

Quarto Modulo

6 – 7 luglio 2012

Oltre il sequenziamento genico: le tecnologie in Real Time PCR

Coordinatore

Prof. Giancarlo Troncone

mattina

Teoria

La Real Time PCR:
le basi

Pietro Formisano

Le metodiche di screening:
HRMA ed analisi dei
frammenti

Umberto Malapelle

Le tecniche mutazione
specifiche in Real Time
PCR: ARMS/S e TaqMan

Giancarlo Troncone

Sensibilità clinica delle
tecniche basate sulla Real-
Time PCR nei test EGFR e
KRAS

Chiara Carlomagno

Pratica

pomeriggio

■ Allestimento di una
reazione di HRMA per
KRAS

■ Valutazione delle curve
di amplificazione dei
campioni da sottoporre ad
HRMA

■ Interpretazione delle
curve di melting ad alta
risoluzione dei prodotti di
amplificazione

sabato 7 luglio 2012

Teoria

■ Allestimento di una
reazione basata sull'analisi
dei frammenti per lo
screening delle delezioni
dell'esone 19 di EGFR

■ Interpretazione dei
risultati

■ Valutazione del
raggiungimento degli
obiettivi didattici: test
scritto.

Lettura conclusiva:

Gerardo Botti

Il laboratorio moderno di
Anatomia Patologica

Sede del corso

Laboratorio di Biologia
Molecolare del Dipartimento
di Scienze Biomorfologiche
e Funzionali,
Via S. Pansini, 5 cap. 80131
Napoli

Titolo di studio richiesto:

Il corso è riservato ai laureati in
Medicina e Chirurgia,
Biotecnologie mediche,
veterinarie e farmaceutiche
(LM-9), Biologia (LM-6)
ed in Tecniche di Laboratorio
Biomedico.

Le lauree richieste secondo
l'ordinamento antecedente
al D.M.509/99 sono quelle
conseguite in Medicina e
Chirurgia, Biotecnologie e Scienze
Biologiche. L'attestato del corso di
perfezionamento equivale
all'obbligo ECM, previsto e
disciplinato dal MIUR per l'anno
di riferimento.

Modalità di iscrizione:

per l'iscrizione contattare
il Dr. Umberto Malapelle,
Tel 0817463690, Fax0817463679
e-mail:
umberto.malapelle@unina.it.

Contributo di iscrizione pari
ad euro €300.00 da effettuarsi
sul conto corrente bancario
n. 25/15, San Paolo Banco di
Napoli – Filiale 40 – ABI 01010
CAB 03595 CIN K CODICE IBAN:
IT59K0101003 5950 0002 5000
015

Intestato al Dipartimento
di Scienze Biomorfologiche
e Funzionali; causale: iscrizione
al corso di perfezionamento
in basi teoriche e metodologiche
di Anatomia Patologica
a.a. 2011/2012.

Università di Napoli
Federico II

Il Corso di Perfezionamento Postlaurea

Basi teoriche e metodologiche di
Anatomia Patologica per lo studio
in citoistopatologia dei markers
predittivi di risposta alla terapia
mirata dei tumori solidi.

Crediti formativi universitari (C.F.U.) pari a 4,00

Tema del Corso

I test molecolari KRAS ed EGFR:
la formazione degli operatori.

Direttore:

Giancarlo Troncone

Il corso è articolato in quattro moduli a cadenza
mensile per un totale di 60 ore di attività didattica
frontale e prevede un'intensa attività pratica di
laboratorio.

Primo Modulo

20 - 21 aprile 2012

I test molecolari KRAS ed EGFR nella routine clinica

Coordinatore

Prof. Giancarlo Troncone

apertura lavori

Lucio Palombini,
Gaetano de Rosa

La targeted therapy unit:
Il ruolo dell'oncologo medico.

Chiara Carlomagno
Il ruolo del patologo

Nicla de Rosa
Il ruolo del biologo molecolare

Umberto Malapelle
Discussione interattiva e introduzione alla sezione pratica

pomeriggio

Microscopia e test molecolari: il campione istologico

- Tumore primitivo o metastasi?
- Quale inclusione è la più idonea?
- La selezione della area neoplastica
- La valutazione della percentuale di cellule maligne
- I problemi dovuti al muco, necrosi, flogosi e fibrosi.

- I limiti dei campioni biotipici
 - Il campione prelevato dopo terapia neo-adiuvante
- Pratica al microscopio.**

sabato 21 aprile

mattina

Microscopia e test molecolari: il campione citologico

- La scelta del campione da analizzare
 - La selezione della componente cellulare neoplastica
 - Papanicolaou o Giemsa?
 - Citologia convenzionale o citologia su strato sottile?
 - La selezione delle cellule neoplastiche nel versamento pleurico.
- Rapid- on site evaluation (ROSE) e test molecolari.
- Revisione del preparato citologico

Secondo Modulo

18 - 19 maggio 2012

Dal campione cito-istologico agli acidi nucleici

Coordinatore

Prof. Oscar Nappi

mattina

Teoria

La micro dissezione manuale
Giancarlo Troncone

La micro dissezione laser
Claudio Bellevicine
Estrazione di DNA ed RNA da campioni citologici ed istologici

Umberto Malapelle

pomeriggio

Pratica di laboratorio

La targeted therapy unit:
Il ruolo dell'oncologo medico.

Esercitazione individuale

- Micro dissezione manuale
- Estrazione di DNA
- Quantizzazione degli acidi nucleici allo spettrofotometro
- Valutazione della qualità degli acidi nucleici estratti
- Fissazione ed artefatti

sabato 19 maggio

Microdissezione laser
(Sistema Zeiss B2)

Terzo Modulo

15 - 16 giugno 2012

PCR e sequenziamento genico diretto per KRAS ed EGFR.

Coordinatore

Prof. Giancarlo Troncone

mattina

Teoria

La PCR sul DNA estratto da tessuto incluso in paraffina
Umberto Malapelle

La scelta delle regioni hot-spot di EGFR e KRAS da analizzare:

Pierlorenzo Pallante
Il sequenziamento genico diretto nei test EGFR e KRAS

Giancarlo Troncone
Sensibilità clinica del sequenziamento genico diretto nei test EGFR e KRAS

Roberto Bianco

- Allestimento PCR per amplificazione degli hot-spot di KRAS, ed EGFR
- Valutazione dell'avvenuta amplificazione
- Purificazione dei prodotti di amplificazione
- Quantificazione allo spettrofotometro dei prodotti purificati
- Allestimento della reazione di cycle sequencing
- Purificazione dei prodotti

del cycle sequencing

- Preparazione dei prodotti di terminazione per l'elettroforesi capillare su analizzatore genico

sabato 16 giugno

- Lettura dell'elettroferogramma
- Interpretazione del dato di sequenza
- Valutazione dell'adeguatezza dei controlli
- Allestimento PCR per amplificazione degli hot-spot di KRAS ed EGFR
- Valutazione dell'avvenuta amplificazione
- Purificazione dei prodotti di amplificazione
- Quantificazione allo spettrofotometro dei prodotti purificati
- Allestimento della reazione di cycle sequencing
- Purificazione dei prodotti del cycle sequencing
- Preparazione dei prodotti di terminazione per l'elettroforesi capillare su analizzatore genico