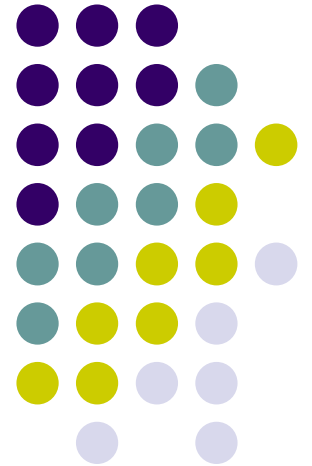


ELISA

Enzyme Linked Immunosorbent Assay

تقنية التحاليل المناعية المرتبطة

أ. نشوى شفيق عثمان
وحدة الكيمياء الحيوية المختبر المركزي

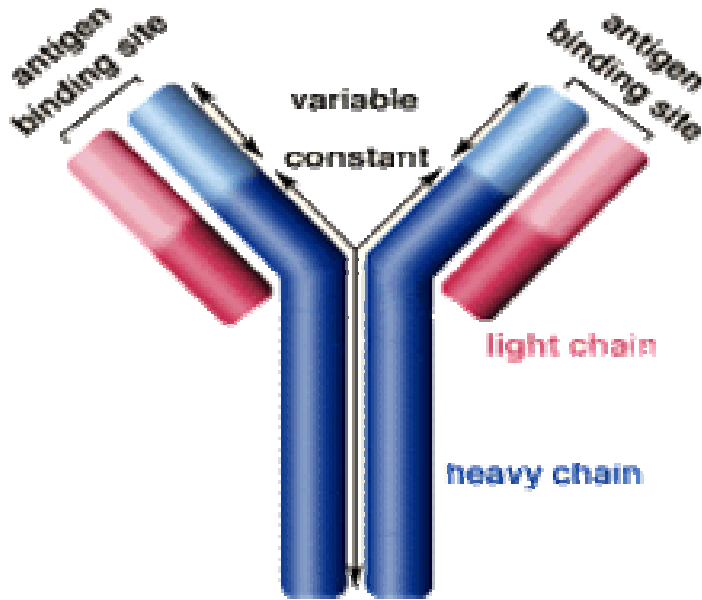




تعريفات عامة

ما هي الأجسام المضادة **Antibody**

هي مركبات موجودة ضمن الجهاز المناعي للجسم
وتصنع بشكل خاص عند تعرض الجسم لأجسام
غريبة





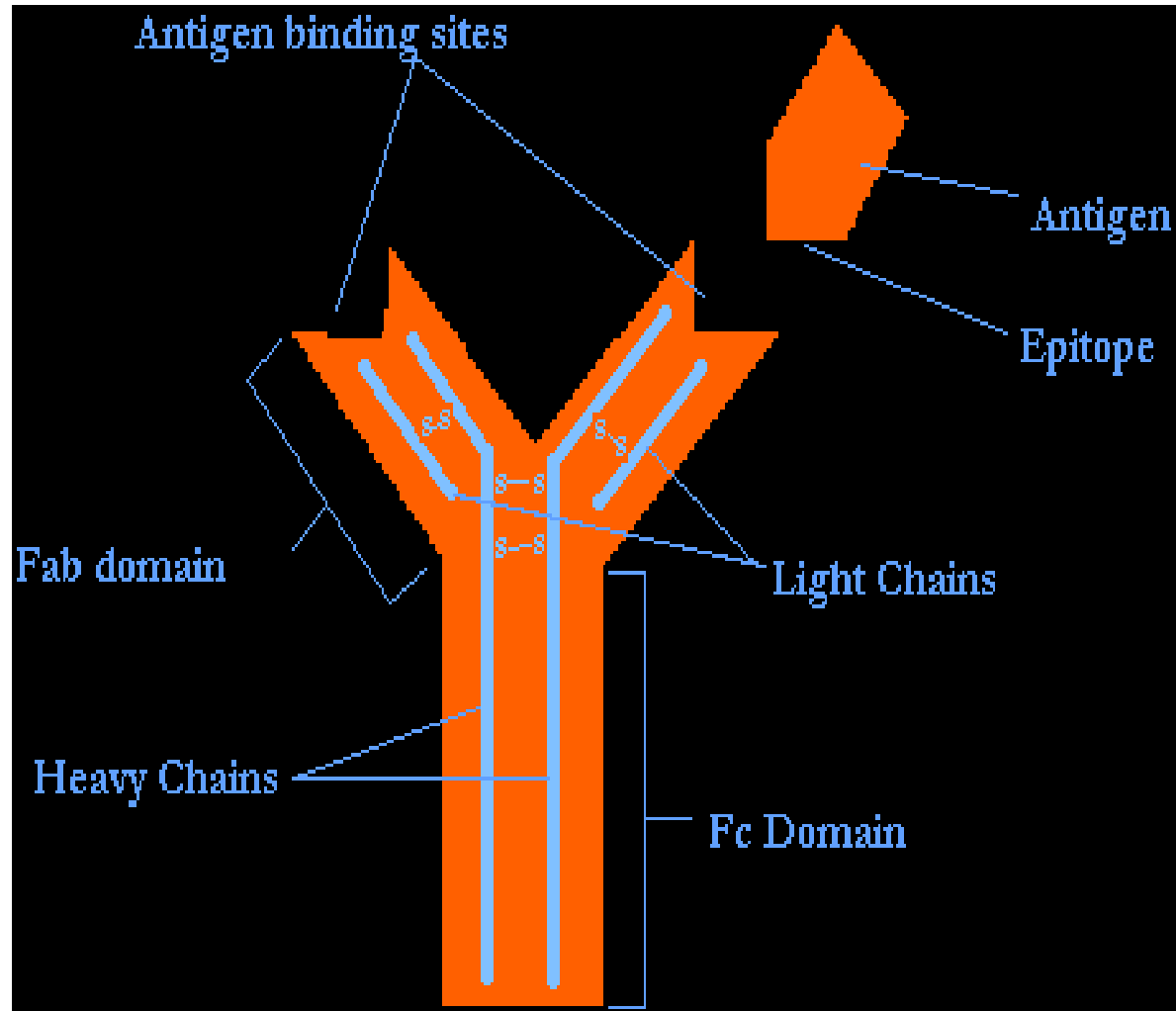
تابع- تعريفات عامة

● Antigen

هو جسم مسؤول عن اثاره الجهاز المناعي للجسم وبالتحديد اثاره الأجسام المضادة

● التحاليل المناعية Immunoassay

هي اختبارات بيوكيميائية لقياس مستوى مادة معينة في السائل الحيوي (سيرم، بول، لعاب، دموع) بواسطة ارتباط Antigen مع Antibody المخصص له

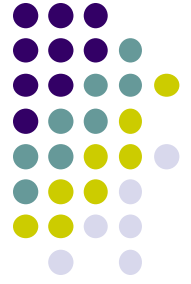


حالات Antigen



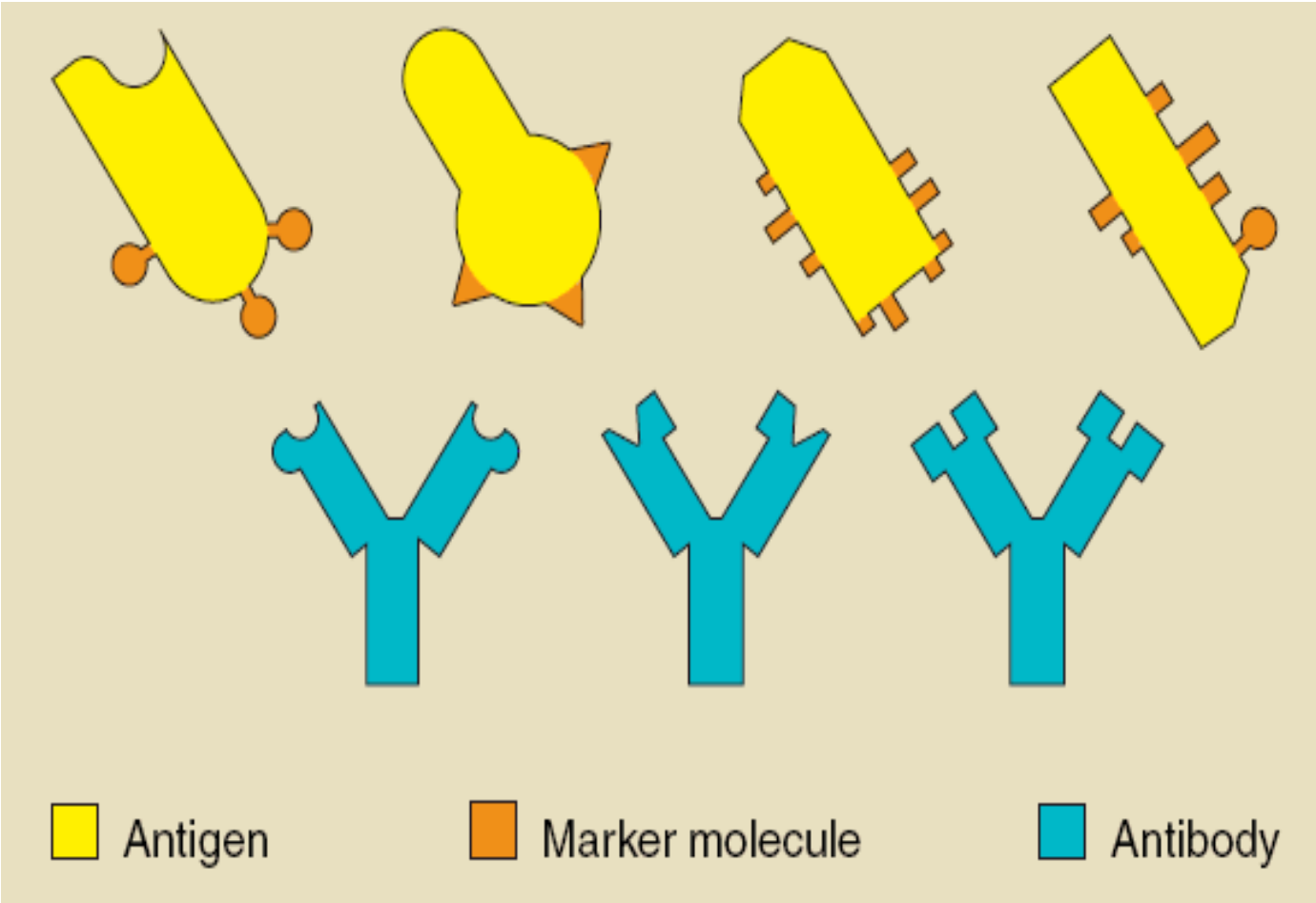
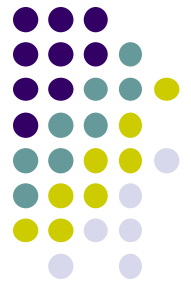
يكون Antigen إما:

- موجود في الجسم بشكل طبيعي مثل الهرمونات
- يتم تصنيعه في الجسم في حالات مرضية مثال:
هرمون HCG الذي يفرز من المشيمة بشكل طبيعي أثناء الحمل يمكن افرازه في بعض أنواع السرطانات حتى عند الرجال
- غير موجود في الأحوال العادية مثل المخدرات



مقدمة

- يتم تصنيع الأجسام المضادة Antibodies في حال التعرض لأجسام غريبة Antigens وتكون هذه الأجسام المضادة ذات تخصصية وألفة Specific Affinity للأجسام الغريبة التي أثارت تصنيعها مثل البروتينات والسكريات العديدة و الأحماض النووية



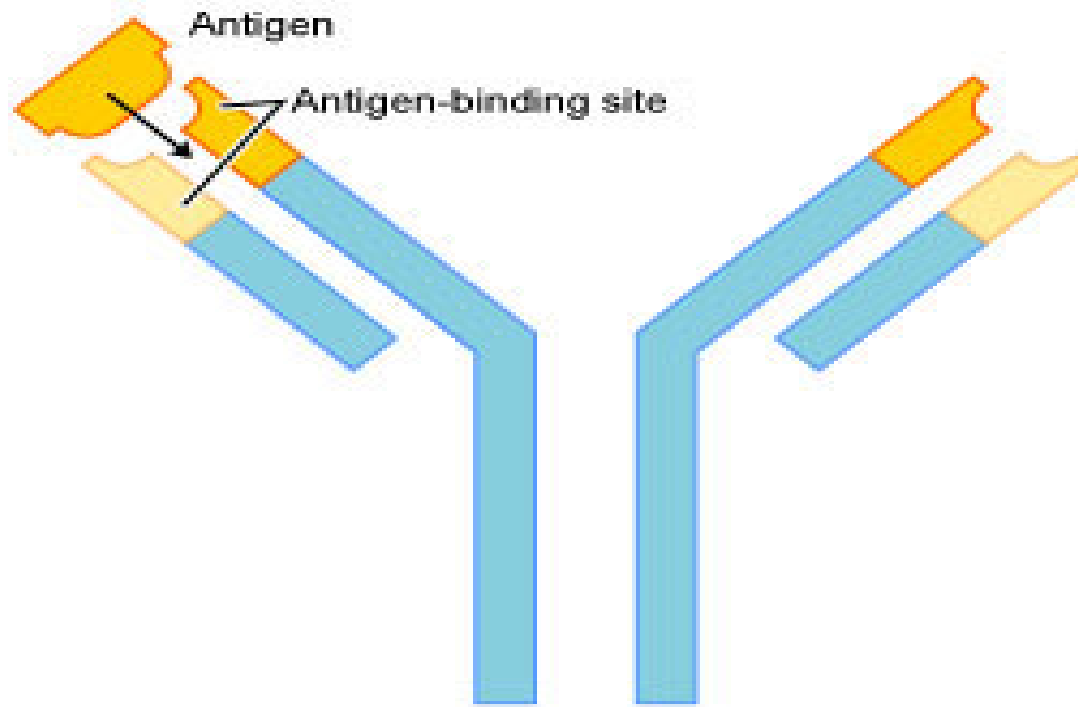
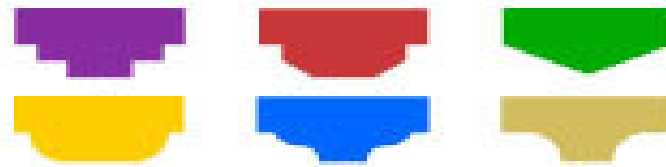


تابع- مقدمة

- تتعرف الأجسام المضادة على الجزء antigenic determinant
- يحتوي الجسم على خلايا مصنعة للأجسام المضادة



Antigens



Antibody



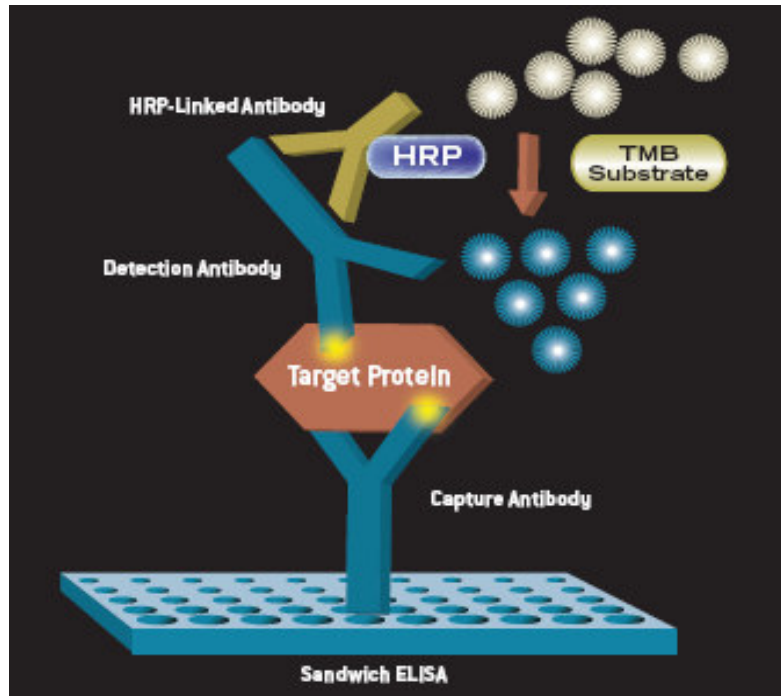
ما هي تقنية ELISA

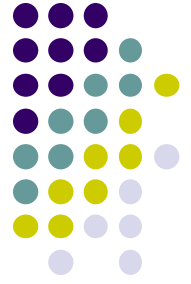
هذه التقنية تستخدم لقياس تركيز مادة جزيئية مثل الهرمونات والعقاقير في السائل الحيوي كالسيرم . هذه المادة الجزيئية تقاس عن طريق معرفة كمية الأجسام المضادة Antibody التي ارتبطت ب Antigen



Sandwich ELISA

أ- المطلوب الكشف عن Antigen وقياس تركيزه في العينة
فيكون طبق الاليزا مغطى بالجسم المضاد
Antibody

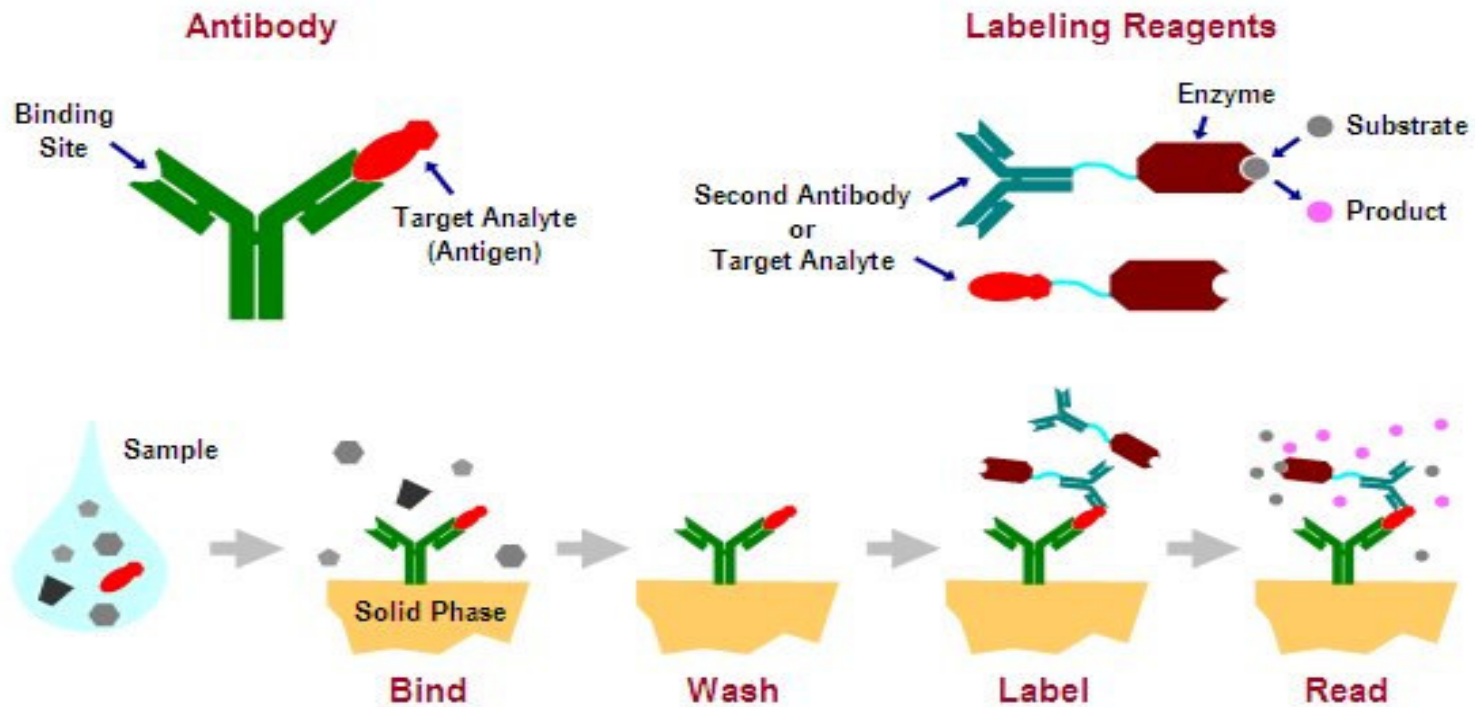




يرتبط الجسم المضاد في الطبق مع Antigen في العينة وبعد ذلك يرتبط Antigen في العينة بجسم مضاد آخر ويكون الجسم المضاد الآخر مرتبط بإنزيم ثم تضاف المادة الأساس للإنزيم ويتم حساب كمية Antigen عن طريق قياس كمية ناتج التفاعل



ELISA



مثال على طريقة عمل Sandwich ELISA



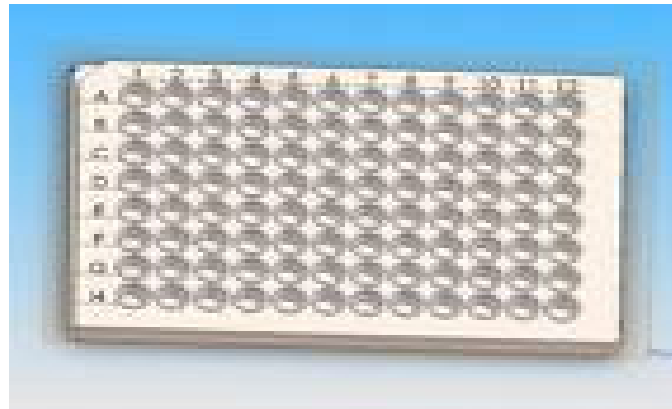
قبل الشروع في العمل يجب قراءة التعليمات بدقة
شديدة لأن أي خطأ قد يؤدي إلى فساد التجربة
وخسارة قيمة Kit وهي مكلفة جدا

نستخدم Kit (مجموعة المحاليل المستخدمة في التحاليل
المناعية) حيث أن لكل جسم مطلوب الكشف عنه
Kit مخصوص

تابع- مثال على طريقة عمل Sandwich ELISA



1- يتم ترقيم الطبق الخاص المكون من ٩٦ خانة
(wells) بدقة وتستخدم الخانات wells الأولى لرسم
المنحنى القياسي Standard curve





تابع- مثال على طريقة عمل Sandwich ELISA

٢- ثم يتم وضع العينة المراد فحصها في الطبق ويفضل تكرار كل عينة مرتين أو ثلاث مرات

Duplicate or Triplicate

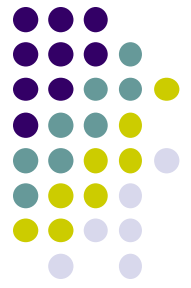
وبعد ظهور النتائج يؤخذ المتوسط

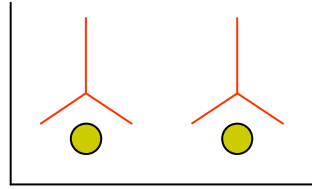
٣- تستخدم عينة ضابطة Quality control

sample وهذه العينة تأتي مع Kit (مجموعة

المحاليل) وهي ذات تركيز محدد من قبل الشركة

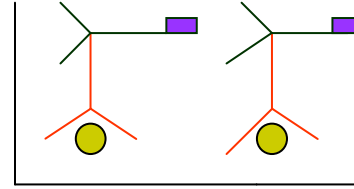
المصنعة وتعامل تماما مثل العينة المفحوصة





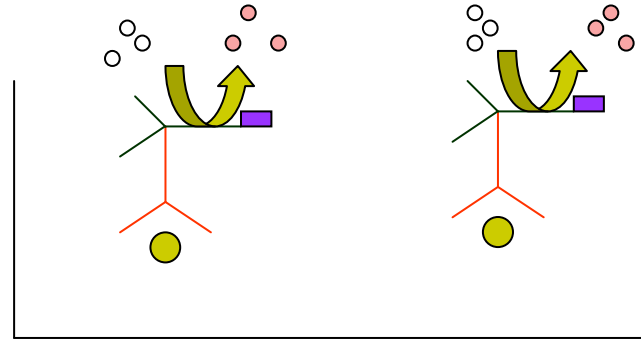
الطبق يحتوي على الجسم
المضاد مرتبط بالبروتين

اضافة الأجسام المضادة الثانية



الجسم المضاد الثاني مرتبط
بالجسم المضاد الأولي

اضافة المادة
الاساس للإنزيم



الانزيم يحول المادة الاساس الى ناتج
ملون يمكن قياس كميته ضوئيا

الجسم المضاد الثاني مرتبط
مع انزيم

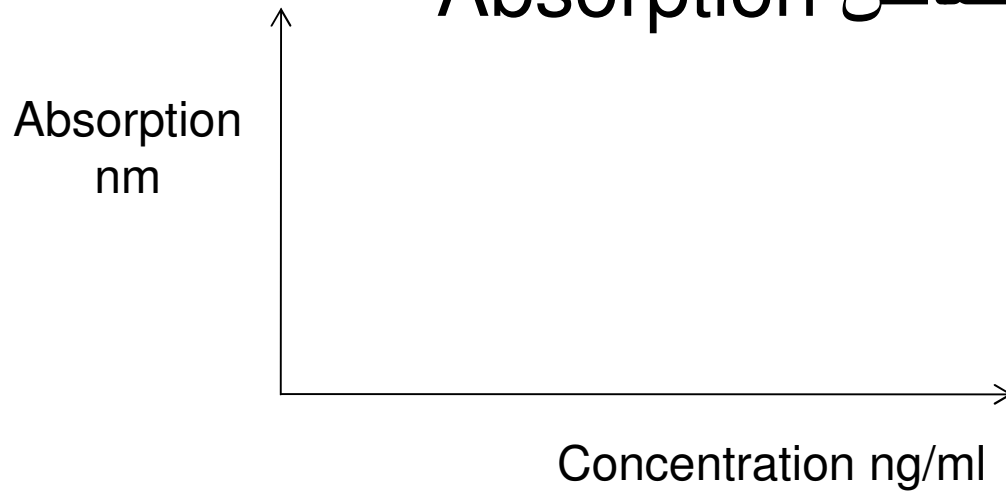
الجسم المضاد الأولي

البروتين المحدد

النتائج



بعد قراءة نتائج الامتصاص في جهاز قارئ الاليزا نقوم برسم المنحنى القياسي على ورق الرسم البياني بحيث نستخدم المحور السيني x-axis للتركيز concentration والمحور الصادي y-axis للامتصاص Absorption





تابع-النتائج

نقوم بتحديد تركيزات المحاليل القياسية standards على المنحنى السيني x-axis ثم نحدد قراءة كل محلول قياسي على المنحنى الصادي y-axis ونرسم المنحنى القياسي

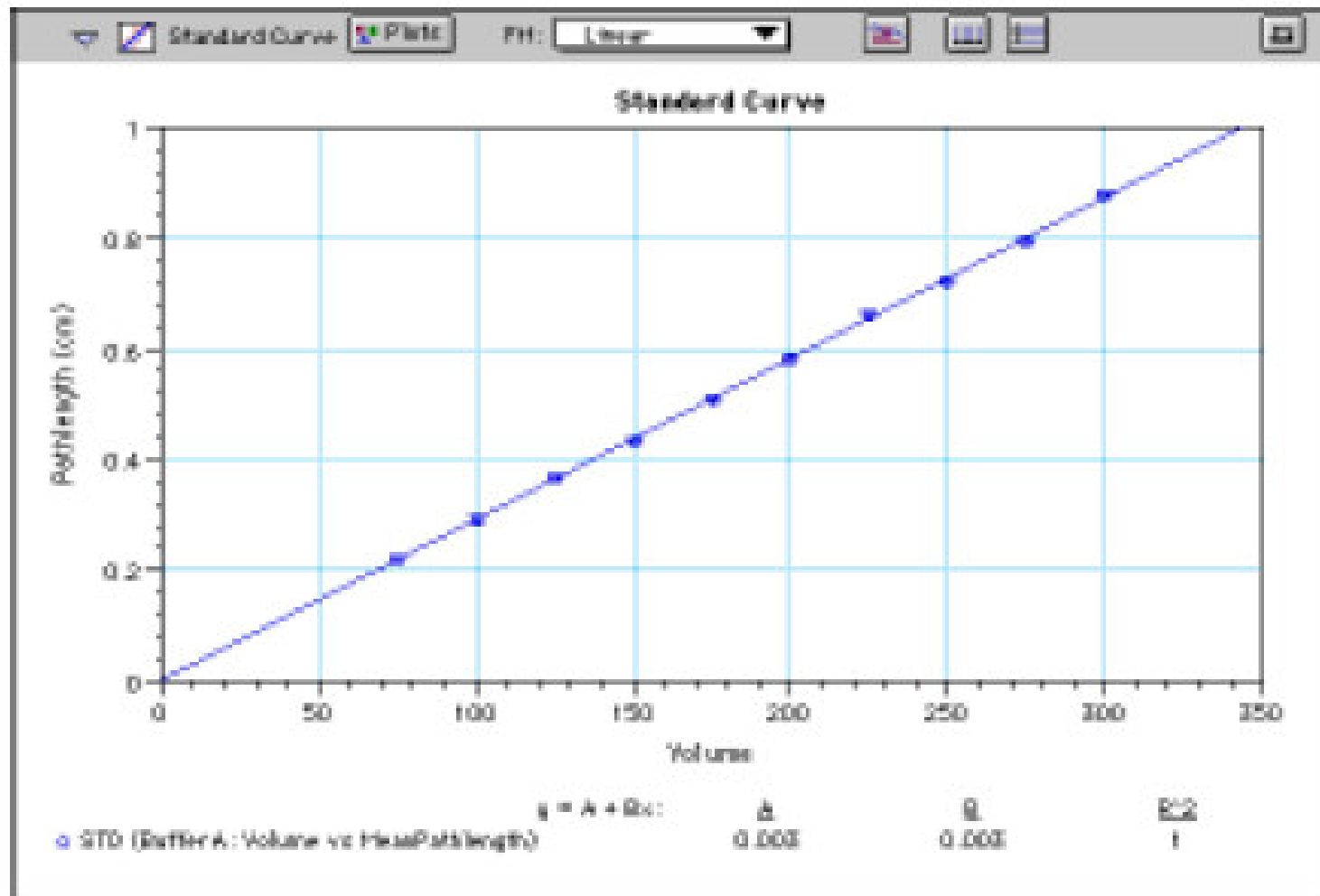
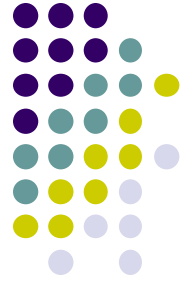
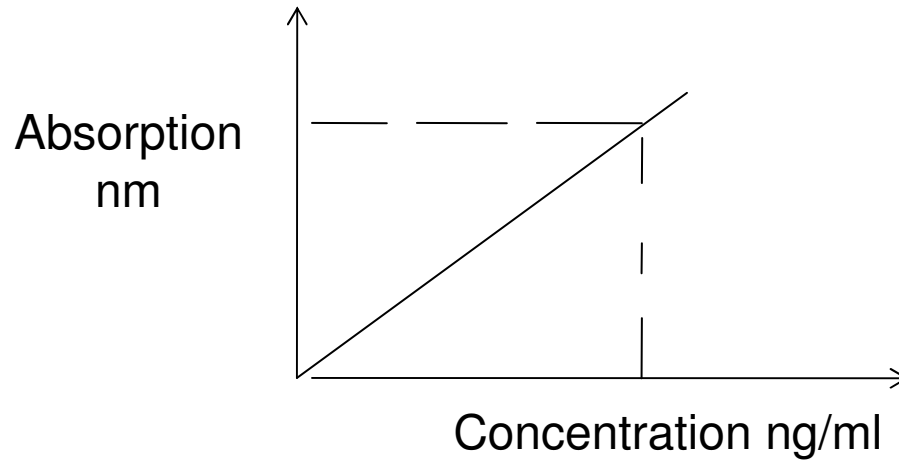


Figure 8: The calibration curve relating well volume to pathlength



تابع-النتائج

يستخدم هذا المنحنى لقياس تركيز كل عينة بحيث تأتي عند قراءة الامتصاص على المحور الصادي ونحدد النقطة المقابلة لها على المنحنى وبعد ذلك نحدد التركيز على المنحنى السيني



تابع-النتائج



نحسب تركيز العينة الضابطة من المنحنى وإذا كان في الحدود الطبيعية المحددة من الشركة المصنعة فهذا يعني أن التجربة ناجحة ويمكن اعتماد النتائج.

مواقع عرض لتقنية ELISA



- <http://www.edumedia-sciences.com/en/a543-direct-enzyme-linked-immunosorbent-assay-elisa>
- **ELISA**
- <http://www.sumanasinc.com/webcontent/animations/content/ELISA.html>
- <http://www.biology.ualberta.ca/facilities/multi-media/uploads/procedures/elisa-sound.swf>