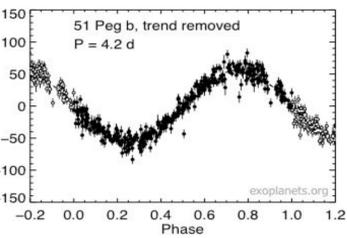
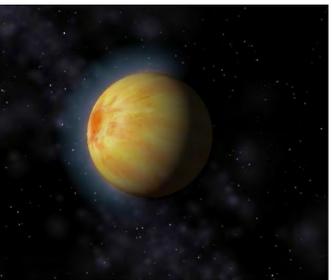


Progetto interclasse a cura della prof.ssa Moretti e degli allievi Albè Beatrice, Carrozzino Chiara, Contini Sofia, Carbone Renato, Costantini Niccolò, Fossatelli Sara, Libianchi Lorenzo, Masella Emanuela, Ruscitto Valeria, Silvetti Federico
 Liceo Classico SOCRATE - anno scolastico 2012-13

ABSTRACT: Da diversi anni il nostro liceo partecipa al Piano Lauree Scientifiche, in collaborazione con il Dipartimento di Fisica dell'Università Roma Tre per il progetto "Laboratorio itinerante di meteoriti" e con il Dipartimento di Fisica dell'Università di Tor Vergata per progetti di Astrobiologia. Un legame accomuna le diverse attività condotte: lo spazio è infatti il teatro del viaggio dei meteoriti verso la Terra e l'ambiente in cui cimentare la tenacia della vita, valutando la sopravvivenza di batteri estremofili terrestri a condizioni così spinte come quelle spaziali. Le attività svolte a scuola hanno consentito agli studenti di integrare la programmazione curricolare con approfondimenti di fisica, microbiologia e biologia molecolare, fornendo un esempio di multidisciplinarietà e di integrazione di conoscenze e competenze diverse nel lavoro scientifico. I laboratori hanno avvicinato e coinvolto direttamente gli studenti in indagini complesse con l'applicazione di diversi protocolli e l'esperienza di osservazione al microscopio confocale. Il progetto attuato quest'anno ha indagato la singolare capacità dei cianobatteri di tollerare il vuoto spaziale e radiazioni ultraviolette corrispondenti ad un anno di permanenza nello spazio, riparando il danno genico con gli stessi meccanismi impiegati per la resistenza al disseccamento in ambienti estremi terrestri.



↑ Grafico della velocità radiale di 51 Pegasi che mostra la presenza di corpo orbitante intorno alla stella, 51 Pegasi b.
 ↓ 51 Pegasi B visto con il programma Celestia



Aspetti teorici

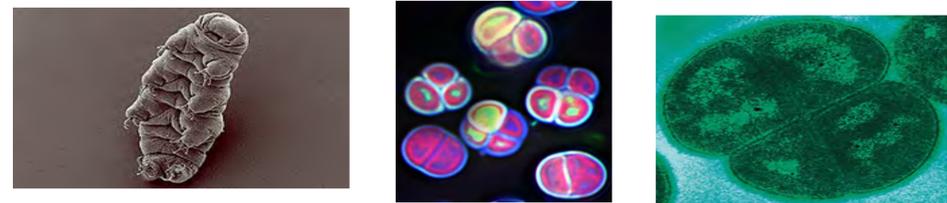
Le missioni Viking, con la ricerca di evidenze di forme di vita su Marte, hanno rappresentato il culmine ma anche il fallimento del programma NASA di Esobiologia, che trovò nuova vita con l'Astrobiologia a partire dal 1996, a seguito della scoperta del meteorite marziano ALH84001, dell'individuazione del primo pianeta extrasolare 51Pegasi b e della rilevazione della presenza di un oceano sotto la superficie di Europa grazie alla sonda Galilei.

L'ASTROBIOLOGIA è una area di ricerca multidisciplinare che studia l'origine, l'evoluzione, la distribuzione ed il futuro della vita sulla Terra e nell'Universo, affrontando così problematiche relative alla chimica prebiotica, allo studio di ambienti terrestri estremi e alla resistenza di forme di vita estremofile in ambiente spaziale e simulato marziano.

Infatti la persistenza di forme di vita nascoste all'interno di rocce in deserti considerati gli analoghi terrestri di Marte, come le Valli Secche dell'Antartide e il cuore arido del deserto dell'Atacama, rappresenta un presupposto scientifico per la ricerca di vita in altri pianeti.

Con le facility dell'ESA "Biopan" ed "Expose", quest'ultima collocata all'esterno della Stazione Spaziale Internazionale, è stato possibile esporre organismi estremofili in bassa orbita terrestre per 2 settimane (Biopan) o per 18 mesi (Expose), per verificarne l'eventuale sopravvivenza in condizioni spaziali ed al rientro in atmosfera (Biopan/Stone).

Il vuoto spaziale, l'esposizione a radiazione solare e a raggi cosmici, sono alcune delle condizioni a cui sono esposti gli organismi estremofili inviati in bassa orbita terrestre.



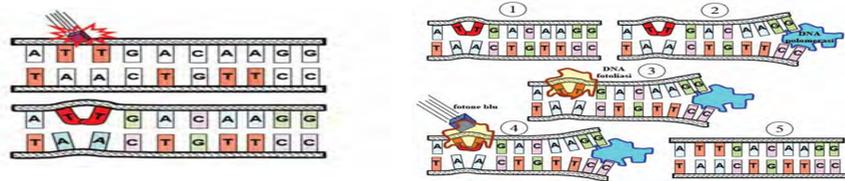
Tra questi, tardigradi, cianobatteri e deinococchi risultano particolarmente resistenti al vuoto e alle radiazioni, utilizzando probabilmente gli stessi meccanismi di resistenza al disseccamento impiegati in ambienti estremi terrestri. **In particolare i cianobatteri possono tollerare il vuoto spaziale e radiazioni ultraviolette corrispondenti ad un anno di permanenza nello spazio, dimostrando così la tenacia della vita.**

In particolare la radiazione ultravioletta è caratterizzata da livelli energetici capaci di rompere i legami molecolari.

	lunghezza d'onda	energia dei fotoni [eV]	tipo di legame	energia di legame (in acqua) [eV]
radiazioni ionizzanti	10	124	covalente	3.9
minima spettro solare	200	6.2	ionico	0.04
massima UVC	280	4.4	idrogeno	0.04
massima UVB	320	3.9	Van der Waals	0.04
massima UVA	400	3.1		
massima PAR	700	1.8		
massima NIR	3000	0.4		

Quando la radiazione UV colpisce il DNA, è possibile che due timine adiacenti ne assorbano l'energia per formare un legame covalente. Si ha quindi la formazione di un dimero della timina, una lesione grave del DNA che altera l'informazione genetica.

Gli organismi viventi hanno tuttavia un meccanismo di difesa, la fotoriparazione, per cui l'enzima DNA polimerasi scopre la lesione, l'enzima DNA fotoliasi si porta sul dimero, assorbe un fotone di luce blu e usa la sua energia per riparare il legame covalente. L'efficienza di questo meccanismo varia da specie a specie e, all'interno della stessa specie, da individuo a individuo. Quando questo meccanismo di difesa non agisce in modo appropriato o sufficiente, si genera un danno genetico.



Nei laboratori del Dipartimento di Biologia dell'Università di Tor Vergata si sono svolte le esperienze programmate, organizzate e dirette dalla dott.ssa Daniela Billi a cui va il nostro ringraziamento.

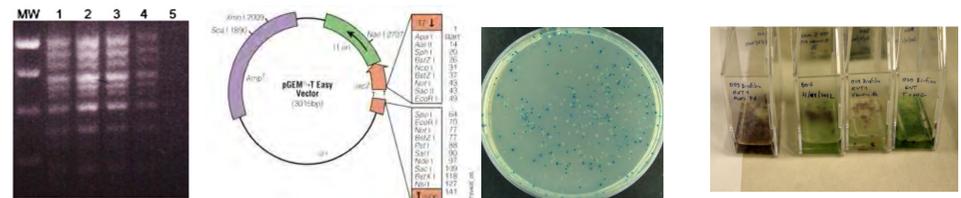
Agenda di laboratorio

1° Laboratorio: Rilevazione di alterazioni di DNA genomico per effetto di radiazioni UVC.

Estrazione di DNA genomico da colture di cianobatteri estremo-tolleranti sottoposti a dosi crescenti di radiazioni UV (simulazione di condizioni spaziali), successiva amplificazione con PCR utilizzando oligonucleotidi diretti verso sequenze ripetute del genoma ed elettroforesi dell'amplificato. Si vuole verificare la presenza di danni da radiazioni rilevabili da fingerprinting alterati, con bande ridotte o assenti per **esposizione a dosi crescenti di UVC (10-100-1.000-10.000 J/m²).**

2° e 3° Laboratorio: Studio delle mutazioni per amplificazione, clonazione e sequenziamento genico.

Sulle poche colonie di cianobatteri sopravvissuti alla dose UVC maggiore (10.000 J/m²) siamo passati allo studio dei meccanismi di riparazione ed all'identificazione di mutazioni che giustificano la resistenza a condizioni così estreme. Fra le varie mutazioni ottenibili abbiamo lavorato sulla resistenza alla rifampicina, un antibiotico che inibisce la RNA polimerasi DNA-dipendente, col risultato di sopprimere la sintesi di RNA. La resistenza eventualmente acquisita prevede la presenza di una mutazione del gene *p* per l'RNA polimerasi. Cellule mutate in seguito all'esposizione agli UVC saranno selezionate in quanto capaci di crescere su rifampicina.



Per valutare la frequenza delle mutazioni si amplifica per PCR un tratto del gene *p*, pari a circa 500 nucleotidi, che viene clonato nel plasmide pGEM-T idoneo per il clonaggio di prodotti di PCR. Mediante elettroporazione il plasmide viene poi inserito in cellule di Escherichia coli. Le cellule che hanno integrato il plasmide con il prodotto di PCR vengono selezionate come colonie bianche in uno screening bianco/blu. Siamo infine passati all'estrazione del DNA plasmidico, ultima tappa prima dell'invio al sequenziamento, necessario per **identificare la mutazione che ha consentito la sopravvivenza dei cianobatteri esposti a radiazione UVC.**

4° Laboratorio: Osservazioni al microscopio confocale laser a scansione
 Il microscopio confocale è una tra le più moderne tecnologie che permette di osservare con particolare precisione le piccole cellule dei procarioti. Si tratta di un microscopio capace di accrescere sensibilmente la risoluzione spaziale del campione, eliminando gli aloni dovuti alla luce diffusa dai piani fuori fuoco del preparato.

Le immagini ottenute sono particolarmente definite e spettacolari, possono permettere di evidenziare con differenti colori le diverse regioni delle cellule osservate e permettono di apprezzarne la tridimensionalità. La nostra esperienza al confocale ci ha permesso di osservare con particolare efficacia i protagonisti del nostro percorso, ovvero i cianobatteri, organismi fotosintetici dotati di pigmenti in grado di assorbire la luce solare. E' anche possibile procedere ad una analisi spettrale dei pigmenti fotosintetici autofluorescenti, presenti nell'apparato fotosintetico dei cianobatteri.

