

PROGETTO DETTAGLIATO BIOTECNOLOGIE CELLULARI

- 1 - Studio delle sequenze presenti in banca dati riguardanti la NRG1-typelll-beta 3
- 2 - Scelta dei primers per amplificare la NRG1-typelll-beta 3 di ratto (tenendo conto del fatto che poi la cloneremo *in frame* in un vettore esprimente la GFP).

3 - RT-PCR

- 4 - Clonaggio di NRG1-typelll-beta 3 in vettore pCR-bluntll-TOPO
- 5 - Sequenziamento
- 6 - Subclonaggio in vettore di espressione pEGFP-C3 (proteina ibrida NRG-EGFP)
- 7 - Subclonaggio in vettore di espressione pIRES-puro2
- 8 - Subclonaggio in vettore di espressione con coda FLAG per identificazione della proteina
- 9 - Subclonaggio di NRG1-typelll-beta3 in vettore virale adenoassociato pAAV-MCS
- 10 - Subclonaggio di NRG1-typelll-beta3-FLAG in vettore virale adenoassociato pAAV-MCS

NB Per ogni clonaggio e sub-clonaggio studio delle digestioni enzimatiche che consentono di verificare il corretto orientamento dell'inserto, con previsione delle bande attese in caso di clonaggio senso o antisenso

Estrazione RNA utilizzando Trizol

Valutazione della concentrazione dell'RNA
Leggo 2 μl in 1 ml H_2O (RNA diluito 1:500)

Lettura allo spettrofotometro= 0,05 OD
Fattore di conversione: 1OD=40 μg RNA / ml

Valuta la concentrazione dell'RNA nella tua provetta esprimendola in $\mu\text{g}/\mu\text{l}$:

Quanti μl devo prendere per avere 1 μg ?

Reazione di retrotrascrizione

Reazione di retrotrascrizione: compila il protocollo, conoscendo la concentrazione degli stock e la concentrazione finale

	stock	1 campione	concentrazione finale
RNA		μl	1 μg /reazione
Buffer	5x	μl	1x
BSA acetilata	1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	μl	0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
Triton	1%	μl	0.05%
dNTPs	10mM	μl	0,5mM
Esanucleotidi	50 μM	μl	7.5 μM
RT	200u/ μl	μl	200u/reazione
RNAsin	33u/ μl	μl	33u/reazione
Acqua qb a 25 μl		μl	
Totale		25 μl	

- 10' 25°C
- 90' 37°C o 42°C (vedi enzima)
- 10' 95°C

Fattore di diluizione

Concentrazione stock

Concentrazione finale desiderata

NaCl	5M		0,5 M
------	----	--	-------

Volume totale 25 μ l

Quante volte voglio diluire il reagente?

Fattore di diluizione

Concentrazione stock

Concentrazione finale desiderata

NaCl	5M		0,5 M
------	----	--	-------

Volume totale 25 μ l

Quante volte voglio diluire il mio ingrediente?

$5:0,5 = 10$ volte = fattore di diluizione

Il volume è 25 μ l, quanti μ l devo mettere?

Fattore di diluizione

Concentrazione stock

Concentrazione finale desiderata

NaCl	5M		0,5 M
------	----	--	-------

Volume totale 25 μ l

Quante volte voglio diluire il mio ingrediente?

$5:0,5 = 10$ volte = fattore di diluizione

Il volume è 25 μ l

Voglio diluire 10 volte il mio ingrediente nel volume finale della soluzione

Metterò 1/10 del volume finale

$25 \mu\text{l} : 10 = 2,5 \mu\text{l}$

Fattore di diluizione

Concentrazione stock

Concentrazione finale desiderata

Tris HCl	1M		200 mM
----------	----	--	--------

Volume totale 25 μ l

- Quanto TrisHCl devo mettere?

Reazione di retrotrascrizione

Reazione di retrotrascrizione: compila il protocollo, conoscendo la concentrazione degli stock e la concentrazione finale

	stock	1 campione	concentrazione finale
RNA		μl	1 μg /reazione
Buffer	5x	μl	1x
BSA acetilata	1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	μl	0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
Triton	1%	μl	0.05%
dNTPs	10mM	μl	0,5mM
Esanucleotidi	50 μM	μl	7.5 μM
RT	200u/ μl	μl	200u/reazione
RNAsin	33u/ μl	μl	33u/reazione
Acqua qb a 25 μl		μl	
Totale		25 μl	

NB Le unità di misura delle concentrazioni possono essere diverse!!!!
Non c'è solo la molarità, ma anche la %, le unità, ecc...

-A- Quale controllo devo fare per poter poi verificare, con la PCR, che l'RNA non sia contaminato da DNA?

-B- Quale controllo devo fare per poter poi verificare, con la PCR, che nessuno dei reagenti utilizzati per la retrotrascrizione sia contaminato da DNA?

	RNA campione da analizzare	Controllo A	Controllo B		Conc. finale
RNA	μl				1 μg
Buffer 5x	μl				1x
BSA acetilata 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	μl				0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
Triton 1%	μl				0.05%
dNTPs 10mM	μl				0,5mM
Esanucleotidi 50 μM	μl				7.5 μM
RT 200u/ μl	μl				200u
RNAsin 33u/ μl	μl				33u
Acqua qb a 25 μl	μl				
Totale	25 μl	25 μl	25 μl		

Reazione di PCR

Compila il protocollo, conoscendo la concentrazione degli stock e la concentrazione finale

STOCK						Conc. finale
cDNA campione da analizzare	μl					
5x buffer Pfu	μl					-> 1x
primer senso 10 μM	μl					-> 250 nM
primer antisenso 10 μM	μl					-> 250 nM
100% glicerolo	μl					-> 5%
10mM dNTPs	μl					-> 100 μM
Taq polimerasi 1u/ul	μl					-> 1u
H ₂ O	μl					
totale	50 μl					

- Per ogni campione, amplifico **5μl** di cDNA (prodotto della retrotrascrizione)

RT

- A**- Quale controllo devo fare per poter poi verificare, con la PCR, che l'RNA non sia contaminato da DNA?
- B**- Quale controllo devo fare per poter poi verificare, con la PCR, che nessuno dei reagenti utilizzati per la retrotrascrizione sia contaminato da DNA?

PCR

- C**- Quale controllo devo fare per poter verificare, con la PCR, che nessuno dei reagenti utilizzati per la PCR sia contaminato di DNA?

PCR:

1- 5 μ l cDNA del campione da analizzare

A-

B-

C-

Reazione di PCR, con TUTTI i controlli

(provate a compilare il modulo, compresa la mix, ma NON inviatemelo!!!!)

STOCK	campione	Ctr A	Ctr B	Ctr C	MIX	Conc. finale
cDNA campione da analizzare	μl					
5 x buffer Pfu	μl					-> 1x
primer senso 10 μM	μl					-> 200 nM
primer antisenso 10 μM	μl					-> 200 nM
100% glicerolo	μl					-> 5%
10mM dNTPs	μl					-> 200 μM
Taq polimerasi 1u/ul	μl					-> 1u
H ₂ O	μl					
totale	50 μl					

- Per ogni campione, amplifico **5μl** di cDNA (prodotto della retrotrascrizione)

PROTOCOLLO PCR

5' 94°C

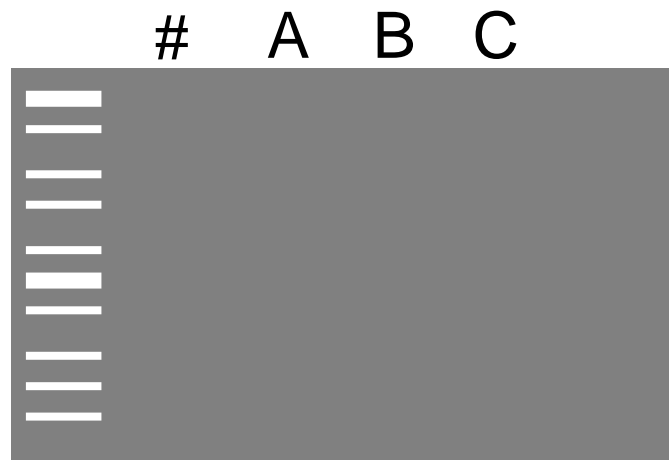
30" 94°C
30" Tm Allawi
1' 72°C

} 30 x

10' 72°C

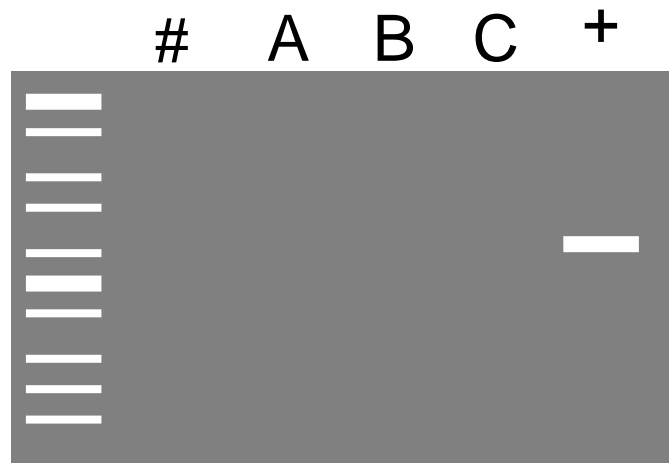
∞ 12°C

- #- campione da analizzare
- A- controllo per verificare che l'RNA non sia contaminato da DNA
- B- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la retrotrascrizione sia contaminato da DNA
- C- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la PCR sia contaminato di DNA

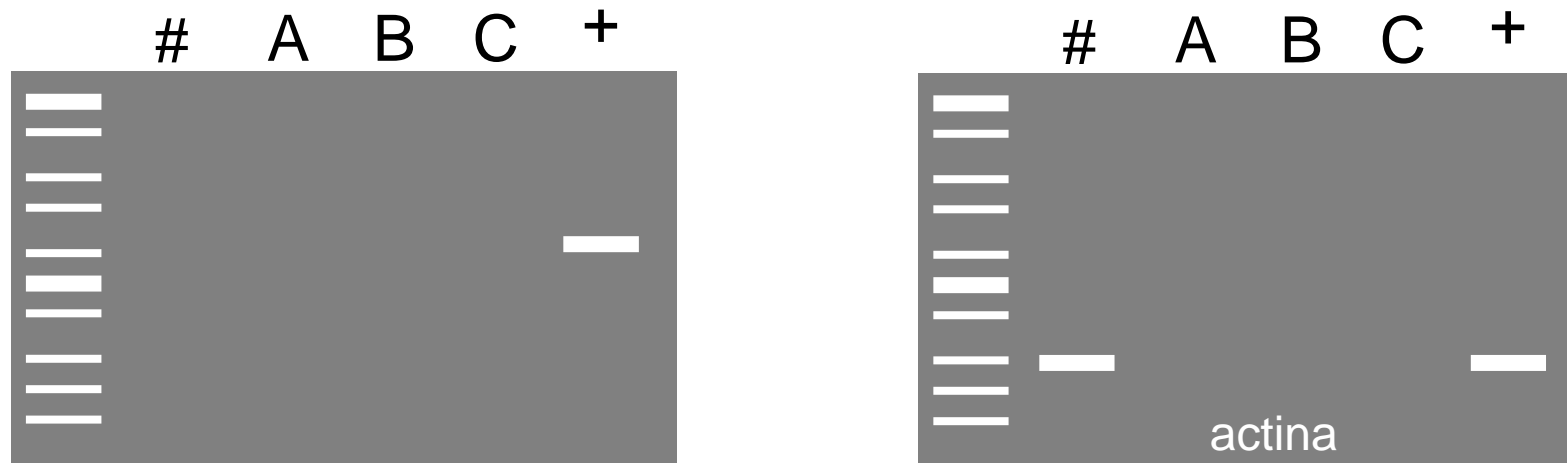


Quale controllo manca?

- #- campione da analizzare
- A- controllo per verificare che l'RNA non sia contaminato da DNA
- B- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la retrotrascrizione sia contaminato da DNA
- C- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la PCR sia contaminato di DNA



- #- campione da analizzare
- A- controllo per verificare che l'RNA non sia contaminato da DNA
- B- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la retrotrascrizione sia contaminato da DNA
- C- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la PCR sia contaminato di DNA



- Devo sempre avere un controllo positivo, per verificare che la reazione di amplificazione sia corretta

- Inoltre, se il campione da analizzare dà un segnale negativo, verifico che l'RNA sia "buono" amplificando un'altra sequenza con un'altra coppia di primers (ad es. un gene "housekeeping" come l'actina)

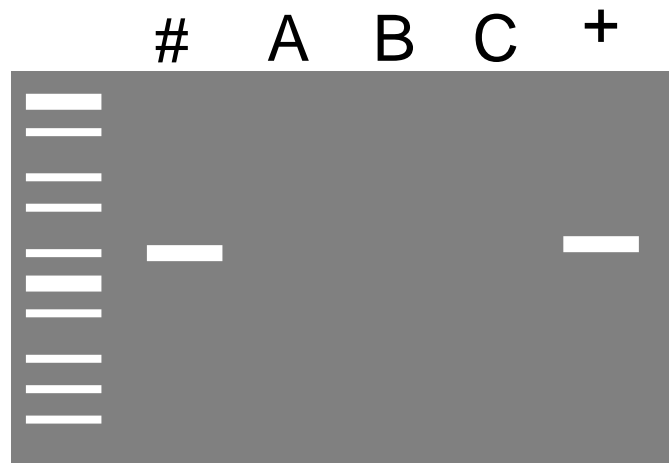
Reazione di PCR, con TUTTI i controlli

(provate a compilare il modulo, compresa la mix, ma non inviatemelo)

STOCK	campione	Ctr A	Ctr B	Ctr C	ctr +	MIX	Conc. finale
cDNA	μl						
5 x buffer Pfu	μl						-> 1x
primer senso 10 μM	μl						-> 200 nM
primer antisenso 10 μM	μl						-> 200 nM
100% glicerolo	μl						-> 5%
10mM dNTPs	μl						-> 200 μM
Taq polimerasi 1u/ul	μl						-> 1u
H ₂ O	μl						
totale	50 μl						

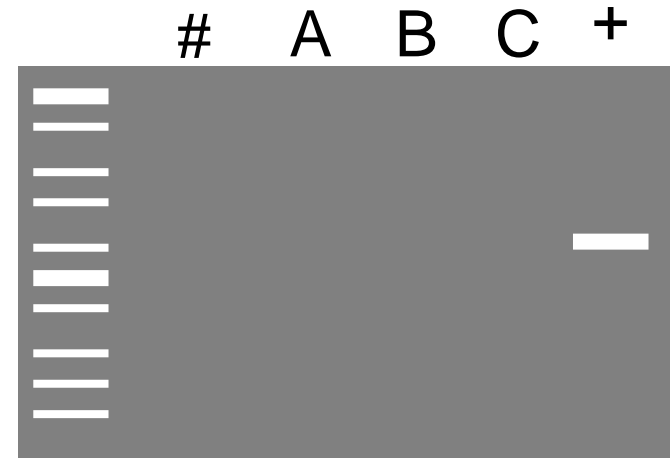
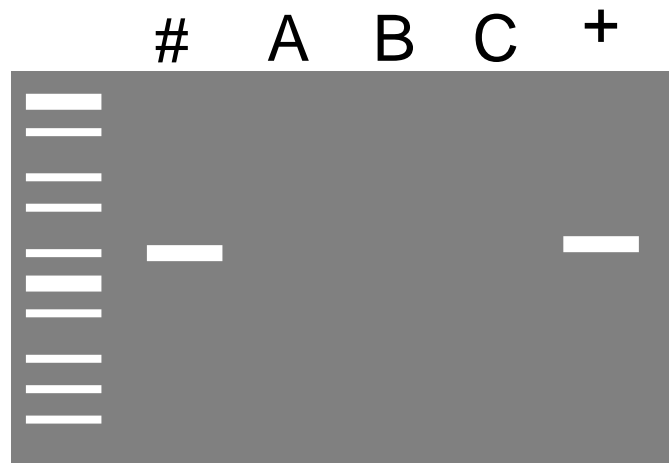
- Per ogni campione, amplifico **5μl** di cDNA (prodotto della retrotrascrizione)

- #- campione da analizzare
- A- controllo per verificare che l'RNA non sia contaminato da DNA
- B- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la retrotrascrizione sia contaminato da DNA
- C- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la PCR sia contaminato di DNA



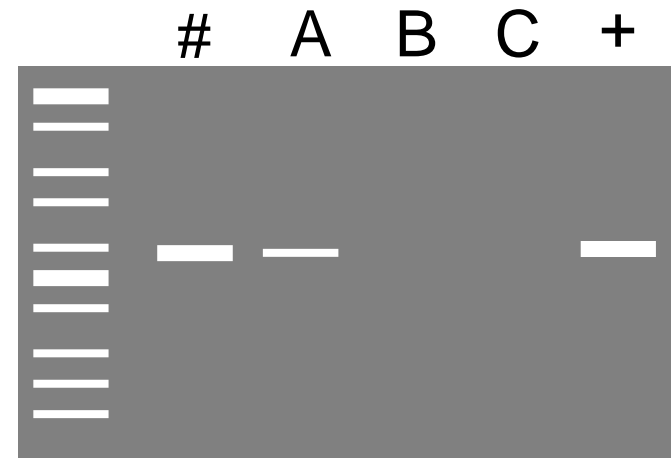
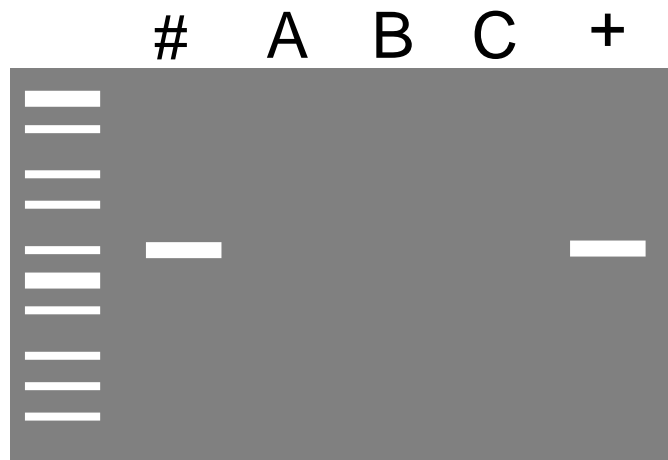
Commenta il risultato

- #- campione da analizzare
- A- controllo per verificare che l'RNA non sia contaminato da DNA
- B- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la retrotrascrizione sia contaminato da DNA
- C- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la PCR sia contaminato di DNA



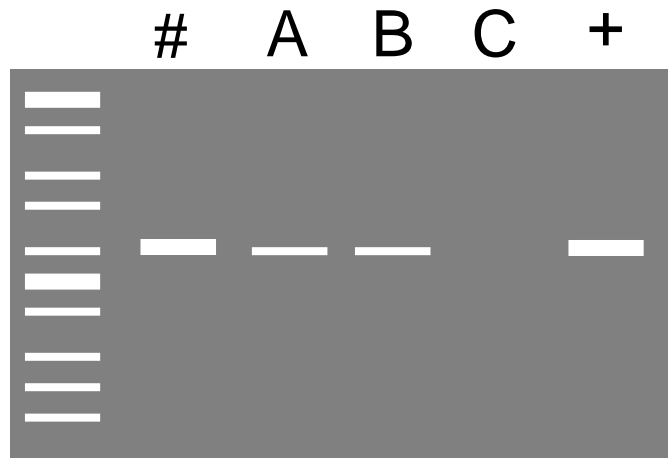
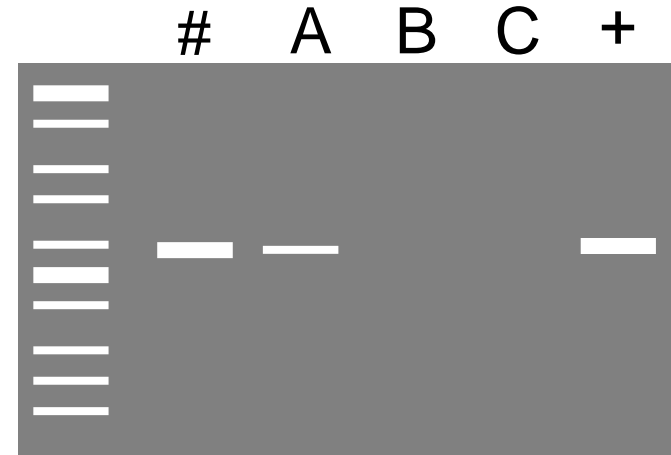
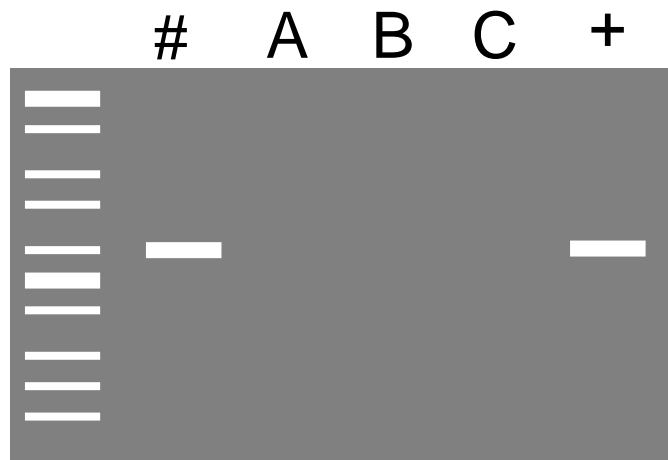
Commenta il risultato

- #- campione da analizzare
- A- controllo per verificare che l'RNA non sia contaminato da DNA
- B- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la retrotrascrizione sia contaminato da DNA
- C- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la PCR sia contaminato di DNA



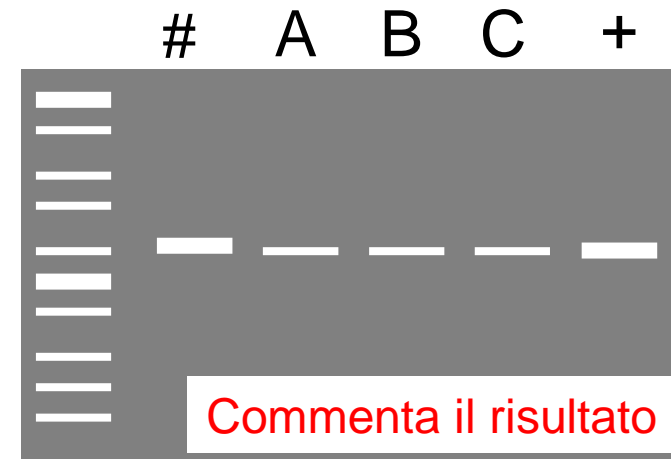
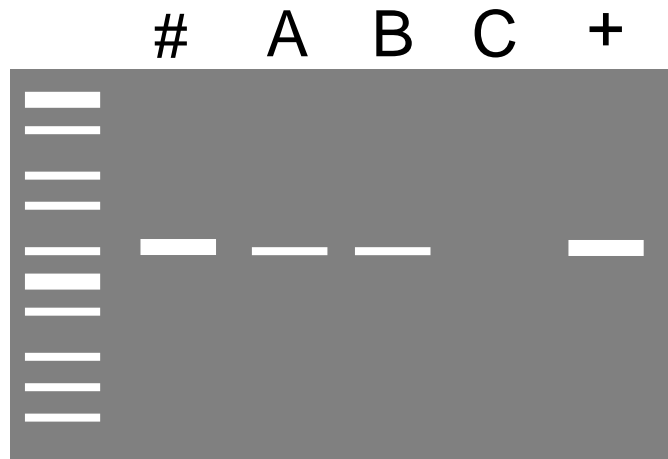
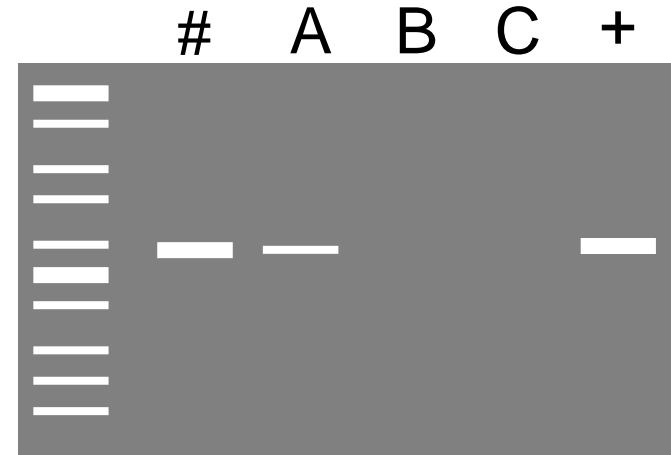
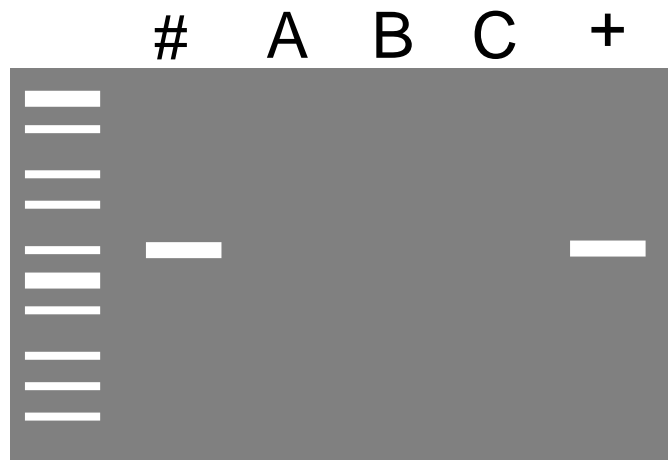
Commenta il risultato

- #- campione da analizzare
- A- controllo per verificare che l'RNA non sia contaminato da DNA
- B- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la retrotrascrizione sia contaminato da DNA
- C- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la PCR sia contaminato di DNA

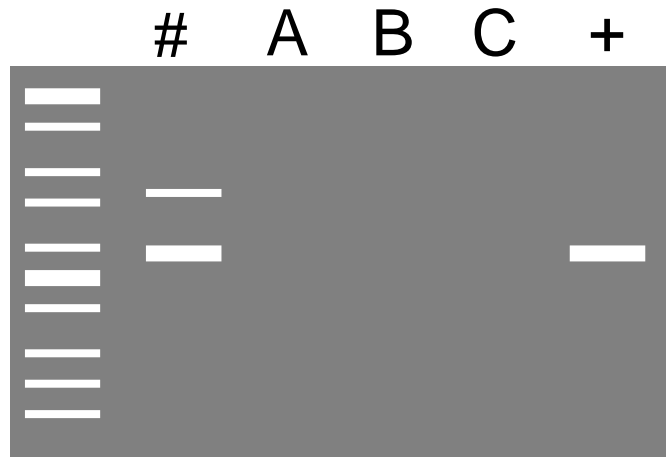


Commenta il risultato

- #- campione da analizzare
- A- controllo per verificare che l'RNA non sia contaminato da DNA
- B- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la retrotrascrizione sia contaminato da DNA
- C- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la PCR sia contaminato di DNA

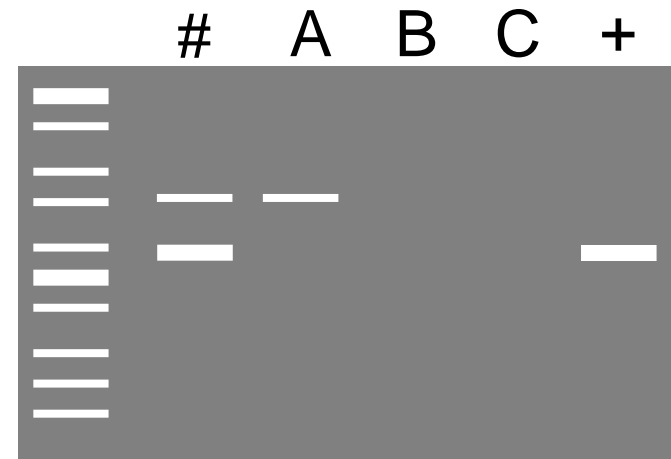
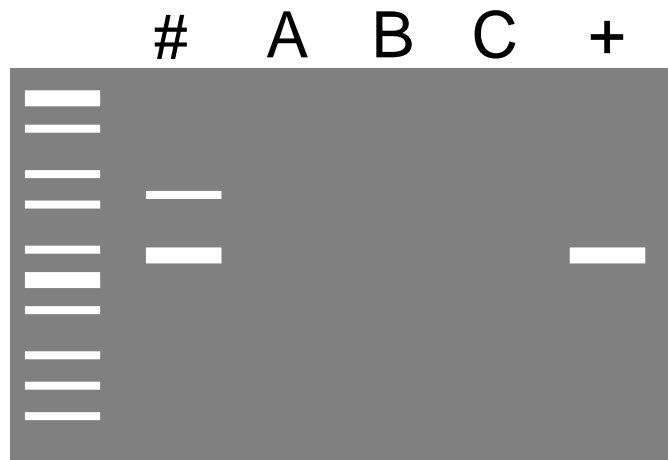


- #- campione da analizzare
- A- controllo per verificare che l'RNA non sia contaminato da DNA
- B- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la retrotrascrizione sia contaminato da DNA
- C- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la PCR sia contaminato di DNA



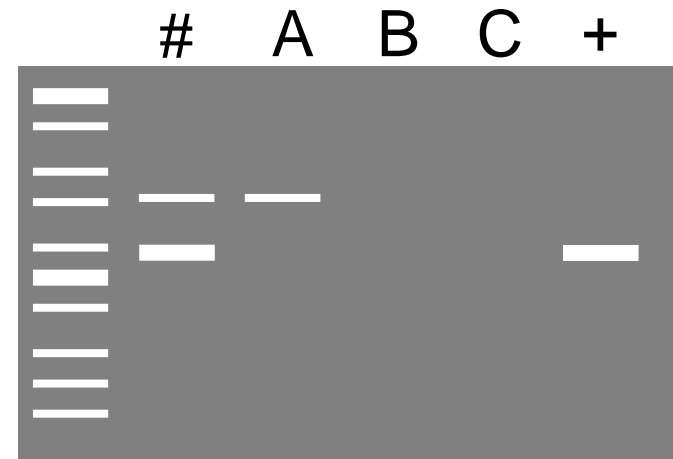
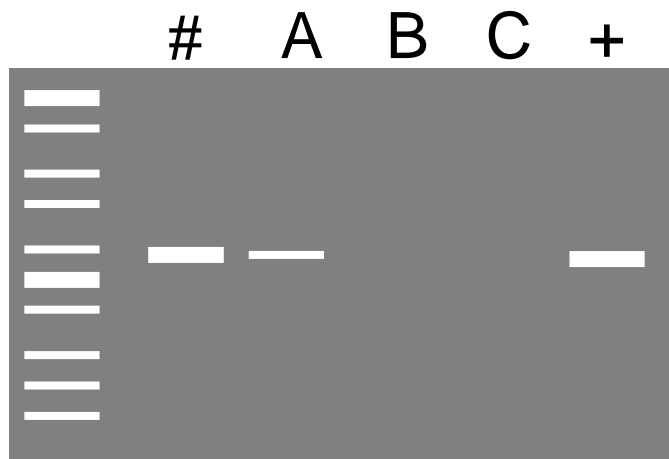
Commenta il risultato

- #- campione da analizzare
- A- controllo per verificare che l'RNA non sia contaminato da DNA
- B- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la retrotrascrizione sia contaminato da DNA
- C- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la PCR sia contaminato di DNA



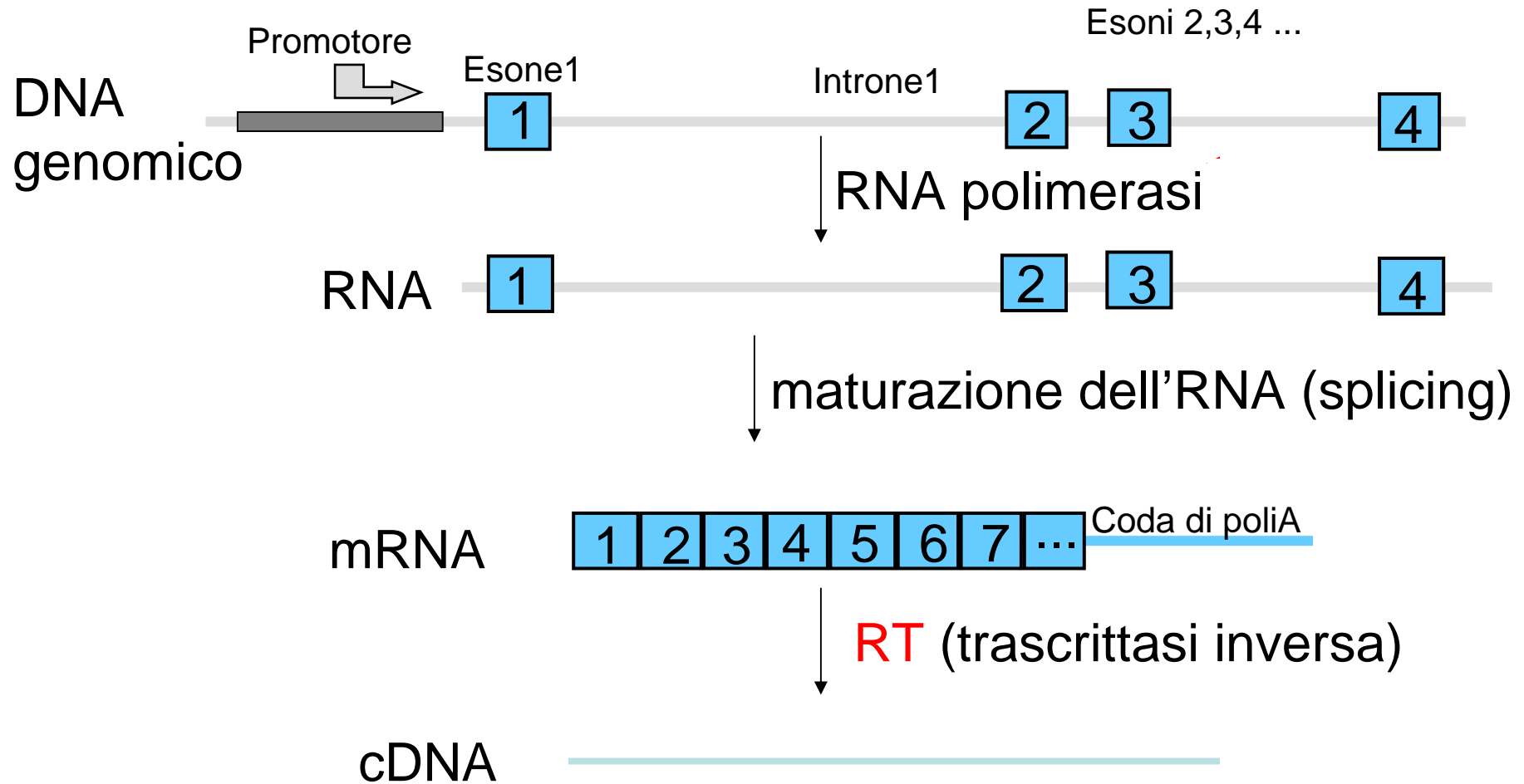
Commenta il risultato

- #- campione da analizzare
- A- controllo per verificare che l'RNA non sia contaminato da DNA
- B- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la retrotrascrizione sia contaminato da DNA
- C- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la PCR sia contaminato di DNA

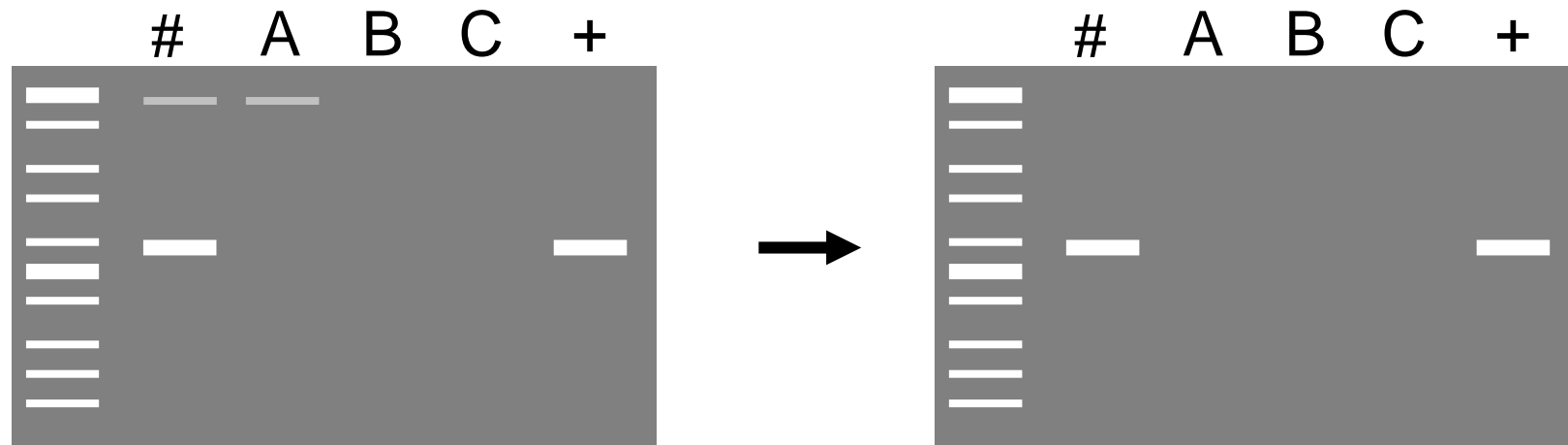


- Quale strategia potete adottare per evitare di amplificare il DNA genomico? Pensateci e trovate una soluzione

RT-PCR

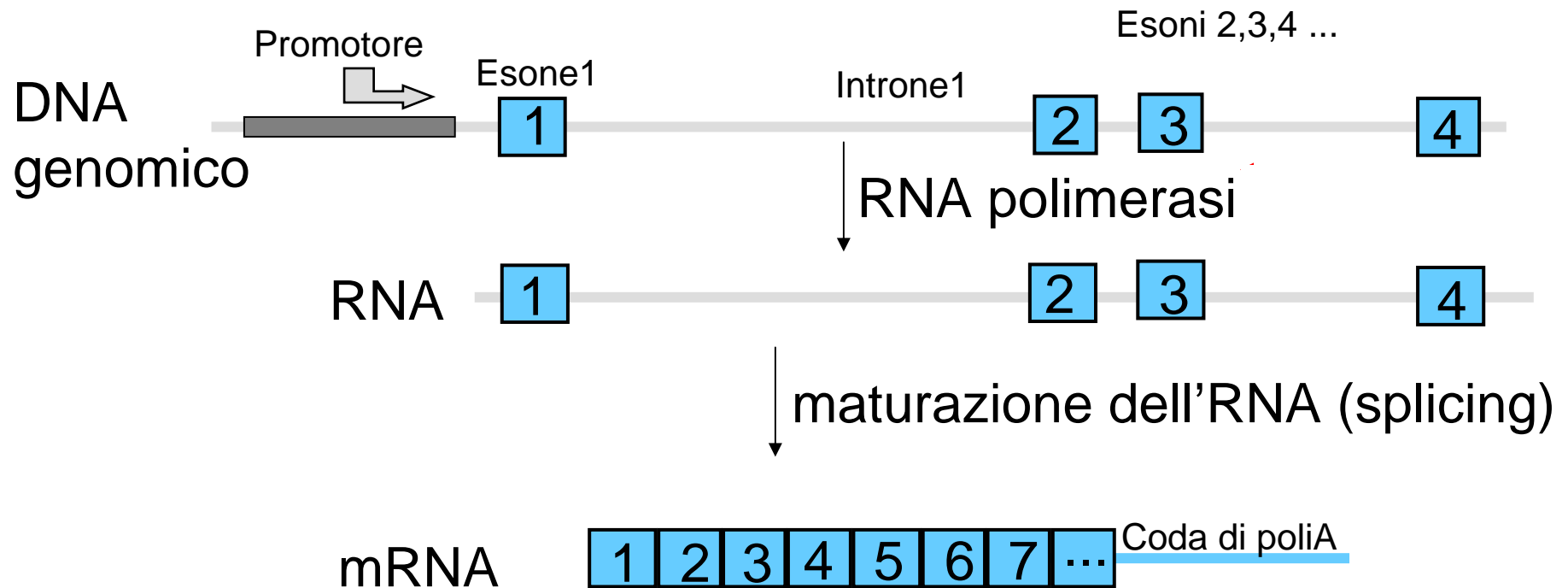


- #- campione da analizzare
- A- controllo per verificare che l'RNA non sia contaminato da DNA
- B- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la retrotrascrizione sia contaminato da DNA
- C- controllo per verificare che nessuno dei reagenti utilizzati per la PCR sia contaminato di DNA



- Disegno i primers su due esoni molto lontani (separati da un introne lungo almeno 1000bp, ma possibilmente anche di più) per evitare che durante la reazione il DNA genomico venga amplificato.

Come posso ottenere la mappa esoni-introni?



- di molti geni si può trovare la mappa esoni-introni nel sito ncbi o in ensemble già fatta
- se non la trovate, per ottenere la mappa:
 - allineate la sequenza che avete ottenuto della NRG1 con la sequenza genomica di ratto
 - otterrete una serie di allineamenti dall'esone più lungo all'esone più corto; impostate il programma in modo che gli allineamenti siano ordinati a partire dallo start della query
 - calcolate le dimensioni degli introni che separano i diversi esoni sottraendo le coordinate delle corrispondenti regioni genomiche

NCBI HomePage - Mozilla Firefox

File Edit View History Bookmarks Tools Help

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/

Google ncbi

NCBI HomePage

NCBI

National Center for Biotechnology Information

National Library of Medicine National Institutes of Health

PubMed All Databases **BLAST** OMIM Books TaxBrowser Structure

Search All Databases Go

SITE MAP

Alphabetical List
Resource Guide

About NCBI

An introduction to
NCBI

GenBank

Sequence
submission support
and software

Literature databases

PubMed, OMIM,
Books, and PubMed
Central

Molecular databases

Sequences,
structures, and
taxonomy

Genomic biology

The human genome,
whole genomes,
and related
resources

Tools

Data mining

Research at NCBI

People, projects,
and seminars

What does NCBI do?

Established in 1988 as a national resource for molecular biology information, NCBI creates public databases, conducts research in computational biology, develops software tools for analyzing genome data, and disseminates biomedical information - all for the better understanding of molecular processes affecting human health and disease. [More...](#)

GenBank vs. RefSeq
Confused about the distinctions between GenBank, RefSeq, TPA and UniProt? [Click here for a brief description of the databases and their differences.](#)

New Protein Clusters
Entrez Protein Clusters database

The new Entrez Protein Clusters database is a collection of Reference Sequence (RefSeq) proteins, from the complete genomes of prokaryotes, plasmids, and organelles, that have been grouped and annotated based on sequence similarity and protein function. [Click here to find out more about the Protein Clusters database.](#)

PubMed Central
An archive of biomedical and life sciences journals

- Free fulltext
- Over 1,100,000 articles from over 340 journals
- Linked to PubMed and fully searchable

Use of PubMed Central requires no registration or fee. Access it from any computer with an Internet connection.

Hot Spots

- Assembly Archive
- Clusters of orthologous groups
- Coffee Break, Genes & Disease, NCBI Handbook
- Electronic PCR
- Entrez Home
- Entrez Tools
- Gene expression omnibus (GEO)
- Human genome resources
- Influenza Virus Resource
- Map Viewer
- dbMHC
- Mouse genome resources
- My NCBI
- ORF finder
- Rat genome resources

Done

start Biotechnologie cellulari ... Microsoft PowerPoint ... Posta in arrivo per gi... NCBI HomePage - Mo... IT 14.06

BLAST: Basic Local Alignment and Search Tool - Mozilla Firefox

File Edit View History Bookmarks Tools Help

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi

Learn more about how to use the new BLAST design

BLAST Assembled Genomes

Choose a species genome to search, or [list all genomic BLAST databases](#).

- Human
- Mouse
- Rat
- Arabidopsis thaliana*
- Oryza sativa*
- Bos taurus*
- Danio rerio*
- Drosophila melanogaster*
- Gallus gallus*
- Pan troglodytes*
- Microbes
- Apis mellifera*

Basic BLAST

Choose a BLAST program to run.

nucleotide blast	Search a nucleotide database using a nucleotide query <i>Algorithms:</i> blastn, megablast, discontinuous megablast
protein blast	Search protein database using a protein query <i>Algorithms:</i> blastp, psi-blast, phi-blast
blastx	Search protein database using a translated nucleotide query
tblastn	Search translated nucleotide database using a protein query
tblastx	Search translated nucleotide database using a translated nucleotide query

Specialized BLAST

Choose a type of specialized search (or database name in parentheses.)

- Search [trace archives](#)
- Find [conserved domains](#) in your sequence (cds)
- Find sequences with similar [conserved domain architecture](#) (cdart)
- Search sequences that have [gene expression profiles](#) (GEO)
- Search [immunoglobulins](#) (IgBLAST)
- Search for [SNPs](#) (snp)
- Screen sequence for [vector contamination](#) (vecscreen)
- [Align](#) two sequences using BLAST (bl2seq)

New Gene Info in BLAST Results

BLAST results now contain information from the NCBI gene database. These can be found under the definition lines of the alignments where applicable. The information includes gene database IDs, gene name and the gene entry title as well as the organism associated with the matching gene entry. A link will take you to the main record for the gene. Also represented is an indication of how many PubMed records are directly associated with the gene entry as a measure of how much literature is available.
2007-11-28 07:00:00

[More BLAST news...](#)

Tip of the Day

Using Tree View to Examine Relationships Between Sequences.

The new Tree View option on the NCBI Web BLAST service presents a dendrogram or tree display that clusters sequences according to their distances from the query sequence. This display is helpful for recognizing the presence of aberrant or unusual sequences or potentially natural groupings of related sequences such as members of a gene families or homologs from other species in the BLAST output.

[More tips...](#)

Copyright | Disclaimer | Privacy | Accessibility | Contact | Send feedback on new interface

Done

start Sequence Microsoft PowerPoint ... NCBI Sequence View... BLAST: Basic Local Ali... IT 13.15

Search Map Viewer [input] Go Clear

- BLAST**
- Overview
- FAQs
- News
- Manual
- References
- Retrieve results

Genome Project

BLAST Rat Sequences.

Enter an accession, gi, or a sequence in FASTA format:

Or, choose a file to upload

Set subsequence: (optional)

From: To:

Database:

genome (all assemblies) 8014 sequences

Program:

megaBLAST: Compare highly related nucleotide sequences

Optional parameters

Expect	Filter	Descriptions	Alignments
0.01	default	100	100

BLAST Rat Sequences.

- References
- Retrieve results
- Genome Project**

```

781 ccgtaagat actgtgcaa gtgccc aaat gagttactg gtgatcggtg
ccaaaactac
841 gtaatggcca gttctacag taegtccact ccccttctgt ctctgectga
gtaggagcat
901 gctcagtega tget
//

```

Or, choose a file to upload

Set subsequence: (optional)

From: To:

Database:

genome (all assemblies) 8014 sequences

Program:

megaBLAST: Compare highly related nucleotide sequences

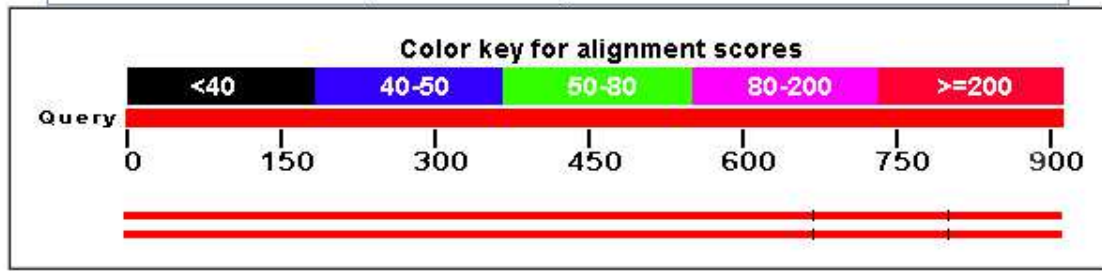
Optional parameters

Expect	Filter	Descriptions	Alignments
0.01	default	100	100

Advanced options:

Get the URL with preset values ?

Mouse over to see the define, click to show alignments



[Distance tree of results](#) **NEW**

Sequences producing significant alignments:

	Score (Bits)	E Value
ref NW_047474.1 Rn16_WGA1996_4 Rattus norvegicus chromosome 1...	1238	0.0
ref NW_001084719.1 Rn16_WGA2784_4 Rattus norvegicus chromosom...	1238	0.0

Alignments

Get selected sequences Select all Deselect all Distance tree of results

> [ref|NW_047474.1|Rn16_WGA1996_4](#) **D** Rattus norvegicus chromosome 16 genomic contig, reference assembly (based on RGSC v3.4) Length=4664721

Features in this part of subject sequence:
[neuregulin 1](#)

Score = 1238 bits (670), Expect = 0.0
Identities = 670/670 (100%), Gaps = 0/670 (0%)
Strand=Plus/Plus

```

Query 1      ATGGAGATTTATTCCCAGACATGTCTGAGGTAGCTGGCGGGAGGTCTCCAGCCCCCTCC 60
            |||
Sbjct 3922291 ATGGAGATTTATTCCCAGACATGTCTGAGGTAGCTGGCGGGAGGTCTCCAGCCCCCTCC 3922350

```

Completato

> [ref|NW_047474.1|] Rn16 WGA1996 4 D Rattus norvegicus chromosome 16 genomic contig, reference assembly
(based on RGSC v3.4)
Length=4664721

Features in this part of subject sequence:
[neuregulin 1](#)

Score = 1238 bits (670), Expect = 0.0
Identities = 670/670 (100%), Gaps = 0/670 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query	1	ATGGAGATTTATTCCCCAGACATGTCTGAGGTAGCTGGCGGGAGGTCCTCCAGCCCCCTCC	60
Sbjct	3922291	ATGGAGATTTATTCCCCAGACATGTCTGAGGTAGCTGGCGGGAGGTCCTCCAGCCCCCTCC	3922350
Query	61	ACTCAGCTGAGTGCAGCCCCATCTCTTGATGGGCTTCCGGCAGCGGAGGAACATATACCA	120
Sbjct	3922351	ACTCAGCTGAGTGCAGCCCCATCTCTTGATGGGCTTCCGGCAGCGGAGGAACATATACCA	3922410
Query	121	GACACCCACACAGAAGATGAGAGAAGCCCTGGACTCCTGGGCCTGGCGGTGCCCTGCTGT	180
Sbjct	3922411	GACACCCACACAGAAGATGAGAGAAGCCCTGGACTCCTGGGCCTGGCGGTGCCCTGCTGT	3922470
Query	181	GTGTGCCTGGAAGCTGAGCGCCTGAGAGGGTGTCTCAACTCCGAGAAGATCTGCATTGTT	240
Sbjct	3922471	GTGTGCCTGGAAGCTGAGCGCCTGAGAGGGTGTCTCAACTCCGAGAAGATCTGCATTGTT	3922530
Query	241	CCCATTCTGGCTTGCCCTAGTCAGCCTCTGCCTCTGCATTGCTGGCCTGAAAGTGGGTATTT	300
Sbjct	3922531	CCCATTCTGGCTTGCCCTAGTCAGCCTCTGCCTCTGCATTGCTGGCCTGAAAGTGGGTATTT	3922590
Query	301	GTGGACAAGATATTTGAATACGACTCTCCTACCCACCTTGACCCTGGGGGGTTAGGCCAG	360
Sbjct	3922591	GTGGACAAGATATTTGAATACGACTCTCCTACCCACCTTGACCCTGGGGGGTTAGGCCAG	3922650
Query	361	GACCCTGTGATTTCTCTGGATCCAAGTGTGCCCCAGCCATTTTGGTATCATCTGAGGCA	420
Sbjct	3922651	GACCCTGTGATTTCTCTGGATCCAAGTGTGCCCCAGCCATTTTGGTATCATCTGAGGCA	3922710
Query	421	TACACTTCACCTGTCTCTAAGGCTCAGTCTGAAGCTGGGGCTCATGTTACAGTACAAGGT	480
Sbjct	3922711	TACACTTCACCTGTCTCTAAGGCTCAGTCTGAAGCTGGGGCTCATGTTACAGTACAAGGT	3922770
Query	481	GACCATCTGCTCTGCGCCCTCTCAAGCTTCAGCACTAGCCAGCCCAAGAGCCCTCTCT	540

Features in this part of subject sequence:
[neuregulin 1](#)

Score = 233 bits (126), Expect = 2e-58
Identities = 130/132 (98%), Gaps = 0/132 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query 671      CCACATCAACATCCACGACTGGGACCAGCCATCTCATAAAGTGTGCCGGAGAAGGAGAAAA 730
            |||
Sbjct 3988778  CCACATCGACATCCACGACTGGGACCAGCCATCTCATAAAGTGTGCCGGAGAAGGAGAAAA 3988837

Query 731      CTTTCTGTGTGAATGGGGGCGAGTGCTTCACGGTGAAGGACCTGTCAAACCCGTCAAGAT 790
            |||
Sbjct 3988838  CTTTCTGTGTGAATGGGGGCGAGTGCTTCACGGTGAAGGACCTGTCAAACCCGTCAAGAT 3988897

Query 791      ACTTGTGCAAGT 802
            |||
Sbjct 3988898  ACTTGTGCAAGT 3988909
```

Features in this part of subject sequence:
[neuregulin 1](#)

Score = 211 bits (114), Expect = 9e-52
Identities = 114/114 (100%), Gaps = 0/114 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query 801      GTGCCCAAATGAGTTTACTGGTGATCGTTGCCAAAACACTACGTAATGGCCAGCTTCTACAG 860
            |||
Sbjct 4000591  GTGCCCAAATGAGTTTACTGGTGATCGTTGCCAAAACACTACGTAATGGCCAGCTTCTACAG 4000650

Query 861      TACGTCCACTCCCTTTCTGTCTCTGCCTGAGTAGGAGCATGCTCAGTCGATGCT 914
            |||
Sbjct 4000651  TACGTCCACTCCCTTTCTGTCTCTGCCTGAGTAGGAGCATGCTCAGTCGATGCT 4000704
```

>[ref|NW_001084719.1|]Rn16 WGA2784.4 [D] Rattus norvegicus chromosome 16 genomic contig, alternate assembly
(based on Celera assembly)
Length=30261306

Features in this part of subject sequence:
[neuregulin 1](#)

PubMed All Databases BLAST OMIM Books TaxBrowser Structure
Search Gene for NRG1 Go

- SITE MAP**
 - Alphabetical List
 - Resource Guide
- About NCBI**
 - An introduction to NCBI
- GenBank**
 - Sequence submission support and software
- Literature databases**
 - PubMed, OMIM, Books, and PubMed Central
- Molecular databases**
 - Sequences, structures, and taxonomy
- Genomic biology**
 - The human genome, whole genomes, and related

What does NCBI do?

Established in 1988 as a national resource for molecular biology information, NCBI creates public databases, conducts research in computational biology, develops software tools for analyzing genome data, and disseminates biomedical information - all for the better understanding of molecular processes affecting human health and disease. [More...](#)

GenBank vs. RefSeq

Confused about the distinctions between GenBank, RefSeq, TPA and UniProt? [Click here](#) for a brief description of the databases and their differences.

New Protein Clusters
Entrez Protein Clusters database

The new Entrez Protein Clusters database is a collection of Reference Sequence (RefSeq) proteins, from the complete genomes of prokaryotes, plasmids, and organelles, that have been grouped and annotated based on sequence similarity and protein function. [Click here](#) to find out more about the [Protein Clusters](#) database.

Hot Spots

- Assembly Archive
- Clusters of orthologous groups
- Coffee Break, Genes & Disease, NCBI Handbook
- Electronic PCR
- Entrez Home
- Entrez Tools
- Gene expression omnibus (GEO)
- Human genome resources
- Influenza Virus Resource
- Map Viewer
- dbMHC

NRG1 - Gene Results - Mozilla Firefox

File Modifica Visualizza Cronologia Segnalibri Strumenti ?

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gene&cmd=search&term=NRG1

mozilla.org Sistema Piemonte Hostelbookers availabi... My Cinema Torino: Progra... ALPITALIA - Bollettino... TORINO 2007 - Winte... DBAU - Cell Biology Gr...

NRG1 - Gene Results

Related Sites

- BLAST
- Entrez Genome
- Genome
- Projects
- Genomic Biology
- GEO
- HomoloGene
- Map Viewer
- OMIM
- Probe
- RefSeq
- UniGene
- UniSTS

Resources

- NIH cDNA
- Tutorial

Entrez

- Global Search
- About Help

NCBI

- Home
- Site Map
- Search
- Handbook

Chromosome: 8; Location: 8p12
Annotation: Chromosome 8, NC_000008.9 (31617043..31618101)
Annotation: Chromosome 8, NC_000008.9 (32525295..32741615)
MIM: 142445
GeneID: 3084

3: [Nrg1](#) Links

Official Symbol Nrg1 and Name: neuregulin 1 [*Mus musculus*]
Other Aliases: 6030402G23Rik, ARIA, D230005F13Rik, GGF, GGFII, HRG, HRGalpha, Hgl, NDF, SMDF
Other Designations: heregulin
Chromosome: 8; Location: 8 A3
Annotation: Chromosome 8, NC_000074.5 (32928500..33028675, complement)
GeneID: 211323

4: [Nrg1](#) Links

Official Symbol Nrg1 and Name: neuregulin 1 [*Rattus norvegicus*]
Other Designations: neuregulin 1 type III beta 3
Chromosome: 16; Location: 16q12.3
Annotation: Chromosome 16, NC_005115.2 (63937796..64126187)
GeneID: 112400

5: [NRG1](#) Links

protein coding [*Saccharomyces cerevisiae*]
Other Aliases: YDR043C
Other Designations: Nrg1p; Transcriptional repressor that recruits the Cyc8p-Tup1p complex to promoters; mediates glucose repression and negatively regulates a variety of processes including filamentous growth and alkaline pH response
Chromosome: IV
Annotation: Chromosome IV, NC_001136.8 (542672..543367, complement)
GeneID: 851613

Completato

start

NRG1 - Gene ... NCBI Sequen... D:\Giovanna)... Microsoft Pow... IT 23.57

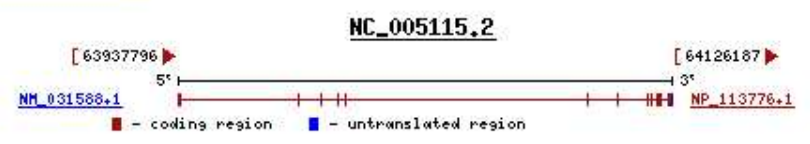
Official Symbol	Nrg1	provided by RGD
Official Full Name	neuregulin 1	provided by RGD
Primary source	RGD:621341	
See related	Ensembl:ENSRNOG00000010392	
Gene type	protein coding	
RefSeq status	Provisional	
Organism	Rattus norvegicus	
Lineage	<i>Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Glires; Rodentia; Sciurognathi; Muroidea; Muridae; Murinae; Rattus</i>	
Summary	ligand for ErbB3 and ErbB4 receptors; gene produces many different alternative splicing isoforms; involved in neural and organ development [RGD]	

- Genomic context
- Bibliography
- General gene information
- General protein information
- Reference Sequences
- Related Sequences
- Additional Links

- Links** Explain
- Conserved Domains
 - Genome
 - GEO Profiles
 - HomoloGene
 - Map Viewer
 - CoreNucleotide
 - Nucleotide
 - Full text in PMC
 - Probe
 - Protein
 - PubMed
 - PubMed (GeneRIF)
 - SNP: Genotype
 - Taxonomy
 - Ensembl
 - Evidence Viewer
 - KEGG
 - ModelMaker
 - RGD
 - UniGene
 - LinkOut

Genomic regions, transcripts, and products

Go to [reference sequence details](#)



Genomic context

chromosome: 16; Location: 16q12.3 [See Nrg1 in MapViewer](#)

[62680960] [64895996]

Your Ensembl

- Login or Register
- About User Accounts

ENSRNOG00000010392

- Gene information
- Genomic sequence
- Genomic sequence alignment
- Resequencing alignment
- Gene splice site image
- Gene tree info.
- Gene variation info.
- ID history
- Compare SNPs in transcript
- Transcript information
- Exon information
- Protein information
- Export gene data

Chromosome 16
63,053,630 - 64,126,187

View of Chromosome 16

Ensembl Gene Report for ENSRNOG00000010392

Gene	Nrg1 (RGD Symbol) To view all Ensembl genes linked to the name click here .					
Ensembl Gene ID	ENSRNOG00000010392					
Genomic Location	This gene can be found on Chromosome 16 at location 63,053,630-64,126,187 . The start of this gene is located in Contig RNOR03243469 .					
Description	Pro-neuregulin-1, membrane-bound isoform precursor (Pro-NRG1) [Contains: Neuregulin-1 (Neu differentiation factor) (Heregulin) (HRG) (Acetylcholine receptor-inducing activity) (ARIA) (Sensory and motor neuron-derived factor) (Glial growth factor)]. Source: Uniprot/SWISSPROT P43322					
Prediction Method	Genes were annotated by the Ensembl automatic analysis pipeline using either a GeneWise/Exonerate model from a database protein or a set of aligned cDNAs followed by an ORF prediction. GeneWise/Exonerate models are further combined with available aligned cDNAs to annotate UTRs (For more information see V.Curwen et al., Genome Res. 2004 14:942-50)					
Transcripts	P43322-3	ENSRNOT00000013991	ENSRNOP00000013991	[Transcript info]	[Exon info]	[Peptide info]
	Nrg1	ENSRNOT00000014147	ENSRNOP00000014147	[Transcript info]	[Exon info]	[Peptide info]
	Q9ESB1_RAT	ENSRNOT00000014200	ENSRNOP00000014200	[Transcript info]	[Exon info]	[Peptide info]
	NRG1_RAT	ENSRNOT00000014268	ENSRNOP00000014268	[Transcript info]	[Exon info]	[Peptide info]
	Q9ESA5_RAT	ENSRNOT00000020878	ENSRNOP00000020878	[Transcript info]	[Exon info]	[Peptide info]
	Q52NV2_RAT	ENSRNOT00000038542	ENSRNOP00000035211	[Transcript info]	[Exon info]	[Peptide info]
	P43322-2	ENSRNOT00000038549	ENSRNOP00000031467	[Transcript info]	[Exon info]	[Peptide info]
	P43322-5	ENSRNOT00000058727	ENSRNOP00000055518	[Transcript info]	[Exon info]	[Peptide info]

Features ▼

- Identificate sulla vostra sequenza teorica della NRG1 la localizzazione dei diversi esoni e calcolate le dimensioni degli introni