



تکنیک های آزمایشگاهی هورمون

مؤلف: دکتر سعید ع. آزاد معلم

متخصص بیوشیمی بالینی و هورمون شناسی

فارغ التحصیل از دانشگاه دولتی علوم پزشکی (مینسک - تهران)

عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی راجند ابل

با همکاری: دکتر عقیل تبار ملاحسن (متخصص ایمونولوژی بالینی)

دکتر امیر حسین اسماعیلی (متخصص بیوشیمی بالینی)

دکتر اعظم قربان نیا دلاور (متخصص قارچ شناسی)

ویراستار: امید خان محمدی اطا قسرا (دانشجوی دکتری تخصصی بیولوژی)



www.karpi.ir

۱۳۹۳

سرشناسه	: علی نژاد معلم، سعید، ۱۳۵۱ -
عنوان و نام پدیدآور	: تکنیک‌های آزمایشگاهی هورمون /مؤلف سعید علی نژاد معلم.
مشخصات نشر	: بابل: کاری، ۱۳۹۳.
مشخصات ظاهری	: ۱۰۲ص: مصور، جدول، نمودار.
شابک	: ۱۵۰۰۰ ریال ۰۰-۲۳-۶۹۱۳-۶۰۰۶۷۸-۹
وضعیت فهرست نویسی	: فیپا
یادداشت	: کتابنامه.
موضوع	: هورمون شناسی -- روش‌ها -- دستنامه‌های آزمایشگاهی
موضوع	: هورمون شناسی مولکولی
رده بندی کتبی	: ع ۸۱۳۹۳/۸۱۳۶۴۸ RC
رده بندی دیوین	: ۶۱۶/۴
شماره کتابشناسی ملی	: ۳۶۴۰۷۶۷



www.kapi.ir

تکنیک های آزمایشگاهی هورمون

مؤلف: دکتر سعید علی نژاد معلم - ر. شیمی بالینی و هورمون شناسی

با همکاری: دکتر عقیل تبارملاح (متخصص ایمونولوژی پزشکی)

دکتر امیر حسین اسماعیلی (متخصص بیوشیمی بالینی)

دکتر اعظم قربان نیا دلاور (متخصص فیزیولوژی)

ویراستار: امید خان محمدی اطاقسرا (دانشجوی دکتر، ر. بیوشیمیولوژی)

ناشر: کاری

نوبت چاپ: اول ۱۳۹۳ / شمارگان: ۱۰۰۰ جلد

گرافیکست: مسعود فلاح زاده

لیتو گرافی و چاپ: نیما / صحافی: ثامن

نشانی ناشر: بلوار جانبازان، خیابان تختی غربی، حر ۱۲، ساختمان آپادانا، طبقه سوم

کد پستی ۴۷۱۸۷-۴۷۴۱۶، بابل، ایران

تلفن ۳۳۳۶۶۱۲۶ - ۰۹۱۱۳۱۱۵۲۳۹ rezacharamzadeh@gmail.com

تلفن مرکز پخش: ۰۹۳۰۷۰۵۲۱۲۸

شابک: ۰۰-۲۳-۶۹۱۳-۶۰۰۶۷۸-۹

ISBN: 978-600-6913-23-0

قیمت: ۱۵۰۰۰ تومان

هر گونه استفاده از مطالب این اثر به هر شکل مستلزم کسب اجازه کتبی از مؤلف می باشد. با متخلفین طبق قانون حمایت از حقوق مؤلفین و مصنفین مصوب مجلس شورای اسلامی برخورد خواهد شد.

پیشگفتار

با دگرگونیهای شگرف دانش و فن پزشکی در چند دهه اخیر، و نیز با ابداع تجهیزات مدرن و فن‌آوری‌های نوین در زمینه هورمون‌شناسی و بخش‌های مهم دیگر آزمایشگاهی، روشهای بیشماری در زمینه تشخیص و درمان بیماری‌های مختلف پدید آمده‌اند، و نوآوری‌ها به طور گسترده‌ای در آزمایشگاههای بالینی رواج یافته‌اند، که در گذشته نه چندان دور توان انجام آنها فقط در محدودهٔ ریسسات پژوهشی متصور بود.

بهره‌گیری از نوآوری‌ها در امر درمان، در گروی توسعه و تکامل تکنولوژی آزمایشگاهی و همگام‌سازی آن با پیشرفت‌های کنونی است که پیوسته در تغییر و تکامل است و این امر آگاهی بیشتر و تجهیزات مدرن‌تر را مستلزم می‌کند.

ارتقاء سطح علمی متخصصین فنی، دقت و توانمندی آنان در بهره‌گیری از علوم و فنون جدید، مستلزم برخورداری از امکانات وسیع آموزشی و پژوهشی، و نیز رفع نیازهای تکنولوژی آنها می‌باشد، که کتب و مراجع علمی از ارکان بنیادین آنها به شمار می‌آیند. کمبود چشمگیر نشریات و کتابهای علمی به زبان فارسی و دور از دسترس بودن منابع خارجی، از عوامل بازدارنده در این امر خطیر است. در راستای نیل به همین اهداف، تهیه و گردآوری کتاب تکنیک‌های آزمایشگاهی هورمون ضروری به نظر می‌رسید.

این مجموعه که در زمینه تکنیک‌های عملی سنجش هورمون فراهم آمده، ضمن تاکید بر جنبه‌های علمی، تکنیکهای آزمایشگاهی سنجش هورمون و عوامل مختلف تاثیر گذار بر روی

آن را در آزمایشگاه، با دقت مد نظر قرار داده است تا همکاران گرامی جواب نهایی تست های هورمونی را با دقت بسیار بالا ارائه نمایند.

باید اذعان داشت که به رغم کوششهای فراوانی که از نظر رساندن درک مناسب مطالب و شیوایی بیان آن صورت گرفته، و با تمامی دقت و وسواسی که در رفع نواقص آنها به عمل آمده است، خالی از نقص نبوده، و فاصله زیادی تا نیل به اهداف کلی آن مشهود است.

امید وارم که استادان و متخصصین فن و همکاران فاضل با ارشاد و رهنمود های خود، بر من منت نهند، تا با ادامه از آن رهنمود ها در آینده ای نزدیک به رفع نواقص و تکامل بیشتر آن بپردازم "این نه آن کاری بود که می خواستم، بل آن کاری بود که توانستم". امید است که این مجموعه کوچک، بخشی از نیاز های علمی و عملی ما را در آزمایشگاه بالینی بر آورده سازد. در خاتمه از همه اساتید و همکاران عزیز که در تدوین این کتاب همکاری فراوان داشته و از بذل توجه و وقت گرانقدر خود، دریغ نسرودند، لایزال سپاسگزاری نموده و موفقیت روز افزون آنها را از خداوند متعال خواستارم.

با احترام
سعید علی زاهد معلم

فهرست مطالب

۱	 مقدمه
	فصل اول:
۳	 روشهای سنجش ایمنی
۳	 خصوصیات کلی واکنش های آنتی ژن - آنتی بادی (Ag - Ab)
	مزایای روش نشاندار کردن آنتی بادی (IMA)، نسبت به روش نشاندار کردن
۶	 آنتی ژن (IA)
	فصل دوم:
۹	 رادیوایمونواسی (RIA)
۱۰	 تفاوت های روشهای رادیوایمونواسی و الیزا
۱۱	 ایمنورادیومتریک اسی (IRMA)
۱۳	 دستگاه گاما کانتر
۱۵	 روش کار با کیت رادیوایمونواسی
۱۶	 توصیه های لازم در مواقع کار با مواد پرتوزا
	فصل سوم:
۱۷	 آنزیم ایمونواسی (ELISA)

فهرست مطالب

۱۸	اجزای مختلف کیت الایزا
۲۵	مزایای روش الایزا نسبت به روش رادیوایمونواسی
۲۵	معایب روش الایزا نسبت به روش رادیوایمونواسی
۲۵	انواع مختلف تکنیک های الایزا
۲۶	الایزای غیر مستقیم (Indirect ELISA)
۲۷	الایزای ساندویچ (Sandwich ELISA)
۳۰	الایزای رقابتی یا مهارى
	(Competitive or Blocking ELISA)
	آنزیم های رایج در کونژوکاسیون (نشانداری) کردن آنتی ژن بر آنتی بادی
۳۴	در روش الایزا
۳۴	مراحل انجام یک آزمون ELISA
	فصل چهارم:
۳۷	دستگاهها و وسایل مورد نیاز جهت انجام روشهای الایزا
۳۷	سمپلر (میکروپیپت)
۳۹	روش کار با سمپلر
۴۱	نکات عمومی مهم در نحوه کار با سمپلر

فهرست مطالب

۴۱	 شیکرالایزا (ELISA SHAKER)
۴۲	 الایزا واشر (ELISA WASHER)
۴۴	 خوانش (ELISA READER)

فصل پنجم:

۴۷	 تداخل در سنجش های ایمنی
۴۷	 متغیرها قبل از مجشر
۴۷	 متغیرهای وابسته به بیدار
۴۸	 متغیرهای وابسته به نمونه
۵۳	 راهنمای شناسایی انواع تداخلات هنگام داده با کیت الایزا

فصل ششم :

۵۹	 کمی لومی نسانس (CL)
۶۰	 اصول پایه و تعریف کمی لومینسانس
۶۲	 الکتروکمی لومینسانس (ECL)
۶۳	 اجزاء دخالت کننده و ضروری در روش ECL
۶۶	 مزایای استفاده از ECL
۶۶	 محدودیت های استفاده از ECL

فهرست مطالب

۶۷	 روش انجام تست در ECL
۶۸	 روش رقابتی در سیستم الکتروکمی لومینسانس
۷۰	 روش ساندویچی در سیستم الکتروکمی لومینسانس
۷۲	 روش پل زدن (Bridging) در سیستم
	فصل هفتم:
۷۵	 راهنمای نمونه گیری در آزمایشات هورمونی
۷۶	 نکاتی که قبل از نمونه گیری برای آزمایش های هورمونی باید توجه نمود
۸۲	 عوامل مداخله گر در تغییر بینر نمونه ها
۸۳	 عوامل مداخله گر در مورد انواع هورمون ها
۹۳	 منابع

مقدمه

روشهای سنجش مولکول ها در علوم زیستی، یکی از مهمترین شاخه های تحقیقاتی به شمار می آید. در برخی از موارد نقاط عطفی در این میان پدید می آید بدین صورت که، روش ارائه شده مورد آزمایش قرار می گیرد و تا رسیدن به جواب نهایی، روشی جدید و نو دیگری ارائه می گردد؛ و هر بار تحقیقات تازه ای، در جهت اصلاح و بهبود روش قبلی ادامه می یابد. بدیهی است که هر روش محاسن و معایب خاص خود را دارا می باشد و با توجه به این ویژگی ها، روش ها گسترش یافته و یا محدود می شوند. گاهی روشهای جدید الزاما جایگزین روش های قبلی نیستند، بلکه به موازات آنها از محدودیت های موجود می کاهند.

در ابتدای نیمه دوم قرن بیستم محصلین سیستم ایمنی همورال (آنتی بادی ها) یکی از نقاط مورد بحث را به وجود آوردند. آنتی بادی ها با اتصال اختصاصی به مولکولی که بر ضد آن تهیه شده اند، به عنوان ابزاری برای سنجش های اختصاصی و سریع در اختیار محققان قرار گرفتند. روش هایی که از آنتی بادی ها، به عنوان شناساگر به هم می گیرند را روش های **سنجش ایمنی (IA) (Immunoassay)** نامیده می شود.

تمامی سنجش های ایمنی بر اساس واکنش تعادلی و غیر کروماتوگرافیک بین ایمونوگلوبولین و آنالیت ها بنا شده اند. بر هم کنش آنتی بادی با آنالیت عمدتاً از نوع همبستگی و واندروالس می باشد، این بر هم کنش ناشی از مکمل بودن شکل فضایی ناحیه متغیر آنتی بادی با بخشی از ساختمان آنالیت می باشد. اغلب آنتی بادی ها که در سنجش های ایمنی بکار می روند از نوع **IgG** هستند. بر هم کنش میان آنالیت و آنتی بادی ها، فیزیکی است؛ یعنی تغییر شیمیایی در ساختمان آنالیت یا آنتی بادی بوجود نمی آید. به هر حال واکنش ویژه میان آنالیت و آنتی بادی اساس کلیه روش های سنجش ایمنی می باشد.

اولین مرحله در این نوع سنجش ها شناسایی یک مولکول خاص می باشد. این عمل توسط یک آنتی بادی مشخص انجام می پذیرد. به عبارتی جزء لاینفک هر سنجش ایمنی، میان کنش بین آنتی ژن و آنتی بادی ($Ag - Ab$) می باشد.

www.ketab.ir