

## SCHEDA DOCENTE PROGRAMMA - A.A. 2016-2017

**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	<b>Obiettivi del Corso</b>	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	<b>Contenuti del corso e gli esiti di apprendimento</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Mutazioni puntiformi.</li><li>• 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.</li><li>• Multiplex-PCR e Nested-PCR</li><li>• ARMS-PCR, multiplex-PCR-ARMS, ASO-PCR: ASO forward e ASO reverse.</li><li>• Competitive Oligoprimering, disegno dei primers COP, parametri che influenzano il saggio di competitive oligoprimering.</li><li>• PCR-semi-quantitativa: competitiva e non-competitiva</li><li>• Real time PCR. Metodi di quantificazione relativa e assoluta. Real-time PCR mediante intercalante chimico, probe Taq-Man, Molecular Beacons, Probe Scorpions.</li><li>• Digital PCR: principi e applicazioni</li><li>• Principio della OLA (Oligonucleotide Ligation Assay) e LCR. Applicazioni.</li><li>• 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.</li><li>• DGGE e TGGE. Domini di melting. SSCP. Ottimizzazione dei sistemi. Applicazione per la diagnosi dell'ipercolesterolemia familiare.</li></ul>

		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Analisi delle mutazioni mediante metodi di amplificazione NON-PCR: metodi TAS, 3SR, NASBA, LAT (Ligation Activated Trascrizione), Cycling Probe reaction, SDA (strand displacement amplification), Q<math>\beta</math> Replicase amplification, Branched DNA Amplification, Hybrid capture.</li> <li>• Test delle proteine tronche.</li> <li>• Mutagenesi. Metodi random: pressione selettiva, mutagenesi per saturazione, DNA shuffling. Mutagenesi sito-diretta: metodo overlap. Mutagenesi sito-diretta per ricombinazione omologa.</li> <li>• Elettroforesi capillare ed applicazioni in biologia molecolare.</li> <li>• dHPLC ed applicazioni nella diagnostica molecolare</li> <li>• Sequenziamento del DNA mediante metodo di Sanger e sequenziatore capillare.</li> <li>• Pirosequenziamento e tecnologia 454.</li> <li>• Next generation sequencing: tecnologia Illumina, tecnologia SOLiD, tecnologia Ion Torrent.</li> <li>• Tecniche per l'analisi della metilazione del DNA</li> </ul> <p>Al completamento del presente modulo, lo studente dovrebbe:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- aver raggiunto un buon grado di conoscenza delle tecniche che sono alla base delle metodiche utilizzabili in diagnostica molecolare;</li> <li>- 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;</li> <li>- essere in grado di discutere in maniera analitica sulle metodologie che potrebbero essere applicate per fornire un risultato di qualità;</li> <li>- essere in grado di analizzare in maniera critica i risultati ottenuti al termine di un test diagnostico.</li> </ul>
3	<b>Conoscenze di base richieste e attività di apprendimento</b>	Lo studente deve avere conoscenze di base della biologia, biochimica e biologia molecolare.
4	<b>Metodi e criteri di valutazione e verifica</b>	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	<b>Materiale Didattico</b>	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