

## ANALISI DEI DATI

**Obiettivo: analizzare il segnale purinergico indotto da stimolazione con ATP 100  $\mu\text{M}$  in cellule endoteliali (HMEC-1) e valutare il meccanismo di induzione dello Store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry.**

- PREPARAZIONE DEL FOGLIO DI CALCOLO

Seguire le istruzioni riportate sul pdf "Data Analyses guide"

- ANALISI

**Per ciascuna ROI:**

- creare un **grafico** che rappresenti la relativa **traccia di calcio**

asse X: tempo

asse Y: ratio 340/380

Eliminare le tracce con un basale troppo alto o un segnale troppo rumoroso

- calcolare:

(piastrellino 1)

**1) ampiezza del picco** della risposta in seguito a stimolazione con **ATP 100  $\mu\text{M}$**

Ampiezza del picco = picco massimo - basale

Basale: considerare i 30 s precedenti la stimolazione

**2) % di risposte all'ATP**

considerare risposte  $\Delta R \geq 0.1$  con un evidente cambio di pendenza nella traccia

**3) ampiezza del picco** della risposta in seguito a stimolazione con **Ionomicina 5  $\mu\text{M}$**

**5) % di risposte alla ionomicina**

(piastrellino 2)

**1) ampiezza del picco** della risposta e **% di risposte** in seguito a stimolazione con **ATP 100  $\mu\text{M}$**  in soluzione fisiologica **0 $\text{Ca}^{2+}$  0.5 mM EGTA** ( $\rightarrow$ release dagli stores)

## Esercitazioni BFCM

2) ampiezza del picco della risposta in seguito a ripristino del  $\text{Ca}^{2+}$  extracellulare con soluzione fisiologica **Tyrode Standard** (→ induzione del meccanismo SOCE)

→ fare attenzione al basale considerato per determinare questa ampiezza!!

Per ciascun esperimento riportare nella relazione finale:

- un **grafico** che rappresenti la **traccia media delle cellule** (con relativa deviazione standard o errore standard; eliminare nel caso del protocollo 1 le cellule che non hanno risposto alla ionomicina)

asse X: tempo

asse Y: media ratio 340/380

- % di risposta alla ionomicina

-% di risposta all'ATP in soluzione fisiologica Tyrode Standard e soluzione fisiologica  $0\text{Ca}^{2+}$  0.5 mM EGTA

-% di induzione del SOCE

- **ampiezza media** del picco in risposta all'ATP in soluzione fisiologica Tyrode Standard e soluzione fisiologica  $0\text{Ca}^{2+}$  0.5 mM EGTA

- **ampiezza media** del picco SOCE

