

Programma cursus PCR A tot Z

Cursisten bereiden de lesdagen door het kijken van korte video's en/of het maken van opdrachten (1 tot 2 uur voorbereiding per lesdag)

Dag 1

Vorbereiden:

Basiskennis nucleïnezuren, transcriptie-translatie en genexpressie

Principes (q)PCR

09.30-11.00	Introductie cursus, Behandelen vragen huiswerk en verder uitdiepen: DNA replicatie in vergelijking met de PCR, Principe van de (q)PCR reactie
11.00-11.15	Koffie
11.15-12.00	Nucleïnezuren als targetmateriaal in PCR met rekenopdracht
12.00-12.45	Isolatie DNA en RNA
12.45-13.30	Lunch
13.30-14.00	Kwaliteitsanalyse en concentratiebepaling geïsoleerde nucleïnezuren
14.00-14.45	Gevoeligheid PCR, rekenopdrachten
14.45-15.30	Gastcollege PCR toepassingen in onderzoek naar biodiversiteit (Rob Pastoor, LCAB)

De volgende leerdoelen/onderwerpen die op de website staan komen op dag 1 aan bod:

- de basiskennis van nucleïnezuren, transcriptie-translatie en genexpressie;
- welke eisen aan het uitgangsmateriaal voor een PCR gesteld worden en hoe nucleïnezuren geïsoleerd worden.

Dag 2

Vorbereiden:

PCR reactiecomponenten

Intro qPCR

09.30-10.15	Vragen nav voorbereiding, Introductie qPCR (Kvz)
10.15-11.00	Opzetten van een qPCR/ smeltcurve analyse (Kvz)
11.00-11.15	Koffiepauze
11.15-12.00	Voorbeeld opzetten en valideren qPCR, Petra van der Stoop
12.00-12.45	Primer synthese (Iv) Jesse Middelwijk vervangen (gastdocent zoeken)
12.45-13.30	Lunch
13.30-15.00	Primer design en PCR ontwikkel opdracht op de computer Kvz met Bap)

De volgende leerdoelen/onderwerpen die op de website staan komen op dag 2 aan bod:

- wat de kritische factoren bij de opzet en optimalisatie van een (reverse-transcriptase) qPCR zijn;
- de basisprincipes van primerdesign.

Dag 3

Vorbereiden:

Analyse PCR-producten qPCR?

09.30-10.15	Gastcollege Klinisch chemische PCR toepassingen (Marjan Veuger, LabWest)
10.15-11.00	Smeltcurve en qPCR (Annuska Strunk, Isala ziekenhuis)
11.00-11.15	Koffiepauze
11.15-12.00	Analyse methoden qPCR (Iv)
12.00-12.45	Introductie digitale PCR (Iv)
12.45-13.30	Lunch
13.30-14.15	Gastcollege Digitale PCR toepassingen in de Pathologie (Ronald van Eijk, LUMC)
14.15-15.00	Opzetten multiplex qPCR reactie voor e-DNA detectie in water (Sander Heeman, Aquon)

De volgende leerdoelen/onderwerpen die op de website staan komen op dag 3 aan bod:

- hoe referentiegenen worden gebruikt bij de normalisatie van genexpressie data
- hoe PCR experimenten in de praktijk worden uitgevoerd en hoe de resultaten kunnen worden geanalyseerd
- waar je rekening mee kunt houden bij het opzetten van multiplex PCR assays.

Dag 4

Vorbereiden:

Kwaliteitsborging PCR

Kwaliteitscriteria amplificatiecurven

09.30-10.15	Gastcollege Forensische toepassingen van de PCR (Athina Vidaki, Erasmus MC)
10.15-11.00	PCR en contaminaties opdrachten (Kvz)
11.00-11.15	Koffiepauze
11.15-12.00	Kwaliteit bewaken tijdens opzetten en uitvoeren van de PCR (Kvz)
12.00-12.45	Kalibratie van thermocyclers (Iv)
12.45-13.30	Lunch
13.30-14.15	Troubleshooting theorie en kwaliteit amplificatiecurves (Iv)
14.15-15.00	Troubleshooting en casusbespreking (Iv en Kvz)
15.00-15.15	Evaluatie en afsluiting

De volgende leerdoelen/onderwerpen die op de website staan komen op dag 4 aan bod:

- welke maatregelen je kunt nemen om contaminatie te voorkomen
- hoe de kwaliteit kan worden bewaakt tijdens het opzetten en uitvoeren van de PCR
- welke controles worden meegenomen bij een PCR en hoe deze worden beoordeeld