

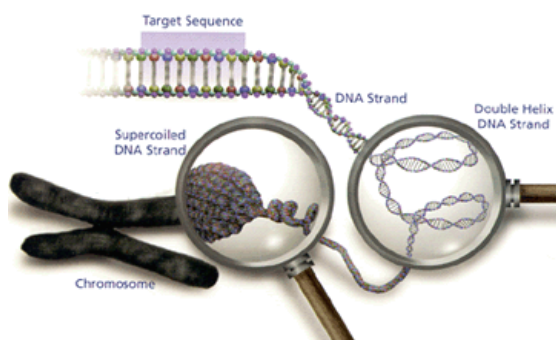


CRS EDUCATIONAL: CRS REAL TIME 1

QUANTIFICAZIONE DI UN GENE *HOUSEKEEPING*

La **Reazione a Catena della Polimerasi** (*PCR-Polymerase Chain Reaction*) rappresenta una delle tecniche di biologia molecolare più diffusamente utilizzate nei laboratori di ricerca e di diagnostica.

Nata nel 1983 da un'idea di Kary Mullis, per anni è stata disponibile solamente nella sua forma originale che, seppur rivoluzionaria e geniale, consente la rapida amplificazione di un segmento di DNA in studio ma non la sua quantificazione.



Da alcuni anni è stato possibile superare tale limite grazie all'introduzione di una variante della tecnica di base, oggi nota come *Real Time PCR*.

La **Real Time PCR** si è subito imposta quale tecnica validissima trovando applicazione immediata sia nel campo della diagnostica, ad esempio per quanto riguarda la quantificazione di acidi nucleici batterici o virali, sia nel campo della ricerca di base e applicata, per es. negli studi di espressione genica.

NELL'ESERCITAZIONE LO STUDENTE, MEDIANTE UN' ESPERIENZA CONCRETA, HA L'OPPORTUNITA' DI COMPRENDERE:

- il funzionamento della tecnica *Real time PCR* quantitativa
- le principali differenze rispetto alla tecnica di base
- gli innumerevoli vantaggi che essa possiede

Il *kit*, mediante un approccio sperimentale semplice, facilita la didattica delle scienze, in particolare negli aspetti riguardanti la biologia molecolare e la tecnica *PCR*, che più di ogni altra ha rivoluzionato questa branca.

La contemporaneità delle due fasi sperimentali rappresenta un valido strumento per introdurre agli studenti la tecnica di base e le sue varianti, aprendo la discussione sui limiti e pregi delle stesse, consentendo inoltre il loro concreto approccio ad una delle tecniche più innovative nel campo della biologia molecolare.

Sede Operativa: **C.R.S. Centro Ricerche Scientifiche**
Via Svizzera 16 -35127 PADOVA
Tel 049-760191 - Fax 049-8709510

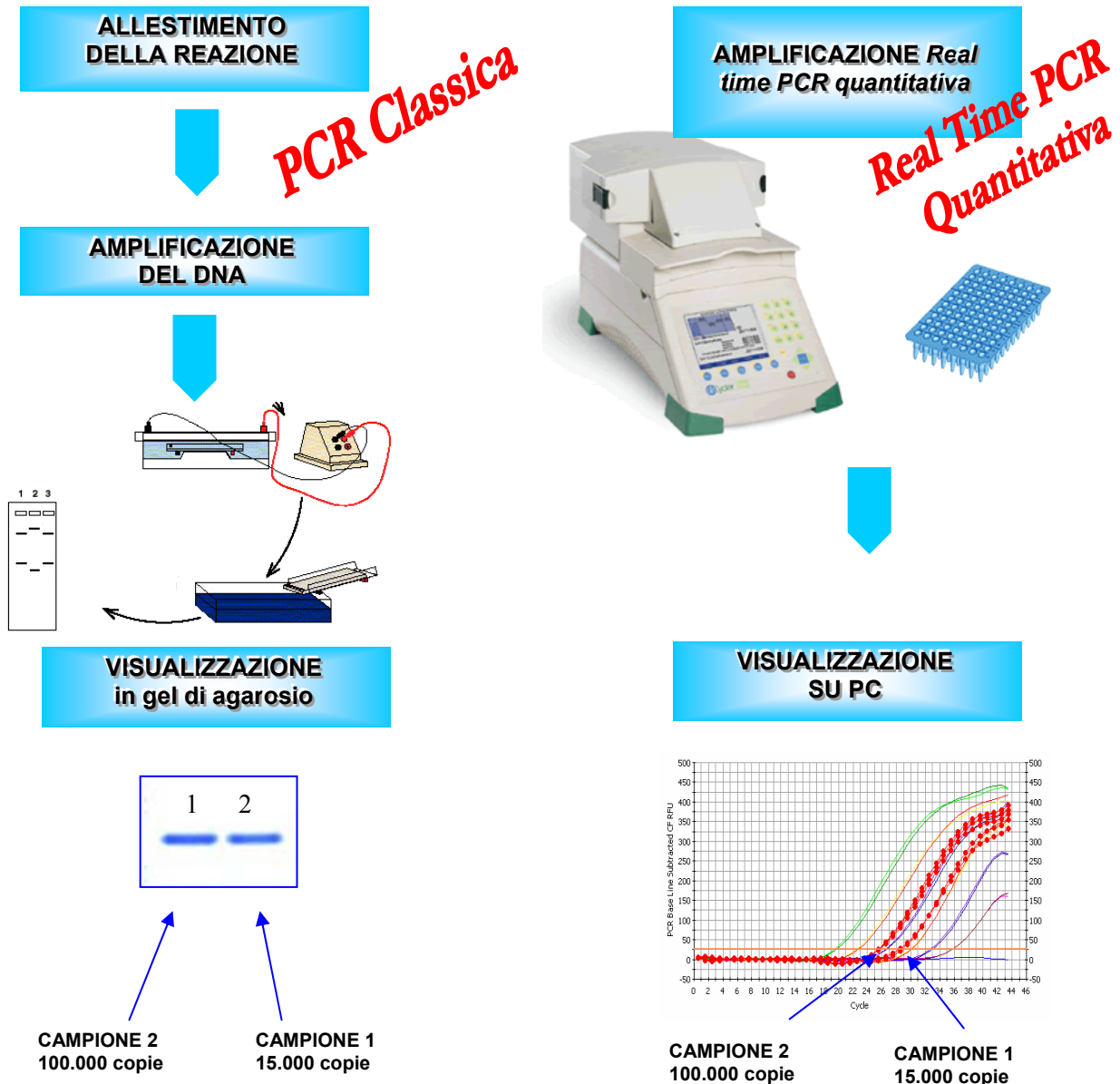
Laboratorio:
Via IV Novembre, 68
31045 Motta di Livenza (TV)

DESCRIZIONE DELL'ESPERIMENTO

Vengono forniti nel kit, a disposizione degli studenti, **2 campioni di DNA a diversa concentrazione** da utilizzare per **un esperimento di amplificazione secondo la tecnica base** (PCR classica) con visualizzazione in gel di agarosio e successivamente per **un esperimento di amplificazione in Real Time PCR quantitativa**.

Il target di amplificazione è un gene sempre presente nel DNA (gene *housekeeping*).

Nonostante la differente concentrazione iniziale, date le proprietà prettamente qualitative della tecnica base, gli amplificati dei 2 campioni appariranno in gel di uguale intensità. I medesimi campioni analizzati mediante *Real time PCR* quantitativa risulteranno invece distinguibili in virtù della loro diversa concentrazione iniziale.



RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

Saiki RK, S Scharf, F Faloona, KB Mullis, GT Horn, HA Erlich and N Arnheim,
Science 230, 1350-1354, 1985

Sede Operativa: C.R.S. Centro Ricerche Scientifiche
Via Svizzera 16 -35127 PADOVA
Tel 049-760191 - Fax 049-8709510

Laboratorio:
Via IV Novembre, 68
31045 Motta di Livenza (TV)

CARATTERISTICHE DEL KIT

► I *kit* della linea **CRS EDUCATIONAL** sono rivolti a studenti delle scuole medie superiori, laboratori di biologia molecolare, cellulare, biochimica, genetica, microbiologia e oncologia e rivolti alla formazione universitaria, post-universitaria e all'aggiornamento professionale.

► **Obiettivi dell'esperimento:** apprendimento della tecnica della *Real time PCR*, confronto con la tecnica di base e discussione sui pregi e i limiti relativi.

► Il *kit* è **COMPLETO** e include:

il **materiale per l'insegnante**: una vera e propria traccia di lezione con spunti relativi agli argomenti trattati nonché un particolareggiato manuale per l'utilizzo del *kit* didattico nell'esercitazione sperimentale;

il **materiale per lo studente**, con schede di comprensione più semplificate che lo guidino durante lo svolgimento dell'esercitazione;

i **reagenti** necessari per l'allestimento della fase sperimentale in una classe di circa 20 studenti:

- ✓ Reagenti per l'amplificazione (DNA polimerasi, *Buffer 10X*, *dNTP mix*, miscela di primer);
- ✓ Campioni di DNA;
- ✓ Olio minerale;
- ✓ Provette per l'amplificazione;
- ✓ Reagenti per l'elettroforesi su gel di agarosio;
- ✓ Colorante non tossico per il gel d'agarosio;
- ✓ Mix e reagenti per l'amplificazione in *Real Time*;
- ✓ Standard per l'allestimento della curva di riferimento;
- ✓ Piastre e film ottici per l'amplificazione in *Real Time*.

Il *kit* non contiene sostanze tossiche o pericolose per l'utilizzatore. La parte di visualizzazione mediante gel elettroforesi viene condotta con un colorante intercalante del DNA non tossico.

Inoltre i campioni di DNA forniti per l'esecuzione dell'esperimento sono di origine sintetica (non di origine umana e/o animale), pertanto non sussiste alcun rischio biologico per l'utilizzatore.

Sede Operativa: **C.R.S. Centro Ricerche Scientifiche**
Via Svizzera 16 -35127 PADOVA
Tel 049-760191 - Fax 049-8709510

Laboratorio:
Via IV Novembre, 68
31045 Motta di Livenza (TV)

IL FUTURO DELLA RICERCA PER MIGLIORARE IL NOSTRO DOMANI

“La scienza non può stabilire dei fini e tanto meno inculcarli negli esseri umani; la scienza, al più, può fornire i mezzi con i quali raggiungere certi fini. Ma i fini stessi sono concepiti da persone con alti ideali etici.”

Albert Einstein, Pensieri degli anni difficili

I kit **CRS EDUCATIONAL** rappresentano una risposta alle esigenze delle strutture di formazione che dovendo operare con numerosi allievi, non sempre hanno a disposizione risorse di personale e di tempo per confezionare il materiale necessario per ogni studente.

La linea **CRS EDUCATIONAL** consente di toccare con mano la realtà dell'innovazione tecnologica relativamente alle scienze biologiche.

Pensati e studiati da persone con consolidata esperienza nell'ambito della ricerca e della diagnostica molecolare, i kit rappresentano per lo studente una concreta chiave interpretativa di una teoria spesso considerata lontana e astratta.



Il nostro obiettivo è fornire ai docenti degli strumenti utili a stimolare negli studenti capacità critica e curiosità metodologiche verso le tematiche proposte in classe.

Gli esperimenti proposti permetteranno agli studenti di valutare le implicazioni nella vita e nelle attività umane, dei più moderni metodi d'indagine scientifica legati alla diagnostica medica e alle biotecnologie.

Fai vivere ai tuoi studenti le straordinarie scoperte della scienza!

Falli sentire partecipi dell'innovazione biotecnologica!

Fornisci loro le basi per diventare il ricercatore del futuro!

CODICE	PRODOTTO	DESCRIZIONE	FORMATO DEL KIT
23-01	CRS REAL TIME 1	Quantificazione di un gene <i>housekeeping</i>	20-30 STUDENTI
23-02	CRS GENETICA 1	Determinazione della predisposizione genetica alla celiachia	20-30 STUDENTI
23-03	CRS GENETICA 2	<i>Typing</i> molecolare ed ereditarietà	20-30 STUDENTI
23-04-CD	CRS MICROARRAYS 1	I <i>microarrays</i> e lo studio della farmacoresistenza nel caso del tumore alla mammella	CD

Sede Operativa: **C.R.S. Centro Ricerche Scientifiche**

Via Svizzera 16 -35127 PADOVA

Tel 049-760191 - Fax 049-8709510

Laboratorio:

Via IV Novembre, 68

31045 Motta di Livenza (TV)