

اطلاعات درس		
نام درس : ایمونوشیمی و روش های آزمایشگاهی	۲ واحد نظری (۳۴ ساعت)	پیش نیاز یا همزمان: مبانی ایمونولوژی پزشکی
در ایمونولوژی	۲ واحد عملی (۶۸ ساعت)	
گروه آموزشی ارائه دهنده درس : گروه ایمنی شناسی		
گروه هدف : دانشجویان کارشناسی ارشد ایمنی شناسی		
اطلاعات استاد مسئول درس:		
مجتبی سنکیان / دانشیار گروه ایمنی شناسی		
اطلاعات تماس:		
نشانی محل کار :مشهد، پردیس دانشگاه، دانشکده پزشکی، دپارتمان ایمنی شناسی پزشکی		
ایمیل sankianm@mums.ac.ir		
تلفن محل کار: +۹۸۵۱۳۸۰۰۲۳۷۹ -۹۸۵۱۳۷۱۱۲۶۱۰+ (۴۵۰۷) -۹۱۵۵۵۹۳۷۸۶		
ساعات دسترسی به استاد :شنبه تا چهارشنبه ۸-۱۵		
معرفی درس:		
از ابزار ضروری هر محقق آشنایی به روش های است که بتواند ایده اش را عملی سازد. در این درس دانشجویان تکنیک های پایه ای را فرا می گیرند که بتواند دید ملموس تری را برای آموزه های تئوریک آنها در زمینه ایمونولوژی سلولی و ملکولی و تکنیک های ایمونوشیمی فراهم کند. علاوه بر این کارآیی این تکنیک ها را در خلق محصولات نوآرانه که می تواند به بازار فروش راه پیدا کند را نیز می آموزند.		
اهداف درس:		
در پایان درس دانشجو باید با روش های ایمونولوژی و کاربرد آنها آشنا باشد و مهارت لازم برای انتخاب آزمایش مناسب، انجام آن و تفسیر نتایج را داشته باشد. توجه جدی به رعایت ملاحظات اخلاقی در انجام آزمایشات و کار با حیوانات، اصول بهروشی و ایمنی فردی و زیست محیطی نیز مورد نظر است.		
روش ارائه درس:		
روش تدریس برپایه تدریس استاد		
پروژه تحقیقی دانشجو		
انجام کارعملی در آزمایشگاه است		
۱. تهیه پروتئین (آنتی ژن)		
درس نظری: بررسی اساس، روش کار و کاربردهای روش های مختلف تهیه پروتئین یا آنتی ژن		
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		
۲. 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		
۳. 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 فراکشن‌های جدا شده به روش SDS-PAGE و رنگ‌آمیزی ژل، محاسبه وزن ملکولی و میزان خلوص فرآورده نهایی تهیه شده با هر یک از روش‌های رسوبی

پروژه تولیدی مرتبط: ساخت رنگ‌های آماده، مارکرهای از قبل رنگ شده و یا ژل‌های پری‌کست

۴. تغلیظ پروتئین و تعویض بافر

درس نظری: انواع بافرهای مورد استفاده در ایمونوشیمی و سیستم‌های 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 پایداری سازی و کنترل کیفی بافرها و یا سیستم‌های تغلیظ پروتئین‌ها

۵. خالص‌سازی نهایی پروتئین (Polishing)

درس نظری: کاربرد و اساس انواع روش‌های کروماتوگرافی تعویض یونی، ژل فیلتراسیون و افینیتی

کار در آزمایشگاه: با یکی از روش‌های کروماتوگرافی تعویض یونی، ژل فیلتراسیون و یا افینیتی کروماتوگرافی. فراکشن دیالیز شده خالص می‌شود، پس از اندازه‌گیری مقدار کل پروتئین و SDS-PAGE، راندمان کار از ابتدا تا انتها و خلوص نهایی محاسبه می‌شود.

پروژه تولیدی مرتبط: ساخت نانوپارتیکل و یا بیدهای تعویض یونی افینیتی کروماتوگرافی پروتئین A و یا متال افینیتی.

۶. تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال یا مونوکلونال (دو جلسه)

درس نظری: اصول تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال و مونوکلونال

کار در آزمایشگاه: آماده‌سازی فرکشن حاوی IgG از خون انسان یا حیوان، یا جداسازی از ژل اکریل آمید و خرد کردن و ایمن‌سازی موش یا خرگوش با ایمونوگلوبولین خالص شده، نمونه‌گیری چشمی در زمان مناسب.

پروژه تولیدی مرتبط: تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال ضد IgG انسانی در انسان و نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری

۷. ایمونوبلاتینگ و دات‌بلاتینگ

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 دات‌بلاتینگ انجام می‌شود

پروژه تولیدی مرتبط: ساخت سوبستراهای آماده ایمونوبلاتینگ یا دات‌بلاتینگ، نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری

۸. انزایم ایمونواسی، رادیوایمونواسی و کمی‌لومینسانس

درس نظری: روش‌های انزایم ایمونواسی (ELISPOT-ELISA)، رادیوایمونواسی و کمی‌لومینسانس 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 می‌شود

پروژه تولیدی مرتبط: سوبسترا پایداری الایزا یا پایداری‌کننده‌های آنتی‌ژن‌های کاوت شده روی پلیت الایزا

۹. ایمونوفلورسانس و ایمونوهیستوشیمی

درس نظری: اساس و کاربردهای ایمونوفلورسانس و ایمونوهیستوشیمی و کنترل کیفی آن

کار در آزمایشگاه: با استفاده FITC Anti-Human IgG و سرم anti-DNA بنا به امکانات ایمونوفلورسانس یا ایمونوهیستوشیمی انجام می‌شود.

پروژه تولیدی مرتبط: تهیه لام برای تست ANA، سوبسترای ایمونوهیستوشیمی، نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری

۱۰. 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

۱۱. ایمونوفنو‌تایپینگ سلول‌های جدا شده با فلوسایتومتری

درس نظری: اساس و کاربرد فلوسایتومتری و کنترل کیفی آن کار در آزمایشگاه: اندازه گیری تعداد سلول های CD3+ CD4+T. سلول های جدا شده در مرحله قبل یا اندازه گیری تعداد سلول های تولید کننده اینترفرون گاما یا هر سایتوکاین دیگری پروژه تولیدی مرتبط: تهیه بافرها و محلول ها و آنتی بادی های مورد استفاده در فلوسایتومتری، نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری ۱۲. ارزیابی مرگ آپوپتوتیک و نکروتیک سلولی درس نظری: روش های بررسی پدیده زودرس و دیررس آپوپتوز کار در آزمایشگاه: سلول های لنفوسیتی به روش فایکول از خون محیطی جدا شده و تحت تأثیر محرک آپوپتوتیک قرار گرفته و با PI- Annexin v و فلوسایتومتری ارزیابی شوند یا بررسی DNA فرگمنتیشن روی آگارز به روش DMSO-SDS-TE انجام گیرد. پروژه تولیدی مرتبط: ساخت کیت های بررسی مرگ سلولی DNA Ladder یا سایر موارد، نحوه کنترل کیفی ۱۳. ارزیابی تکثیر سلولی درس نظری: اساس و کاربرد انواع روش های تکثیر سلولی کار در آزمایشگاه: ارزیابی تکثیر لنفوسیت های تحریک شده با PHA با روش MTT یا Resazurin یا BrdU یا روش های معادل پروژه تولیدی مرتبط: تهیه کیت های تکثیر سلولی، نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری ۱۴. تکثیر و نگهداری سلول های یوکاریوتی درس نظری: اصول روش های کشت سلولی کار در آزمایشگاه: رتایو 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 ۱۵. شناسایی ملکولی بر پایه PCR درس نظری: اصول روش های استخراج DNA و PCR و کنترل کیفی کار در آزمایشگاه: استخراج DNA و بررسی کیفیت آن، متعاقباً انجام PCR پروژه تولیدی مرتبط: تولید کیت های ملکولی شناسایی موتاسیون و بررسی کنترل کیفی و پایداری آن ۱۶. 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	منابع آموزشی: 1) Current protocols in immunology, Latest Edition. 2) Hay FC, Westwood OMR. Practical immunology. Latest Edition. 3) John M. Walker, The Protein Protocols Handbook, Latest Edition.
شیوه ی ارزیابی دانشجو: ارزیابی مستمر کلاسی ، گزارش کار، امتحان تشریحی، پروژه تحقیقی	