دکتر رهبر*

ایمونوالکتروفورز

ایمونوالکتروفورز درحقیقت ترکیبی ازالکتروفورزمنطقه‌ای ۱ در محیط ژل وپدیده بین آنتی‌ژن وآنتی‌کور در همان محیط ژل است (ایمونودیفوزیون) مثلا پروتئین‌های سرم انسانی‌پس ازالکتروفورزساده روی‌کاغذ صافی ۵ منطقه یاباند تشکیل میدهند که بترتیب عبارتند از آلبومین آلفایک‌گلوبولین آلفادوگلوبولین وبتاوگاماگلوبولین ولی درهرکدام از این مناطق چند نوع پروتئین مختلف وجود دارد که گرچه ازلحاظ حرکت الکتروفورزی نزدیک بهم هستند و دریک منطقه قرار میگیرند ولی ازلحاظ دیفوزیون درمحیط ژل باهم فرق دارند واین وسیله‌ایست برای جداکردن وتشخیص فراکسیون‌های پروتئین هرمنطقه.

درسال ۱۹۵۵ اولین بار Smithie بابکار بردن استارچ هیدرولیزه‌والکتروفورزسرم انسانی دراستارچ ژل توانست ۲۰ فراکسیون مختلف پروتئینی درسرم انسان جداکند. درحقیقت هرباند الکترو فورزی روی‌کاغذ در محیط استارچ ژل بچندین فراکسیون پروتئینی جدا شده است واین بعلت اختلاف ضریب دیفوریون‌مولکولهای پروتئینی درمحیط استارچ ژل میباشد

ولی ایمونوالکتروفورز که اولین بار بوسیله Grabar.P بکار برده شد قدرت جداکننده بیشتری دارد و بدینوسیله در سرم انسانی تا ۳۰ فراکسیون پروتئینی میتوان جداکرد و مشخص نمود.

طرز عمل بطور خلاصه از اینقراراست که درمرحله اول یك الکتروفورز ساده ازآنتی‌ژن (مثلا سرم انسانی) درآگارژل انجام میگردد وپس از جداشدن فراکسیون‌های مختلف‌پروتئینی درمرحله دوم در شیاری بمحازات حرکت پروتئین‌ها و بفاصله معین از آنها آنتی‌کور مربوطه (مثلا آنتی سرم انسانی درخرگوش) دراین شیار ریخته و درشرائط مساعدی نگاهداری میشود تا مولکولهای سرم و آنتی سرم در آگارژل نفوذکنند و هرفراکسیون باآنتی‌کور مخصوص خود برخورد نموده وایجاد باندپرسی پیتاسیون بکندکه ثابت ومرئی است .

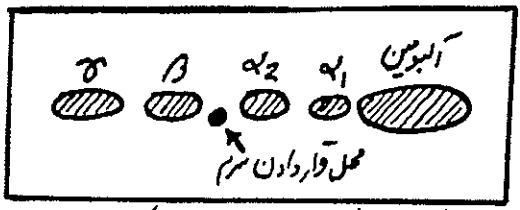
شکل صفحه بعدمراحل مختلف ایمونوالکتروفورز را نشان میدهد .

همانطورکه در شکل دیده میشود در مقابل هر منطقه پروتئین در الکتروفورز ساده پس‌ازدیفوزیون مولکولها درمحیط ژل وبرخورد با آنتی‌کورهای مربوطه چندین باند پرسی‌پیتاسیون ایجاد میگرددکه هرباند مشخص یك نوع پروتئین‌است که ازلحاظ‌دیفوزیون مولکولها درمحیط ژل باهم فرق دارندوحتی ازروی شکل باندهای پرسی‌پیتاسیون میتوان بابعاد مولکولها پی برد بنابرین در فاصله بین مولکولهای آنتی ژن وآنتی‌کور مولکولهای هردونفوذ میکندو

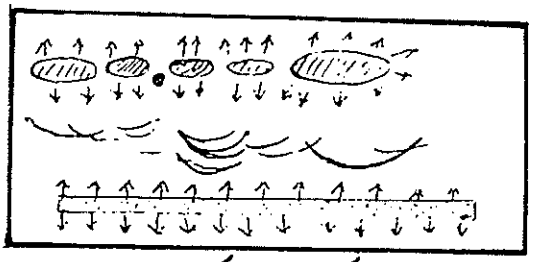
* – استاد یار ایمونولوژی‌عمومی

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-22]

چون هرپروتئین خاص دارای ضریب دیفوزیون مشخص است مسافت معین نفوذ میکند وپس از برخورد باآنتی کور اختصاصی خوددر همان جا بصورت مولکولهای درشت بروی تاروپود محیط آگارژل ثابت میشود وتشکیل باندهای پرسی پیتاسیون را میدهد .



مرحلهٔ اول جداشدن پروتئینهای سرم بوسیلهٔ الکتروفورز



مرحلهٔ دوم نفوذ مولکولهای آنتی کور وآنتی ژن وایجاد باندهای پرسی پیتاسیون

استفاده از ایمونوالکتروفور بسیار وسیع است وهر ماده بیولوژیکی ویا شیمیائی رامیتوان بعنوان آنتی ژن بکاربرد وبا تهیه آنتی کور مربوطه آن درحیوان آنرا مطالعه کرد . در مورد پروتئین های سرم انسانی بدینوسیله میتوان فراکسیونهای مختلف پروتئینی را جداکرد و مشخص ساخت همینطور تشخیص گروههای هاپتوگلوبولینی افرادانسانی Hp1-1,Hp2-1,Hp2-2 وتغییرات مرضی هر نوع پروتئین های سرم مثل ماکروگلوبولینمی وانواع پلاسموسیتوم ها و تغییرات سرولوپلاسمین و تشخیص انواع هموگلوبینوپاتیها .

استفاده مهم دیگر درمطالعه آنتی ژنهای ویروسی ومیکربی وانگلها وآنتی ژنهای نسجی و مقایسه آنتی ژنهای مختلف و توکسین های مختلف میکربی است همینطور میتوان بدینوسیله فهمید که آنتی کور مربوط به یك میکرب یافنومن ایمنی درکدام قسمت پروتئین های سرم قرار دارد مثلا بعضی از آنتی کورهای میکرب سل و بیماریهای آلرژی در منطقه بتاگلوبولین ها مستقر است .

میتوان تکنیك های دیگری را ازقبیل نشان کردن بعضی آنتی ژنها بارادیوایزوتوپ وجذب اختصاصی بعضی ازآنتی کورها را درآنتی کورهای پولی والان باایمونوالکتروفورز همراه کرد و نتایج بهتری گرفت .

ایمونوالکتروفورز سرم انسانی . این وسیله همانطور که ذکرشد برای جستجو وتشخیص فراکسیون های پروتئینی سرم، تشخیص گروههای سرمی و تشخیص تغییرات مرضی آنها بکار میرود .

برای تهیه آنتی سرم انسانی قبلا سرم انسان به حیواناتی ازقبیل خرگوش واسب ویابزغاله تزریق میگردد تا درخون حیوان در مقابل هرانوع پروتئین سرم انسانی آنتی کور اختصاصی آن تشکیل گردد واز این آنتی سرم درایمونوالکتروفورزسرم انسانی استفاده میشود .

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-22]

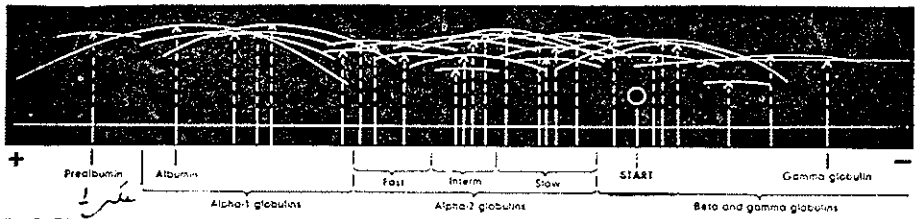


Fig. 7. Diagrammatic representation of immunoelectrophoretic pattern of a single normal human serum.

شمای بالا ایمونوالکتروفورو گرام طبیعی سرم انسان و در تابلوی زیر اسم هر نوع پروتئین ذکر میشود .

۱ـ p1 پیش‌آلبومین که دارای تریپتوفان زیادی است
۲ـ p2 پیش‌آلبومین که حاوی لیپوپروتئین است
۳ـ Alb آلبومین
٤ـ α_1 sm آلفا یك سروموکوئید از نوع گلیکوپپوتئین
٥ـ α_1 βi آلفا یك بیلی روبین گلوبولین
٦ـ α_1 L آلفا یك لیپوپروتئین
۷ـ α_1 G_1 آلفا یك گلیکوپروتئین
۸ـ $\alpha_1\beta$
۹ـ α_1
۱۰ـ α_2 H_I آلفادوها پتوگلوبولین I گروه Hp1-1
۱۱ـ α_2 H_{II} آلفادوها پتوگلوبولین II گروه Hp2-2
۱۲ـ α_2 m آلفادوما کروگلوبولین
۱۳ـ α_2 C آلفادوسرولوپلاسمین
۱٤ـ α_2 SM آلفا دو سروموکوئید
۱٥ـ α_2 A آلفادو گلیکوپروتئین
۱٦ـ α_2 G » » »
۱۷ـ α_2 L آلفادولیپوپروتئین
۱۸ـ α_2 J آلفادوگلوبولین حامل تیروکسین
۱۹ـ β_1 C بتا یك کمپلمان (مکمل)
۲۰ـ β_1 B
۲۱ـ β_1 S بتا یك ترانسفرین حامل آهن Siderophilin
۲۲ـ β_1 A بتا یك
۲۳ـ β_1 P بتا یك گلیکو پروتئین دارای فعالیت پروپردین
۲٤ـ β_2 X بتا دو ایکس دارای خاصیت آنتی کوری

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-22]

۲۵ ـ β_2 A دارای خاصیت آنتی کوری

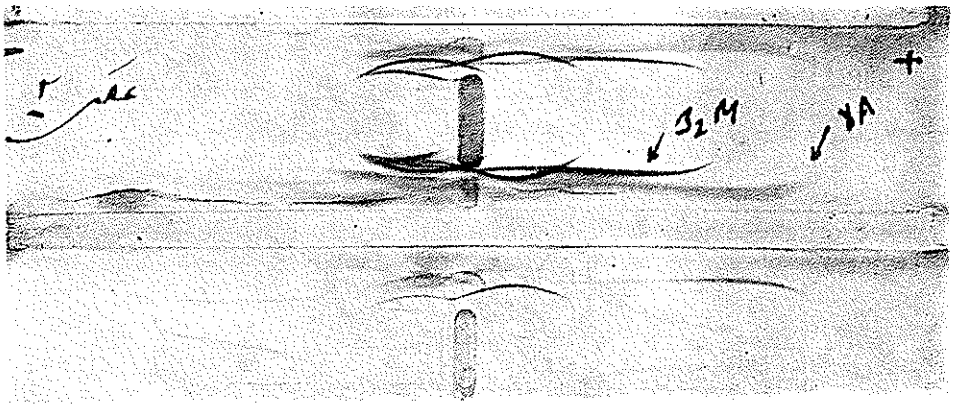
۲۶ ـ β_2 M بتا دو ماکروگلوبولین دارای خاصیت آنتی کوری

۲۷ ـ β_2 B بتا دو گلوبولین مختصری آنتی کور

۲۸ ـ γB خاصیت آنتی کوری کم

۲۹ ـ γA آنتی کورهای اصلی سرم

عکس دو از یك مورد ایمونوالکتروفورز دربیماریست که گاماگلوبین زیاد شده ومخصوصاً باند B_2 M خیلی قطور وطویل‌است واین‌علائم‌مشخص بیماری ماکروگلوبولینمی‌و الداشتروم‌ا‌ت



(ازکارهای بخش سرم شناسی دانشکده پزشکی)

الکتروفورز در آگارژل بطریقهٔ ماکروتامپون و روتال سدیك PH = 8,2 ولتاژ ۹۰ ولت ۵/٤ ساعت آنتی‌سرم انسانی‌تهیه‌شده دربزغاله مدت دیفوزیون یك‌هفته رنگ‌آمیزی‌باآروکارمین

منابع

_ Immunodiffusion : A. J. CROWLE AP. 1961

_ Immunoélectrophoresis :
SCIENCE TOOLS vol. 7 No. 2 1960

_GRABAR et WILLIAMS,Bioch Biophy Acta 10 193 1953

_F.PEETOOM : the Agar Ptecipitation Technique. Oliver & Boyd 1963

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-22]