

Nella verticalità di un curricolo

Osserviamo

Sperimentiamo

Costruiamo modelli

Simuliamo

ALLA RICERCA DEL DNA

Alla scoperta del DNA

Da alcuni anni, il DNA è diventato protagonista delle riviste scientifiche e spesso anche di molte notizie che compaiono sui giornali ed in TV. Del DNA attualmente si parla molto, dato che la manipolazione di esso e la conseguente modifica degli organismi viventi (OGM, organismi geneticamente modificati) è un argomento di grande attualità, causa di dibattiti pro e contro.

Per questo motivo, anche nei bambini della scuola primaria può nascere la curiosità di conoscere questa molecola che appare così importante nella vita di tutti i giorni.

L'unità di apprendimento è indirizzata ad alunni della scuola secondaria di primo e secondo grado, ma la costruzione del modello del DNA può essere proposta anche nella scuola primaria.

PREREQUISITI

L'alunno deve conoscere

SCUOLA SECONDARIA DI 1^ GRADO	SCUOLA SECONDARIA DI 2^GRADO
<ol style="list-style-type: none">1. La struttura della cellula2. Le funzioni degli organuli cellulari3. I diversi tipi di riproduzione cellulare(mitosi e meiosi)4. Differenze fra cellula animale e vegetale5. Conoscere la struttura delle proteine6. Sapere cosa sono gli enzimi e come essi agiscono7. Conoscere la differenza fra organismo eucariote e procariote8. Sapere cosa sono i batteri, lieviti e virus9. Sapere che cosa è un campo elettrico	<ol style="list-style-type: none">1. La struttura della cellula2. Le funzioni degli organuli cellulari3. I diversi tipi di riproduzione cellulare(mitosi e meiosi)4. Differenze fra cellula animale e vegetale5. Conoscere la struttura delle proteine6. Sapere cosa sono gli enzimi e come essi agiscono7. Conoscere la differenza fra organismo eucariote e procariote8. Sapere cosa sono i batteri, lieviti e virus9. Sapere che cosa è un campo elettrico

OBIETTIVI FORMATIVI

SCUOLA SECONDARIA DI 1^ GRADO	SCUOLA SECONDARIA DI 2^GRADO
<ol style="list-style-type: none">1. Riconoscere che per comprendere fenomeni troppo piccoli è necessario riprodurre la realtà mediante costruzioni di modelli o mediante simulazioni2. Utilizzare le conoscenze di base e il metodo scientifico per giungere a conclusioni coerenti	<ol style="list-style-type: none">1. Riconoscere l'importanza della osservazione nello studio delle scienze biologiche2. Riconoscere che per comprendere fenomeni troppi piccoli è necessario riprodurre la realtà,mediante costruzione di modelli o mediante simulazioni3. Capire il significato di modello4. Utilizzare le conoscenze di base per giungere a conclusioni coerenti5. Cogliere il significato di informazione biologica6. Decodificare le informazioni dei media sulle biotecnologie

OBIETTIVI SPECIFICI DI APPRENDIMENTO

Scuola primaria	Scuola secondaria di primo grado	Scuola secondaria di secondo grado
<ol style="list-style-type: none"> 1. Sapere che quei bastoncini colorati contengono DNA 2. Riconoscere che il DNA è presente in tutti gli organismi 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Osservare direttamente i cromosomi di una cellula 2. Sapere che i cromosomi contengono DNA 3. Riconoscere che il DNA è presente in tutti gli organismi 4. Sapere che il DNA è la molecola che sintetizza le proteine 5. Conoscere il significato di biotecnologia e clonazione 6. Conoscere il significato di manipolazione genetica 7. Sapere descrivere la struttura del DNA e il significato di codice genetico 8. Sapere cosa sono e dove si trovano i cromosomi 9. Sapere come le informazioni contenute nel DNA vengono lette e tradotte dalla cellula 10. Comprendere la variabilità del DNA 11. Conoscere come si fanno e a che cosa servono gli organismi geneticamente modificati (OGM) 12. Conoscere la funzione degli enzimi di restrizione e degli enzimi ligasi 13. Conoscere che cosa significa “clonare” 14. Simulare la creazione di una molecola di <i>DNA ricombinante</i> 15. Sapere interpretare le <i>impronte del DNA</i> 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Osservare direttamente i cromosomi di una cellula 2. Conoscere la struttura di un cromosoma 3. Riconoscere le tappe fondamentali del processo di mitosi 4. Osservare la separazione del DNA dalla soluzione cellulare e al microscopio ottico 5. Riflettere sulle varie fasi del procedimento 6. Riconoscere che il DNA è presente in tutti gli organismi 7. Sapere che il DNA è la molecola che sintetizza le proteine 8. Conoscere il significato di biotecnologia e clonazione 9. Conoscere il significato di manipolazione genetica 10. Conoscere la struttura del DNA e del RNA e dei processi che portano alla sintesi delle proteine 11. Sapere cosa sono e dove si trovano i cromosomi 12. Sapere come le informazioni contenute nel DNA vengono lette e tradotte dalla cellula 13. Comprendere la variabilità del DNA

COMPETENZE DA ATTIVARE

1. Eseguire le osservazioni e/o gli esperimenti proposti rispettando le varie fasi e portandoli a termine
2. Sapere comporre e decomporre la complessità di contesto
3. Sviluppare semplici schematizzazioni e modellizzazioni di fatti e fenomeni

1^ ATTIVITA'

Nei nuclei delle cellule è presente DNA (acido desossiribonucleico), una lunga molecola che contiene il "progetto" di un determinato essere vivente, sia esso un vegetale, un animale o anche un microrganismo.

Domande stimolo

- a) Quali strumenti si possono utilizzare per scoprire da cosa è costituito il nucleo?
- b) Cosa c'è dentro al nucleo?

In laboratorio è possibile effettuare esperienze di estrazione del DNA

Esperimento N°1 **Estrazione del DNA**

In questa esperienza si possono usare diversi campioni biologici ma, per la facile reperibilità e la semplicità di lavorazione, si consiglia l'uso di frutta, in modo particolare quella polposa che facilmente si può ridurre a poltiglia (es. banana, kiwi, caco, pera molto matura ecc.) o fegato di pollo e ghiandola di timo di vitello. Per rendere evidente che il DNA è presente in tutti gli organismi sia vegetali che animali è consigliabile dividere la classe in gruppi affidando a ciascun gruppo l'estrazione del DNA da materiale biologico diverso.

Questo lavoro si può articolare in tre momenti fondamentali:

1. Demolizione della struttura cellulare
2. Digestione delle proteine, (cioè loro demolizione fino ad aminoacidi) in particolare degli istoni (proteine associate alla molecola del DNA)
3. Precipitazione del DNA

Occorrente:

- 100 g di frutta a polpa morbida o ghiandola di timo di vitello o fegato di pollo
- soluzione di estrazione : 3 g di cloruro di sodio, 10 ml di detergente, acqua distillata q.b., carta da filtro
- soluzione digestiva : succo di ananas (1 ml per 5 ml di estratto cellulare), etanolo puro freddo (6 ml per 6 ml di estratto + succo di ananas)
- provette da 15 ml possibilmente di vetro trasparente
- 2 becker da 150-200 ml
- cilindro graduato da 100 ml
- cilindro graduato da 10 ml
- pipette da 10 ml
- termostato a 60° C

- ghiaccio e relativi contenitori
- contenitori e cucchiari per tagliare e pestare la frutta
- imbuto

Procedimento	Spiegazione
1- Demolizione della struttura cellulare	<i>Dobbiamo estrarre il DNA di un frutto fresco: banana, caco, kiwi, pomodoro.</i>
Pesare 3 g di cloruro di sodio e metterli nel cilindro graduato da 100 ml.	<i>Il cloruro di sodio, dissociato negli ioni Na⁺ e Cl⁻ agirà sugli istoni, che sono proteine legate al DNA e che gli permettono di avvolgersi e ripiegarsi ripetutamente su se stesso. La presenza di cariche elettriche denatura la struttura delle proteine, in particolare degli istoni, cambiandone la disposizione spaziale, mentre viene mantenuta la sequenza degli aminoacidi.</i>
Preparare 10 ml di detergente e versarli nel cilindro con il cloruro di sodio.	<i>Il detergente agisce sulle membrane cellulari, del nucleo e della cellula stessa.</i>
Aggiungere acqua distillata fino ad un volume di 100 ml Agitare bene per sciogliere il sale.	
Prendere circa 100 g di polpa di frutta, es. banana, e schiacciarla con una forchetta.	
Versare la poltiglia nel becker da 150 ml.	
Aggiungervi la soluzione di estrazione.	
Mettere il becker nel termostato a 60° C per 15 minuti	<i>La temperatura a 60° serve a facilitare la rottura delle membrane e a disattivare gli enzimi che attaccano il DNA.</i>
Raffreddare il preparato in ghiaccio	<i>Il ghiaccio serve per fermare il processo: il protrarsi dell'alta temperatura potrebbe frammentare anche il DNA . Non raffreddare a temperatura ambiente.</i>
Filtrare, con imbuto e filtro, il preparato in un becker pulito.	
2- Digestione delle proteine	
Prelevare 5 ml di filtrato e porlo in una provetta da almeno 15 ml.	
Aggiungere 1 ml di succo di ananas ed agitare bene.	<i>Nel succo di ananas è contenuta la bromelina, sostanza che demolisce le proteine e che libererà definitivamente il DNA dagli istoni.</i>
Attendere pochi minuti in modo che la bromelina contenuta nel succo di ananas agisca sulle proteine degradandole.	
3- Precipitazione del DNA	<i>Un soluto precipita quando non riesce più a stare in soluzione cioè a mescolarsi in modo omogeneo con le</i>

	<i>molecole del solvente: questo processo è influenzato dalla pressione, dalla temperatura e dalla natura delle sostanze a contatto.</i>
Prendere un volume di etanolo freddo (è sufficiente mettere l'alcol nel freezer per un'ora) uguale a quello del filtrato più succo di ananas (6 ml), versarlo lungo il bordo della provetta con attenzione in modo da formare uno strato sulla superficie del filtrato.	<i>L'etanolo, pur essendo solubile in acqua, non si miscela all'estratto cellulare per il suo minore peso specifico. L'etanolo viene aggiunto molto lentamente e fatto scivolare lungo la parete della provetta, in modo che , essendo più leggero dell'acqua, non si mescoli con essa ma vi galleggi sopra. Si hanno così due fasi: in alto l'etanolo più leggero, in basso l'estratto cellulare con il DNA in soluzione (il DNA è molto solubile in acqua). Nell'interfaccia tra etanolo ed estratto il DNA entra in contatto con l'etanolo e precipita.</i>
Sul momento si formano delle bollicine di gas (nella provetta si verifica un abbassamento della temperatura con conseguente liberazione dei gas prima disciolti). Aspettare che termini il fenomeno.	<i>Ciò è dovuto al fatto che la solubilità dei gas atmosferici in un liquido freddo è maggiore di quella in un liquido caldo, così mentre l'alcool era nel congelatore ha assorbito gas che ora riscaldandosi espelle</i>
Al termine del fenomeno è possibile osservare nell'interfaccia acqua-alcol uno strato filamentoso biancastro detto "effetto a medusa" che va via via aumentando: è il DNA.	<i>Il DNA che prima si trovava in soluzione nell'acqua ora si trova a contatto con l'etanolo; in questo ambiente il DNA non è solubile quindi diventa ben visibile.</i>
Aggiungere qualche goccia di rosso fenolo	<i>Il rosso fenolo è un indicatore che assume colore rosa in ambiente acido, utile ad evidenziare le caratteristiche acide del DNA</i>
Osservare al microscopio colorando con blu di metilene appariranno dei fiocchetti alquanto confusi, vagamente filamentosi	<i>Non è possibile vedere la famosa struttura a scala a pioli del DNA. Neanche con un microscopio elettronico si riesce a vederla.</i>
Il DNA non si scioglie in alcool ma solo in acqua. Per verificare se ciò che abbiamo ottenuto è veramente DNA raccogliere, usando un'ansa (girandola con movimento rotatorio sempre nello stesso senso), il filamento e metterlo in una provetta, dove aggiungendo acqua e agitando, si scioglierà.	

Riflessioni sull'attività

1. Discussione con gli studenti dei risultati delle attività sperimentali.
2. Valutazione del fatto che non è possibile vedere la struttura del DNA
3. Richiesta di costruzione di un modello della struttura del DNA
4. Utilizzazione del modello per simulare la duplicazione del DNA o a seconda dei discenti della sintesi proteica

È molto importante che i ragazzi comprendano che se da una parte l'attività dello scienziato è condotta attraverso il metodo scientifico sperimentale che parte dall'osservazione, dall'altra, quando lo scienziato non può osservare direttamente i fenomeni naturali, si rende necessaria la loro rappresentazione attraverso **modelli**. Il modello scientifico, tuttavia, non è semplicemente una copia o una rappresentazione in miniatura di qualche oggetto materiale, come ad esempio quello di un'automobile-giocattolo, ma uno dei principi del metodo scientifico. Esso si basa su un insieme di affermazioni (e talvolta di supposizioni) che tendono a spiegare certi fenomeni, rendendoli meglio comprensibili. In altre parole, i modelli scientifici forniscono *una rappresentazione semplificata*, ma realistica. Perciò non sono soltanto ricostruzioni in scala ridotta fatte di legno, plastica o metallo, ma possono anche essere rappresentazioni simboliche, sotto forma di diagrammi o di formule matematiche. Gli scienziati costruiscono l'immagine del mondo sulla base di questi modelli. Ciò non significa che essi «credano» ciecamente nei loro modelli. Anzi, ogni modello, come ogni teoria scientifica, è sempre considerato provvisorio, in attesa di uno migliore.

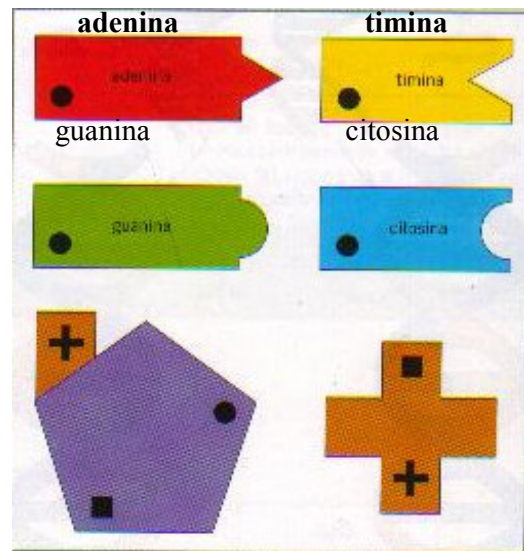
Le prossime due attività sono possibili in tutti e tre cicli di scuole con i dovuti arrangiamenti .

2^ ATTIVITA'

Costruiamo un modello di DNA

MATERIALE

- Sei cartoncini colorati
- Forbici
- Nastro di raso largo 2cm
- Nastro adesivo
- Occorrente per disegnare
- Puntatrice
- Canne di bambù



PROCEDIMENTO

<p>Disegnare sul cartoncino le basi azotate, lo zucchero e l'acido fosforico, come indicato nella figura. Riprodurre almeno quattro volte ciascuna base e sedici volte lo zucchero e l'acido fosforico.</p>	<p>Lo zucchero è un pentoso a cinque atomi di carbonio</p> <p>Le basi azotate appartengono, strutturalmente, a due classi: basi puriniche, adenina e guanina, basi pirimidiniche, citosina e timina.</p>
<p>Ritagliare ogni unità. Allineare ogni base e l'acido fosforico con una molecola di zucchero</p>	<p>Si ottengono i diversi nucleotidi, per formare il filamento sinistro di DNA.</p>
<p>Incollare facendo attenzione a far coincidere la posizione dei pallini, delle croci e dei quadrati</p>	<p>Le croci e i quadrati corrispondono al legame fosfodiesterico che è il legame covalente che si forma tra il fosfato associato al carbonio in posizione 5 dello zucchero di un nucleotide e il carbonio in posizione 3 dello zucchero del nucleotide successivo; i pallini indicano il legame covalente base azotata zucchero</p>
<p>Completare la parte destra della molecola unendo con il nastro adesivo gli altri nucleotidi in modo complementare (adenina con timina e guanina con citosina).</p>	<p>Uno degli aspetti caratteristici del modello di Watson e Crick è quello della complementarietà delle basi: cioè le basi azotate che si vengono a trovare una di fronte all'altra nel modello a doppia elica sono sempre le stesse. All'adenina si oppone sempre la timina e alla guanina la citosina. La stabilità della doppia elica è assicurata dalla formazione di legami a idrogeno tra le basi azotate delle due catene e dalla stessa struttura elicoidale.</p>
<p>Il modello ora ha l'aspetto di una scala a pioli, in cui i montanti sono formati dalla successione di acido fosforico e zucchero e i pioli sono costituiti dalle basi azotate e dai legami tra di esse.</p>	
<p>Attaccare i due montanti sul nastro di raso con la puntatrice, lasciando liberi i primi 15cm e gli ultimi 15cm.</p>	
<p>Agganciare la scala ai supporti di bambù</p>	
<p>Girando uno dei due supporti, la scala a pioli si avvolge su se stessa.</p>	<p>Un'altra scoperta fondamentale fu quella dell'antiparallelismo dei filamenti che sono paralleli, ma viaggiano al contrario per poter avere i legami sempre uguali. (Es: i gruppi fosfato si legano agli zuccheri sui carboni 3 e 5 sia sul filamento destro che su quello sinistro.)</p>

Conclusione

La struttura del DNA è paragonabile ad una scala a pioli avvolta su se stessa.

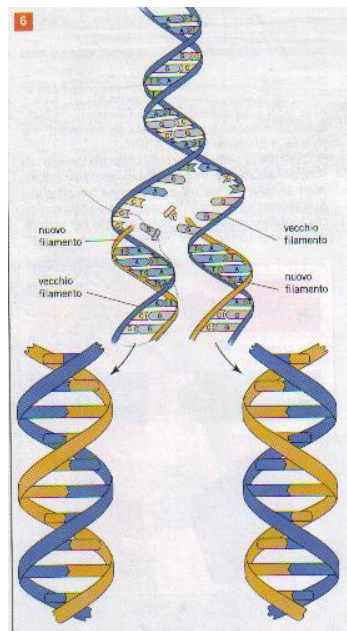
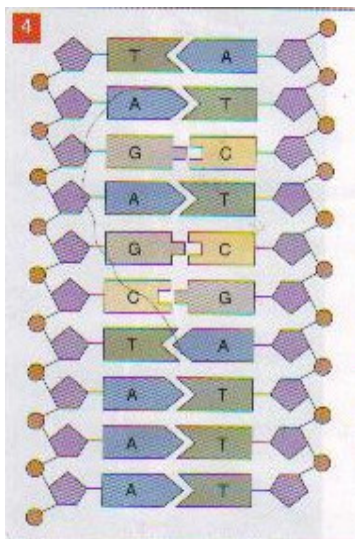
Il DNA (acido desossiribonucleico) si trova nel nucleo della cellula. La sua molecola è incredibilmente lunga: se si potesse srotolare quella contenuta in una cellula umana, misurerebbe ben 1,5m!

Le unità che lo compongono sono chiamate nucleotidi. Ogni nucleotide, a sua volta, è formato da una molecola di ac. fosforico, da una di zucchero a cinque atomi di carbonio, detta desossiribosio e da una base azotata. Le basi azotate sono però quattro tipi: l'Adenina (A), la Timina (T), la Guanina (G), la Citosina (C).

Il modello che hai costruito è una semplificazione della realtà che serve per farti capire in che modo i nucleotidi si dispongono nello spazio. Nel 1953 Watson e Crick proposero questo modello spaziale: le due catene decorrono in direzione opposta e sono avvolte a spirale a formare la doppia elica.

La sequenza delle basi azotate è diversa per ogni individuo (variabilità).

Questo modello a doppio filamento ti fa capire la duplicazione del DNA: i due filamenti funzionano come uno stampo per la costruzione di due nuove catene



3^ ATTIVITA'

Prova della variabilità del DNA attraverso una simulazione

Materiale

Sacchetti di pasta corta di diversi tipi (ad es, fusilli , maccheroni, farfalle , penne)
Sacchetto vuoto

Procedimento

Prendi un sacchetto vuoto e metticci dentro un po' di pasta corta:quattro tipi diversi. Ogni tipo di pasta rappresenta una base azotata del DNA. Pesca a caso. Metti in fila i dieci pezzi , costruendo una sequenza . Confronta la tua sequenza con quella dei tuoi compagni .

Riflessioni sull'attività

- a) Quante sequenze identiche avete ottenuto?
- b) Considerando che le sequenze del nostro DNA contengono milioni di nucleotidi, valutare se è possibile che due individui abbiano per puro caso due DNA uguali.

Dalla discussione apparirà chiaro che **il DNA di ciascun individuo è unico e irripetibile**.
Da ciò deriva che, attraverso la prova del DNA, è possibile individuare una persona.

DOMANDA STIMOLO:

Cosa è la “prova del DNA”?

La **Prova del DNA**, di cui i ragazzi hanno sicuramente sentito parlare attraverso i mass-media, in quanto si tratta di una prassi comune nelle indagini di polizia, per confermare la colpevolezza o scagionare una persona sospettata, o in casi di paternità dubbia, si basa sull'utilizzo di campioni prelevati da tessuti o fluidi biologici e sull'analisi di frammenti del DNA.

È pertanto un'occasione per collegare il lavoro scolastico alla vita quotidiana, sottolineando come la biologia, con le sue scoperte, lasciati i laboratori, influenzi la vita di tutti i giorni.

Il genoma di ciascuno di noi deriva dalla mescolanza dei geni dei nostri genitori e presenta alcune particolarità che lo distinguono da tutti gli altri genomi .

I biotecnologi hanno scoperto che gli enzimi di restrizione tagliano il genoma umano dando luogo a frammenti di lunghezza diversa a seconda dell'individuo. Grazie a questa proprietà è possibile ottenere le impronte del DNA.

La procedura utilizzata per ottenere un' “impronta molecolare” di DNA consiste nell'estrarre e purificare una certa quantità di DNA e frammentare la molecola in numerosi segmenti. La sequenza dei singoli frammenti viene analizzata e confrontata con quella degli stessi frammenti presenti in campioni diversi.

PER LE SUPERIORI

Di norma si provvede per prima cosa all'estrazione e alla purificazione del DNA da un campione individuale. Il DNA purificato può essere quindi amplificato mediante reazione a catena della polimerasi (PCR). Il DNA viene quindi sezionato in frammenti di restrizione mediante enzimi di

restrizione detti endonucleasi, che attuano il taglio unicamente in punti specifici in corrispondenza di particolari sequenze nucleotidiche, specifiche per ogni enzima.

Il luogo in cui avviene il taglio è detto sito di restrizione. Il taglio può essere sfasato o tronco. Nel primo caso gli enzimi sono in grado di riconoscere specifiche sequenze di 4-6 basi azotate leggendole in entrambi i sensi senza cambiare il significato (sono cioè dei *palindromi*)

5'GAATTC
3'CTTAA G

o tronco

5' CCGG
3' GGCC

I frammenti di restrizione vengono quindi separati per lunghezza mediante **elettroforesi** su gel d'agarosio. La distanza tra le posizioni di taglio causate dagli enzimi di restrizione (i cosiddetti siti di restrizione) è variabile tra un individuo e l'altro, dando quindi luogo a variazioni nella lunghezza dei frammenti. Ciò si riflette in una diversa posizione di alcune bande sul gel. Questa differenza può essere usata per distinguere geneticamente due individui o mostrare le relazioni genetiche che intercorrono tra individui, in quanto i figli ereditano il materiale genetico dai propri genitori.

4^ ATTIVITA'

Simulazione per individuare la colpevolezza di un individuo

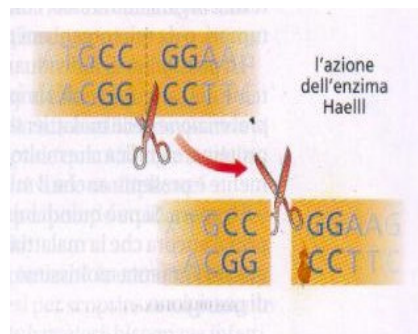
CHI HA RUBATO LA MARMELLATA?

Il barattolo della marmellata è vuoto. Nessuno ammette di averla mangiata. Sul barattolo è stato trovato un capello che appartiene a chi ha svuotato il barattolo.

In questa indagine scientifica farai **LA PROVA DEL DNA** sul capello per scoprire il colpevole.

Per fare la prova utilizzerai un particolare **ENZIMA DI RESTRIZIONE**, che i biotecnologi chiamano "HaeIII".

Tale enzima ha la proprietà di tagliare il DNA al centro delle sequenze di nucleotidi CCGG su un filamento e al centro delle sequenze GGCC sull'altro filamento, come mostra il disegno dell'azione dell'enzima HaeIII.



MATERIALE

- DNA del capello
- Forbici
- 4 fogli di carta
- colla
- DNA dei 3 sospettati

Procedimento:

Il laboratorio ha analizzato le cellule del capello rinvenuto sul vasetto della marmellata.

Nella sequenza **A** puoi vedere una parte del genoma di questo capello. Individua le posizioni della sequenza in cui può agire l'enzima di restrizione HaeIII e taglia con le forbici la sequenza del DNA in quei punti. In questo modo simulerai l'effetto dell'azione di quel particolare enzima di restrizione. Poi scrivi su un foglio di carta il titolo "capello" e incolla sul foglio i frammenti che hai ottenuto, ordinandoli dall'alto verso il basso in base alla loro lunghezza.

Le tre sequenze **B C D** mostrano una parte del genoma dei tre componenti della famiglia. Ripeti la stessa procedura eseguita per il capello, ma su tre fogli intitolati "mamma" "papà" e "bambina".

Confronta i frammenti corrispondenti a ciascun componente della famiglia con quelli ottenuti dal capello trovato vicino alla marmellata. Sai dire chi è stato il colpevole ?

Conclusione

Se esami i frammenti del DNA che hai ordinato sui fogli di carta, troverai che soltanto per uno tra i componenti della famiglia la lunghezza dei vari frammenti corrisponde ai frammenti ottenuti dal capello. Questo significa che hai scoperto il ladro.

A

DNA del capello

TGCTAGCACCGGTATTGCCGGTGCTTAGCAACCGGATCTAGCATCCGGCAATCACGCACCGGGCTACTGCATTAGCCCGGCATGCATGCCGGAA
ACGATCGTGGCCATAACGGCCACGAATCGTTGGCCTAGATCGTAGGCCGTTAGTGCSTGGCCCGATGACGTAATCGGGCCGTACGTACGGCCTT

B

DNA della mamma

TGACCGGTCATGCCCCGACGCTATGCCCGGGCGTGATAGCTCTACCGGTCCAATAGCTAGCTCGACCGGTACGGAGCTTAGCTAGGCTATGCGT
ACTGGCCAGTACGGGCCTGCGATACGGGCCCGCACTATCGAGATGGCCAGGTTATCGATCGAGCTGGCCATGCCTCGAATCGATCCGATACGCA

C

DNA del papa'

ATGCTAGCACCGGTATTGCCGGTGCTTAGCAACCGGATCTAGCATCCGGCATTACGCACCGGGCTACTGCATTAGCCCGGCATGCATGCCGGA
TACGATCGTGGCCATAACGGCCACGAATCGTTGGCCTAGATCGTAGGCCGTAAGTGCSTGGCCCGATGACGTAATCGGGCCGTACGTACGGCCT

D

DNA della bambina

TGACCGGTCATGCCCCGTACGGAGCTTAGCTAGCTATGCGCCGGTATTGCCGGTGCTAAGCATCCGGATCTAGCATCCGGTCCAATAGCTAGCT
ACTGGCCAGTACGGGCCATGCCTCGAATCGATCGATACGGGCCATAACGGCCACGATTCTAGGCCTAGATCGTAGGCCAGGTTATCGATCGA

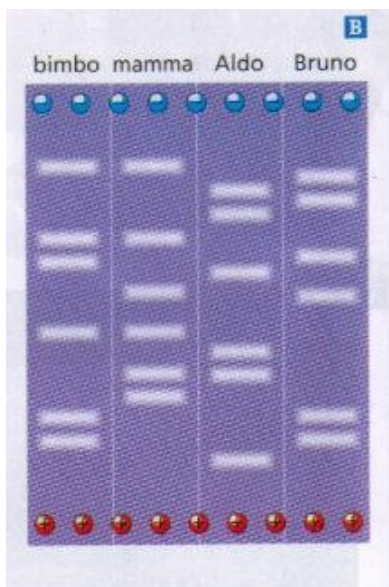
5^ATTIVITA'

PROVA DELLA PATERNITA'

I biotecnologi hanno scoperto che gli enzimi di restrizione tagliano il genoma umano dando luogo a frammenti di lunghezza diversa a seconda dell'individuo. I frammenti del DNA, dotati di una polarità elettrica negativa, quando vengono sottoposti ad un campo elettrico, si spostano o "migrano" verso il polo positivo (elettroforesi).

La migrazione dei frammenti in un dato campo elettrico è caratteristica di ciascun individuo e tale disposizione rappresenta L'IMPRONTA GENETICA DI OGNI SINGOLA PERSONA.

Osserva la figura che rappresenta le impronte genetiche di quattro persone: il bambino, la mamma e due possibili padri: Aldo e Bruno. Chi è il padre?



Per rispondere bisogna tenere conto del fatto che il genoma di un figlio deriva per metà dalla madre e per metà dal padre che dovrà possedere alcuni frammenti in comune al figlio.

Il padre naturale del bambino è

6^ ATTIVITA'

Simulazione per dimostrare la duplicazione del DNA

Materiale

- Modello di DNA precedentemente costruito
- Nastro di raso largo 2cm di colore diverso dal precedente
- Nastro adesivo
- Occorrente per disegnare
- Puntatrice
- Canne di bambù

Costruire i nucleotidi come ai punti 1-2-3	
Aprire il modello di DNA in modo che i due filamenti si separino srotolandosi a formare una Y.	<i>Una molecola di DNA comincia a despiralizzarsi per opera di un enzima che scorre sulla doppia elica. I deboli legami a idrogeno che uniscono le due eliche si rompono</i>
Inserire i nucleotidi complementari ad ogni base rimasta libera	<i>Su ogni elica, con l'intervento dell'enzima DNA-polimerasi che preleva i nucleotidi necessari dall'ambiente cellulare, viene a formarsi una catena complementare allo stampo.</i>
Unirli con nastro adesivo	
Attaccare i due montanti sul nastro di raso di colore diverso con la puntatrice, lasciando liberi i primi 15cm e gli ultimi 15cm. Agganciare la scala ai supporti di bambù	<i>In ogni nuova molecola si ha filamento proveniente dalla molecola madre ed uno di nuova sintesi perciò tale modalità di sintesi è detta semiconservativa.</i>
Girando uno dei due supporti, la scala a pioli si avvolge su se stessa.	<i>Alla fine del processo si avranno due nuove molecole di DNA identiche fra loro e a quella di partenza.</i>

7^ ATTIVITA'

Osservazione del nucleo cellulare e dei cromosomi

Questo procedimento di colorazione, specifico per il DNA, permette di evidenziare i nuclei delle cellule, che si coloreranno di rosso intenso. Sarà inoltre possibile osservare, con molta pazienza, i cromosomi e le cellule nelle varie fasi della mitosi.

I cromosomi, infatti, sono evidenti solo durante le fasi della divisione cellulare, per cui è necessario esaminare tessuti in accrescimento

Occorrente - apice radicale di cipolla o di giglio prelevati da bulbi fatti radicare in acqua, al buio, acqua, vaso di vetro, bisturi, acido acetico, alcol etilico, acido cloridrico 1 N, vetrini porta- e copri-oggetto, orceina acetica, microscopio, carta da filtro.

Procedimento	spiegazioni
Fare radicare un bulbo ponendolo in vaso con acqua, che appena lo sfiori e al buio: in circa 8 giorni si formeranno radici bianche e sottili	
Prelevare circa 2 cm di un apice radicale	
Utilizzando un vetrino da orologio immergere in alcool etilico a 95% per bloccare le cellule	<i>Questo passaggio è facoltativo, ma può essere indispensabile se si vogliono utilizzare gli apici recisi, tenuti chiusi in un recipiente a temperatura ambiente con l'alcool etilico, anche il giorno dopo.</i>
Prendere un altro vetrino da orologio con acqua distillata e risciacquare le radici dall'alcool	<i>Basta toglierle dall'alcool e immergerle per pochi secondi in acqua.</i>
Fissare con soluzione formata da acido acetico ed alcol etilico (1:3) per circa 24 ore.	
Prelevare l'apice, immergerlo per 10 minuti in acido cloridrico 1 N (8,25%, si può preparare mescolando 68ml di acido muriatico commerciale con 32 ml di acqua distillata)	<i>Questo procedimento serve per demolire l'RNA (acido ribonucleico) presente nel citoplasma e nel contempo per liberare la porzione di DNA responsabile della colorazione che si verificherà in seguito.</i>
Lavare in acqua e trasferire sul vetrino	
Tagliare la radice in porzioni di circa 4 mm nella zona distante 1 mm dall'apice	<i>È la parte centrale dell'apice che contiene le cellule in mitosi</i>
Versarvi sopra alcune gocce di orceina acetica e attendere circa 3-4 minuti	<i>Questo colorante serve ad evidenziare il nucleo</i>
Risciacquare con un contagocce e acqua distillata	<i>Questa operazione deve essere fatta con molta cautela in modo che l'apice non vi scivoli via.</i>
Tamponare con carta assorbente,	<i>Si cerca di eliminare il più possibile l'acqua ma bisogna fare molta attenzione a non portar via anche l'apice.</i>
Coprire col vetrino coprioggetti, schiacciare delicatamente	<i>Questa operazione serve a fare in modo che le cellule si dispongano in uno strato sottile.</i>
Osservare con un obiettivo 10x per individuare la zona centrale dove si dovrebbero trovare le cellule in mitosi poi passate all'obiettivo 40x	

Domande stimolo

1. Perché da un uovo di gallina nasce sempre un pulcino e non un gattino?
2. Perché se piantiamo un seme di grano nasce sempre una pianta di grano e non una quercia?
3. Perché il profumo di una rosa è sempre profumo di rosa anche se ci troviamo in America o in Cina?
4. Perché il sapore della pesca è sempre sapore di pesca anche se è passato un anno dall'ultima volta che l'abbiamo mangiata?

Brainstorming

Sulla base delle risposte degli studenti, l'insegnante costruirà una mappa in cui evidenziare che

1. Ogni vivente possiede un proprio “progetto” diverso da qualsiasi altro.
2. Alla base di questo “progetto” è necessario che tutti gli organismi e le cellule di ogni organismo trasmettano ai discendenti i requisiti essenziali alla vita:
 - tutti i materiali necessari per sopravvivere
 - informazioni che mantengano le caratteristiche
3. Più o meno le sostanze che i viventi assumono dall'ambiente esterno sono le stesse, perciò la costruzione delle parti proprie dell'organismo deve avvenire all'interno della cellula seguendo informazioni specifiche per ciascun organismo.
4. Le modalità con cui ciò avviene sono simili per tutti i viventi perché le informazioni sono contenute in una molecola complessa, il DNA, che tutti i viventi possiedono

IL CODICE GENETICO

- **La molecola del DNA è un ricettario scritto con un alfabeto di quattro lettere, cioè i nucleotidi Adenina, Citosina, Guanina e Timina**
- **Ogni gene è un pezzo di DNA: la sua sequenza di nucleotidi è una “ricetta” scritta in codice, dove ad ogni tripletta di nucleotidi affiancati corrisponde un particolare aminoacido**
- **Quando la cellula “legge” un gene, grazie al codice genetico, può sintetizzare le proteine, che sono catene di aminoacidi**

PER LE SUPERIORI

Il DNA serve come archivio generale di tutte le informazioni necessarie ad un organismo per organizzare la propria struttura e funzionalità e controlla la formazione delle proteine. L'informazione contenuta nel DNA è detta **codice genetico** perché funziona come un codice segreto che dipende dalla sequenza con la quale si susseguono i vari nucleotidi ed in particolare le basi azotate. Esso è una sorta di linguaggio chimico costituito da un alfabeto di 4 lettere che corrisponde alle quattro basi azotate del DNA. Poiché in natura gli aminoacidi, di cui le proteine sono costituite, secondo un ordine di successione preciso, sono circa venti, la corrispondenza fra l'informazione del DNA e l'amminoacido non può essere del tipo 1 base = 1 aminoacido, in quanto il numero di basi non sarebbe sufficiente, ma deve prevedere che un aminoacido corrisponda a una combinazione di più basi: utilizzando gruppi di tre lettere, infatti, si possono ottenere 64 parole o istruzioni. Si è verificato sperimentalmente che il codice per un aminoacido è costituito dalla successione di tre

basi azotate dette **triplette o codoni** e poiché esistono 64 possibili "triplette", a uno stesso aminoacido possono corrispondere più triplette (*degenerazione del codice*). In particolare a 61 corrispondono i diversi venti aminoacidi mentre alle restanti tre dette *triplette non senso* spetta il compito di **iniziatori e terminatori del messaggio**. L'ordine in cui si susseguono le triplette corrisponde all'ordine in cui le molecole di aminoacidi si dispongono nella catena della proteina.

la sintesi delle proteine

Il DNA rappresenta dunque il manuale di istruzioni con cui ogni cellula andrà a produrre le proteine. Il percorso con cui si arriva alla formazione della proteina si svolge in due tempi: trascrizione e traduzione

Trascrizione

La cellula possiede, racchiuse nel nucleo, tutte le informazioni (il codice genetico) ma, per dirigere le diverse attività cellulari, deve farle arrivare al citoplasma.

L'mRNA è l'intermediario La doppia elica di DNA si apre e si chiude al comando di opportuni indicatori solo per una parte, chiamata *gene*, che contiene le informazioni da "trascrivere" sull'mRNA, una molecola "agile", composta da una sola elica che viene costruita dalla cellula utilizzando il DNA come stampo. Sul filamento di DNA scorre un enzima che inserisce di fronte ad ogni nucleotide del DNA il nucleotide complementare dell'mRNA. Si forma così, nucleotide dopo nucleotide, la molecola dell'mRNA, una copia complementare della parte di DNA desiderata, che contiene le informazioni in codice (**tripletta o codone**) Terminato il suo lavoro, l'enzima si stacca dal DNA che si richiude e si spiralizza nuovamente, in attesa di una successiva utilizzazione. L'RNAm neofornato viene così a trovarsi libero.

8^ ATTIVITA'

Simulazione per dimostrare la formazione dell'RNA messaggero

Materiale

- Modello di DNA precedentemente costruito
- Nastro di raso largo 2cm di colore diverso dai precedenti
- Cartoncino di colore diverso
- Occorrente per disegnare
- Puntatrice

Costruire i nucleotidi come ai punti 1-2-3 utilizzando un colore differente da quello che serviva per rappresentare la timina in quanto nell'RNA si trova l'uracile al posto della timina	
Aprire il modello di DNA in modo che i due filamenti si separino srotolandosi a formare una Y.	<i>Una molecola di DNA comincia a despiralizzarsi per opera di un enzima che scorre sulla doppia elica. I deboli legami a idrogeno che uniscono le due eliche si rompono</i>
Inserire i nucleotidi complementari ad ogni base rimasta libera	<i>L'RNA polimerasi scorre lungo la doppia elica separandola e componendo un nuovo filamento costituito da basi complementari del filamento di lettura.</i>
Con la puntatrice inserire le basi complementari sul nastro	<i>Verrà così a formarsi un unico filamento di RNA messaggero, copia complementare del filamento stampo del DNA</i>

Traduzione

L'mRNA esce dal nucleo, raggiunge il citoplasma dove ci sono i ribosomi, organuli costituiti da due subunità disuguali, formate da acido ribonucleico (rRNA) e proteine. Questi organuli scorrono lungo il filamento dell'mRNA e leggono i codoni.

Nei ribosomi, richiamato dalle triplette di mRNA, si avvicina un altro intermediario il **tRNA** (Rna di trasporto) che deve tradurre l'alfabeto dei codoni dell'mRNA nell'alfabeto degli aminoacidi.

Il tRNA è costituito da circa 80 nucleotidi ed ha struttura bidimensionale, ripiegato a trifoglio, per mezzo di legami a idrogeno. A una estremità vi è la tripletta chiamata **anticodone** che specifica per un determinato codone dell'mRNA. All'altra estremità il tRNA si lega all'aminoacido.

Quando l'anticodone del tRNA riconosce il codone dell'mRNA, l'aminoacido trasportato si lega all'aminoacido precedente. Il tRNA si stacca e si libera nel citoplasma. I vari aminoacidi vengono assemblati secondo il messaggio codificato dall'mRNA. Il segnale di stop è dato da una **tripletta non senso**: la sintesi termina, la proteina si stacca dal ribosoma e acquista la propria struttura definitiva.

9 ^ ATTIVITA'

Simulazione del RNA di trasporto e del meccanismo di sintesi proteica

Materiale

- Modello di basi azotate precedentemente costruite
- Nastro di raso largo 2cm dello stesso colore di quello usato per mRNA
- Cartoncini di vari colori
- Occorrente per disegnare
- Puntatrice
- Velcro

Tagliare pezzi di nastro di circa 50 cm e piegarli in modo da formare un trifoglio. Su una estremità porre un pezzo di velcro della grandezza di un cm prelevato dalla striscia di tessuto peloso

Ritagliare alcuni cartoncini di colori differenti a forma di rettangolo per rappresentare i vari amminoacidi e porre sui due lati opposti due pezzi di velcro uno prelevato dalla striscia di tessuto con uncini e l'altro prelevato dalla striscia di tessuto peloso

Collegare una estremità del nastro che rappresenta il tRNA al mattoncino colorato che rappresenta l'amminoacido servendosi del velcro

Con la puntatrice inserire le basi complementari sulla parte del nastro ripiegata

Trasportare il tRNA sull'mRNA. fino a quando le basi complementari del codone si incontrano con l'anticodone.

Staccare l'amminoacido dall'RNA e attaccarlo servendosi del velcro all'amminoacido precedente

Ripetere con nuovo tRNA il procedimento fino a quando si sarà formata la catena di amminoacidi che rappresenta la proteina

Nelle **Riflessioni sull'attività**, dopo la discussione con gli studenti dei risultati delle attività sperimentali possono emergere le seguenti domande:

1. Cosa sono gli OGM?
2. Come si fanno gli OGM?
3. A cosa servono gli OGM?
4. Cosa sono le Biotecnologie?

I termini come biotecnologie, clonazione, ingegneria genetica, OGM sono ormai sulla bocca di tutti e vengono utilizzati nei più svariati contesti, ora per enfatizzare le scoperte ultime dell'uomo, ora per fare catastrofiche previsioni sulle loro conseguenze. Gli studenti non sono all'oscuro di queste problematiche anche se spesso la superficialità con cui esse vengono trattate dai media li porta ad avere idee confuse. Un'attività di brainstorming ed una discussione in classe possono consentire all'insegnante di saggiare il reale grado di conoscenza, ma soprattutto permetteranno di sottolineare l'importanza di una conoscenza scientifica del problema.

La parola **BIOTECNOLOGIA** indica l'utilizzo di organismi viventi per produrre sostanze utili all'uomo. Un tempo gli uomini sceglievano tra tanti organismi quelli più utili ai loro scopi, lasciando alla natura il compito di rimescolare i geni.

Oggi, le nuove biotecnologie si basano sull'**INGEGNERIA GENETICA**, cioè su tecniche che permettono di ritagliare frammenti del DNA e di inserirli nei nuclei delle cellule.

La storia delle nuove biotecnologie è iniziata nel 1966, anno della scoperta del codice del DNA, che è usato dalle cellule per costruire le proteine. Le proteine aiutano la cellula a svolgere tutte le sue funzioni. Sono il “marchio di fabbrica” degli organismi viventi.

Le biotecnologie di oggi, in un certo senso, servono per “addomesticare” altri organismi viventi, modificando i loro geni così che possano produrre per noi le proteine a cui siamo interessati.

Per ottenere una determinata proteina bisogna isolare il gene che contiene la ricetta per sintetizzarla, cioè il gene che codifica quella proteina

E' possibile isolare un frammento preciso di DNA grazie a speciali *enzimi di restrizione*, che sanno riconoscere una particolare sequenza di nucleotidi e tagliare il DNA proprio in quel punto, come delle “micro-forbici”. Ne esistono tantissimi e ognuno riconosce un diverso tratto di DNA.

Il gene, una volta tagliato, può essere ricucito all'interno di un'altra sequenza di DNA, da microscopiche macchine da cucire (*enzimi ligasi*).

Nel 1973 è stata creata la prima molecola di **DNA ricombinante**, formato cioè dall'unione di due diversi frammenti di DNA, uno derivante da un batterio e l'altro da un virus.

La tecnica per inserire il DNA nelle cellule è diversa, ma il primo passo è sempre la clonazione del DNA, cioè la produzione di copie identiche di un pezzo di genoma.

Si debba, per esempio, modificare un batterio in modo che produca l'ormone della crescita umano.

10^ ATTIVITA'

PRODURRE UN DNA RICOMBINANTE

Con questo termine si indica una molecola di DNA nella quale una certa sequenza di nucleotidi è stata modificata artificialmente. E' possibile, per esempio, inserire nel DNA di un organismo una sequenza che codifica per una proteina che, normalmente, non viene prodotta: è il caso del DNA di alcuni batteri in cui è stato inserito il gene umano che fa produrre l'insulina, una proteina che viene poi utilizzata per la cura del diabete.

Per costruire una molecola di DNA ricombinante si procede con una tecnica simile a quella utilizzata nel montaggio di un film, in cui si scelgono le scene che interessano, si tagliano e poi si rimontano, incollandole nella sequenza desiderata.

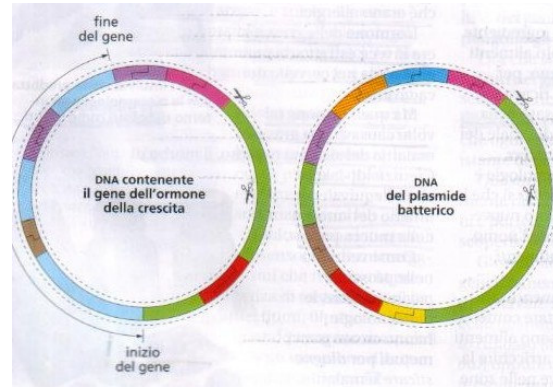
Le “micro-forbici” utilizzate dai biologi per tagliare il DNA nei punti prescelti sono specifiche proteine, chiamate *enzimi di restrizione*. Ne esistono tantissimi e ognuno sa riconoscere una particolare sequenza o tratto di DNA e intervenire proprio in quel punto.

Il gene, una volta tagliato, può essere ricucito all'interno di un'altra sequenza di DNA, grazie all'intervento di altri enzimi, che lavorano come microscopiche macchine da cucire (*enzimi ligasi*): la molecola che ne risulta è il DNA ricombinante.

Oggi sarai un ingegnere genetico!

Materiale:

- Immagine del DNA contenente il gene dell'ormone della crescita
- Immagine del DNA del plasmide batterico
- Forbici
- Nastro adesivo trasparente



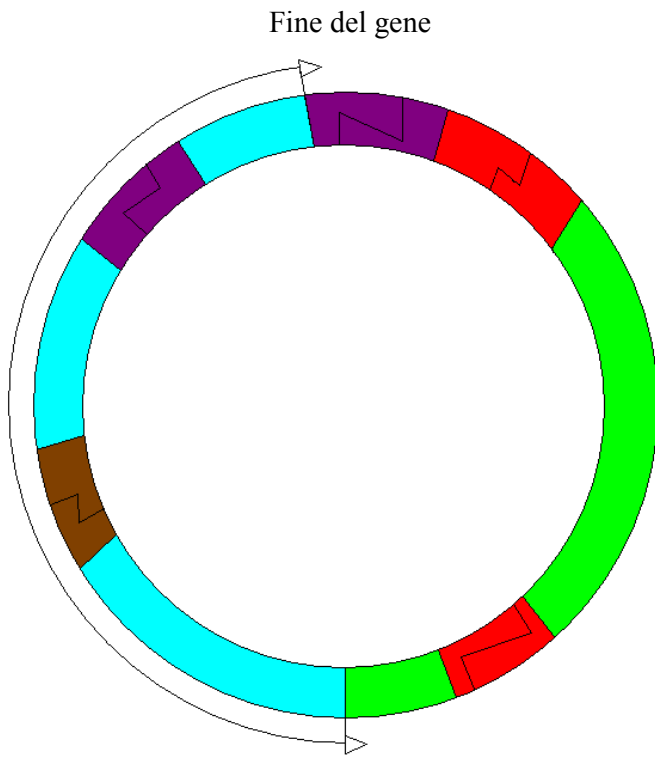
Procedimento:

Gli anelli rappresentano due molecole di DNA. Una contiene il gene dell'ormone della crescita, l'altra è il plasmide estratto da un batterio.	<i>I plasmidi sono piccoli filamenti circolari di DNA superavvolto a doppia elica, presenti nel citoplasma e distinguibili dal cromosoma batterico per le loro dimensioni ridotte.</i>
Per clonare il gene e trasferirlo nel plasmide, scegliere con molta cura le aree in cui tagliare, cioè l'enzima di restrizione da usare:	<i>l'enzima di restrizione non deve avere siti di restrizione all'interno del gene, altrimenti il gene sarà tagliato a metà e ne verrà clonato solo un pezzo.</i>
Negli anelli ci sono segmenti contenenti una linea spezzata: ciascun colore rappresenta un "sito di taglio" per un enzima di restrizione diverso.	<i>I siti di restrizione sono brevi sequenze palindromiche: la sequenza posta a un lato rispetto al centro del sito è complementare alla sequenza inversa rispetto a quella posta al lato opposto es</i> 5'GAATTC 3'CTTAA G
Individuare i siti da usare per tagliare il gene in modo da estrarlo tutto intero dal resto del DNA	
Con le forbici tagliare lungo la linea spezzata all'interno dei siti	<i>La linea spezzata indica il sito di taglio lungo il palindromo</i>
Tagliare l'anello del plasmide nelle aree con lo stesso colore, cioè negli stessi siti di restrizione	
Far combaciare le estremità del gene con quelle rimaste libere nel plasmide e unirle con il nastro adesivo	
Il nuovo anello contiene materiale genetico provenienti dai due anelli iniziali: si ottiene una molecola di DNA RICOMBINANTE! A questo punto la nuova molecola è pronta per essere inserita all'interno di un batterio. Con una coltura si fanno poi moltiplicare i batteri OGM, che, dividendosi, produrranno tanti batteri contenenti tutti il gene dell'ormone della crescita. Quando il numero dei batteri è elevato si estrae la proteina dell'ormone della crescita che, una volta purificata, può essere somministrata a chi ne ha bisogno.	

Domande:

- Quali enzimi sono rappresentati dalle forbici?*
- Quali enzimi sono rappresentati dal nastro adesivo?*
- Perché sarebbe sbagliato tagliare con le forbici all'interno del segmento viola del DNA?*

DNA contenente il gene dell'ormone della crescita



Fine del gene

Inizio del gene

DNA del plasmide batterico

