



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گانان

تکنیک‌های ایمونوهیستوشیمی

مولفان:

دکتر علی اکبر طاهریان

دکتر طاهره خامه چیان

دکتر طاهره مازوچی



انتشارات بوستان اندیشه

سرشناسه : طاهریان، علی اکبر، ۱۳۳۷ -
 عنوان و نام پدیدآور : تکنیک‌های ایمونوهیستوشیمی / مولفان علی اکبر طاهریان، طاهره خامه
 چیان، طاهره مازوچی؛ [به سفارش] دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کاشان.
 مشخصات نشر : سمنان : بوستان اندیشه ، ۱۳۹۱.
 مشخصات ظاهری : ۱۸۴ ص.: مصور (رنگی). جدول (رنگی).
 شابک : ۹۷۸-۹۶۴-۲۹۷۳-۱۹-۴
 وضعیت فهرست نویسی : فیبا
 یادداشت : واژه‌نامه.
 یادداشت : کتابنامه.
 یادداشت : نمایه.
 موضوع : شیمی ایمنی بافتی
 موضوع : شیمی ایمنی بافتی -
 فن شناسه افزوده : خامه چیان، طاهره، ۱۳۳۹ -
 شناسه افزوده : مازوچی، طاهره، ۱۳۴۵ -
 شناسه افزوده : دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کاشان
 رده بندی کنگره : QR۱۸۳/۴:ط۲۸۱۴۹۱
 رده بندی دیویی : ۶۱/۰۱۸
 شماره کتابشناسی ملی : ۲۸۱۲۹۸



انتشارات بوستان اندیشه

نام کتاب: تکنیک‌های ایمونوهیستوشیمی

مؤلف: دکتر علی اکبر طاهریان - دکتر طاهره خامه چیان - دکتر طاهره مازوچی

ناشر: انتشارات بوستان اندیشه ۰۹۱۲۲۳۱۶۲۹۵

چاپ و صحافی: زلال کوثر، قم

چاپ: اول، ۱۳۹۱

قیمت: ۶۰۰۰ ریال

شمارگان: ۱۰۰۰

ISBN: 978-964-2973-19-4

شابک: ۹۷۸-۹۶۴-۲۹۷۳-۱۹-۴

نشانی: سمنان - بلوار ۱۷ شهریور - روبروی پارک - کوچه ۱۹ - پلاک ۱۸۶

تلفن: ۰۲۳۱-۳۳۴۰۱۶۰ و ۰۹۱۲۲۳۱۶۲۹۵

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

۱۹	پیشگفتار
۲۲	فصل ۱
۲۳	۱-۱: هدف
۲۳	۱-۲: تاریخچه رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی
۲۶	۱-۳: فلوروفلوروم و تکنیک‌های نشاندار کردن
۳۰	۱-۴: خلاصه فصل
۳۱	فصل ۲: آنتی بادی
۳۱	۲-۱: هدف
۳۱	۲-۲: مقدمه
۳۲	۲-۳: خواص آنتی بادی‌ها
۳۲	۲-۳-۱: قابلیت انحلال آنتی بادی‌ها در محلول‌های نمکی
۳۲	۲-۳-۲: بار الکتریکی آنتی بادی‌ها
۳۳	۲-۳-۳: ساختمان کلی آنتی بادی
۳۴	۲-۳-۴: خواص اتصال آنتی بادی‌ها به آنتی‌ژن‌ها
۳۵	۲-۴: تولید آنتی بادی
۳۵	۲-۴-۱: تولید آنتی بادی‌های پلی کلونال
۳۷	۲-۴-۲: روش تهیه آنتی بادی مونو کلونال
۳۸	۲-۵: خلاصه
۳۹	فصل ۳: میکروسکوپ
۳۹	۳-۱: هدف
۳۹	۳-۲: مقدمه
۴۲	۳-۳: میکروسکوپ نوری
۴۲	۳-۳-۱: اجزای نوری
۴۴	۳-۳-۲: پایه میکروسکوپ
۴۵	۳-۳-۳: دسته میکروسکوپ

۴۵	 لوله میکروسکوپ	۴-۳-۳
۴۵	 صفحه گردان یا متحرک	۵-۳-۳
۴۵	 پیچ حرکات تند	۶-۳-۳
۴۶	 پیچ حرکات کند	۷-۳-۳
۴۶	 صفحه پلاتین	۸-۳-۳
۴۶	 پیچ طول و عرض	۹-۳-۳
۴۷	 عدسیهای چشمی و شیئی	۱۰-۳-۳
۴۸	 بزرگنمایی، یک میکروسکوپ	۱۱-۳-۳
۴۸	 چگونگی تشکیل و مشاهده تصویر	۱۲-۳-۳
۴۹	 طرز کار با میکروسکوپ	۱۳-۳-۳
۴۹	 میکروسکوپ فلئورسنت	۴-۳
۵۱	 اپتیک میکروسکوپ، فلئورسنت	۱-۴-۳
۵۲	 منبع نور تحریک کننده	۲-۴-۳
۵۴	 بخش انتخاب طول موج	۳-۴-۳
۵۸	 عدسی شیئی	۴-۴-۳
۶۲	 اتاق تاریک دیجیتال	۵-۴-۳
۶۳	 نکاتی که در خریدن میکروسکوپ	۶-۴-۳
۶۴	 در استفاده از میکروسکوپ فلئورسنت باید به چه نکاتی توجه کرد	۷-۴-۳
۶۵	 خلاصه فصل ۳	۸-۴-۳

فصل ۴: تئوری انواع روشهای ایمونوهیستوشیمی

۶۷	 هدف	۱-۴
۶۷	 روش مستقیم ایمونو هیستو شیمی	۲-۴
۶۹	 روش غیر مستقیم ایمونو هیستو شیمی	۳-۴
۷۱	 روش های ایمونو هیستوشیمی با استفاده از مواد فلئورسنت	۴-۴
۷۲	 فلئورسنس ذاتی	۱-۴-۴
۷۲	 از بین رفتن رنگ	۲-۴-۴
۷۴	 روش های ایمونو هیستوشیمی با استفاده از آنزیم و تولید رنگ	۵-۴

۷۴	۱-۵-۴ : آنزیم هورس رادیش پراکسیداز (HRP)
۷۵	۲-۵-۴ : آنزیم الکالین فسفاتاز روده گوساله (AP)
۷۶	۳-۵-۴ : سوبسترا ها و رنگ زاها
۷۸	۶-۴ : روش PAP (متد پراکسیداز آنتی-پراکسیداز) کمپلکس
۸۰	پراکسیداز ذاتی
۸۰	۷-۴ : روش الکالین فسفاتاز- آنتی الکالین فسفاتاز (APAAP)
۸۱	۸-۴ : ایمونوهیستوشیمی آویدین - بیوتین
۸۴	۹-۴ : ایمونوهیستوشیمی براساس پلیمر
۸۵	۱۰-۴ : سیستم (EPOS) Enhanced polymer one step
۸۷	۱۱-۴ : سیستم Envision
۸۸	۱۲-۴ : تکثیر تیرامید
۸۹	۱۳-۴ : روش تکثیر فلئوروسیل- تیرامید
۹۰	۱۴-۴ : روش CSA Methods From Dako از داکو
۹۱	۱۵-۴ : تکثیر تیرامید حلقوی
۹۲	۱۶-۴ : تکثیر حلقوی لوله‌ای (RCA)
۹۲	۱۷-۴ : حساسیت روشهای مختلف ایمونوهیستوشیمی
۹۳	۱۸-۴ : نتیجه گیری
۹۴	فصل ۵: دستور کار تکنیکهای ایمونوهیستوشیمی
۹۵	۱-۵ : هدف
۹۶	۲-۵ : دستور کار ایمونوفلئوروسنت سلولهای رشد داده شده بصورت تک لایه
۹۶	۱-۲-۵ : مواد مورد نیاز
۹۷	۲-۲-۵ : روش کار
۹۷	۱- کشت سلولی
۹۸	۲- فیکس کردن سلولها
۹۹	آماده کردن محفظه مرطوب
۱۰۰	۳- مرحله بلوکینگ
۱۰۱	۴- آنتی بادی اول

- ۱۰۱ ۶- آنتی بادی ثانویه
- ۱۰۱ ۷- شستشو
- ۱۰۱ ۸- مونت کردن
- ۱۰۲ ۵-۳: دستور کار ایمونوفلوئورسنت سلول‌ها بصورت سوسپانسیون
- ۱۰۲ ۵-۳-۱: مواد مورد نیاز
- ۱۰۲ ۵-۳-۲: روش کار
- ۱۰۲ ۱- شستشوی سلول‌ها
- ۱۰۳ ۲- فیکس کردن سلول‌ها
- ۱۰۳ ۳- شستشو
- ۱۰۳ ۵- آنتی بادی اولیه
- ۱۰۳ ۶- شستشو
- ۱۰۴ ۷- آنتی بادی ثانویه
- ۱۰۴ ۸- شستشو
- ۱۰۴ ۹- نگهداری لام آماده
- ۱۰۴ ۵-۴: رنگ آمیزی ایمونوفلوئورسنت مقاطع بافتی برش انجمادی
- ۱۰۴ ۵-۴-۱: مواد مورد نیاز
- ۱۰۵ ۵-۴-۲: روش کار
- ۱۰۵ ۱- شستشو
- ۱۰۵ ۲- مرحله بلوکی‌نگ
- ۱۰۵ ۳- آنتی بادی اول
- ۱۰۵ ۴- شستشو
- ۱۰۵ ۵- آنتی بادی ثانویه
- ۱۰۵ ۶- شستشو
- ۱۰۶ ۷- مونت کردن
- ۱۰۶ ۵-۵: ایمونوفلوئورسنت دوگانه مقاطع بافتی انجمادی
- ۱۰۶ ۵-۵-۱: مواد مورد نیاز
- ۱۰۷ ۵-۵-۲: روش کار

- ۱- شستشو ۱۰۷
- ۲- بلوکینگ ۱۰۷
- ۳- آنتی بادی اول ۱۰۷
- ۴- شستشو ۱۰۷
- ۵- آنتی بادی ثانویه ۱۰۷
- ۶- شستشو ۱۰۸
- ۷- مونت کردن ۱۰۸
- ۵-۶: رنگ آمیزی ایمونوفلوئورسنت مقاطع بافتی از بلوکهای پارافینی ۱۰۸
- ۵-۶-۱: مواد مورد نیاز ۱۰۹
- ۵-۶-۲: -مراحل آماده سازی مقاطع پارافینی ۱۰۹
- الف- به آب رساندن مقاطع ۱۰۹
- ب - برداشتن ماسک آنتی ژنها ۱۱۰
- ۱- حرارت دادن (روش توصیه شده) ۱۱۰
- ۲- مجاورت با پپسین ۱۱۰
- ۳- مجاورت با ساپونین ۱۱۱
- ۵-۶-۳: مراحل کار ۱۱۱
- ۱- شستشو ۱۱۱
- ۲- مرحله بلوکینگ ۱۱۱
- ۳- آنتی بادی اول ۱۱۱
- ۴- شستشو ۱۱۱
- ۵- آنتی بادی ثانویه ۱۱۱
- ۶- شستشو ۱۱۱
- ۷- مونت کردن ۱۱۲
- ۵-۷: رنگ آمیزی ایمونوپراکسیداز مقاطع بافتی انجمادی (کروموزنیک) ۱۱۲
- ۵-۷-۱: مواد مورد نیاز ۱۱۲
- ۵-۷-۲: روش کار ۱۱۲
- ۱- بلوک کردن فعالیت پراکسیداز ذاتی ۱۱۲

- ۲- شستشو ۱۱۲
- ۳- بلو کینگ ۱۱۲
- ۴- آنتی بادی اولیه ۱۱۲
- ۵- شستشو ۱۱۳
- ۶- آنتی بادی دوم (کانجوگه پراکسیداز) ۱۱۳
- ۷- شستشو ۱۱۳
- ۸- واکنش پراکسیداز ۱۱۳
- نکات مهم ۱۱۳
- ۵-۸: رنگ آمیزی ایمونوپراکسیداز مقاطع بافتی از بلوکهای پارافینی ۱۱۴
- ۵-۸-۱: مواد مورد نیاز ۱۱۴
- ۵-۸-۲: مراحل کار ۱۱۵
- الف- به آب رساندن مقاطع ۱۱۵
- ب - برداشتن ماسک آنتی ژنها ۱۱۵
- ۱- حرارت دادن (روش توصیه شده) ۱۱۵
- ۲- مجاورت با پیسین ۱۱۶
- ۳- مجاورت با ساپونین ۱۱۶
- ج- از بین بردن فعالیت پراکسیداز ذاتی بافت ۱۱۶
- رنگ آمیزی ایمونوپراکسیداز ۱۱۶
- ۵-۹: روش ایمونوپراکسیداز مقاطع بافتی انجمادی کمپلکس PAP ۱۱۷
- ۵-۹-۱: مواد مورد نیاز ۱۱۷
- ۵-۹-۲: دستور کار ۱۱۸
- ۱- شستشو ۱۱۸
- ۲- بلوک کردن فعالیت پراکسیداز ذاتی ۱۱۸
- ۳- شستشو با PBS ۱۱۸
- ۴- بلو کینگ ۱۱۸
- ۵- محلول آنتی بادی اولیه ۱۱۸
- ۶- شستشو ۱۱۸

۷- آنتی بادی ثانویه	۱۱۸
۸- شستشو	۱۱۸
۹- کمپلکس PAP	۱۱۸
۱۰- شستشو	۱۱۸
۱۱- واکنش DAB	۱۱۹
۱۰-۵: تشکیل کمپلکس آویدین- هورس رادیش پراکسیداز بیوتین دار	۱۱۹
۱۰-۱-۵: مواد مورد نیاز	۱۱۹
۱۰-۲-۵: روش کار	۱۱۹
۱۱-۵: ایمونوفلوئورسنت با استفاده از کانجوها های استرپتیدوبدین - بیوتین	۱۲۰
۱۱-۱-۵: مواد مورد نیاز	۱۲۱
۱۱-۲-۵: مراحل کار	۱۲۲
۱- شستشو	۱۲۲
۲- مرحله بلو کینگ	۱۲۲
۳- شستشو	۱۲۲
۴- آنتی بادی اولیه	۱۲۲
۵- آنتی بادی ثانویه	۱۲۲
۶- شستشو	۱۲۳
۷- محلول کانجوها فلوئور کروم- استرپتاویدین	۱۲۳
۸- شستشو	۱۲۳
۹- مونت کردن	۱۲۳
۱۲-۵: تکنیک این سیتو هیبریدیزاسیون (هیبریدیزاسیون درجا)	۱۲۳
۱۲-۵: خلاصه	۱۲۷

فصل ۶: کاربرد و اهمیت ایمونوهیستوشیمی در آزمایشگاه های تشخیصی ۱۲۸

۱-۶: هدف	۱۲۹
۲-۶: کاربرد تکنیک ایمونو هیستو شیمی در آزمایشگاه های تشخیصی پاتولوژی	۱۲۹
۳-۶: محدودیتها و مشکلات تکنیک ایمونو هیستو شیمی	۱۳۲
۴-۶: کنترل داخلی و خارجی (مثبت و منفی)	۱۳۶

۵-۶: تفسیر بیان پروتئین ها در ایمونوهیستوشیمی ۱۳۷

۶-۶: مقدار سنجی بیان نشانگر ها در ایمونوهیستوشیمی ۱۳۹

۷-۶: آنالیز نیمه کمی ۱۴۰

۸-۶: سیستم های امتیاز بندی ۱۴۱

۹-۶: آنالیز مقداری بکمک کامپیوتر ۱۴۱

۱۰-۶: چشم انداز آینده ۱۴۲

۱۱-۶: خلاصه ۱۴۴

فصل ۷: راهنمای حل مشکلات احتمالی در تکنیک ایمونوهیستوشیمی مقاطع ... ۱۴۴

مشکل ۱- مقاطع در زیر میکروسکوپ فلوروسنت خیلی ضعیف دیده می شود. ۱۴۵

مشکل ۲- شکل اسلاید بصورت دانه دار و علامت نیز بصورت دانه دار ضعیف دیده

می شود. ۱۴۵

مشکل ۳- فلوروسنت حتی در نمونه علامت دار نشده نیز دیده می شود. ۱۴۵

مشکل ۴- علامت فلوروسنت بر روی مقاطع حتی در عدم حضور آنتی بادی اولیه نیز

دیده می شود. ۱۴۶

مشکل ۵- نقاط روشن فلوروسنت بصورت غیر اختصاصی بر روی مقطع و یا بر روی اسلاید

دیده می شود. ۱۴۶

مشکل ۶- علامت های فلوروسنت به نظر اختصاصی است ولی زمینه علامت دار زیاد است

۱۴۷

مشکل ۷- علامت بدست آمده اختصاصی می باشد اما در محلی که انتظار می رفت دیده

نمی شود. یا بخشهای اضافی بصورت علامت دار دیده می شود. ۱۴۷

مشکل شماره ۸- ۱۴۷

مشکل ۹- سیگنال بصورت درخشان و خط دار در طول اسلاید دیده می شود. ۱۴۸

فصل ۸: دستور کار های ضمیمه ۱۴۹

۸-۱: استرلیزه کردن لامل ۱۴۹

۸-۲: پوشش دادن اسلاید ها با سیلین ۱۴۹

۸-۳: پوشش لام ها با محلول ژلاتین و کرومیوم پتاسیوم ۱۵۰

۸-۴: پوشش دادن اسلایدها با پلی ال لیزین ۱۵۰

- ۵-۸ : بازیابی ایی توپ آنتی ژن ۱۵۱
- ۶-۸ : آشکار سازی آنتی ژنه بروش هضم با تریپسین ۱۵۱
- ۷-۸ : نحوه آماده سازی مقاطع انجمادی ۱۵۲
- ۸-۸ : نحوه اندازگیری فعالیت پراکسیداز ذاتی مقطع بافتی ۱۵۳
- ۹-۸ : بلوکه کردن فعالیت ذاتی الکالین فسفاتاز ۱۵۳
- ۱۰-۸ : ماده ضد کمرنگ شدن فلوئورسنس ۱۵۴
- ۱۱-۸ : آزمایش کردن فلوئورسنس میکروسکوپ ۱۵۴
- ۱۲-۸ : روش تهیه سوپسترا برای توسعه الکالین فسفاتاز ۱۵۵
- برای ایجاد محصول نهایی قرمز پایدار دائمی ۱۵۵
- ۱۳-۸ : ضمیمه دستور ساخت محلولهای مورد نیاز در ایمونوهیستو کمبستری ۱۵۶
- ۱-۱۳-۸ : محلول بافر ۱۰ X Phosphate- Buffered Saline (PBS 10X) ۱۵۸
- ۲-۱۳-۸ : محلول TBST 10X ۱۵۸
- ۳-۱۳-۸ : محلول کاری TBST (1X) ۱۵۸
- ۴-۱۳-۸ : محلول TBS ۱۵۸
- ۵-۱۳-۸ : محلول Tris-cl 1M (یک لیتر) ۱۵۹
- ۶-۱۳-۸ : محلول EDTA 0.5 M با PH 8 ۱۵۹
- ۷-۱۳-۸ : محلول پارافرمالد هاید ۲٪ (برای ۱۰۰ میلیلیتر) ۱۵۹
- ۸-۱۳-۸ : پارافرمالد هاید ۴٪ در PBS (۱۰۰ میلیلیتر) ۱۶۰
- ۹-۱۳-۸ : محلول استرپتویدین 1mg/ml ۱۶۰
- محلول استرپتویدین با PH ۷/۲ ۱۶۰
- ۱۰-۱۳-۸ : محلول بلوک کردن (محلولهای اتصال غیراختصاصی آنتی بادی) ۱۶۱
- ۱۱-۱۳-۸ : محلول شستشو ۱۶۱
- ۱۲-۱۳-۸ : محلول ضد بیرنگ شدن فلوئورسنس ۱۶۱
- ۱۳-۱۳-۸ : محلول رقیق کردن آنتی بادی ۱۶۲
- ۱۴-۱۳-۸ : بافر رقیق کردن آنتی بادی اولیه کانجوگه شده HRP ۱۶۳

۸-۱۳-۱۵ : محلول رقیق کردن الکالین فسفاتاز - استرپتاویدین (AP-streptavidin)

۱۶۳

۸-۱۳-۱۶ : محلول رقیق کردن رنگهای فلئورسنت ۱۶۳

۸-۱۰-۱۷ : محلول رقیق کردن آنتی بادی ثانویه ۱۶۴

۸-۱۳-۱۸ : محلول کانجوگه استرپتیویدین - پراکسیداز ۱۶۵

..... ۱۶۵ محلول ذخیره

..... ۱۶۵ محلول آماده کار

۸-۱۳-۱۹ : محلول استرپتاویدین ۱۶۵

۸-۱۳-۲۰ : محلول افزایش نفوذپذیری ۱۶۶

۸-۱۳-۲۱ : محلول تولید رنگ $DAB / NiCl_2$ ۱۶۶

www.ketaboo.ir

لیست شکل ها:

- شکل شماره ۱: نمودار نشان دهنده طول موج های تحریک کننده فلوئور کروم و تابشی ۲۶
- شکل شماره ۲: نمودار نشان دهنده طول موج تحریکی و تابشی فلوئور کروم FITC.. ۲۷
- شکل شماره ۳: بطور شکل شماتیک مناطق مختلف در ساختمان کلی آنتی بادی را نشان می دهد. ۳۳
- شکل شماره ۴: محل اتصال آنتی ژن به آنتی بادی را نشان می دهد. ۳۴
- شکل شماره ۵: مراحل تولید آنتی بادی کلونال را بصورت شماتیک نشان می دهد. ۳۶
- شکل شماره ۶: مراحل تولید آنتی بادی مونو کلونال را بصورت شماتیک نشان می دهد. ۳۷
- شکل شماره ۷: اجزای یک میکروسکوپ معمولی را نشان می دهد. ۴۰
- شکل شماره ۸: طرح شماتیک و مقطع یک نمونه کندانسور را نشان می دهد. ۴۳
- شکل شماره ۹: اجزای یک میکروسکوپ نوری دو چشمی را نشان می دهد. ۴۶
- شکل شماره ۱۰: یک طرح شماتیک و یک مقطع از عدسی چشمی و شیئی را نشان می دهد. ۴۷
- شکل شماره ۱۱: اجزا یک میکروسکوپ فلوئورسنت را بصورت شماتیک نشان می دهد. ۵۰
- جدول شماره ۱: لیست تعدادی از انواع فعلی عدسی های شیئی و مشخصات ویژه آنها را نشان می دهد. ۶۰
- شکل شماره ۱۲: شکل شماتیک روش مستقیم ایمونوفلوئورسنت را نشان می دهد. ۶۸
- شکل شماره ۱۳: شکل شماتیک روش ایمونوفلوئورسنت مستقیم بکمک آنتی بادی نشاندار با یک آنزیم را نشان می دهد. ۶۸
- شکل شماره ۱۴: بطور شماتیک اتصال کمپلکس آنتی بادی ثانویه نشاندار با آنزیم (HRP) و آنتی بادی اولیه در روش غیر مستقیم به آنتی ژن را نشان می دهد. ۷۰
- شکل شماره ۱۵: بطور شماتیک اتصال کمپلکس آنتی بادی ثانویه نشاندار با فلوئور کروم و آنتی بادی اولیه در روش غیر مستقیم به آنتی ژن را نشان می دهد. ۷۰
- شکل شماره ۱۶: تکنیک کمپلکس پراکسیداز-آنتی پراکسیداز (PAP) را نشان می دهد. ۸۰
- شکل شماره ۱۷: روش ایمونو هیستو شیمی بروش مستقیم با استفاده از سیستم آویدین بیوتین را نشان می دهد. ۸۳

- شکل شماره ۱۸: روش ایمونو هیستو شیمی بروش مستقیم با استفاده از سیستم استراپتیویدین- بیوتین را نشان می‌دهد. ۸۴
- شکل شماره ۱۹: نشان دهنده شماتیک تکنیک ایمونو هیستو شیمی بروش مستقیم با استفاده از پلیمر می‌باشد. ۸۵
- شکل شماره ۲۰: نشان دهنده شماتیک تکنیک ایمونو هیستو شیمی بروش غیر مستقیم با استفاده از پلیمر می‌باشد. ۸۶
- شکل شماره ۲۱: تکنیک ایمونو هیستو شیمی تکثیر تیرامید را بصورت شماتیک نشان می‌دهد. ۸۹
- شکل شماره ۲۲: تصویر یک نحوه قرار دادن لامل در بشقاب کشت سلولی برای رشد سلول بر روی آن را نشان می‌دهد. ۹۷
- شکل شماره ۲۳: تصویر میکروسکوپی سلول‌های کشت داده شده بر روی یک لامل را نشان می‌دهد. در لامل (الف) حدود ۸۰٪ و در لامل (ب) حدود ۶۵٪ سطح دارای پوشش سلولی می‌باشد. ۹۸
- شکل شماره ۲۴: دو نمونه محفظه مرطوب کوچک که با استفاده از بشقاب‌های کشت سلولی ساخته شده است و نحوه جابجا کردن لامل‌ها به کمک پنس را نشان می‌دهد. ۱۰۰
- شکل شماره ۲۵: یک نمونه سلول‌های NIH 3T3 را که با آنتی بادی ضد "پروتئین حرارتی ۹۰ (Hsp90)" رنگ آمیزی ایمونو فلوترسنت گردیده است را نشان می‌دهد. ۱۰۲
- شکل شماره ۲۶: رنگ آمیزی دو گانه ایمونو هیستو شیمی سلول‌های فیبرو بلاست موش (NIH3T3) را نشان می‌دهد. این سلول‌ها قبلاً با یک پلاسمید حاوی (cDNA) پروتئین حرارتی ۹۰ علامت دار شده با پرچم (HA) آلوده شده اند. رنگ قرمز برای نشان دادن علامت پرچم HA و رنگ سبز، پروتئین حرارتی ۹۰ را نشان می‌دهد. ۱۰۸
- شکل شماره ۲۷: شکل شماتیک ایمونو هیستو شیمی بروش PAP را نشان می‌دهد. ۱۱۷
- شکل شماره ۲۸: آنتی بادی ثانویه کانجوگه شده با آویدین و اتصال استراپتیویدین‌های متصل به فلئوئوروم به کمپلکس آنتی زن-آنتی بادی. ۱۲۲
- شکل شماره ۲۹: بیان زن پروتئین حرارتی ۷۰ در منطقه سومایت جنین یک مدل حیوانی مهره دار در شرایط کنترل و پس از شوک حرارتی را که بکمک تکنیک این سیتو هیبریدیژاسیون رنگ آمیزی شده است را نشان می‌دهد. ۱۲۶

جدول شماره ۲- مولاریته، وزن مخصوص اسیدها و بازهای غلیظ تجاری..... ۱۵۷
جدول شماره ۳: شرایط نگهداری محلول ذخیره کانجوگه استرپتاویدین هورس رادیش پر
اکسیداز را نشان می‌دهد. ۱۶۵

www.ketab.ir

لیست جداول:

- جدول شماره ۱: لیست تعدادی از انواع فعلی عدسی‌های شیئی و مشخصات ویژه آنها را نشان می‌دهد. ۶۰
- جدول شماره ۲: مولاریته، وزن مخصوص اسیدها و بازهای غلیظ تجاری ۱۵۷
- جدول شماره ۳: شرایط نگهداری محلول ذخیره کانجوگه استرپتاویدین هورس رادیش پر اکسیداز را نشان می‌دهد. ۱۶۵

پیشگفتار

تکنیک ایمونوهیستوشیمی به معنی جستجوی آنتی ژن‌های بافتی و یا سلولی می‌باشد. این آنتی ژن‌ها می‌توانند از نوع امینواسیدها، پروتئین‌ها، عوامل عفونت‌زا و یا جمعیت‌های بخصوص سلولی باشند [۱]. ایمونوهیستوشیمی یک اصطلاح کلی می‌باشد که بسیاری از روش‌ها را که از آنتی بادی برای شناسایی آنتی ژن (اجزاء بافتی) استفاده می‌شود را پوشش می‌دهد. اگر این تکنیک برای نمونه‌های سلولی استفاده شود به آن ایمونوسیتوشیمی گفته می‌شود اصطلاحی که بعضی از مولفین برای تمام موارد شناسایی آنتی ژن‌های سلولی استفاده می‌کنند حتی اگر در نمونه بافتی باشد.

آقای آلبرت کونز [۲] و همکاران اولین گروهی بودند که آنتی‌بادی‌ها را با رنگ فلوئورسنت نشاندار کرده و به کمک آن آنتی‌ژن را در مقاطع بافتی شناسایی نمودند. کاری که آقای رابرت کونز در سال ۱۹۴۱ در ایمونوهیستوشیمی شروع کرد، اکنون در تمام علوم تحقیقاتی و بالینی گسترش پیدا کرده است. ایمونوهیستوشیمی یک روش توصیفی نیست بلکه تصاویری که با این

روش به دست می آید در واقع نمایانگر شرایطی است که در شرایط In Vivo در بافت یا سلول رخ می دهد، لذا این تکنیک یکی از رکن های تحقیقات بیومدیkal می باشد امروزه تکنیک ایمونوهیستوشیمی بعنوان یک ابزار مهم در شناسایی بیومارکر ها در کارهای تحقیقاتی و آزمایشهای بالینی استفاده می شود. در چند دهه گذشته یک افزایش تصاعدی در استفاده از ایمونوهیستوشیمی و ایمونوسیتوشیمی در مقالات منتشر شده ایجاد شده است (شکل ۱). این مقالات در زمینه های بیولوژی سلولی، ملکولی، بیوشیمی، پاتولوژی، بافت شناسی، ایمونولوژی، طب داخلی و جراحی می باشد. این واقعیت منعکس کننده موقعیت ایمونوهیستوشیمی در آزمایشگاه های تحقیقاتی بخصوص آزمایشگاه های تشخیصی پاتولوژی می باشد و این یک تکنیک مهم برای تحقیقات علمی و همچنین کامل کننده آزمایش معمول آزمایشگاه های پاتولوژی (هماتوکسیلین و ائورین) می باشد.

توسعه ای که تکنیک ایمونوهیستوشیمی در پاتولوژی ایجاد کرده است به انقلاب قهوه ای^۱ معروف شده است [۳]. در مطالعاتی که در مورد تاثیر کاربرد ایمونوهیستوشیمی انجام گرفته است در مجموع اینطور نتیجه گیری شده است که در ۹۵٪ موارد، تکنیک ایمونوهیستوشیمی یک روش مکمل، کمک کننده در تشخیص بوده و در انتخاب روش درمان صحیح و کاهش هزینه ها سهم می باشد [۳].

این تکنیک شامل دو مرحله می شود. اول مرحله آماده سازی اسلاید (شامل فیکس کردن نمونه و فرآیند بافتی) و رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی. دومین مرحله شامل تفسیر و مقدارسنجی اطلاعات می گردد.

اگر چه تکنیک های جدید متعددی ابداع و معرفی شده اند ولی رایج قابل قبول فقط با حضور متخصصین ورزیده و با تجربه حاصل می شود.

این متخصصین باید با تمام جنبه های بافت شناسی آشنا بوده و آشنائی کلی به روش های قبلی را داشته باشند. در این کتاب انواع روش های ایمونوهیستوشیمی در بخش های بعدی شرح داده می شود و در نهایت در بخش دستور کار تکنیک ها، مراحل انجام تکنیک های رایج ایمونوهیستوشیمی توضیح داده خواهد شد.

در این کتاب سعی شده نحوه استفاده از ایمونو هیستو شیمی در تحقیقات و آزمایشگاه‌های بالینی ارائه گردد و از طرفی اصول تکنیک‌ها به نحوی ارائه شده که خواننده را تشویق به انجام تکنیک نماید.

از اهداف تالیف این کتاب اینست که افرادی که برای اولین بار بکارگیری تکنیک ایمونو هیستو شیمی را شروع کرده اند بتوانند از این کتاب استفاده کنند. همچنین پس از کسب تجربه و انجام تکنیک‌های پیچیده تر در صورت نیاز بتوانند برای مطالعه جزئیات بیشتر رفرنس مورد نظر را در کتاب پیدا کنند.

www.ketab.ir