

SCHEDA DOCENTE PROGRAMMA - A.A. 2017-2018
MARIAGRAZIA PERILLI

PROGRAMMA DELL'INSEGNAMENTO DI
STRATEGIE DIAGNOSTICHE CONVENZIONALI ED AVANZATE
DEL CORSO DI STUDIO: **LM BIOTECNOLOGIE MEDICHE**

NOMERO DI CREDITI: 5 CFU

SEMESTRE : I semestre

COGNOME E NOME DOCENTE: PERILLI MARIAGRAZIA

ORARIO DI RICEVIMENTO: GIOVEDI' 14.30-17.30

SEDE PER IL RICEVIMENTO: Coppito 2, II piano, Blocco A, Stanza 22

N. TELEFONO (eventuale): 0862-433489

E-MAIL: perilli@univaq.it

1	Obiettivi del Corso	L'obiettivo generale del corso è quello di introdurre lo studente ai concetti base per la messa a punto e interpretazione dei test per la diagnostica molecolare avanzata.
2	Contenuti del corso e gli esiti di apprendimento	<ul style="list-style-type: none">• Mutazioni puntiformi.• Analisi delle mutazioni mediante reazione di polimerizzazione a catena (PCR). Campioni biologici per la PCR. Fattori che influenzano la reazione di PCR. Resa della PCR e controllo delle contaminazioni.• Multiplex-PCR e Nested-PCR• ARMS-PCR, multiplex-PCR-ARMS, ASO-PCR: ASO forward e ASO reverse.• Competitive Oligoprimering, disegno dei primers COP, parametri che influenzano il saggio di competitive oligoprimering.• PCR-semi-quantitativa: competitiva e non-competitiva• Real time PCR. Metodi di quantificazione relativa e assoluta. Real-time PCR mediante intercalante chimico, probe Taq-Man, Molecular Beacons, Probe Scorpions.• Digital PCR: principi e applicazioni• Principio della OLA (Oligonucleotide Ligation Assay) e LCR. Applicazioni.• Analisi di mutazioni non conosciute: analisi degli eteroduplex, analisi mediante taglio chimico (CCM) ed enzimatico (ECM). Sistema mutHLS, sistema DNA N-glicosilasi, sistema delle endonucleasi, sistema CEL1.• DGGE e TGGE. Domini di melting. SSCP. Ottimizzazione dei sistemi. Applicazione per la diagnosi dell'ipercolesterolemia familiare.

		<ul style="list-style-type: none"> • Analisi delle mutazioni mediante metodi di amplificazione NON-PCR: metodi TAS, 3SR, NASBA, LAT (Ligation Activated Trascrizione), Cycling Probe reaction, SDA (strand displacement amplification), Qβ Replicase amplification, Branched DNA Amplification, Hybrid capture. • Test delle proteine tronche. • Mutagenesi. Metodi random: pressione selettiva, mutagenesi per saturazione, DNA shuffling. Mutagenesi sito-diretta: metodo overlap. Mutagenesi sito-diretta per ricombinazione omologa. • Elettroforesi capillare ed applicazioni in biologia molecolare. • dHPLC ed applicazioni nella diagnostica molecolare • Sequenziamento del DNA mediante metodo di Sanger e sequenziatore capillare. • Pirosequenziamento e tecnologia 454. • Next generation sequencing: tecnologia Illumina, tecnologia SOLiD, tecnologia Ion Torrent. • Tecniche per l'analisi della metilazione del DNA <p>Al completamento del presente modulo, lo studente dovrebbe:</p> <ul style="list-style-type: none"> - aver raggiunto un buon grado di conoscenza delle tecniche che sono alla base delle metodiche utilizzabili in diagnostica molecolare; - conoscere in maniera approfondita le tecnologie di nuova generazione per l'identificazione di cambiamenti negli acidi nucleici che sono alla base di malattie genetiche, tumorali ed infettive; - essere in grado di discutere in maniera analitica sulle metodologie che potrebbero essere applicate per fornire un risultato di qualità; - essere in grado di analizzare in maniera critica i risultati ottenuti al termine di un test diagnostico.
3	Conoscenze di base richieste e attività di apprendimento	Lo studente deve avere conoscenze di base della biologia, biochimica e biologia molecolare.
4	Metodi e criteri di valutazione e verifica	La valutazione verrà eseguita con un esame orale dove allo studente verranno formulate 3 domande sul programma svolto. Lo studente deve dimostrare di conoscere approfonditamente le metodologie trattate durante il corso e di saper discutere ed analizzare in maniera critica la scelta metodologica da applicare per un test diagnostico specifico ed il dato ottenuto.
5	Materiale Didattico	Lezioni frontali in italiano mediante diapositive. Materiale fornito dalla docente. Consultare articoli scientifici ed i seguenti testi: - G.P. Patrinos and W. Ansorge, <i>Molecular Diagnostics</i> , Edited by G.P. Patrinos and W. Ansorge, Elsevier Academic Press, 2005 - Grody WW, Nakamura RM, Kiechle FL, Strom C. <i>Molecular Diagnostics: Techniques and Applications for the Clinical Laboratory</i> . Elsevier Academic Press, 2010