



Sveučilište u Rijeci
University of Rijeka



Detaljni izvedbeni nastavni plan za kolegij:
Osnove kromatografije biomolekula

Akadska godina: 2023/2024

Studij: Preddiplomski sveučilišni studij „Biotehnologija i istraživanje lijekova“

Kod kolegija: EBIL 131

ECTS bodovi: 3

Jezik na kojem se izvodi kolegij: Hrvatski & engleski

Nastavno opterećenje kolegija: 30 sati (20P + 10S + 0V)

Preduvjeti za upis kolegija: Položen ispit za predmet „Opća kemija“

Nositelj kolegija i kontakt podaci:

Titula i ime: doc. dr. sc. Uroš Anđelković

Adresa: Odjel za biotehnologiju, Radmile Matejčić 2

e-mail: uros@chem.bg.ac.rs

Vrijeme konzultacija:

Po dogovoru sa izvođačem nastave danima kada su predavanja.

Izvođači i nastavna opterećenja:

Doc. dr. sc. Uroš Anđelković (20P, 10S, 0V)

Obavezna literatura:

1. U. Anđelković, J. Giacometti, Dj. Josić. Protein and Peptide Separations. In book: Liquid Chromatography: Applications. Edited by S. Fanali, P.R. Haddad, C. Poole, M.L. Riekkola. Elsevier (2017) ISBN 9780128053928 | DOI: 10.1016/B978-0-12-805392-8.00005-0
 2. P. Gagnon. Purification of monoclonal antibodies by mixed-mode chromatography. In book: Process Scale Purification of Antibodies, Second Edition. Edited by U. Gottschalk. John Wiley & Sons, Inc. (2017) Print ISBN:9781119126911 | Online ISBN:9781119126942 | DOI:10.1002/9781119126942
 3. P. Gagnon. Purification of Nucleic Acids: A handbook for purification of plasmid DNA and mRNA for gene therapy and vaccines. BIA Separations (2020) ISBN 978-961-95042-2-2 (pdf)
- Literatura će biti dostavljena studentima pred početak nastave.



Opis predmeta:

Izborni kolegij *Osnove kromatografije biomolekula* daje pregled primjene tekućinske kromatografije bioloških makromolekula u području biomedicinskih znanosti. Težište predmeta je jednako na obadva područja kromatografije – analitičkom i preparativnom. Kolegij se sastoji od predavanja i seminara. Na predavanjima će se dati studentima uvod u problematiku koja će se obrađivati na seminarima. Svaki student će pronaći i informirati ostale u grupi o kromatografiji bioloških makromolekula, prije svega proteina, nukleinskih kiselina i polisaharida, ali i nanočestica (nanoparticles) koje su satavljene od ovih komponenti, te primjeni ove analitičke i preparativne metode razdjeljivanja (separacije) po prethodno zadanim temama koje utvrđuje voditelj kolegija.

Ishodi učenja

Opće kompetencije koje će se razvijati na predmetu:

1. Instrumentalne: Osnovno znanje profesije; Komunikacijske vještine; Učenje novih vještina i procedura; Rješavanje problema; Prilagodba znanja novim situacijama; Otvorenost novim idejama i mogućnostima
2. Interpersonalne: Raditi s minimalnim nadzorom; Propitivanje vlastitog znanja
3. Sistemske: Rješavanje problema; Logično mišljenje i zaključivanje; Kreativno razmišljanje; Sposobnost analize

Specifične kompetencije koje će se razvijati na predmetu:

Nakon završenog programa predmeta studenti će biti sposobni:

- Razlikovati razne konfiguracije sustava za kromatografiju i zbog čega su one bitne
- Razumijeti i planirati pokuse s tekućinskom kromatografijom primjenjene na analizu i preparativnu izolaciju bioloških makromolekula i nano-čestica (nanoparticles)
- Poblize se upoznati sa sistemskim analizama bioloških makromolekula i nano-čestica
- Shvatiti ulogu i značaj visokoprotočnih («high-throughput») analiza
- Povezati postojeća sa novim saznanjima

Detaljni sadržaj kolegija:

A Predavanja

P1. Uvod u tekućinsku kromatografiju («Liquid chromatography», LC) makromolekula:

- teorijske osnove kromatografije
- osnovni pojmovi i vrste kromatografije



- tipovi stacionarnih faza za tekućinsku kromatografiju

P2-3. Uvod u tekućinsku kromatografiju makromolekula:

- modeli protoka i transporta mase kroz kromatografske medije
- disperzija
- sile smicanja
- kapacitet kromatografskih medija

P4. Uvod u tekućinsku kromatografiju makromolekula:

- analitička i preparativna kromatografija
- kolone (kromatografski stupci) i detektori
- primjeri komercijalnih instrumenata za analitičku i preparativnu kromatografiju

P5. Uvod u tekućinsku kromatografiju makromolekula:

- tekucinska kromatografija spregnuta sa tandemskom masenom spektrometrijom
- tekucinska kromatografija spregnuta sa kapilarnom elektroforezom

P6. Gel-filtracija («Size-exclusion chromatography», SEC)

- definicija razdiobe makromolekula na osnovu velicine (molekularna sita)
- nespecificne interakcije i njihova eliminacija
- znacaj velicine pora i kemije površine za selektivnost kromatografskog stupca
- primjena SEC za razdiobu bioloskih makromolekula

P7. Kromatografija ionske izmjene («Ion-exchange chromatography», IEC)

- kationska i anionska izmjena, teoretske osnove
- primjena metode ionske izmjene za separaciju i identifikaciju proteina, nukleinskih kiselina i polisaharida
- analitička i preparativna kromatografija ionske izmjene
- primjeri primjene ionske izmjene za analizu i izolaciju biomolekula

P8. Kromatografija na obrnutoj fazi («Reversed-phase chromatography», RP)

- teoretske osnove, interakcija izmedju hidrofobne površine nosaca i bioloskih makromolekula
- primjena kromatografija na obrnutoj fazi za separaciju bioloskih makromolekula
- analitička i preparativna kromatografija na obrnutoj fazi
- primjena kromatografije na obrnutoj fazi u proteomici

P9. Kromatografija na osnovi hidrofobnih interakcija («Hydrophobic-interaction chromatography», HIC)

- Razlika izmedju «Reversed-phase chromatography» i «Hydrophobic-interaction chromatography»
- primjena hidrofobne kromatografija za separaciju bioloskih makromolekula
- analitička i preparativna kromatografija



Kromatografija hidrofilnih interakcija («Hydrophilic interaction chromatography», HILIC)

- definicija i teorijske osnove
- primena

P10. Kromatografija afiniteta («Affinity chromatography», AC)

- definicija, ligandi i ligati
- imunoafinitetna kromatografija, važnost monoklonalnih i poliklonalnih protutijela
- lektini i glikoproteini, imobilizacija specifičnih molekula («ligandi)
- proteini kao specifični ligandi u AC, ostale AC metode
- «Immobilized metal affinity chromatography» (IMAC) i pseudo-afinitetne metode
- kemija vezivanja liganada za stacionarnu fazu

P11. Priprava proteinskih uzoraka

- zašto je priprava uzorka važna
- high-throughput priprava uzorka i robotika
- upotreba posebnih kromatografskih nosača, neporozni nosaci i monoliti
- primjeri pripreme uzorka

P12-14. Kromatografsko prečišćavanje nukleinskih kiselina u biofarmaciji

- teorijske osnove prečišćavanja nukleinskih kiselina
- čistoća biofarmaceutika baziranih na nukleinskim kiselinama
- glavni kontaminanti

P15-17. Kromatografsko prečišćavanje nukleinskih kiselina u biofarmaciji

- prečišćavanje plazmidne DNA
- prečišćavanje informacione RNA

P18-20. Kromatografsko prečišćavanje nukleinskih kiselina u biofarmaciji

- priprava uzoraka

B Seminari

- S1. Teorija tekućinske kromatografije biomolekula
- S2. Nosači u tekućinskoj kromatografiji biomolekula
- S3. Pimjena tekućinske kromatografije u analitičkoj praksi
- S4. Pimjena tekućinske kromatografije u preparativnoj praksi (biotehnoška i farmaceutska industrija)
- S5. Pimjena tekućinske kromatografije u kliničko-biokemijskoj praksi
- S6. Primjena tekućinske kromatografije u proizvodnji cijepiva na bazi informacione RNA
- S7. Primjena kromatografije ionske izmjene u praksi
- S8. Primjena kromatografije obrnute faze u praksi



- S9. Primjena kromatografije afiniteta u praksi (npr. u proizvodnji monoklonskih protutjela)
S10. Visokoprotlačna analiza biomolekula

Obveze, način praćenja i vrednovanje studenata:

Studenti su dužni redovito izvršavati obveze koje se odnose na pohađanje nastave, pripreme seminarskog rada u pisanom i usmenom obliku po zadanoj temi te aktivno sudjelovati na nastavi.

Pohađanje nastave, aktivno sudjelovanje te priprema seminarskog rada čine 50 % maksimalnih bodova. Dodatnih 50% maksimalnih bodova ostvaruje se pismenim ispitom. Student može izostati najviše do 30% ukupne nastave.

Ukoliko student **ne pripremi seminarski rad u pismenom i usmenom obliku**, smatra se da nije izvršio zadane obveze, te ne može nastaviti praćenje kolegija, odnosno ocijenjen je ocjenom F.

Ispitni rokovi:

1. ispitni rok održat će se 2.6.2024. u 12 h u prostoriji O-268
2. ispitni rok održat će se (definirati datum, mjesto i vrijeme).
3. ispiti rok održati će se u lipnju 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 24,9% ocjenskih bodova ne mogu pristupiti završnom ispitu
- više od 25% 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	Mjesto	Oblik nastave	Izvođač
24.06.2024.	svi	10 - 13 h	O-268	P1, P2, P3	Doc. dr. sc. Uroš Anđelković
25.06.2024.	svi	10 - 13 h	O-268	P3, P4, P5	Doc. dr. sc. Uroš Anđelković
26.06.2024.	svi	10 - 14 h	O-268	P6, P7, P8, P9	Doc. dr. sc. Uroš Anđelković
27.06.2024.	svi	10 - 13 h	O-268	P10, P11, P12	Doc. dr. sc. Uroš Anđelković
28.06.2024.	svi	10 - 14 h	O-268	P13-P16	Doc. dr. sc. Uroš Anđelković
1.07.2024.	svi	10 - 14 h	O-268	P17-P20	Doc. dr. sc. Uroš Anđelković
2.07.2024.	svi	10 - 13 h	O-268	S1, S2, S3	Doc. dr. sc. Uroš Anđelković
3.07.2024.	svi	10 - 14 h	O-268	S4 S5, S6, S7	Doc. dr. sc. Uroš Anđelković
4.07.2024.	svi	10 - 13 h	O-149	S8, S9, S10	Doc. dr. sc. Uroš Anđelković
5.07.2024.	svi	10 - 12 h	O-268	Ispit	Doc. dr. sc. Uroš Anđelković

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*.



Sveučilište u Rijeci
University of Rijeka



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.