

SCHEDA DOCENTE PROGRAMMA - A.A. 2015-2016

MARIAGRAZIA PERILLI

**PROGRAMMA DELL'INSEGNAMENTO DI
STRATEGIE DIAGNOSTICHE CONVENZIONALI ED AVANZATE**

NOMERO DI CREDITI: 5

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 Oligopriming, disegno dei primers COP, parametri che influenzano il saggio di competitive oligopriming.• 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<ul style="list-style-type: none">• 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.• Analisi delle mutazioni mediante metodi di amplificazione NON-PCR: metodi TAS, 3SR, NASBA, LAT (Ligation Activated Trascription),

		<p>Cycling Probe reaction, SDA (strand displacement amplification), Qβ Replicase amplification, Branched DNA Amplification, Hybrid capture.</p> <ul style="list-style-type: none"> • 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
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.
5	Materiale Didattico	<p>- G.P. Patrinos and W. Ansorge, <i>Molecular Diagnostics</i>, Edited by G.P. Patrinos and W. Ansorge, Elsevier Academic Press, 2005</p> <p>- Grody WW, Nakamura RM, Kiechle FL, Strom C. <i>Molecular Diagnostics: Techniques and Applications for the Clinical Laboratory</i>. Elsevier Academic Press, 2010</p> <p>Materiale fornito dalla docente.</p>