



## UNIVERSITÀ DI PISA

### ADE - MESSA A PUNTO E VALUTAZIONE DI TECNICHE MOLECOLARI QUALI-QUANTITATIVE DI DETERMINAZIONE DI SEQUENZE GENICHE (RT- PCR E DIRECT SEQUENCING)

**MAURIZIA ROSSANA BRUNETTO**

Anno accademico	2020/21
CdS	TECNICHE DI LABORATORIO BIOMEDICO (ABILITANTE ALLA PROFESSIONE SANITARIA DI TECNICO DI LABORATORIO BIOMEDICO)
Codice	872ZW
CFU	2

Moduli	Settore/i	Tipo	Ore	Docente/i
ADE - MESSA A PUNTO E VALUTAZIONE DI TECNICHE MOLECOLARI QUALI-QUANTITATIVE DI DETERMINAZIONE DI SEQUENZE GENICHE (RT- PCR E DIRECT SEQUENCING)	NN	LEZIONI	20	MAURIZIA ROSSANA BRUNETTO

#### Obiettivi di apprendimento

##### *Conoscenze*

L'ADE si pone come obiettivo di introdurre lo studente alle tecniche di biologia molecolare, con particolare riferimento al loro uso in ambito virologico. Si prefigge quindi di far acquisire allo studente le conoscenze e le competenze di base per l'effettuazione di test semplici test di biologia molecolare, quali estrazione ed amplificazione degli acidi nucleici

##### *Modalità di verifica delle conoscenze*

Durante l'ADE verranno verrà effettuata periodicamente una revisione critica degli argomenti trattati

##### *Capacità*

Sviluppare la manualità base per processare un campione ai fini dell'effettuazione di procolli base (estrazione e amplificazione di acido nucleico, RNA e DNA)

##### *Modalità di verifica delle capacità*

Durante l'ADE verranno effettuate prova pratiche in laboratorio applicando protocolli precedentemente discussi

##### *Comportamenti*

Lo studente dovrebbe acquisire le conoscenze utili:

- a comprendere il flusso del campione biologico da analizzare per una caratterizzazione di biologia molecolare
- a conoscere l'organizzazione del laboratorio in funzione delle tecnologie a disposizione
- a identificare i passaggi critici nella processazione del campione e i fattori interferenti sul risultato
- a comprendere l'importanza dell'appropriatezza nella scelta del test da effettuare in funzione del quesito clinico



## UNIVERSITÀ DI PISA

### *Modalità di verifica dei comportamenti*

Le lezioni teoriche saranno intervallate da momenti di discussione degli argomenti risultati più complessi  
Durante la parte pratica verrà verificata l'acquisizione della corretta manualità

### Prerequisiti (conoscenze iniziali)

Le conoscenze (teoriche e pratiche) acquisite durante il corso di laurea

### Indicazioni metodologiche

Lezioni frontali con supporto di presentazioni (diapositive)

Attività pratica in laboratorio

Modalità telematica per trasferimento di materiale didattico ed eventuale proposta da parte dello studente di approfondimenti teorici o pratici

### Programma (contenuti dell'insegnamento)

- Sinergia fra clinica e laboratorio per comprendere la storia naturale delle infezioni e malattie virali
- Tecniche base di biologia molecolare per lo studio degli acidi nucleici: descrizione della tecnica di ibridizzazione con analisi dei processi critici. Esempi di applicazione in ambito virologico
- Tecniche per la determinazione quantitativa degli acidi nucleici: dall'ibridizzazione su supporto solido o in fase liquida all'amplificazione del segnale o del target.
- Breve storia della scoperta della PCR. Principi alla base della PCR. Real time PCR: specificità e processi operativi. Quantizzazione assoluta vs quantizzazione relativa. Droplet Digital PCR.
- Sequenziamento: metodo Sanger manuale e automatizzato. NGS: descrizione delle diverse piattaforme tecnologiche. Applicazione pratica dei metodi di sequenziamento con particolare attenzione al significato delle diverse soglie di sensibilità e capacità di quantizzazione
- Tecniche per lo studio dei Single Nucleotide Polymorphisms.
- MicroRNA: criticità per la messa a punto di tecniche per la quantizzazione su siero/plasma o su tessuto. HBsAg e miRNA
- Descrizione delle tecniche di clonaggio. Applicazione delle tecniche di biologia molecolare per lo studio della biologia di HBV e per la caratterizzazione del portatore di infezione
- Condivisione e discussione dei protocolli di estrazione e amplificazione degli acidi nucleici: procedura di PCR qualitativa (HBV) e nested PCR (HDV)
- Condivisione e discussione dei protocolli di amplificazione degli acidi nucleici con PCR real time e di caratterizzazione della variabilità genetica

### Bibliografia e materiale didattico

Articoli relativi ai singoli argomenti trattati

### Modalità d'esame

Prova teorico/pratica: consiste nell'effettuazione di un test di biologia molecolare (estrazione ed amplificazione di acido nucleico, RNA o DNA). Durante la revisione critica della procedura effettuata verranno discussi gli aspetti teorici ad essa correlati

### Stage e tirocini

L'ADE prevede una parte pratica che si svolge presso il Laboratorio di Fisiopatologia Epatica e Digestiva dell'UO Epatologia

Ultimo aggiornamento 11/03/2021 17:32