دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، گروه ایمنی شناسی پزشکی	
گردآورنده: کارشناسان آزمایشگاه ایمونولوژی	**عنوان دوره:** ایمونولوژی عملی ویژه دانشجویان پزشکی عمومی
تاریخ بازنگری: ۹۸/۴/۸	**عنوان درس:** واکنشهای رسوبی یا پرسی پیتاسیون

واکنش های رسوبی یا پرسی پیتاسیون

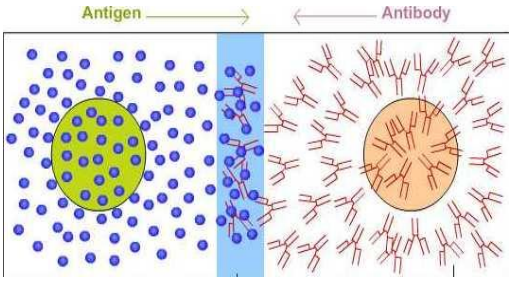
مقدمه:

هرگاه یک آنتی ژن محلول را در حضور آنتی بادی اختصاصی آن در محیط مایع یا نیمه جامد مانند آگار قرار دهیم مولکولهای این دو پس از رسیدن به هم و تشکیل کمپلکس، واکنش رسوبی ایمنی یا ایمونو پرسی پیتاسیون (Immunoprecipitation) ایجاد می کنند.

براساس اینکه در ژل فقط یکی از مولکولها (آنتی ژن یا آنتی بادی) یا هردو مولکول به طرف یکدیگر انتشار پیدا کنند دو روش وجود دارد:

۱-انتشار یک طرفه شعاعی SRID(Single Radial Immuno Diffusion) یا روش Mancini

یک آزمایش کمی است که در آن یکی از دو مولکول آنتی ژن یا آنتی بادی را در آگار مخلوط کرده و ثابت می گیرند و مولکول دیگر را در حفره ای که در آگار مزبور ایجاد کرده اند می ریزند. مولکول داخل حفره با انتشار و نفوذ شعاعی در آگار به ناحیه تعادل رسیده و با مولکول دیگر واکنش پرسی پیتاسیون نشان می دهد. بنابراین فقط یکی از مولکولها (Single) به طور شعاعی (Radial) در آگار نفوذ (Diffusion) می کند. در این روش خط رسوبی به صورت حلقه ای در اطراف حفره ایجاد می شود. قطره حلقه یا هاله مزبور با غلظت ماده مجهول(آنتی ژن یا آنتی بادی) متناسب است که با اندازه گیری آن و مقایسه با منحنی استاندارد می توان غلظت ماده مجهول را تعیین نمود. غالبا از SRID جهت اندازه گیری ایمونوگلوبولینهای سرم و اجزا کمپلمان استفاده می کنند.



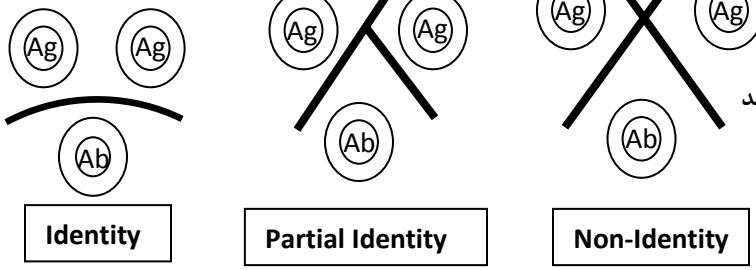
۲-انتشار دو طرفه DID(Double Immuno Diffusion) یا روش Ouchterlony

یک تست کیفی است که بر اساس نفوذ هر دو مولکول آنتی ژن و آنتی بادی در آگار استوار است. هنگامی که این دو مولکول را جداگانه در دو حفره مقابل هم در آگار بریزیم دو مولکول با انتشار شعاعی در همه جهات در آگار نفوذ می کنند و سه حالت ایجاد می کنند.

Identity: دو آنتی ژن مشابه هستند

Partial Identity:دو آنتی ژن دارای یک یا چند اپی توپ مشترک هستند

Non-Identity:دو آنتی ژن متفاوت هستند



دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، گروه ایمنی شناسی پزشکی	
گردآورنده: کارشناسان آزمایشگاه ایمونولوژی	**عنوان دوره:** ایمونولوژی عملی ویژه دانشجویان پزشکی عمومی
تاریخ بازنگری: ۹۸/۴/۸	**عنوان درس:** واکنشهای رسوبی یا پرسی پیتاسیون

روش ایمونو نفلومتری

یکی از روش های ایمونولوژیک سنجش آنتی ژن می باشد که تشکیل کمپلکس بین آنتی ژن و آنتی بادی در محیط مایع بررسی می شود. اغلب پروتئین ها را با این روش می توان اندازه گیری نمود. هرگاه مقداری از یک آنتی ژن محلول را در مجاورت مقدار متناسبی از آنتی بادی اختصاصی خود در محیط مایع قرار دهیم کمپلکس آنتی ژن-آنتی بادی در لوله آزمایش تشکیل شده و باعث کدورت می گردد. این لوله داخل دستگاه نفلومتر قرار می گیرد. در این دستگاه نور به لوله آزمایش تابیده می شود. نور پس از برخورد با کمپلکس های آنتی ژن-آنتی بادی موجود در لوله متفرق می شود. آشکار ساز دستگاه میزان نور تفرق یافته را اندازه گیری می نماید.

روش کار آزمایش SRID و رسم منحنی استاندارد:

مقدار ۵ میکرولیتر از استاندارد های ۱ و ۲ و ۳به حفره شماره ۱ و۲ و۳ بریزید.مقدار ۵ میکرولیتر از سرم مجهول به حفره شماره ۴ و ۵ بریزید. بعد از ریختن نمونه ها درب پلیت را بسته و چند دقیقه صبر نمایید تا نمونه ها جذب ژل شوند. سپس پلیت را بصورت وارونه برروی یک سطح صاف در دمای اطاق به مدت ۴۸تا۷۲ ساعت قرار دهید .پس از گذشت این زمان قطر حلقه های رسوبی را اندازه گیری کرده و با توجه به منحنی استاندارد غلظت را بدست آورید. برروی کاغذ میلیمتری محور X را غلظت و محور Y را مجذور قطر در نظر گیرید.