

ALLEGATO 1

Data: 12/01/2012

Procedura: Determinazione 207/2020

Traccia 1

Quesito 1. Si descrivano i passaggi necessari per il sequenziamento metagenomico di campioni di feci umane. Si assuma di partire con 300 campioni consegnati a temperatura ambiente in un buffer di conservazione appropriato e di dover consegnare i campioni su una piattaforma di high-throughput sequencing appropriata per il sequenziamento su una sola corsa di tutti i campioni ad una profondità di sequenziamento appropriata per lo studio del microbioma intestinale umano.

Quesito 2. Si descrivano le principali tecniche per fare il controllo di qualità in vista del sequenziamento metagenomico sia del DNA che delle librerie di sequenziamento. Si descrivano vantaggi e svantaggi delle tecniche descritte e si contestualizzino nel caso di processamento di campioni di microbioma cutaneo ottenuti da tamponi cutanei non invasivi.

Quesito 3. Si descriva una tecnica disponibile sulle moderne tecnologie di high-throughput sequencing per il caricamento di un numero di campioni metagenomici che possa arrivare a 384 campioni su una singola corsa di sequenziamento ad una profondità di sequenziamento adeguata per l'analisi del microbioma fecale. Si descrivano i vantaggi ed eventuali svantaggi dell'approccio scelto e gli eventuali rischi.

Data: 12/01/2012

Procedura: Determinazione 207/2020

Traccia 2

Quesito 1. Si descrivano i passaggi necessari per il sequenziamento metagenomico di campioni di saliva umana. Si assuma di partire con 300 campioni raccolti senza nessun buffer di conservazione e conservati a -80C e di dover consegnare i campioni su una piattaforma di high-throughput sequencing appropriata per il sequenziamento su una sola corsa di tutti i campioni ad una profondità di sequenziamento appropriata per lo studio del microbioma orale umano.

Quesito 2. Si descrivano le principali tecniche per fare il controllo di qualità in vista del sequenziamento metagenomico sia del DNA che delle librerie di sequenziamento. Si descrivano vantaggi e svantaggi delle tecniche descritte e si contestualizzino nel caso di processamento di campioni di microbioma di placca dentale raccolti con procedura sterile.

Quesito 3. Si descriva una tecnica disponibile sulle moderne tecnologie di high-throughput sequencing per il caricamento di un numero di campioni metagenomici che possa arrivare a 1536 campioni su una singola corsa di sequenziamento ad una profondità di sequenziamento adeguata per l'analisi del microbioma fecale. Si descrivano i vantaggi ed eventuali svantaggi dell'approccio scelto e gli eventuali rischi.

Data: 12/01/2012

Procedura: Determinazione 207/2020

Traccia 3

Quesito 1. Si descrivano i passaggi necessari per il sequenziamento metagenomico di campioni microbioma cutaneo umano. Si assuma di partire con 300 campioni raccolti con dei tamponi cutanei non invasivi e conservati in un buffer di conservazione appropriato e di dover consegnare i campioni su una piattaforma di high-throughput sequencing appropriata per il sequenziamento su una sola corsa di tutti i campioni ad una profondità di sequenziamento appropriata per lo studio del microbioma cutaneo umano.

Quesito 2. Si descrivano le principali tecniche per fare il controllo di qualità in vista del sequenziamento metagenomico sia del DNA che delle librerie di sequenziamento. Si descrivano vantaggi e svantaggi delle tecniche descritte e si descrivano le differenze attese nel caso si processino campioni di microbioma fecale (almeno 5 grammi di materiale fecale) e di microbioma vaginale raccolto tramite tampone.

Quesito 3. Si descriva almeno una tecnica disponibile per fare il multiplexing di più campioni metagenomici sulla stessa corsa di sequenziamento ad una profondità di sequenziamento adeguata per l'analisi del microbioma fecale. Si descriva come la tecnica possa essere usata rispetto ad una delle possibili scelte delle tecnologie di high-throughput sequencing disponibili, quali siano i vantaggi di altri approcci disponibili, e quali possano essere i potenziali rischi di errori sperimentali nella procedura.