



Detaljni izvedbeni nastavni plan za kolegij:

Metode istraživanja proteina

Akadska godina: 2019/2020

Studij: Diplomski sveučilišni studij "Istraživanje i razvoj lijekova", Diplomski sveučilišni studij "Biotehnologija u medicini"

Kod kolegija: IRL103

ECTS bodovi: 5

Jezik na kojem se izvodi kolegij: Hrvatski

Nastavno opterećenje kolegija: 50 sati (12P + 18S + 20V)

Preduvjeti za upis kolegija: -

Nositelj kolegija i kontakt podaci:

Titula i ime: Izv. prof. dr. sc. Mirela Sedić

Adresa: Radmile Matejčić 2

tel: -

e-mail: msedic@biotech.uniri.hr

Vrijeme konzultacija: po dogovoru

Izvođači i nastavna opterećenja (suradnici, asistenti, tehničar/laborant):

Izv. prof. dr. sc. Mirela Sedić (12P+18S)

Dr. sc. Željka Peršurić (8V x 3 grupe)

Mr. sc. Petra Grbčić (6V x 3 grupe)

Mr. sc. Iris Car (6V x 3 grupe)

Obavezna literatura:

1. Introduction to Protein Science: Architecture, Function, and Genomics
2. Basic Methods in Protein Purification and Analysis: A Laboratory Manual

Preporučena dodatna literatura (izborna):

1. -



Opis predmeta (sažetak i ciljevi kolegija):

Kolegij Metode istraživanja proteina daje sažeti pregled najmodernijih metoda koje se danas koriste za izolaciju, proizvodnju, pročišćavanje, separaciju te strukturnu i funkcionalnu karakterizaciju proteina u složenim biološkim uzorcima. Studenti će na predavanjima naučiti osnovne principe odabranih metoda i tehnologija čiju će praktičnu primjenu savladati pomoću zadane znanstvene literature i praktičnim radom na laboratorijskim vježbama. Cilj kolegija je naučiti studente razlikovati mogućnosti i ograničenja pojedinih metoda u analizi proteina kako bi u praktičnom radu mogli samostalno odabrati adekvatnu metodu u skladu sa zahtjevima i potrebama istraživanja.

Ishodi učenja:

Opće kompetencije:

- Opisati i interpretirati različite metode i tehnološke platforme za analizu strukture, funkcije, lokalizacije i ekspresije proteina u biološkim sustavima
- Razumjeti i pravilno interpretirati znanstvene radove koji obuhvaćaju studije izolacije i analize proteina
- Predložiti adekvatnu metodu za analizu proteina u skladu sa zahtjevima specifične problematike istraživanja

Specifične kompetencije:

- Primjeniti odgovarajuću metodu za izolaciju i pročišćavanje proteina ovisno o tipu biološkog uzorka
- Razlikovati metode razdvajanja proteina u različitim biološkim uzorcima
- Razumjeti i opisati metode kemijskog obilježavanja proteina u svrhu kvantitativne analize pomoću masene spektrometrije
- Navesti i objasniti metode za istraživanje bioloških funkcija proteina, te za analizu interakcija na razini protein-protein, te protein-ligand
- Razumjeti princip metoda za određivanje strukture proteina
- Opisati postupke za proizvodnju i purifikaciju anti-tijela
- Navesti i karakterizirati biološke sisteme za proizvodnju rekombinantnih proteina
- Razlikovati mehanizme transdukcije proteina i navesti primjere primjene u biomedicini
- Samostalno provesti i interpretirati jednostavne analize aktivnosti i ekspresije proteina

Detaljni sadržaj kolegija (teme/naslovi predavanja, seminara i vježbi):

A. Predavanja (12 sati):

- P1. Pregled strukture i funkcija proteina (1)
- Klasifikacija proteina prema funkcijama i lokaciji u stanici; primjeri nekih biološki važnih proteina
 - Strukturna organizacija proteina; primjer hemoglobina
- P2. Izolacija i priprema uzoraka proteina iz biološkog materijala (1)



- Eksperimentalni izazovi u ekstrakciji i pripremi uzoraka proteina za analize
 - Metode za uklanjanje nukleinskih kiselina i soli iz proteinskog ekstrakta
 - Metode za lizu stanica i tkiva
 - Pročišćavanje i koncentriranje otopine proteina
 - Frakcionacija stanica i izolacija organela
- P3. Kromatografske metode (1)
- Afinitetna i imunoafinitetna kromatografija
 - Imobilizirana afinitetna kromatografija s metalnim ionima
 - Ionsko-izmjenjivačka kromatografija
 - Hidrofobna interakcijska kromatografija
 - Hidrofilna interakcijska kromatografija (HILIC)
 - Kromatofokusiranje
- P4. Afinitetne i imunoafinitetne metode (1)
- Afinitetni biljezi
 - Obilježavanje epitopom
 - Purifikacija pomoću proteina A, G i L
 - Tandemska afinitetna metoda pročišćavanja
 - Imunoprecipitacija
- P5. Metode za istraživanje funkcije proteina (2)
- Bimolekularna fluorescentna komplementacijska analiza
 - Metoda supročišćavanja afinitetnom kromatografijom (engl. pull down assay)
 - Analiza interakcije proteina umrežavanjem (engl. crosslinking protein interaction analysis)
 - Analiza interakcije proteina prijenosom biljega (engl. label transfer protein interaction analysis)
 - Protein fragment complementation assays
 - The Yeast Two-Hybrid System
 - The phage display method
 - *In situ* proximity ligation assay (PLA)
 - Proximity extension assay
- P6. Biofizikalne metode za proučavanje interakcija između proteina i liganda (1)
- microScale Thermophoresis
 - Bioluminescence resonance energy transfer (BRET)
 - Mikrokolorimetrija
 - Izotermalna titracijska kalorimetrija
- P7. Metode za analizu strukture proteina (1)
- Edmanovo sekvencioniranje
 - Cirkularni i linearni dikroizam
 - Ramanova spektroskopija
 - Proteinska kristalografija: difrakcija X zrakama



- Nuklearna magnetska rezonanca
- P8. Kemijsko obilježavanje i kemijska proteomika (1)
 - Metaboličko obilježavanje
 - Obilježavanje izotopnim biljezima
 - Obilježavanje izobarnim biljezima
 - Profiliranje proba na osnovi aktivnosti
 - Compound-centric chemical proteomics approach
- P9. Proizvodnja i pročišćavanje anti-tijela (1)
 - Struktura i podjela imunoglobulina
 - Poliklonalna i monoklonalna anti-tijela
 - Imunogeničnost; hapteni, epitopi
 - Metode za proizvodnju monoklonalnih anti-tijela
 - Metode za proizvodnju poliklonalnih anti-tijela
 - Metode za purifikaciju anti-tijela
- P10. Metode za ekspresiju i pročišćavanje rekombinantnih proteina (1)
 - Sistemi za proizvodnju rekombinantnih proteina
 - Mikrobni bioreaktori
 - Bioreaktori sa kulturama stanica sisavaca
 - Transgenska tehnologija za proizvodnju rekombinantnih terapijskih proteina
- P11. Tehnologija transdukcije proteina (1)
 - Mehanizmi transdukcije proteina
 - Tkivno-specifična transdukcija
 - Proteinske transduksijske domene (PTD)
 - Uvođenje heterolognih proteina u stanicu pomoću PTD
 - Primjena u molekularnoj medicini

B. Seminari 18 SATI:

S1-S9

Usmene seminarske prezentacije studenata na zadanu temu u skladu sa sadržajem predavanja.

C. Vježbe 20 sati:

V1. Analiza razine ekspresije proteina metodom Western blot (12 sati)

1. dan (4 sata):

- liza tumorskih stanica i ekstrakcija proteina
- određivanje koncentracije proteina u lizatu
- priprema uzoraka za SDS-PAGE
- lijevanje poliakrilamidnih gelova i priprema reagensa i otopina za SDS-PAGE

2. dan (6 sati):



- Nanošenje uzoraka na gel i razdvajanje proteina pomoću

SDS- PAGE

- Prijenos proteina na membranu
- Blokiranje membrane, ispiranje i inkubacija sa primarnim anti-tijelom

3.dan (2 sata): - Ispiranje i inkubacija membrane sa sekundarnim anti-tijelom

- Kemiluminiscentna detekcija signala na membrani
- Denzitometrijska analiza dobivenih signala

V2. Masena spektrometrija u analizi proteina (8 sati)

Obveze, način praćenja i vrednovanje studenata:

Nastava je organizirana u obliku predavanja, seminara i vježbi povezanih tematskim cjelinama. Na predavanjima će se definirati i opisati osnovne postavke i pojmovi, te principi metoda koje će se analizirati i razrađivati tijekom vježbi i seminara. Predavanja, seminari i vježbe su obavezni. O pohađanju nastave vodi se evidencija za svakog studenta. Svi oblici nastave započinju u točno naznačeno vrijeme navedeno u rasporedu, a **kašnjenje će se tretirati kao izostanak**. Znanje će se kontinuirano provjeravati (testovi, ulazni kolokviji na vježbama i seminarske prezentacije). Studenti su dužni sudjelovati u radu korištenjem informacijske tehnologije, uključujući aktivno pretraživanje i korištenje materijala dostupnih na Internetu, u svrhu razvijanja sposobnosti pretraživanja, usporedbe i analize dobivenih rezultata, te kritičkog procjenjivanja njihove vrijednosti. U tu svrhu studenti bi trebali suvereno koristiti računalne programe Microsoft Word, Microsoft Excel i Microsoft Power Point, te se aktivno služiti barem jednim stranim jezikom (preporuka: engleski jezik zbog znanstvene literature).

Vrednovanje obveza studenata:

KONTINUIRANA NASTAVA	Test 1	20 bodova	70 bodova
	Test 2	20 bodova	
	Laboratorijske vježbe	20 bodova	
	Seminarska prezentacija (Power Point)	10 bodova	
ZAVRŠNI ISPIT	Završni pismeni ispit	30 bodova	30 bodova

Redovito pohađanje nastave:

Student može opravdano izostati sa najviše 30% nastave (predavanja i seminari) isključivo zbog zdravstvenih razloga, što opravdava liječničkom ispričnicom. Laboratorijske vježbe su obavezne, te student NEMA mogućnosti nadoknade izostanka sa vježbi. Ako student opravdano ili neopravdano izostane sa više od 30% nastave, ne može nastaviti praćenje kolegija, odnosno gubi mogućnost izlaska na završni ispit.

Laboratorijske vježbe:

Student je dužan na vježbe donijeti kutu, bilježnicu, kalkulator i pisane upute za vježbe koje će prethodno dobiti od nastavnika. Studenti će tijekom vježbi voditi laboratorijski dnevnik rada u koji će unositi i opisati sve rezultate mjerenja (u obliku tablica, grafova i slika) i vlastita zapažanja, te sve izračune i zaključke za svaku vježbu. Svaka vježba nosi



ukupno 10 bodova. Na početku svake vježbe, studenti će pisati kolokvij koji će sadržavati 5 pitanja vezanih za određenu vježbu, a koji će nositi ukupno 5 bodova. Preostalih 5 bodova studenti stječu na temelju dnevnika rada (prikaz i interpretacija dobivenih rezultata, samostalno izvođenje zaključaka, urednost i sistematičnost u pisanju dnevnika rada) i eksperimentalnog rada u laboratoriju.

Seminarska prezentacija:

Svaki je student dužan pripremiti Power Point prezentaciju (.ppt) **u trajanju od 15 minuta** koju će usmeno prezentirati. Tijekom izlaganja, student treba navesti ciljeve rada, vrlo kratko opisati osnovne principe najvažnijih metoda korištenih u radu (ne opisivati sve korištene metode!), detaljno opisati i diskutirati rezultate opisanog istraživanja, te izvesti nekoliko glavnih zaključaka. Osim razumijevanja problematike obrađene u prezentaciji i sposobnosti povezivanja i nadogradnje na prethodno stečena znanja, nastavnik će ocjenjivati i prezentacijske vještine studenta.

Testovi 1 i 2

Pismena provjera znanja u obliku testa sa 10 pitanja na koja studenti odgovaraju opisno, pri čemu svako pitanje nosi 2 boda.

Prolazna ocjena iz oba testa uvjet je za pristupanje završnom pismenom ispitu!

Završni pismeni ispit

Završni pismeni ispit se sastoji od 30 pitanja na zaokruživanje pri čemu je **samo jedan odgovor točan**, a nosi ukupno 30 ocjenskih bodova. Ocjenjivanje završnog ispita provesti će se na slijedeći način:

- 0-14 bodova - ne zadovoljava poznavanje ispitne materije (nedovoljan F)
- 15 - 17 bodova (dovoljan D)
- 18 - 22 bodova (dobar C)
- 23 - 26 bodova (vrlo dobar B)
- 27 - 30 bodova (izvrstan A)

Ispitni rokovi:

1. ispitni rok održat će se 05. 06. 2020. 8-9h, O-030
2. ispitni rok održat će se 06. 07. 2020.
3. ispitni rok održati će se u srpnju prema dogovoru sa studentima
4. ispitni rok održati će se u rujnu prema dogovoru sa studentima

Formiranje ocjene (prema Pravilniku o studijima Sveučilišta u Rijeci):

Studenti koji su tijekom kontinuiranog dijela nastave ostvarili:

- od 0 do 34,9% ocjenskih bodova ne mogu pristupiti završnom ispitu
- više od 35% ocjenskih bodova mogu pristupiti završnom ispitu.



Prema postignutom ukupnom broju ocjenskih bodova dodjeljuju se sljedeće konačne ocjene:

Postotak usvojenog znanja i vještina	ECTS ocjena	Brojčana ocjena
90% do 100%	A	Izvrstan (5)
75% do 89,9%	B	Vrlo dobar (4)
60% do 74,9%	C	Dobar (3)
50% do 59,9%	D	Dovoljan (2)
0% do 49,9%	F	Nedovoljan (1)

Konačna ocjena je zbroj bodova ostvarenih tijekom nastave i bodova ostvarenih na završnom ispitu, a prolazne ocjene su izvrstan (5), vrlo dobar (4), dobar (3) i dovoljan (2).

Raspored nastave

Datum	Grupa	Vrijeme	Broj sati nastave	Mjesto	Oblik nastave	Izvođač
11.05.2020.	svi	17-17:45	1	O-268	P1	M. Sedić
12.05.	G1 svi	8-11 11:15-12	4 1	Praktiku m 3 O-269	V1 grupa 1 P2	P. Grbčić M. Sedić
13.05.	G1	8-12:30	6	Praktiku m 3	V1 grupa 1	P. Grbčić
14.05.		8-9:30 9:45-10:30	2 1	Praktiku m 3 O-269	V1 grupa 1 P3	P. Grbčić M. Sedić
15.05.	svi	10-10:45	1	O-269	P4	M. Sedić
18.05.	svi	14-17:15	2 2	O-269	P5 S1	M. Sedić
19.05.		9-11:30 11:45-14:45	1 2 4	O-269 Praktiku m 3	P6 S2 V1 grupa 2	M. Sedić M. Sedić I Car
20.05.		8-12:30	6	Praktiku m 3	V1 grupa 2	I Car



21.05.		9-10:30 10:45-13:15	2 1 2	Praktiku m 3 O-269	V1 grupa 2 P7 S3	I Car M. Sedić M. Sedić
22.05.	svi	10-12:30	1 2	O-269	P8 S4	M. Sedić M. Sedić
25.05.		13-14:30 14:45-15:45	2 1.333	O-030 O-030	S5 TEST 1	M SEDIĆ I CAR
26.05.		8-11 11:15-13:45	4 1 2	Praktiku m 3 O-269	V1 grupa 3 P9 S6	I Car M SEDIĆ M SEDIĆ
27.05.		8-12:30	6	Praktiku m 3	V1 grupa 3	P GRBČIĆ
28.05.		9-10:30 10:45-13:15	2 1 2	Praktiku m 3 O-269 O-269	V1 grupa 3 P10 S7	I CAR M SEDIC M SEDIC
29.05.		10-12:45	1 2	O-269	P11 S8	M SEDIC M SEDIC
01.06.		8-9 9:15- 10:45	1.333 2	O-030 O-269	TEST 2 S9	I Car M SEDIC
02.06.		9-15	8	Praktiku m 3	V2 grupa 1	Ž. Peršurić
03.06.		9-15	8	Praktiku m 3	V2 grupa 2	Ž. Peršurić
04.06.		9-15	8	Praktiku m 3	V2 grupa 3	Ž. Peršurić
05. 06.	SVI	8-9	1.333	O-030	ZAVRŠNI PISMENI ISPIT	P GRBČIĆ

Dodatne informacije:

Mole se svi studenti da se odazovu vrednovanju kvalitete nastavnog rada nastavnika i suradnika kako bi se na temelju procjena i sugestija mogla unaprijediti nastava na ovom kolegiju. Vrednovanje nastave putem ISVU sustava provodi se aplikacijom „studomat“ na obrascu definiranom na razini Sveučilišta u Rijeci, a rezultati su anonimni. Više informacija o svim aspektima ovog procesa možete



Sveučilište u Rijeci
University of Rijeka



pronaći u Priručniku za kvalitetu studiranja Sveučilišta u Rijeci.

Akadska čestitost

Studenti su dužni poštovati načela akademske čestitosti te se upućuju na dokumente Sveučilišta u Rijeci: *Etički kodeks Sveučilišta u Rijeci* te *Etički kodeks za studente*.