



Dalla Scuola all'Università andata e ritorno

KIT DIDATTICI

- Chi è il colpevole?
- OGM: organismi geneticamente “migliorati”
- Sano o malato?
- Analisi cromosomiche
- Cristallizzazione del lisozima

INDICE

- Settare le micropipette..... p.3
- Materiale del KIT (Chi è il colpevole?/OGM/Sano o malato?)... p.4
- Materiale necessario a scuola..... p.5
- Allestimento del materiale..... p.6
- Come procedere: esercitarsi all'uso delle micropipette..... p.8
- Come procedere: preparazione dei campioni..... p.10
- Come procedere: caricamento del gel..... p.11
- Risultato del gel p.14

- Materiale del KIT (Analisi cromosomiche)..... p.15
- Materiale necessario a scuola..... p.16
- Allestimento del materiale..... p.17
- Come procedere..... p.18

- Materiale del KIT (Cristallizzazione del lisozima)..... p.19
- Materiale necessario a scuola..... p.20
- Allestimento del materiale..... p.21
- Come procedere..... p.22

SETTARE LE MICROPIPETTE

Comune a tutti i kit



Suggerimenti:

- Illustrare le portate massima e minima della pipetta, corrispondenti rispettivamente a 20 e 2 microlitri. **Notare che al di sopra e al di sotto di questi valori la micropipetta si rompe.**
- Mostrare agli studenti come **impostare il volume** ruotando il pistone.
- Impostare lo strumento su **5 microlitri**, stando molto attenti al decimale dopo la virgola.
- Mostrare agli studenti come **inserire il puntale**, con una leggera pressione della micropipetta sul puntale.
- Spiegare **come prelevare un volume di liquido**:
 1. Premere sul pistone fino a quando non si percepisce una resistenza.
 2. Mantenendo premuto con il pollice, inserire il puntale dentro il liquido da prelevare (per esempio si può usare la provetta contenente acqua).
 3. Rilasciare il pollice dal pistone lentamente per prelevare il liquido.
 4. Espellere il puntale nel contenitore dei rifiuti usando l'apposito pulsante vicino al pistone.

MATERIALE DEL KIT

Chi è il colpevole?

OGM: organismi
geneticamente
“migliorati”

Sano o malato?



- 1 apparecchio per elettroforesi con transilluminatore incorporato (*flashgel*).
- 2 cassetta di gel precast con 12+1 tasche (un gel serve per 13 campioni).
- 1 alimentatore di corrente (*power supply*).
- 1 mini centrifuga.
- 13 micropipette e 4 scatole di puntali.
- 13 vetrini.
- 13 + 13 provette da 1,5 ml contenenti blu e acqua distillata.
- Campioni di DNA.
- Scheda di valutazione del kit.

Inoltre troverete:

- ❖ **KIT “Chi è il colpevole?”:**
tuta, guanti, mascherine, soprascarpe, occhiali, prove (ipotetici reperti biologici), sacchetti con pinzette per il recupero delle prove, telo con sagoma della vittima.
- ❖ **KIT “OGM”:**
pannocchie di mais.
- ❖ **KIT “Sano o malato?”:**
storie e alberi genealogici.

MATERIALE NECESSARIO A SCUOLA

Chi è il colpevole?

OGM: organismi
geneticamente
“migliorati”

Sano o malato?



- Laboratorio o aula con tavoli/banconi.
- Computer con videoproiettore/LIM.

TEMPO richiesto: circa 2 ore

I materiali contenuti nel kit se correttamente utilizzati, non comportano rischi e sono conformi alle norme di sicurezza.



ALLESTIMENTO DEL MATERIALE

Chi è il colpevole?

OGM: organismi
geneticamente
“migliorati”

Sano o malato?



Disporre sul banco da lavoro il materiale in modo che gli studenti lavorino a coppie.

Ogni postazione deve essere costituita come da foto:

- 1 vetrino,
- 1 micropipetta da 20 microlitri,
- 1 provetta con il colorante,
- 1 provetta di acqua,
- 1 contenitore dei rifiuti
(a coppia di studenti)
- 1 scatola di puntali
(a coppia di studenti)



ALLESTIMENTO DEL MATERIALE

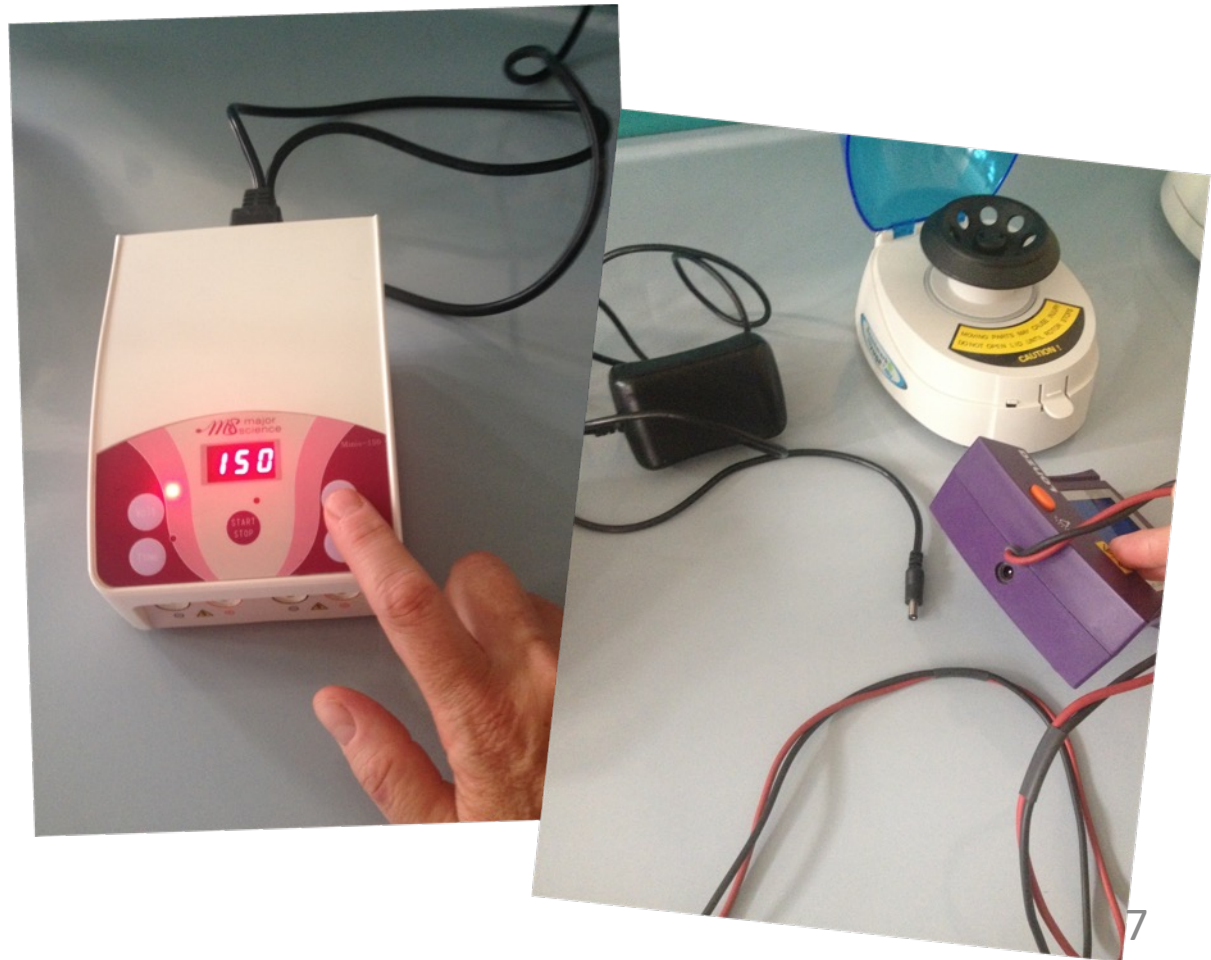
Chi è il colpevole?

OGM: organismi
geneticamente
“migliorati”

Sano o malato?



Collegare il power supply e la centrifuga ad una presa elettrica da
220 V
e disporre in prossimità il flashgel fornito nel kit.



COME PROCEDERE: esercitarsi nell'uso delle micropipette

Chi è il colpevole?

OGM: organismi
geneticamente
"migliorati"

Sano o malato?



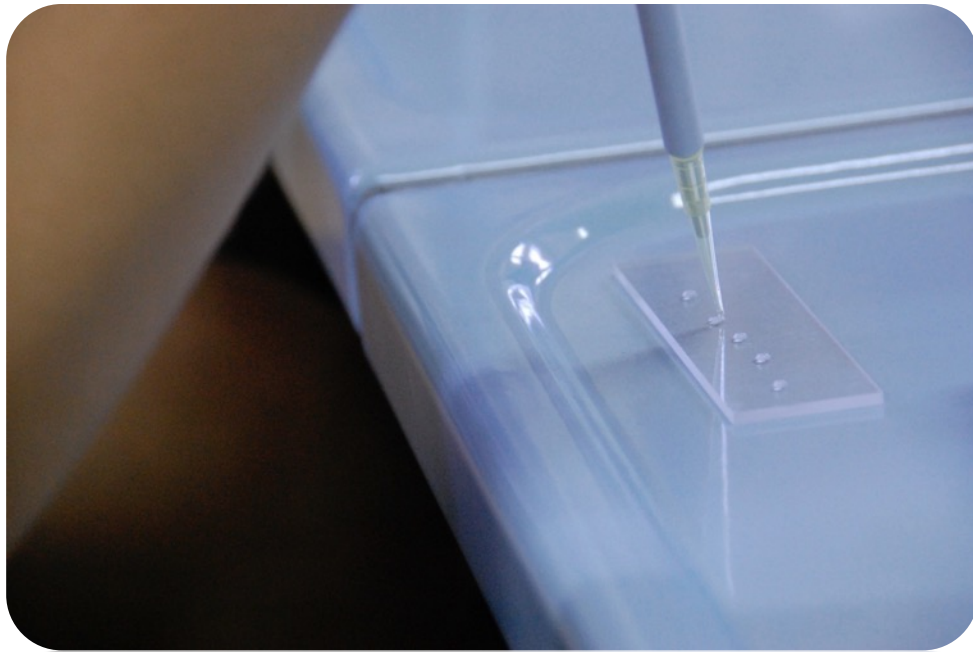
DILUIZIONE SERIALE DEL COLORANTE

- Prendere la pipetta con un puntale pulito e far fare agli studenti cinque gocce di acqua, ognuna da 5 microlitri sul vetrino.
- Disporre le gocce in fila ben distanti l'una dall'altra.
- Far cambiare il puntale per ogni goccia.

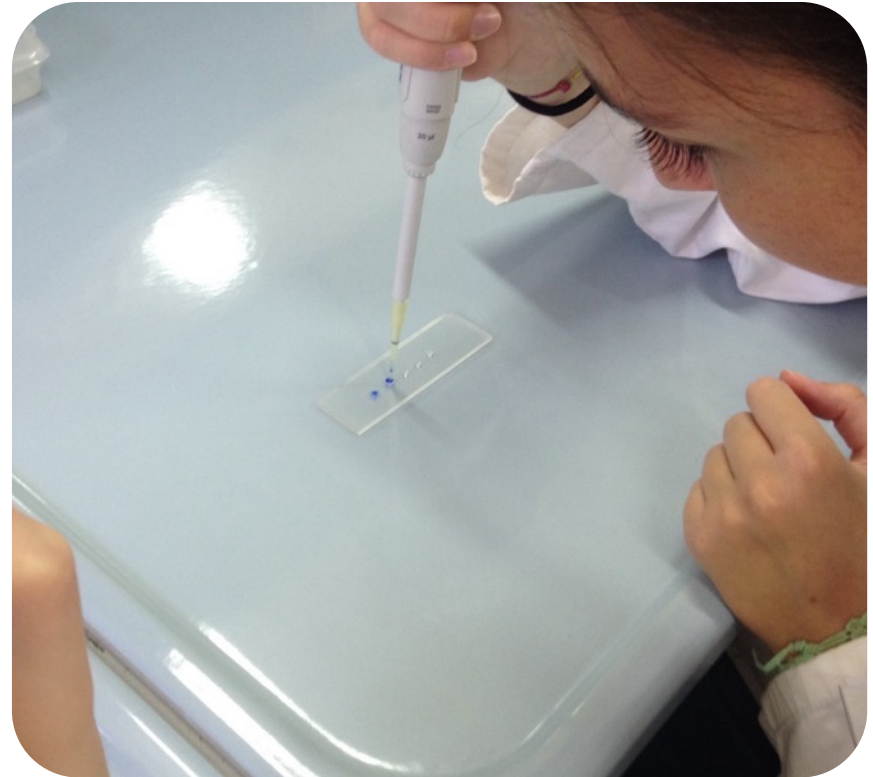
Se il procedimento sarà effettuato correttamente, tutte le gocce risulteranno della stessa dimensione.

- Aprire la provetta di colorante e farne prelevare 5 microlitri.
- Rilasciare la goccia di colorante dentro la prima goccia di acqua: la goccia sarà ora formata da colorante e acqua (10 microlitri totali).
- Far prelevare da questa goccia 5 microlitri.
- Rilasciare la goccia dentro la seconda goccia di acqua.
- Dalla seconda goccia prelevare altri 5 microlitri e metterli nella terza goccia e così via, fino all'ultima goccia.

Se il lavoro di diluizione verrà fatto correttamente, le gocce risulteranno sempre più chiare per effetto della diluizione del colorante.



1. Posizionare 5 gocce da 5 ul l'una di acqua sul vetrino



2. Procedere con la diluizione del colorante



3. Risultato finale

COME PROCEDERE: preparazione dei campioni

Chi è il colpevole?

OGM: organismi
geneticamente
“migliorati”

Sano o malato?

- Rimuovere dal frigor/freezer le provette contenenti 4 microlitri di DNA e consegnarle agli studenti.
- Far aggiungere sulla parete interna della provetta 2 microlitri di colorante 6X (se non già presente).
- Centrifugare per circa 5 secondi le provette.

COME PROCEDERE: caricamento del gel

Chi è il colpevole?

OGM: organismi
geneticamente
“migliorati”

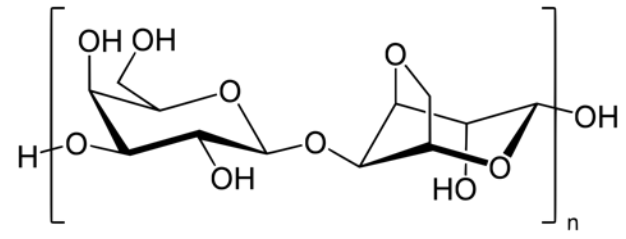
Sano o malato?

- Aprire la confezione del gel.
- Eliminare la striscia «LONZA" che chiude i pozzetti.
- Incastrare il gel nell'apposito apparecchio da flashgel seguendo le linee guida.
- Spiegare ai ragazzi come è fatto e come funziona il gel di agarosio, la cella elettroforetica e la funzione del colorante fluorescente che lega il DNA.
- Far caricare agli studenti i campioni all'interno dei pozzetti del gel: 4 microlitri di campione per pozzetto.
- Premere START sull'alimentatore (150V).
- A questo link potete vedere una corsa elettroforetica su flashgel (accelerata):
<https://youtube.com/shorts/NstdJA2QPNQ?feature=share>

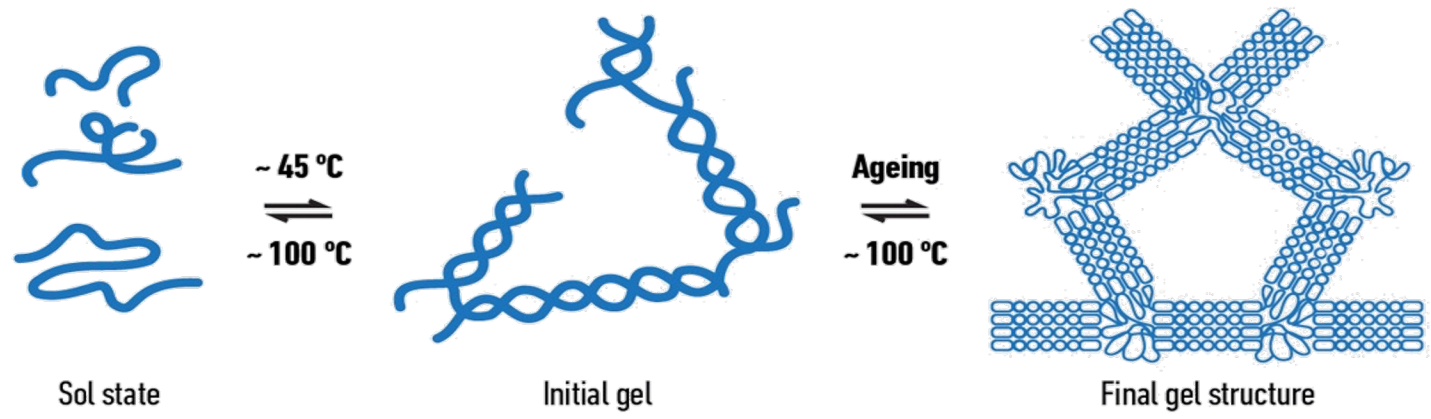
L'agarosio è un polimero polisaccaride purificato dall'agar-agar, una sostanza gelatinosa estratta dalle Alghe Rosse (Rhodophyta).

Il gel di agarosio permettere di creare una "rete" tridimensionale attraverso la quale passa il DNA.

In base alla concentrazione di agarosio, le maglie della rete possono essere più o meno fitte, rallentando la corsa dei frammenti di DNA in modo proporzionale alla loro dimensione.



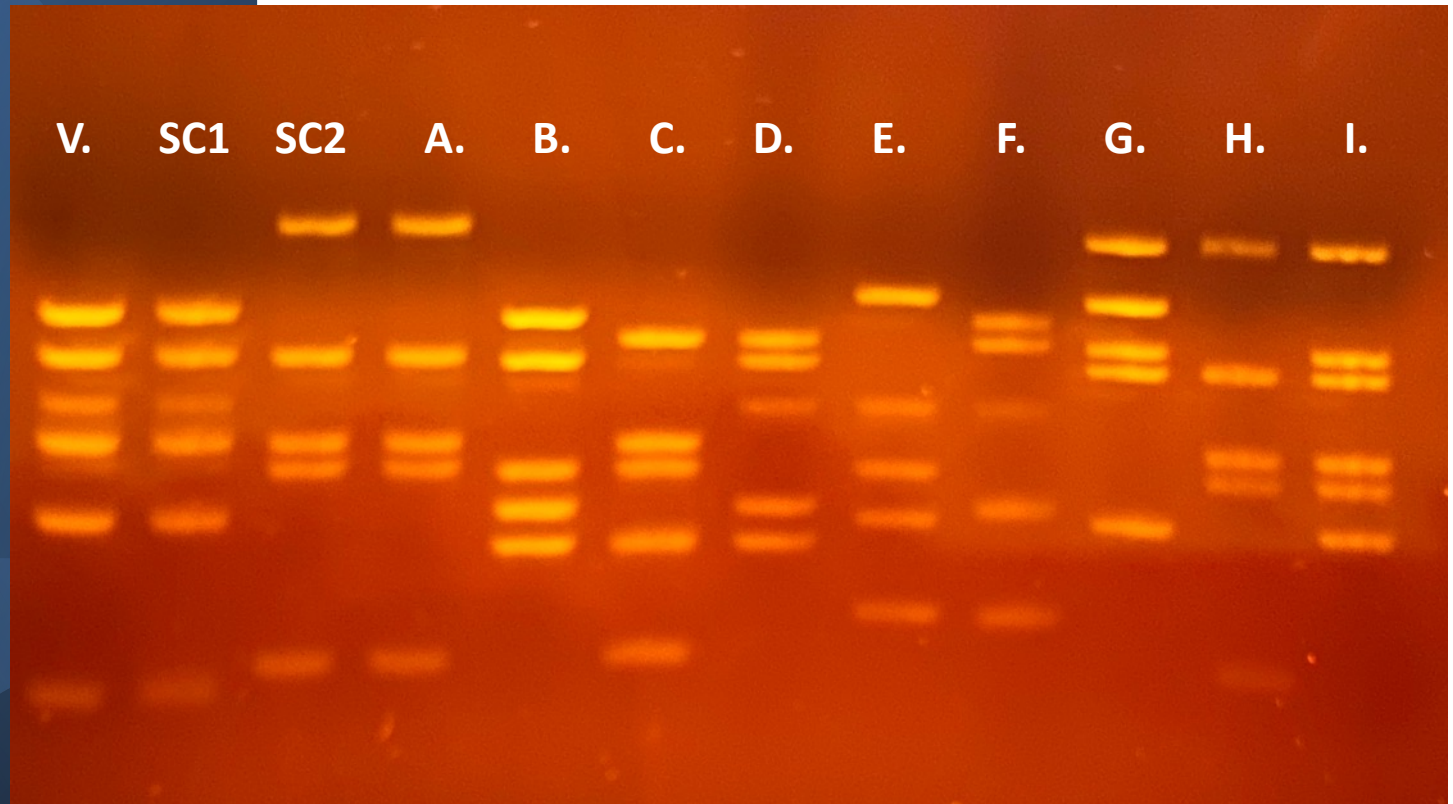
Struttura dell'unità fondamentale dell'agarosio: il disaccaride agarobiosio



I frammenti di DNA migrano a velocità differente SOLAMENTE in base al peso molecolare = lunghezza

RISULTATO DEL GEL: Chi è il colpevole?

Questo è un esempio di gel, il vostro potrebbe essere differente!



V = Vittima

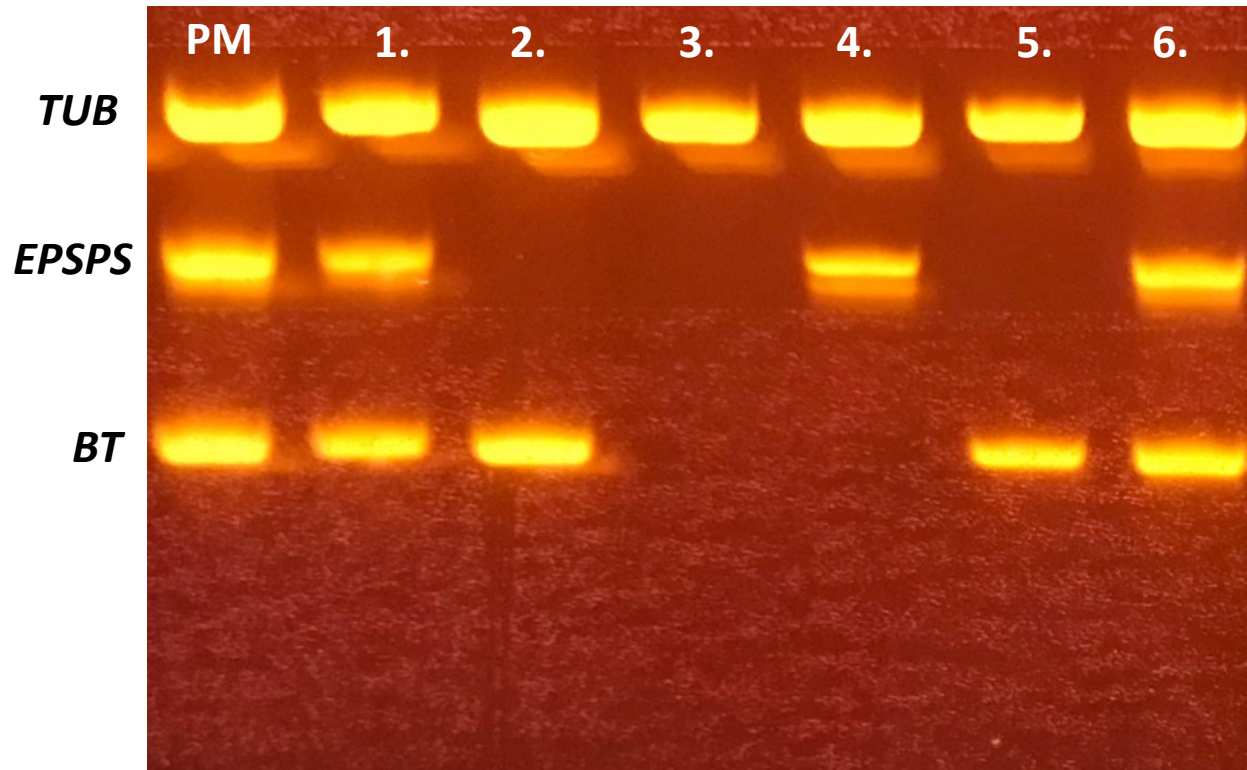
SC1, SC2 = Scene del crimine

A.,... = sospettati

RISULTATO DEL GEL:

OGM: organismi
geneticamente
“migliorati”

Questo è un esempio di gel, il vostro potrebbe essere differente!



PM = Peso Molecolare
1.,... = campioni

MATERIALE DEL KIT

Analisi
cromosomiche

- 1 provetta da 1,5 ml contenente preparati cromosomici fissati in metafase (da conservare in freezer).
- Una scatola contenente vetrini porta oggetto.
- Una scatola contenente vetrini copri oggetto.
- Reagente di colorazione dei cromosomi (blu di metilene 0,05%).
- **6 micropipette da 20 microlitri.**
- **4 scatole di puntali per micropipette.**

Il materiale **evidenziato** va riconsegnato al CusMiBio e verrà controllato alla consegna.

I costi di eventuali rotture, manomissioni o strumentazione mancante saranno a carico della scuola.

MATERIALE NECESSARIO A SCUOLA

Analisi
cromosomiche



- Laboratorio o aula con tavoli/banconi.
- Videoproiettore/LIM.
- Microscopi ottici con obiettivi 4X, 10X e 40X.
- Contenitori per i rifiuti.
- Matite e pennarelli.

TEMPO richiesto: circa 1,5 ore.

I materiali contenuti nel kit se correttamente utilizzati, non comportano rischi e sono conformi alle norme di sicurezza.



ALLESTIMENTO DEL MATERIALE

Analisi cromosomiche

Disporre sul banco da lavoro il materiale in modo che gli studenti lavorino in due gruppi.

Ogni postazione deve essere così costituita:

- 1 vetrino copri oggetto e portaoggetti per studente.
- 1 micropipetta da 20 microlitri.
- 1 provetta contenente la sospensione cellulare.
- 1 falcon contenente blu di metilene.
- 1 microscopio ottico.

Inoltre sul banco di lavoro dovranno essere presenti un contenitore dei rifiuti, una scatola di puntali, matite e pennarelli.

COME PROCEDERE

Analisi cromosomiche

OSSERVAZIONE AL MICROSCOPIO

Consegnare ad ogni ragazzo un vetrino sul quale scriverà con la matita sulla **banda sabbiata** il proprio nome.

- Prendere dal freezer la sospensione cellulare e risospendere accuratamente il contenuto, picchiettando sul fondo della provetta.
- Prelevare 5 microlitri della **sospensione cellulare** e metterli al centro del vetrino porta oggetto; eliminare il puntale nel contenitore per i rifiuti.
- Fare evaporare il fissativo lasciando il vetrino all'aria per pochi minuti.
- Prelevare 10 microlitri di **blu di metilene** e metterli al centro del vetrino porta oggetto; eliminare il puntale nel contenitore per i rifiuti
- Coprire con il copri oggetto cercando di **evitare la formazione di bolle di aria**.
- Osservare le metafasi al microscopio fino ad un ingrandimento 40x.

MATERIALE DEL KIT

Cristallizzazione del lisozima

- Un set di piastre per la cristallizzazione.
- 1 provetta da 1,5 ml contenente la soluzione di lisozima (40 mg/ml).
- 1 provetta di soluzione tampone di sodio acetato a pH 4.5.
- 1 provetta di NaCl 20%.
- **1 micropipetta da 20 microlitri + scatola di puntali.**
- **1 micropipetta da 200 microlitri.**
- **1 micropipetta da 1000 microlitri + scatola di puntali.**
- **Una scatola di vetrini copri oggetto (20 x 20).**

Il materiale **evidenziato** va riconsegnato al CusMiBio e verrà controllato alla consegna.

I costi di eventuali rotture, manomissioni o strumentazione mancante saranno a carico della scuola.

MATERIALE NECESSARIO A SCUOLA

Cristallizzazione del lisozima



- Laboratorio o aula con tavoli/banconi.
- Videoproiettore/LIM.
- Microscopi ottici con obiettivi 4X, 10X e 40X o stereomicroscopi.
- Contenitori per i rifiuti.

TEMPO richiesto: circa 2 ore.

I materiali contenuti nel kit se correttamente utilizzati, non comportano rischi e sono conformi alle norme di sicurezza.



ALLESTIMENTO DEL MATERIALE

Cristallizzazione del
lisozima

Disporre sul banco da lavoro il materiale in modo che gli studenti lavorino in gruppi.

Ogni postazione deve essere così costituita:

- 1 vetrino coprioggetto.
- 1 piastra di cristallizzazione.
- Le micropipette.
- 1 microscopio ottico/stereomicroscopio.

Inoltre sul banco di lavoro dovranno essere presenti un contenitore dei rifiuti e una scatola di puntali.

COME PROCEDERE

Cristallizzazione del lisozima

Preparazione delle prove di cristallizzazione

1. Pipettare 500 μl di soluzione di cristallizzazione in 2 pozzetti della piastra di cristallizzazione seguendo lo schema sotto riportato:

POZZETTO 1	POZZETTO 2
<ul style="list-style-type: none">• NaCl 20% (200 μl)• Tampone pH 4.5 50 mM (25 μl)• H₂O (275 μl)	<ul style="list-style-type: none">• NaCl 20% (225 μl)• Tampone pH 4.5 50 mM (25 μl)• H₂O (250 μl)

Usare un puntale diverso per le diverse soluzioni.

2. Mescolare con un puntale le soluzioni nei pozzetti e preparare 2 vetrini coprioggetto.
3. Pipettare 2 μl di soluzione di lisozima sul centro di ogni vetrino coprioggetto.
4. Aggiungere ad ogni vetrino coprioggetto 2 μl della rispettiva soluzione di cristallizzazione (presa dai pozzetti). Capovolgere ogni vetrino sul pozzetto corrispondente mantenendo la goccia pendente al centro del pozzetto stesso. La goccia finale avrà quindi un volume di 4 μl .

COME PROCEDERE

Cristallizzazione del lisozima

5. Coprire la piastra di cristallizzazione con il coperchio trasparente per prevenire l'evaporazione della goccia e per garantire il corretto raggiungimento dell'equilibrio di vapore necessario per la cristallizzazione della proteina.
6. Mantenere le prove di cristallizzazione alla temperatura costante di 21 °C, senza mai muoverle per circa 1,5h.
7. Dopo un'ora sollevare delicatamente il vetrino coprioggetto dal pozzetto, ruotarlo di 180° e appoggiarlo delicatamente su un vetrino portaoggetti già posizionato sul tavolino del microscopio ottico. Osservare la goccia all'ingrandimento 4X e 10X.

RISULTATI

Cristallizzazione del
lisozima

