



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI MILANO



# Progetto

## Sperimenta il BioLab



### **Centro Università di Milano - Scuola per le Bioscienze e le Biotecnologie**

<http://www.cusmibio.unimi.it/>

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 Edificio C, aula 105.

*Il Cus-Mi-Bio ha richiesto al MIUR l'accreditamento nazionale per collaborare con l'Amministrazione scolastica al fine di promuovere e realizzare gare e competizioni nazionali e internazionali, concernenti la valorizzazione delle eccellenze degli studenti delle istituzioni scolastiche di istruzione secondaria superiore, statali e paritarie. Risultato in possesso dei requisiti prescritti, ha ottenuto a giugno 2009 l'accreditamento nazionale ed è stato inserito "nell'elenco dei soggetti esterni all'Amministrazione scolastica interessati a concorrere alla individuazione delle eccellenze" pubblicato sul sito del Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca il 15 giugno 2009.*

## Introduzione

Il **Maserati** propone la partecipazione al progetto (a partire dalla classe seconda Liceo fino alla quinta) a 1-3 laboratori all'anno di difficoltà progressiva per avvicinare gli alunni al mondo della ricerca scientifica di alto livello e contemporaneamente far fare agli studenti esperienze autovalutative di orientamento.

Docenti accompagnatori: Benenti Mario, Bonini Cinzia, Castoldi Marialuisa, Naso ilaria

- *“Sperimenta il BioLab” è un prodotto rivolto a chi non conosce il mondo della ricerca scientifica e ideato per suscitare interesse verso le discipline scientifiche, in particolare le Scienze della vita e le loro applicazioni biotecnologiche. Si tratta di una serie di attività in cui, con un approccio innovativo e stimolante, si offre ai partecipanti la possibilità di effettuare un'esperienza diretta come normalmente avviene in un moderno laboratorio di ricerca. Conoscere è un prerequisito per scelte consapevoli e motivate e uno dei modi per conoscere e sperimentare direttamente. L'obiettivo di “Sperimenta il BioLab” è, pertanto, quello di far lavorare ciascuna persona al banco di laboratorio, avendo a disposizione una strumentazione moderna, per fare un'esperienza “con le proprie mani” (approccio “hands on”) su tematiche di ricerca innovative, che attualmente hanno grande impatto e rilevanza a livello mondiale. I laboratori di “Sperimenta il Biolab” includono laboratori bioinformatici in cui gli studenti possono familiarizzare con le risorse biomediche disponibili in rete, strumenti ormai indispensabili nella ricerca moderna.*

*Le attività di “Sperimenta il BioLab” sono coordinate da docenti universitari, affiancati da tutors. In media, i partecipanti all'attività vengono suddivisi in piccoli gruppi di circa 7 persone coordinati da un tutor. Da un lato, l'organizzazione in piccoli gruppi è importante per facilitare le dinamiche di gruppo, il coinvolgimento individuale e gli approfondimenti e l'orientamento, dall'altro la presenza di giovani neolaureati esperti nel campo, che svolgono la funzione di tutor e che guidano i partecipanti attraverso il percorso dell'esperienza di laboratorio è un ulteriore elemento per consentire un elevato livello di coinvolgimento.- (dal sito del CusMiBio)*



## L' attività di laboratorio persegue molteplici finalità formative:

1. acquisizione di capacità tecniche di manipolazione di strumenti
2. acquisizione di un metodo di studio più critico
3. potenziamento delle capacità di rapportarsi con se stessi e con gli altri in modo utile, produttivo e collaborativo
4. potenziamento delle capacità di ragionamento logico – razionale
5. consolidamento delle capacità di adattarsi con successo a situazioni nuove
6. consolidamento delle capacità di utilizzare conoscenze di neo acquisizione integrandole con il proprio bagaglio culturale.



## Attività tradizionali di Biologia molecolare:

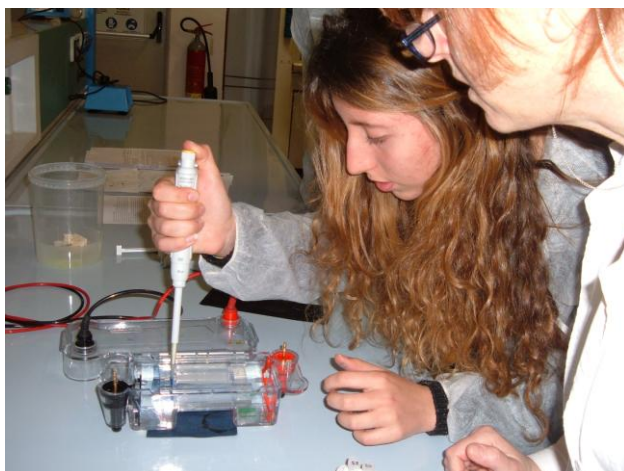
- **Chi è il colpevole?**

Il test del DNA della polizia scientifica. Data una situazione simulata si forniscono agli studenti alcuni campioni di DNA (indicati come DNA della vittima, dei sospetti e della scena del crimine) con il compito di trovare il colpevole attraverso l'analisi di 3 polimorfismi del DNA. I campioni vengono amplificati con la tecnica della PCR e confrontati dopo corsa elettroforetica su gel (3 ore circa)



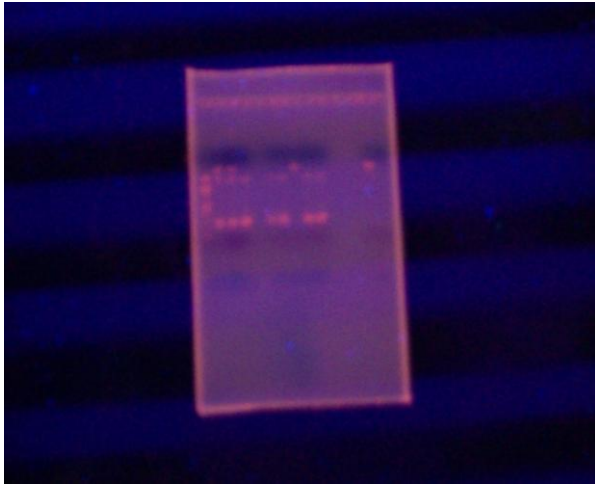
- **Identificazione degli OGM**

Dopo aver studiato le tecniche per ottenere organismi geneticamente modificati e clonarli si procederà ad identificare se un dato campione (ad esempio di mais) sia o no OGM sottoponendo un tratto di DNA specifico a PCR e elettroforesi



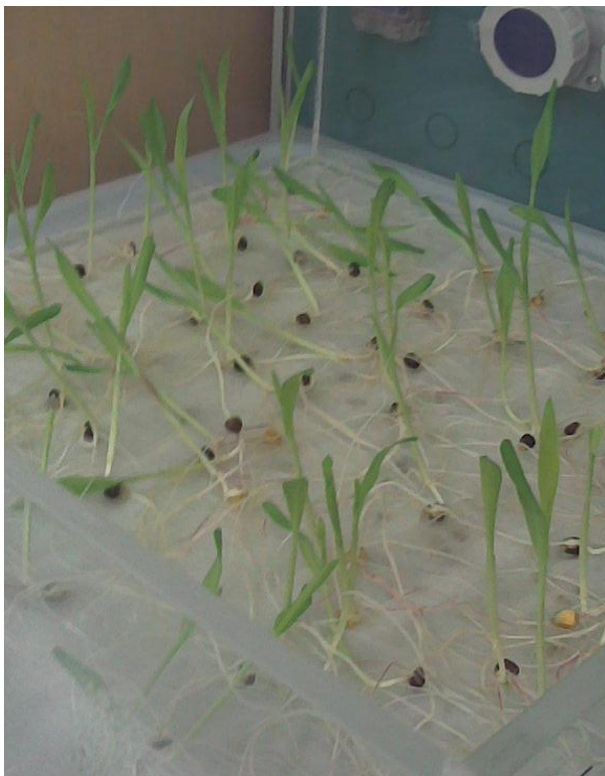
- Sano o malato? Individuazione di polimorfismi di restrizione associati a malattie

Individuazione di polimorfismi di restrizione associati a malattie. E' un'attività di screening genetico. Dopo aver ricostruito un pedigree familiare in base ad informazioni attendibili, la conoscenza approfondita del DNA non codificante permette di individuare polimorfismi associati a geni malattia. (3 ore circa)



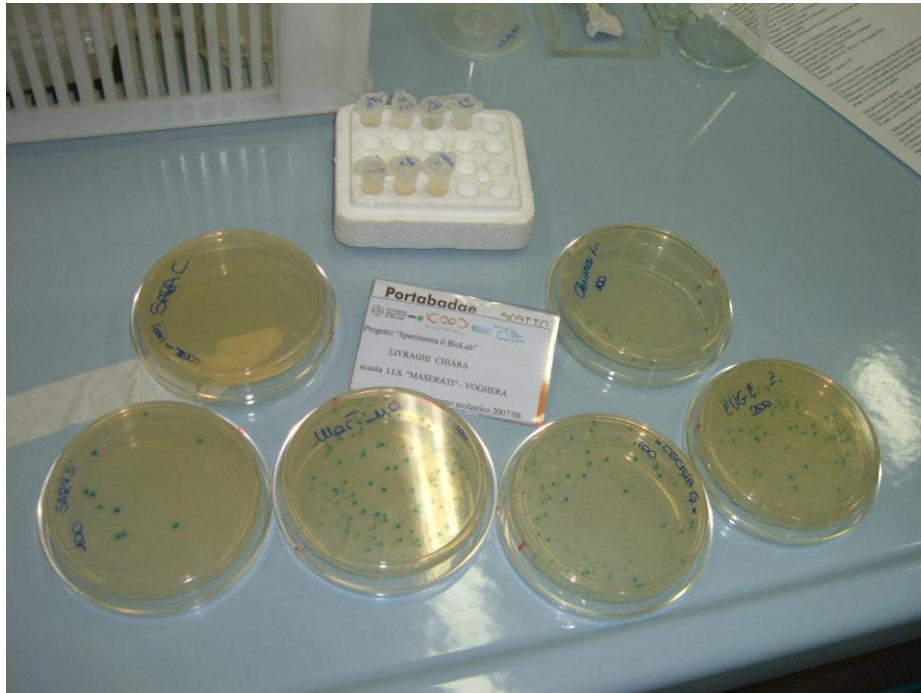
- Genetica classica e molecolare in Mais (attività di una intera giornata, ore 9 - ore 17)

Applicazione di Genetica mendeliana da fenotipo al genotipo (relativi al gene responsabile della sintesi di antociani per la pigmentazione della cariosside) e conseguente ricerca dei corrispondenti marcatori molecolari (microsatelliti)



- Clonaggio del DNA suddiviso in: Attività 1, bianco-blu e Attività 2, ricombinante o non ricombinante (attività avanzata)

Tecnica di clonazione batterica, preparazione di un terreno di coltura, semina e incubazione; successiva verifica dei ricombinanti con le tecniche di Biologia molecolare



- Le analisi cromosomiche

Realizzazione e analisi di un cariotipo dopo stimolazione della mitosi alla ricerca di anomalie cromosomiche visibili al microscopio ottico a forte ingrandimento previa colorazione con GIEMSA (3 ore)



# Attività di Bioinformatica:

- Bioinformatica teoria

Grazie al completamento del Progetto Genoma Umano (HGP), è ora disponibile la sequenza nucleotidica dell'intero genoma umano. Lo Human Genome Project (HGP) aveva l'obiettivo di sequenziare la porzione eucromatica del genoma. Al completamento del progetto hanno collaborato una compagnia privata (CELERA di Craig Venter) e una struttura pubblica (National Human Genome Research Institute di Francis Collins all'NIH). L'interazione dei due laboratori con il supporto di una enorme rete di supercomputer ha permesso di decifrare oltre il 95% del genoma umano.

Una **banca dati biologica** è una raccolta di informazioni e dati derivanti dalla letteratura e da analisi effettuate sia in laboratorio (*in vitro* e *in vivo*) sia mediante strumenti bioinformatica (analisi detta *in silico*). Ciascuna banca dati è organizzata attorno ad un elemento centrale (nelle banche dati di sequenze nucleotidiche ad esempio questo elemento è rappresentato dalle sequenze di DNA o di RNA). Attorno all'elemento centrale viene costruita la "entry" della banca dati, che comprende tutte le annotazioni utili a classificare (ad esempio, il nome della sequenza, la specie di appartenenza, ecc) e a caratterizzare (ad esempio, la funzione della sequenza, le referenze bibliografiche ecc.) l'elemento stesso.

*Ogni alunno avrà a disposizione un computer collegato a internet e un percorso guida, con indicati i principali siti dove trovare informazioni sul genoma umano (e di altri organismi) e sui geni in esso contenuti.*



- Navigare tra i genomi

In questa attività si imparerà ad esplorare il genoma umano utilizzando le informazioni contenute in alcune delle banche dati biomediche disponibili *on line* (ogni alunno avrà a disposizione una postazione e una guida). Si scopriranno le corrispondenze esistenti fra i cromosomi umani e quelli di altri organismi e si imparerà a trovare un gene all'interno del genoma e a scoprirne la struttura e la funzione.

The screenshot shows the Ensembl Human genome browser interface. At the top, it says "Ensembl Human" and "Ensembl release 46 - Aug 2007". There are navigation links for "HOME", "BLAST", "BIOMART", "SITEMAP", and "HELP". A search bar is present with the text "Search Ensembl Homo sapiens" and a "Go" button. Below the search bar, there is a section for "Karyotype" with a prompt "Click on a chromosome for a closer view" and a visualization of human chromosomes. To the right, there is an "About the Human genome" section with an "Assembly" subsection, which includes a small image of a Vitruvian Man and text describing the NCBI 36 assembly. There are also links for "Full list of assemblies" and "Annotation".

- Caccia al gene

Questa attività pratica ha come scopo quello di far apprendere come sia possibile risalire da un frammento di sequenza del genoma umano al gene a cui questo frammento appartiene e ottenere informazioni dettagliate sul prodotto codificato dal gene stesso e sul suo pattern d'espressione ovvero sui tessuti dove il gene è espresso. Gli alunni avranno a disposizione una sequenza parziale di DNA, un computer collegato a internet e un percorso guida, con indicati i principali siti dove trovare informazioni e software di analisi *on line* delle sequenze nucleotidiche e aminoacidiche.

## Alignments

Get selected sequences | Select all | Deselect all | Distance tree of results

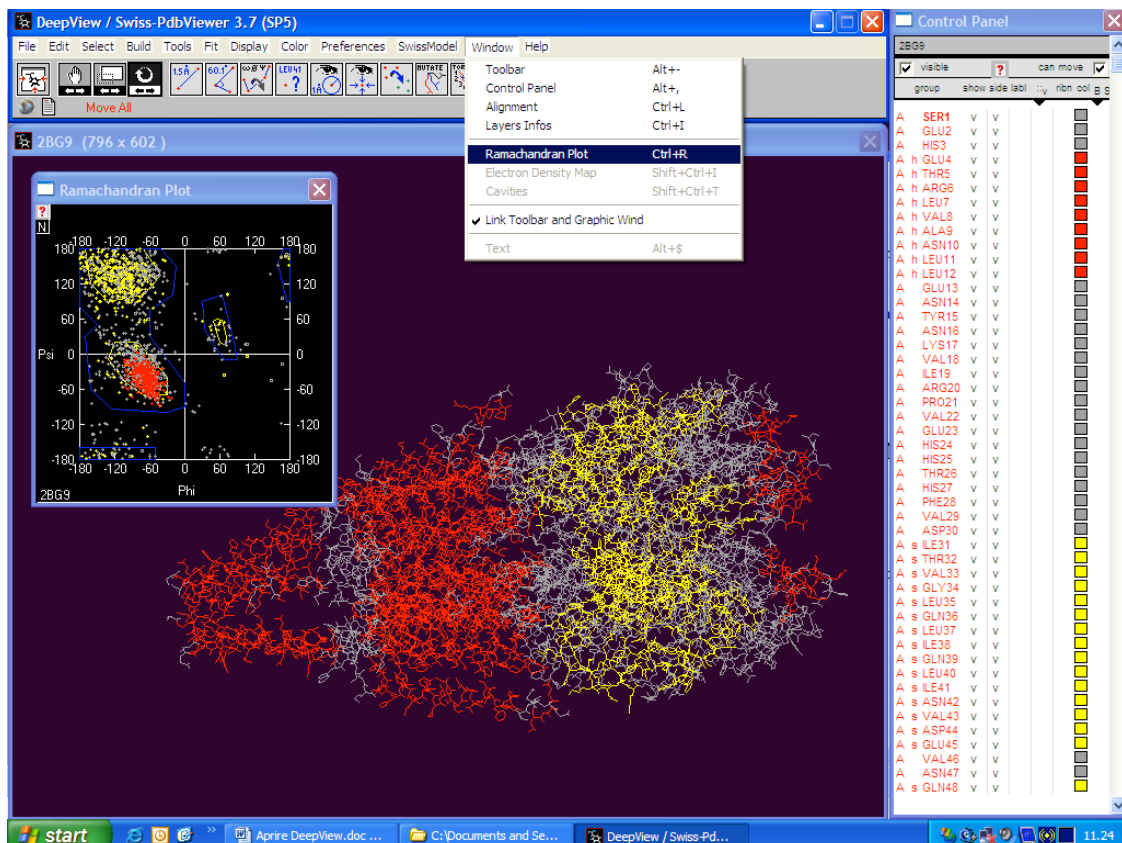
```
>| gb|AC069227.24| D Homo sapiens 12 BAC RP11-478G16 (Roswell Park Cancer Institute Human BAC Library) complete sequence  
Length=167398
```

```
Score = 2335 bits (1264), Expect = 0.0  
Identities = 1264/1264 (100%), Gaps = 0/1264 (0%)  
Strand=Plus/Plus
```

```
Query 1 CTTGCACTGGTTTCCGCCTCCGACCTGTGGCTGGCCTGCTTTCCTCTCGGGATTCTTGG 60  
Sbjct 88183 CTTGCACTGGTTTCCGCCTCCGACCTGTGGCTGGCCTGCTTTCCTCTCGGGATTCTTGG 88242  
  
Query 61 GTGGCCTGGCCTTCCGAGTCTTCCACTGCACACAGTACATCAGACATGGATCCAAGCCCA 120  
Sbjct 88243 GTGGCCTGGCCTTCCGAGTCTTCCACTGCACACAGTACATCAGACATGGATCCAAGCCCA 88302  
  
Query 121 TGTATACCCCCGAACCGTGAGTACTGTCTCCAGCTACCAGTTGCCAGGCACAATGAGCG 180  
Sbjct 88303 TGTATACCCCCGAACCGTGAGTACTGTCTCCAGCTACCAGTTGCCAGGCACAATGAGCG 88362
```

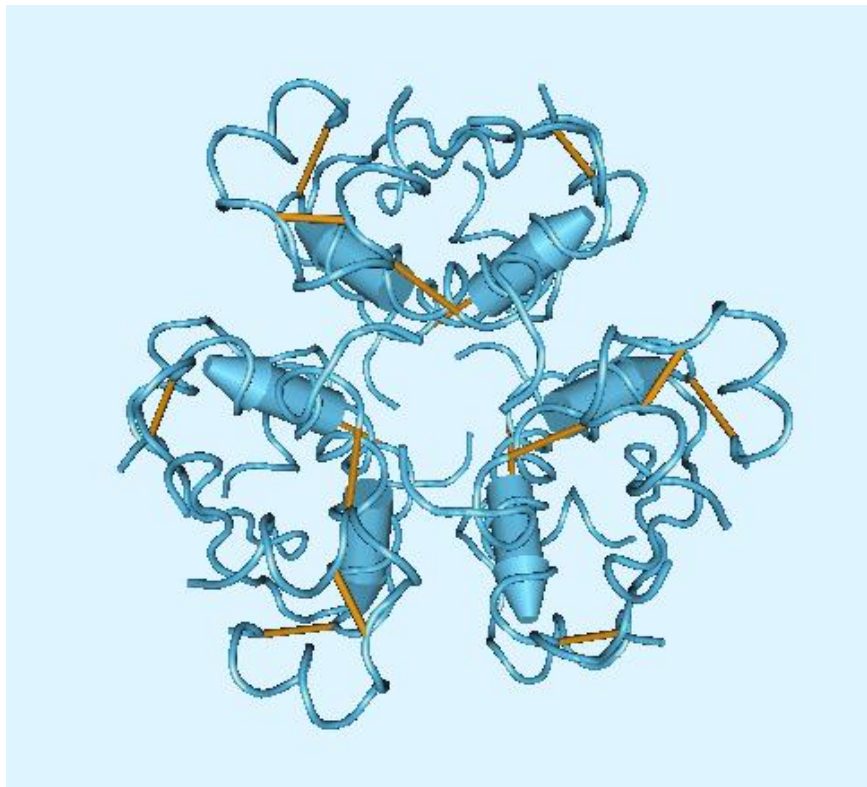
- Proteine in 3D

Obiettivo dell'attività è lo studio di una proteina codificata da un gene. Per trovare informazioni su alcune caratteristiche biochimiche e strutturali della proteina in questione si utilizza un serie di *software* interrogabili *on line* presso il sito: <http://www.expasy.org> e altri



- Evoluzione molecolare e insulina

Del regno animale si conoscono almeno un milione e mezzo di specie diverse, ma si pensa ce ne siano molte di più; a queste si aggiungono numerose specie di animali ormai estinti. Il riconoscimento delle parentele evolutive (la filogenesi dei viventi) si basa su una considerazione così semplice da sembrare ovvia: tanto più due specie sono imparentate, tanto più simili sono i loro geni e le loro proteine. Questo percorso di bioinformatica si propone di condurci 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 omologie di sequenza da un lato, le regioni variabili dall'altro: in base ad esse si possono ricostruire i possibili legami di parentela tra le specie considerate, visualizzabili con alberi filogenetici. La scelta dell'insulina è dettata principalmente dalle caratteristiche di semplicità di questa molecola, essendo costituita da una catena aminoacidica relativamente breve e dal fatto che è anche una dei più noti esempi di terapia sostitutiva nella cura delle malattie umane, il diabete in questo caso.



## Nuove attività dal 2010/2011:

- Identificazione della specie carnea

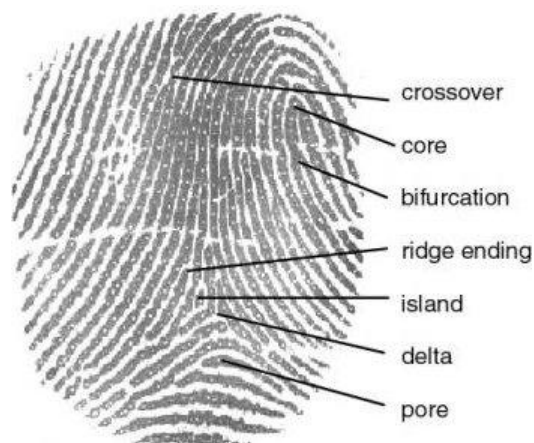
L'analisi di un gene mitocondriale, il citocromo b, consente di identificare la specie carnea di campioni aventi una dubbia origine. Il gene è molto variabile tra specie e specie, ma estremamente conservato a livello intraspecifico: amplificando tramite PCR una determinata sequenza interna al gene, si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

( 3 ore al mattino e 2 ore al pomeriggio circa)



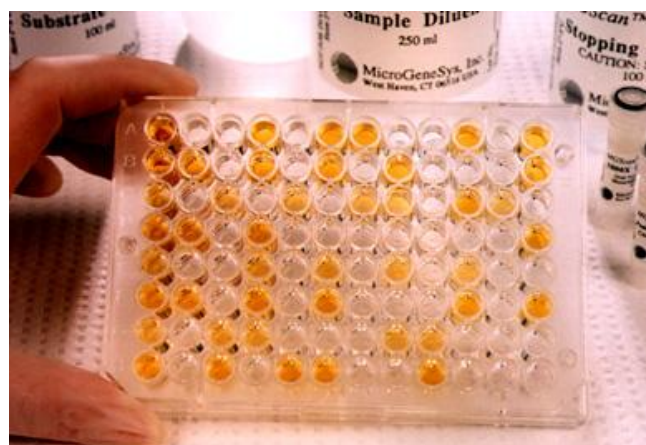
- SOS ambiente (attività avanzata)

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. (un pomeriggio, circa 2 ore, + una mattina, circa 4 ore)



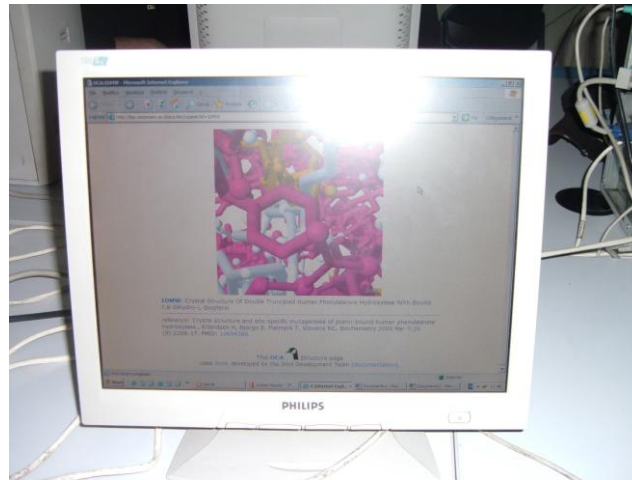
- Analisi delle proteine

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. (due mezzegionate di circa 3 ore)



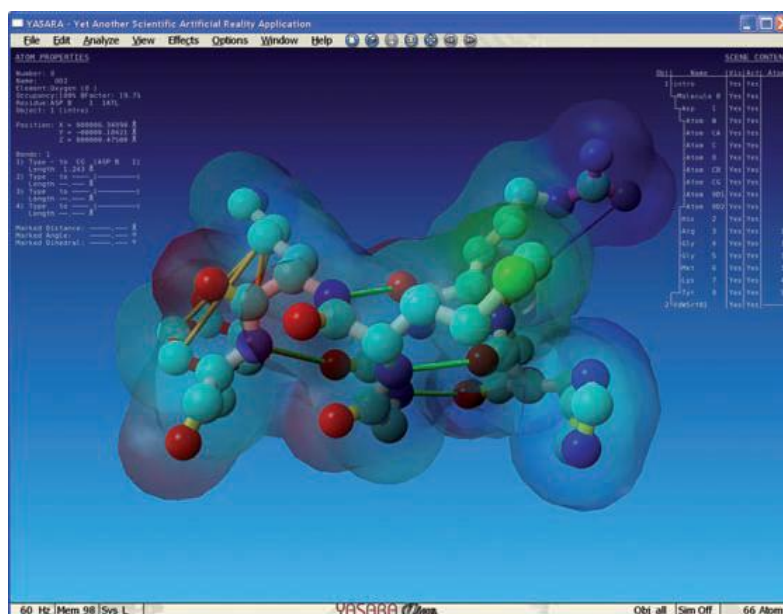
- L'insulina ricombinante: dai batteri al computer

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. 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. ( un pomeriggio, circa 2,5 ore, + una mattina, circa 3,5 ore)



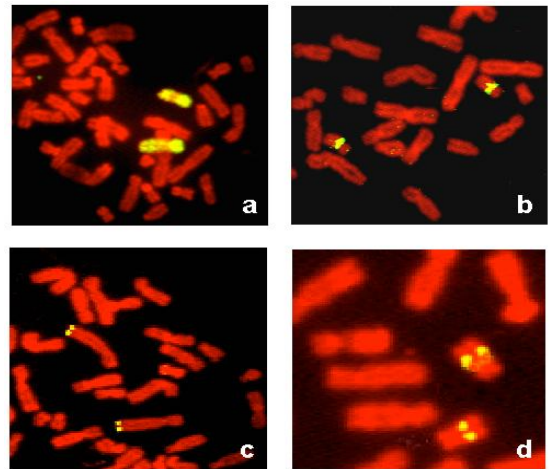
- Le forme invisibili

L'attività prevede una parte "al bancone" per ottenere cristalli di una proteina, il lisozima. La parte di bioinformatica consente 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. (3 ore circa)



- I microarrays virtuali e la FISH

Due simulazioni per spiegare importanti tecniche di indagine genetica molecolare. La tecnologia dei "Microarray", è spiegata attraverso 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. (3 ore circa)



- Le nanotecnologie

La nanoscienza (nel 2010 sono stati assegnati ben 2 premi Nobel) 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. (3 ore circa)

**NB:**

**A fine maggio a Milano verrà fatta una selezione fra gli studenti partecipanti ai laboratori del Biolab e i vincitori potranno partecipare ad uno stage estivo ("Lo studente ricercatore") presso l'università di Milano o altri centri di Ricerca in Genetica e Biologia molecolare oppure partecipare l'anno scolastico successivo al progetto "Apprendista ricercatore".**

**Nel secondo quadrimestre i docenti di Scienze daranno la possibilità agli studenti di quarta e quinta interessati di partecipare a un minicorso di Bioinformatica (10 ore) presso il Maserati.**