

ایمونوشیمی و روش های آزمایشگاهی در ایمونولوژی

تعداد واحد: ۳۴ ساعت نظری ۶۴ ساعت عملی

مسئول درس: دکتر سنکیان

محل تشکیل: دانشکده پزشکی، پژوهشگاه، زمان و مکان این درس با توجه به ماهیت نامشخص بودن مدت آزمایشات، با هماهنگی اساتید است

شماره	تاریخ جلسه	ساعت درس	عنوان	استاد
۱	چهارشنبه	۸-۱۴ صبح	تهیه پروتئین (آنتیژن) درس نظری: بررسی اساس، روش کار و کاربردهای روش های مختلف تهیه پروتئین یا آنتیژن کار در آزمایشگاه: ملکول IgG از سرم انسانی با یک یا چند روش رسوبی از قبیل سولفات آمونیوم، الکل و اسید کاپریلیک جدا شود پروژه تولیدی مرتبط: بررسی نحوه تولید BSA یا یک فرآورده پروتئینی مبتنی بر روش رسوبی	دکتر سنکیان
۲	چهارشنبه	۸-۱۴ صبح	اندازه گیری پروتئین تام درس نظری: روش های اندازه گیری پروتئین تام، حساسیت ها، محدودیت ها و تداخل گر ها کار در آزمایشگاه: به روش اسپکتروفتومتری، برادفورد، لوری و یا BCA، پروتئین تام فراکشن جدا شده از سرم انسانی اندازه گیری شود پروژه تولیدی مرتبط: ساخت و کالیبراسیون کیت اندازه گیری پروتئین تام به روش برادفورد یا سایر روش ها	دکتر سنکیان
۳	چهارشنبه	۱۰-۱۲ صبح	تفکیک پروتئین ها از طریق الکتروفورز درس نظری: اساس الکتروفورز یک بعدی و دو بعدی، انواع و کاربردها آشنایی با نرم افزارهای مرتبط کار در آزمایشگاه: شناسایی اجزا پروتئینی فراکشن های جدا شده به روش SDS-PAGE و رنگ آمیزی ژل، محاسبه وزن ملکولی و میزان خلوص فرآورده نهایی تهیه شده با هر یک از روش های رسوبی پروژه تولیدی مرتبط: ساخت رنگ های آماده، مارکرهای از قبل رنگ شده و یا ژل های پری کست	دکتر سنکیان
۴	چهارشنبه	۱۰-۱۲ صبح	تغلیظ پروتئین و تعویض بافر درس نظری: انواع بافرهای مورد استفاده در ایمونوشیمی و سیستم های تغلیظ و تعویض بافر کار در آزمایشگاه: تغلیظ با دیالیز در کنار گلیسرول یا با استفاده از PEG یا روش اولترافیلتراسیون روی فرکشن انتخابی انجام شود. تغییر بافر پروتئینی با کمک روش دیالیز، اولترافیلتراسیون یا ستون کروماتوگرافی G10 یا G25 پروژه تولیدی مرتبط: ساخت و پایدارسازی و کنترل کیفی بافرها و یا سیستم های تغلیظ پروتئین ها	دکتر سنکیان

شماره	تاریخ جلسه	ساعت درس	عنوان	استاد
۵	چهارشنبه	۱۰-۱۲ صبح	خالص سازی نهایی پروتئین (Polishing) درس نظری: کاربرد و اساس انواع روش های کروماتوگرافی تعویض یونی، ژل فیلتراسیون و افینیتی کار در آزمایشگاه: با یکی از روش های کروماتوگرافی تعویض یونی، ژل فیلتراسیون و یا افینیتی کروماتوگرافی. فراکشن دیالیز شده خالص می شود، پس از اندازه گیری مقدار کل پروتئین و SDS-PAGE، راندمان کار از ابتدا تا انتها و خلوص نهایی محاسبه می شود. پروژه تولیدی مرتبط: ساخت نانوپارتیکل و یا بیدهای تعویض یونی افینیتی کروماتوگرافی پروتئین A و یا متال افینیتی	دکتر سنکیان
۶	چهارشنبه	۱۰-۱۲ صبح	تولید آنتی بادی پلی کلونال یا مونوکلونال (دو جلسه) درس نظری: اصول تولید آنتی بادی پلی کلونال و مونوکلونال کار در آزمایشگاه: آماده سازی فرکشن حاوی IgG از خون انسان یا حیوان، یا جداسازی از ژل اکریل آمید و خرد کردن و ایمن سازی موش یا خرگوش با ایمونوگلوبولین خالص شده، نمونه گیری چشمی در زمان مناسب. پروژه تولیدی مرتبط: تولید آنتی بادی پلی کلونال ضد IgG انسانی در انسان و نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری	دکتر اسماعیلی
۷	چهارشنبه	۱۰-۱۲ صبح	ایمونوبلاتینگ و دات بلاتینگ درس نظری: اساس روش ایمونوبلاتینگ و انواع سوبستراهای مورد استفاده در آشکارسازی کار در آزمایشگاه: با استفاده Anti-Human IgG و IgG و OVA آماده شده، ایمونوبلاتینگ یا دات بلاتینگ انجام می شود پروژه تولیدی مرتبط: ساخت سوبستراهای آماده ایمونوبلاتینگ یا دات بلاتینگ، نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری	دکتر سنکیان
۸	چهارشنبه	۱۰-۱۲ صبح	انزایم ایمونواسی، رادیوایمونواسی و کمی لومینسانس درس نظری: روش های انزایم ایمونواسی (ELISPOT-ELISA)، رادیوایمونواسی و کمی لومینسانس اساس و کاربرد و کنترل کیفی آنها کار در آزمایشگاه: با استفاده Anti-Human IgG و IgG و OVA آماده شده، روش الایزای مستقیم انجام می شود پروژه تولیدی مرتبط: سوبسترا پایدار الایزا یا پایدارکننده های آنتی ژن های کاوت شده روی پلیت الایزا	دکتر دهنوی
۹	چهارشنبه	۱۰-۱۲ صبح	ایمونوفلورسانس و ایمونوهیستوشیمی درس نظری: اساس و کاربردهای ایمونوفلورسانس و ایمونوهیستوشیمی و کنترل کیفی آن کار در آزمایشگاه: با استفاده Anti-Human IgG FITC و سرم anti-DNA به امکانات ایمونوفلورسانس یا ایمونوهیستوشیمی انجام می شود. پروژه تولیدی مرتبط: تهیه لام برای تست ANA، سوبسترای ایمونوهیستوشیمی، نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری	دکتر محمدی

شماره	تاریخ جلسه	ساعت درس	عنوان	استاد
۱۰	چهارشنبه		جداسازی سلول‌ها از طحال و غدد لنفاوی موش یا خون محیطی و تحریک سلولی درس نظری: جداسازی سلول‌ها با روش‌های مختلف از قبیل FACS و MACS کار در آزمایشگاه: جداسازی لنفوسیت‌ها از طحال و غدد لنفاوی موش و یا خون محیطی، شمارش سلولی و رنگ‌آمیزی تریپان بلو و کشت و تحریک آن با PHA. پروژه تولیدی مرتبط: تولید میتوزن‌های لنفوسیتی، نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری	دکتر اسماعیلی
۱۱	چهارشنبه		ایمونوفنوتایپینگ سلول‌های جدا شده با فلوسایتومتری درس نظری: اساس و کاربرد فلوسایتومتری و کنترل کیفی آن کار در آزمایشگاه: اندازه‌گیری تعداد سلول‌های CD4+TCD3. سلول‌های جدا شده در مرحله قبل یا اندازه‌گیری تعداد سلول‌های تولید کننده اینترفرون گاما یا هر سایتوکاین دیگری پروژه تولیدی مرتبط: تهیه بافرها و محلول‌ها و آنتی‌بادی‌های مورد استفاده در فلوسایتومتری، نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری	دکتر محمودی
۱۲	چهارشنبه		ارزیابی مرگ آپوپتوتیک و نکروتیکسلولی درس نظری: روش‌های بررسی پدیده زودرس و دیررس آپوپتوز کار در آزمایشگاه: سلول‌های لنفوسیتی به روش فایکول از خون محیطی جدا شده و تحت تأثیر محرک آپوپتوتیک قرار گرفته و با Annexin vPI- و فلوسایتومتری ارزیابی شوند یا بررسی DNA فرگمنتیشن روی آگارز به روش DMSO-SDS-TE انجام گیرد. پروژه تولیدی مرتبط: ساخت کیت‌های بررسی مرگ سلولی DNA Ladder یا سایر موارد، نحوه کنترل کیفی	دکتر لای
۱۳	چهارشنبه		ارزیابی تکثیر سلولی درس نظری: اساس و کاربرد انواع روش‌های تکثیر سلولی کار در آزمایشگاه: ارزیابی تکثیر لنفوسیت‌های تحریک شده با PHA یا روش MTT یا Resazurin یا BrdU یا روش‌های معادل پروژه تولیدی مرتبط: تهیه کیت‌های تکثیر سلولی، نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری	دکتر لای
۱۴	چهارشنبه		تکثیر و نگهداری سلول‌های یوکاریوتی درس نظری: اصول روش‌های کشت سلولی کار در آزمایشگاه: رتاریو کردن سلول یوکاریوت، کشت و پاساژ سلول یوکاریوت پروژه تولیدی مرتبط: تولید FBS یا محرک سلولی یا محیط کشت همراه با کنترل کیفی و ارزیابی پایداری	دکتر توکل افشاری

شماره	تاریخ جلسه	ساعت درس	عنوان	استاد
۱۵	چهارشنبه		شناسایی ملکولی بر پایه PCR درس نظری: اصول روش‌های استخراج DNA و PCR و کنترل کیفی کار در آزمایشگاه: استخراج DNA و بررسی کیفیت آن، متعاقباً انجام PCR پروژه تولیدی مرتبط: تولید کیت‌های ملکولی شناسایی موتاسیون و بررسی کنترل کیفی و پایداری آن	دکتر رضایی
۱۶	چهارشنبه		ارزیابی بیان ژن به روش RT-PCR کمی و نیمه کمی درس نظری: اصول روش Real-time RT-PCR و کنترل کیفی کار در آزمایشگاه: استخراج RNA و بررسی کیفیت آن، سنتز cDNA و انجام Real-time RT-PCR یا RT-PCR بنا به امکانات پروژه تولیدی مرتبط: ساخت کیت Real-time RT-PCR. بررسی کنترل کیفی و پایداری آن	دکتر رضایی

ارزیابی مستمر کلاسی ، گزارش کار، امتحان تشریحی، پروژه تحقیقی

منابع آموزشی:

- ۱) Current protocols in immunology, Latest Edition.
- ۲) Hay FC, Westwood OMR. Practical immunology. Latest Edition.
- ۳) John M. Walker, The Protein Protocols Handbook, Latest Edition