

BALTYMŲ IŠSKYRIMAS IR GRYNINIMAS DALYKO APRAŠAS

Dalyko (modulio) pavadinimas		Kodas	
Baltymų išskyrimas ir gryninimas			
Dėstytojas (-ai)		Padalinys (-iai)	
Koordinuojantis: dr. NINA URBELIENĖ		Vilniaus universitetas, Gyvybės mokslų centras, Saulėtekio al. 7, Vilnius	
Kiti:			
Studijų pakopa	Dalyko (modulio) lygmuo	Dalyko (modulio) tipas	
Pirmoji	Studijų krypties	Individualių studijų dalykas	
Igyvendinimo forma		Vykdyimo laikotarpis	Vykdyimo kalba (-os)
Paskaitos ir seminarai auditorijoje		Rudens semestras	Lietuvių
Reikalavimai studijuojančiajam			
Išankstiniai reikalavimai: Išklaudyti kursai: Biochemijos, mikrobiologijos, genų inžinerijos, enzimologijos įvadai			Gretutiniai reikalavimai (jei yra):
Dalyko (modulio) apimtis kreditais	Visas studento darbo krūvis	Kontaktinio darbo valandos	Savarankiško darbo valandos
5	133	48 val.: 32 val. – paskaitos 16 val. - seminarai	85
Dalyko (modulio) tikslas: studijų programos ugdomos kompetencijos			
<p>Dalykas skirtas studentams, siekiantiems gilinti baltymų (fermentų) gryninimo metodų žinias, reikalingas ugdant aukštos kvalifikacijos biotechnologijų specialistus baltymų/fermentų gavimo srityje. Dalyko tikslas – supažindinti studentus su baltymų išskyrimo ir gryninimo metodais, skiriant ypatingą dėmesį sudėtingesnių baltymų gryninimui t.y. susiduriant su baltymų sintezės, tirpumo, teisingo baltymų klostymosi problemomis, sunkumais siekiant gauti pageidaujamo grynumo baltymų preparatus. Paskaitų metu studentai sužinos kaip racinaliai susiplanuoti eksperimentus, apie praktikoje baltymų gryninimui naudojamus sorbentus, jų savybes, gaminančias kompanijas, chromatografijos prietaisus ir t.t. Paskaitų ciklas apima visą baltymo/fermento kelią – pradedant nuo geno raiškos, baltymo biosintezės pasirinktame organizme, išskyrimo ir gryninimo procesą, bei galiausiai preparato kokybės nustatymą ir saugojimo sąlygų parinkimą.</p> <p>Gautas teorines žinias studentai taikys ir gilins įgūdžius seminarų metu.</p>			
Dalyko (modulio) studijų siekiniai	Studijų metodai		Vertinimo metodai
-studentai gilins žinias apie klasikinius baltymų gryninimo metodus.	Temos dėstymas paskaitose, savarankiška literatūros analizė ir diskusijos seminaruose.		Tarpinės apklausos, diskusijos seminaruose.
-supažins su sudėtingesnių baltymų gryninimo užduočių sprendimo būdais.	Temos dėstymas paskaitose, savarankiška literatūros analizė ir diskusijos seminaruose.		Tarpinės apklausos, diskusijos seminaruose.
-studentai įgis žinių, kaip įvertinti baltymo grynumą, grynumui taikomus kriterijus įvairiems preparatams, išsivins metodus, skirtus grynumo nustatymui;	Temos dėstymas paskaitose, savarankiška literatūros analizė ir diskusijos seminaruose.		Tarpinės apklausos, diskusijos seminaruose.

-mokės atpažinti, analizuoti ir interpretuoti duomenis, susijusius su baltymų išskyrimu ir gryninimu, gebės planuoti baltymų išskyrimo ir gryninimo strategijas, taikant įgytas žinias.	Temos dėstymas paskaitose, savarankiška literatūros analizė ir diskusijos seminaruose.							Tarpinės apklausos, diskusijos seminaruose.	
-tobulins ir atnaujins įgytas žinias bei praktinius įgūdžius, sieks naujų žinių, ugdysis savarankiškai ir komandoje.	Temos dėstymas paskaitose, savarankiška literatūros analizė ir diskusijos seminaruose.							Tarpinės apklausos, diskusijos seminaruose.	
-gebės diskutuoti bei argumentuotai pagrįsti savo nuomonę raštu ir žodžiu, ugdysis gebėjimą kritiškai vertinti mokslinėje literatūroje pateiktus duomenis.	Temos dėstymas paskaitose, savarankiška literatūros analizė ir diskusijos seminaruose.							Tarpinės apklausos, diskusijos seminaruose.	
-gebės atpažinti, analizuoti mikrobiologines ir biotechnologines problemas, planuoti jų sprendimo strategijas, apdoroti ir interpretuoti duomenis bei juos kvalifikuotai pristatyti.	Temos dėstymas paskaitose, savarankiška literatūros analizė ir diskusijos seminaruose.							Tarpinės apklausos, diskusijos seminaruose.	
-atpažins naujas mikrobiologijos srities problemas, susijusias su mikroorganizmų sintetinių baltymų gryninimu, mokės interpretuoti duomenis ir pasiūlyti sprendimus šioms problemoms spręsti.	Temos dėstymas paskaitose, savarankiška literatūros analizė ir diskusijos seminaruose.							Tarpinės apklausos, diskusijos seminaruose.	
Temos	Kontaktinio darbo valandos							Savarankiškų studijų laikas ir užduotys	
	Paskaitos	Konsultacijos	Seminarai	Pratybos	Laboratoriniai darbai	Praktika	Visas kontaktinis darbas	Savarankiškas darbas	Užduotys
1. Chromatografinio proceso teoriniai pagrindai. Chromatografijos terminai. Prietaisai chromatografijai. Aukšto slėgio chromatografija.	2						2	5	Literatūros paieška ir analizė
2. Strateginis planavimas prieš baltymų gryninimą: informacijos paieška, baltymų	2		2				4	5	Literatūros paieška ir analizė

savybės, resursų įvertinimas ir kt. Adsorbcijos molekulinis modeliavimas.									
3. Vandens savybės. Buferiniai tirpalai. Detergentai: joniniai, nejoniniai, cviterjoniniai. Micelių susidarymo koncentracijos.	2		2			4	5	Literatūros paieška ir analizė	
4. Ką daryti jei baltymas netirpus? Baltymų klostymosi keliai. Terpių priedai, didinantys baltymų tirpumą. Svarbesni solubilizuojantys ir stabilizuojantys reagentai, jų darbinės koncentracijos.	2		2			4	5	Literatūros paieška ir analizė	
5. Gryninimas iš netirpių kūnelių. Fermentų renatūracija.	2		2			4	5	Literatūros paieška ir analizė	
6. Sorbentai skysčių chromatografijoje: bendros charakteristikos. Tarpinė apklausa I	4					4	14	Literatūros paieška ir analizė	
7. Gelfiltracija; Adsorbcinė chromatografija; Jonų mainų chromatografija; Hidrofobinė (atvirkščių fazių) chromatografija	2					2	4	Literatūros paieška ir analizė	
8. Giminingumo (afininė) chromatografija. Metalų kompleksų chromatografija. Biotinilintų baltymų chromatografija. Tiolio ligandų (kovolentinis surišimas) chromatografija. Inteinų panaudojimas baltymų grynimui. Baltymų inkarų pasirinkimas ir jų pašalinimas.	2		2			4	5	Literatūros paieška ir analizė	
9. Terapijoje naudojamų baltymų gryninimas. Membraninių baltymų raiška ir gryninimas.	2						5	Literatūros paieška ir analizė	
10. Didelio našumo baltymų atranka, baltymų gryninimas iš mutantų bibliotekų.	2		2				5	Literatūros paieška ir analizė	
11. Dializės procesai, koncentravimas. Mažamolekulinių junginių pašalinimas iš baltymų preparatų (nudruskinimas) sorbentų pagalba.	2					2	5	Literatūros paieška ir analizė	

Baltymų/fermentų saugojimas. Stabilizuojantys priedai									
12. Baltymų gryninimo kokybės įvertinimas. Tikslinio baltymo grynumo nustatymas. Koncentracijos nustatymo būdai (spektrofotometriniai, densitometrinė gelių analizė, kompiuterinės programos).	2		2				4	5	Literatūros paieška ir analizė
13. Baltymų elektroforezės tipai. Kapiliarinė elektroforezė, baltymų elektroforezė bioanalizatoriuje. 2D-elektroforezė. Elektroforezė denatūruojančiomis sąlygomis: SDS-PAGE, CTAB-PAGE, sarkozilo-PAGE. Peptidų elektroforezė. Elektroforezė agarozės gelyje. Buferiniai tirpalai. Redukuojantys agentai. Gelio koncentracijos pasirinkimas. Gradientinių gelių paruošimas. Natyvi elektroforezė. Baltymų dažai. Western blotas. Membranos, pernešimo būdai, prietaisai. Baltymų detekcija membranoje.	6		2				8	17	Literatūros paieška ir analizė
Tarpinė apklausa II									
Iš viso	32		16				48	85	
Vertinimo strategija	Svoris proc.	Atsiskaitymo laikas			Vertinimo kriterijai				
Tarpinė apklausa I	35 %	8 semestro savaitė			Semestro eigoje rašomos dvi tarpinės apklausos (testiniai klausimai + atviri klausimai) iš 10 klausimų. Vertinami atsakymai į pateiktus skirtingo sunkumo klausimus; vertinamas atsakymo pilnumas ir informacijos pateikimo logiškumas bei teisingumas. Vertinama balais. Vertinimo balais reikšmės: 10: Puikios žinios ir gebėjimai. 9: Labai geros žinios ir gebėjimai. 8: Geros žinios ir gebėjimai, gali būti neesminių klaidų. 7: Vidutiniškos žinios ir gebėjimai, yra nereikšmingų klaidų. 6: Patenkinamos žinios ir gebėjimai, yra klaidų.				
Tarpinė apklausa II	35 %	16 semestro savaitė							

			<p>5: Silpnos žinios ir gebėjimai, kurie dar tenkina minimalius reikalavimus. Yra daug klaidų. 0–4: Netenkinami minimalūs reikalavimai.</p> <p>Išvedamas 2 atsiskaitymų vidurkis, kuris atitinka 70 % galutinio įvertinimo. Jei pažymys netenkina, laikomas egzaminas sausio mėn. sesijos metu iš visų analizuotų temų semestro eigoje. Egzamino metu atsakoma į du atvirus klausimus, kurie atitinka semestro eigoje nagrinėtas temas. Vertinama dešimtbalėje sistemoje. Vertinimo balais reikšmės: 10: Puikios žinios ir gebėjimai. 9: Labai geros žinios ir gebėjimai. 8: Geros žinios ir gebėjimai, gali būti neesminių klaidų. 7: Vidutiniškos žinios ir gebėjimai, yra nereikšmingų klaidų. 6: Patenkinamos žinios ir gebėjimai, yra klaidų. 5: Silpnos žinios ir gebėjimai, kurie dar tenkina minimalius reikalavimus. Yra daug klaidų. 0–4: Netenkinami minimalūs reikalavimai. Gautas įvertinimas atitinka 70 % galutinio įvertinimo.</p>
Pristatymas seminarų metu I	30 %	Semestro eigoje	<p>Projekto (fermentų/baltymų gryninimo procesas iš pasirinktos temos) pristatymas žodžiu seminaro metu (15-20 min.). 1,5 balai prie galutinio įvertinimo – pristatymas išsamus ir detalus. Pranešėjas geba puikiai diskutuoti pristatoma tema ir analizuoja problematiką. 1,0 balas prie galutinio įvertinimo – pristatymas pakankamai išsamus ir detalus; pranešėjas dalinai geba diskutuoti pristatoma tema ir dalinai geba analizuoti problematiką. 0,5 balai prie galutinio įvertinimo – pristatymas neišsamus, studentas dalinai geba diskutuoti pateikta tema. 0 balų prie galutinio įvertinimo – tema neišanalizuota.</p>

Autorius	Leidimo metai	Pavadinimas	Periodinio leidinio Nr. ar leidinio tomas	Leidimo vieta ir leidykla ar internetinė nuoroda
Privalomoji literatūra				
Philip L. R. Bonner.	2019	Protein Purification	Second Edition	https://books.google.lt/books?id=ywhpDwAAQBAJ&pg=PT4&lpg=PT4&dq=International+Standard+Book+Number-13:+978-0-8153-4488-9&source=bl&ots=cGXqXCA0iW&sig=ACfU3U2gOINUS9F8UHkRi_nI-ajPaEOq6A&hl=lt&sa=X&ved=2ahUKEwiX9Y2zuLj1AhXQSPEDHTp7Bo0Q6AF6BAhFEAM#v=onepage&q&f=false

Cytivia gamintojo puslapis				https://www.cytivalifesciences.com/en/us/solutions/protein-research/knowledge-center/protein-purification-methods
Merck-Sigma-Aldrich puslapis				https://www.sigmaaldrich.com/LT/en/applications/protein-biology/protein-purification?gclid=Cj0KCQiA2sqOBhCGARIsAPuPK0gbPqEQkbrxC702haao01kBO8JLfsYJ6fCqb9_Ygv7MDL6vQnNbuN0aAgECEALw_wcB
James M. Miller	2009	Chromatography: Concepts and Contrasts	2nd Edition	Wiley
Yi Li, e.al.	2019	Emerging biomaterials for downstream manufacturing of therapeutic proteins		Acta Biomaterialia. Volume 95, 2019, Pages 73-90, https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.03.015 .
Sue-Hwa Lin, Guido Guidotti,	2009	Purification of Membrane Proteins	Chapter 35	Methods in Enzymology, Academic Press, Volume 463, 2009, Pages 619-629, https://doi.org/10.1016/S0076-6879(09)63035-4 .
Papildoma literatūra				
Edited By Allan Svendsen	2016	Understanding Enzymes Function, Design, Engineering, and Analysis	1st Edition	CRC Press Taylor & Francis Group