



# Corso di Laurea in Tecniche di laboratorio biomedico C sede ASL di Latina



Corso integrato  
TECNOLOGIE AVANZATE NELLA DIAGNOSTICA DI LABORATORIO  
III° anno I° semestre

## DIAGNOSTICA MOLECOLARE SU TESSUTO

# *Introduzione*

***Dott. Claudio Di Cristofano***

*Dipartimento di Medicina Sperimentale, Anatomia Patologica  
Sapienza, Università di Roma - Polo Pontino  
I.C.O.T., Latina*

**Insegnamento di**  
**DIAGNOSTICA MOLECOLARE SU**  
**TESSUTO**

**Claudio Di Cristofano**

**Riceve a Latina (ICOT)**

**il mercoledì dalle 9.30 alle 10**

**Riceve a Roma (piano terra Anatomia Patologica)**

**il giovedì dalle 14 alle 15**

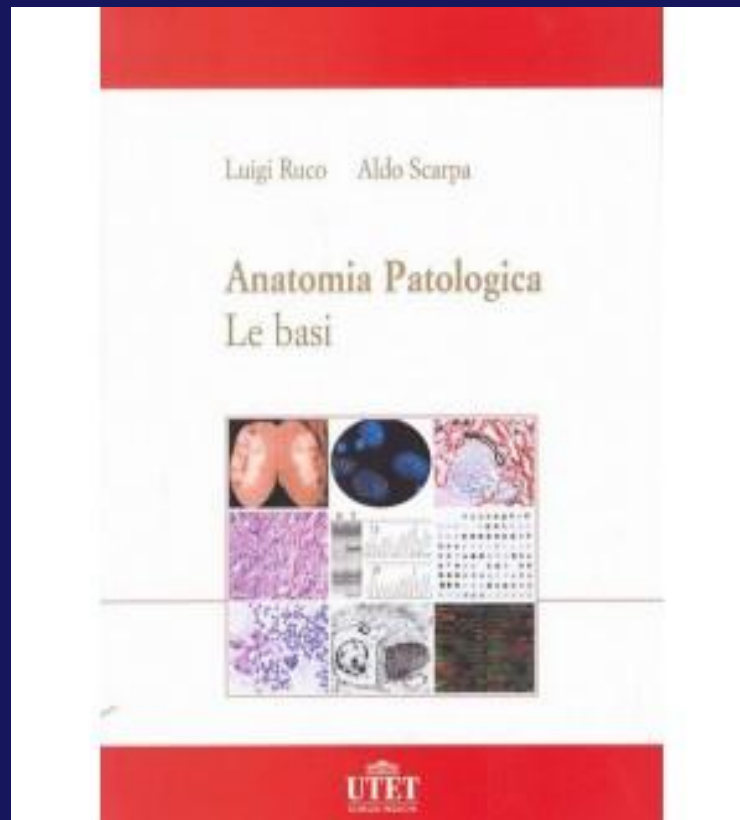
**Tel. 0649970731 – cell. 3476898465**

**e.mail [claudio.dicristofano@uniroma1.it](mailto:claudio.dicristofano@uniroma1.it)**

# Testo consigliato

Anatomia Patologica (Le Basi)

Autori: Scarpa A e Ruco L,  
ed. UTET



# http://elearning2.uniroma1.it/



SAPIENZA  
UNIVERSITÀ DI ROMA

INFOSAPIENZA  
e-learning

Non sei collegato. ([Login](#))

Italiano (it) ▼

[Home](#)

## Login

Username

Password

Ricorda username

[Crea un account](#)

[Hai dimenticato la password?](#)

## STUDENTI

Gli studenti Sapienza devono  
**OBBLIGATORIAMENTE**  
entrare con le credenziali  
InfoStud

[Guida dello studente](#)

## DOCENTI

**Il docente che vuole creare  
corsi deve inviare, con mail  
istituzionale, dopo essersi**

## Servizio di supporto alla didattica e alla formazione via Internet

InfoSapienza gestisce questo Servizio che riguarda tutte le fasi di realizzazione di un corso in modalità e-learning.

Le caratteristiche principali della piattaforma software utilizzata sono descritte a [questo link](#)

## Moodle è stato aggiornato alla versione 2.3.2

Dal 1mo ottobre 2012 è attiva questa piattaforma di elearning per l'università La Sapienza di Roma, basata sulla nuova [versione 2 di Moodle](#). Rimane tuttavia attiva anche la vecchia piattaforma all'indirizzo <http://elearning.uniroma1.it> dove i corsi esistenti potranno continuare ad essere fruiti come in passato e dalla quale gli stessi saranno gradualmente, secondo le necessità dei docenti, trasferiti su questo nuovo sito.

La versione di Moodle installata attualmente presenta numerose [innovazioni](#), e recepisce inoltre le prescrizioni della legislazione italiana sulla accessibilità ([legge "Stanca"](#)). Le modifiche che si sono rese necessarie sono ora inserite nella versione ufficiale di Moodle a disposizione della intera comunità mondiale. Moodle accessibile è il frutto di un [progetto](#) di collaborazione internazionale che ha visto la partecipazione attiva del CITICoRD (ora [InfoSapienza](#)) e del CNIPA (ora [DigitPA](#))

## Categorie di corso

[Architettura \(1\)](#)

[Economia](#)

## Centro InfoSapienza

## Servizio elearning Moodle 2

Moodle è un software Open Source per la creazione di corsi e-learning potente e facilmente usabile a crescenti livelli di complessità. Può essere utilizzato come semplice deposito per i materiali didattici da rendere disponibili agli studenti di un normale corso universitario, ma può anche essere utilizzato per creare interi corsi completi e ben articolati, con anche aree interattive, esercizi di autovalutazione ed esami.

Il sito è aperto a tutti i docenti

# Programma del Corso

- **Introduzione allo studio dei tessuti**
- **Le metodiche in situ su tessuto**
  - **FISH ed immunoistochimica**
- **Le metodiche di tipo estrattivo su tessuto**

# ***PATOLOGIA MOLECOLARE***

*Lo studio in **cellule e tessuti** degli aspetti  
molecolari della eziopatogenesi delle malattie  
a fini scientifici e diagnostici*

# *PATOLOGIA MOLECOLARE*

- *biologia molecolare :*
  - *genomica*
  - *proteomica*
- *morfologia molecolare :*
  - *genomica in situ:*  
*FISH*
  - *proteomica in situ:*  
*immunoistochimica*

# *PATOLOGIA MOLECOLARE*

## *fasi*

- *pre - analitica*
- *analitica*
- *interpretativa*



# Preanalytica

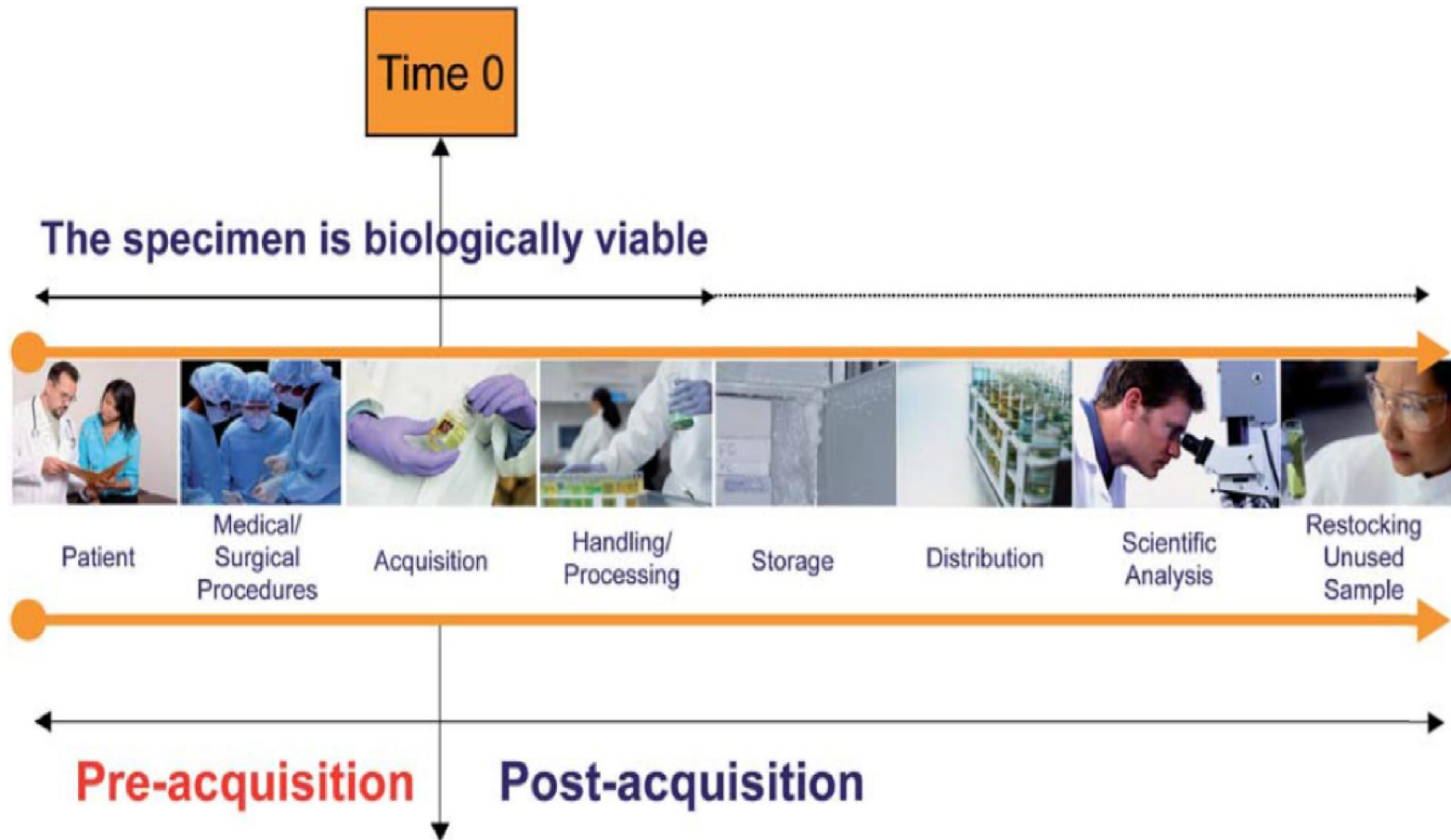


Fig. 1. The life cycle of the biospecimen.

# A Review of Preanalytical Factors Affecting Molecular, Protein, and Morphological Analysis of Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded (FFPE) Tissue

## How Well Do You Know Your FFPE Specimen?

*B. Paige Bass, PhD; Kelly B. Engel, PhD; Sarah R. Greytak, PhD; Helen M. Moore, PhD*

Preanalytical Factor	DNA	RNA	Protein	Morphology
Postmortem interval	<48 h for FISH, <sup>7</sup> ≤4 d for PCR <sup>8</sup>	<4 h <sup>53</sup>	Evidence was insufficient	Evidence was not available
Cold ischemia	<1 h for FISH, <sup>5</sup> ≤24 h for PCR <sup>31</sup>	<12 h <sup>56</sup>	<12 h <sup>5,80-83</sup>	<6 h <sup>91,139-141</sup>
Warm ischemia time	Evidence was insufficient	Evidence was not available	Evidence was not available	Evidence was not available
Specimen size	3–10 mm <sup>3</sup> (Ref. 10)	Evidence was not available	1.2–3.5 mm <sup>3</sup> (Ref. 84)	Evidence was not available
Prefixation handling	Evidence was not available	Evidence was not available	Thresholds are antigen specific <sup>85-87</sup>	Thresholds are tissue and method specific <sup>81,85,142,143</sup>
Decalcification	EDTA <sup>11-14</sup>	Ultrasound or EDTA <sup>14,57-59</sup>	Thresholds are tissue and antigen specific <sup>87-89</sup>	Ultrasound; EDTA; nitric, formic, or acetic acid; DECAL <sup>b</sup> ; Cal-Ex <sup>c</sup> ; D-calcifier <sup>d</sup> ; Plank-Rychlo, Ebner's, or Jenkin's solution <sup>14,89,144,145</sup>

# Scelta del materiale

- **Identificazione della neoplasia**
- **Scelta del blocchetto in paraffina**
- **% cellule neoplastiche nella sezione**
  - **campione (Bx, FNAC, pezzo operatorio)**
    - **>50% (minimo 20%)**
    - **% DNA mutante (AF)=% di tumore/2**
- **N° cellule necessarie**
  - **Dipende dalla metodica**
    - **NGS (10 ng DNA circa 1500 cellule conservate)**

# *PATOLOGIA MOLECOLARE*

*fase pre - analitica*

*Metodiche in situ*

- *Sezioni di tessuto fresco / congelato*
- *Sezioni di tessuto fissato ed incluso in paraffina*

# ***PATOLOGIA MOLECOLARE***

*fase pre - analitica*

*Metodiche in situ*

- *Sezioni di tessuto fresco / congelato*

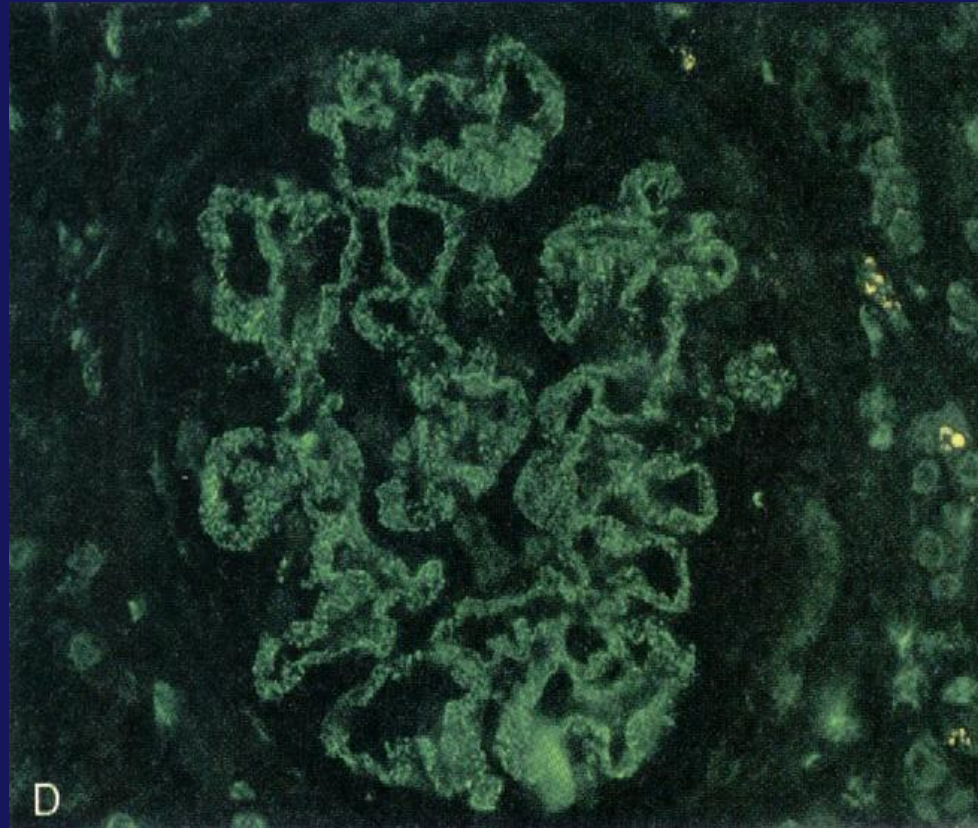
*Immunofluorescenza diretta*

*Patologia cutanea*

*Patologia renale*

# *Immunofluorescenza diretta*

## *Sezioni a fresco*





**IMPORTANZA DEL  
LIQUIDO DI FISSAZIONE  
IN CUI VIENE DEVE ESSERE IMMERSO IL  
CAMPIONE DA DESTINARE ALL'ESAME  
ISTOLOGICO**

**FORMALINA AL 10%**









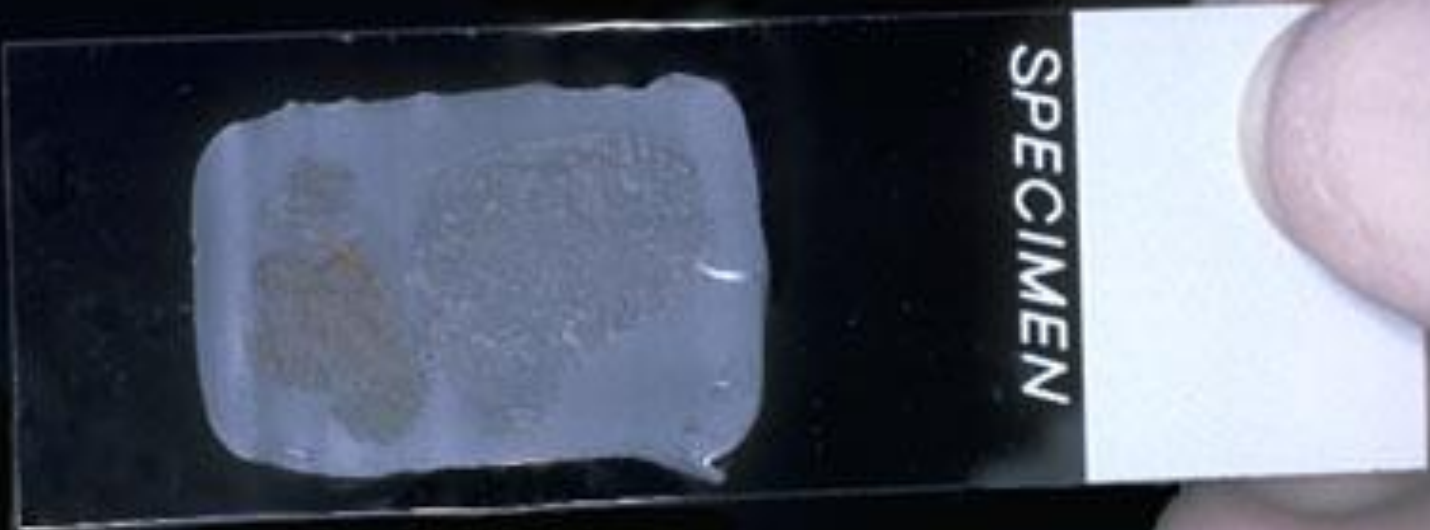


INDUSTRIAL  
DISPENSING CONSOLE

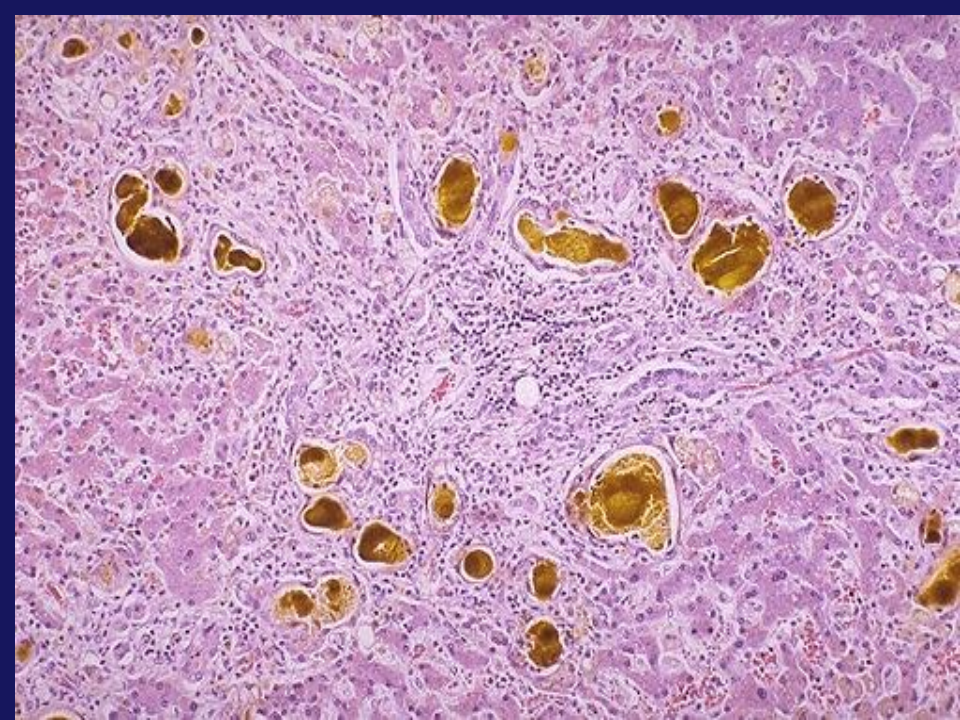
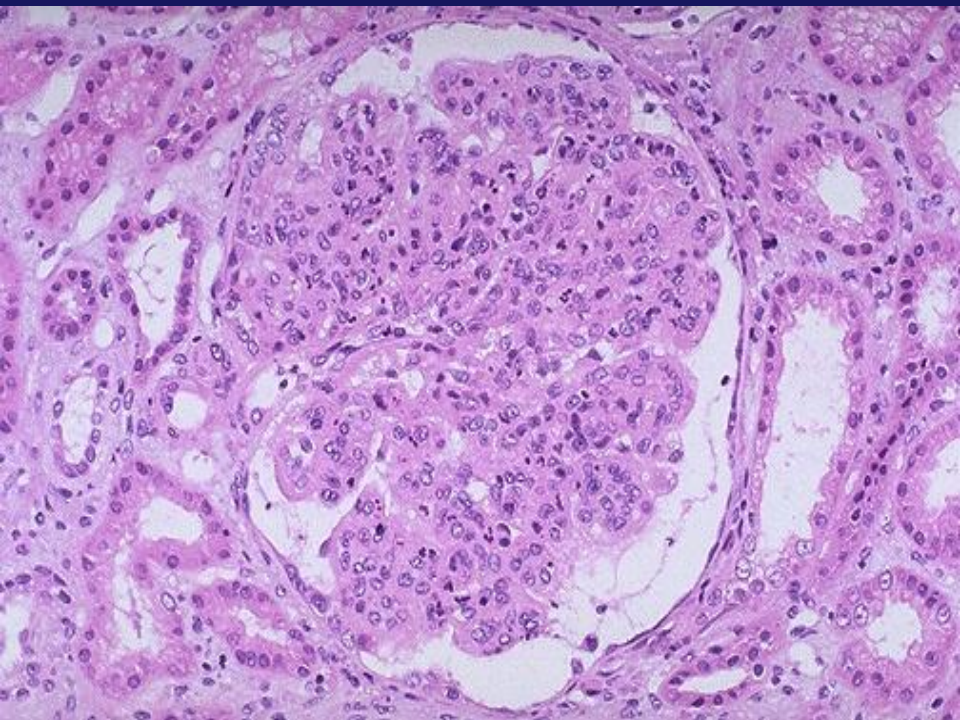
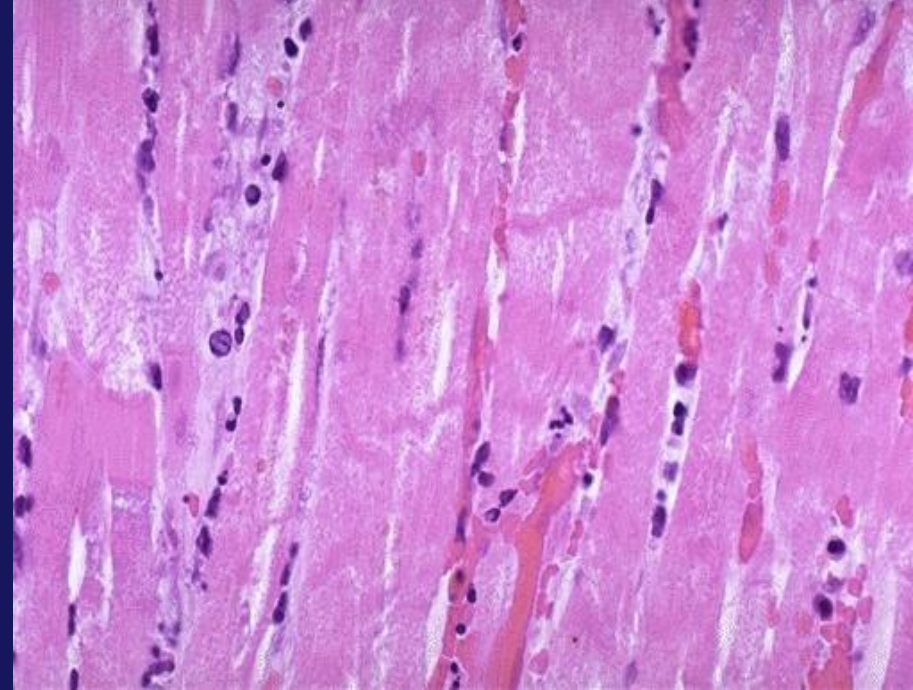
ATLAPLAST







**SPECIMEN**



# *PATOLOGIA MOLECOLARE*

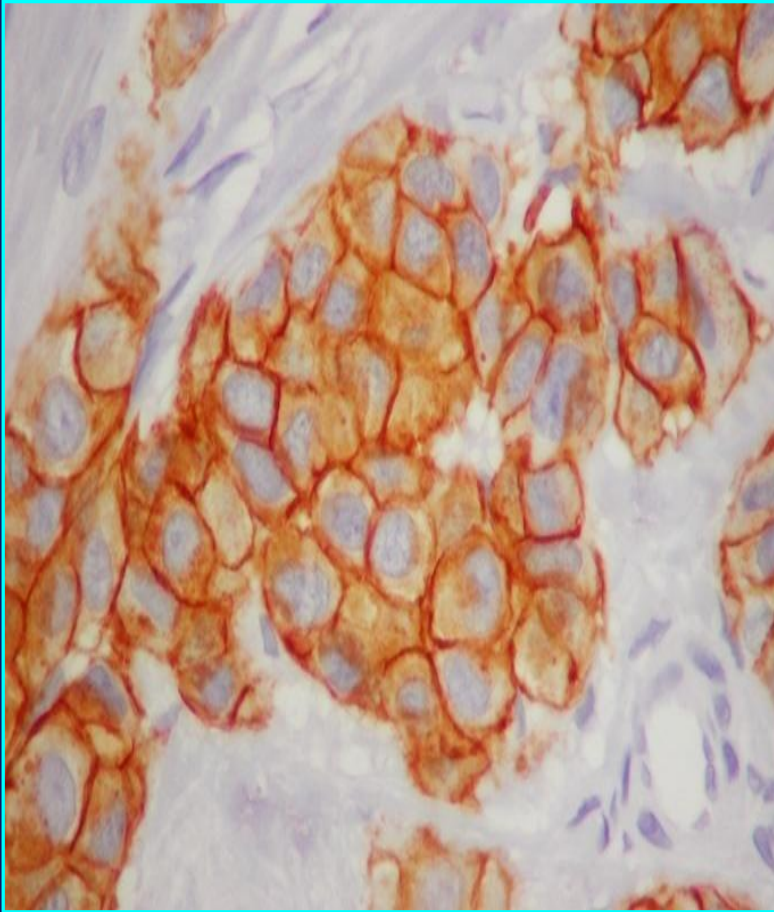
*fase pre - analitica*

*Metodiche in situ*

- *Sezioni di tessuto fissato ed incluso in paraffina*
  - *Immunoistochimica/proteomica in situ*
  - *FISH*

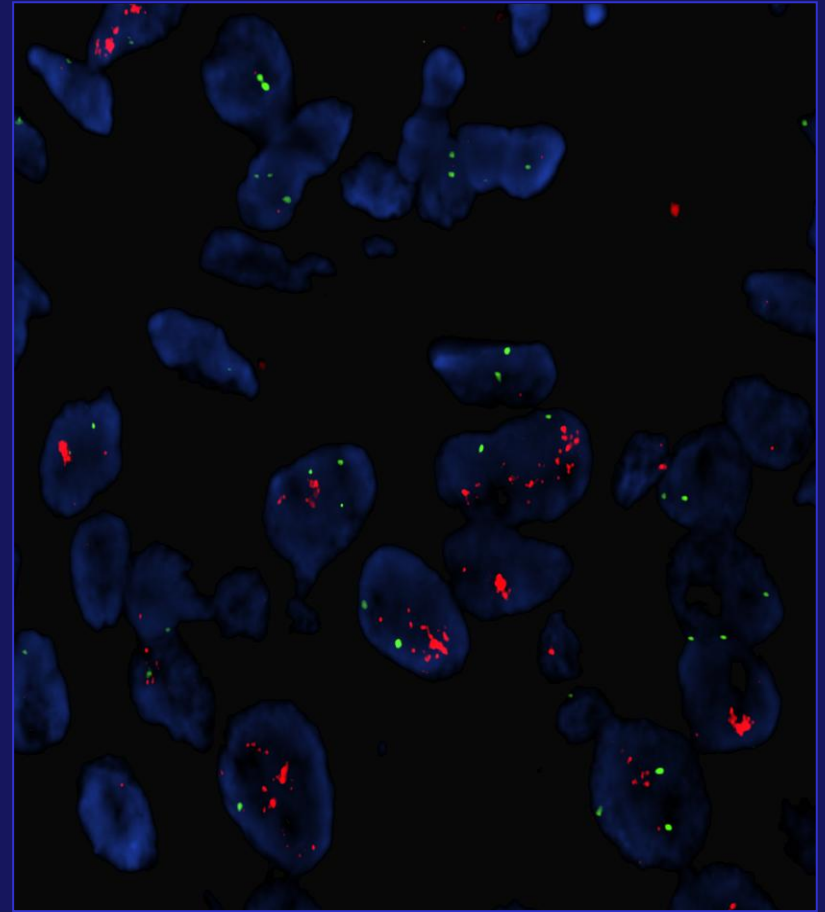


*IHC*



*Proteomica*

*FISH*



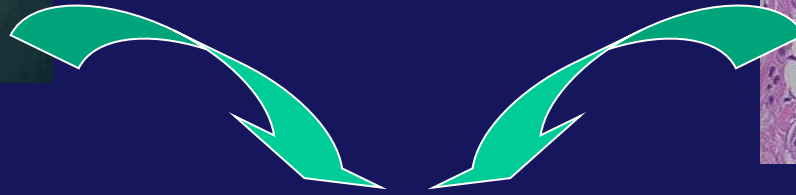
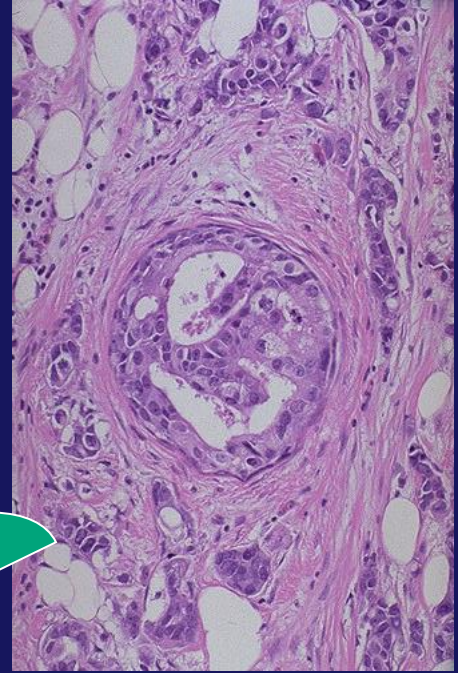
*Genomica*

# *PATOLOGIA MOLECOLARE*

*fase pre - analitica*

*Metodiche estrattive*

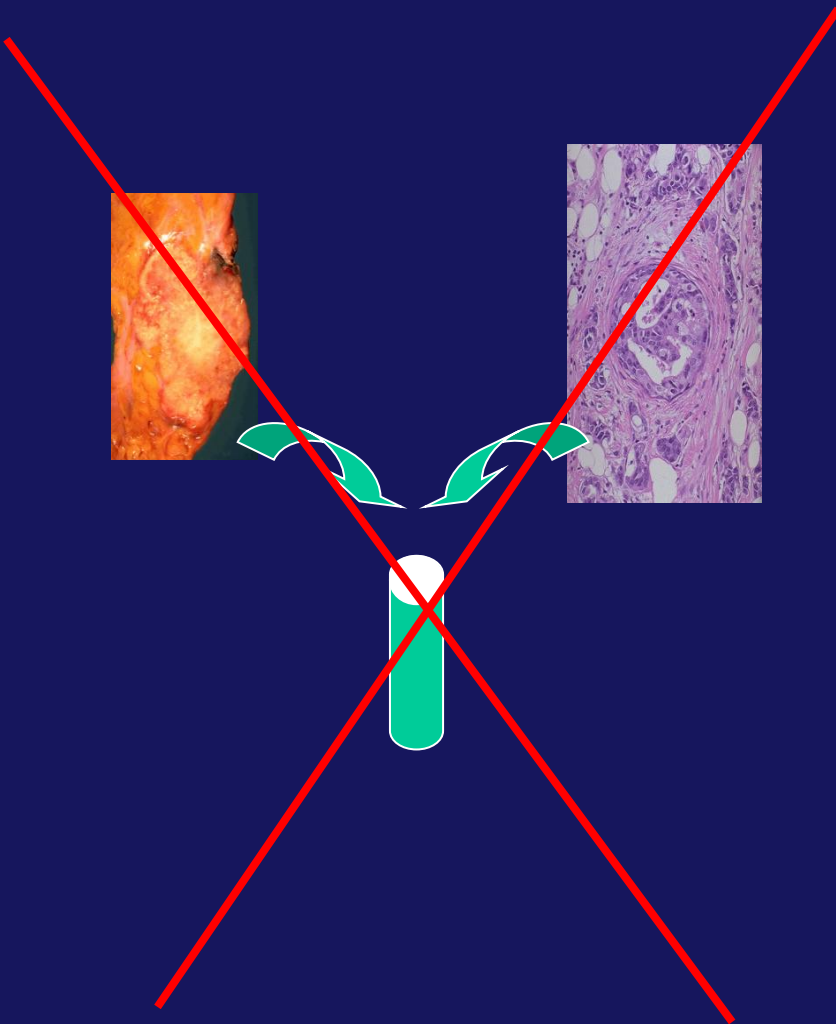
- *tessuto fresco / congelato*
- *tessuto fissato ed incluso in paraffina*



*le “molecole” delle  
popolazioni  
cellulari diverse da  
quella da studiare  
contaminano  
quest’ultima*



*risultato falsato*



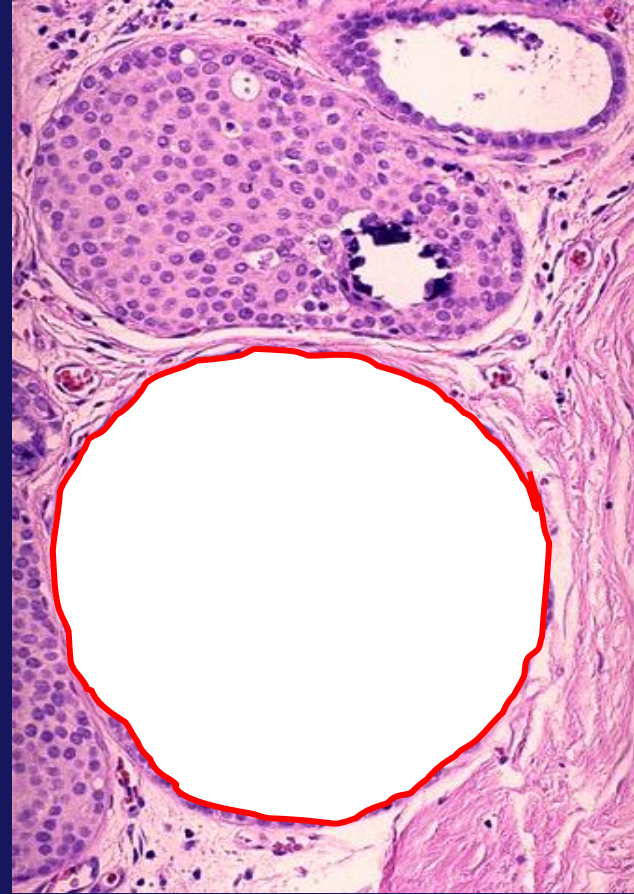
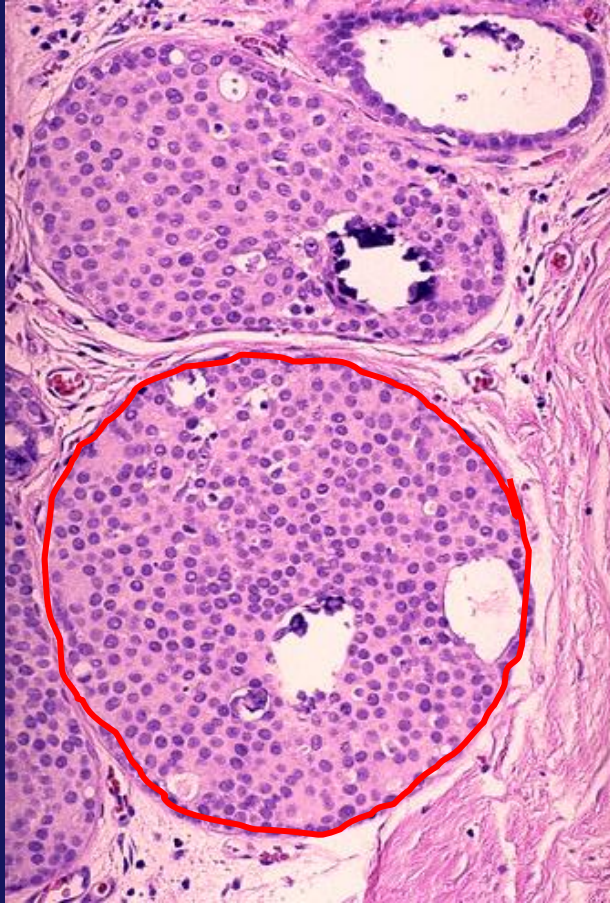
# ***PATOLOGIA MOLECOLARE***

*fase pre - analitica*

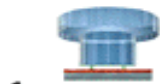
*estrazione*

*selezionare ed “arricchire” la  
popolazione cellulare da  
studiare*

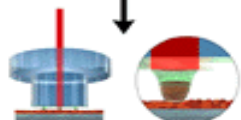
# *micro-dissezione laser*



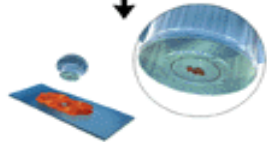
## The Laser Capture Microdissection Process



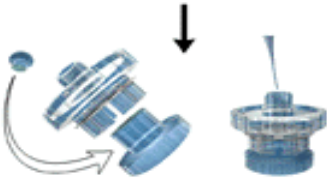
1 Place cap on tissue



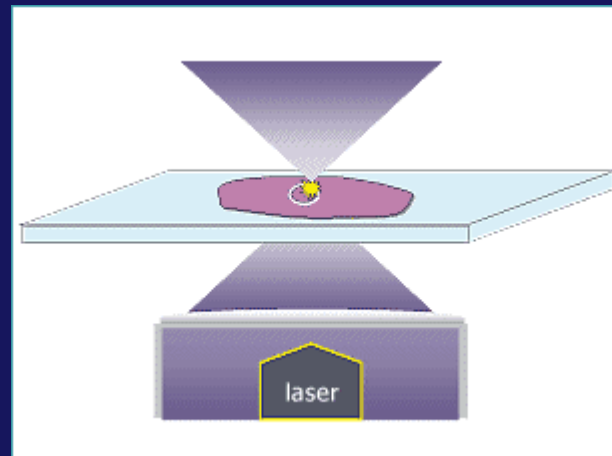
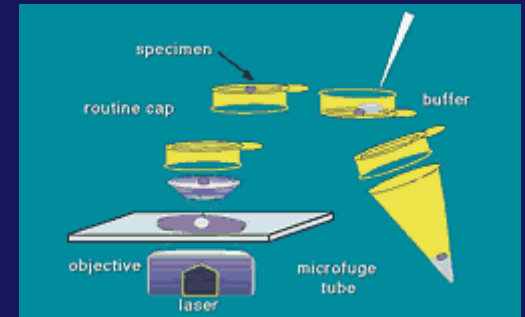
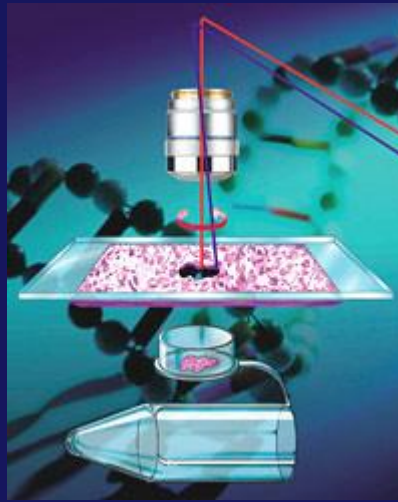
2 Pulse laser at target cells

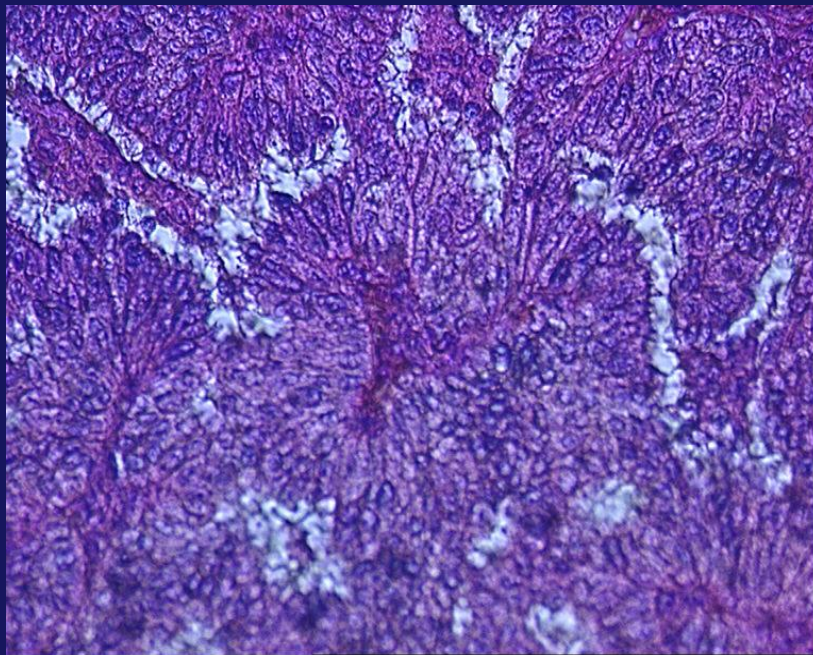
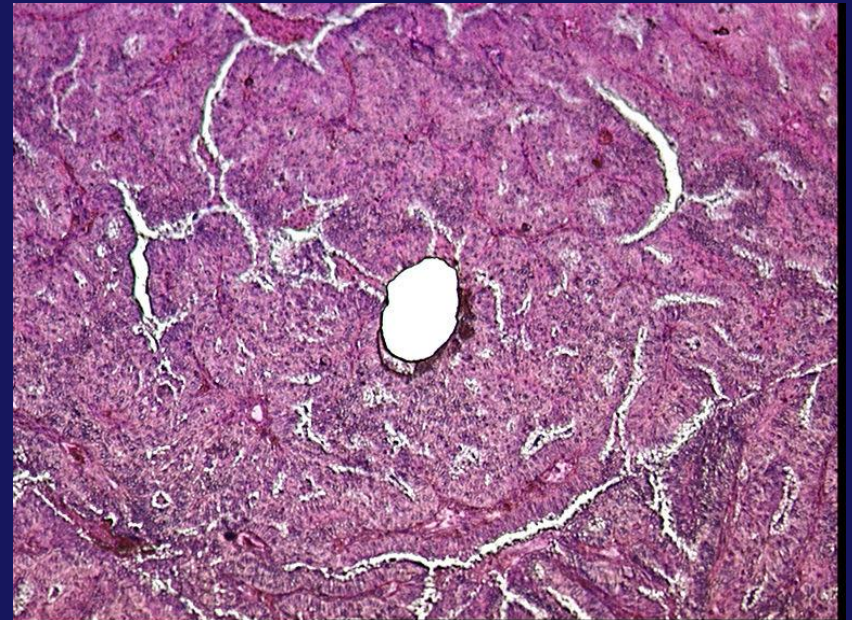
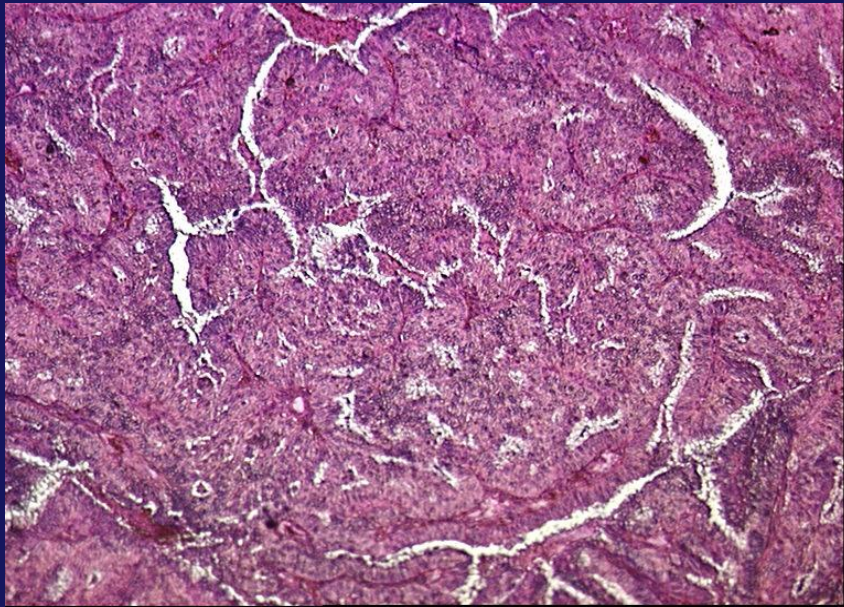


3 Remove cap with adhered target cells



4 Extract molecules from target cells

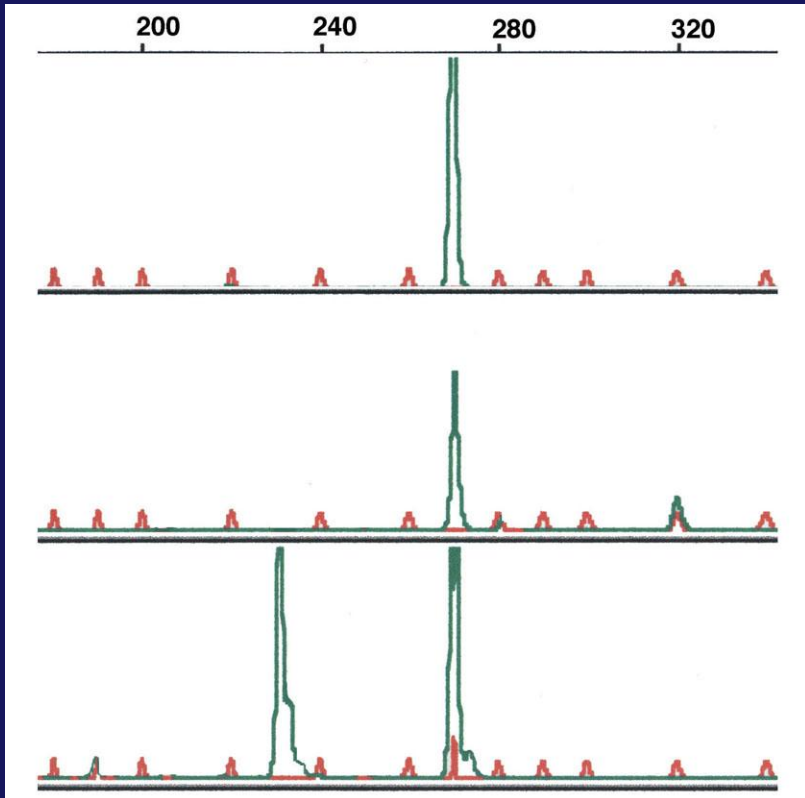






# Chr 16q

## D16S476



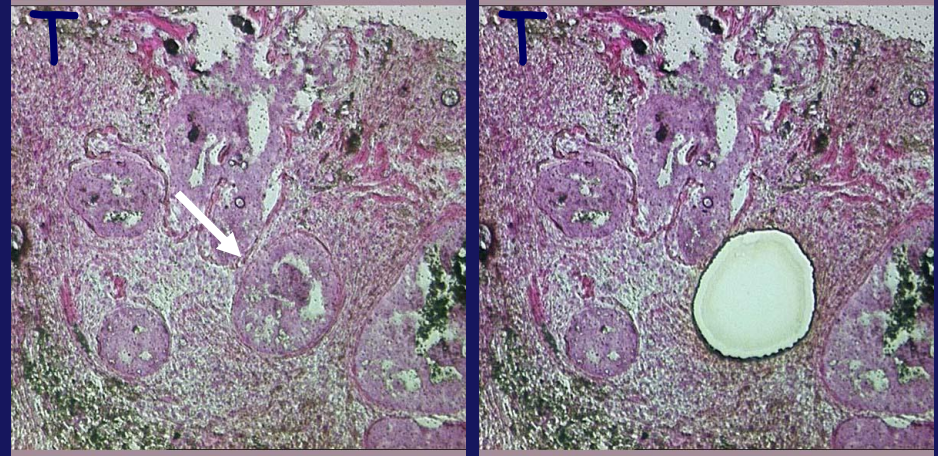
Carcinoma papillare

Papilloma

Epitelio duttale normale

# Procedura Sperimentale

1. Microdissezione laser  
[ $10^4$  cellule/campione]

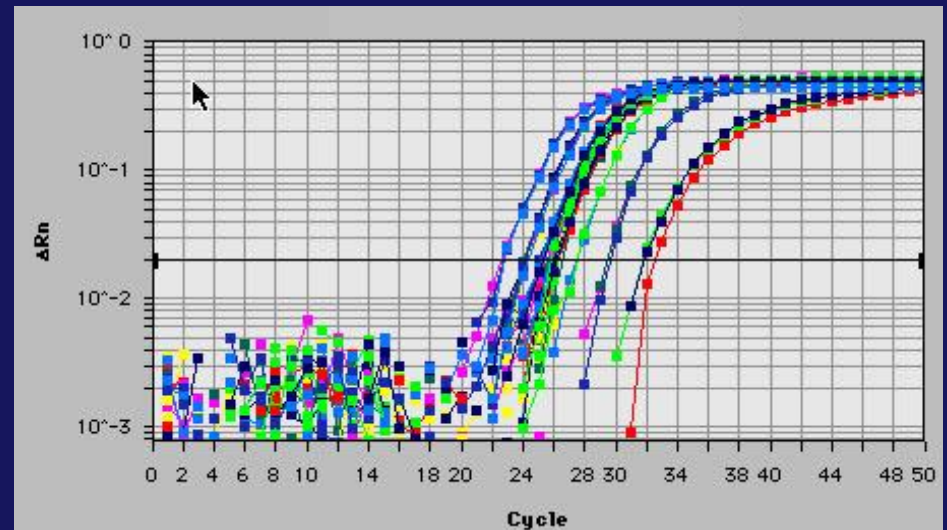


2. Estrazione RNA totale

3. Retrotrascrizione

4. Amplificazione per  
*Real-Time PCR*

[TaqMan]



5. **NBRMS1** =

$BRMS1_{\text{Campione}}$

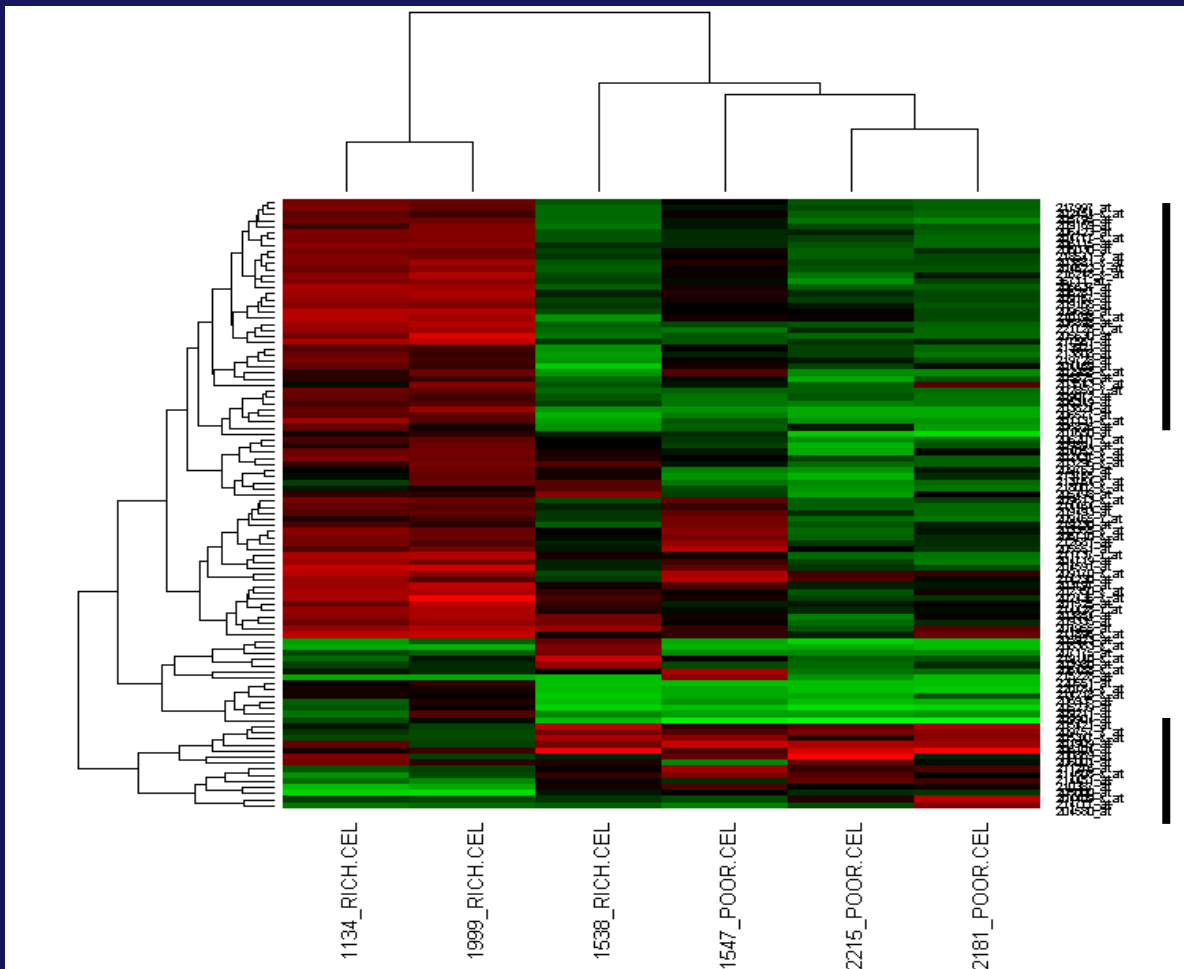
$TBP_{\text{Campione}}$

$BRMS1_{\text{Calibratore}}$

$TBP_{\text{Calibratore}}$

# *neuroblastoma*

## *hierarchical cluster algorithm*



*Cluster 1*

*NB-SPs*

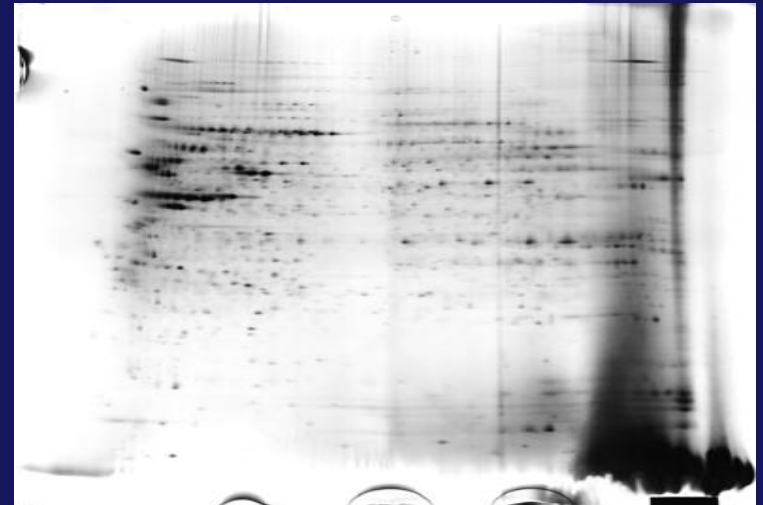
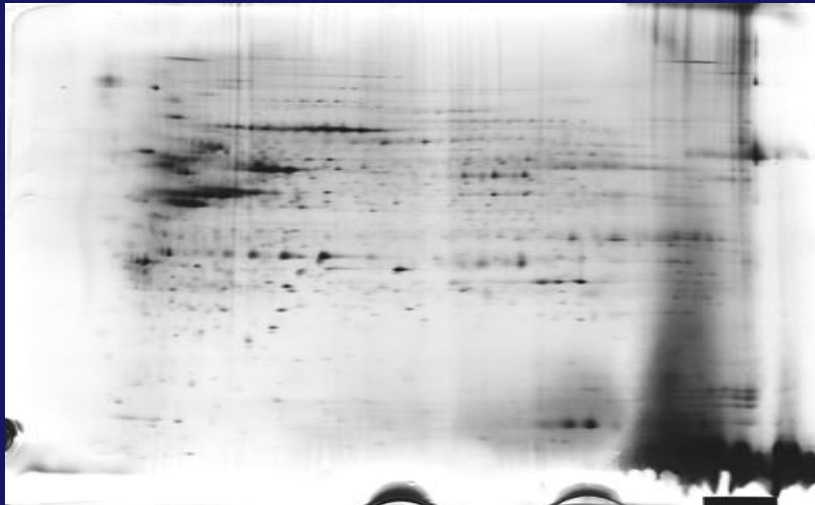
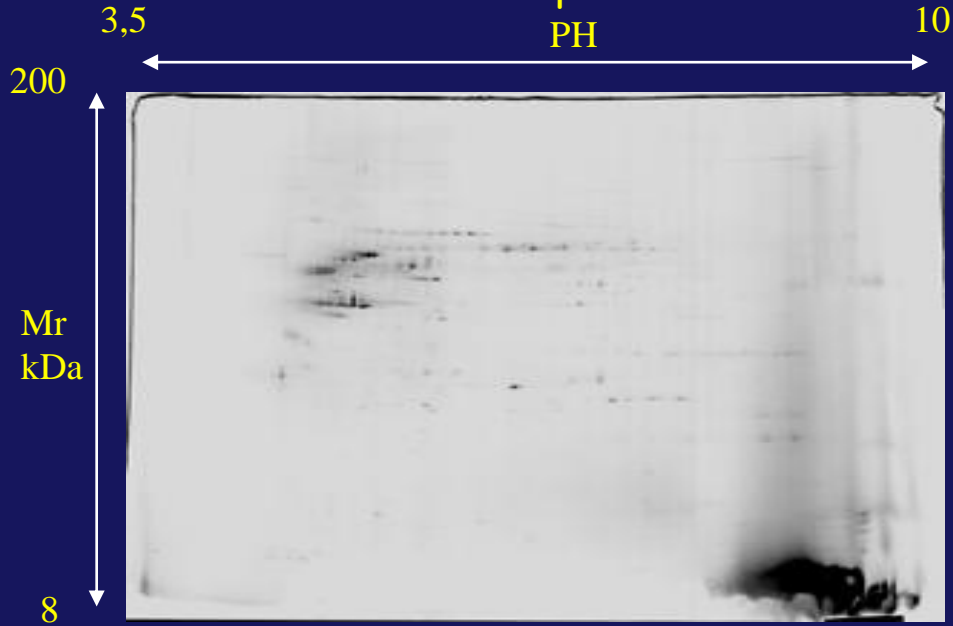
*Cluster 2*

*GNBi-SRs*

# 2D-PAGE

Cellule duttali pancreatiche  
PH

Cellule tumorali



# *PATOLOGIA MOLECOLARE*

## *Fase interpretativa*

**Diverso concetto di diagnosi**

**La caratterizzazione  
biomolecolare  
dei tumori solidi**

# Approccio Molecolare nei tumori

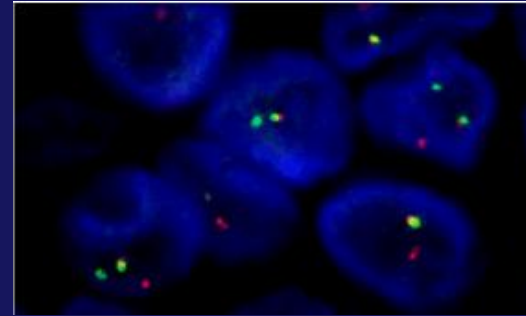
**BRCA1 & BRCA2**  
AMBRY IS PLEASED TO OFFER MULTIPLE BRCA TESTING OPTIONS

TESTS INCLUDE:

- ▶ BRCA 1&2
- ▶ BRCAPlus
- ▶ BreastNext
- ▶ CancerNext
- ▶ OvaNext
- ▶ GYNplus

Genetic testing for hereditary breast and ovarian cancer syndromes.

**Ambry Genetics**



## PREVENZIONE

BRCA1 e 2 ca. mammella

## DIAGNOSI

Traslocazione EWS sarcoma di Ewing

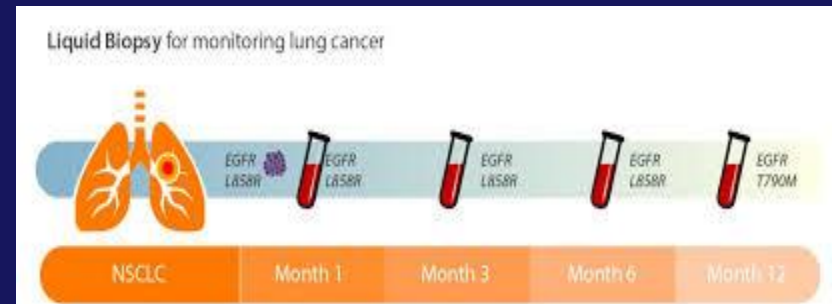
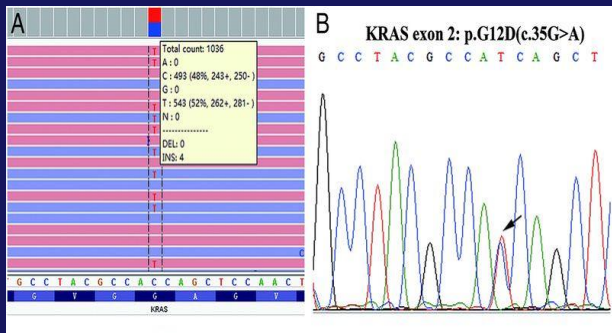
# GENOMICA

## FATTORI PREDITTIVI

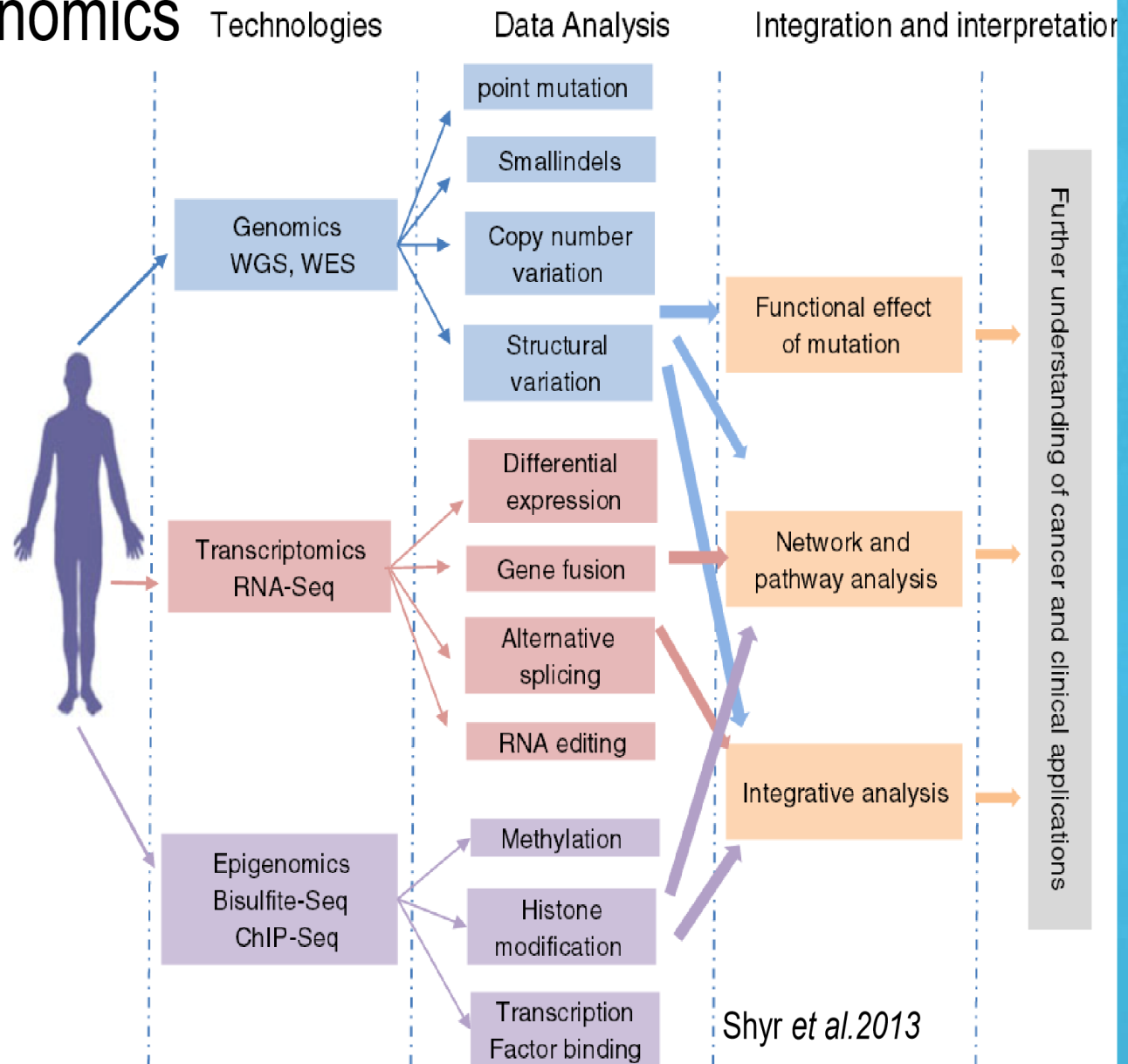
KRAS ca colon-retto

## MONITORAGGIO DELLA MALATTIA

Bx liquida (EGFr) ca polmone



# Cancer Genomics



# Classificazione molecolare dei tumori

Resource

Cell Reports

ARTICLE

**In**  
**ca**  
The Can

A cat  
impr  
expr  
DNA  
canc  
soma  
copy  
canc  
signa  
BRC  
defec  
canc

Ovarian  
women  
estimate  
patients  
cancer<sup>2</sup>  
followe  
resistan  
months  
Approx  
tions in  
for by ot  
attribut

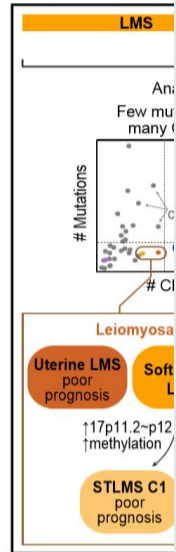
**AF**  
**Co**  
**hu**  
The Canc

We an  
messa  
across  
of four  
hetero  
breast  
of spe  
protein  
analysi  
HER2/  
breast  
actiolo  
differe  
plastic

Breast car  
1,300,000  
this heter  
groups. I  
numerous  
ing outco  
HER2 (als  
because o

**Cell**  
**Comprel**  
**Character**

Graphical Abst



Highlights

- Multiplatform g shows their div

Author Manuscript

Author Manuscript

Author Manuscript



**HHS Public Access**

Author manuscript

*Nat Genet.* Author manuscript; available in PMC 2016 November 09.

Published in final edited form as:

*Nat Genet.* 2016 June ; 48(6): 607–616. doi:10.1038/ng.3564.

## Distinct patterns of somatic genome alterations in lung adenocarcinomas and squamous cell carcinomas

Joshua D. Campbell<sup>1,2</sup>, Anton Alexandrov<sup>3,4</sup>, Jaegil Kim<sup>1</sup>, Jeremiah Wala<sup>1,2</sup>, Alice H. Berger<sup>1,2</sup>, Chandra Sekhar Pedamallu<sup>1,2</sup>, Sachet A. Shukla<sup>1,2</sup>, Guangwu Guo<sup>1,2</sup>, Angela N. Brooks<sup>1,2</sup>, Bradley A. Murray<sup>1,2</sup>, Marcin Imielinski<sup>1,2,5</sup>, Xin Hu<sup>6</sup>, Shiyun Ling<sup>6</sup>, Rehan Akbani<sup>6</sup>, Mara Rosenberg<sup>1</sup>, Carrie Cibulskis<sup>1</sup>, Aruna Ramachandran<sup>1,2</sup>, Eric A. Collisson<sup>7</sup>, David J. Kwiatkowski<sup>1,8</sup>, Michael S. Lawrence<sup>1</sup>, John N. Weinstein<sup>6</sup>, Roel G. W. Verhaak<sup>6</sup>, Catherine J. Wu<sup>1,2</sup>, Peter S. Hammerman<sup>1,2</sup>, Andrew D. Cherniack<sup>1</sup>, Gad Getz<sup>1,9</sup>, Cancer Genome Atlas Research Network<sup>10</sup>, Maxim N. Artyomov<sup>3</sup>, Robert Schreiber<sup>3</sup>, Ramaswamy Govindan<sup>11</sup>, and Matthew Meyerson<sup>1,2,12</sup>

<sup>1</sup>Cancer Program, The Eli and Edythe L. Broad Institute of Harvard and MIT, Cambridge, Massachusetts, USA

<sup>2</sup>Department of Medical Oncology, Dana-Farber Cancer Institute, Boston, Massachusetts, USA

<sup>3</sup>Department of Pathology and Immunology, Washington University, St. Louis, Missouri, USA

<sup>4</sup>Computer Technologies Laboratory, ITMO University, St. Petersburg, Russia

Users may view, print, copy, and download text and data-mine the content in such documents, for the purposes of academic research, subject always to the full Conditions of use: [http://www.nature.com/authors/editorial\\_policies/license.html#terms](http://www.nature.com/authors/editorial_policies/license.html#terms)

Corresponding authors: Matthew Meyerson ([Matthew\\_Meyerson@dfci.harvard.edu](mailto:Matthew_Meyerson@dfci.harvard.edu)), Ramaswamy Govindan ([rgovinda@dom.wustl.edu](mailto:rgovinda@dom.wustl.edu)).

<sup>10</sup>A full list of members appears under Collaborators and in Supplementary Table 3.

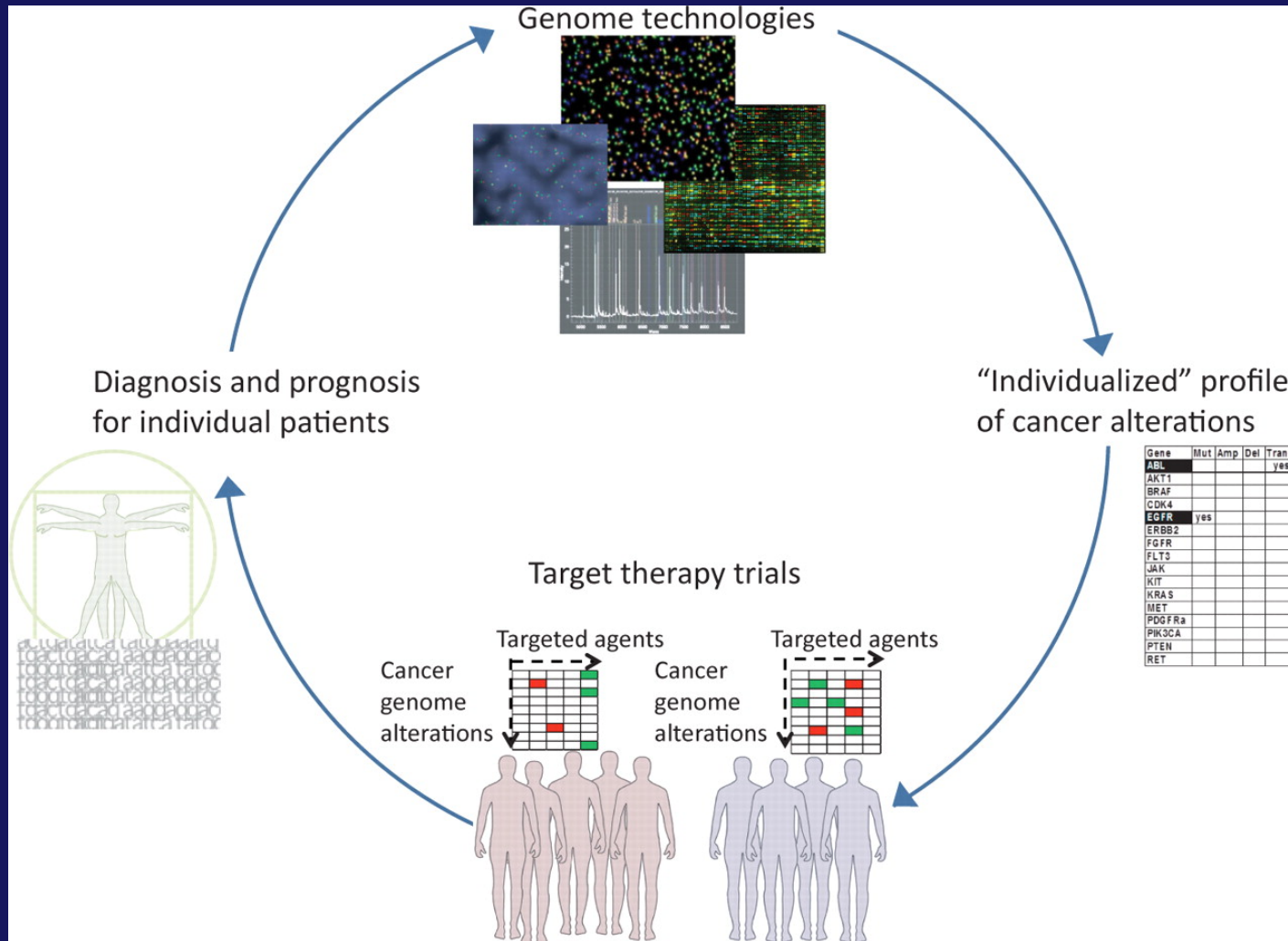
URLs

Picard tools: <http://broadinstitute.github.io/picard/>,

MutSig algorithm: [www.broadinstitute.org/cancer/cga/MutSig](http://www.broadinstitute.org/cancer/cga/MutSig).



# Cycle of personalized cancer medicine.

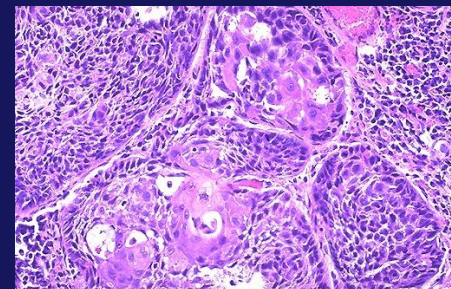
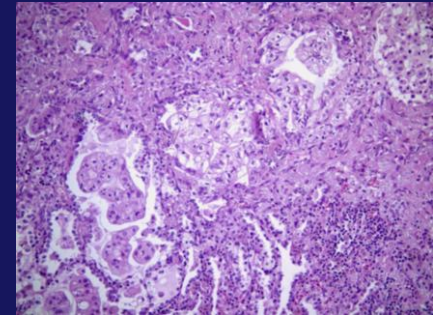
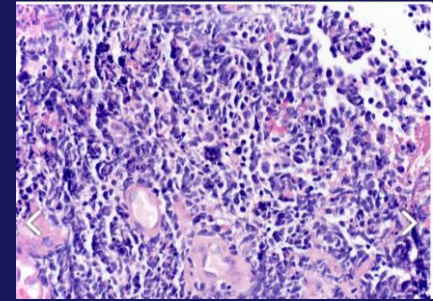


Laura E. MacConaill et al. *Cancer Discovery* 2011;1:297-311

# Tumori del polmone

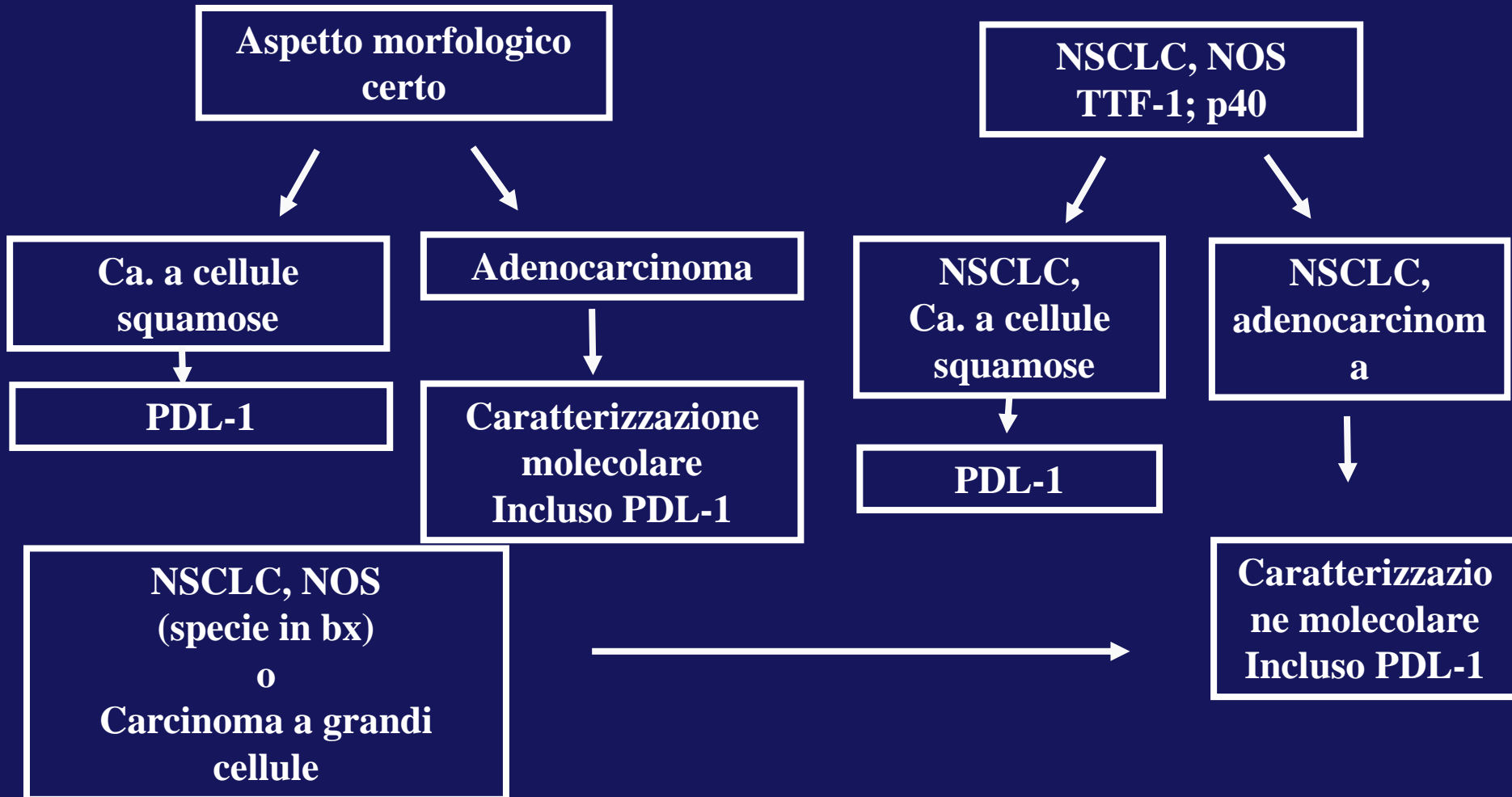
## Immunohistochimica

- **Ca. a piccole cellule (SCLC)**
  - **Marcatori neuroendocrini**
    - **CD56, NSE; Sin.; Crom.**
- **Ca. non a piccole cellule (NSCLC)**
  - **Adenocarcinomi**
    - **TTF1; CK7; NAPSINA A**
  - **Carcinomi a cellule squamose**
    - **P40; CK5/6; CK34B12; p63**



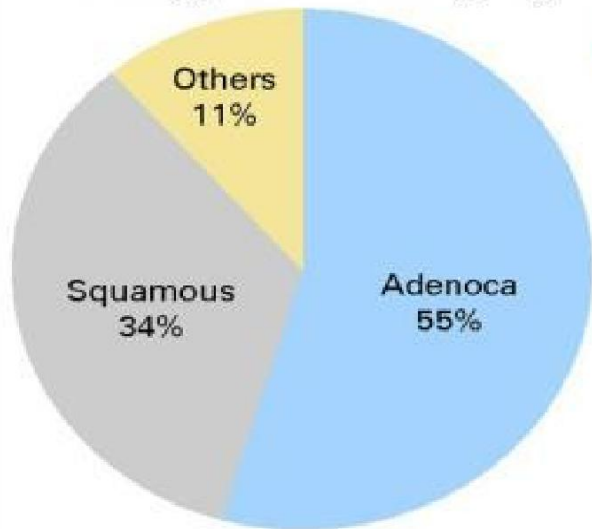
# Indagini Immunoistochimiche NSCLC

## Istotipo

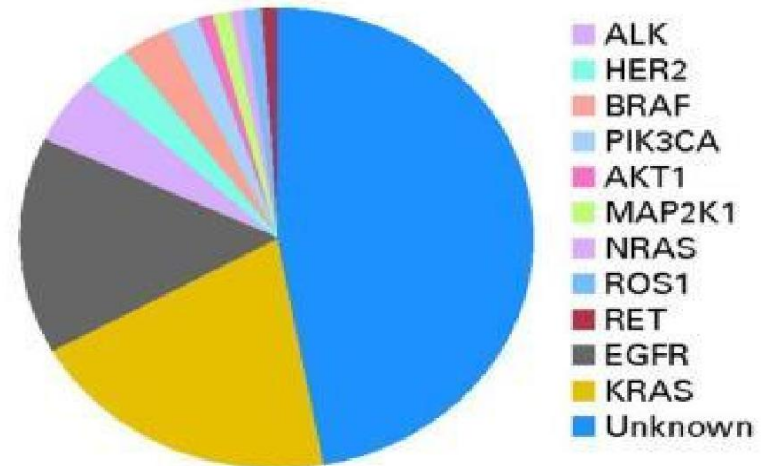




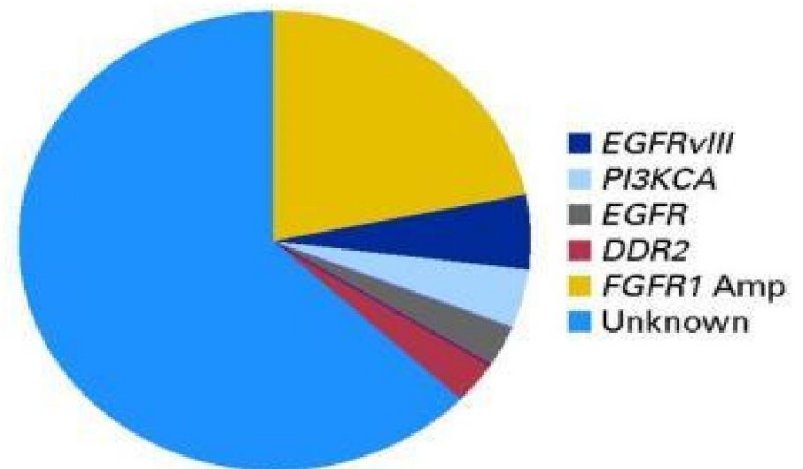
Histology-Based Subtyping



Adenocarcinoma



Squamous Cell Cancer



# Indagini molecolari

attualmente dirimenti nel NSCLC in italia per il trattamento

Adenocarcinoma; NSCLC, NOS; Ca. a grandi cellule

Mutazioni EGFR

Sequenziamento  
esoni 18,19,20,21

Sanger

RT-PCR

Pirosequenziamento

Spettrometria di

massa

NGS/MPS

Fusioni di ALK

IHC screening  
(neg 0;1-2 dubbio;3  
pos)

**FISH**

**Pos se fusione nel  
15% cellule  
neoplastiche**

Fusioni di ROS

IHC screening  
e

**FISH**

**Pos se fusione nel  
15% cellule  
neoplastiche**

PDL-1

**IHC**

Tumor

Proportional  
Score (TPS)

**% pos anche  
parziale o bassa  
di membrana**

**50% prima  
linea**

**1% seconda  
linea**

# IHC

- Used to detect changes to protein expression
- More accessible
- Less subjective
- Interpretation is highly dependent on proper specimen processing

# FISH

- Used to detect gene fusions
- Defines spatial relationships between targets
- Requires high level of skill for chromosome preparation and interpretation

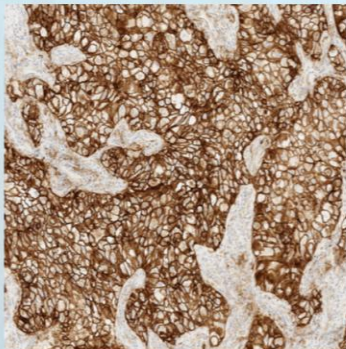
# NGS

- Used to detect genetic mutations and fusions
- Requires specialized equipment and skilled operators
- Generates **DATA**
- Superior performance characteristics

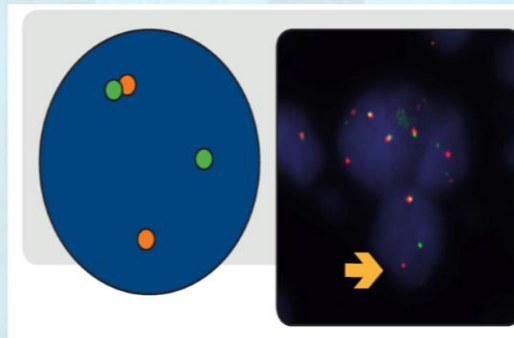
Turnaround time

Cost of testing

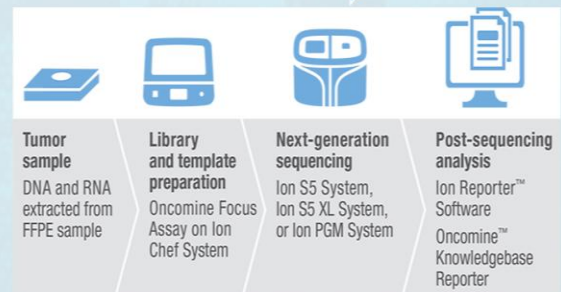
Sensitivity



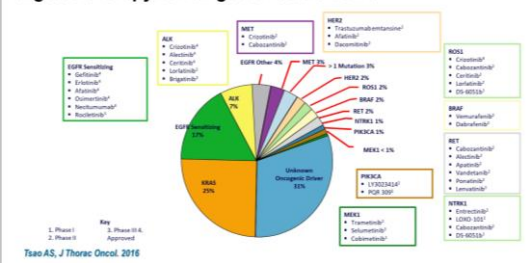
VENTANA PD-L1 (SP263) Assay staining in non-small cell lung cancer (NSCLC) with membranous and cytoplasmic staining of the tumor cells. Roche 2018.



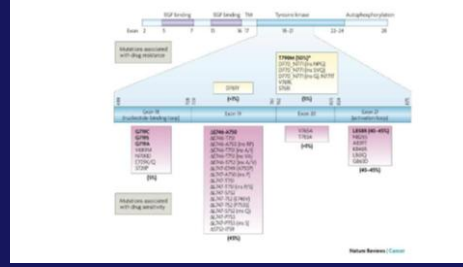
ALK Break apart FISH Evaluation guide for NSCLC Tissue Specimens. AMD-00002974. Abbott 2018



OncoPrint focus assay workflow. Thermo Fisher 2018.



# Indagini molecolari future NSCLC



- **EGFR (2003) mut es 18;19;20;21**
  - Advance or metastatic NSCLC (erlotinib e gefitinib o afatinib...)
- **ALK (2011) and ROS1 (2016) rearrang.**
  - Advance or metastatic NSCLC (crizotinib)
- **BRAF (2017) mut V600E**
  - Advance or metastatic NSCLC (Vemurafenib, dabrafenib)
- **NTRK (2019) rearrang.**
  - Advance or metastatic NSCLC (larotrectinib e etrectnib)
- **RET (2020) rearrang.**
  - Advance or metastatic NSCLC (telpercatinib e pralsetinib)
- **MET (2020) del es14**
  - Metastatic NSCLC (capnatinib)
- **HER2 (2020)**
  - Advance or metastatic NSCLC (trastuzumab, afainib.....)
- **KRAS mut (2021?)**
  - Advance or metastatic NSCLC (AMG 510)

13%

5% e 1 %

2%

0,3%

2%

4%

2%

Tot ~ 40%

- **PDL1 (2015) IHC espressione (>50%)** **30%**
  - NSLC (pembrolizumab)



# NGS/MPS



- Consigliato l'utilizzo delle NGS nei tumori più frequenti (polmone, mammella, etc)
- Standardizzazione fase analitica e nella refertazione
- Controlli di qualità interni esterni (nazionali ed internazionali)

Utilizzo di pannelli sempre più ampi di sequenziamento DNA/RNA mut, fus, del/ins, CNV, instabilità, TMB



# NGS/MPS in NSCLC



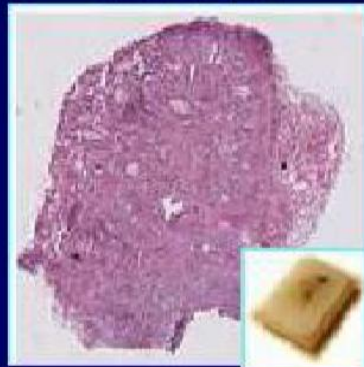
- **Ricerca di mutazioni sensibilizzanti («targettabili»)  
alla diagnosi con pannelli ampi di sequenziamento  
(300-500 geni)**
- **Ricerca di mutazioni associate alla resistenza alla  
progressione anche su biopsia liquida dove necessario**

# Tipo di materiale nel NSCLC

## Surgical Resection



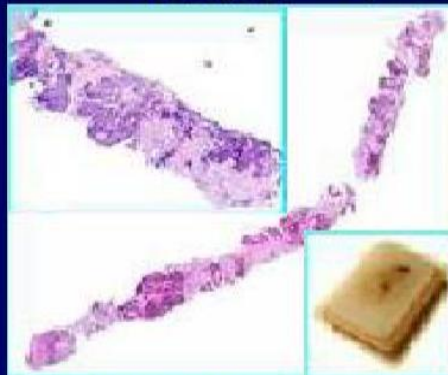
## Histology



## Advanced Tumor

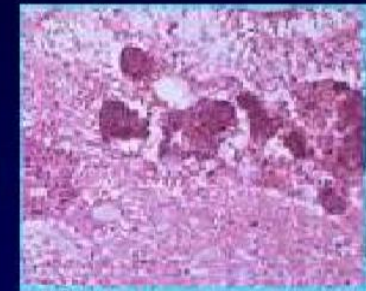


## Core Needle Biopsy (CNB)



Formalin-fixed and Paraffin-embedded (FFPE)

## Endobronchial Ultrasound (EBUS) or Pleural Fluid



Alcohol-fixed



## Fine Needle Aspiration (FNA)



Alcohol-fixed

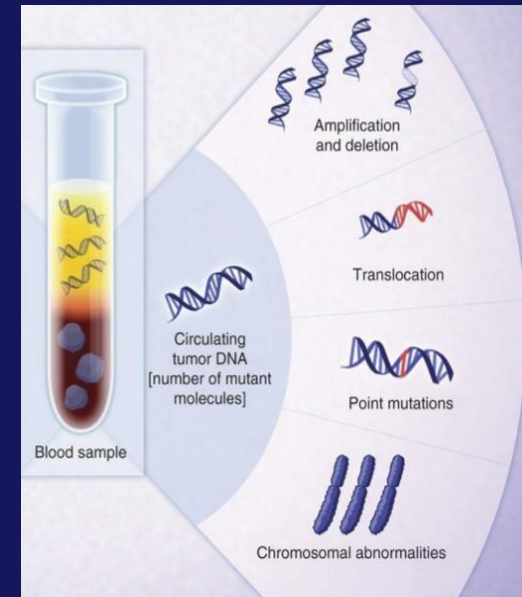
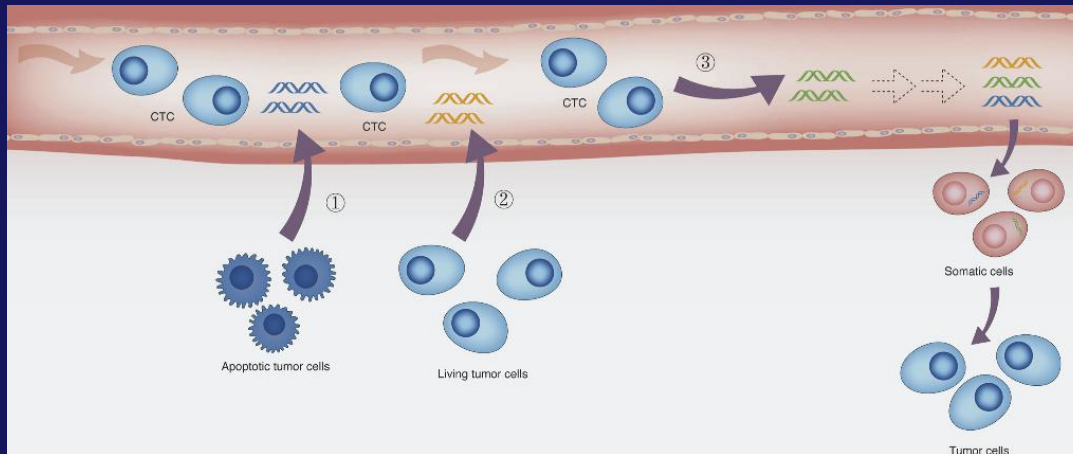


Alcohol-fixed - Cell Block

# Biopsia liquida

Event	Cancer screening	Localized cancer	Metastatic cancer	Refractory cancer
Treatment strategy	Early intervention	Risk of dissemination and detection of recurrence	Treatment selection and monitoring response	Mechanism of resistance and new treatment

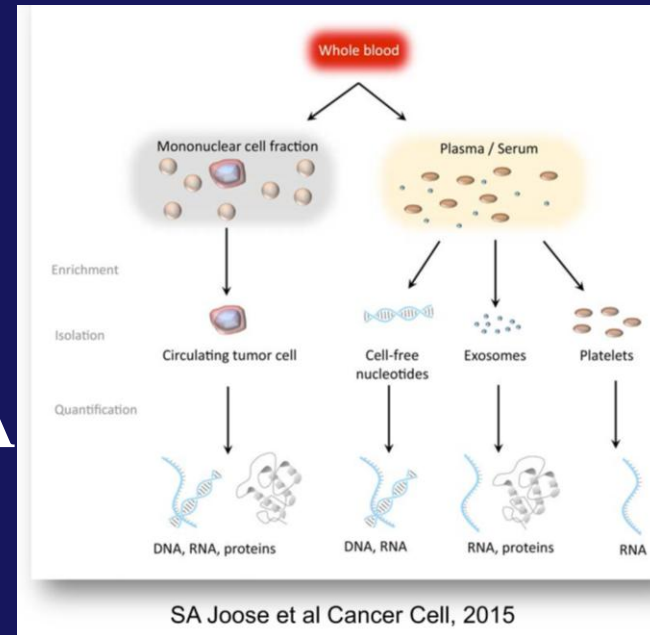
Prelievi di sangue ripetuti nel tempo durante il corso della malattia



# Biopsia liquida

Cellule tumorali circolanti (CTC)  
DNA circolante tumorale (ctDNA)

- **CTC**
  - Tecnicamente possibile ma difficile
  - Mancanza di marcatori neoplastici o staminali certi
- **ctDNA**
  - DNA totale (ctDNA)
  - DNA mutato (ex. EGFR)
- cfRNA (Circulating cell-free RNA)
- EV (extracellular vesicle)
- TEP (tumor educated platelets)

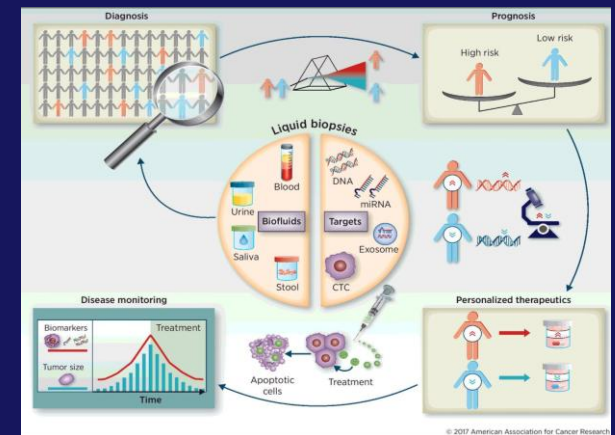


# Biopsia liquida

«Raccomandazioni per l'esecuzione di test molecolari su biopsia liquida in oncologia»  
(AIOM/SIAPEC/SIF 2018)

[https://www.aiom.it/wp-content/uploads/2018/09/2018\\_biopsialiquida.pdf](https://www.aiom.it/wp-content/uploads/2018/09/2018_biopsialiquida.pdf)

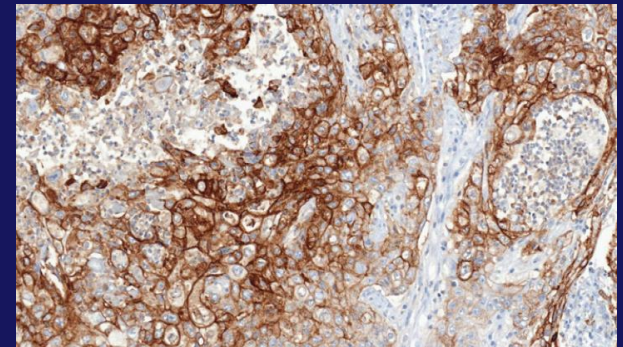
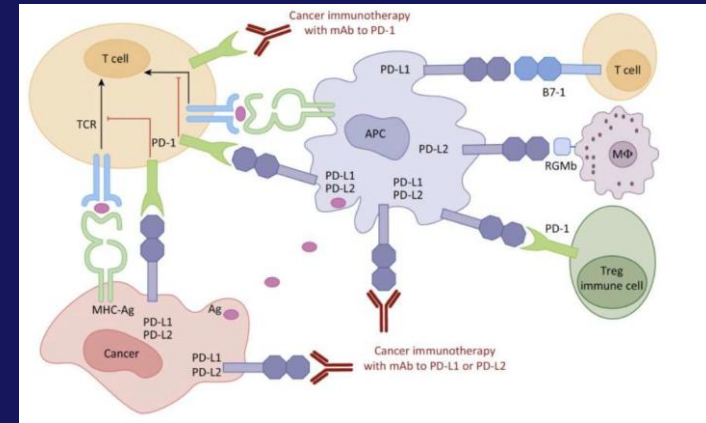
- Applicazioni cliniche della biopsia liquida
  - Alla diagnosi
    - possibile alternativa all'analisi su tessuto tumorale quando la quantità o la qualità dei tessuti disponibili non è sufficiente per effettuare le analisi molecolari
  - Alla progressione radiologica dopo la terapia con EGFR-TKI
    - Analisi EGFR di sensibilizzazione e mutazioni T790M mediante biopsia liquida (Osimertinib in prog. NSCLC con T790M mut.)
  - I pazienti con analisi cfDNA "negativa" devono essere sottoposti ad analisi mutazionale su tessuto mediante re-biopsia
- Metodi di studio delle mutazioni su ctDNA
  - PCR Real time (RT-PCR)
  - Digital PCR (dPCR)
  - NGS/MPS



Utile per il monitoraggio della malattia

# Immunoterapia nei NSCLC

- **Valutazione IHC PDL-1**
  - Carcinoma a cellule squamose
  - Adenocarcinoma, carcinoma a grandi cellule
- **Pezzo operatorio o bx**
  - Citologico (non adeguato <100 cell. tum.)
- **Uso di anticorpi validati**
- **Tumor proportion score (TPS)**
  - % di cellule neoplastiche con almeno debole anche incompleta positività di membrana
- **Cut-off**
  - 1% di cellule pos. per seconda linea
  - **50% per prima linea in NSCLC metastatico EGFR; ALK wt**

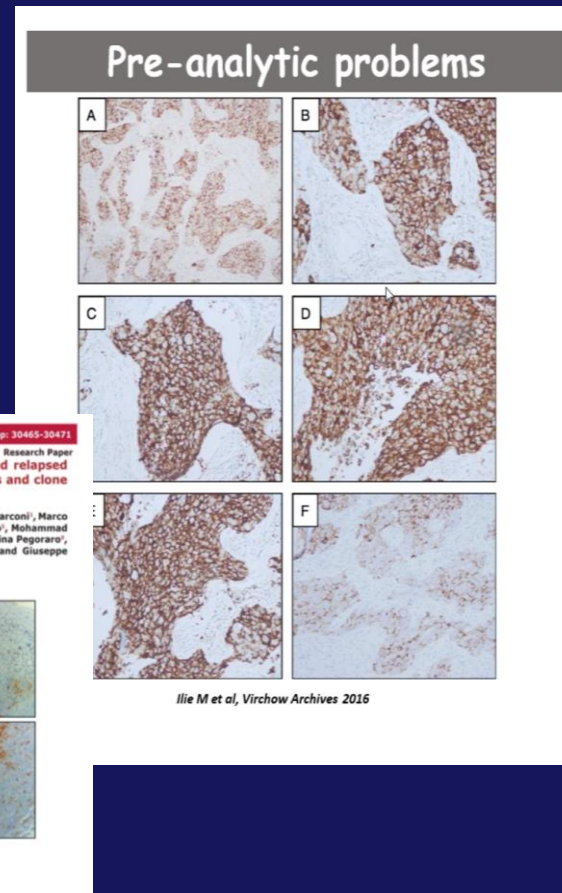


# Problematiche PDL-1 NSCLC

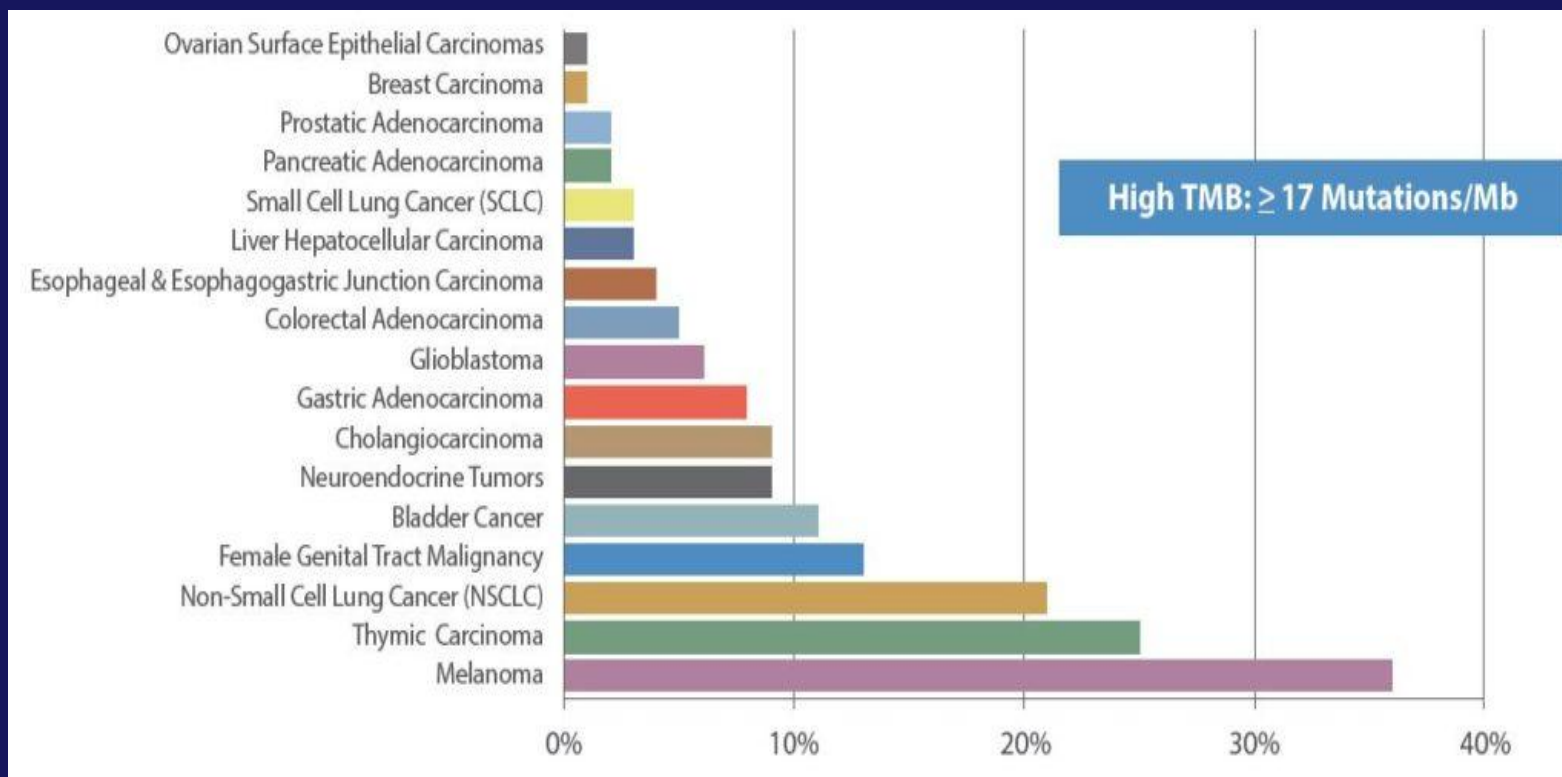
Raccomandazioni 2019 sulle indicazioni e la valutazione di PD-L1 nel tumore del polmone (SIAPEC-AIOM)

[https://www.aiom.it/wp-content/uploads/2019/10/2019\\_Raccomandazioni-polmonePD-L1.pdf](https://www.aiom.it/wp-content/uploads/2019/10/2019_Raccomandazioni-polmonePD-L1.pdf)

- **Adeguatezza del prelievo (BX e FNAC)**
- **Ulteriori sezioni di tessuto FFPE per IHC PD-L1**
- **Eterogeneità tumorale (BX e FNAC)**
- **Problematiche in fase preanalitica**
- **Alcuni cloni validati (IHC)**
  - pembrolizumab test 22C3
  - durvalumab il test SP263
  - Test PD-L1 (IVD) cloni 22C3 e SP263
- **Stand. della refertazione**
- **CQI e CQE**



# Tumor mutational burden



**Individua i pazienti candidati all'immunoterapia in base al numero di mutazioni presenti nel tumore indagate con NGS/MPS (>300 geni)**



# Le sfide

La patologia molecolare evolve rapidamente

I Big data con banche dati interconnesse tra loro permetteranno la raccolta di milioni di informazioni sulla genomica dei tumori

- **Formazione (generale e specialistica)**
  - **Biotechnologi e bioinformatici**
  - **Medici**
- **Strutturali**
  - **Ospedali e centri di riferimento**
- **Sostenibilità economica**
  - **Costi metodiche e farmaci**
  - **Rimborsi**

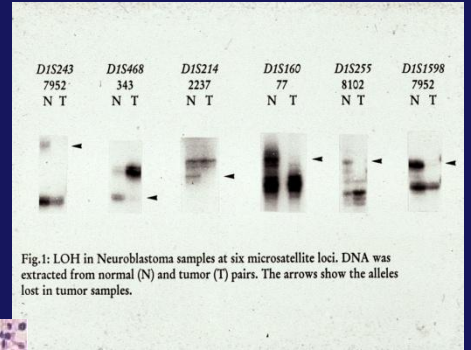
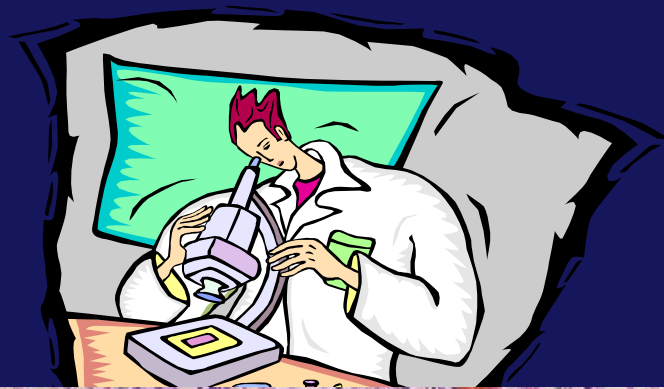
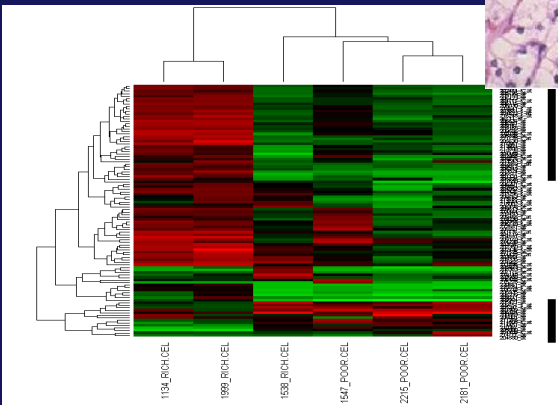
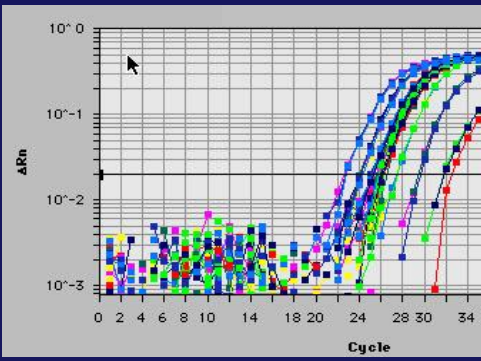
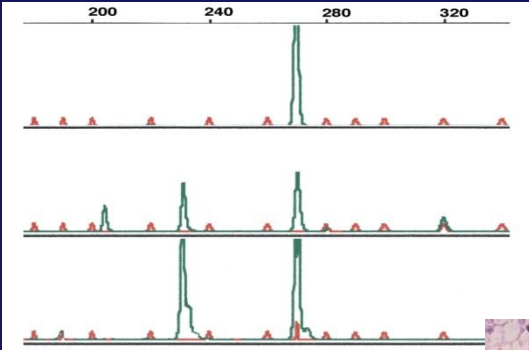


Fig.1: LOH in Neuroblastoma samples at six microsatellite loci. DNA was extracted from normal (N) and tumor (T) pairs. The arrows show the alleles lost in tumor samples.

