

ایمونوالکتروفورز

ایمونوالکتروفورز در حقیقت ترکیبی از الکتروفورز منطقه ای ۱ در محیط ژل و پدیده بین آنتی ژن و آنتی کور در همان محیط ژل است (ایمونودیفوزیون) مثلاً پروتئین های سرم انسانی پس از الکتروفورز ساده روی کاغذ صافی ۵ منطقه یا باند تشکیل می دهند که بترتیب عبارتند از آلبومین آلفایک کلوبولین آلفادو کلوبولین و بتا و گاما کلوبولین ولی در هر کدام از این مناطق چند نوع پروتئین مختلف وجود دارد که گرچه از لحاظ حرکت الکتروفورزی نزدیک بهم هستند و در یک منطقه قرار می گیرند ولی از لحاظ دیفوزیون در محیط ژل باهم فرق دارند و این وسیله ایست برای جدا کردن و تشخیص فراکسیون های پروتئین هر منطقه.

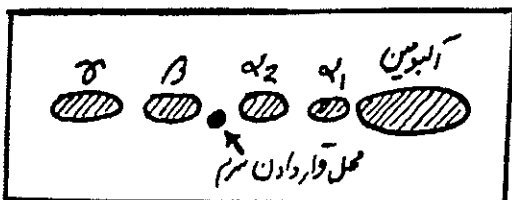
در سال ۱۹۵۵ اولین بار Smithie بابکار بردن استارچ هیدرولیزه الکتروفورز سرم انسانی در استارچ ژل توانست ۲۰ فراکسیون مختلف پروتئینی در سرم انسان جدا کند. در حقیقت هر باند الکتروفورزی روی کاغذ در محیط استارچ ژل بچندین فراکسیون پروتئینی جدا شده است و این بعلت اختلاف ضریب دیفوزیون مولکولهای پروتئینی در محیط استارچ ژل میباشد ولی ایمونوالکتروفورز که اولین بار بوسیله Grabar.P بکار برده شد قدرت جدا کننده بیشتری دارد و بدین وسیله در سرم انسانی تا ۳۰ فراکسیون پروتئینی میتوان جدا کرد و مشخص نمود.

طرز عمل بطور خلاصه از این قرار است که در مرحله اول یک الکتروفورز ساده از آنتی ژن (مثلاً سرم انسانی) در آگار ژل انجام میگردد و پس از جدا شدن فراکسیون های مختلف پروتئینی در مرحله دوم در شیاری بمحازات حرکت پروتئین ها و بفاصله معین از آنها آنتی کور مربوطه (مثلاً آنتی سرم انسانی در خرگوش) در این شیار ریخته و در شرایط مساعدی نگاهداری میشود تا مولکولهای سرم و آنتی سرم در آگار ژل نفوذ کنند و هر فراکسیون با آنتی کور مخصوص خود برخورد نموده و ایجاد باند پرسی پیتاسیون بکنند که ثابت و مرئی است.

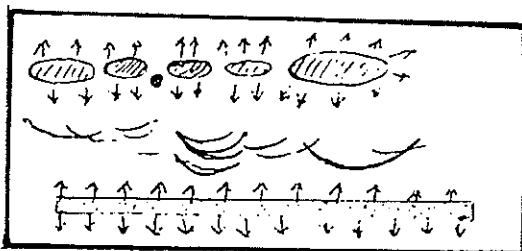
شکل صفحه بعد مراحل مختلف ایمونوالکتروفورز را نشان میدهد.

همانطور که در شکل دیده میشود در مقابل هر منطقه پروتئین در الکتروفورز ساده پس از دیفوزیون مولکولها در محیط ژل و برخورد با آنتی کورهای مربوطه چندین باند پرسی-پیتاسیون ایجاد میگردد که هر باند مشخص یک نوع پروتئین است که از لحاظ دیفوزیون مولکولها در محیط ژل باهم فرق دارند و حتی از روی شکل باندهای پرسی پیتاسیون میتوان بابعاد مولکولها پی برد بنابراین در فاصله بین مولکولهای آنتی ژن و آنتی کور مولکولهای هر دو نفوذ میکنند و

چون هر پروتئین خاص دارای ضریب دیفوزیون مشخص است مسافت معین نفوذ میکند و پس از



مرحله اول جراتن پروتئین های سرم بر پایه الکترادفوز



مرحله دوم نفوذ مولکولهای آنتی کور و آنتی ژن و ایجاد باندهای پرسی بیاسیون

برخورد با آنتی کور اختصاصی خود در همان جا بصورت مولکولهای درشت بروی تار و بود محیط آگارژل ثابت میشود و تشکیل باندهای پرسی بیاسیون را میدهد.

استفاده از ایمونوالکتروفور بسیار وسیع است و هر ماده بیولوژیکی و یا شیمیایی را میتوان بعنوان آنتی ژن بکار برد و با تهیه آنتی کور مربوطه آن در حیوان آنرا مطالعه کرد. در مورد پروتئین های سرم انسانی بدینوسیله میتوان فراکسیونهای مختلف پروتئینی را جدا کرد و مشخص ساخت همینطور تشخیص گروههای هاپتوگلوبولینی افراد انسانی Hp1-1, Hp2-1, Hp2-2 و تغییرات مرضی هر نوع پروتئین های سرم مثل ما کروگلوبولینی و انواع پلاسما سیتوم ها و تغییرات سرولوپلاسمین و تشخیص انواع هموگلوبینو پاتیها.

استفاده مهم دیگر در مطالعه آنتی ژنهای ویروسی و میکربی وانگلها و آنتی ژنهای نسجی و مقایسه آنتی ژنهای مختلف و توکسین های مختلف میکربی است همینطور میتوان بدینوسیله فهمید که آنتی کور مربوط به یک میکرب یافتن ائمنی در کدام قسمت پروتئین های سرم قرار دارد مثلا بعضی از آنتی کورهای میکرب سل و بیماریهای آلرژی در منطقه بتا گلوبولین ها مستقر است.

میتوان تکنیک های دیگری را از قبیل نشان کردن بعضی آنتی ژنها بارادیو ایزوتوپ و جذب اختصاصی بعضی از آنتی کورها را در آنتی کورهای پولی والان با ایمونوالکتروفورز همراه کرد و نتایج بهتری گرفت.

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

برای تهیه آنتی سرم انسانی قبلا سرم انسان به حیواناتی از قبیل خرگوش و اسب و یا بزغالغ تزریق میکردند تا در خون حیوان در مقابل انواع پروتئین سرم انسانی آنتی کور اختصاصی آن تشکیل گردد و از این آنتی سرم در ایمونوالکتروفورز سرم انسانی استفاده میشود.

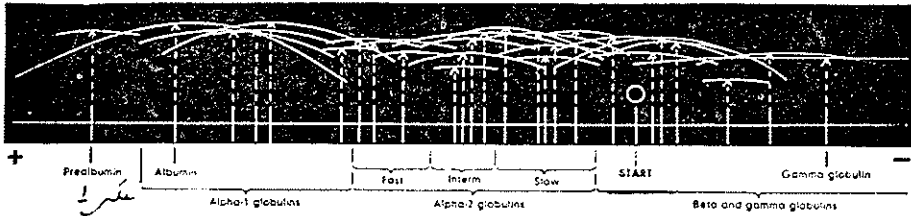


Fig. 7. Diagrammatic representation of immunoelectrophoretic pattern of a single normal human serum.

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

- ۱- p1 پیش آلبومین که دارای تریپتوفان زیادی است
- ۲- p2 پیش آلبومین که حاوی لیوپروتئین است
- ۳- Alb آلبومین
- ۴- α_1 sm آلفایک سرمو کوئید از نوع کلیکوپروتئین
- ۵- $\alpha_1 \beta_i$ آلفایک بیلی روبین کلوبولین
- ۶- $\alpha_1 L$ آلفایک لیوپروتئین
- ۷- $\alpha_1 G_1$ آلفایک کلیکوپروتئین
- ۸- $\alpha_1 \beta$
- ۹- α_1
- ۱۰- $\alpha_2 H_I$ آلفادوها پتو کلوبولین I گروه Hp1-1
- ۱۱- $\alpha_2 H_{II}$ آلفادوها پتو کلوبولین II گروه Hp2-2
- ۱۲- $\alpha_2 m$ آلفادوما کرو کلوبولین
- ۱۳- $\alpha_2 C$ آلفادوسرولوپلاسمین
- ۱۴- $\alpha_2 SM$ آلفا دو سرمو کوئید
- ۱۵- $\alpha_2 A$ آلفادو کلیکوپروتئین
- ۱۶- $\alpha_2 G$ " " " " " "
- ۱۷- $\alpha_2 L$ آلفادولیبوپروتئین
- ۱۸- $\alpha_2 J$ آلفادو کلوبولین حامل تیروکسین
- ۱۹- $\beta_1 C$ بتا یک کمپلمان (مکمل)
- ۲۰- $\beta_1 B$
- ۲۱- $\beta_1 S$ بتا یک تراسفرین حامل آهن Siderophilin
- ۲۲- $\beta_1 A$ بتا یک
- ۲۳- $\beta_1 P$ بتا یک کلیکو پروتئین دارای فعالیت پروپدین
- ۲۴- $\beta_2 X$ بتا دو ایکس دارای خاصیت آنتی کوری

۲۵ - $\beta_2 A$ دارای خاصیت آنتی کوری

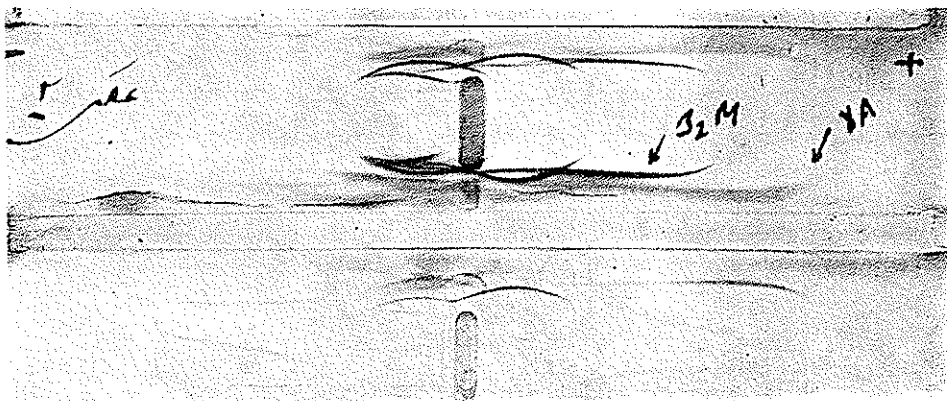
۲۶ - $\beta_2 M$ بتا دو ماکرو گلوبولین دارای خاصیت آنتی کوری

۲۷ - $\beta_2 B$ بتا دو گلوبولین مختصری آنتی کور

۲۸ - γB خاصیت آنتی کوری کم

۲۹ - γA آنتی کورهای اصلی سرم

عکس دو از يك مورد ایمونوالکتروفورز در بیمارست که گاما گلوبولین زیاد شده و مخصوصاً مانند $\beta_2 M$ خیلی فطور و طولی است و این علائم مشخص بیماری ماکرو گلوبولینمی و الداشترومات



(از کارهای بخش سرم شناسی دانشکده پزشکی)

الکتروفورز در آگارزل بطریقه ماکروتامپون و رونال سدیک $PH = 8,2$ ولتاژ ۹۰ ولت / ۵ ساعت آنتی سرم انسانی تهیه شده در بزغاله مدت دیفوزیون یک هفته رنگ آمیزی با آروکارمین

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