

A.s. 2010 / 2011

# Sperimenta il BioLab

Attività per gli studenti

## LABORATORIO Attività livello di base

- Chi è il colpevole?
- Individuazione degli OGM
- "Sano o malato?":  
individuazione di polimorfismi di  
restrizione associati a malattia
- Le analisi cromosomiche
- **Identificazione della specie  
carnea**
- **Dall'estrazione del DNA al  
fingerprinting**

## LABORATORIO Attività livello avanzato

- Clonaggio genico - I) La  
trasformazione batterica: bianco  
o blu? II) Ricombinante o non  
ricombinante?
- Marcatori molecolari in mais
- **SOS ambiente**
- **Analisi delle proteine**

## BIOINFORMATICA

- Attività di base**
  - Navigare tra i genomi
- Attività advanced**
  - Le proteine in 3D
  - Caccia al gene

## DoubleLab

LABORATORIO+BIOINFORMATICA

- **L'insulina ricombinante: dai  
batteri al computer**
- **Le forme invisibili: dai  
cristalli alle strutture 3D  
delle proteine**
- **I microarrays virtuali e la  
FISH**

Inoltre...

**Le nanotecnologie**  
con il progetto NanoYOU



I laboratori del Cus-Mi-Bio dedicati a  
"SPERIMENTA IL BIOLAB" si trovano presso:  
Università degli Studi di Milano,  
Settore didattico, Via Celoria 20, Milano  
Aula 105  
Tel 02 50314054 - Fax 02 50315040  
[cusmibio@unimi.it](mailto:cusmibio@unimi.it)  
[www.cusmibio.unimi.it](http://www.cusmibio.unimi.it)



### **Chi è il colpevole?**

Partendo da un caso di cronaca agli studenti verranno forniti campioni di DNA prelevati dalla scena del crimine e di cui sono state amplificate con la PCR specifiche regioni polimorfiche del genoma, utilizzate nella pratica di laboratorio per costruire il profilo genetico di un individuo. I gruppi eseguiranno l'esperimento di elettroforesi del DNA su gel di agarosio in cui si visualizzano i prodotti della PCR. Attraverso l'uso di queste tecniche, gli studenti osserveranno la distribuzione delle bande corrispondenti ai polimorfismi del DNA analizzato e, confrontando i diversi profili genetici, potranno ricostruire la dinamica del crimine e identificare il "colpevole".

*(Durata dell'attività: 3 ore circa)*

### **Individuazione degli OGM**

Un OGM (Organismo Geneticamente Modificato) è un organismo che contiene nel proprio genoma un gene estraneo (transgene), che conferisce all'organismo caratteristiche nuove che prima non aveva. L'individuazione degli OGM viene pertanto effettuata valutando la presenza del transgene. Questo tratto di DNA è amplificabile in modo specifico mediante PCR. Gli studenti analizzeranno mediante elettroforesi del DNA su gel di agarosio i frammenti di DNA amplificati. L'analisi dei risultati consentirà di valutare se l'organismo in esame contiene o meno il transgene.

*(Durata dell'attività: 3 ore circa)*

### **"Sano o malato?": individuazione di polimorfismi di restrizione associati a malattia**

Questa attività può essere usata per discutere le problematiche relative allo screening genetico e per sottolineare l'importanza della consulenza genetica. L'attività di laboratorio parte da diversi scenari. Attraverso l'analisi dei polimorfismi di restrizione associati a malattia in diversi campioni di DNA di membri di una famiglia dove si è verificato un caso di malattia genetica, si può risalire ai corrispondenti genotipi e determinare come sono stati ereditati i geni coinvolti, rispondendo così alla domanda di consulenza genetica.

*(Durata dell'attività: 3 ore circa)*

### **Le analisi cromosomiche**

L'attività di analisi cromosomiche prevede lo studio e il riconoscimento di cariotipi umani attraverso la tecnica dello striscio su vetrino di preparati cromosomici e all'osservazione al microscopio degli stessi. Gli studenti sono guidati nella ricostruzione di cariotipi normali e patologici e nel riconoscimento di malattie cromosomiche.

*(Durata dell'attività: 3 ore circa)*



### **Identificazione della specie carnea**

L'analisi di un gene mitocondriale, il citocromo b, consente di identificare la specie carnea di campioni aventi una dubbia origine. Il gene è molto variabile tra specie e specie, ma estremamente conservato a livello intraspecifico: amplificando tramite PCR una determinata sequenza interna al gene, si ottengono frammenti specie-specifici di diversa lunghezza che, analizzati mediante elettroforesi, individuano il tipo di carne (equina, bovina, ovina...).

*(Durata dell'attività: 3 ore circa)*



### **Dall'estrazione del DNA al fingerprinting**

Ciascuno studente estrae il proprio DNA da cellule della mucosa boccale. Quindi, mediante PCR vengono amplificati frammenti corrispondenti a tre diversi microsatelliti. I campioni ottenuti sono utilizzati per risolvere un'immaginaria scena del crimine, di cui gli studenti si fingono protagonisti. Tramite elettroforesi su gel, i profili genetici vengono confrontati con quelli di DNA estratti da prove ritrovate sulla scena.

*(Durata dell'attività: un'intera giornata, 3 ore al mattino e 2 ore al pomeriggio circa)*

### **Clonaggio genico - I) La trasformazione batterica: bianco o blu? II) Ricombinante o non ricombinate?**

L'importanza dei batteri per l'ingegneria genetica e per clonare geni di qualunque origine viene dimostrata sperimentalmente trasformando con un gene esogeno cellule batteriche rese competenti. L'esperienza è divisa in due momenti: il pomeriggio la classe prepara le piastre e le inocula con i batteri trasformati. La mattina dopo gli studenti verificano il successo dell'operazione: a) osservando il colore delle colonie dei batteri; b) estraendo il DNA plasmidico e analizzandolo su gel di agarosio, per verificare la presenza del gene esogeno.

*(Durata dell'attività: un pomeriggio, circa 2 ore, + una mattina, circa 3,5 ore)*

### **Dal fenotipo al genotipo: marcatori molecolari in mais**

Si tratta di una attività che prevede la germinazione di semi di mais (che vengono forniti dall'Università) in classe. In laboratorio viene estratto il DNA dalle foglie e dalle radici delle piantine. Si verifica la segregazione del gene R (gene per l'attivazione degli antociani) analizzando, via PCR ed elettroforesi su gel di agarosio, un microsatellite marcatore associato al gene R.

*(Durata dell'attività: un'intera giornata, 3 ore al mattino e 2 ore al pomeriggio circa)*

### **Bioinformatica: "Navigare tra i genomi", "Caccia al gene", "Le proteine in 3D"**

Si tratta di attività al computer che danno una visione generale delle principali risorse biomediche disponibili sul web. La ricchezza di banche dati con informazioni genetiche e un facile accesso a internet sono uno strumento insostituibile per compiere studi di genetica e identificare importanti sequenze del DNA. Si possono comparare i genomi di differenti organismi, per mostrare le sequenze conservate e quelle che si sono via via differenziate nell'evoluzione; ricavare dati su un singolo gene-malattia, partire da una sequenza di aminoacidi o di nucleotidi e arrivare alla posizione e alla funzione del gene nel cromosoma; si utilizzano software specifici per studiare le caratteristiche delle proteine e visualizzarne la struttura tridimensionale.

*(Durata dell'attività: 3 ore circa)*



### **SOS ambiente**

L'attività mostra l'utilizzo di piante transgeniche (*Arabidopsis thaliana*) come bioindicatori ambientali in grado di mettere in evidenza la presenza di metalli pesanti nel suolo. Le piantine utilizzate sono geneticamente modificate mediante l'introduzione del gene reporter GUS, che conferisce una colorazione blu ai tessuti in cui è espresso e il cui promotore è attivato dal cadmio. Il laboratorio prevede l'analisi dell'espressione del gene reporter mediante un saggio istochimico sulle piantine e mediante estrazione dell'mRNA, retrotrascrizione, PCR ed elettroforesi su gel.

*(Durata dell'attività: un pomeriggio, circa 2 ore, + una mattina, circa 4 ore)*



### **Analisi delle proteine**

Come si può analizzare il contenuto in proteine di un tessuto o di una popolazione selezionata di cellule? Esistono diverse procedure ma quella che si utilizza in questa attività è basata sulla separazione delle proteine mediante elettroforesi sul gel, sulla loro colorazione e sul riconoscimento di una specifica proteina avendo a disposizione degli anticorpi diretti contro la proteina in esame.

*(Durata dell'attività: due mezze giornate di circa 3 ore)*



### **L'insulina ricombinante: dai batteri al computer**

Questa attività ha lo scopo di ripercorrere le fasi cruciali che conducono alla sintesi dell'insulina ricombinante umana. Inizialmente si effettua la trasformazione batterica, che poi si completa con l'analisi delle colonie per selezionare quelle che hanno incorporato il gene esogeno. Attraverso tecniche di biologia molecolare, che comprendono estrazione di DNA, digestione con enzimi di restrizione ed elettroforesi, si selezionano le colonie batteriche idonee alla produzione di insulina. All'attività al bancone si affianca un percorso di bioinformatica che conduce lo studente nel mondo dei database di proteine, per ricercare le sequenze aminoacidiche dell'insulina umana e di altri animali. Queste possono essere confrontate fra di loro per evidenziare le similitudini di sequenza e i possibili legami filogenetici tra le specie considerate; sulla base di tale confronto sarà possibile discutere delle terapie sostitutive utilizzate in passato per la cura del diabete, basate sulla purificazione di insulina animale.

*(Durata dell'attività: un pomeriggio, circa 2,5 ore, + una mattina, circa 3,5 ore)*



### **Le forme invisibili**

L'attività prevede una parte "al bancone" per ottenere cristalli di una proteina, il lisozima. Questo è solo il primo passaggio, delicato e fondamentale, di un lungo percorso per poter arrivare a definire la struttura 3D di una proteina e comprenderne la funzionalità: i ricercatori raccolgono tutte queste informazioni in banche dati. La parte di bioinformatica consente appunto di accedere alle banche dati proteiche, con l'obiettivo di risolvere un immaginario

“delitto” all’aeroporto. Grazie infine a programmi di visualizzazione 3D, è possibile osservare le proteine e capire come è possibile in questo modo disegnare nuovi farmaci.  
(Durata dell’attività: 3 ore circa)



### I microarrays virtuali e la FISH

Due simulazioni per spiegare importanti tecniche di indagine genetica molecolare. La tecnologia dei "Microarray", messa sul mercato dal 1996, è uno strumento importante delle cosiddette "nanotecnologie" e consente di analizzare l'espressione di moltissimi geni in un singolo esperimento, in modo estremamente rapido ed efficace. Questo laboratorio spiega il meccanismo di indagine dei microarray grazie a un'introduzione teorica, supportata da una simulazione a computer ed esercizi, e attraverso un'efficace riproduzione con tappetino di gomma e torce colorate. La Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) è una tecnica di ibridazione in situ che permette di visualizzare a livello cromosomico la localizzazione di un gene o di una qualsiasi sequenza genomica d'interesse, usando sonde di DNA marcate con composti fluorescenti. Per rendere maggiormente comprensibile la FISH si è usato un modello in legno che permette agli studenti di acquisire i principi di base di questa tecnica, apprezzandone le diverse applicazioni.

(Durata dell’attività: 3 ore circa)



### Le nanotecnologie

La nanoscienza studia i fenomeni e la manipolazione dei materiali sulla nanoscala, dai 100 nanometri fino al livello atomico. Manipolando forma e dimensione su scala nanometrica, i ricercatori stanno identificando una vasta gamma di applicazioni, che riguardano anche la biologia e la medicina. Grazie al progetto **NanoYOU** (<http://nanoyou.eu/>) sarà possibile avvicinarsi al mondo delle nanotecnologie attraverso esperimenti da fare presso il Biolab.

(Durata dell’attività: 3 ore circa)

## ISCRIZIONI

Fino al 9 ottobre 2010



**I laboratori nuovi, ad eccezione di “Le forme invisibili”, si svolgeranno a partire da marzo 2011 e per questo anno scolastico vi sarà un numero limitato di posti.**

Tutti gli altri laboratori, compreso “Le forme invisibili”, si svolgeranno a partire dall’11 ottobre 2010, dal lunedì al venerdì di ogni settimana del calendario scolastico dalle 9,00 alle 12,00. Per le attività di una giornata si prevede come orario dalle 9 alle 16,30 circa.

Per le iscrizioni compilare in ogni sua parte la scheda di iscrizione allegata e inviarla

- tramite fax al n° 02.5031.5040
- tramite e-mail all’indirizzo [cusmibio@unimi.it](mailto:cusmibio@unimi.it)

**Il termine per le iscrizioni è il 9 ottobre 2010.**

Per partecipare all’attività “Sperimenta il Biolab” è necessario versare la quota di 10 Euro per studente per le attività di mezza giornata, di 15 Euro per le altre. Agli insegnanti, tramite e-mail, verrà data conferma dell’iscrizione, che diventerà definitiva al ricevimento di copia del bonifico bancario da inviare via fax (02.5031.5040) con almeno 15 giorni di anticipo rispetto alla data fissata per il BioLab.

### Modalità di pagamento:

Banca: Intesa SAN PAOLO

Indirizzo: Via Verdi 8. Milano

Intestatario del conto corrente: Università degli Studi di Milano

Numero di conto corrente: 4639/71

codice IBAN IT97G0306909400000000463971 BONIFICO BIOLAB

causale: Cus-Mi-Bio “Sperimenta il Biolab”