



# **ATTIVITÀ POTENZIAMENTO LABORATORIO SCIENTIFICO**

**2017/2018**

3C s.a. | Prof.ssa Raffaella Torrisi | Liceo Scientifico  
delle Scienze Applicate "E. Boggio Lera"



# Dal Genotipo al Fenotipo

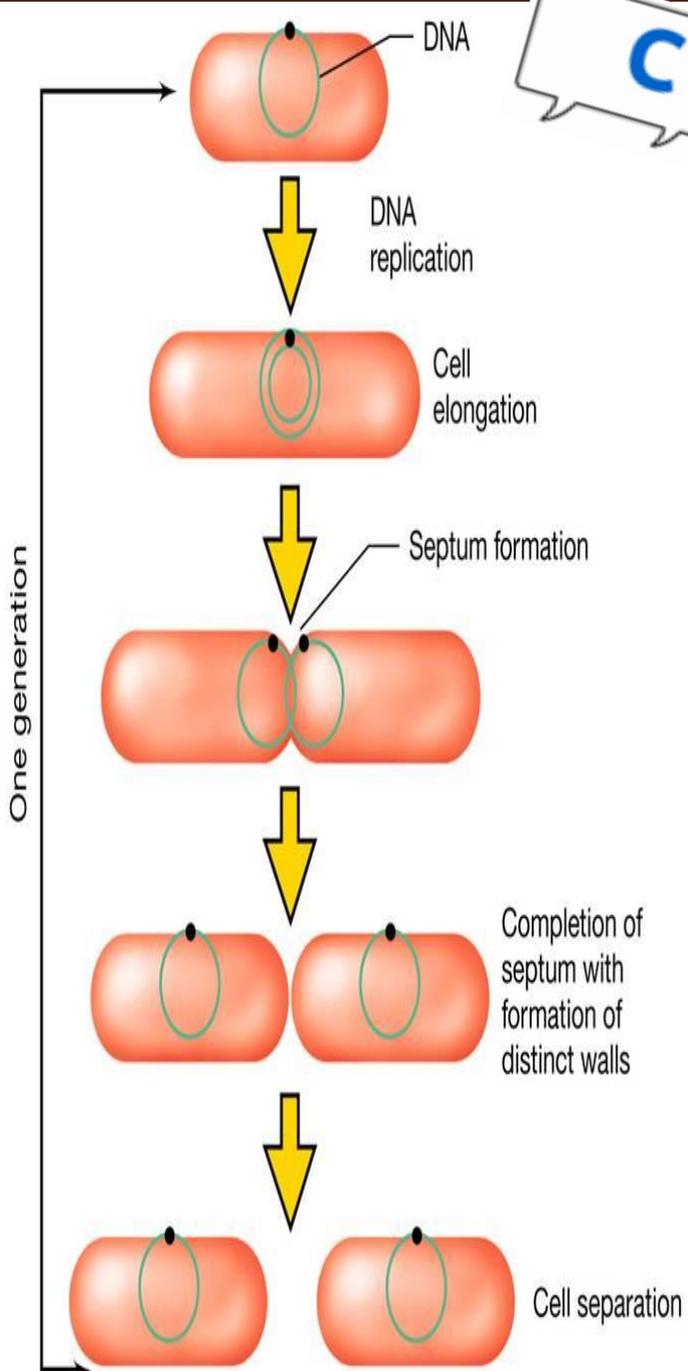
Costruzione di modelli per studiare:

- come si dividono le cellule procariota (**scissione binaria**) ed eucariota (**mitosi**)
- l'identificazione molecolare del gene e la sintesi delle proteine.

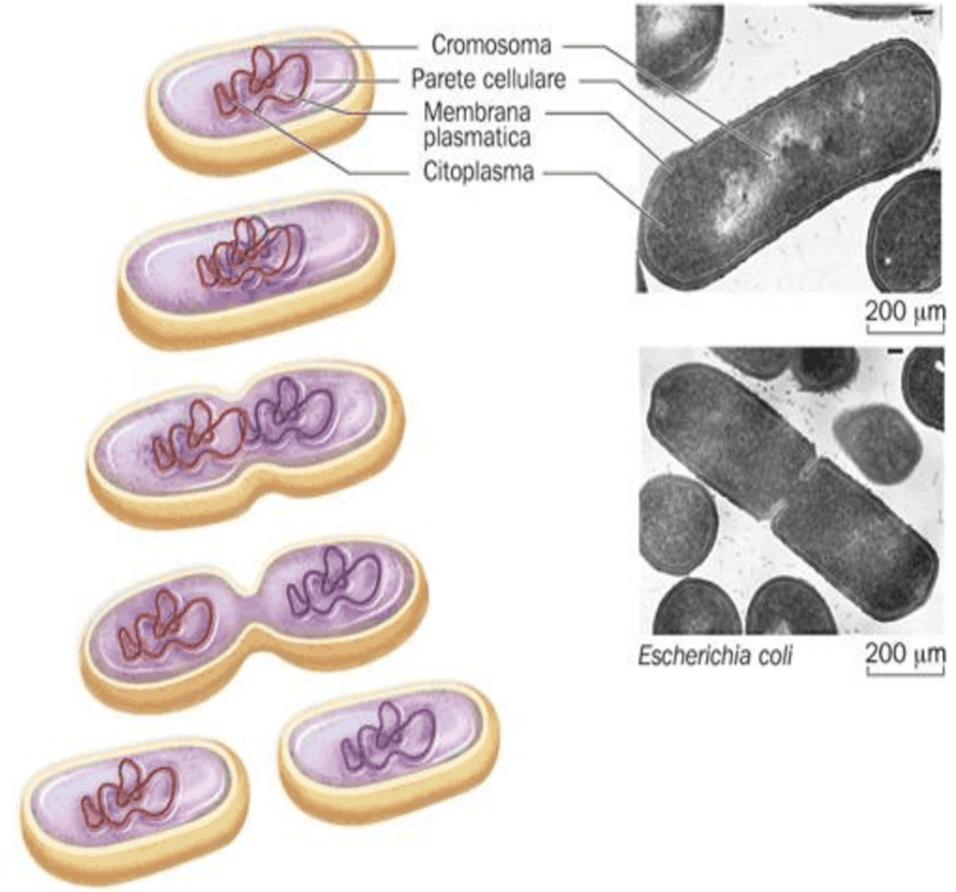


# I procarioti si riproducono per via a sessuata

## I procarioti si riproducono per **scissione binaria**.



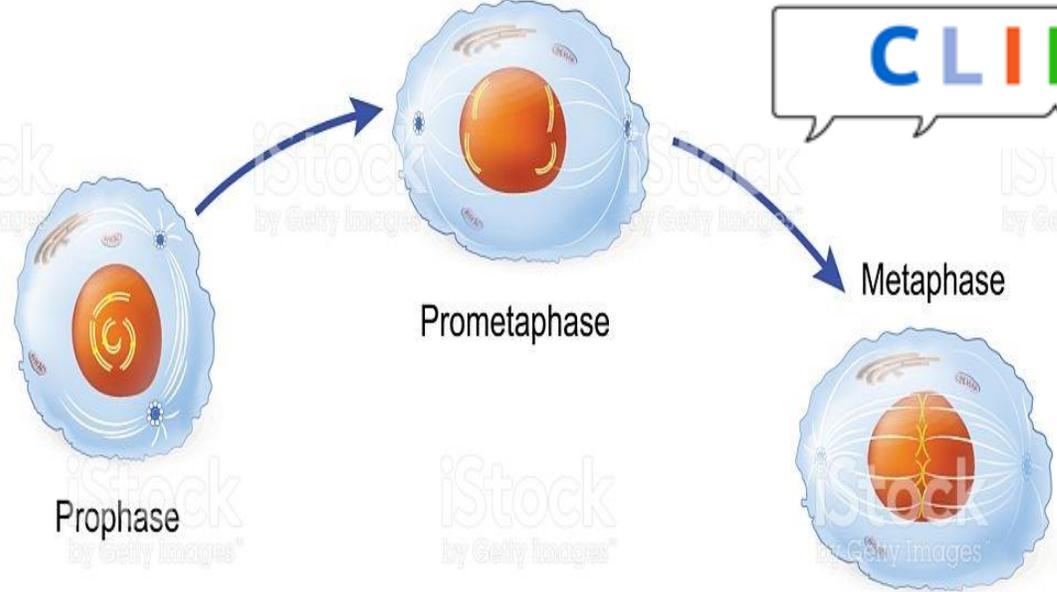
- 1 Il legame del cromosoma singolo a un particolare sito della membrana plasmatica indica che il batterio è prossimo alla divisione.
- 2 La cellula si prepara per la scissione binaria ingrandendo la propria parete cellulare, la membrana plasmatica e il volume. Avviene la duplicazione del DNA.
- 3 La duplicazione del DNA ha prodotto due cromosomi identici. La parete cellulare e la membrana plasmatica iniziano a introflettersi verso il centro della cellula.
- 4 Quando la cellula si allunga, i due cromosomi si allontanano tra loro. Anche il citoplasma si suddivide equamente ai due poli opposti.
- 5 La nuova parete cellulare e la nuova membrana plasmatica hanno alla fine suddiviso in due cellule figlie la cellula originaria.



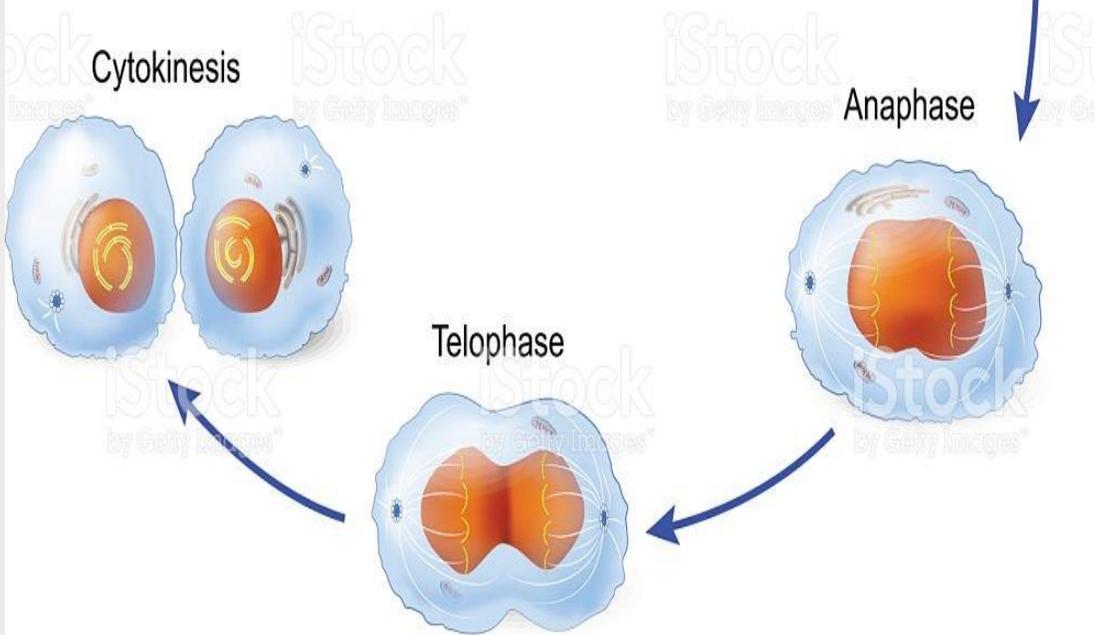
# Costruiamo i nostri modellini!



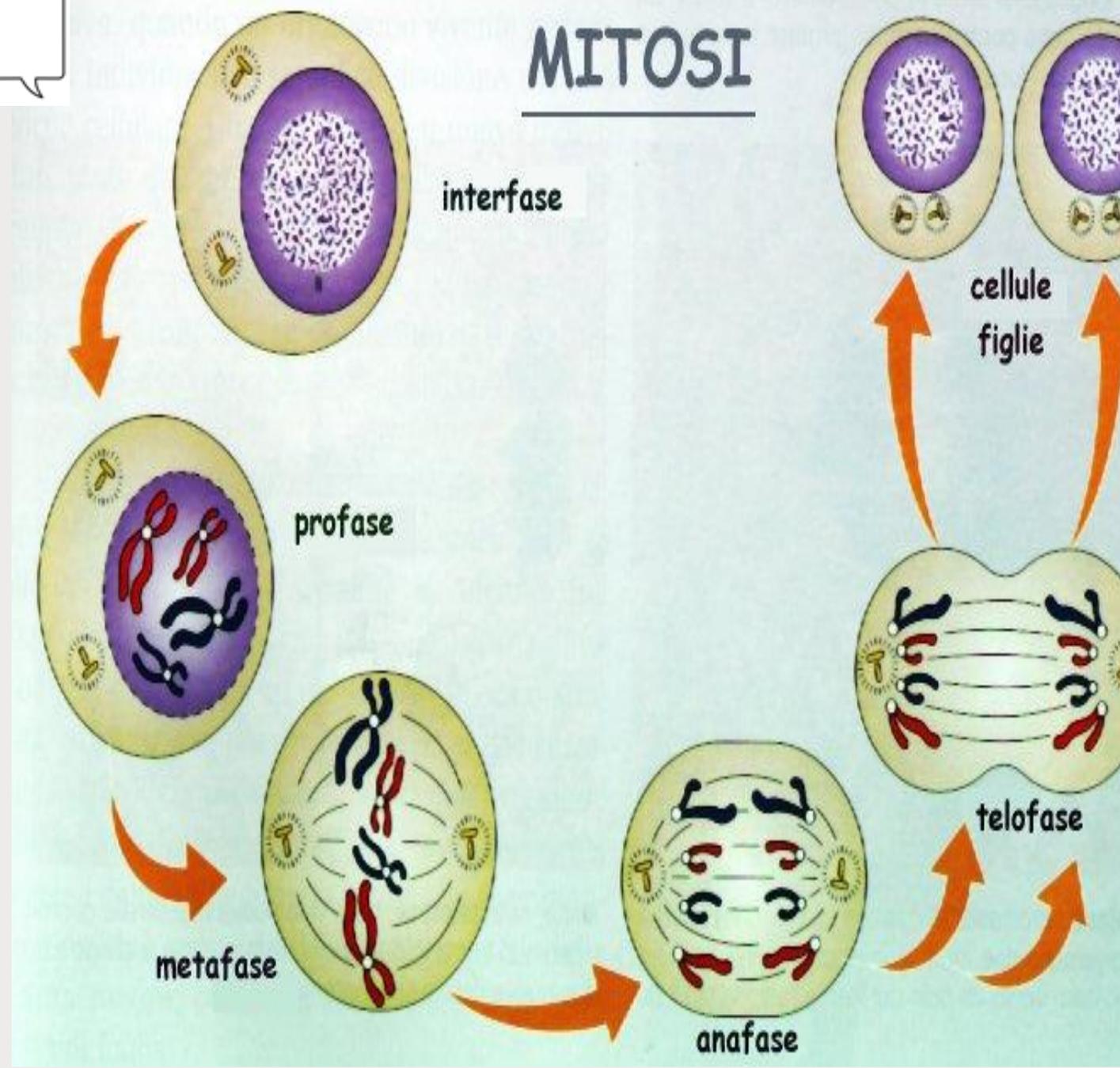
CLIL



# MITOSIS



# MITOSI



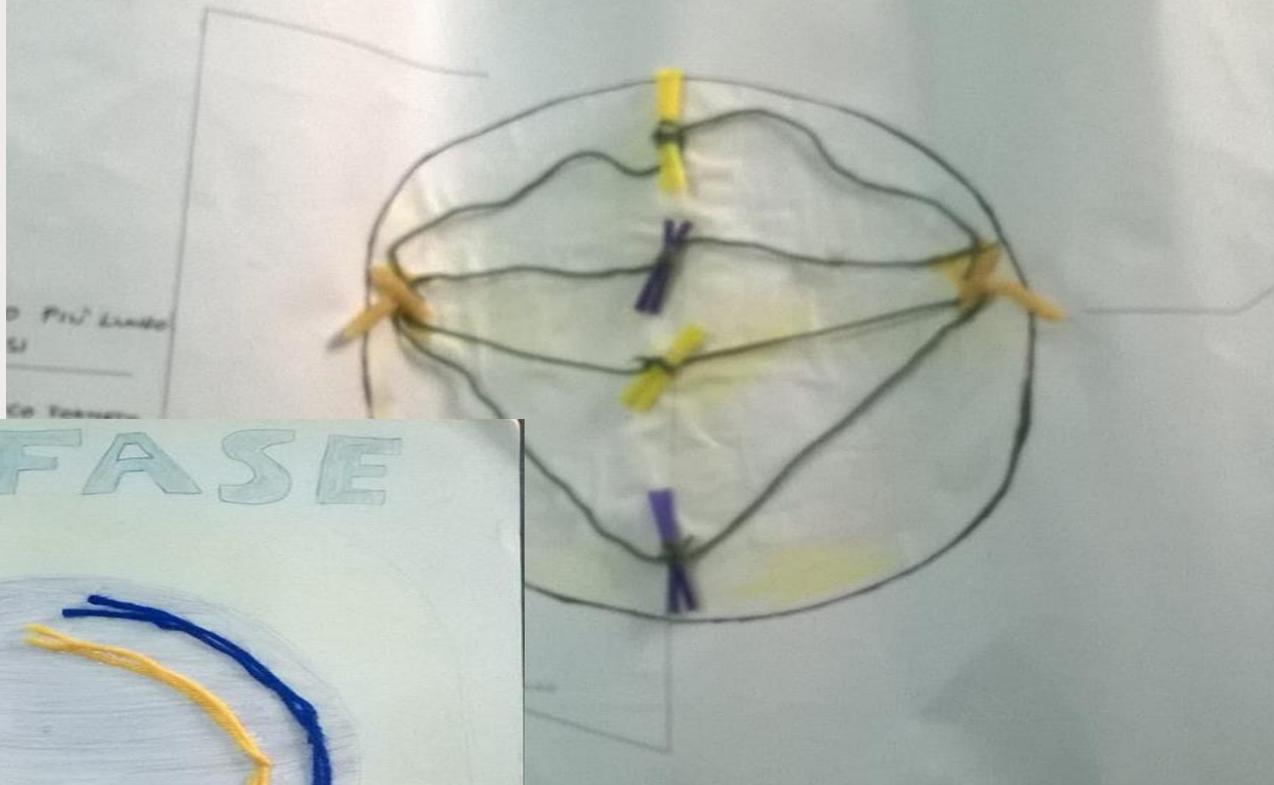
Costruiamo i  
nostri poster...



IntelQuest



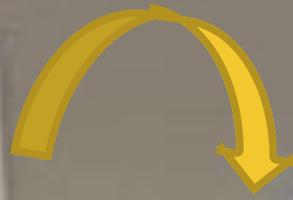
LA METAFASE



PROFASE



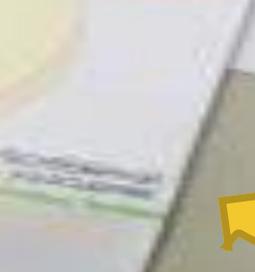
# METAPHASE

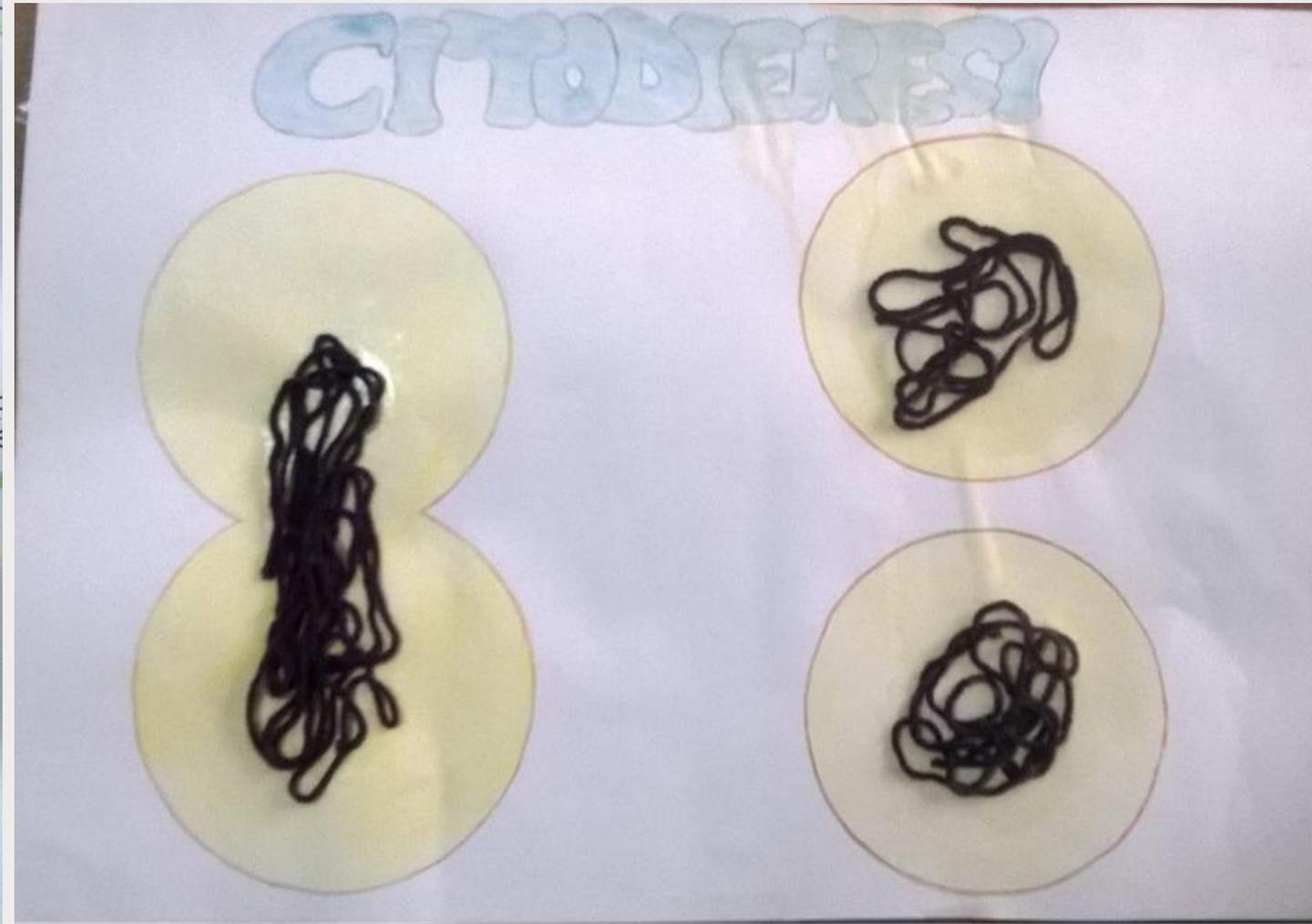
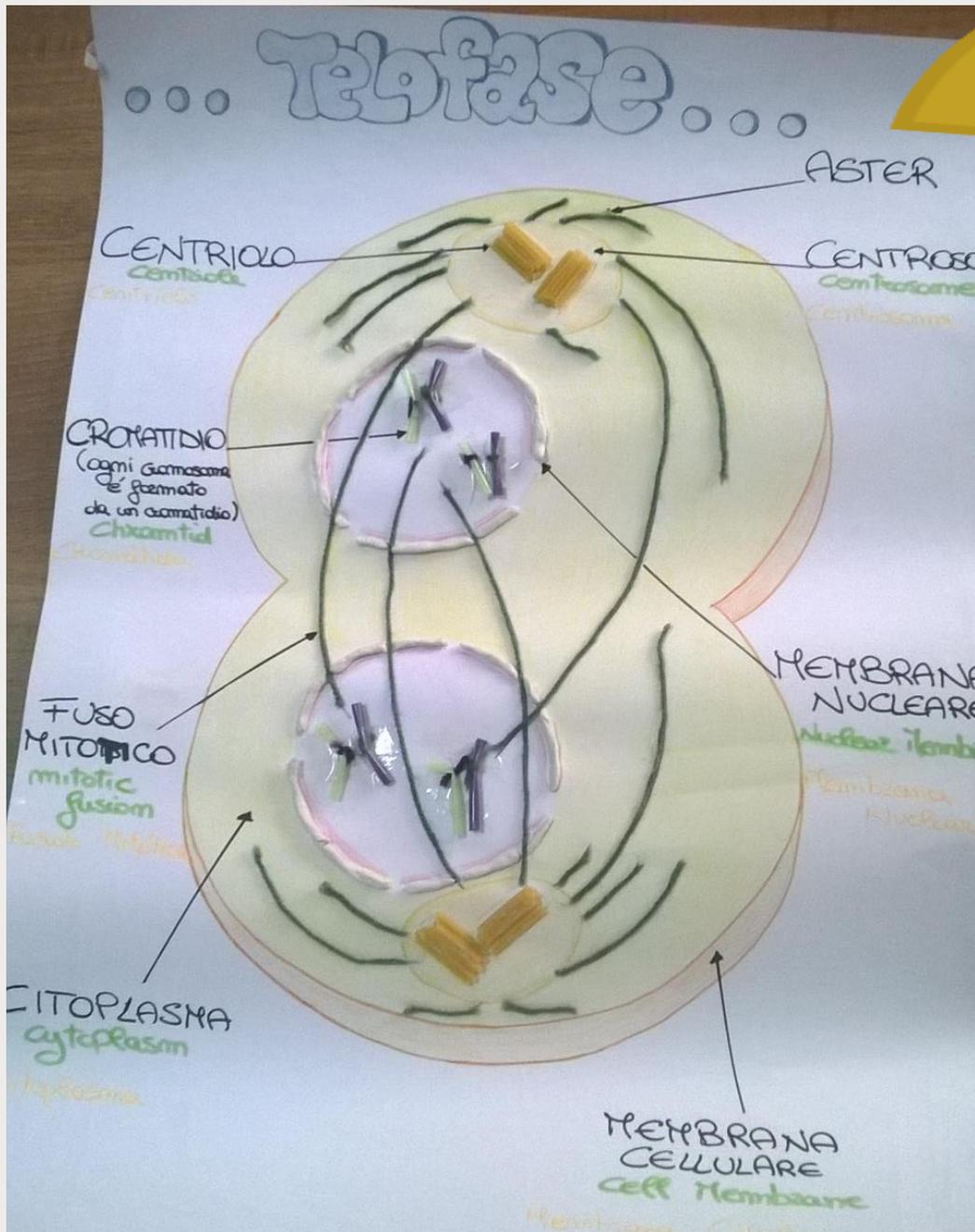


# Anaphase



# Prophase





# Dal Genotipo al Fenotipo

Costruzione di modelli per studiare:

- come si dividono le cellule procariota (**scissione binaria** dei batteri) ed eucariota (**mitosi**)

- **l'identificazione molecolare del gene e la sintesi delle proteine.**



# Simuliamo in classe la sintesi delle proteine

I geni sono parti di DNA che contengono le informazioni necessarie per produrre le proteine e specificano i caratteri ereditari, come il colore dei capelli o il gruppo sanguigno. In questa attività simulerete la sintesi proteica per stabilire i caratteri ereditari dello CHNOP, un animale ipotetico con cromosomi formati da sei geni (A, B, C, D, E, F).

### Obiettivi

Stabilire la sequenza dei geni di un cromosoma e comprendere come queste sequenze determinano i caratteri di un organismo.

### Materiale occorrenti (per gruppo)

- matita blu
- matita rossa

### Procedimento

1. Per stabilire quale carattere è determinato, per esempio, dal gene A dello CHNOP, dovete completare con i dati mancanti la **tabella 1** riportata sotto. Leggete la sequenza dei nucleotidi del DNA che forma il gene A, quindi scrivete nell'apposito spazio la sequenza di nucleotidi del mRNA complementare a quella del DNA. Scrivete poi nell'apposito spazio la sequenza dei nucleotidi del tRNA complementare a quella del mRNA, utilizzando una matita di diverso colore.

Tabella 1

gene A	gene B	gene C
DNA ACC GGT TAT	DNA AGC CGA	DNA TTT AAC
mRNA _____	mRNA _____	mRNA _____
tRNA _____	tRNA _____	tRNA _____
sequenza di amminoacidi _____	sequenza di amminoacidi _____	sequenza di amminoacidi _____
carattere _____	carattere _____	carattere _____
gene D	gene E	gene F
DNA GGA CGC CGA	DNA GGG AGG AAA CCC	DNA ATC ATC CTA
mRNA _____	mRNA _____	mRNA _____
tRNA _____	tRNA _____	tRNA _____
sequenza di amminoacidi _____	sequenza di amminoacidi _____	sequenza di amminoacidi _____
carattere _____	carattere _____	carattere _____

2. Stabilite la sequenza degli amminoacidi trovando per ciascuna tripletta di tRNA il corrispondente amminoacido nella **tabella 2**. Inserite la sequenza nella **tabella 1** separando i numeri che identificano ciascun amminoacido con un trattino.

NOME E COGNOME \_\_\_\_\_  
 CLASSE \_\_\_\_\_ DATA \_\_\_\_\_

**Abilità**  
 analizzare  
 trarre conclusioni  
 formulare ipotesi  
 fare deduzioni  
 costruire modelli

**Tempo previsto**  
 45 minuti



Tabella 2

numero dell'amminoacido corrispondente	ACC	AGC	CGA	AAC	CGC	GGG	AGG	AAA	UUU	GGU	UAU	CCC	AUC	CUA	GGA
	20	16	2	4	3	5	7	8	9	12	13	1	6	10	11

3. Basandovi sulla **tabella 3**, scoprite il carattere che corrisponde alla sequenza di amminoacidi da voi individuata. Annotate questa informazione nell'apposito spazio della **tabella 1**.

Tabella 3

sequenza di amminoacidi	carattere	sequenza di amminoacidi	carattere
20-11-13	senza peli	9-8	assenza di lentiggini
20-12-13	peloso	9-4	lentiggini
20-21-21	paffuto	11-3-2	pelliccia blu
13-14-15	molto magro	11-3-3	pelliccia arancione
16-2	a quattro zampe	6-6-10	maschio
12-7-8-1	naso lungo	6-6-14	femmina
5-7-8-1	naso corto		

- Ripetete i passaggi da 1 a 3 per tutti gli altri geni (da B a F).
- Considerando tutti i caratteri che avete individuato, fate un disegno dello CHNOP.

### Analisi e conclusioni

1. In questa attività avete simulato i processi di trascrizione e traduzione. In che cosa consistono? (Abilità: analizzare e trarre conclusioni)

.....  
 .....

2. Quanti nucleotidi di tRNA formano un anticodone che si unirà al codone del mRNA? (Abilità: applicare concetti)

.....  
 .....

3. Conoscendo l'insieme di proteine specifiche presenti in una cellula, in che modo potreste stabilire la sequenza dei geni di DNA che hanno codificato per quelle proteine? (Abilità: fare deduzioni)

.....  
 .....

4. In che modo un cambiamento nella sequenza di nucleotidi del DNA può alterare la formazione della proteina tradotta? (Abilità: formulare ipotesi)

.....  
 .....

### Parole chiave

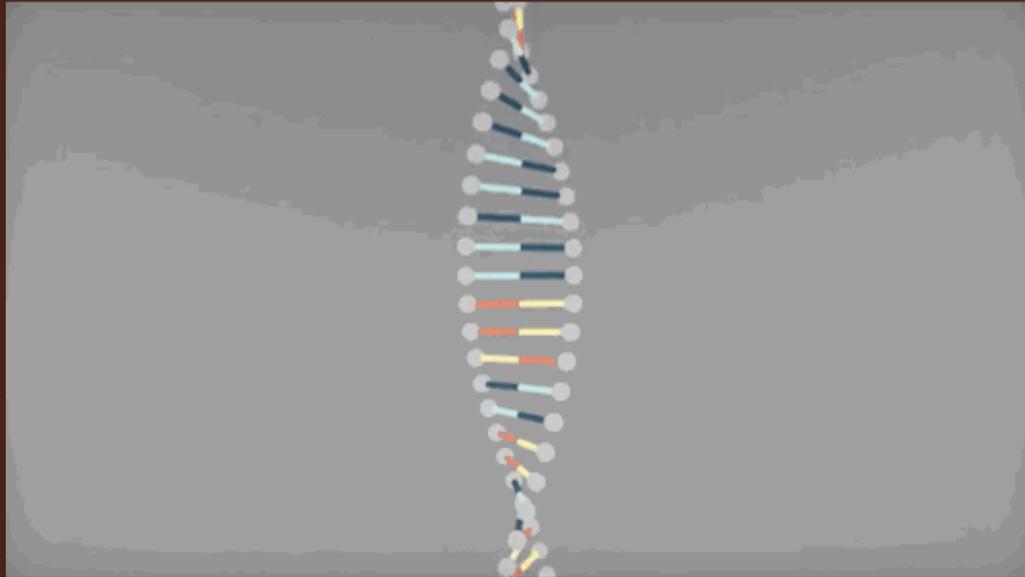
Rivedi sul tuo libro di testo il significato dei seguenti termini:

- amminoacidi
- DNA
- mRNA
- nucleotidi
- proteina
- tRNA

### Non fermarci qui!

Inventa due nuovi caratteri dello CHNOP e stabilisci la sequenza iniziale del DNA, il codone dell'mRNA e l'anticodone del tRNA. Completa con la risultante sequenza di amminoacidi.





# ATTIVITÀ LABORATORIALI VIRTUALI

# Learn.Genetics (Genetic Science Learning Center)



Durante l'anno abbiamo svolto delle attività laboratoriali interattive tramite il sito Learn.Genetics dell'università del Massachusetts.





Abbiamo continuato a svolgere delle attività CLIL, basate sull'apprendimento di nuovi vocaboli riguardanti gli strumenti e le metodiche utilizzate per l'estrazione del DNA



<http://learn.genetics.utah.edu/content/labs/extraction/>

### VIRTUAL LAB: DNA EXTRACTION

DNA is extracted from human cells for a variety of reasons. With a pure sample of DNA you can test a newborn for a genetic disease, analyze forensic evidence, or study a gene involved in cancer.

Try this virtual laboratory to perform a cheek swab and extract DNA from human cells.

➤ Why, you may ask, do you need, human DNA?

.....  
.....  
.....

➤ The steps you will follow to purify DNA from a cheek swab are:

- 1).....
- 2).....
- 3).....
- 4).....

➤ Put in the following table the materials and equipment you will need to purify DNA from cheek cells:

materials	equipment

➤ Build up a glossary by matching words and their translation:

words	translation	words	translation



*Basic Handout*

The steps to extract the DNA are as follows:

- 1) Grind the cheek cells
- 2) Heat cells open to release DNA
- 3) Separate DNA from proteins and other
- 4) Isolate denatured DNA

**11. Relazione di laboratorio**

11/12/2016

con CALZONE - ANASTO - DIAMANTE

Scopo dell'esperienza  
Estrazione virtuale del DNA

Scopo dell'esperienza  
Estrazione del DNA da cellule umane tramite tecniche di laboratorio virtuale

Materiali e strumenti

- computer e tablet
- collegamento internet

Schema il procedimento che hai seguito

Disegna lo strumentazione necessaria per l'esecuzione del test e spiega l'utilizzo, ricostruendo i passaggi fondamentali della tecnica impiegata.

Procedimento sperimentale

1) Grind the cheek cells

2) Heat cells open to release DNA

3) Separate DNA from proteins and other

4) Isolate denatured DNA

5) Grind the cheek cells

6) Heat cells open to release DNA

7) Separate DNA from proteins and other

8) Isolate denatured DNA

9) Grind the cheek cells

10) Heat cells open to release DNA

11) Separate DNA from proteins and other

12) Isolate denatured DNA

Conclusion

This experience has been very useful in the practical and technological field to understand the extraction of DNA in an effective way.

**11. Estrazione virtuale del DNA**

Scopo  
Estrazione virtuale del DNA da cellule umane tramite tecniche di laboratorio virtuale

Materiali e strumenti

- computer e tablet
- collegamento internet

Procedimento

1) Grind the cheek cells

2) Heat cells open to release DNA

3) Separate DNA from proteins and other

4) Isolate denatured DNA

5) Grind the cheek cells

6) Heat cells open to release DNA

7) Separate DNA from proteins and other

8) Isolate denatured DNA

9) Grind the cheek cells

10) Heat cells open to release DNA

11) Separate DNA from proteins and other

12) Isolate denatured DNA

Disegna lo strumentazione necessaria per l'esecuzione del test e spiega l'utilizzo, ricostruendo i passaggi fondamentali della tecnica impiegata.

Schema il procedimento che hai seguito.

Conclusion

This experience has been very useful because with the DNA we can see how it is made and how it is used. It is also very interesting to see how the DNA is made and how it is used. In English we have learned a lot of knowledge of the English language.



**11. Relazione di laboratorio**  
 22/04/2022  
 LUCILENA - TIZIANO - ALDO

**LYSIS SOLUTION**  
 (Separate of DNA from histones)

**CONCENTRATED SALT SOLUTIONS**  
 (soluzione salina)  
 precipitates proteins and debris.

**ISOPROPYL ALCOHOL**  
 (alcohol isopropilico)  
 Makes it not soluble DNA

**BUCCAL SWAB**  
 (tampona buccale)  
 it takes cells from skin

**MICROPIPETTES**  
 (micropipette)  
 Small pipette that picks up DNA

It encountered any problems.  
 has helped us to learn English

Handwritten notes: "is written in our class... in second moment... we have extracted the DNA... it is quite convertible DNA"

Diagrams: A pipette, a microcentrifuge tube, and a microcentrifuge.

**BUCCAL SWAB**  
 (to extract cells)

**MICROCENTRIFUGE**  
 (contains material)

**WATER BATH**  
 (HEATS THE SOLUTIONS)

**MICROPIPETTES**  
 (TAKE SOLUTION)

**TRIS**

**CENTRIFUGE**  
 (SEPARATE SOLUTIONS)

**ETHANOL**  
 (SOLUTION)

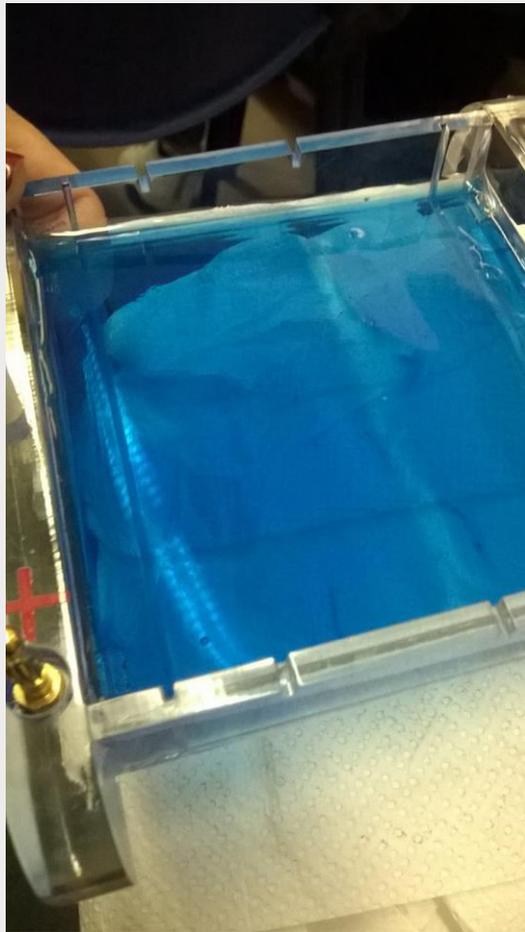
**LYSIS SOLUTION**  
 (SEPARATE DNA FROM THE CELLULAR MEMBRANE)

**ISOPROPYL ALCOHOL**  
 (PRECIPITATION OF DNA)

Handwritten notes: "CINQUE SOLI... MEDIA SEPARAZIONE... ANTI GEL... GELIFIED QUANTITÀ"

# DNA FINGERPRINTING

Tecniche per separare i frammenti di DNA

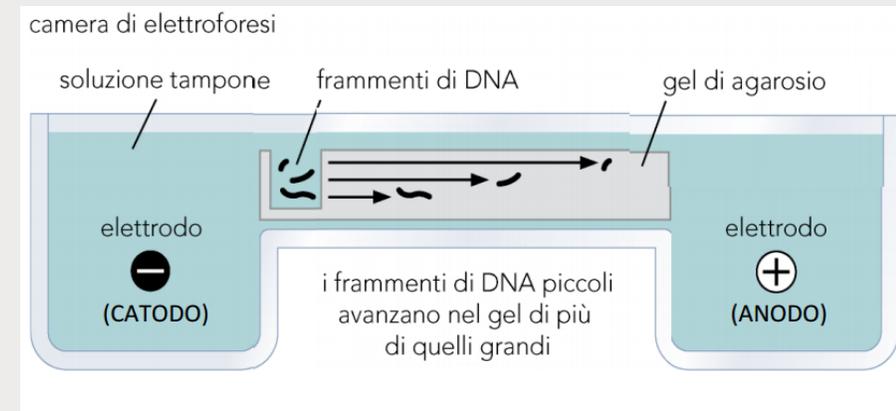
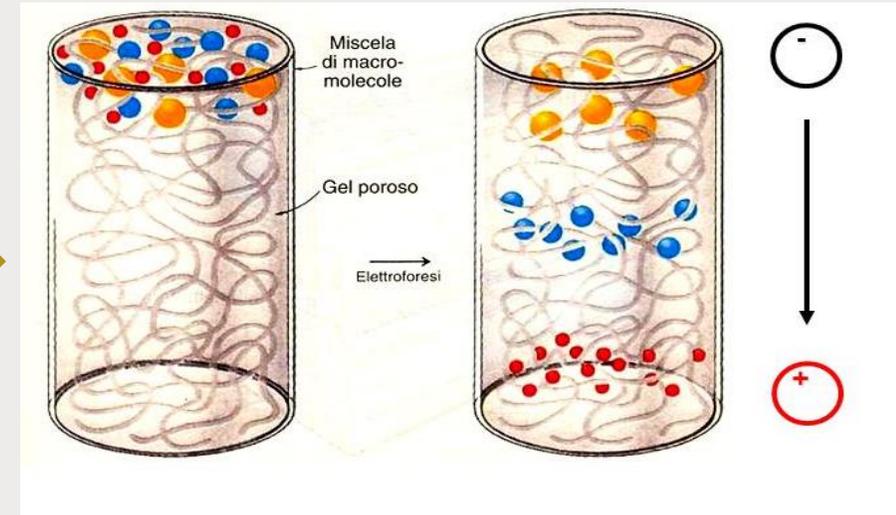


# Elettroforesi su Gel

L' Elettroforesi su gel prevede l'impiego di una sottile lastra di gelatina che viene usata come una sorta di setaccio per separare frammenti di macromolecole, proteine o acidi nucleici, in base alle loro dimensioni. Il principio su cui si basa è che a parità di forza motrice una molecola lunga impiega molto più tempo a districarsi e a percorrere un setaccio tridimensionale rispetto ad una molecola più corta.

Un campione di ogni miscela viene depositato in un pozzetto all'estremità di una sottile lastra rettangolare contenente il gel.

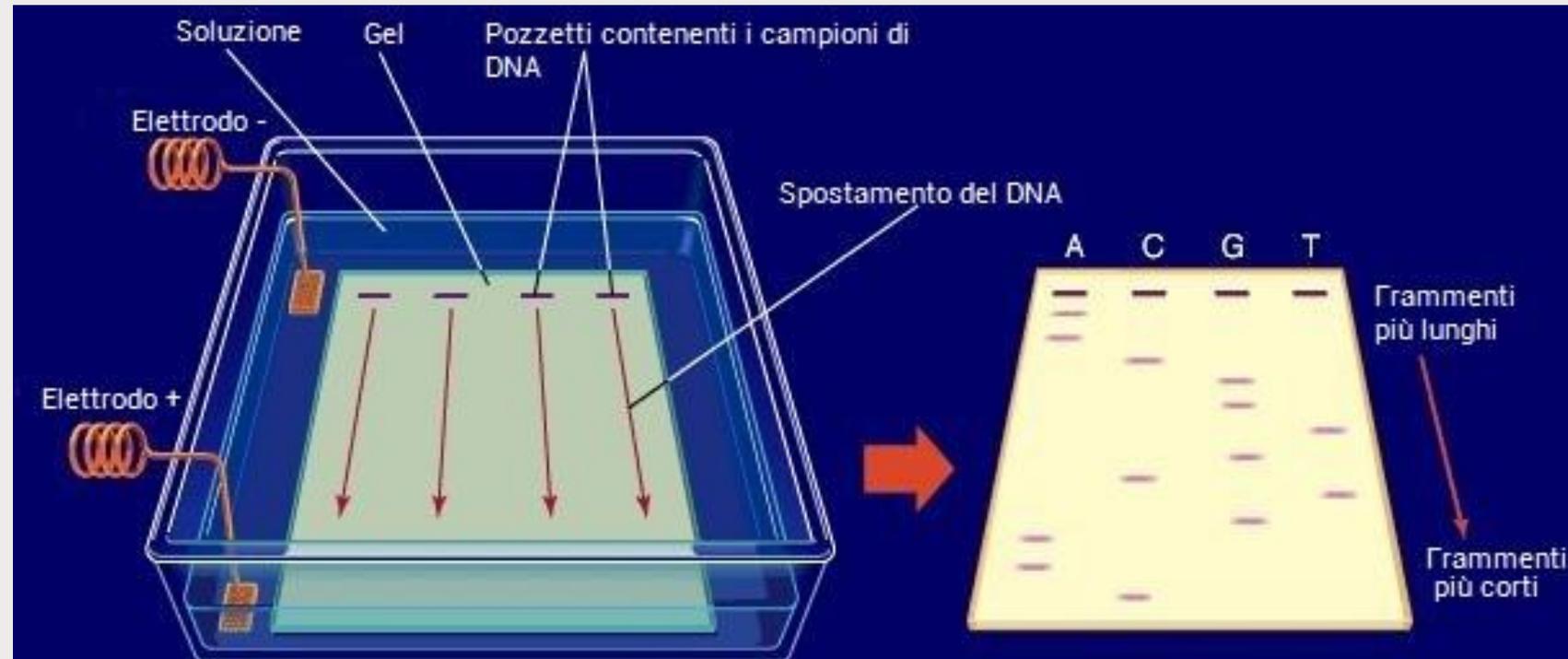
Successivamente un elettrodo negativo è poi collegato all'estremità del gel dove è stato collocato il DNA, mentre un elettrodo positivo è applicato all'altra estremità.



Poiché le molecole di acido nucleico presentano cariche negative sui loro gruppi fosfato, le molecole di DNA migrano verso il polo positivo del gel.

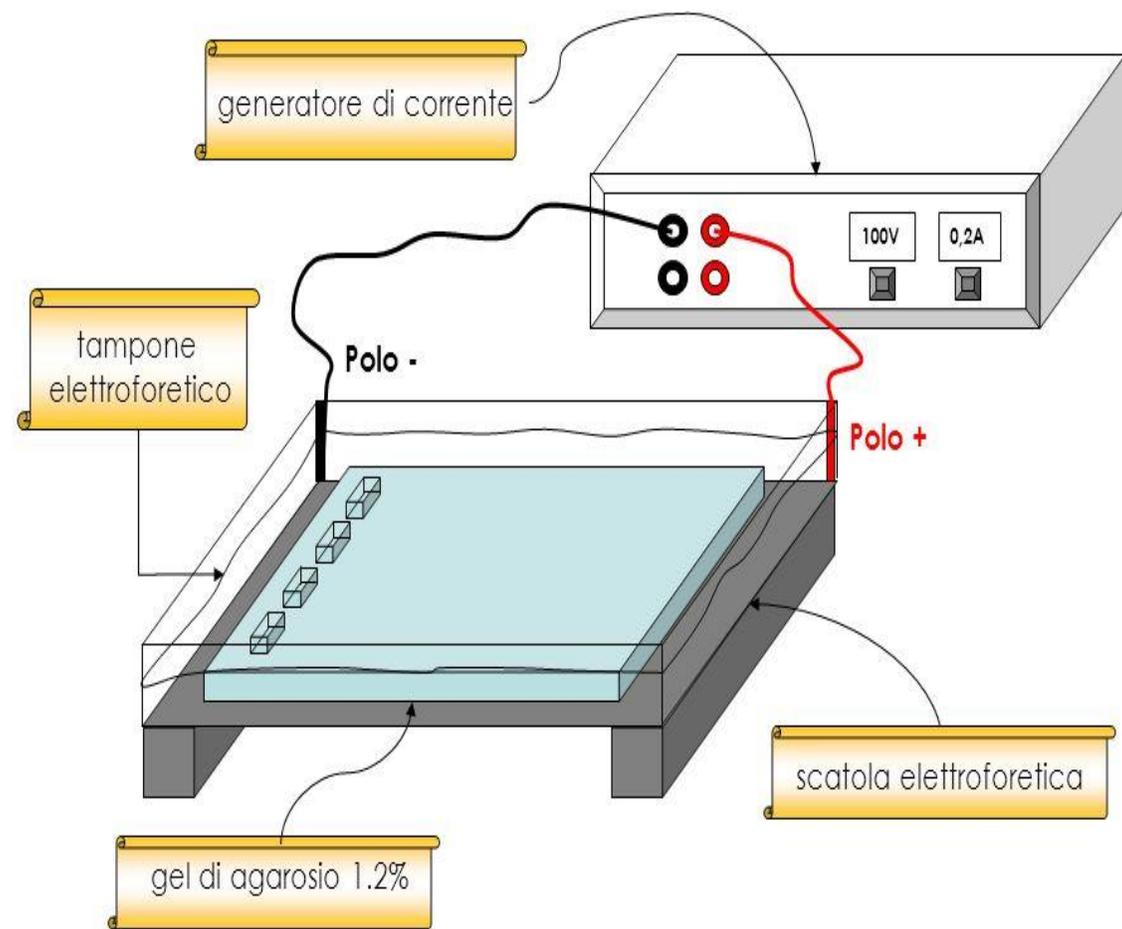
La velocità di spostamento è proporzionale alle dimensioni dei frammenti: quelli più lunghi si muovono più lentamente di quelli più corti.

Quando la separazione è avvenuta, si spegne il generatore di elettricità corrente viene staccata e in ciascuna corsia del gel è possibile osservare una serie di bande che possono essere rese visibili mediante la colorazione.





## ELETTROFORESI IN GEL DI AGAROSIO



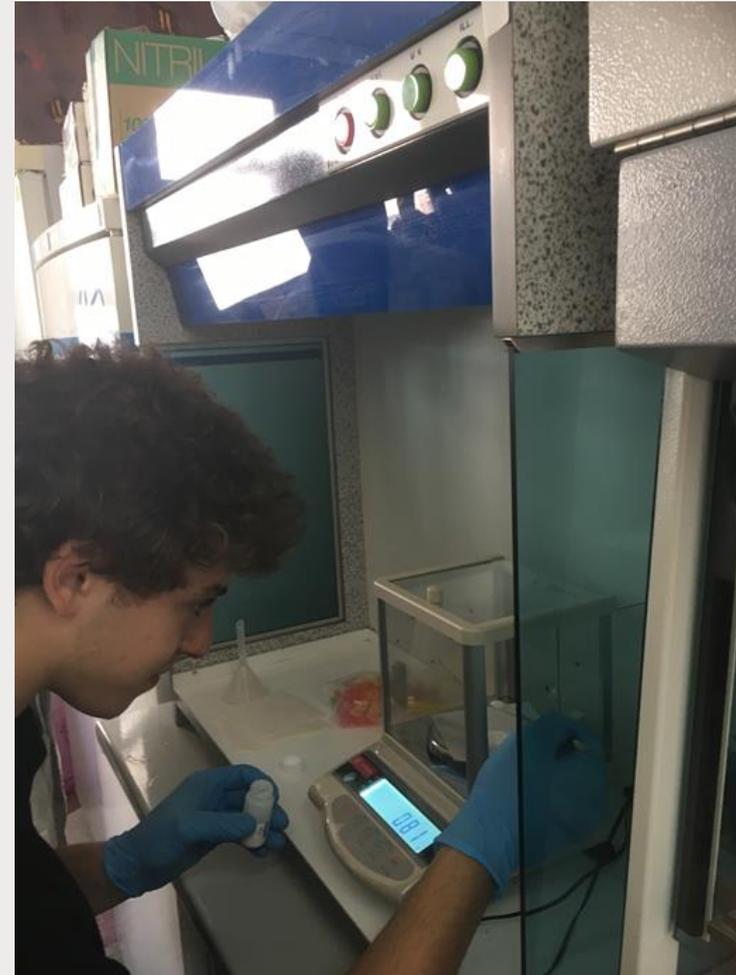
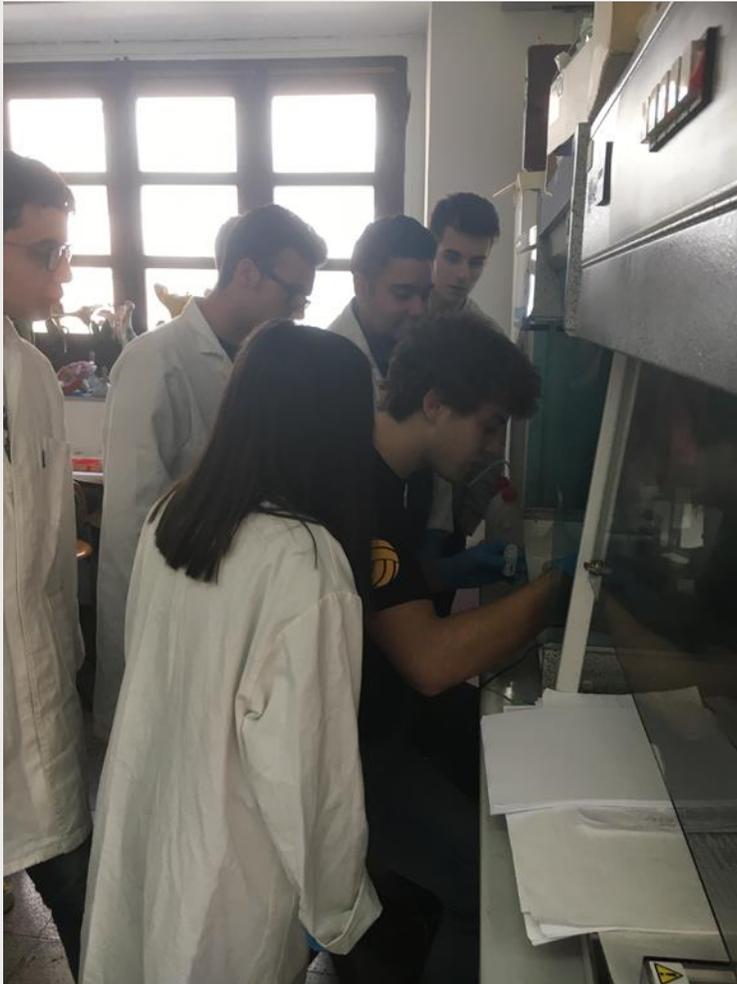
# Gel D'Agarosio

L'Agarosio è un polisaccaride solubile in acqua alla temperatura di ebollizione e viene comunemente usato in biologia molecolare per la separazione di grandi molecole, tra cui ad esempio il DNA, tramite elettroforesi. Quando polimerizza (cioè quando diventa solido) si presenta come un setaccio di molecole legate tra loro da legami ad idrogeno.



# Preparazione del Gel di Agarosio

1. Come prima cosa prendere con la spatolina la polvere di agarosio, e pesarla all'interno della bilancia analitica, facendo molta attenzione per non creare risultati falsati, fino a raggiungere 0,92 grammi.



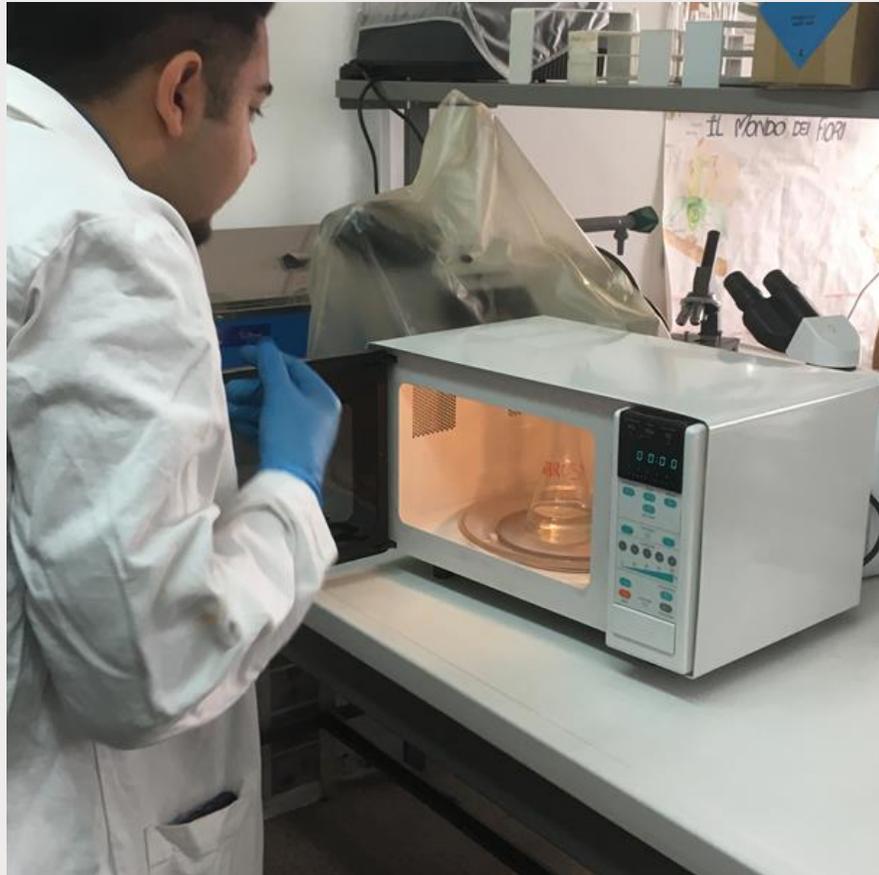
# Preparazione del Gel di Agarosio

2. Prelevare con la pipetta Eppendorf 2,4 ml di soluzione tampone concentrata 50x. Metterla all'interno di una beuta, aggiungere 117,6 ml di H<sub>2</sub>O, infine aggiungere l'agarosio già pesato. Miscelare il tutto.



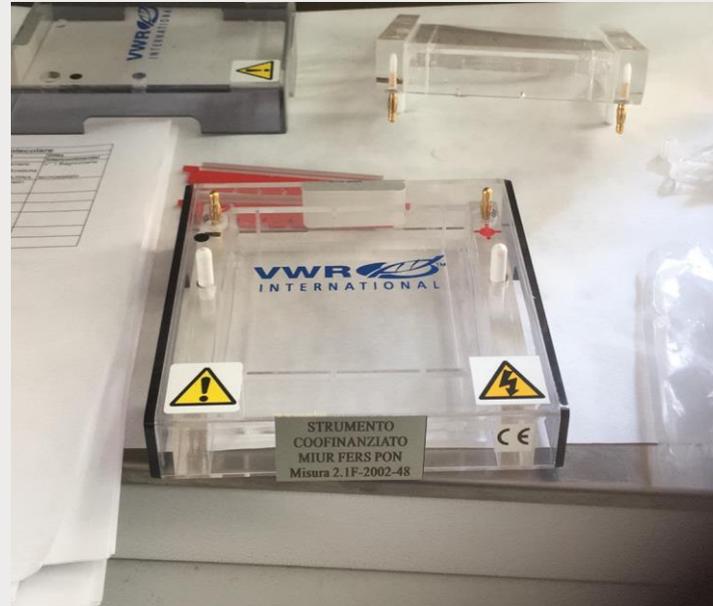
# Preparazione del Gel di Agarosio

3. Mettere la beuta nel forno a microonde per 1 minuto a temperature elevate. Dopo mettere la beuta su una piastra a  $60^\circ$  per qualche secondo per far sciogliere meglio l'agarosio, e far completare l'evaporazione.



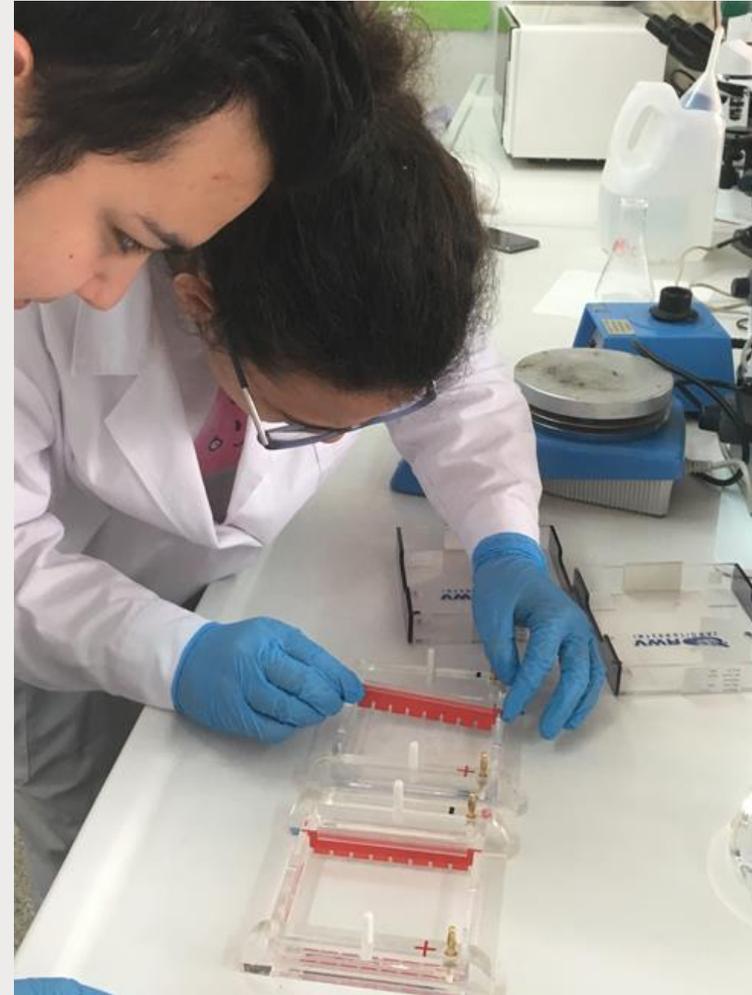
# Preparazione del Gel di Agarosio

4. Far raffreddare qualche minuto il gel, e metterlo all'interno dell'apposita camera elettroforetica e inserire i pettini



# Preparazione del Gel di Agarosio

5. Far raffreddare il gel per altri 20 minuti, in modo da diventare bel solido e infine togliere i pettini.





# Soluzione Tampone

Una soluzione tampone è una soluzione, che in presenza di modeste quantità di sostanze acide o basiche, non varia il Ph.

Questa sua resistenza alla variazione del Ph deriva dalla reazione di Equilibrio tra l'acido e la sua base coniugata.

# PREPARIAMO I CAMPIONI

**Crime Scene Investigation - Restriction Enzyme Digestion** EDV0-KIT 225

In this experiment, the DNA from two suspects are each digested with two restriction enzymes in separate reactions and compared to crime scene samples after agarose gel electrophoresis. This flow chart outlines the procedure used for the restriction enzyme digestion of DNA obtained from Suspect 1. The DNA from Suspect 2 is digested in the same manner, using reaction tubes 3 and 4 (not shown).

**MODULE I OVERVIEW**

**Quick Reference:**

Dispensed Component	Tube Label
Crime scene DNA 1	CS 1
Crime scene DNA 2	CS 2
Suspect 1 DNA	DNA 1
Suspect 2 DNA	DNA 2
DNA Standard Marker	Markers
Enzyme Reaction Buffer	xxx buffer
Diluted Enzyme 1	Enzyme 1
Diluted Enzyme 2	Enzyme 2

Incubate at 45° C for 15 min. or at 37° C for 30-60 min.

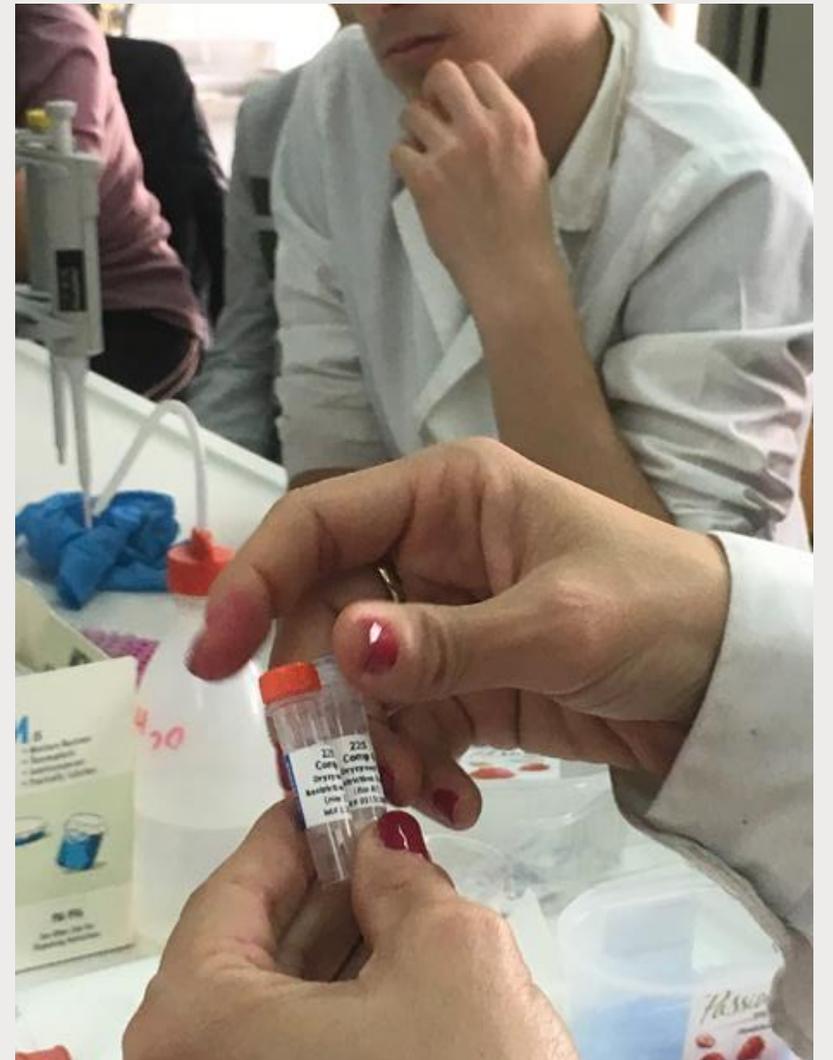
Add 5 µl gel loading solution.

Samples are ready for electrophoresis.

To avoid cross-contamination, use a FRESH micropipet tip for each transfer of DNA and enzyme to the restriction enzyme reaction.

EDVOTEK® 1.800.EDVOTEK • Fax 202.370.1501 • info@edvotek.com • www.edvotek.com

Duplication of any part of this document is permitted for non-profit educational purposes only. Copyright © 2014 EDVOTEK, Inc. All rights reserved. 225 130913



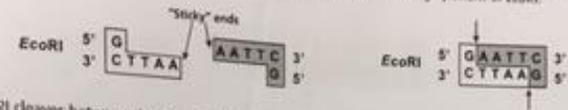
# RESTRICTION ENZYMES

One of the most significant discoveries of molecular biology is a class of enzymes known as restriction endonucleases. These endonucleases (also known as restriction enzymes) are produced by many species of bacteria to protect themselves from invading viral DNA. Restriction enzymes act like molecular scissors, cutting double-stranded DNA at specific sequences. The utility of restriction enzymes has made molecular cloning, DNA mapping, sequencing and various genome-wide studies possible, launching the era of biotechnology.

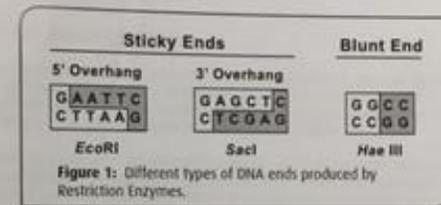
Restriction Enzyme	Genus	Species	Strain	Recognition Site
<i>Ava I</i>	<i>Anabaena</i>	<i>variableis</i>	n/a	C <sup>*</sup> YGGG
<i>Bgl I</i>	<i>Bacillus</i>	<i>globigii</i>	n/a	GCCNMMN <sup>*</sup> NGGC
<i>EcoRI</i>	<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	RY 13	G <sup>*</sup> AATTC
<i>HaeIII</i>	<i>Haemophilus</i>	<i>aegyptius</i>	n/a	GG <sup>*</sup> CC
<i>HindIII</i>	<i>Haemophilus</i>	<i>influenzae</i>	R <sub>2</sub>	A <sup>*</sup> AGCTT
<i>Sac I</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>achromogenes</i>	n/a	GAGCT <sup>*</sup> C

**Table 1:** Common Restriction Enzymes with Recognition Sites

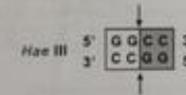
Digestion by a restriction enzyme generates DNA fragments with one of two types of DNA ends—"sticky" or "blunt". To illustrate this, first consider the recognition site and cleavage pattern of *EcoRI*.



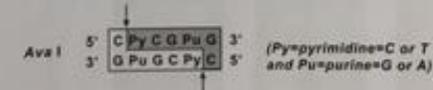
*EcoRI* cleaves between the G and neighboring A, as indicated by the arrows in the left side of the figure. It is important to note that the positions of the cleavage are staggered, so the resulting fragments project short overhangs of single-stranded DNA with complementary sequences. Such overhangs are referred to as "sticky" ends because the single-strands can interact with—or stick to—other overhangs with a complementary sequence (Figure 1). Digestion of the same piece of DNA using different enzymes can produce sticky ends of different lengths and strand orientation (5' vs. 3').



In contrast to *EcoRI*, *HaeIII* cuts both DNA strands at the same position, which generates fragments without an overhang. These so-called "blunt" ends can be joined with any other blunt end without regard for complementarity.



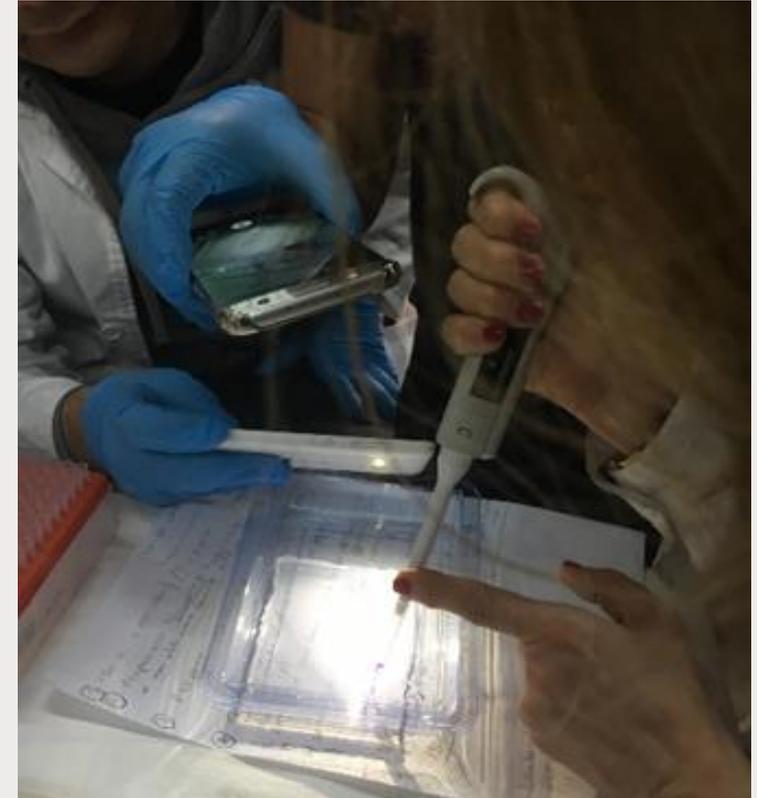
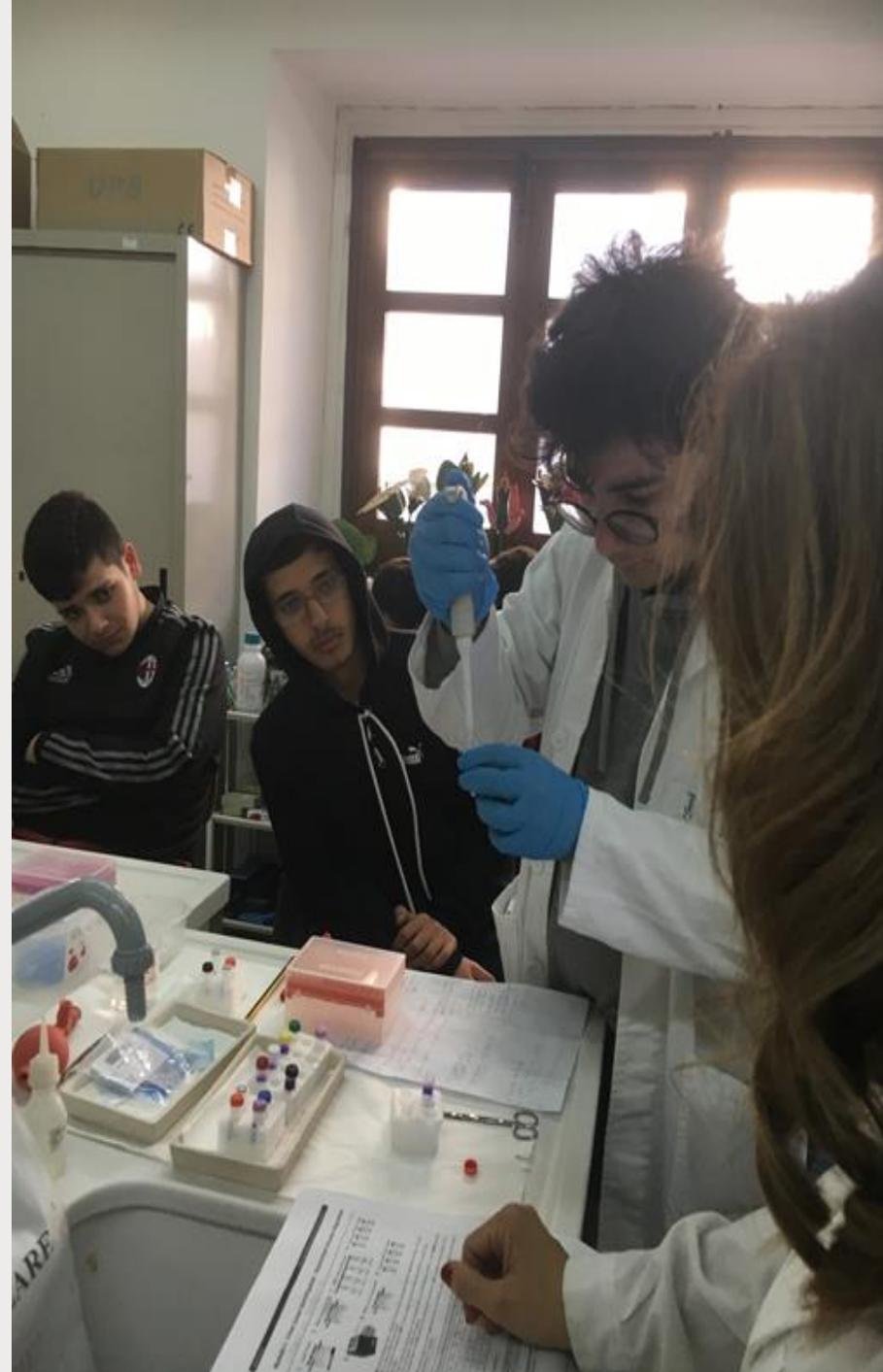
Some restriction enzymes, such as *AvaI*, recognize "degenerate" sites, which contain one or more variable positions.



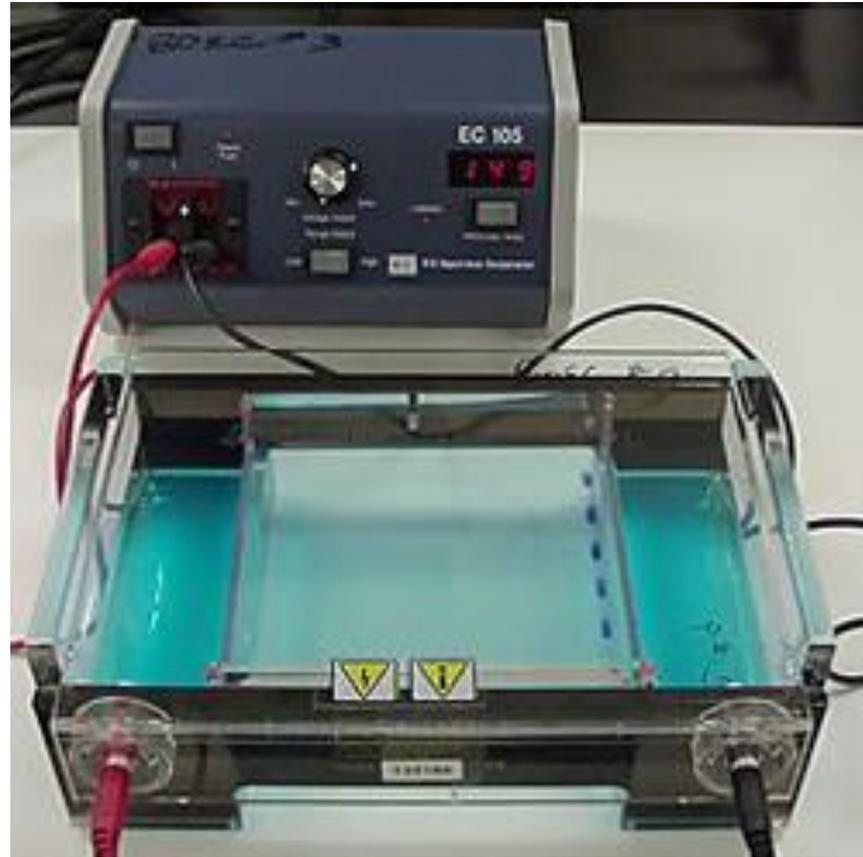
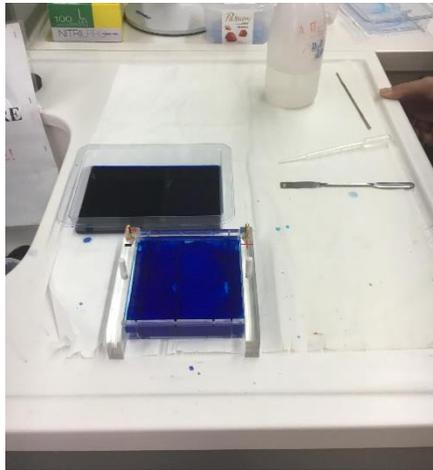
Consequently, there are four possible sites that *AvaI* will recognize and cut: CCGGG, CCCGAG, CTCGGG and CTCGAG.

# Caricamento dei campioni nei Pozzetti del gel di Agarosio

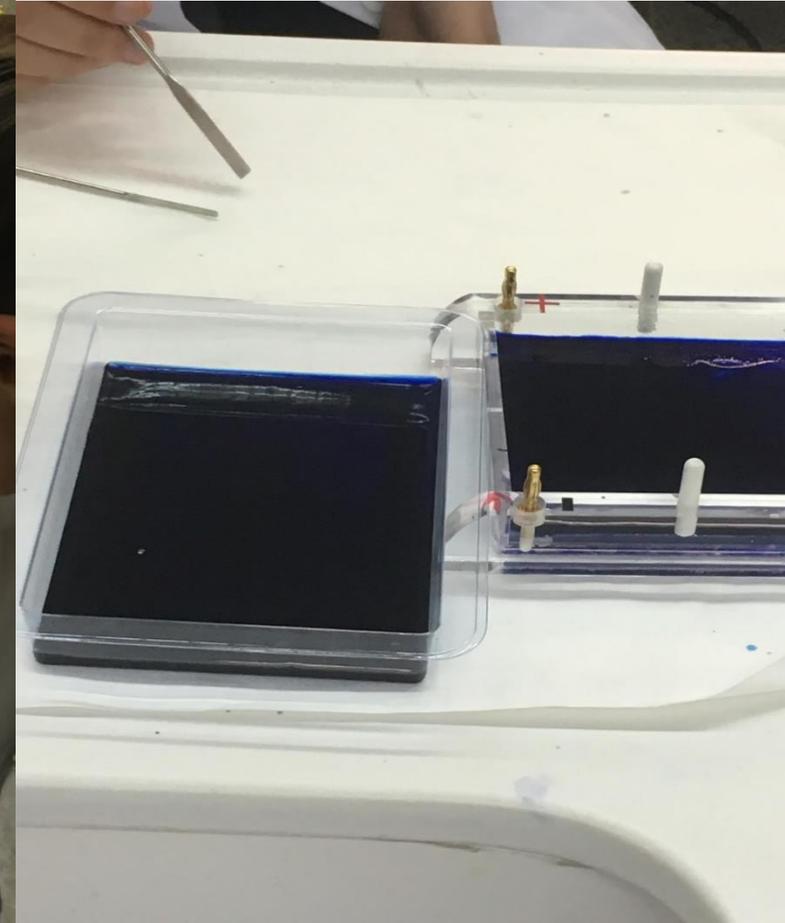
Dopo aver preparato i campioni di DNA, miscelati ad un colorante (con funzione di addensante), vengono inseriti in ogni pozzetto all'interno del gel d'Agarosio.

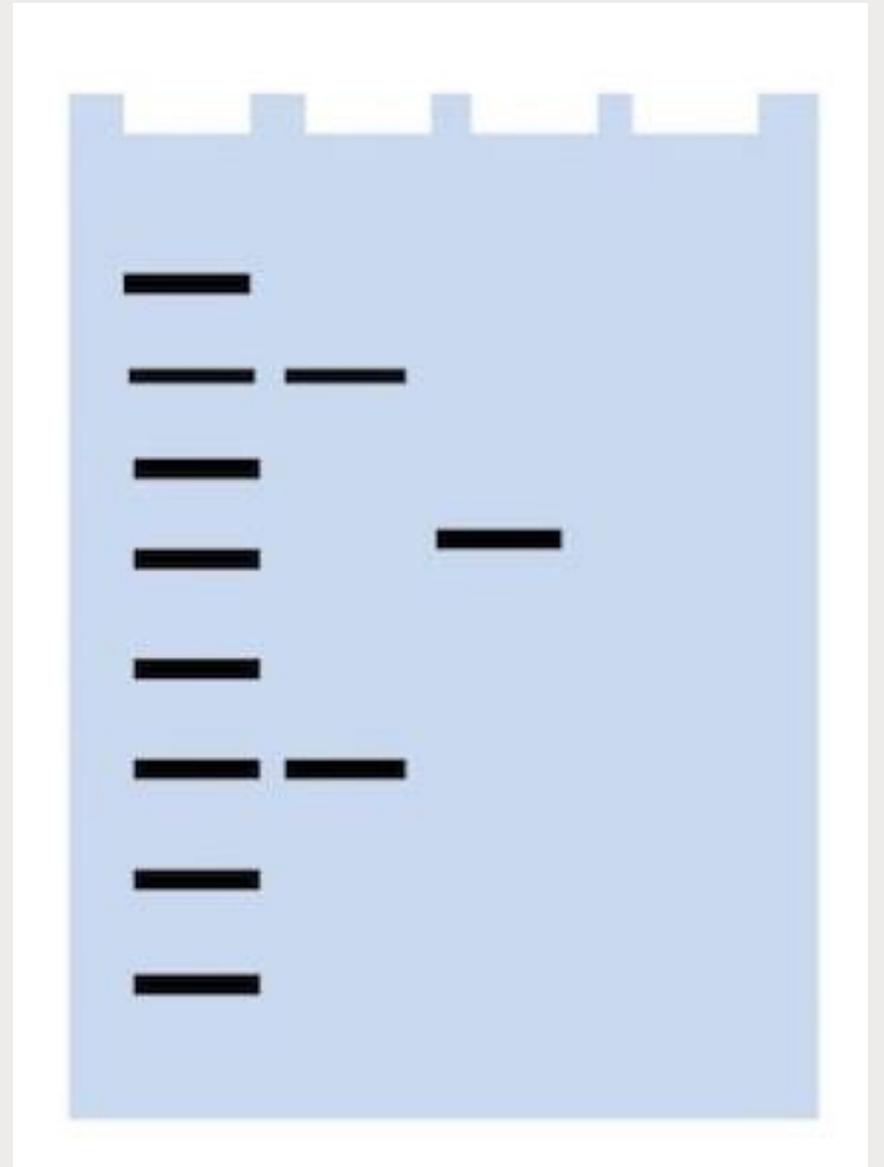
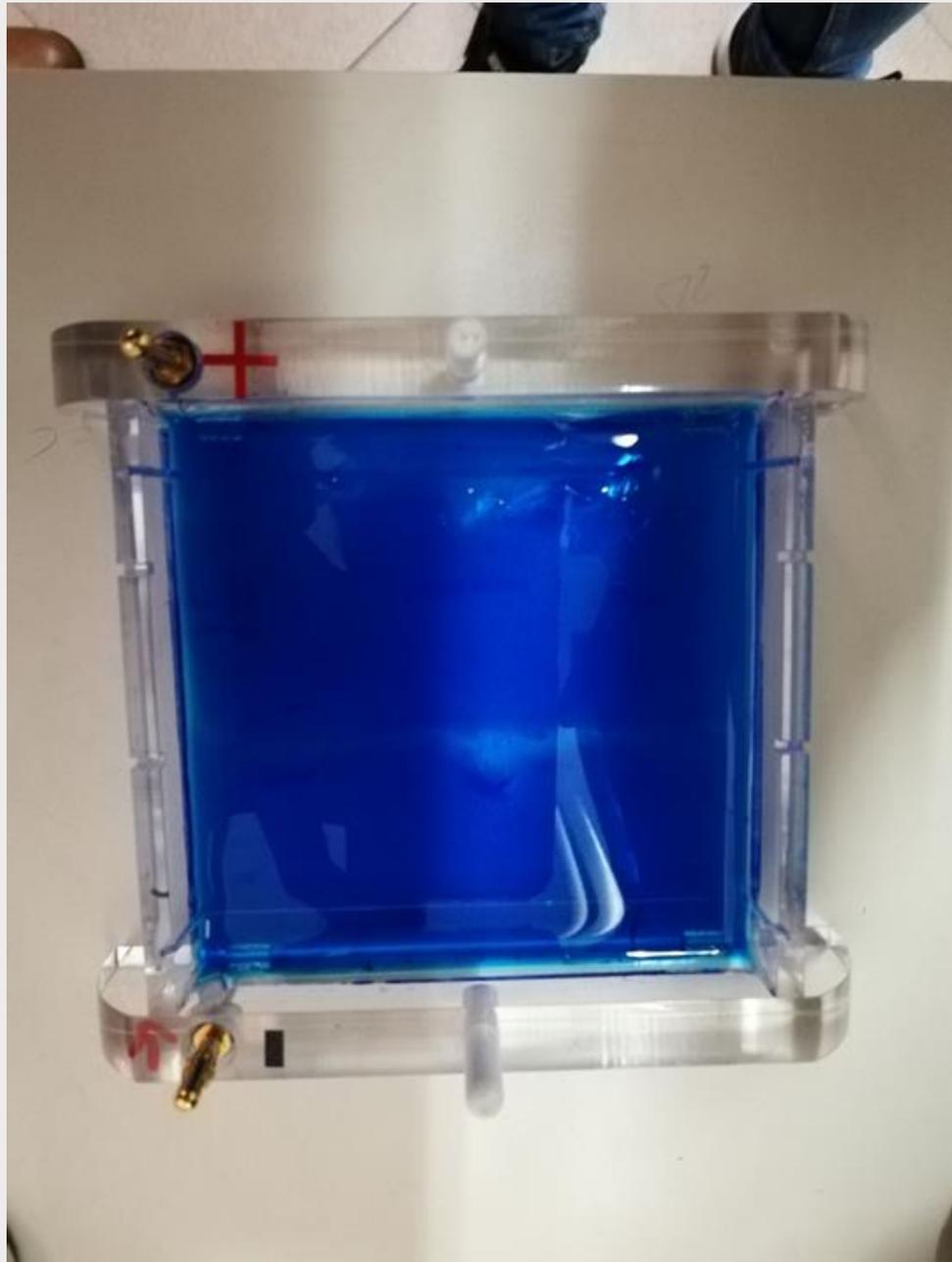


Si avvia quindi la corsa elettroforetica collegando la cella elettroforetica ad un generatore di corrente a 125 Volt per 20 min.  
Grazie al passaggio della corrente elettrica, si vengono a formare delle bande utili per l'analisi dei campioni.



Si colorano successivamente le lastre di gel per rendere visibili le bande di DNA







# La Cristallizzazione

In collaborazione con la professoressa Caterina Musumeci, animatrice digitale del nostro istituto, abbiamo creato delle attività interattive che racchiudono il lavoro svolto riguardo la cristallizzazione.

Il risultato è un progetto al passo con i tempi, valido dal punto di vista didattico e soprattutto divertente!

Cliccare sul link per visualizzare:

[un mare ...di scoperte](#)



# Il nostro Potenziamento quest'anno è servito anche per lo svolgimento delle ore di Alternanza Scuola-Lavoro

Nelle giornate del 27 marzo , del 10 aprile e del 19 aprile ci siamo recati presso il Dipartimento di Biologia Animale dell'Università di Catania per effettuare delle visite didattico - formative associate ad esperienze di laboratorio molto interessanti!

# CLASSIFICAZIONE DI MOLLUSCHI E PESCI

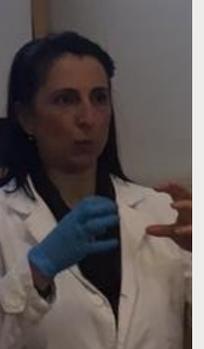
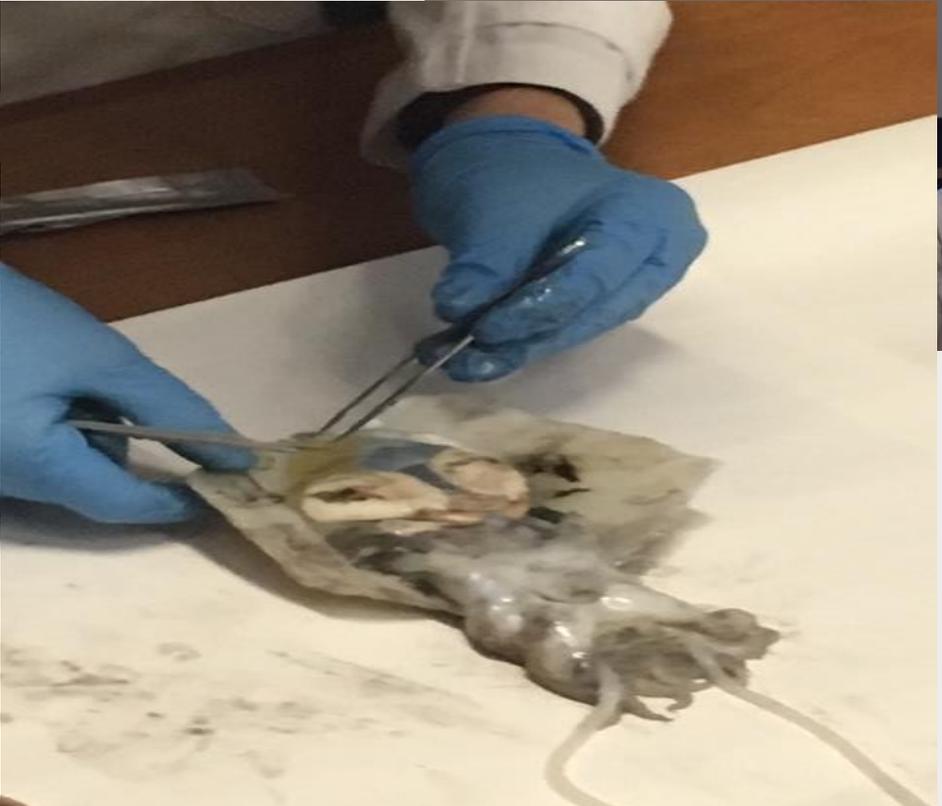
IMPARIAMO LA LORO ANATOMIA ATTRAVERSO LA DISSEZIONE

27/03/2018

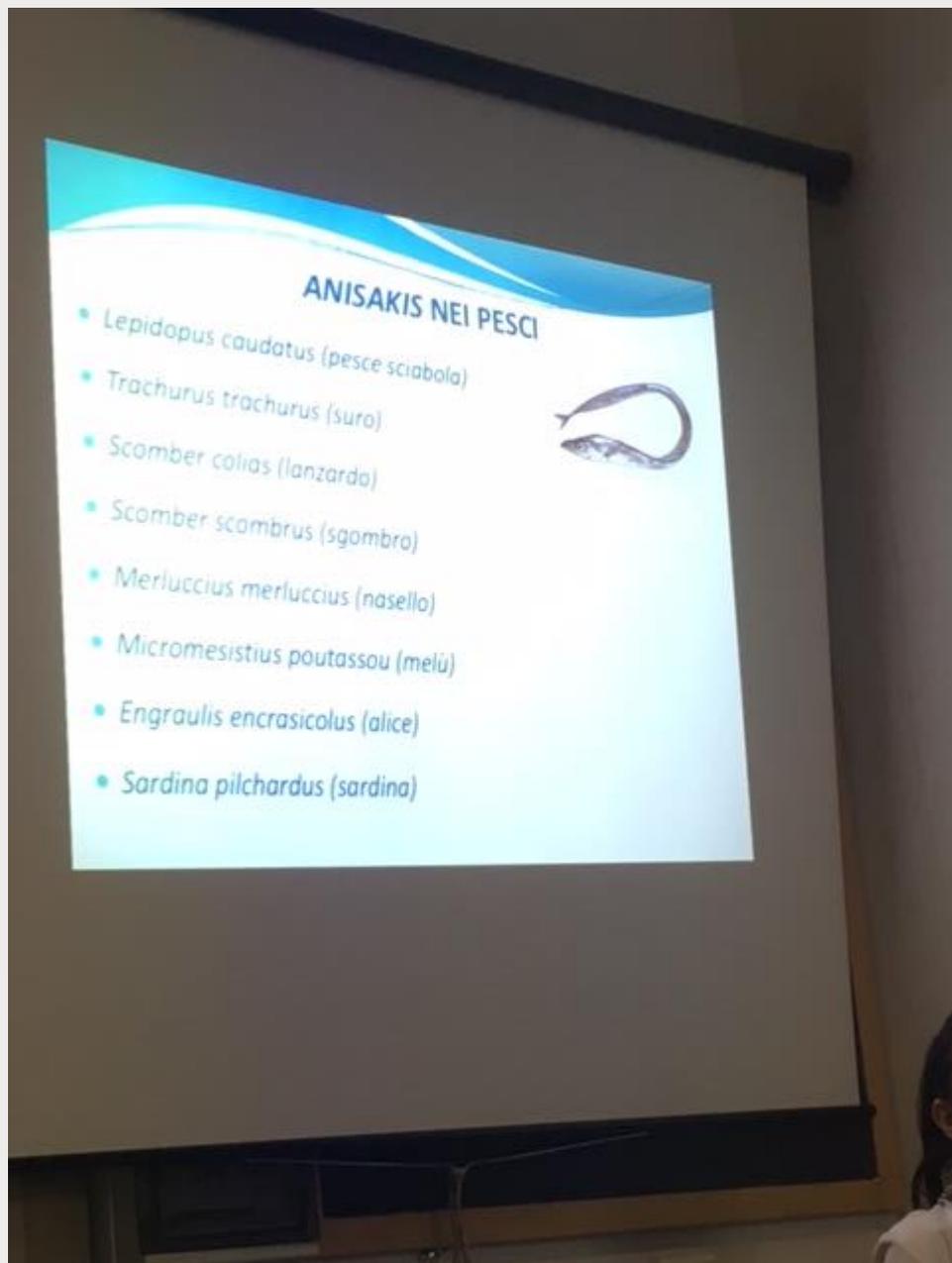
**GENERALITA':**

- Corpo sacciforme
- Conchiglia interna
- Propulsione a getto (Alcune specie di calamari raggiungono i 40 Km/h)

- Sistema nervoso evoluto con gangli concentrati nel capo e avvolti da una capsula cartilaginea
- Presenza di un occhio perfezionato e complesso analogo a quello dei Vertebrati. La sua acuità visiva è simile a quella dei Pesci. E' un caso di convergenza evolutiva









# ALLESTIMENTO DI PREPARATI ISTOLOGICI

OSSERVAZIONE AL MICROSCOPIO DI ORGANI  
DI MOLLUSCHI E PESCI

10/04/2018

### PROTOCOLLO PER MICROSCOPIA OTTICA (MO):

- Fissazione del campione biologico con Formalina al 4% (è già pronta all'uso), per tempi variabili a seconda della dimensione e spessore del campione. (generalmente 24-48ore).
- Lavaggi in PBS per 30 minuti ( 3 cambi ogni 10 minuti)
- Disidratazione con alcool crescenti:
  - \*ALCOOL 35° per 10 minuti ( con 2 cambi ogni 5 minuti)
  - \*ALCOOL 50° per 10 minuti ( con 2 cambi ogni 5 minuti)
  - \* ALCOOL 80° per 10 minuti ( con 2 cambi ogni 5 minuti) → Possibilità di STOP, conservare in frigo per 24 ore. Si riprende con l'alcool 95°
  - \* ALCOOL 95° per 15 minuti ( con 2 cambi ogni 7 minuti) → Si può aggiungere una goccia d'EOSINA
  - \* ALCOOL 100° per 20 minuti ( con 2 cambi ogni 10 minuti)
- Mettere in XILOLO per 1 ora ( un cambio a 30 minuti)
- Infiltrazione in paraffina fusa a 60°C per 4 ore ( è conveniente cambiare la paraffina dopo 30 minuti). Possibilità di STOP, dopo aver fatto 30 minuti in stufa. Cambiare la paraffina, e uscire le salierine dalla stufa, lasciarle a temperatura ambiente. Completare le altre 3 ore e 30 minuti in stufa quando si vuole.
- Inclusione con paraffina, formare le caramelle usando le biocassette.
- Eventuale montaggio se si usano supporti di legno.
- Sezionatura delle caramelle al microtomo





# ALLESTIMENTO DI PREPARATI ISTOLOGICI

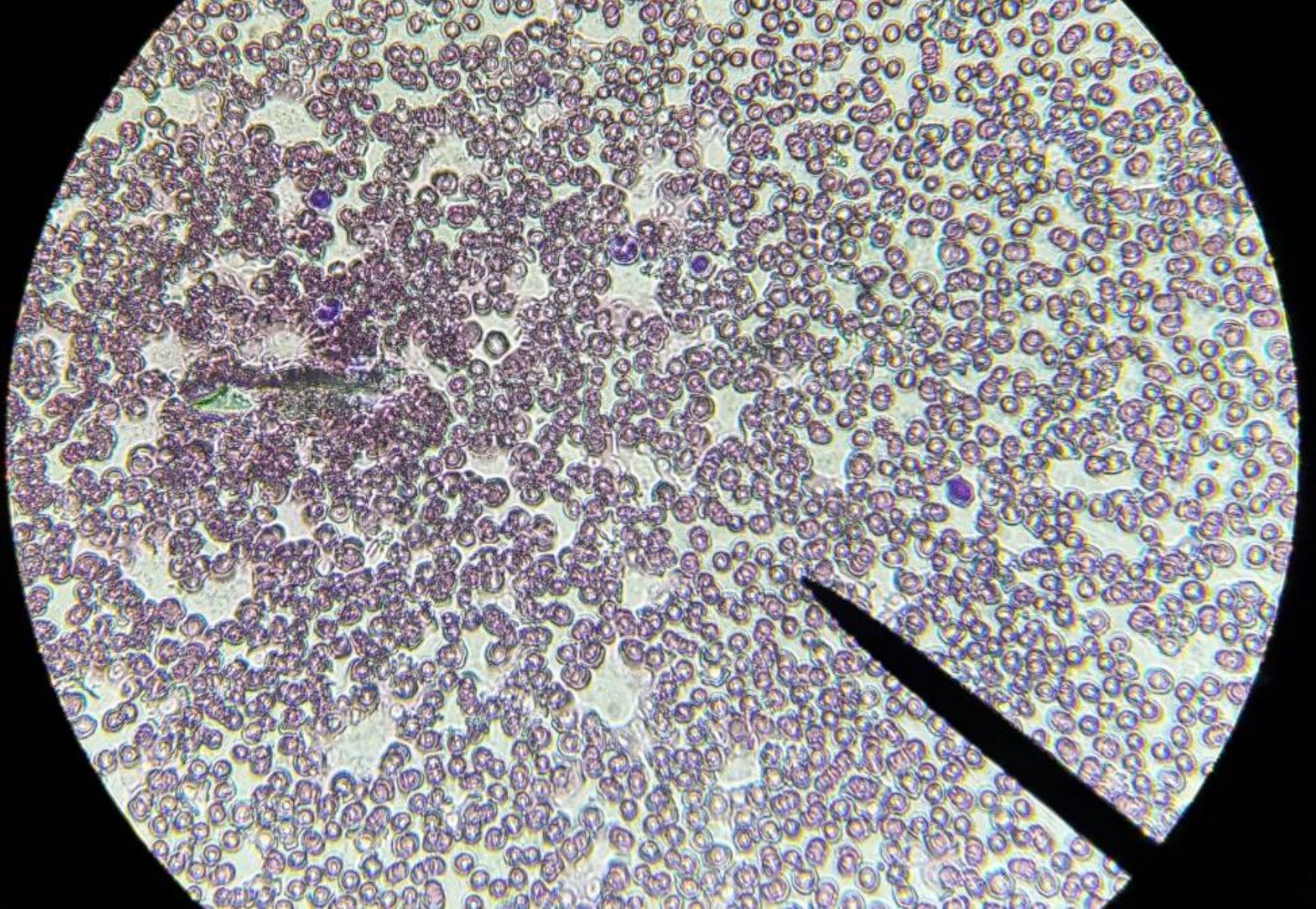
OSSERVAZIONE AL MICROSCOPIO

STRISCIO DI SANGUE  
SPERMIOGRAMMA

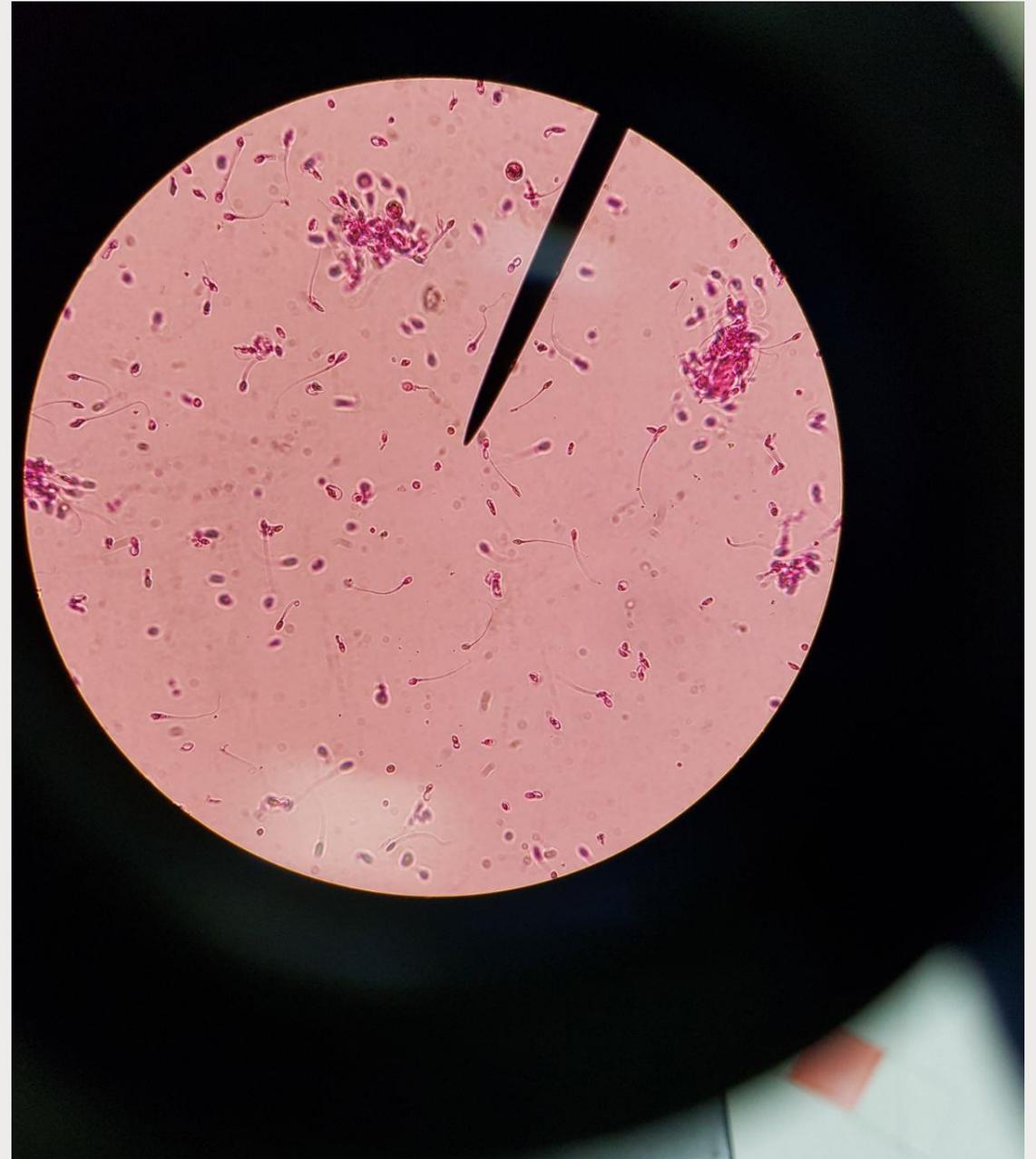
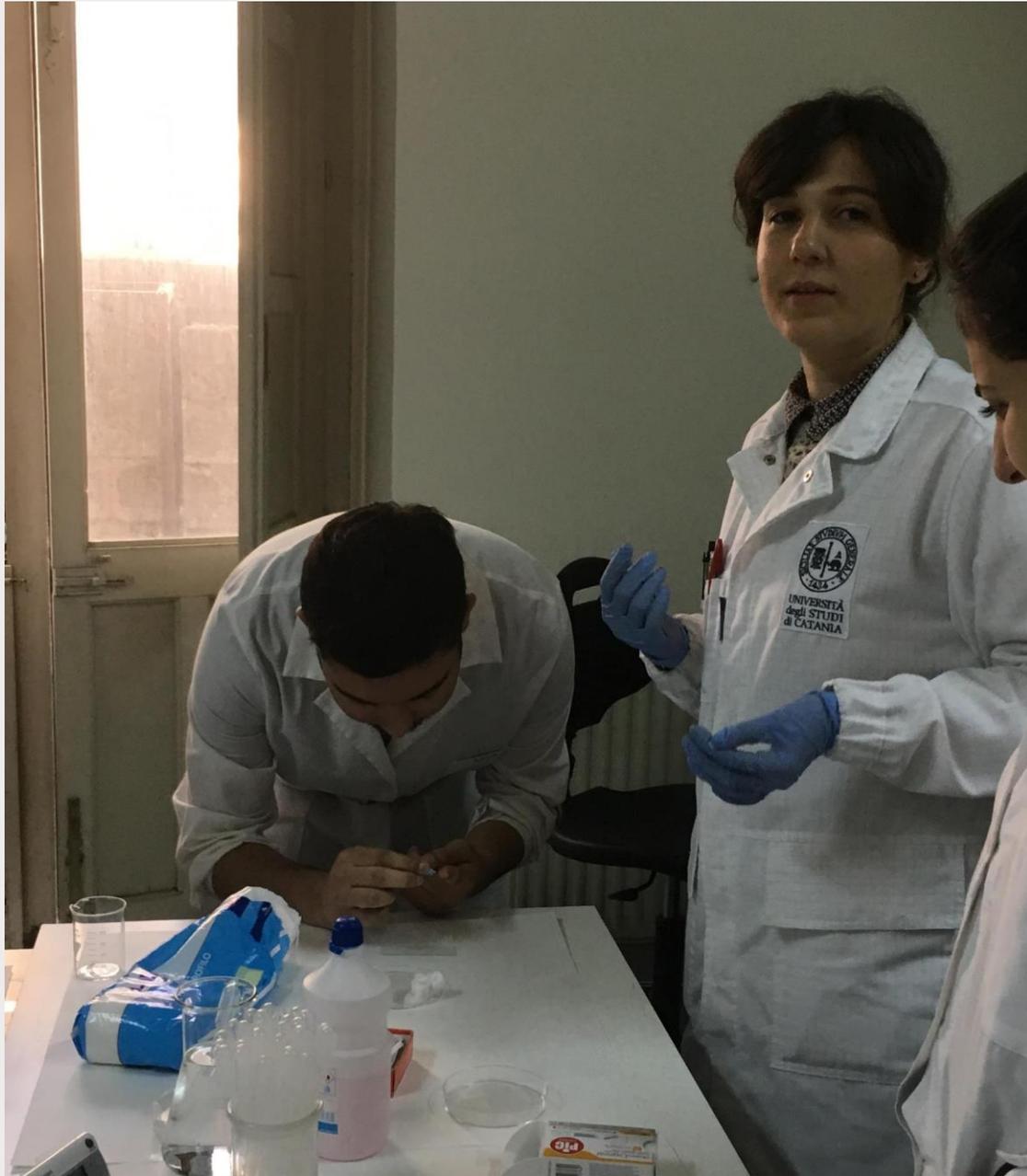
19/04/2018













Grazie per  
l'attenzione