



فلوسیتومتری: اساس، کاربرد و رفع خطاهای رایج

مؤلفان

دکتر آمینا کریسیا (عضو هیئت علمی دانشگاه بریتیش کلمبیا کانادا)

بهناز قره گزلو (عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی ایران)

دکتر حمید مباحثی (عضو هیئت علمی دانشگاه تهران)

دکتر سوسن کبودانیان اردستان (عضو هیئت علمی دانشگاه تهران)

دکتر طوبی غضنفری (عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های ایمنی دانشگاه شاهد)



انتشارات دانشگاه شاهد (۱۳۴)

سرشناسه	: کریمی‌نیا، آمینا، ۱۳۳۹-
عنوان و نام پدیدآور	: فلوسیتومتری: اساس، کاربرد و رفع خطاهای رایج / مؤلفان: آمینا کریمی‌نیا ... [و دیگران]
مشخصات نشر	: تهران: دانشگاه شاهد، مرکز چاپ و انتشارات، ۱۳۹۳.
مشخصات ظاهری	: ۲۰۵ ص، مصور (رنگی).
شابک	: ۹۷۸-۶۰۰-۶۱۲۱-۲۸-۴
وضعیت فهرست‌نویسی	: فیا.
یادداشت	: مؤلفان: آمینا کریمی‌نیا، بهناز قره‌گزلو، حمید مباحثی، سوسن کبودانیان اردستانی، طوبی غضنفری.
یادداشت	: کتابخانه: ص. ۲۱۹-۲۳۰.
موضوع	: سیتومتری
موضوع	: فلوسیتومتری—کاربرد تشخیصی
شناسه افزوده	: دانشگاه شاهد، مرکز چاپ و انتشارات
رده‌بندی کنگره	: ۱۳۹۳ ف۸۴۰ QH۵۸۰
رده‌بندی دیویی	: ۶۱۶/۰۷۵۸۲
شماره کتابشناسی ملی	: ۳۴۵۹۸۹۰



سازمان اسناد و کتابخانه ملی
جمهوری اسلامی ایران

فلوسیتومتری: اساس، کاربرد و رفع خطاهای رایج

تألیف	: آمینا کریمی‌نیا و همکاران
تعداد	: ۱۰۰۰ نسخه
نوبت چاپ	: اول ۱۳۹۳
قیمت	: ۱۵۲۰۰۰ ریال
نشانی ناشر	: تهران، ابتدای آزادراه خلیج فارس، روبه‌روی حرم مطهر امام خمینی (ره)، معاونت پژوهش و فناوری، مرکز چاپ و انتشارات دانشگاه شاهد

فهرست مطالب

عنوان

صفحه

مقدمه

فصل اول: مبانی دستگاه فلوسیتومتر	۱
۱- ساختمان داخلی دستگاه فلوسیتومتر	۵
۱-۱- سیستم سیال	۷
۱-۱-۱- محفظه جریان یا نازل	۸
۱-۱-۲- تمرکز هیدرولیک نامیکی	۱۰
۱-۱-۳- مشخصه‌های جریان مایه مرکزی	۱۲
۱-۲- سیستم نوری و آشکارسازها	۱۳
۱-۲-۱- منبع نور	۱۳
۱-۲-۱-۱- نور پراکنده شده به جلو (FSC)	۱۵
۱-۲-۱-۲- نور پراکنده شده به اطراف (SSC)	۱۵
۱-۲-۲- فیلترها	۱۶
۱-۲-۲-۱- فیلترهای ثابت یا عبوری	۱۷
۱-۲-۲-۲- فیلترهای دیکروئیک	۱۷
۱-۲-۳- آشکارسازها	۱۸
۱-۲-۳-۱- تقویت کننده مقاومت ظاهری	۲۰
۱-۲-۳-۲- ذخیره و بازیابی کننده خط پایه	۲۱
۱-۲-۳-۳- مجزایگر یا تریگر	۲۲
۱-۲-۳-۴- خصوصیات پالس: ارتفاع قله و سطح زیر منحنی	۲۴
۱-۲-۳-۵- انتگرال گیر	۲۴
۱-۲-۳-۶- آشکارسازی همزمان	۲۵
۱-۳- بخش الکترونیک	۲۵
۱-۳-۱- مدار ثبت داده‌ها (Peak Sample-and-Hold)	۲۶
۱-۳-۲- تبدیل کننده سیگنال آنالوگ به دیجیتال	۲۷
۱-۳-۳- مدار همزمان سازی	۲۷

- ۲۸-۳-۱- تبدیل لگاریتمی.....
- ۲۹- جداسازی الکترواستاتیک سلول.....

۳۳- فصل دوم- اصول فلورسانس.....

- ۳۵- فلوروکرومها و نور.....
- ۳۶- ۱-۱- قانون جابه‌جایی شعاعی استوکس.....
- ۳۸- ۲- انواع فلوروکرومها.....
- ۴۰- ۱-۲- رنگ‌های اتصال یا تاندم.....
- ۴۱- ۲-۲- کوانتوم دان.....
- ۴۴- ۳- ماکزیمم جذب و نشر فلورسانس.....
- ۴۵- ۴- تصحیح فلورسانس.....
- ۴۹- ۵- نحوه ترکیب فلوروکرومها.....
- ۵۴- ۵-۱- مارکرها.....
- ۵۴- ۵-۱-۱- مارکرهای اولیه.....
- ۵۴- ۵-۱-۲- مارکرهای ثانویه.....
- ۵۵- ۵-۱-۳- مارکرهای ثالثیه.....
- ۵۶- ۵-۲- طراحی چند پنل فلوروکروم مناسب.....
- ۶۰- ۶- چند روش تصحیح فلورسانس.....
- ۶۳- ۷- نکات کاربردی در تصحیح فلورسانس.....

۶۷- فصل سوم- آنالیز داده‌ها.....

- ۷۰- ۱- انواع نمودارها.....
- ۷۰- ۱-۱- نمودارهای تک پارامتری.....
- ۷۲- ۱-۲- نمودارهای دوپارامتری.....
- ۷۳- ۱-۲-۱- نمودار نقطه‌ای (Dot plot).....
- ۷۴- ۱-۲-۲- نمودار چگالی (Density).....
- ۷۵- ۱-۲-۳- نمودار کانتور (contour).....
- ۷۶- ۲- تعیین محدوده (R) و گیتینگ.....
- ۷۹- ۳- مقیاس‌گذاری نمودارها.....
- ۸۲- ۴- استفاده از نمودارها و گیتینگ در آنالیزهای چند پارامتری.....

فصل چهارم - کاربردهای فلوسیتومتری در پزشکی ۸۷

- ۱- ایمونوفلوروسانس ۹۱
- ۱-۱- شناسایی سلول های T فعال شده ۹۳
- ۱-۲- بررسی سلول های T تنظیمی (T reg) ۹۳
- ۱-۳- بررسی سلول های دندریتیک (DC) ۹۳
- ۱-۴- شمارش و بررسی عملکرد پلاکت ها ۹۵
- ۲- بررسی چرخه تقسیم سلولی ۹۸
- ۲-۱- رتبه‌بندی سلول ها ۱۰۰
- ۲-۲- کیفیت هیستوگرام DN سلول ۱۰۲
- ۳- سنجش تکثیر سلول ۱۰۳
- ۴- مرگ برنامه‌ریزی شده سلول ۱۰۵
- ۵- بررسی آنتی‌ژن‌های درون سلول ۱۱۰
- ۵-۱- شناسایی سایتوکاین‌ها ۱۱۰
- ۵-۲- شناسایی NF- κ B سیتوپلاسمی ۱۱۲
- ۶- شناسایی آنتی‌ژن‌های ترشحی و محلول ۱۱۴
- ۷- شناسایی آنتی‌بادی‌های ضد HLA در پیوند عضو ۱۱۵
- ۸- شناسایی آنتی‌ژن‌های سازگاری HLA در پیوند ۱۱۶
- ۹- نمایش شبکه پیام‌رسانی تک سلولی (SCNP) ۱۱۸
- ۹-۱- کاربرد SCNP در بیماری‌های خود ایمنی ۱۲۱
- ۹-۲- کاربرد SCNP در بیماری‌های خونی ۱۲۱
- ۱۰- پیش‌آگهی، رصد و بررسی اثر دارو در بیماری‌ها ۱۲۳
- ۱۰-۱- پیش‌آگهی (بیماری‌های بدخیمی میلیوپرولیفراتیو) ۱۲۳
- ۱۰-۲- رصد (بیماری MRD) ۱۲۳
- ۱۰-۳- بررسی اثر دارو (سرطان‌ها و پیوند اعضا) ۱۲۴

فصل پنجم - استفاده از فلوسیتومتری در بررسی‌های In vitro ۱۲۷

- ۱- آماده‌سازی سلول ها ۱۲۹
- ۲- مراحل تهیه سلول ها ۱۳۰
- ۲-۱- سلول‌های نگهداری شده در نیتروژن مایع ۱۳۰

- ۱۳۱-۲-۲- رده‌های سلولی کشت‌شده به‌صورت سوسپانسیون.....
- ۱۳۱-۲-۳- رده‌های سلولی چسبیده به ظرف محیط کشت.....
- ۱۳۱-۲-۴- سلول‌های با منشأ بافت‌های جامد لنفاوی.....
- ۱۳۲-۳- رنگ‌آمیزی سلول‌ها.....
- ۱۳۲-۳-۱- رنگ‌آمیزی ایمونوفلورسانس مستقیم.....
- ۱۳۴-۳-۲- رنگ‌آمیزی ایمونوفلورسانس غیرمستقیم.....
- ۱۳۶-۴- رنگ‌آمیزی زنجیره‌های لامبدا و کاپا در خون تام.....
- ۱۳۷-۵- رنگ‌آمیزی مایع اُنتی‌ژن‌های داخل سلولی.....
- ۱۳۷-۵-۱- تشخیص ایتوکاین‌های داخل سلولی.....
- ۱۳۹-۵-۲- شناسایی NF- κ B-پیر بلازی.....

فصل ششم- استفاده از فلوسیتومتری: بررسی‌های In vivo ۱۴۱

- ۱۴۷-۱- نشان‌دار کردن سلول‌ها.....
- ۱۴۹-۱-۱- روش‌های فلورسانس.....
- ۱۵۰-۱-۲- نشان‌دار کردن نسبی.....
- ۱۵۵-۲- اصول اولیه و روش‌های شناسایی سلول‌ها.....
- ۱۵۶-۲-۱- تصویربرداری ویدیویی بدون استفاده از مارکر.....
- ۱۵۷-۲-۲- روش فوتوترمال و فوتوآکوستیک.....
- ۱۶۰-۲-۳- مبانی شناسایی اسپکتروسکوپی.....
- ۱۶۰-۲-۳-۱- اسپکتروسکوپی رامان.....
- ۱۶۲-۲-۳-۲- اسپکتروسکوپی جذبی.....
- ۱۶۳-۲-۴- شناسایی نور انکسار یافته.....
- ۱۶۴-۳- مدل‌های حیوانی و پتانسیل‌های مطرح در انسان.....
- ۱۶۶-۴- کاربردها.....

فصل هفتم- نکات مهم و رفع خطاهای احتمالی در فلوسیتومتری ۱۷۱

- ۱۷۳-۱- انواع کنترل.....
- ۱۷۷-۲- نکات مهم و یادآوری‌های لازم.....
- ۱۷۸-۳- مشکلات مطرح و راه‌حل‌های موجود.....
- ۱۷۸-۳-۱- عدم رنگ‌گیری سلول‌ها.....
- ۱۷۹-۳-۲- عدم پاسخ آنتی‌بادی نشان‌دار با فیکواریترین (PE).....

- ۳-۳- رنگ آمیزی غیر اختصاصی سلول ۱۷۹
- ۳-۴- رنگ آمیزی ضعیف سلول ۱۷۹
- ۳-۵- شکل گیری پروفایل پراکندگی غیر معمول نور ۱۸۰
- ۳-۶- رنگ آمیزی غیر عادی (Artifact) ۱۸۰
- ۴- مثال هایی از خطاهای رایج ۱۸۰
- ۴-۱- تنظیم نامناسب ولتاژ دستگاه ۱۸۰
- ۴-۲- گیتینگ نامناسب ۱۸۲
- ۴-۳- استفاده از تیاس نامناسب ۱۸۳
- ۴-۴- اسفاد از آنتی بادی تخریب شده ۱۸۳
- منابع ۱۸۵
- واژه نامه ۱۹۵

بسمه تعالی

مقدمه

فلوسیتومتری روشی بسیار ارزشمند، دقیق، حساس و سریع برای شناسایی، شمارش و جداسازی ذرات میکروسکوپی معلق در جریانی از مایع است. این روش قادر است همزمان با عبور ذرات منفرد از میان آشکارسازها با استفاده از خصوصیات پراکنده‌سازی نور توسط سلول‌ها و نیز نشر فلورسانس، چندین پارامتر را اندازه‌گیری نماید.

امروزه فلوسیتومتری جزء لاینفکی از تحقیقات بیولوژی پایه و تشخیص بیماری‌ها است که از جمله کاربردهای این تکنیک می‌توان به شناسایی سلولی، تشخیص انواع بی‌نظمی‌های مولکولی و نقص‌های سلولی به‌صورت مندرج به‌در یک گروه از سلول‌ها اشاره کرد. از فلوسیتومتری می‌توان به‌عنوان ابزاری قوی و منحصر به فرد جهت شناسایی تخصصی بیماری‌ها در آزمایشگاه‌های کلینیکی و بخش‌های تحقیقاتی مورد استفاده کرد. همچنین این روش در تعیین پیش‌آگهی و نیز برای ارزیابی درمان بدخیمی‌ها کاربرد دارد. از آنجا که سرعت آن بسیار بالا است، در زمانی نسبتاً کوتاه، امکان تشخیص نوع بیماری بر اساس نقص مولکولی شناسایی شده در سلول، فراهم می‌گردد.

شناسایی و بررسی مولکول‌ها و آنتی‌ژن‌های سطحی و اندام‌زین سلولی، جست‌وجوی آپوپتوز و اندازه‌گیری سلول‌های آپوپتوتیک از میان مخلوطی از سلول‌ها، تعیین کمی مقدار DNA و شناسایی سلول‌های دیپلوئید نرمال در حال استراحت، شناسایی سلول‌هایی که در مرحله پیش میتوزی و یا میتوز هستند، اندازه‌گیری تعداد کروموزوم‌ها (هتزا یا ناهتزا)، تشخیص بیماری‌های بدخیم، بررسی میانکنش سلول و داروها و غیره، از جمله کاربردهای تکنیک معمول در فلوسیتومتری هستند.

در کنار کاربردهای کلینیکی ذکر شده، فلوسیتومتری می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را درباره فیزیولوژی و عملکرد سلول در تحقیقات سلولی و مولکولی بررسی کند. بر این اساس می‌توان میزان تغییر در بیان انواع ژن‌ها در حالت طبیعی و همچنین تغییرات ژنی متعاقب قرار دادن سلول در معرض شرایط مختلف شیمیایی و فیزیکی را شناسایی و بررسی کرد.

استفاده از فلوسیتومتری طی دهه‌های اخیر به علت پی بردن به کاربردهای متفاوت آن افزایش یافته و نیز ساخت دستگاه‌های کوچک‌تر، ارزان‌تر، دقیق‌تر و با کارکرد ساده‌تر مد نظر قرار گرفته است.