



**دانشکده / مرکز آموزشی درمانی: پزشکی**  
**گروه آموزشی: ایمونولوژی**

**طرح دوره Course Plan**

| مشخصات فراگیران                                                             |                                |         | مشخصات درس                                                             |           |                     |                                          |                     |
|-----------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|---------|------------------------------------------------------------------------|-----------|---------------------|------------------------------------------|---------------------|
| رشته تحصیلی: ایمونولوژی                                                     |                                |         | عنوان واحد درسی: روش های آزمایشگاهی ایمونولوژی و ایمونوشیمی            |           |                     |                                          |                     |
| مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد                                                  |                                |         | نوع واحد درسی: نظری - عملی                                             |           |                     |                                          |                     |
| ترم تحصیلی: نیمسال اول ۱۴۰۵-۱۴۰۴                                            |                                |         | کارآموزی:                                                              | کارآموزی: | عملی: ۲             | نظری: ۲                                  | واحد                |
| بخش:                                                                        | سال:                           | کارآموز | کارآموزی:                                                              | کارآموزی: | عملی: ۶۸            | نظری: ۳۴                                 | ساعت،<br>روز یا ماه |
| بخش:                                                                        | سال:                           | کارورز  | تاریخ تصویب جدیدترین برنامه<br>آموزشی توسط وزارت بهداشت:<br>۱۴۰۰/۰۹/۲۳ |           |                     | پیشنیاز:<br>مبانی<br>ایمونولوژی<br>پزشکی | کد درس: ۱۰          |
| بخش:                                                                        | سال:                           | دستیار  |                                                                        |           |                     |                                          |                     |
| مشخصات مسؤل درس                                                             |                                |         |                                                                        |           |                     |                                          |                     |
| رشته تحصیلی: ایمونولوژی پزشکی                                               |                                |         | نام و نام خانوادگی: دکتر داود جعفری                                    |           |                     |                                          |                     |
| رتبه علمی: استادیار                                                         |                                |         | مقطع تحصیلی: دکترای تخصصی                                              |           |                     |                                          |                     |
| پست الکترونیک: <a href="mailto:d.jafari@zums.ac.ir">d.jafari@zums.ac.ir</a> |                                |         | شماره تماس: 02433140300                                                |           |                     |                                          |                     |
| آدرس محل کار: دانشکده پزشکی - گروه ایمونولوژی                               |                                |         |                                                                        |           |                     |                                          |                     |
| نام و نام خانوادگی سایر مدرسان:                                             |                                |         |                                                                        |           |                     |                                          |                     |
| بازنگری بر اساس نیاز جامعه:                                                 |                                |         | تاریخ تدوین طرح درس:<br>۱۴۰۴/۰۶/۲۳                                     |           | روش برگزاری برنامه: |                                          |                     |
| شماره جلسات<br>بازنگری شده:                                                 | تاریخ تصویب<br>توسط شورای EDC: |         | تاریخ تأیید<br>توسط شورای EDO:                                         |           | ترکیبی              | مجازی                                    | حضور<br>■           |
| اهداف آموزشی                                                                |                                |         |                                                                        |           |                     |                                          |                     |

**هدف کلی:** در پایان درس دانشجو باید با روش های ایمنولوژی 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 پر کاربرد 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 BSA یا 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-PAGE و 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، مارکهای از قبل رنگ شده و یا ژلهای پریکست

- تغلیظ پروتئین و تعویض بافر

درس نظری: انواع بافرهای مورد استفاده در ایمنونوشیمی 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 پروتئینها

- خالص سازی نهایی پروتئین (Polishing)

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

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 کروماتوگرافی پروتئین A و 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 اکریلامید 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 IgG به روش دابل ایمونودیفیوژون و ایمونودیفیوژون تک قطبی شعاعی و یا کدورتسنجی و نفلومتری

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

- بیوکانژوگاسیون (نشاندن 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 HRP کوئزوگه شود و دیالیز گردد.

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

- ایمونوبلاتینگ و داتبلائیگ

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 داتبلائیگ انجام می شود

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

- ایمونواسی آنزیمی، رادیوایمونواسی و کمیلومینسانس

درس نظری: روشهای ایمونواسی آنزیمی، (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 می شود

پروژه تولیدی مرتبط: سوبسترا پایداری الایزا یا پایداری کننده 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 IgG و سرم anti-DNA بنا 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 پایداری سازی فرآورده های پروتئینی

درس نظری: پایداری کننده 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 پایداری کننده 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 FACS و 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

- ایمونوفلورسسانس سلولهای جدا شده با فلوسایتومتری

درس نظری: اساس و کاربرد فلوسایتومتری و کنترل کیفی آن

کار در آزمایشگاه: اندازه گیری تعداد سلولهای CD3+ CD4+ T. سلولهای جدا شده در مرحله قبل یا اندازه گیری تعداد سلولهای تولید کننده اینترفرون گاما یا هر سایتوکاین دیگری

پروژه تولیدی مرتبط: تهیه بافرها و محلولها و آنتیبادهای 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 PI -Annexin v و فلوسایتومتری ارزیابی شوند یا بررسی قطعه قطعه شدن DNA 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

- ارزیابی تکثیر سلولی

درس نظری: اساس و کاربرد انواع روشهای تکثیر سلولی

کار در آزمایشگاه: ارزیابی تکثیر لنفوسیت های تحریک شده با PHA با روش MTT یا Resazurin یا BrdU یا روشهای معادل

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

- 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

- 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 کیت های ملکولی شناسایی موتاسیون و بررسی کنترل کیفی و پایداری آن

- 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

### 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 برد ■ | 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 تئاتر | 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 سؤال و مشارکت در پاسخ دهی به سئوالات، انجام به موقع و مناسب تکالیف آموزشی تعیین شده، ارائه 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 ....

### توصیه های 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 ■ | کوتاه 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 <sup>0</sup> | 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<br>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 | دکتر حسن زاده |
| ۳             | اندازه گیری پروتئین تام                                                                                        | دکتر حسن زاده |
| ۴             | تفکیک پروتئین ها از طریق الکتروفورز، ایمونوبلاتینگ و داتبلاستینگ                                               | دکتر حسن زاده |
| ۵             | کشت و نگهداری سلولهای یوکاریوتی                                                                                | دکتر حسن زاده |
| ۶             | تولید آنتی بادی پلی کلونال                                                                                     | دکتر حسن زاده |
| ۷             | تولید آنتی بادی مونوکلونال                                                                                     | دکتر جعفری    |
| ۸             | ایمونوپرسیپیتاسیون                                                                                             | دکتر حسن زاده |
| 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 (FACS و MACS)                                            | دکتر شاهانی   |
| ۱۲            | ایمونوفلورسانس و ایمونوهیستوشیمی                                                                               | دکتر حسن زاده |
| ۱۳            | روشهای HLA typing سرولوژیک و مولکولی                                                                           | دکتر جعفری    |
| ۱۴            | ایمونوفنو تایپینگ سلولهای جدا شده با فلوسایتومتری                                                              | دکتر جعفری    |
| ۱۵            | ایمونواسی آنزیمی، رادیوایمونواسی و کمیلومینسانس                                                                | 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    |

|                 |                                              |    |
|-----------------|----------------------------------------------|----|
| دکتر جعفری      | استخراج DNA و RNA                            | ۱۹ |
| دکتر جعفری      | شناسایی ملکولی بر پایه PCR                   | ۲۰ |
| دکتر جعفری      | ارزیابی بیان ژن به روش RT-PCR کمی و نیمه کمی | ۲۱ |
| خانم دکتر غفاری | HPLC و Mass spectrophotometry                | ۲۲ |
|                 | آزمون تئوری و عملی                           |    |

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