

AA 2008-2009

Programma dettagliato del modulo di Biologia molecolare (modulo III) del corso di Diagnostiche Biochimiche e Biologiche molecolari, LS Biologia Sanitaria  
Prof. Vito De Pinto

TECNICHE DI BASE E APPLICAZIONI. Elettroforesi: principi; elettroforesi di DNA e di proteine. Centrifugazione: principi; purificazione di acidi nucleici; principali enzimi usati in biologia molecolare: enzimi di restrizione e costruzione di mappe di restrizione; tecniche di ibridazione; Southern e Northern blot; principi del clonaggio; costruzione delle mappe di restrizione; analisi degli RFLP; analisi dei polimorfismi del DNA con Southern blotting; diagnosi dell'anemia falciforme; polimorfismi VNTR e STR; alberi familiari.

PCR. Principi del metodo; problematiche: scelta dei primers; scelta delle Taq; analisi dei risultati; hot-start PCR; touchdown PCR; nested PCR; PCR inversa; RACE-PCR; clonaggio di prodotti pCR con vettori T/A; PCR di molecole di RNA: RT-PCR; mutagenesi mediata da PCR; applicazioni diagnostiche: PCR multiplex, ricerca della presenza del virus HIV; ricerca di mutazioni; PCR-SSCP; ASO-PCR (allele-specific oligonucleotides); ARMS-PCR (allele-specific primers); individuazione di translocation breakpoint; analisi di microsatelliti dopo PCR; uso della PCR per mappare il DNA: STS (Sequence Tagged Site)-PCR; DNA-fingerprinting; diagnosi pre-impianto.

Real time PCR. Differenze e vantaggi rispetto alla PCR end-point; principio del metodo – termociclatore – FRET - metodi per la rilevazione della fluorescenza: Taq Man, beacons, scorpion, syber green etc. – parametri della RT-PCR: Rn, Ct, threshold – determinazioni quantitative – efficienza della reazione ed equazione della PCR – applicazioni: profili di espressione – analisi del DNA metilato – riconoscimento di SNP – dosaggio di geni.

Sequenziamento del DNA: metodo di Sanger e di Maxam-Gilbert - sequenziamento automatizzato – sequenziamento dei genomi in considerazione dei limiti della tecnica – pirosequenziamento – il sequenziamento dei genomi individuali – prospettive nella determinazione del profilo genetico individuale

ARRAYs: array a cDNA ed array ad oligonucleotidi – metodi di costruzione del chip – marcatura dei probes – rivelazione – cenni sull'analisi dei dati – possibili applicazioni

### **Materiale didattico impiegato a lezione**

**Capitoli attinenti al programma possono essere reperiti, tra gli altri, nei seguenti libri di testo:**

Terry A. Brown, Biotecnologie Molecolari - Principi e Tecniche- Zanichelli

Dale J.W., von Schantz M., Dai Geni ai Genomi, principi ed applicazioni della tecnologia del DNA ricombinante, Edises

**Inoltre nel sito [www.unictbiolmol-lab.it](http://www.unictbiolmol-lab.it) sono reperibili alcune delle presentazioni, articoli e Reviews da consultare e studiare**