

Faculty of Medicine in Rijeka

**Curriculum
2024/2025**

For course

Metode imunoanalize proteina

Study program: **Medicina (R)** (elective)
University integrated undergraduate and graduate study
Department: **Centre for Proteomics**
Course coordinator: **prof. dr. sc. Lenac Roviš Tihana**

Year of study: **3**
ECTS: **1.5**
Incentive ECTS: **0 (0.00%)**
Foreign language: **No**

Course information:

Okvirni sadržaj:

P1 (2 sata) Predavanje: Osnovne karakteristike antitijela i dizajn eksperimenata s višestrukim bojenjem - U kratkom uvodu, ponovit će se znanje o strukturi antitijela. Obuhvatit će se tehnike označavanja antitijela fluoroforima, biotinom i enzimima. Zatim će se kroz nekoliko primjera detaljno prikazati što treba uzeti u obzir prilikom provođenja eksperimenta koji uključuje višestruko bojenje.

P2 (1 sat) Predavanje: Bioinformatički alati za analizu strukture proteina i antitijela - 3D prikaz kompleksa, proteina i antitijela

P3 (2 sata) Predavanje: ELISA principi za mjerenje proteina u istraživačkim i dijagnostičkim laboratorijima - Na temelju usvojenih načela direktnih i indirektnih metoda ELISA, bit će predstavljen napredni dizajn laboratorijskog eksperimenta za određivanje proteinskih analita (npr. tumorskih markera ili proteina upalnih markera iz krvi). Bit će raspravljeno i nekoliko složenijih oblika metode, poput kompetitivne ELISA. Također će biti predstavljeni odobreni dijagnostički kitovi, poput testa za imunoglobulin IgG radi određivanja titra antitijela na SARS-CoV-2 ili preosjetljivost na hranu.

P4 (2 sata) Predavanje: Upotreba Western blottinga i naprednih metoda imunoprecipitacije u istraživanju i dijagnostici - Bit će predstavljene metode u kojima je visoka osjetljivost Western blotting metode i njezina sposobnost otkrivanja proteina različitih veličina pronašla primjenu u medicinskoj dijagnostici. Primjeri su borelijoza, Creutzfeldt-Jakobova bolest i određene vrste virusnih infekcija. Također će biti obuhvaćeni napredni materijali poput magnetskih kuglica, posebnih značajki imunoprecipitacije iz uzoraka krvi kao kompleksne mješavine bogate proteinima, albuminom i samim antitijelima, itd.

P5 (1 sat) Predavanje: Osnove analize rezultata citometrije protoka - protočna citometrija je osnovna metoda imunološke analize proteina na stanicama, posebno u slučaju analize proteina na površini stanica. Kratko će se uz primjere pojasniti histogram i točkasta (dot-plot) prezentacija rezultata kao osnova za razumijevanje literature u eksperimentalnoj medicini.

L6 (2 sata) Predavanje: Imunofluorescencija s analizom konfokalnog mikroskopa - metoda imunofluorescentne mikroskopije važna je za analizu proteina u stanicama i tkivima. Slijedeći principe imunofluorescencije i njezine primjene u konfokalnim mikroskopskim metodama, okosnicu predavanja čini dizajn naprednih eksperimenata i priprema za izvođenje jednostavnih eksperimenata s višestrukim bojenjem (V2 i V3) priprava staničnih kultura pomoću fluorescentno označenih antitijela i analiza konfokalnim mikroskopom. Također će se kratko objasniti principi naprednih metoda poput FRET (fluorescentna rezonancijska energijska transferna) metoda za određivanje interakcije proteina i metoda mikroskopije s dvofotonskim pobuđenjem za analizu debljih uzoraka poput organotipskih modela.

V1 (1 sat) Eksperimentalni rad: Dizajn eksperimenta s višestrukim imunobojenjem. Studenti će rješavati individualne zadatke sa ciljem pronalaska odgovarajućih antitijela putem izvora s interneta koja će im omogućiti imunofluorescentno bojenje prethodno dodijeljenih proteina u uzorku.

V2 (5 sati) Eksperimentalni rad: Priprema uzoraka za imunofluorescentnu mikroskopiju - bojenje (do 4 boje) na uzorcima staničnih kultura

V3 (3 sata) Eksperimentalni rad: Analiza uzoraka na konfokalnom mikroskopu

Seminari (6 sati): Planirane su kratke prezentacije studenata uz raspravu

Cilj predmeta je pomoći studentima da prodube netom stečena i usvoje napredna znanja o imunološkoj analizi proteina, tj. o metodama analize proteina koje se temelje na upotrebi protutijela. Ova vrsta analiza osnova je mnogih istraživačkih i dijagnostičkih postupaka te će njihovo razumijevanje studenti moći iskoristiti u primjerice kliničkoj imunologiji, infektologiji, mikrobiologiji, onkologiji, patologiji i molekularnoj dijagnostici. Očekuje se osnovno predznanje iz biologije proteina i imunoloških laboratorijskih metoda te izražen interes za znanja iz područja molekularne dijagnostike i molekularnih mehanizama u zdravlju i bolesti.

List of assigned reading:

Robert K. Murray et al.: Harperova ilustrirana biokemija – odabrana poglavlja

Berg JM, Tymoczko JL, and Stryer L: Biochemistry Stryer – odabrana poglavlja

List of optional reading:

Odabrani znanstveni i stručni radovi i pregledni radovi iz okvira kolegija

Curriculum:**Student obligations:**

redovito pohađanje nastave (predavanja, seminari, vježbe)

izrada seminarskog rada/polaganje završnog ispita

Exam (exam taking, description of the written/oral/practical part of the exam, point distribution, grading criteria):**Other notes (related to the course) important for students:**

-

COURSE HOURS 2024/2025

Metode imunoanalize proteina

List of lectures, seminars and practicals:**EXAM DATES (final exam):**
