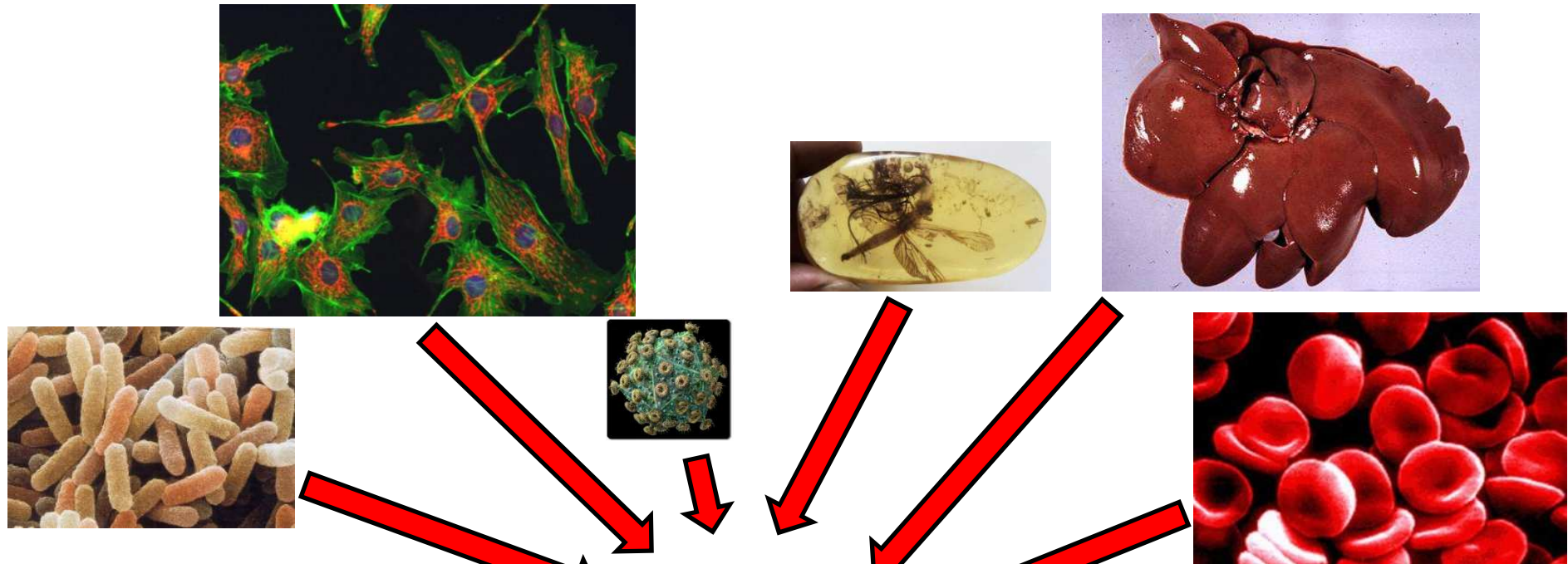


RT-PCR



RNA

northern

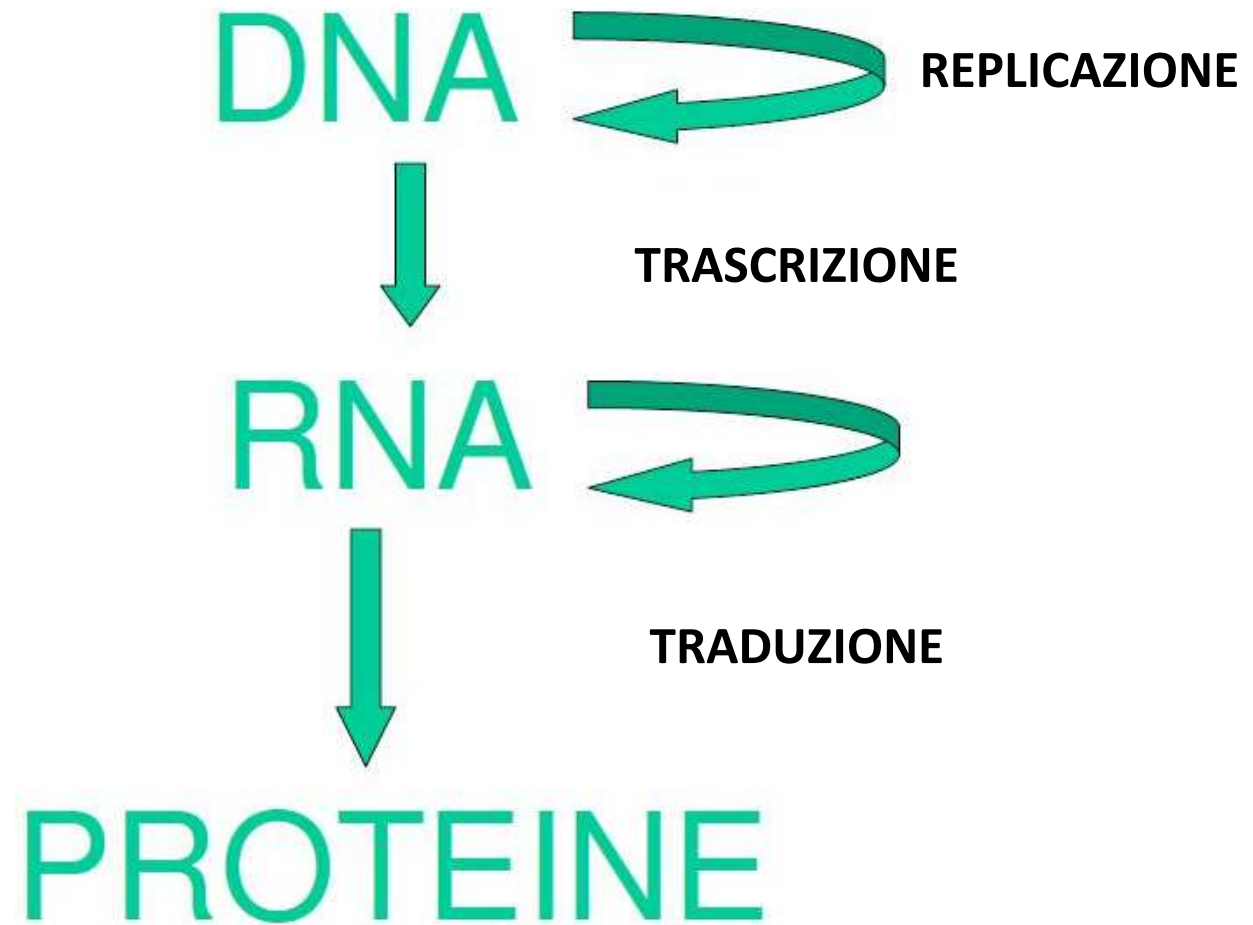
cDNA

RTPCR

qPCR

array

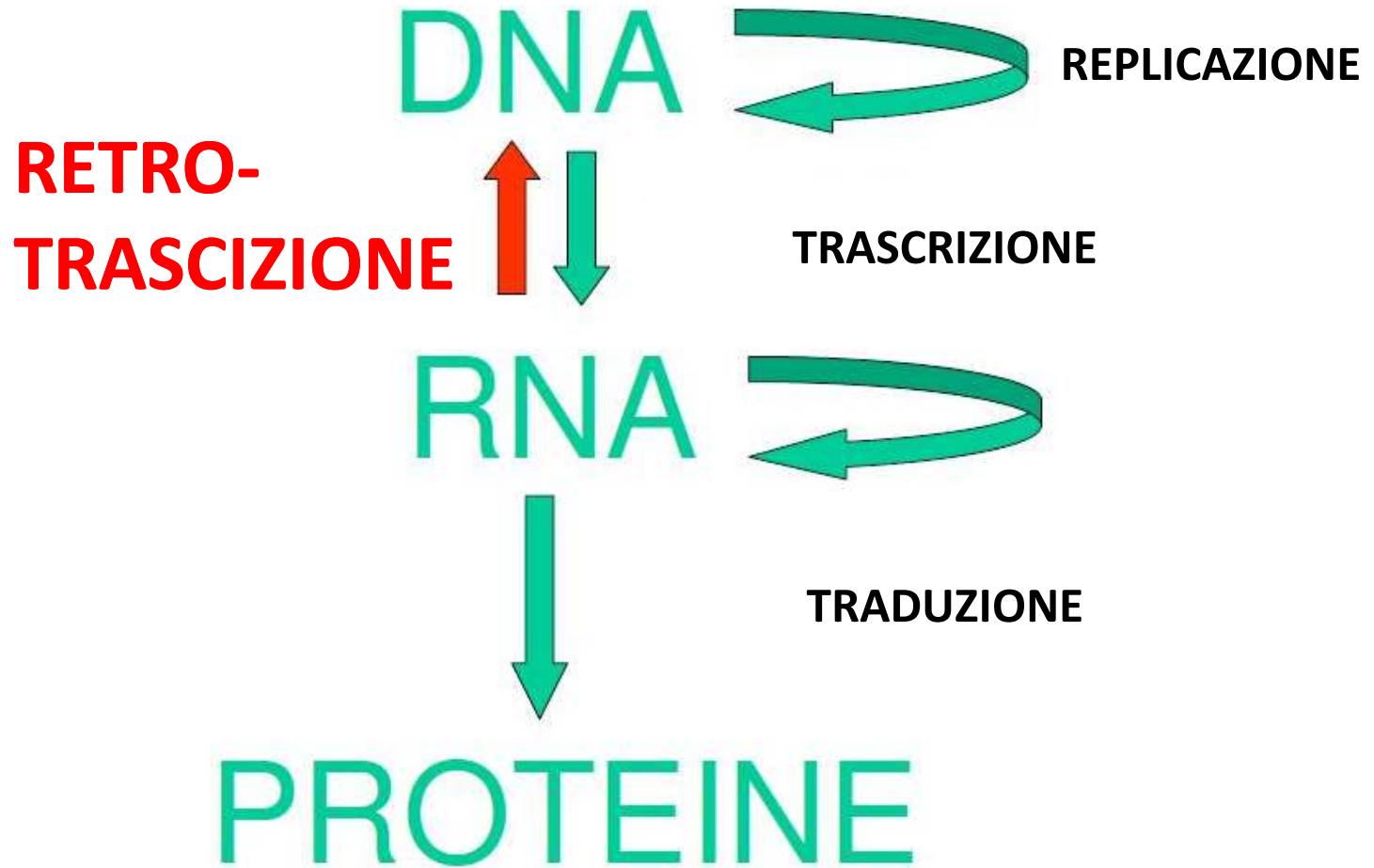
Dogma centrale della Biologia Molecolare



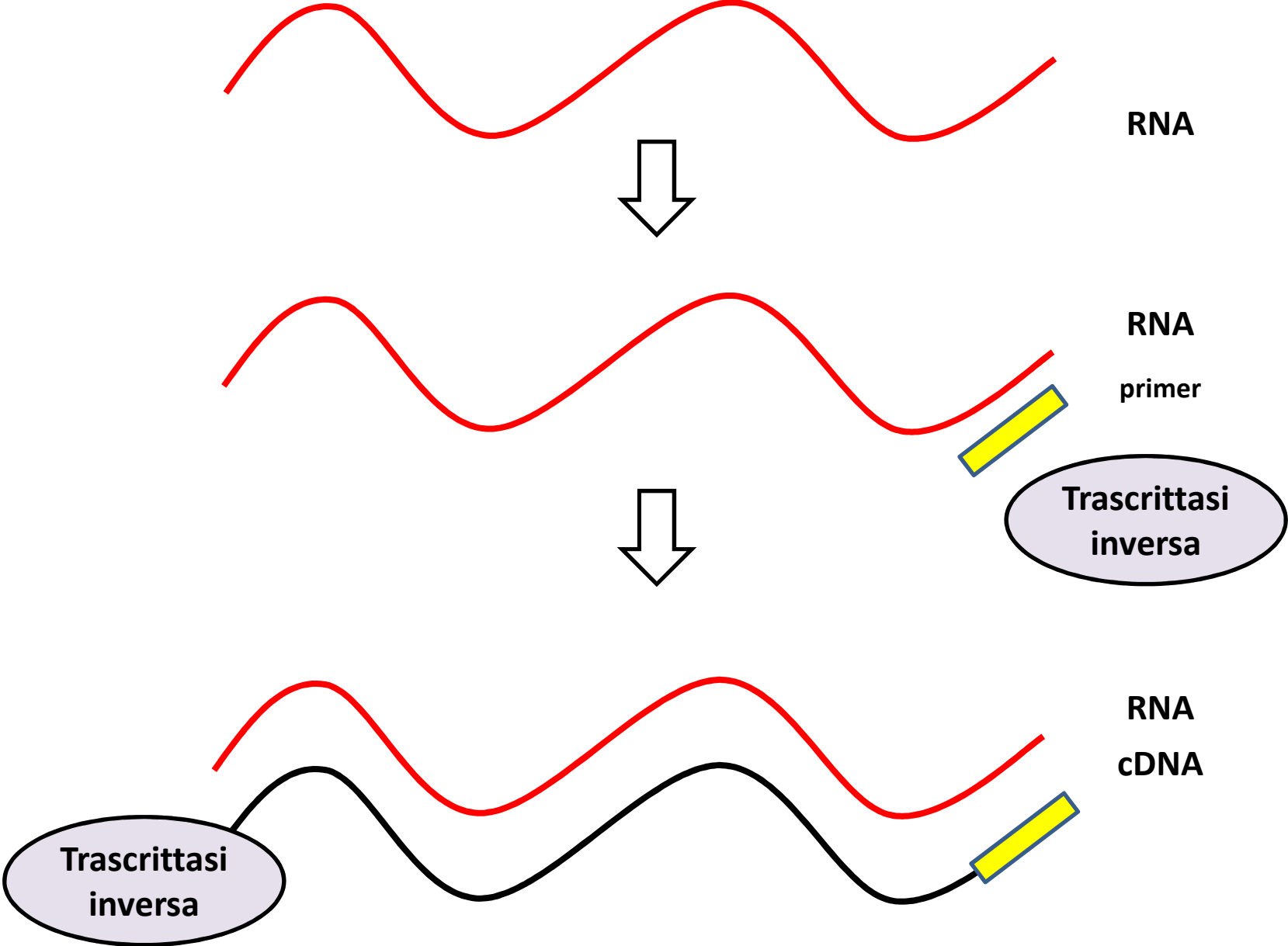
Dogma centrale della Biologia Molecolare



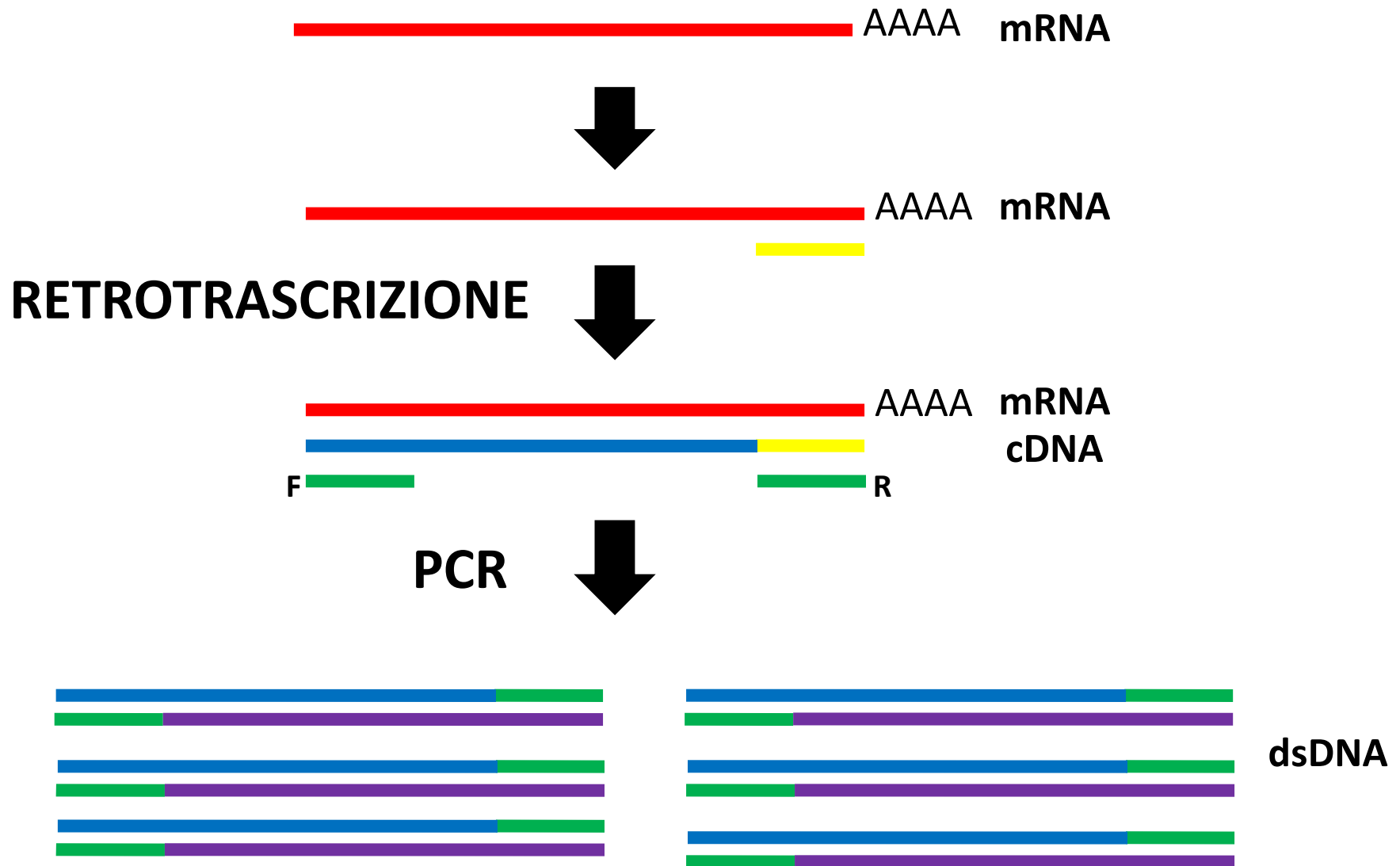
*Retrovirus
(HIV)*



Retrotrascrizione



RT-PCR overview



RT-PCR approaches

One-Step

Retrotrascrizione
+
PCR



Two-Step

Retrotrascrizione



PCR



One-Step

- tempo di esecuzione inferiore
- **condizioni non ottimali**
- aumentata sensibilità e specificità:
uso solamente di primer seq-specifica
intero cDNA usato come template di PCR
- rischio di contaminazione inferiore
- **analisi di un singolo gene**

One-Step

- tempo di esecuzione inferiore
- **condizioni non ottimali**
- aumentata sensibilità e specificità:
uso solamente di primer seq-specifica
intero cDNA usato come template di PCR
- rischio di contaminazione inferiore
- **analisi di un singolo gene**

Two-Step

- **tempo esecuzione maggiore**
- condizione di reazione ottimali
- permette l'amplificazione di lunghi trascritti (fino a 14Kb)
- **possibilità di contaminazione maggiore**
- massima flessibilità: scelta enzimi, primer, analisi multiple