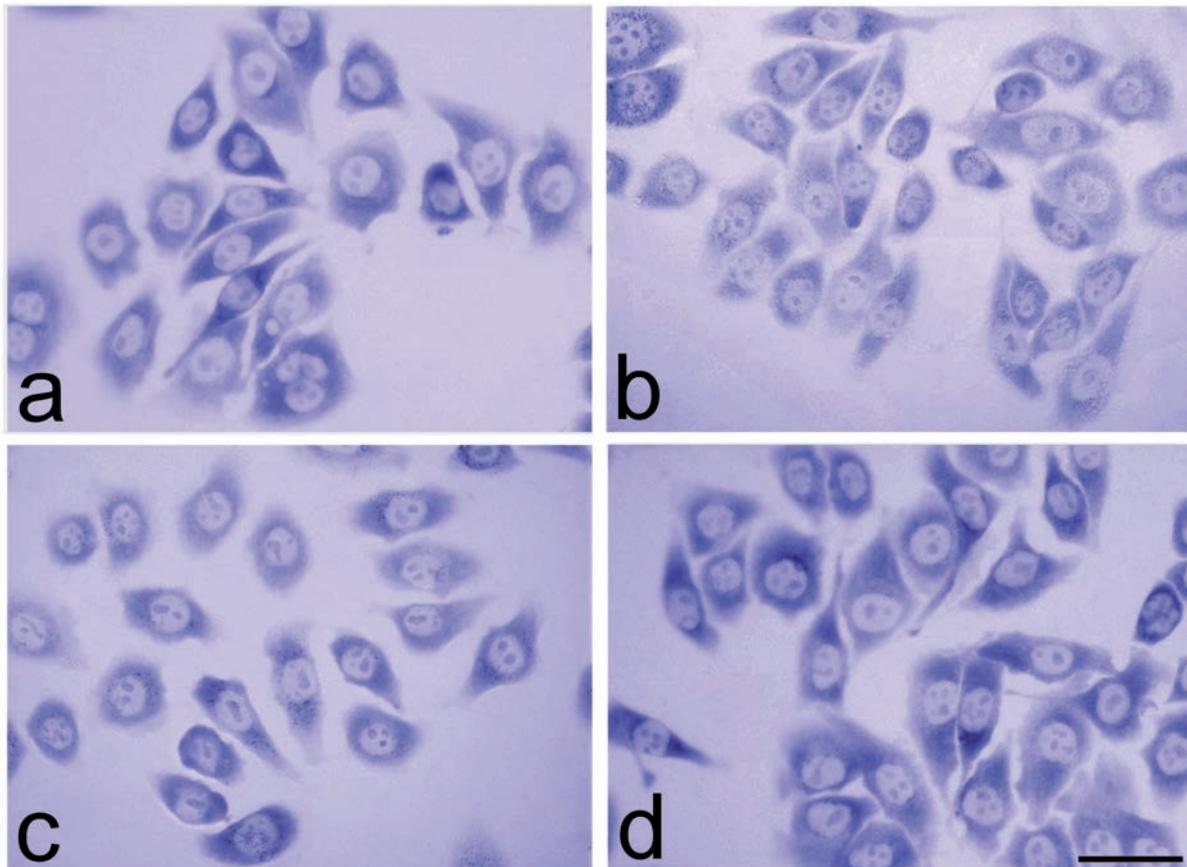
The general morphology, investigated by toluidine blue staining (Figure 2), demonstrated that nor gas flow nor handling did injure the cell monolayer. The cells were firmly adherent and flattened, and uniformly distributed in all the samples treated in the syringe, similarly to control cells maintained in the well.

This observation was confirmed by fluorescent phalloidin labelling of actin (Figure 3), which showed that, 24h post-treatment, the arrangement of the cytoskeletal microfilaments was not altered by gas exposure or mechanical treatment. In addition, phalloidin labelling revealed that cells treated with  $10 \mu\text{g O}_3/\text{mL}$  were more distended than those of all the other samples (control included),

according to our previous observations (manuscript in preparation) as well as to literature data suggesting a dose-dependent effect of ozone on actin polymerization (Taulet *et al.* 2012; Muliyl and Narasimha, 2014).

The method based on a DAB- $\text{Mn}^{2+}$ - $\text{Co}^{2+}$  reaction demonstrated that positive cells were less than 0.1% in all samples both 30 min (Figure 4) and 5h (not shown) post-treatment, thus excluding oxidative damage for all samples treated in the syringe. The reliability of this cytochemical method (Freitas *et al.*, 2002) was confirmed by the positive control after  $\text{H}_2\text{O}_2$  treatment, where cells showed diffuse and granular blue staining in both the cytoplasm and nucleus.

Taken together, these results demonstrate that our experimental procedure allows treatment of cell monolayers with gas flow produced by the ozone generator without inducing evident cell



**Figure 2.** HeLa cell monolayers from control (a), air-treated (b),  $\text{O}_2$ -treated (c) and  $10 \mu\text{g}/\text{mL O}_3$ -treated (d) samples. Toluidine blue staining. In all samples, cell morphology is well preserved. Bar:  $40 \mu\text{m}$ .

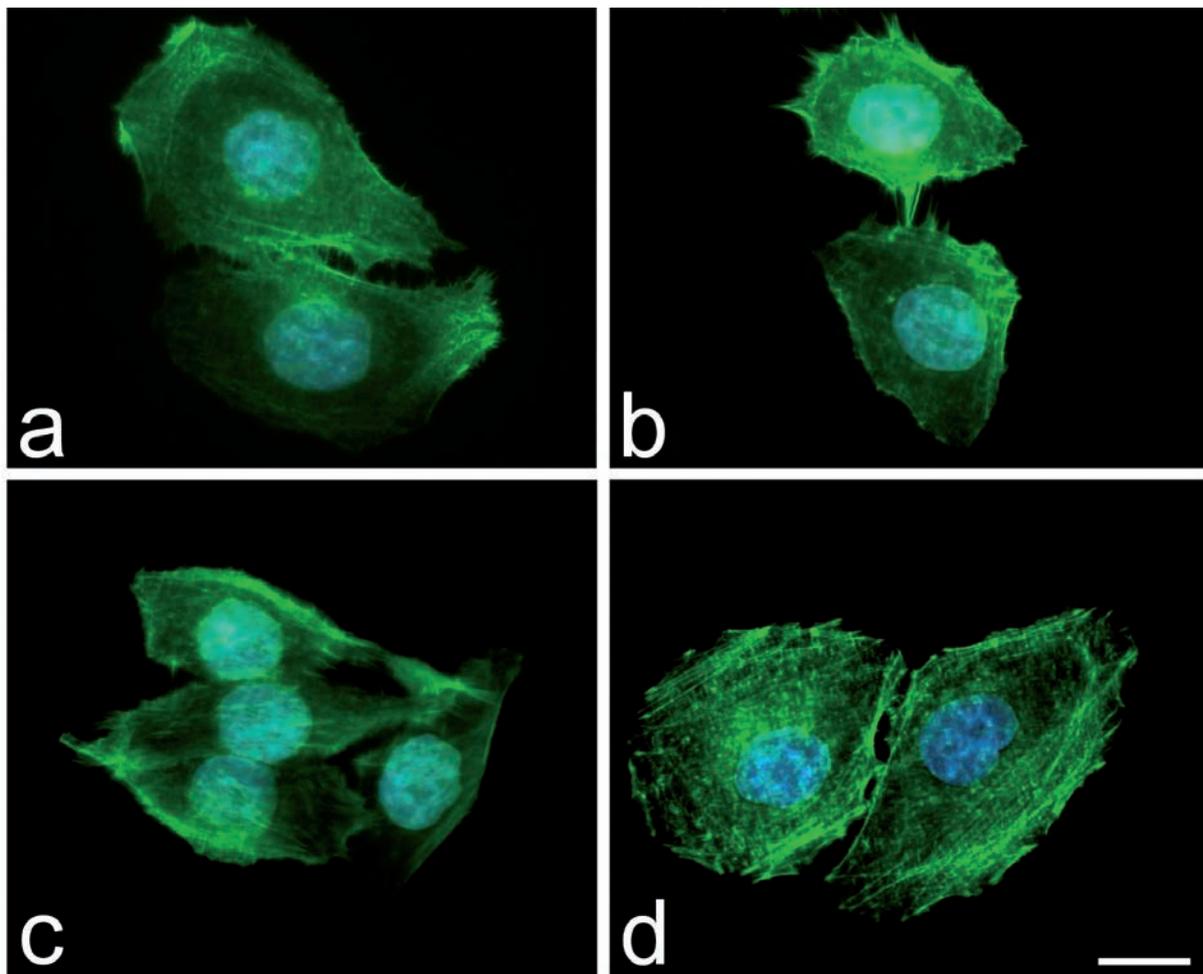
damage or alteration.

By our system, the gas pressure inside the syringe is maintained at the atmospheric one. In addition, the contact between gas and culture medium (and consequently the cells) takes place immediately after emission from the generator, and no additional passages are needed. This is essential to ensure controlled experimental conditions, being  $O_3$  an extremely reactive gas.

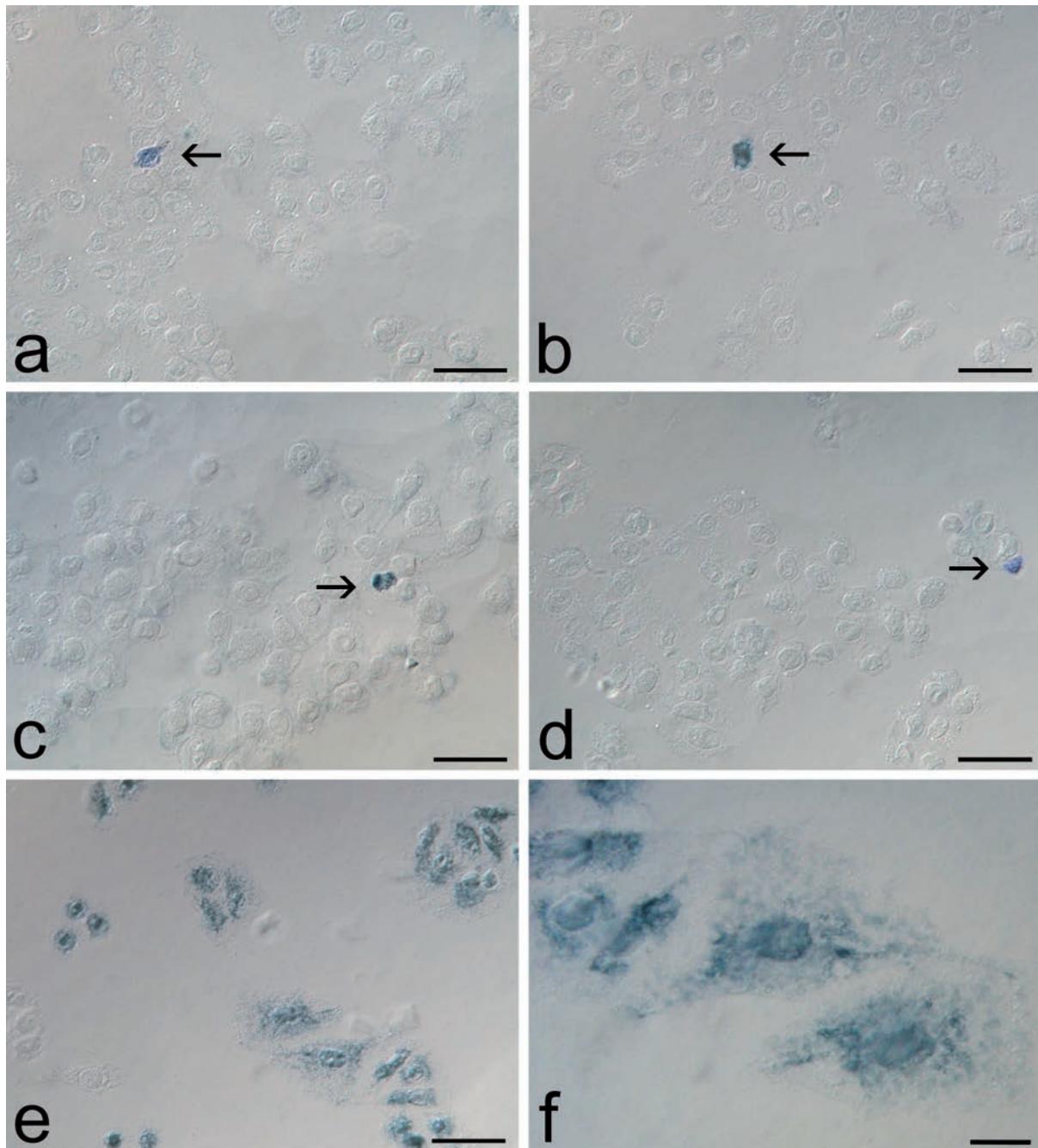
It should be underlined that the short portion of the blood transfusion tube with its flow regulator is necessary for preventing culture medium from dropping and dampening the filter, thus hampering gas flow. However, the volume of the air contained in the tube can be considered as negligible since it corresponds to about 0.15% of the total

amount of gas present in the syringe.

In conclusion, the technique we propose does not require special devices or equipment to be performed; it is repeatable, easy and cheap, and it allows to expose cultured cell monolayers to the ozone treatment. This is extremely convenient especially for investigating the effects of ozonization at short times post-treatment, which is prevented when adhering cells are exposed to ozone in suspension and relatively long times (sometimes hours) are needed for cells to adhere again to the growing substrate. In particular, this method promises to be suitable for studying the effects of ozone on the molecular mechanisms of cell adhesion or on the cytoskeleton-related transport of vesicles during endo- and exocytosis.



**Figure 3.** Fluorescence micrographs of HeLa cells from control (a), air-treated (b),  $O_2$ -treated (c) and  $10 \mu\text{g/mL } O_3$ -treated (d) samples. Cytoskeletal actin was labelled with Alexa 488-conjugated phalloidin (green); nuclear DNA was stained with Hoechst 33342 (blue). The actin filaments of  $10 \mu\text{g/mL } O_3$ -treated cells are more evident than in the other samples. Bar:  $20 \mu\text{m}$ .



**Figure 4.** Differential interference contrast (DIC) micrographs of HeLa cell monolayers from control (a), air-treated (b), O<sub>2</sub>-treated (c) and 10 µg/mL O<sub>3</sub>-treated (d) samples. DAB-Mn<sup>2+</sup>-Co<sup>2+</sup> reaction for detection of ROS. Note the very low number of cells showing intracellular blue precipitates (arrows) in all samples. e,f) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated cells (positive control of the cytochemical reaction). The number of positive cells is high (e) and the blue final reaction product occurs in both the cytoplasm and nucleus (f). Bars: a-e, 50 µm; f, 20 µm.

---

**References**

---

- Bocci V. How a calculated oxidative stress can yield multiple therapeutic effects. *Free Radic Res* 2012;46:1068-75.
- Elvis AM, Ekta JS. Ozone therapy: A clinical review. *J Nat Sc Biol Med* 2011;2:66-70.
- Freitas I, Griffini P, Bertone V, Bertone R, Fenoglio C, Milliere R, et al. In situ detection of reactive oxygen species and nitric oxide production in normal and pathological tissues: improvement by differential interference contrast. *Exp Gerontol* 2002;37:591-602.
- ISCO3 - International Scientific Committee of Ozonotherapy. Ozone therapy and its scientific foundations. Madrid, 2012. <http://www.isco3.org>.
- Larini A, Bianchi L, Bocci V. The ozone tolerance: D) Enhancement of antioxidant enzymes is ozone dose-dependent in Jurkat cells. *Free Radic Res* 2003;37:1163-8.
- Muliyil S, Narasimha M. Mitochondrial ROS regulates cytoskeletal and mitochondrial remodeling to tune cell and tissue dynamics in a model for wound healing. *Dev Cell* 2014;28:239-52.
- Re L, Mawsouf MN, Menéndez S, León OS, Sánchez GM, Hernández F. Ozone therapy: clinical and basic evidence of its therapeutic potential. *Arch Med Res* 2008;39:17-26.
- Sagai M, Bocci V. Mechanisms of action involved in ozone therapy: is healing induced via a mild oxidative stress? *Med Gas Res* 2011;1:29.
- Talet N, Delorme-Walker VD, DerMardirossian C. Reactive oxygen species regulate protrusion efficiency by controlling actin dynamics. *PLoS ONE* 2012;7:e41342.

# Coprolite specimens from Pietraraja (lower Cretaceous, Southern Italy): morphological analysis by scanning electron microscopy

G. Russo,<sup>1</sup> P. Raia,<sup>2</sup> M. Lauteri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (IBAF) - Porano (TR), Italy

<sup>2</sup>Università degli Studi Napoli Federico II, Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e delle Risorse, Naples, Italy

Corresponding author: Giuseppe Russo

Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (IBAF),

Via Guglielmo Marconi 2, 05010 Porano (TR), Italy

Tel. +39.0763.37491; Mobile: +39.320.5758929.

E-mail: giuseppe.russo@ibaf.cnr.it

## Summary

The excavation in the palaeontological site of Pietraraja (Benevento, Italy) allowed to discover a large number of coprolites, though a precise stratigraphy would be only conceivable. The microscopic analysis of the samples provided valid elements to identify the producer and the palaeoenvironment of the icno-fossilization, through the identifications of the inclusions and the possible causes of preservation. The final part of this study presents elements to identify the producer comparing the microscopical evidences of the coprolites with rests of associated fauna, in particular the plausible dental apparatus of a *Notagodus pentlandi*.

**Key words:** coprolites, cretaceous, palaeoenvironment, fossils, fish, SEM.

## Introduction

The *Civita* di Pietraraja (lat. 41.35; long. 15.55; alt. 832 a.s.l.) is a locality on the eastern Matese mountains, 70 km northeast of Naples (Southern Italy) (Figure 1). Since the 18th century, the area was known for the beautiful fossil fish, exquisitely preserved in marly limestone, that are called *itti-oliti* (Italian, for *fish-stones*). The *Civita* di Pietraraja locality is actually a fossil Lagerstätte, dated to the Lower Cretaceous. The area of the main fossil site is loosely fenced, several buildings have been built on the fringes of the 'official' fossil site, including a football field and a never completed hospice for elder persons and two water reservoirs. All of these buildings were built upon layers of fossiliferous limestone, thus hampering research and recovery of fossils (Signore, 2004).

The coprolites are icnofossils, members of a group of fossil traces that includes *regurgitalites* (dejections from the oral cavity) and *colalites* (intestinal content fossilized *in situ*). Hunt (1992) utilized the term bromalites to include all these

fossil traces. Though found in beyond 20 countries and from a wide temporal range (Palaeozoic-Quaternary), often the coprolites without inclusions of bones were ignored in spite of the high paleoecological information about the environment related to. Most of the literature is about cretaceous coprolites derived from dinosaurs, probably herbivorous, as in the cases of India (Prasad *et al.*, 2005) or the Two Medicine formation in Montana, USA (Chin, 2007). In the European Cretaceous some cases evidenced small coprolites as in Portugal (Friis *et al.*, 2004) or the termite coprolites in France (Colin, 2011). Fish coprolites from Morocco were studied (Lamboy *et al.*, 1994) and, considering the paleogeography of Cretaceous, this represents the nearest scenario to Pietraraja site: a tropical lagoon with the contribution of a submarine channel (Carannante *et al.*, 2006).

## Materials and Methods

The specimens from the Pietraraja site are not

linked to a precise stratigraphy; unfortunately, the excavation of the site has presented many problems (Signore, 2004) and the coprolites are a sort of remains, both for technical and preconception reasons, in spite of the potential palaeo-informations that they can provide. It is more plausible that these fossils came from the more massive *catastrophic* layer, most possibly developed by rapid and catastrophic events of submarine slides (Signore, 2004) because the specimens including coprolites were often associated with dental batteries coming from durophagous fish, most possibly *Coelodus* sp. (Signore, 2004). The specimens analyzed, about 1-4 cm long, are several but the only considered were those without macroscopic inclusions (bones, unidentified rests) and including eventual microscopic details. Observations by Scanning Electron Microscope (SEM) were made on specimens, previously metalized by a vacuum evaporator JEE 4B (Jeol USA Inc.), and coated by 10-20 mg of gold. Specimens were subsequently observed under a Quanta 200 ESEM (FEI

Corporate, Oregon, USA), at the CISME center of the Federico II University of Naples.

## Results and Discussion

The first question could be: are the samples coprolites? In fact, the samples could be simple sedimentary phosphates. The nature of coprolites is suggested by their large quantities in a paleoenvironment identified as water-based, the probable nature of inclusions (Figures 2-5) as vegetables (the coprolites of herbivorous presents an elevated degree of conservation; Hill, 1976) and the presence of phosphate: actually the causes of phosphatization process are not known but the coprolites represent the main site of enucleation for the precipitation of the apatitic sediment (Ece, 1990). The external morphology of the observed coprolites does not permit to identify the fecal producer or to classify easily the icnofossil according to a discrimination about polarity. In



Figure 1. The Lagerstätte of Pietraroja (Italy).

fact no kind of morphology or remark of lamination is identifiable; then the analysis of inclusions only can be predictive. In spite of these considerations, the preservation of the fossil gives general information about the producer: the preferential preservation of the coprolites is the diet. Bradley (1946) suggested that calcium phosphate of the carnivorous diet can be the best permineralizant agent. Ca and Si are the most frequent elements in the samples as recognized by the SEM probes, most likely these elements compose the grain and the matrix of the specimens; the same instrument

cannot detect carbon and nitrogen. Moreover the association in the fossil record allows the coprolites to be related to the fish-fauna, because dental apparatuses from durophagous and carnivorous fish were discovered in the same paleoenvironment. The group of the observed fibers (Figure 2a; Figure 3; Figure 4) exhibiting a spiral pattern is consistent with materials digested and dejected by evolved fish groups (Kapoor *et al.*, 1975), though the inclusion would be considered as compressed. The pores, identified at higher magnification (Figures 2b; 5 a-d), appear bended if compared

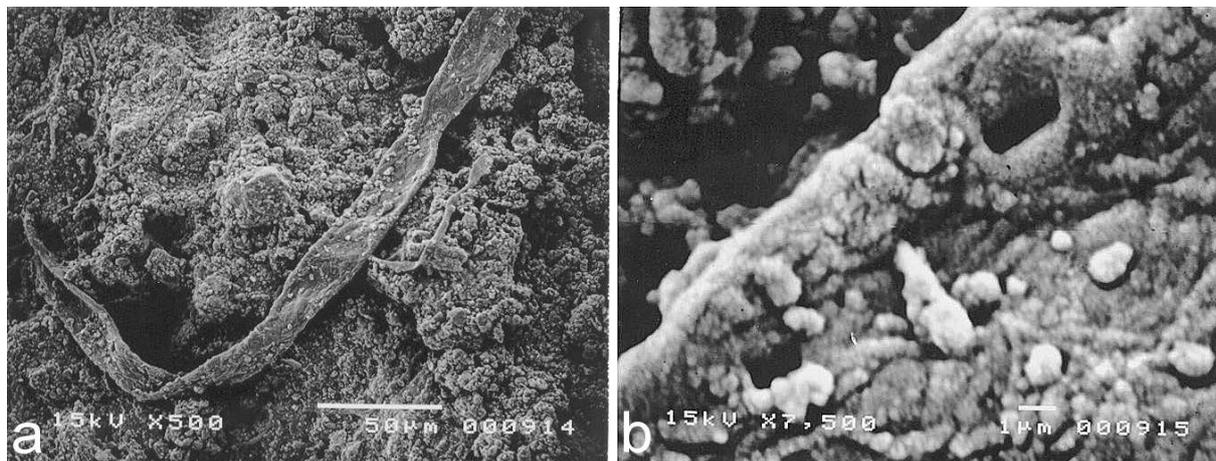


Figure 2. Single vegetable fiber (a); detail of a presumptive stomatal evidence (b). Bar: 50  $\mu\text{m}$  (a); bar: 1  $\mu\text{m}$  (b).

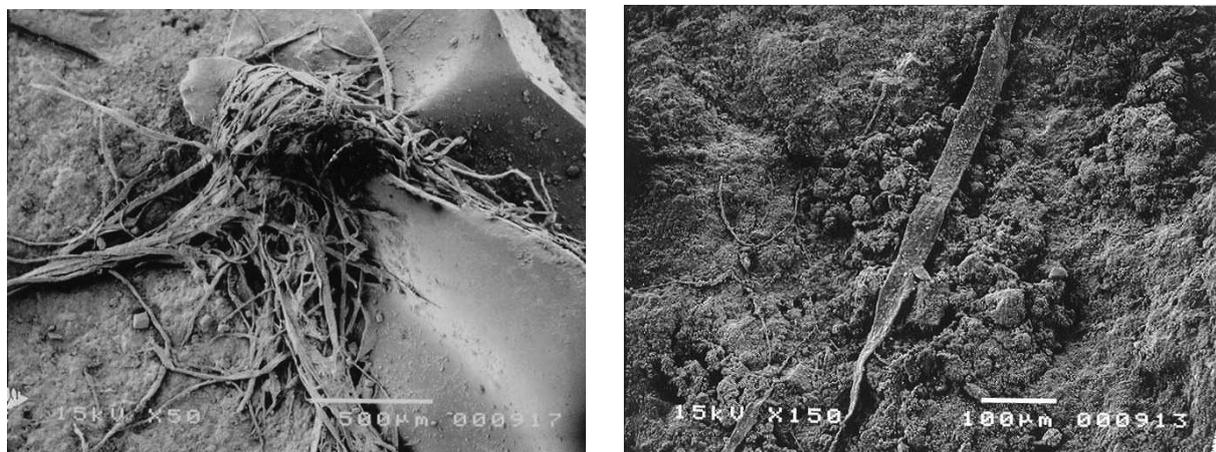


Figure 3. High concentration of vegetable fibers. Bar: 500  $\mu\text{m}$ .

Figure 4. Single vegetable fiber present in the matrix of a coprolite. Bar: 100  $\mu\text{m}$ .

with the length of the structure and in a serial succession. This could implicate that the pores are stomata, thus excluding that the inclusions might be algae; furthermore algae were never found in the fossil record of Pietraraja site. Initially, these vegetable fragments were supposed to belong to the Gymnosperm group (which is present in the Pietraraja paleoflora), but the traits observed would place the inclusions among the primitive Angiosperms, whose presence is not well documented in the fossil record though rests are cited in literature (Bartirromo *et al.*, 2006). This could be consistent with the large diffusion of Angiosperms since the lower Cretaceous at lower latitudes (Hughes, 1994). The only doubtful feature is the too small size of stomata (about  $3\ \mu\text{m}$ ), though an epidermal accretion could make them less visible and the typical sunken structure is similar as in

some higher plants adapted to xeric climate (Schimper, 1903). The great quantity of preserved fishes in a lagoon of lower Cretaceous, the morphology of dejection and the absence of residual bones suggest that the coprolite producer were herbivorous fishes.

Another hypothesis deals with the entomologic nature of inclusions as tracheas of insect, dorsal vessels or crustacean esocuticle. The tracheas of insects have a typical spiral structures (Strelin, 2012), but they do not resemble the observed inclusions, whereas the vessels which are made of a soft tissue could hardly be fossilized or preserved; the inclusions found actually exhibit the rhomboidal forms as the scales of some crustaceans (Euphasiacea, Anfibodia) with pores resembling stigma, but these crustacean taxa are absent in the fossil record of Pietraraja. Thus, this

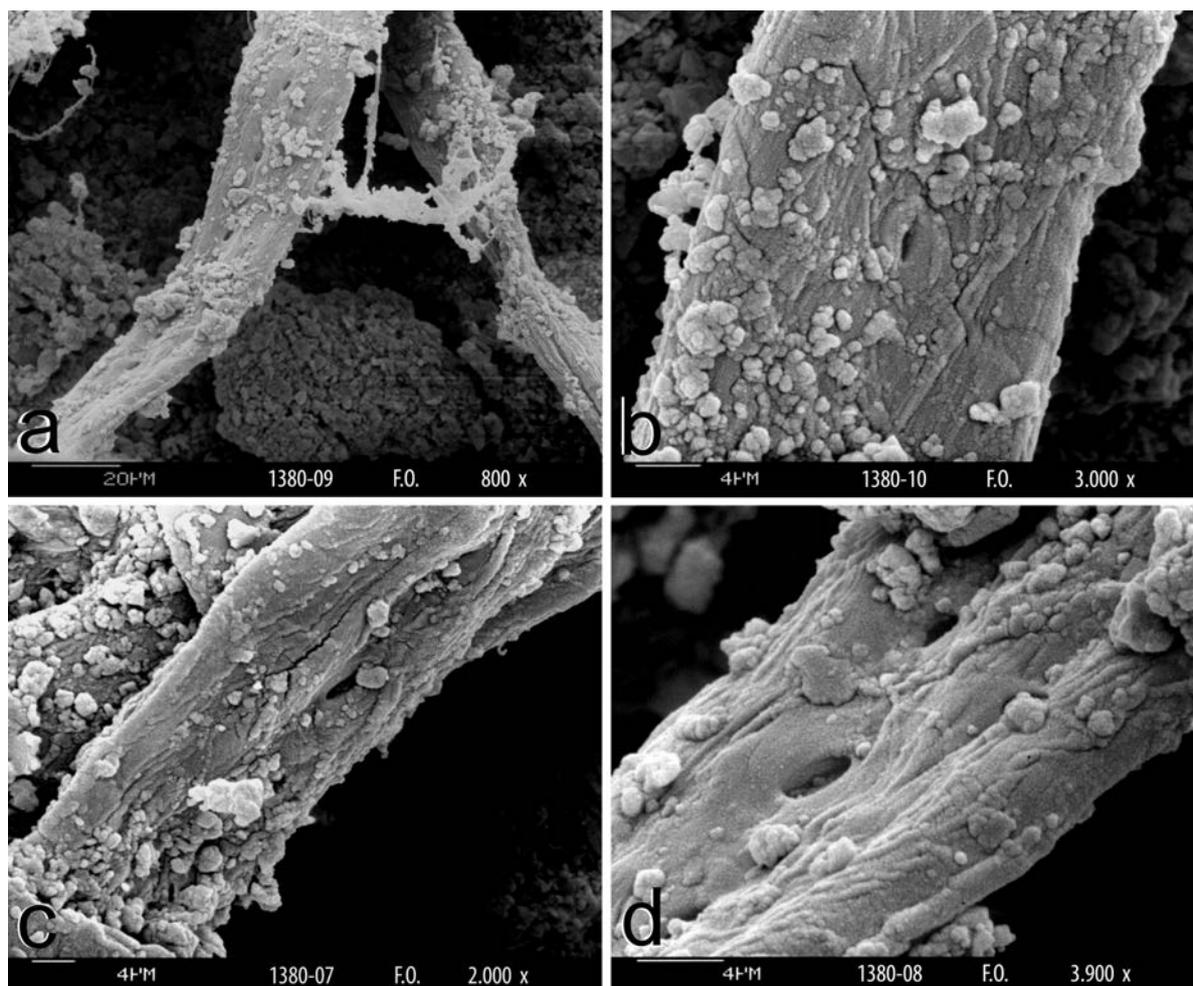


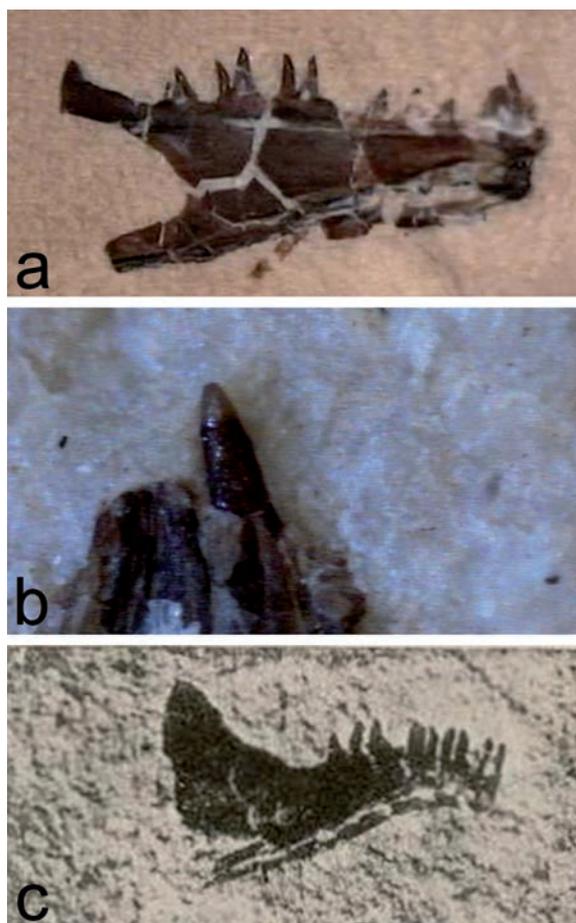
Figure 5. Details of a vegetable fiber with stomatal evidence. Bar:  $20\ \mu\text{m}$  (a); bar:  $4\ \mu\text{m}$  (b-d).

hypothesis is unlikely. Furthermore, studies on the activity of fish digestive enzyme demonstrated that the chitinous material is completely degraded (Gutowska, 2002), while less than half of the plant material ingested by an herbivorous fish is assimilated (Targett and Targett, 1990). The mechanisms of fossilization are attributable to permineralization process with tridimensional conservation of tissues, if early diagenesis occurs, the precipitation of mineral takes place in the first phases of anaerobic fermentation, without the complete obliteration of the structures of vegetable cells (Perkins, 1976). The presence of Si and Ca, as demonstrated by SEM, would confirm this process during which the permineralized inclusions were not compressed by the  $\text{NH}_3$ -releasing decomposition. The presence of a more basic environment would facilitate  $\text{CaCO}_3$  precipitation inside the decomposing tissue as in the case of Santana Formation (Brasil), where the francolite permineralized the tissues (Martill, 1988).

The fish digestive systems differ according to the diet: it is short and rectilinear in the carnivorous species or long and convoluted in the herbivorous ones (Helfman *et al.*, 2009); the presence and orientation of the vegetable fibers in the coprolites seem to be more compatible with herbivorous fish. This makes it likely that hypothetical producer could be an herbivorous fish living in a changeable water-based environment with primitive Angiosperms (riparian?). The fossil record, though rich of examples, does not permit to recognize the changes in the marine environment or the interactions and the behaviour of predator and herbivorous fishes. The hypothesized riparian ecosystem, in which the producer deposited its dejection, is plausibly characterized by turbidity due to the grazing activity and floods, with a reduced photosynthesis. In coastal settings there is a great complexity if compared to basin and riverine wetlands: the latter is subjected to inundation with salt water, disturbance regimes and other environmental gradients (Hunter, 2000). Because of fluctuating water regimes, there is a dynamic interface between aerobic and anaerobic conditions, causing leaf abscission and the consequent favorable conditions for fossilization. The presence of vegetable inclusions is linked to a certain abundance and probably a lower index of biodiversity. These aspects characterize the riparian as extreme salty zone, favorable to species able to adapt their habits to a specific diet.

#### Elements to hypothesize *Notagogus pentlandi* Agassiz as the coprolite producer

A remarkable case of association with the coprolite samples is constituted by the discovery of a dental apparatus (Figure 6a-b); a similar structure was never found in the fossil record of Pietraraja site and, although the correspondence producer-production can only be hypothesized, it offers the basis for an investigative approach. The most similar dental apparatus present in the fossil record of Pietraraja belongs to *Notagogus pentlandi* (Agassiz, 1835; Figure 6c) that presents about 10 teeth on the mandible (Bravi, 1994). The analyzed dental apparatus (about 0.5 cm in length, eterodontic and with a small number of teeth)



**Figure 6.** Dental apparatus of discovered in association with the coprolite specimens (a). Detail of a conic tooth (b). Rest of dental apparatus of *Notagogus pentlandi* found in Pietraraja site (c).

would indicate *rubble* habits of the fish. Two groups of teeth are present: long incisive (number not well defined) and three triangular teeth, almost conical, with a large basis (Figure 6a). The groups are equidistant, including the final teeth, characterized by three groups of conical teeth of two each. It is plausible an increase of thickness of dental basis in the distal position of the apparatus. The dimensions of the sample could be too low than cited in literature, but D'Erasmus (1914), describing *Notagogus*, attributes a certain intraspecific variability, that previously caused mistakes in the classification. The presence of a white extremity at the top of a conical tooth would establish that the fish belong to the Osteichthyes, and recent studies in a Morocco area similar to Pietraraja site clearly suggest the family Macrosemiidae (Murray and Wilson, 2009); in particular the observed specimen could be premaxillary teeth. Bartram (1977) describes the teeth of *Notagogus* as mammaliform, and evidence of barbed or promiscuous teeth in the species discovered at the Tlayua Quarries site in Central Mexico (Gonzalez-Rodriguez *et al.*, 2004) would indicate a similarity with the present case of study. The characteristics of the Mexican site are similar to Pietraraja (fish limestones), with presence of *Notagogus pentlandi* and also, in a lower number, *Notagogus helenae*. Stratigraphic information suggests a double migration of the family from its original distribution in Tethys Ocean to the west, following the aperture of the northern part of the Atlantic Ocean until Mexico (Gonzalez-Rodriguez and Reynoso, 2004). It is the only European species of Macrosemiidae present in South America. In Spain, the Macrosemiidae as *Notagogus* are often associated to both cliff and fresh-water environments. The specimens of

Tlayua Quarries would be associated to cliff environment, though a massive presence of fresh-water fauna. Furthermore in the Mexican specimens of *Notagogus* a spiral digestive tract was fossilized, except for two species with straight one, confirming the herbivorous habits of the fish. The presence of animals in the intact enterolites (crustaceans, mollusks and rests of fishes) identifies the genera as carnivorous but it was hypothesized that *Notagogus* can vary its diet according to the period in which trophic resources were poor: it was hypothesized that *Notagogus* could even eat plancton (Gonzalez-Rodriguez and Reynoso, 2004).

The lower Cretaceous site of Pietraraja was therefore comparable with an actual tropical lagoon with fresh-water channels, i.e. an environment favorable to the preservation of herbivorous coprolites. The nature of the coprolite producer is identifiable with an herbivorous fish of a plausible riparian paleoenvironment, maybe a species able to change the diet according to the environmental scenery at the moment. SEM analysis of coprolites and their inclusions can provide useful evidence about the paleoenvironment (producer species, products and trophic dynamics), as in the case of the present study, even when referring stratigraphic data are lacking. Further investigations about the coprolites in Pietraraja will include chemical analyses, a more precise stratigraphy and a statistical analysis on the quantitative data.

## Acknowledgements

The authors thank all the researchers that supported the present study.

## References

- Bartiromo A, Barone Lumaga MR, Bravi S. First finding of a fossil fern (Matoniaceae) in the paleontological site of Pietraraja (Benevento, Southern Italy). *B Soc Paleontol Ital* 2006;45:29-34.
- Bartram AWH. The Macrosemiidae, a Mesozoic family of holostean fishes. *Bull Br Mus Nat Hist Geol* 1977;29:137-234.
- Bradley WH. 1946. Coprolites from the Bridger Formation of Wyoming: their composition and microorganisms. *Am J Sc* 1946;244:215-39.
- Bravi S. New observations on the Lower Cretaceous fish *Notagogus pentlandi* Agassiz (Actinopterygii, Halecostomi, Macrosemiidae). *B Soc Paleontol Ital* 1994;33:51-70.
- Carannante G, Signore M, Vigorito M. Vertebrate-rich Plattenkalk of Pietraraja (Lower Cretaceous, Southern Apennines, Italy): a new model. *Facies* 2006;52:555-77.

- Chin K. The palaeobiological implications of herbivorous dinosaur coprolites from the upper cretaceous Two Medicine formation of Montana: why eat wood? *Palaios* 2007;22:554-66.
- Colin JP. Termite coprolites (Insecta: Isoptera) from the Cretaceous of western France: a palaeoecological insight. *Revue de Micropaléontologie* 2011;54:129-39.
- D'Erasmus G. La fauna e l'età dei calcari a ittioliti di Pietraroia (provincia di Benevento). *Palaeontogr Ital* 1914;20:29-86.
- Ece OI. Geochemistry and occurrence of authigenic phosphate nodules from the Desmionesian cyclic Excello epeiric sea of the Midcontinent, USA. *Mar Petrol Geol* 1990;7:298-312.
- Friis EM, Pedersen KR, Crane PR. Araceae from the Early Cretaceous of Portugal: evidence on the emergence of monocotyledons. *P Natl Acad Sci USA* 2004;101:16565-70.
- Gonzalez-Rodriguez K, Applegate SP, Espinosa-Arraburena L. A new world Macrosemiid (Pisces: Neopterygii-Halecostomi) from the Albian of Mexico. *J Vertebr Paleontol* 2004;24:281-9.
- Gonzalez-Rodriguez K, Reynoso VH. A new Notagogus (Macrosemiidae, Halecostomi) species from the Albian Tlayúa Quarry, Central Mexico. *Mesozoic Fishes 3 – Systematics, Paleoenvironments and Biodiversity*. In: Arratia G, Tintori A, editors; 2004. p. 265-78.
- Gutowska M. Chitinase activity of fishes with varying depth distributions. *MBARI publications, Annual Report*; 2002.
- Helfman G, Collette B, Facey BE, Bowen BW. *The Diversity of Fishes: Biology, Evolution, and Ecology*. Wiley; 2009.
- Hughes NF. *The enigma of angiosperm origins*. Cambridge University Press; 1994.
- Hunt AP, Chin K, Lockley MG. The palaeobiology of vertebrate coprolites. *The Palaeobiology of Trace Fossils*. 2004. p. 221-40.
- Hunter ML. *Maintaining biodiversity in forest ecosystems*. University of Cambridge; 2000.
- Kapoor, BB, Smit H, Verighina IA. The alimentary canal and digestion in teleosts. *Adv Mar Biol* 1975;13:109-239.
- Martill DM. Preservation of fish in the Santana Formation of Brazil. *Palaeontology* 1988;31:1-18.
- Murray AM, Wilson MVH. A new late Cretaceous Macrosemiid Fish (Neopterygii, Halecostomi) from Morocco, with temporal and geographical range extensions for the family. *Palaeontology* 2009;52:429-40.
- Perkins TW. Textures and conditions of formation of middle Pennsylvanian coal balls, Central United States. *The University of Kansas Paleontological Contributions* 1976;82:1-13.
- Prasad V, Stromberg CAE, Alimohammadian H, Sahni A. Dinosaur coprolites and the early evolution of grasses and grazers. *Science* 2005;310:1177-80.
- Schimper AFW. *Plant-geography upon a physiological basis*. Oxford: Clarendon Press; 1903.
- Signore M. Sample excavations in Pietraroia (lower Cretaceous, Southern Italy) in 2001 and notes on the Pietraroia palaeoenvironment. [www.PalArch.nl](http://www.PalArch.nl), *Vertebrate Palaeontology* 2004;2:2.
- Strelin GS. Patterns in the spiral formations of insects. *Morfologija* 1993;105:104-14.
- Targett TE, Targett NM. Energetics of food selection by the herbivorous parrotfish *Sparisoma radians*: roles of assimilation efficiency, gut evacuation rate, and algal secondary metabolites. *Mar Ecol Prog Ser* 1990; 66:13-21.

## 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.eurmicroc.org](http://www.eurmicroc.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](http://www.sism.it).

## TARIFE 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 colore € 500,00

Seconda, terza o quarta di copertina (colore) € 800,00

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 e del Movimento, Sezione di Anatomia e Istologia  
Università degli Studi di Verona strada Le Grazie, 8 37134 Verona  
Tel. +39.045.8027157/8425115  
E-mail: [manuela.malatesta@univr.it](mailto:manuela.malatesta@univr.it)

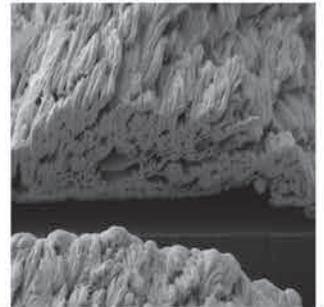
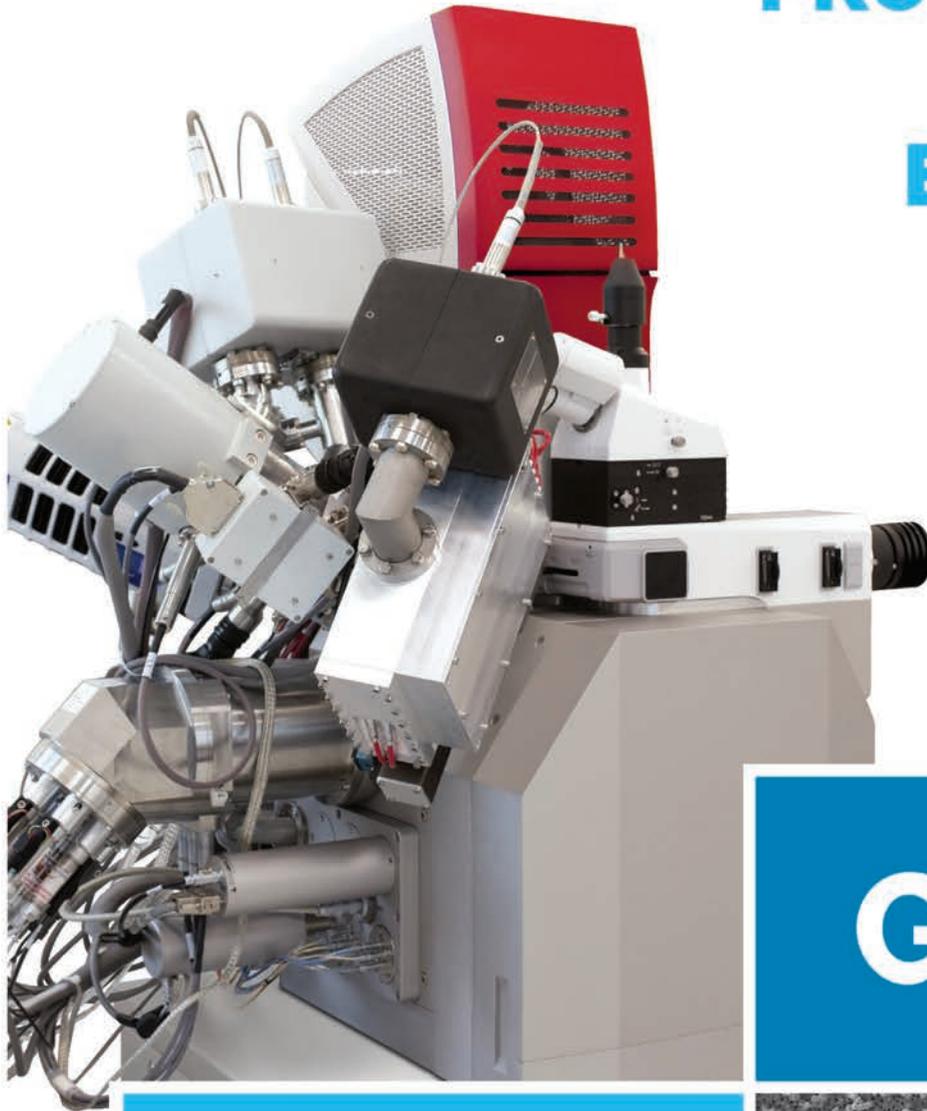
*Date di pubblicazione della rivista:* 15 Marzo e 15 Settembre.

Istruzioni per gli autori: [www.pagepress.org/microscopie](http://www.pagepress.org/microscopie)



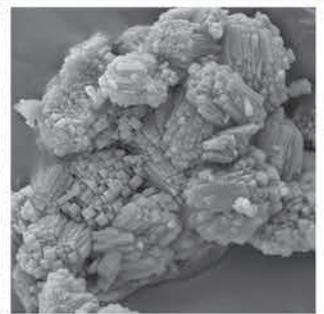
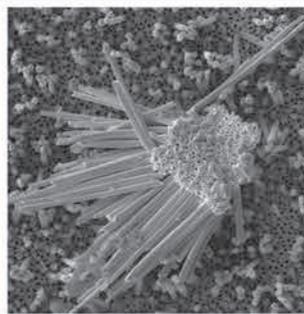


**GREATER  
PRODUCTIVITY  
WITH  
EXCELLENT  
RESULTS**



**GAI A3**

**Includes a wide range  
of leading technologies  
in a FE-SEM/FIB system**



  
TESCAN ORSAY HOLDING, a.s.  
Libušina tř. 21  
623 00 Brno - Kohoutovice  
Czech Republic  
Tel: +420 530 353 411  
Email: sales@tescan.cz



**Excellent  
resolution  
at low beam  
energies**

