

## Supercolla

I molluschi bivalvi del genere *Mytilus* PRODUCONO una supercolla impermeabile.

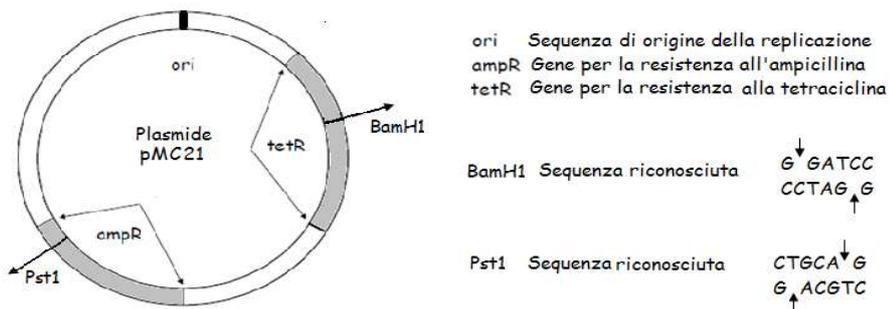
Come riescono ad aderire così bene ad una superficie solida in ambiente acquoso? Si fissano tramite il bisso, costituito da un fascio di filamenti secreti in forma semifluida da una ghiandola presente nel piede. Tali filamenti, a contatto con l'acqua, coagulano immediatamente formando una struttura con elevate capacità di adesione

Tuttavia gli scienziati non pensano di usare i molluschi bivalvi per produrre una supercolla. Ce ne vorrebbero almeno 10.000 per fare appena un grammo di colla. Quindi raccogliere una quantità di molluschi sufficiente a soddisfare la domanda mondiale di supercolla significherebbe distruggere la popolazione dei molluschi bivalvi, di cui molte specie sono già in pericolo. Piuttosto, alcuni ricercatori americani hanno isolato dai mitili il frammento di DNA contenente i geni necessari per la sintesi della molecola con proprietà adesive

Sei diventato un ricercatore, ti è stato richiesto di clonare tale frammento su un vettore plasmidico per produrre grandi quantità di supercolla.

Hai a disposizione:

a) il DNA del plasmide pMC21 (in quantità più che sufficiente)



b) gli enzimi di restrizione BamH1 e PstI

c) il DNA del frammento contenente il gene che codifica per la supercolla (in quantità più che sufficiente). Nella figura sono mostrate le sequenze fiancheggianti tale frammento

ggatc caaaaatctc \_\_\_\_\_ cgcgattaggatcc  
cctagg ttttttagag \_\_\_\_\_ gcgctaatacctagg

d) un ceppo di *Escherichia coli* sensibile agli antibiotici ampicillina e tetraciclina

e) l'enzima ligasi

f) terreno di coltura liquido

g) Piastre contenenti i seguenti terreni di coltura solidi

- Agar nutritivo
- Agar nutritivo contenente l'antibiotico ampicillina
- Agar nutritivo contenente l'antibiotico tetraciclina
- Agar nutritivo contenente sia ampicillina che tetraciclina

1. Spiega in sequenza, utilizzando la modalità grafica che ritieni più efficace, le tappe che seguiresti per clonare il gene della supercolla.
2. Motiva la scelta del terreno di coltura solido utilizzato per selezionare le colonie di *E. coli* contenenti il plasmide e successivamente la scelta del terreno di coltura solido per verificare se le colonie ottenute nel precedente terreno contengono il plasmide ricombinante

HO MODIFICATO LA SOTTOSTANTE PARTE SCRITTA DA ME IN BASE AI LORO DESIDERI E IN ACCORDO CON SOLUZIONE PROPOSTA DA LORO CORRETTA CHE TI HO GIÀ INVIATO

**Esponi in modo dettagliato la strategia che intendi seguire specificando :**

- Quale/i enzima/i di restrizione sarà conveniente usare ?
- Quale è la funzione della ligasi ?
- Come introdurrà il plasmide costruito "in vitro" nelle cellule di *E. coli* ?
- Come pensi di selezionare le colonie di *E. coli* contenenti il plasmide con il frammento desiderato? Indica quale dei seguenti terreni di coltura devi utilizzare ed argomenta la tua scelta Agar nutritivo
- Agar nutritivo contenente l'antibiotico ampicillina
- Agar nutritivo contenente l'antibiotico tetraciclina
- Agar nutritivo contenente sia ampicillina che tetraciclina
- Ottenute le colonie sul terreno nutritivo che hai deciso di utilizzare come pensi di procedere per verificare di aver ottenuto il clone contenente il gene per la supercolla