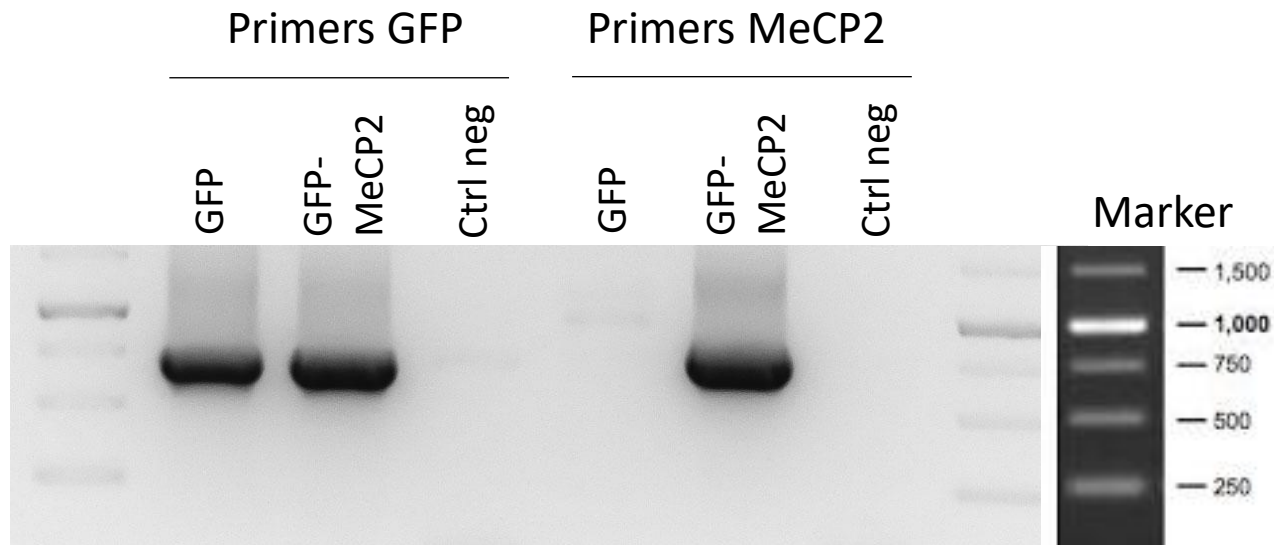


Risultati “Una settimana da Bio”

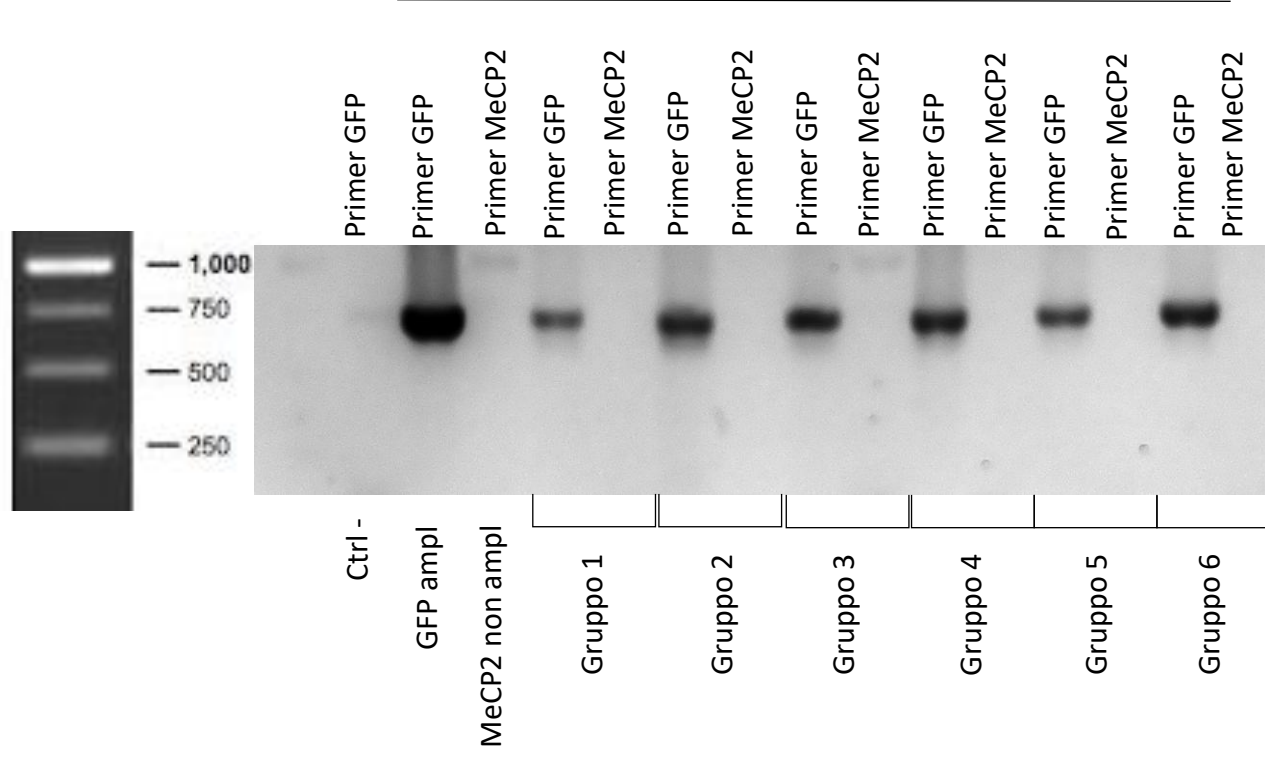
PCR



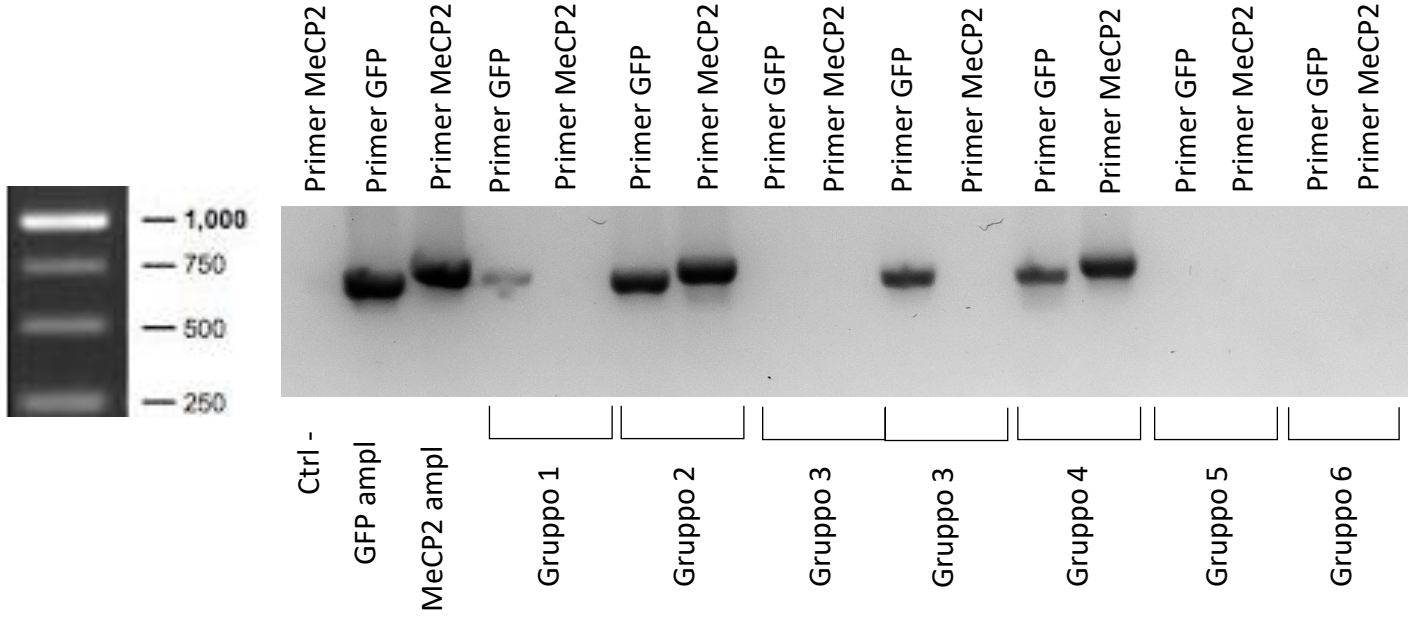
Se il plasmide contiene solo GFP → 1 banda a ~ 718 bp con primer GFP, nessuna banda con primer MeCP2

Se il plasmide contiene GFP e MeCP2 → 1 banda a ~ 718 bp con primer GFP, 1 banda a ~ 774 bp con primer MeCP2

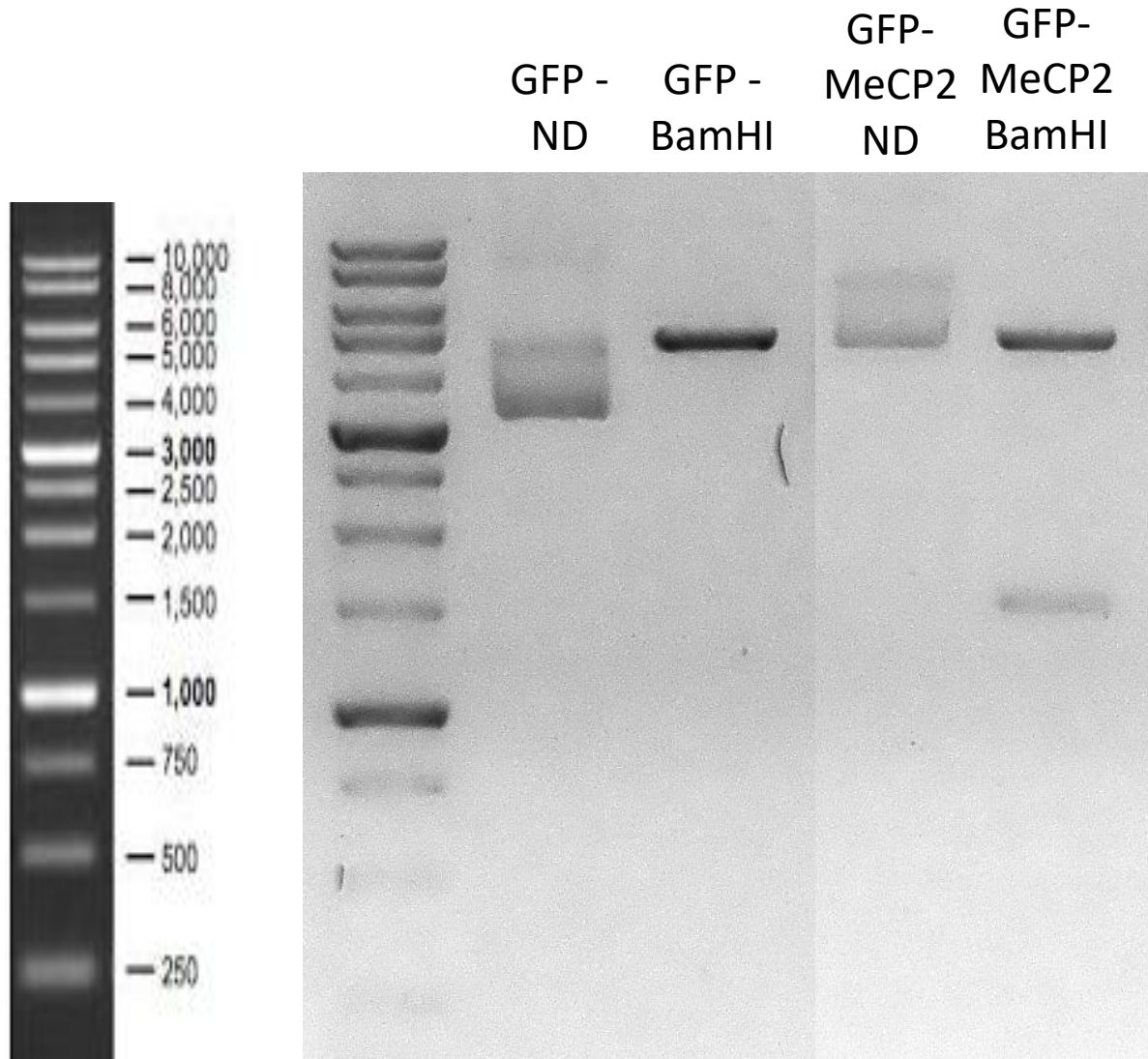
pEGFP-C1



pEGFP-C1 + MeCP2



RESTRIZIONE



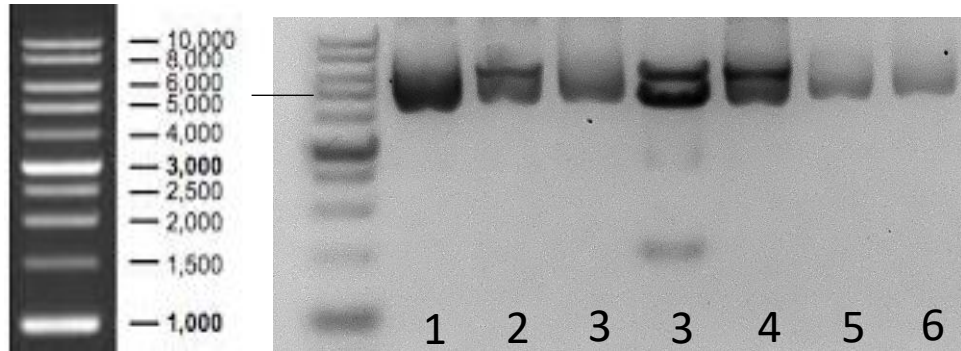
Bande attese:

GFP: linearizzato 4700 bp

GFP- MeCP2: 4700 bp + 1400 bp

pEGFP-C1 + MeCP2

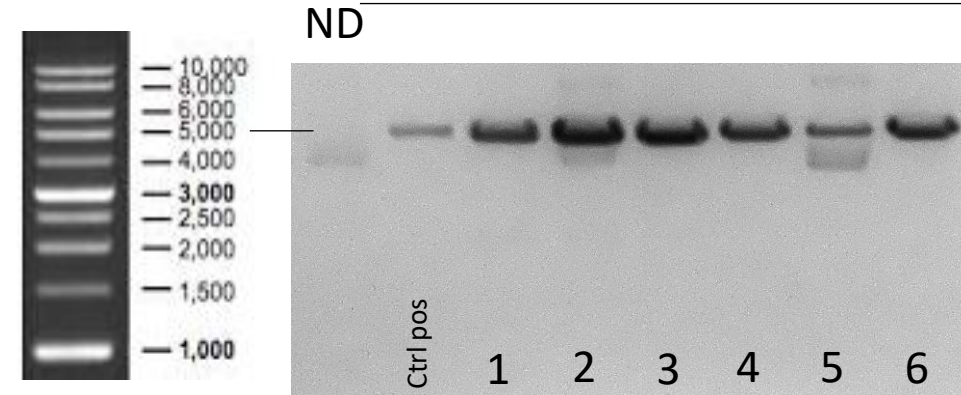
BamHI



Il DNA plasmidico è stato digerito correttamente solo nel secondo campione del gruppo numero 3. Negli altri campioni il DNA è stato linearizzato o parzialmente non digerito (forse a causa di una inadeguata quantità di enzima – errore di pipettata).

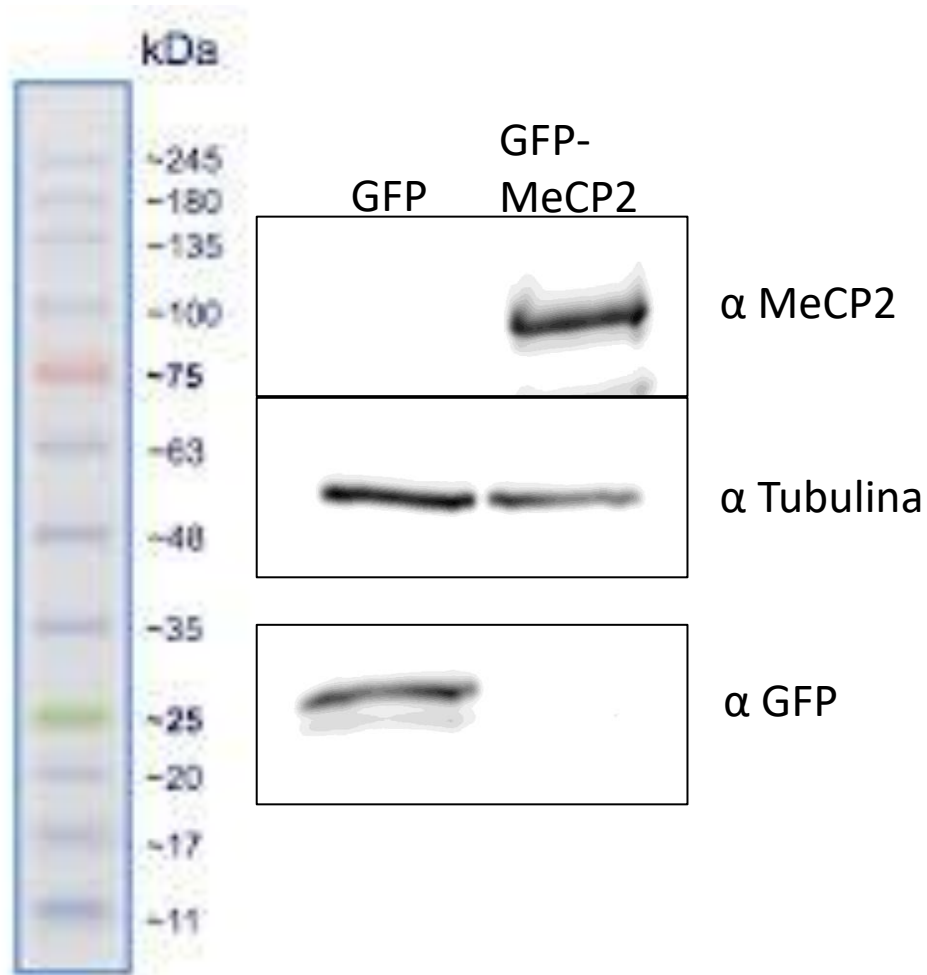
pEGFP-C1

BamHI



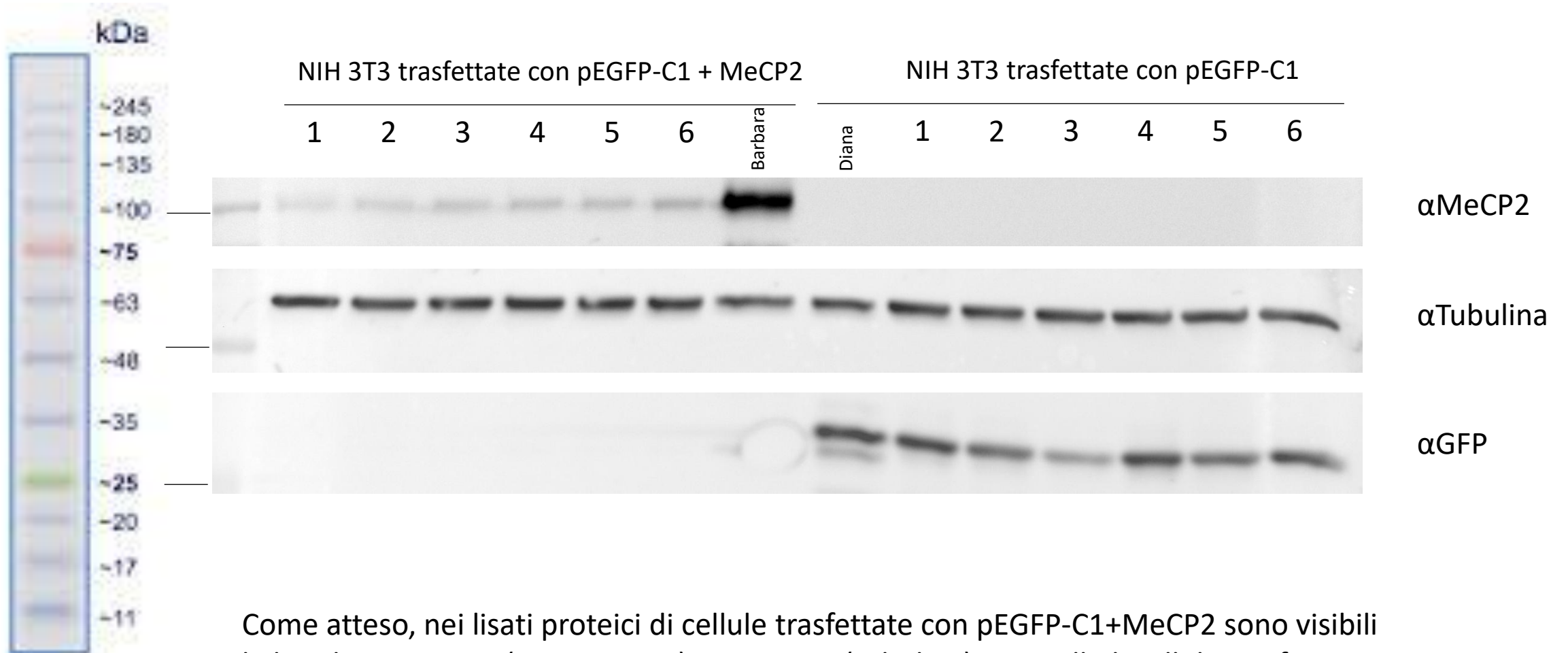
In tutti i campioni il DNA plasmidico è stato digerito correttamente (essendo il plasmide linearizzato corre più in alto rispetto quello non digerito - ND- che è superavvolto) Nei campioni dei gruppi 2 e 5 si vede sotto alla banda corretta una banda più flebile: questa è una porzione di DNA che non è stato digerito e si è quindi superavvolto (infatti corre alla stessa altezza del campione ND)

Western Blot



Bande attese:

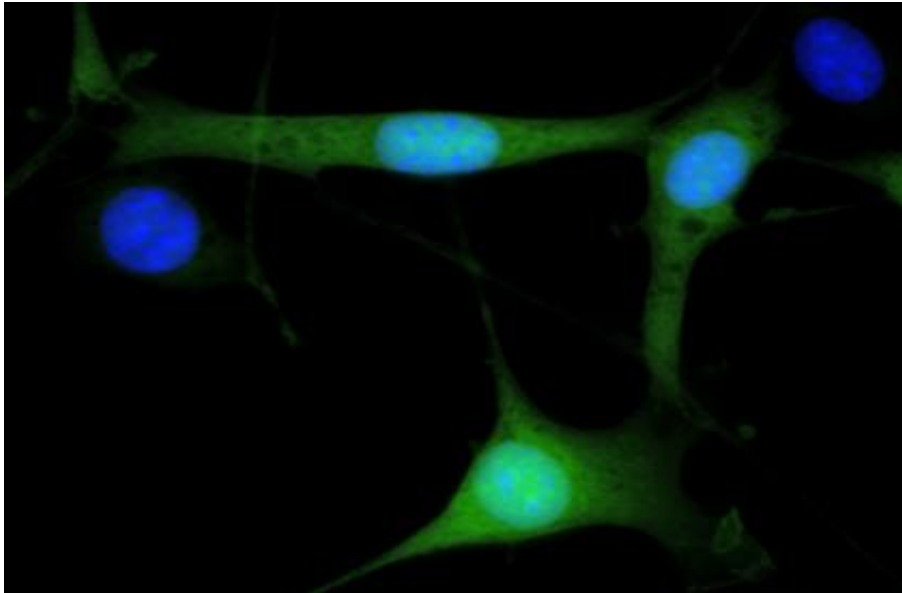
- Campioni di cellule trasfettate con pEGFP-C1 : una banda a 29 KDa (GFP), una banda a 55 KDa (tubulina), nessuna banda a 100 KDa (GFP+MeCP2)
- Campioni di cellule trasfettate con pEGFP-C1+MeCP2: una banda a 100 KDa (29 KDa GFP + 70 KDa MeCP2), una banda a 55 KDa (tubulina), nessuna banda a 29 KDa (GFP)



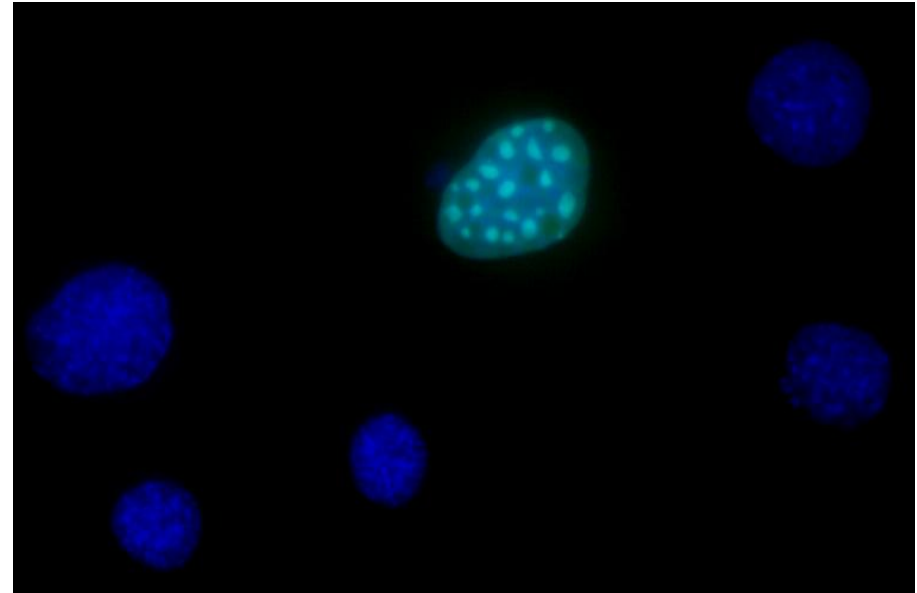
Come atteso, nei lisati proteici di cellule trasfettate con pEGFP-C1+MeCP2 sono visibili le bande a 100 KDa (GFP+MeCP2) e a 55 KDa (tubulina), in quelli di cellule trasfettate con pEGFP-C1 sono visibili le bande a 55 KDa (tubulina) e 29 KDa (GFP). Ottimo lavoro!

Immunofluorescenza

NIH 3T3 Trasfettate con pEGFP-C1



NIH 3T3 Trasfettate con pEGFP-C1 + MeCP2



Le cellule trasfettate con pEGFP-C1 mostrano una localizzazione ubiquitaria e diffusa della proteina GFP (verde).

Le cellule trasfettate con pEGFP-C1 + MeCP2 mostrano una localizzazione della proteina nel nucleo a livello dei dot di eterocromatina (verde).

I nuclei sono colorati con DAPI (Blu) che lega il DNA.