



Detaljni izvedbeni nastavni plan za kolegij:

Metode istraživanja proteina

Akadska godina: 2020/2021

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)

ONLINE: 12P + 8V (vježba 2) = $20/50 \times 100\% = 40\%$

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+8S)

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

Mr. sc. Petra Grbčić (12Vx 4 grupe)

Mr. sc. Iris Car (10S)

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:

- Primijeniti odgovarajuću metodu za izolaciju i pročišćavanje proteina ovisno o tipu biološkog uzorka
- Razlikovati metode razdvajanja proteina u različitim biološkim uzorcima
- Razumjeti i opisati principe analize proteina uporabom metoda 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 hemoglobin
- 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. Biofizičke 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 transdukcijske 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 10 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 pitanjima na koja studenti odgovaraju opisno.

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 30. 10. 2020., 12-13h, O-030
2. ispitni rok održat će se 30. 11. 2020., 12-13h, O-030
3. ispitni rok održati će se prema dogovoru sa studentima
4. ispitni rok održati će se 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 (NAPOMENA: raspored podložan promjenama (ovisno o razvoju epidemiološke situacije i eventualnim novim mjerama/uputama)):

Datum	Grupa	Vrijeme	Broj sati nastave	Mjesto (oznaka učionice ili online*)	Oblik nastave	Izvođač
5.10.	SVI	11-12:30	2	ONLINE	P1 P2	SEDIĆ
	1.	14-17	4	0-352	V1/G1	GRBČIĆ
6.10.	SVI	9-10:30	2	ONLINE	P3 P4	SEDIĆ
	1.	12-16:30	6	0-352	V1/G1	GRBČIĆ
7.10.	SVI	10-12:15	3	ONLINE	P5 P6	SEDIĆ
	1.	14-15:30	2	0-268	V1/G1	GRBČIĆ
8.10.	SVI	12-16	4	O-030	S1-4	CAR
9.10.	SVI	10-11:30	2	ONLINE	P7 P8	SEDIĆ
12.10.	2.	9-12	4	0-352	V1/G2	GRBČIĆ



	SVI	12-16	4	O-030	S5-8	CAR
13.10.	SVI	8-9:30	2	ONLINE	P9 P10	SEDIĆ
	2.	11-15:30	6	0-352	V1/G2	GRBČIĆ
14.10.	2.	10:30-12	2	0-268	V1/G2	GRBČIĆ
	SVI	12-16	4	O-030	S9-12	SEDIĆ
15.10.	SVI	13-13:45	1	ONLINE	P11	SEDIĆ
16.10.	SVI	12-13		O-030	TEST 1	CAR
19.10.	3.	10-13	4	0-352	V1/G3	GRBČIĆ
20.10.	3.	9-13:30	6	0-352	V1/G3	GRBČIĆ
21.10.	4.	9-12	4	0-352	V1/G4	GRBČIĆ
	3.	13-14:30	2	0-268	V1/G3	GRBČIĆ
22.10.	4.	7:30-12	6	0-352	V1/G4	GRBČIĆ
	SVI	12-13:30	2	O-030	S13-14	CAR
	SVI	13:30-14:30		O-030	TEST 2	CAR
23.10.	4.	12-13:30	2	0-268	V1/G4	GRBČIĆ
26.10.	SVI	12-16	4	O-030	S15-18	SEDIĆ
27.10.	1.	9-15	8	ONLINE	V2/G1	PERŠURIĆ
28.10.	2.	9-15	8	ONLINE	V2/G2	PERŠURIĆ
29.10.	3.	9-15	8	ONLINE	V2/G3	PERŠURIĆ



30.10.	SVI	12-13		O-030	ZAVRŠNI ISPIT 1. ROK	SEDIĆ
30.11.	SVI	12-13		O-030	ZAVRŠNI ISPIT 2. ROK	CAR

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 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*.