



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE
CORSO DI LAUREA IN SCIENZE BIOLOGICHE

EFFETTI DEL GRAFENE FEW-LAYER SULLE PRIME FASI DI SVILUPPO DI ZEBRAFISH

EFFECTS OF FEW-LAYER GRAPHENE ON EARLY ZEBRAFISH DEVELOPEMENT

RELATORE:

Prof. Francesca Maradonna

CANDIDATA:

Federica Palmerio

IL GRAFENE

E' un materiale costituito da uno strato monoatomico di atomi di carbonio tra loro ibridati in forma sp^3 .

CARATTERISTICHE

- 1) Resistenza (Carico di rottura 42 N/m)
- 2) Leggerezza (Densità 0,72 mg/m²)
- 3) Super conduttività
- 4) Capacità di filtrazione
- 5) Bidimensionalità in condizioni naturali

APPLICAZIONI

Lampadine, Ascensori spaziali, retina bionica, filtro per riassorbimento del petrolio in acqua e desalinizzazione delle acque marine.
Componenti di circuiti elettronici e transistor.

ZEBRAFISH: ORGANISMO MODELLO

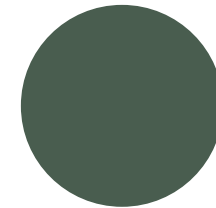


- *Danio rerio*, meglio noto come zebrafish, è un piccolo teleosteo di acqua dolce. E' ampiamente utilizzato come organismo modello in studi molecolari, genetici, embriologici e tossicologici.



Perché?

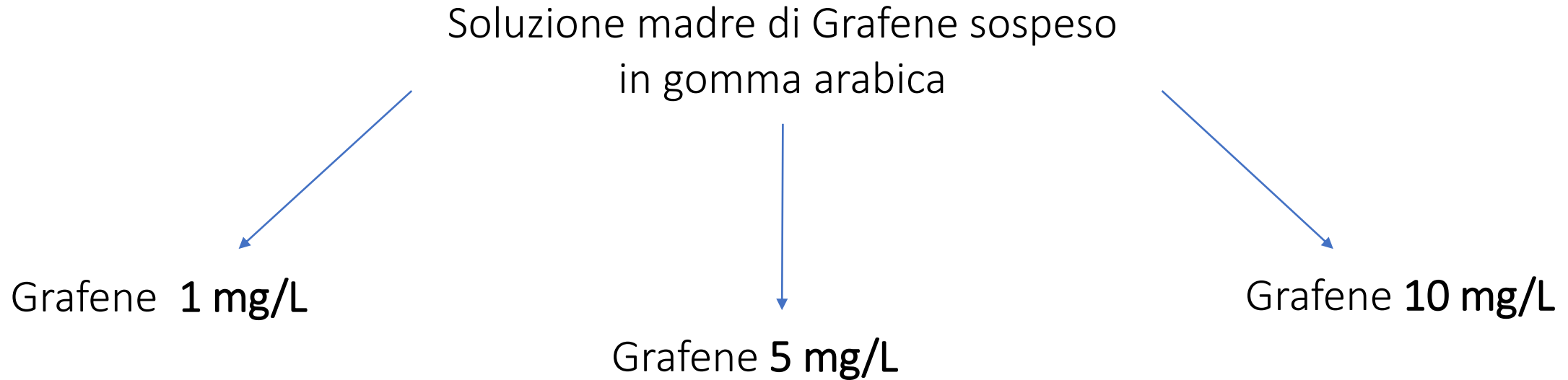
- Facile da allevare in laboratorio
- Maturità riproduttiva in 3 mesi
- Fecondazione esterna
- Prole numerosa
- Uovo e embrione trasparente
- Genoma simile a quello umano



MATERIALI E METODI: ESPOSIZIONE AL GRAFENE

Il principale parametro da valutare è la **dose** a cui la sostanza è tossica.

I test tossicologici prevedono che gli organismi siano esposti a diverse concentrazioni della sostanza da testare



Il disegno sperimentale prevede che oltre alle 3 diverse concentrazioni di grafene, vengano allestiti un gruppo di controllo e uno esposto alla gomma arabica (solvente).

Gli embrioni sono stati trattati a partire da 24 hpf e sono stati divisi in 5 gruppi sperimentali:

Conta e divisione su 5 piastre petri, ognuna contenente 80 embrioni:

1) Controllo

2) Gomma Arabica (1 mg/ml)

3) Grafene 1 mg/L

4) Grafene 5 mg/L

5) Grafene 10 mg/L

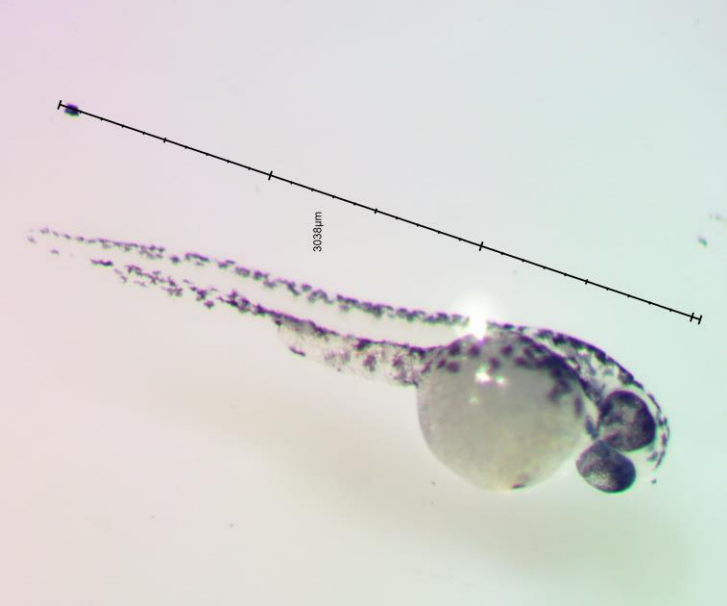
Sono stati effettuati campionamenti giornalieri a partire da 48 hpf e i campioni sono stati fissati in paraformaldeide al 4 % per le successive valutazioni morfologiche.

OSSERVAZIONE : Microscopio ottico.

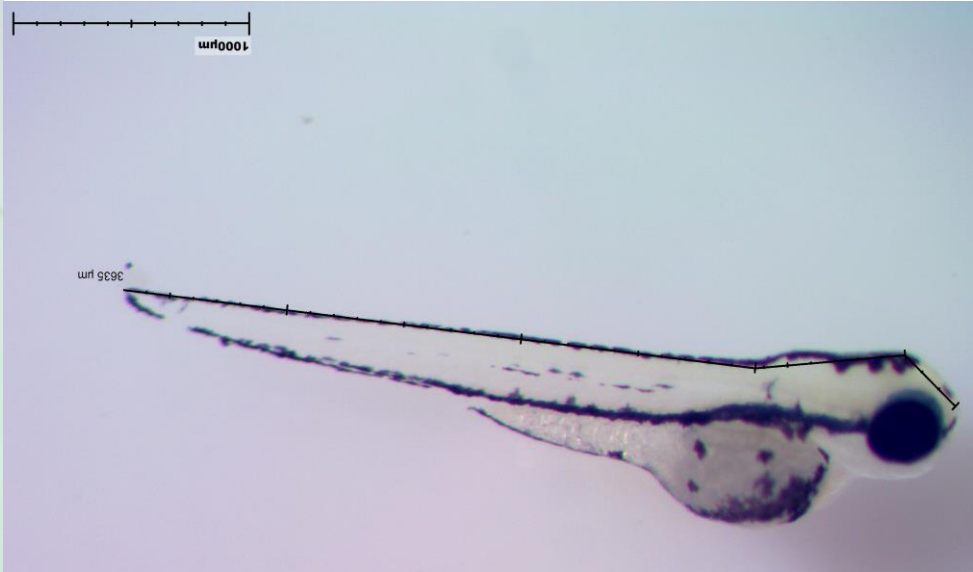
MISURAZIONI: DeltaPic InSight.

ANALISI STATISTICA: TwoWay ANOVA.

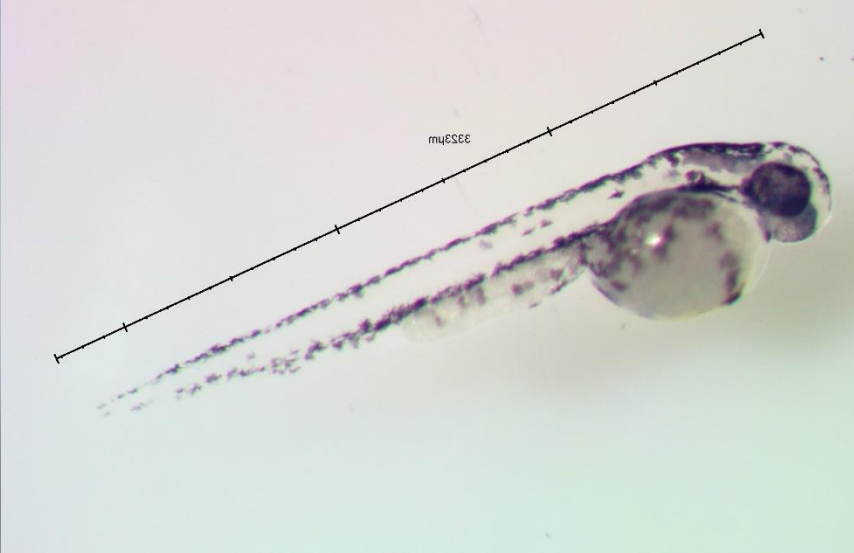
48 ORE POST FECONDAZIONE



Controllo (3038 µm)



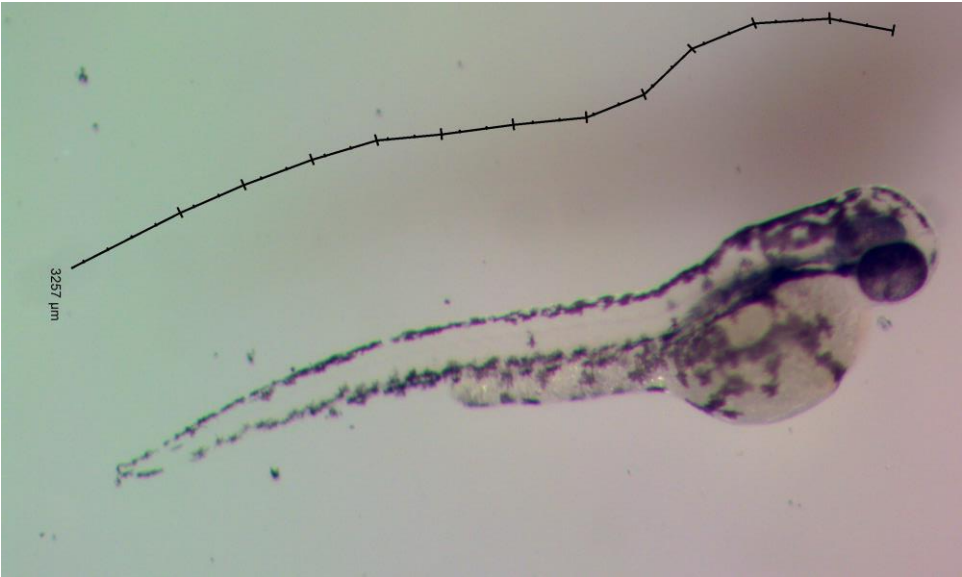
Gomma Arabica (3635 µm)



Grafene 1 mg/L (3323 µm)



Grafene 5 mg/L (3066 µm)

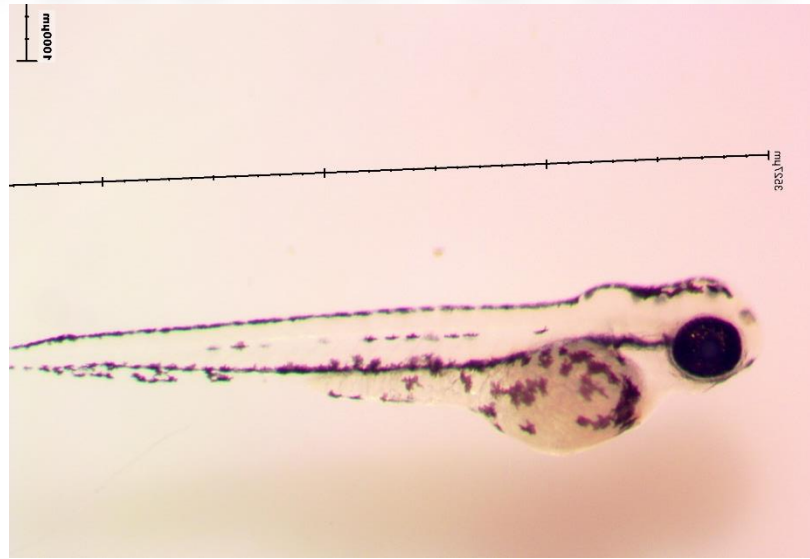


Grafene 10 mg/L (3257 µm)

72 ORE POST FECONDAZIONE



Controllo (3480 μm)



Gomma arabica (3527 μm)



Grafene 1 mg/L (3601 μm)



Grafene 5 mg/L (3904 μm)



Grafene 10 mg/L (3348 μm)

96 ORE POST FECONDAZIONE



Controllo (3719 μm)



Gomma Arabica (3703 μm)



Grafene 1 mg/L (3757 μm)



Grafene 5 mg/L
(3798 μm)

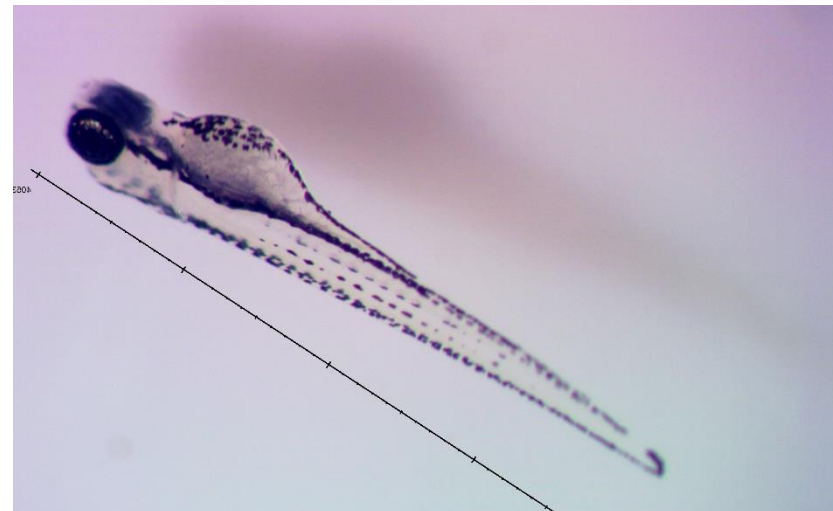


Grafene 10 mg/L
(3750 μm)

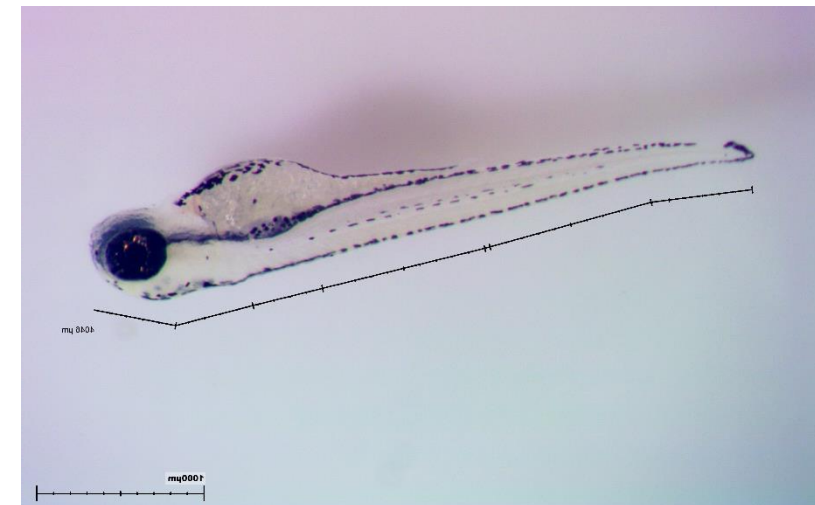
120 ORE POST FECONDAZIONE



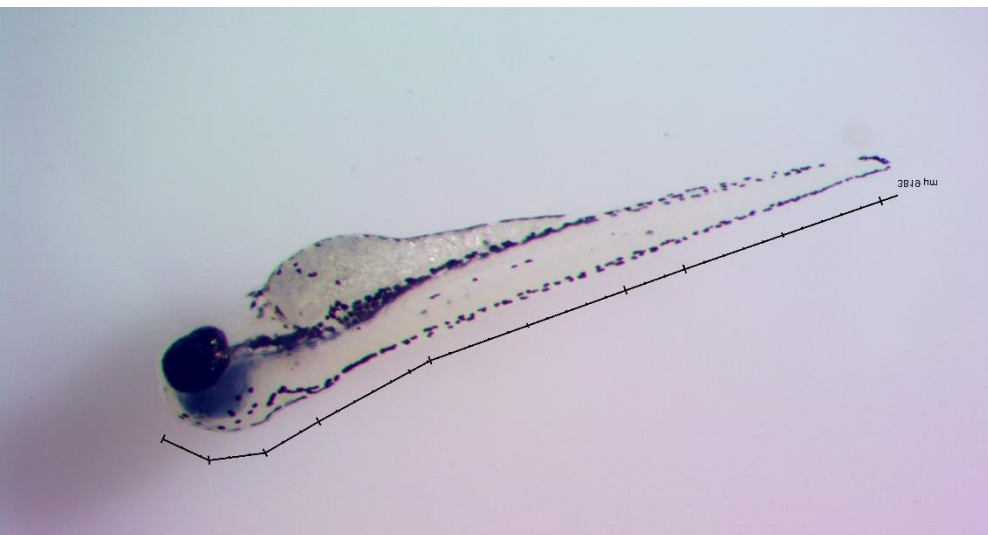
Controllo (3635 μm)



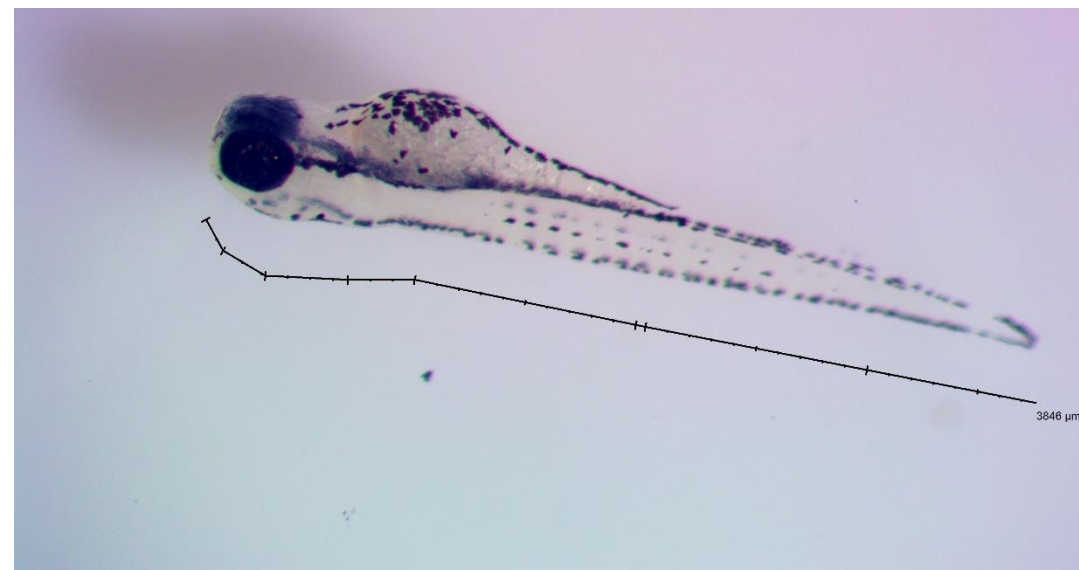
Gomma Arabica (4053 μm)



Grafene 1 mg/L (4046 μm)



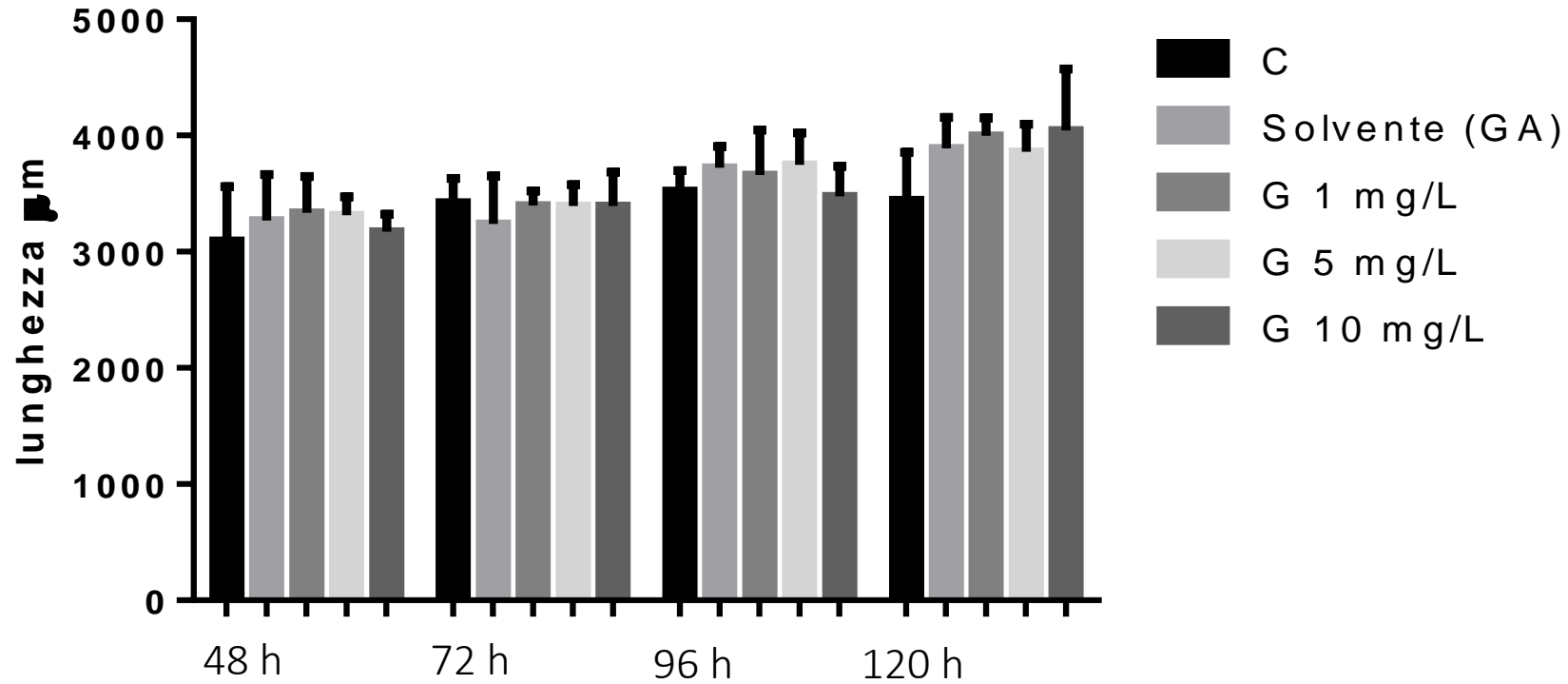
Grafene 5 mg/L (3819 μm)



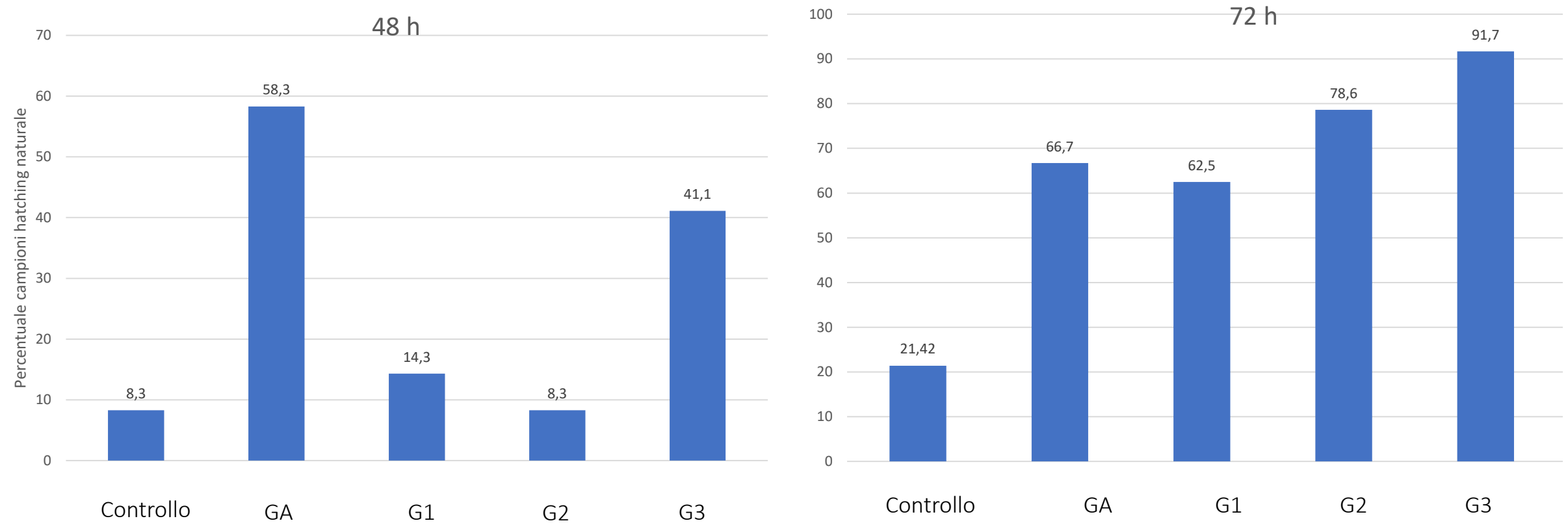
Grafene 10 mg/L (3846 μm)

RISULTATI

Lunghezza: differenze non significative.

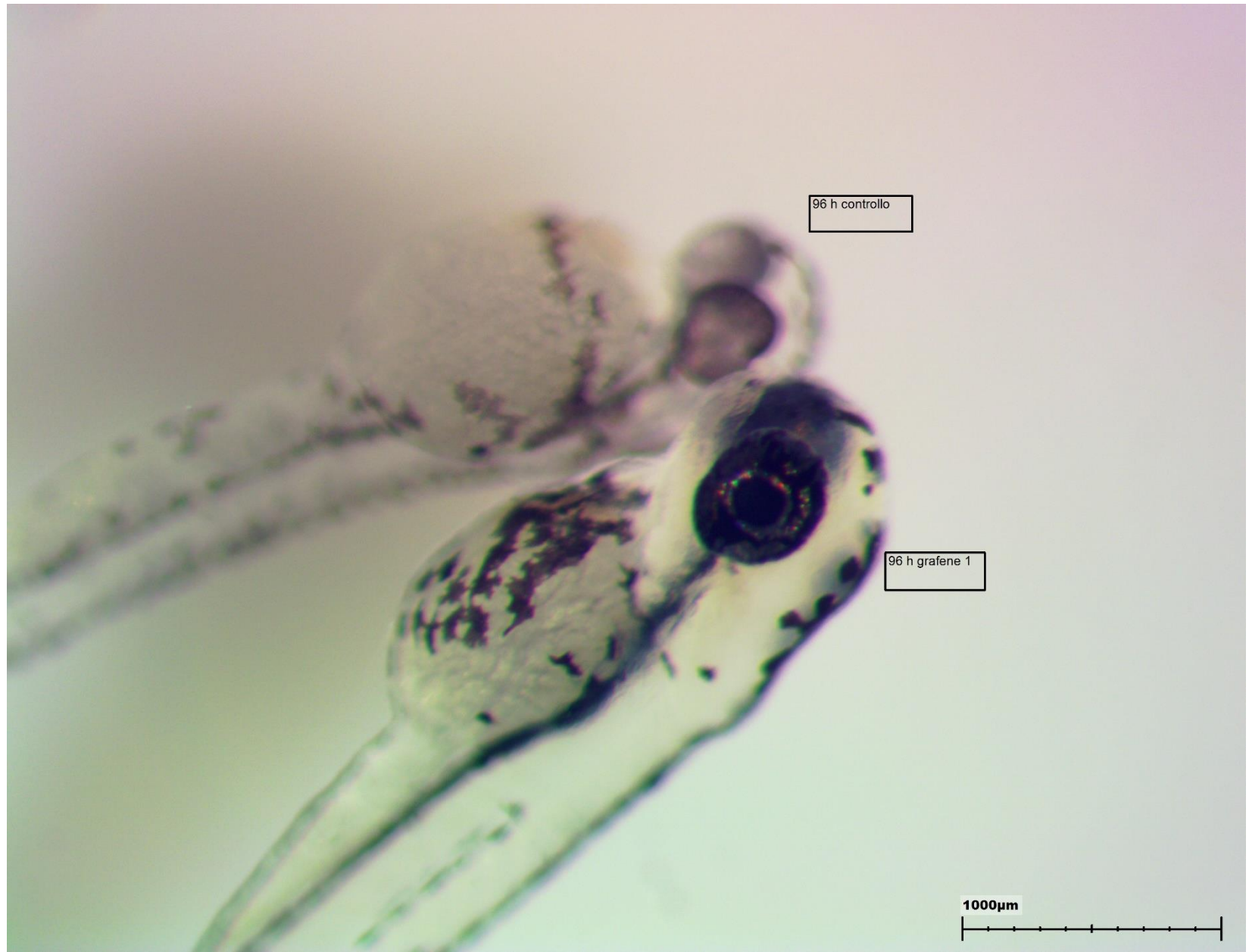


Hatching: accelerato negli embrioni esposti al grafene




A partire dal terzo giorno di sviluppo (72 h), la percentuale di embrioni schiusi naturalmente è proporzionale alla concentrazione di grafene a cui sono stati esposti.

Nonostante non siano apprezzabili differenze significative a livello delle dimensioni, si ipotizza che il grafene possa accelerare lo sviluppo agendo sugli enzimi della schiusa, giustificando l'hatching in tempi minori, o sui segnali molecolari coinvolti nelle prime fasi di sviluppo.



CONCLUSIONI

- Nessuna influenza sulle dimensioni
- Hatching accelerato 
- Tasso di mutazione normale
- Tasso di mortalità normale

Nelle prime fasi di sviluppo non sembra essere un effetto negativo, ma questo potrebbe comportare nelle fasi successive un'organogenesi veloce e incompleta



PROSPETTIVE FUTURE

- Esporre gli embrioni a ulteriori range di concentrazioni
- Analizzare il pattern molecolare durante le fasi di sviluppo in modo da ottenere informazioni sul «mode of action» di questo composto chimico

GRAZIE PER L'ATTENZIONE