دانشکده/ مرکز آموزشی درمانی: پزشکی

گروه آموزشی: ایمونولوژی

طرح دوره Course Plan

<table>
<tr><th colspan="5">مشخصات درس</th><th colspan="3">مشخصات فراگیران</th></tr>
<tr><td colspan="5">عنوان واحد درسی: روش های آزمایشگاهی ایمونولوژی و ایمونوشیمی</td><td colspan="3">رشته تحصیلی: ایمونولوژی</td></tr>
<tr><td colspan="5">نوع واحد درسی: نظری- عملی</td><td colspan="3">مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد</td></tr>
<tr><td>واحد</td><td>نظری: ۲</td><td>عملی: ۲</td><td>کارآموزی:</td><td>کارورزی:</td><td colspan="3">ترم تحصیلی: نیمسال اول ۱۴۰۶-۱۴۰۵</td></tr>
<tr><td>ساعت، روز یا ماه</td><td>نظری: ۳۴</td><td>عملی: ۶۸</td><td>کارآموزی:</td><td>کارورزی:</td><td>کارآموز</td><td>سال:</td><td>بخش:</td></tr>
<tr><td>کد درس: ۱۰</td><td colspan="2">پیشنیاز: مبانی ایمونولوژی پزشکی</td><td colspan="2">تاریخ تصویب جدیدترین برنامه آموزشی توسط وزارت بهداشت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۳</td><td>کارورز</td><td>سال:</td><td>بخش:</td></tr>
<tr><td colspan="5"></td><td>دستیار</td><td>سال:</td><td>بخش:</td></tr>
<tr><th colspan="8">مشخصات مسؤل درس</th></tr>
<tr><td colspan="5">نام و نام خانوادگی: دکتر داود جعفری</td><td colspan="3">رشته تحصیلی: ایمونولوژی پزشکی</td></tr>
<tr><td colspan="5">مقطع تحصیلی: دکترای تخصصی</td><td colspan="3">رتبه علمی: استادیار</td></tr>
<tr><td colspan="5">شماره تماس: 02433140300</td><td colspan="3">پست الکترونیک: d.jafari@zums.ac.ir</td></tr>
<tr><td colspan="8">آدرس محل کار: دانشکده پزشکی – گروه ایمونولوژی</td></tr>
<tr><td colspan="8">نام و نام خانوادگی سایر مدرسان:</td></tr>
<tr><td colspan="3">روش برگزاری برنامه:</td><td colspan="2">تاریخ تدوین طرح درس: ۱۴۰۵/۰۶/۲۳</td><td colspan="3">بازنگری بر اساس نیاز جامعه:</td></tr>
<tr><td>حضوری ■</td><td>مجازی</td><td>ترکیبی</td><td colspan="2" rowspan="2">تاریخ تأیید توسط شورای EDO:</td><td rowspan="2">تاریخ تصویب توسط شورای EDC:</td><td colspan="2" rowspan="2">شماره جلسات بازنگری شده:</td></tr>
<tr><td colspan="3"></td></tr>
<tr><th colspan="8">اهداف آموزشی</th></tr>
</table>

هدف کلی: 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 به روشی و ایمنی فردی و زیست محیطی نیز مورد نظر است.

اهداف اختصاصی: در پایان برنامه آموزشی، انتظار می رود فراگیران قادر باشند:

- **اصول اولیه آزمایشگاه**

درس نظری: محاسبات در بیوتکنولوژی و بیولوژی ملکولی

کار در آزمایشگاه: اصول اولیه آزمایشگاه و محلول سازی ها و محاسبات مربوطه

پروژه تولیدی مرتبط: نرم افزارهای آنلاین و اپلیکیشن های محاسبات پرکاربرد بیوتکنولوژی و بیولوژی ملکولی

- **تهیه پروتئین (آنتی ژن)**

درس نظری: بررسی اساس، روش کار و کاربردهای روشهای 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 BSAیا یک فرآورده پروتئینی مبتنی بر روش رسوبی

- **اندازه گیری پروتئین تام**

درس نظری: روشهای اندازه گیری پروتئین تام، حساسیتها، محدودیتها و تداخلگرها

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 روشها

- **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-PAGEو رنگ آمیزی ژل، محاسبه وزن ملکولی و میزان خلوص

فرآورده نهایی تهیه شده با هر یک از روشهای رسوبی

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

- **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 PEGیا روش اولترافیلتراسیون روی فرکشن انتخابی انجام شود. تغییر بافر پروتئینی با کمک روش دیالیز، اولترافیلتراسیون یا ستون کروماتوگرافی G10یا G25

پروژه تولیدی مرتبط: ساخت و پایدارسازی و کنترل کیفی بافرها و یا سیستم های تغلیظ پروتئینها

- **خالص سازی نهایی پروتئین (Polishing)**

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

کار در آزمایشگاه: با یکی از روشهای 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 کروماتوگرفی پروتئین Aو یا متال افینیتی.

- **تولید آنتی بادی پلی کلونال یا مونوکلونال**

درس نظری: اصول تولید آنتیبادی پلی کلونال و مونوکلونال

کار در آزمایشگاه: آماده سازی فرکشن حاوی IgG از خون انسان یا حیوان، یا جداسازی از ژل اکریلآمید 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 پلیکلونال ضد IgG انسانی در انسان و نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری

- **ایمونوپرسیپیتاسیون (ارزیابی آنتی بادی تولیدی)**

درس نظری: انواع ایمونوپرسیپیتاسیون، کاربردها و کنترل کیفی آن

کار در آزمایشگاه: ارزیابی آنتی بادی پلی کلونال موش یا خرگوش تزریق شده با IgGبه روش دابل ایمونودیفوزیون و ایمونودیفوزیون تک قطبی شعاعی و یا کدورتسنجی و نفلومتری

پروژه تولیدی مرتبط: ساخت و استانداردسازی پلیت ایمونودیفوزیون تک قطبی شعاعی، نحوه کنترل کیفی و پایداری.

- **بیوکانژوگاسیون (نشاندار کردن آنتی بادی)**

درس نظری: انواع بیوکانژوگاسیون و کاربردهای آنها

کار در آزمایشگاه: سرم موش یا خرگوش حاوی Anti-Human IgG بنا به امکانات با یکی از روشهای مراحل قبل خالص سازی شود و با FITC یا HRPکونژوگه شود و دیالیز گردد.

پروژه تولیدی مرتبط: تهیه بیوتین فعال برای کانژوگاسیون آنتیبادی، نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری

- **ایمونوبلاتینگ و داتبلاتینگ**

درس نظری: اساس روش ایمونوبلاتینگ و انواع سوبستراهای مورد استفاده در آشکارسازی

کار در آزمایشگاه: با استفاده Anti-Human IgGو IgGو OVAآماده شده، ایمونوبلاتینگ یا داتبلاتینگ انجام می شود

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

- **ایمونواسی آنزیمی، رادیوایمونواسی و کمیلومینسانس**

درس نظری: روشهای ایمونواسی آنزیمی ، (ELISPOT-ELISAرادیوایمونواسی و کمیلومینسانس اساس و کاربرد و کنترل کیفی آنها

کار در آزمایشگاه: با استفاده Anti-Human IgGو IgGو OVAآماده شده، روش الایزای مستقیم انجام می شود

پروژه تولیدی مرتبط: سوبسترا پایدار الایزا یا پایدارکننده های آنتی ژنهای کاوت شده روی پلیت الایزا

- **ایمونوفلورسانس و ایمونوهیستوشیمی**

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

کار در آزمایشگاه: با استفاده FITC Anti-Human IgGو سرم anti-DNAبنا به امکانات ایمونوفلورسانس یا ایمونوهیستوشیمی انجام می شود.

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

- **روشهای نگهداری و پایدارسازی فرآورده های پروتئینی**

درس نظری: پایدارکننده های آنتیبادی و پروتئینها برای نگهداری در یخچال و فریزر

کار در آزمایشگاه: ارزیابی پایداری Anti-Human IgG به روش اکسلریت

پروژه تولیدی مرتبط: تهیه پایدارکننده های آنتی بادی رقیق شده، نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری

- **جداسازی سلول ها از طحال و غدد لنفاوی موش یا خون محیطی و تحریک سلولی**

درس نظری: جداسازی سلولها با روشهای مختلف از قبیل FACSو MACS

کار در آزمایشگاه: جداسازی لنفوسیتها از طحال و غدد لنفاوی موش و یا خون محیطی، شمارش سلولی و رنگ آمیزی تریپان بلو و کشت و تحریک آن با PHA

پروژه تولیدی مرتبط: تولید میتوژنهای لنفوسیتی، نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری

- **ایمونوفنوتایپینگ سلولهای جدا شده با فلوسایتومتری**

درس نظری: اساس و کاربرد فلوسایتومتری و کنترل کیفی آن

کار در آزمایشگاه: اندازه گیری تعداد سلولهای .CD3+ CD4+Tسلولهای 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 محلولها و آنتیبادیهای مورد استفاده در فلوسایتومتری، نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری

- **ارزیابی مرگ آپوپتوتیک و نکروتیک سلولی**

درس نظری: روش های 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 v – PIو فلوسایتومتری ارزیابی شوند یا بررسی قطعه قطعه شدن DNAروی آگارز به روش DMSO-SDS-TEانجام گیرد.

پروژه تولیدی مرتبط: ساخت کیتهای بررسی مرگ سلولی DNA Ladderیا سایر موارد، نحوه کنترل کیفی

- **ارزیابی تکثیر سلولی**

درس نظری: اساس و کاربرد انواع روشهای تکثیر سلولی

کار در آزمایشگاه: ارزیابی تکثیر لنفوسیتهای تحریک شده با PHAبا روش MTTیا Resazurinیا BrdUیا روشهای معادل

پروژه تولیدی مرتبط: تهیه کیتهای تکثیر سلولی، نحوه کنترل کیفی و بررسی پایداری

- **تکثیر و نگهداری سلولهای یوکاریوتی**

درس نظری: اصول روشهای کشت سلولی

کار در آزمایشگاه: رترایو کردن سلول یوکاریوت، کشت و پاساژ سلول یوکاریوت

پروژه تولیدی مرتبط: تولید FBSیا محرک سلولی یا محیط کشت همراه با کنترل کیفی و ارزیابی پایداری

- **شناسایی ملکولی بر پایه PCR**

درس نظری: اصول روشهای استخراج DNAو PCRو کنترل کیفی

کار در آزمایشگاه: استخراج DNAو بررسی کیفیت آن، متعاقباً انجام PCR

پروژه تولیدی مرتبط: تولید کیت های ملکولی شناسایی موتاسیون و بررسی کنترل کیفی و پایداری آن

- **ارزیابی بیان ژن به روش RT-PCRکمی و نیمه کمی**

درس نظری: اصول روش Real-time RT-PCRو کنترل کیفی

کار در آزمایشگاه: استخراج RNAو بررسی کیفیت آن، سنتز cDNA و انجام Real-time RT-PCRیا RT-PCR بنا به امکانات

پروژه تولیدی مرتبط: ساخت کیت،Real-time RT-PCR بررسی کنترل کیفی و پایداری آن

روش های تدریس

سخنرانی ■	پرسش و پاسخ ■	بحث گروهی ■	ایفای نقش
کارگاه آموزشی	نمایش عملی ■	PBL	پانل
گردش علمی	گزارش صبحگاهی	جورنال کلاب	گروه کوچک
Bedside teaching	Grand Round	Case Based Discussion	بیمار شبیه سازی شده

سایر روش های تدریس:

مواد و وسایل آموزشی

کتاب ■	جزوه	پاورپوینت ■	وایت بورد ■	تصویر/ عکس	کاتالوگ/ بروشور	نمودار/ چارت
فایل صوتی	فیلم آموزشی	نرم افزار ■	ماکت	اشیاء و لوازم واقعی	بیمار استاندارد شده	بیمار واقعی

سایر مواد و وسایل آموزشی:

مکان برگزاری آموزش

کلاس ■	سایت اینترنت	سالن کنفرانس	سالن آمفی تأتر	سالن مولاژ	آزمایشگاه ■	Media Lab	Skill Lab	درمانگاه/ بخش بالینی	عرصه بهداشت	جامعه

سایر مکان های آموزشی:

ضوابط آموزشی و سیاست های مدرس

انتظارات: حضور منظم و به موقع در کلاس و آزمایشگاه، مشارکت فعالانه در مباحث تدریس، رعایت نظم و سکوت در حین تدریس، طرح سئوال و مشارکت در پاسخ دهی به سئوالات، انجام به موقع و مناسب تکالیف آموزشی تعیین شده، ارایه انتقاد و پیشنهاد جهت ارتقاء کیفیت تدریس، رعایت اصول ایمنی آزمایشگاه

مجازها: استفاده از کتب و مراجع معتبر علمی مرتبط با محتوای آموزشی کلاس، لپ تاب و سیستم های کامپیوتری و تجهیزات مشخص شده آزمایشگاهی

محدودیتها: عدم ایجاد اختلال و بی نظمی با صحبت کردن های طولانی، عدم استفاده از موبایل و ....

توصیه‌های ایمنی (دروس عملی/آزمایشگاهی/بالینی/عرصه)

فهرست منابع درسی

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.

روش ارزشیابی

گسترده پاسخ ■	**کوته پاسخ**	**چند گزینه ای**	جورکردنی	صحیح / غلط	چک لیست	مصاحبه
Key Feature	OSCE	Short Case	Long Case	Mini CEX	DOPS	Clinical Work Sampling
Log Book	360^0	Portfolio	PUZZLE	PMP	SCT	CRP

سایر روش های ارزشیابی: آزمون عملی مهارت دانشجو در استفاده از منابع اطلاعاتی و نرم افزار های معرفی شده

حضور و مشارکت فعال: ..... نمره	**تکالیف کلاسی: ۲ نمره**	**کار عملی و گزارش کار: ۲ نمره**
کوئیز: ..... نمره	**امتحان میان ترم/ دوره: ..... نمره**	**امتحان پایان ترم/ دوره: ۱۶ نمره**

جدول ترتیب و توالی عناوین برنامه نظری–عملی

شماره جلسه	عنوان جلسه	ملاحظات
۱	اصول اولیه آزمایشگاه	دکتر جعفری
۲	تهیه پروتئین (آنتی ژن)، تغلیظ و خالص سازی نهایی پروتئین(Polishing) ، نگهداری و پایدارسازی فرآورده های پروتئینی، اندازه گیری پروتئین تام	دکتر حسن زاده
۳	ایمونوپرسیپیتاسیون	دکتر حسن زاده
۴	تفکیک پروتئین ها از طریق الکتروفورز،ایمونوبلاتینگ و داتبلاتینگ	دکتر حسن زاده
۵	کشت و نگهداری سلولهای یوکاریوتی	دکتر جوهری (گروه بیوتکنولوژی)
۶	تولید آنتی بادی پلی کلونال	دکتر حسن زاده
۷	تولید آنتی بادی مونوکلونال	دکتر جعفری
۸	Mass spectrophotometry و HPLC	دکتر برجی (گروه بیوشیمی)
۹	بررسی فعالیت همولیتیک سیستم کمپلمان	دکتر جعفری
۱۰	جداسازی سلول ها از طحال و غدد لنفاوی موش یا خون محیطی (فایکول)	دکتر جعفری
۱۱	جداسازی سلول ها از طحال و غدد لنفاوی موش یا خون محیطی (MACS و FACS)	دکتر شاهانی (گروه ژنتیک)
۱۲	ایمونوفلورسانس و ایمونوهیستوشیمی	دکتر حسن زاده
۱۳	روشهای HLA typing سرولوژیک و مولکولی	دکتر جعفری
۱۴	ایمونوفنوتایپینگ سلولهای جدا شده با فلوسایتومتری	دکتر جعفری
۱۵	ایمونواسی آنزیمی، رادیوایمونواسی و کمی لومینسانس	دکتر جعفری
۱۶	سنجش فعالیت سلول های فاگوسیتیک (تست NBT و DHR)	دکتر جعفری
۱۷	ارزیابی مرگ آپوپتوتیک و نکروتیک سلولی	دکتر جعفری
۱۸	ارزیابی تحریک و تکثیر سلولی	دکتر جعفری

۱۹	استخراج DNA و RNA	دکتر جعفری
۲۰	شناسایی ملکولی بر پایهPCR	دکتر جعفری
۲۱	ارزیابی بیان ژن به روش RT-PCRکمی و نیمه کمی	دکتر جعفری
۲۲	آزمون تئوری و عملی	

***توجه: تاریخ شروع و پایان، در زمان آغاز برنامه آموزشی، توسط مسؤول درس/ کارشناس آموزش، به اطلاع فراگیران رسانیده خواهد شد.**