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	2023/24
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	LABORATORI	16	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

Modalità di verifica dei comportamenti
Le lezioni teoriche saranno intervallate da momenti di discussione degli argomenti risultati più complessi
Durante la parte pratica verrà verificatà l'acqusizione 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.
- Sequenziazione: metodo Sanger manuale e automatizzato. NGS: descrizione delle diverse piattaforme tecnologiche. Applicazione pratica dei metodi di sequenziazione 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 amplifciazione di acido nucleico, RNA o DNA).
Durnate la revisione critica della procedura effettuata verranno discussi gli aspetti terorici ad essa correlati

Ultimo aggiornamento 14/02/2024 12:01