

فلوسایتومتری: اصول اساسی و برنامه های کاربردی

فلوسایتومتری ابزاری پیچیده برای اندازه گیری چندین ویژگی فیزیکی از یک سلول منفرد می باشد، که از جمله این ویژگی ها می توان به بررسی سایز و گرانولوسیتة سلول اشاره کرد، که در سوسپانسیون سلولی در دستگاه فلوسایتومتری اندازه گیری می شود. عملکرد آن به ویژگی های امواج پراکنده شده از سلول بستگی دارد، که ممکن است از رنگ ها و یا آنتی بادی های منوکلونال ساطع شوند. این موارد گفته شده فلوسایتومتری را ابزاری مهم و مناسب برای بررسی جزئیات پیچیدگی سلول ها در مدت زمان کوتاه تبدیل کرده است. از جمله کاربردهای فلوسایتومتری می توان به ایمنوفنوتایپینگ سلول های خون محیطی، آنالیز و بررسی آپاپتوز و تشخیص سایتوکاین ها، بررسی تعداد سلول های زنده در نمونه و چرخه سلولی و... اشاره کرد.

اولین دستگاه های فلوسایتومتری تنها قادر به تشخیص سایز سلولی بوده اند، اما اکنون این دستگاه های نسبتاً پیچیده قابلیت بررسی و مشخص کردن همزمان چهارده پارامتر را باهم دارند. فلوسایتومتری قابلیت اندازه گیری ویژگی های فلئورسنتی یک سلول منفرد را دارا می باشد. سایز، گرانولوسیتة، ویژگی های فلئورسنتی سلول ها و ... که از آنتی بادی ها یا رنگ های فلئورسنتی مشتق شده ساطع می شوند و از آن ها به منظور آنالیز و تمایز سلول ها استفاده می کنند، قابل بررسی و اندازه گیری هستند. پراکندگی امواج به طور مستقیم به ساختار و ویژگی های مورفولوژیکی سلول ها بستگی دارند.

قطعات دستگاه فلوسایتومتر شامل: سیستم فلوئیدیک، سیستم اپتیک ها، سیستم الکترونی (دکتورها) و یک کامپیوتر می باشد. سیستم فلوئیدیک مسئول هدایت سوسپانسیون سلولی به منبع نوری متمرکز یا لیزر می باشد. سیستم اپتیک نور لیزر را بر روی سلول ها یا ذرات متمرکز می کند و همچنین پراکندگی نور یا نور فلئورسنتی ساطع شده از سلول ها را جمع آوری می کند و به پالس های الکتریکی تبدیل می نماید. سیستم الکترونیکی سیگنال را جمع آوری کرده و سیگنال را به اطلاعات دیجیتالی تبدیل می کند، که با شدت نور متناسب است و کامپیوتر نیز برای آنالیز اطلاعات ضروری می باشد.

فلوسایتومتری در زمینه های متنوعی بسته به آن چه که از غشاء سیتوپلاسم و آنتی ژن های سلولی ساطع می شود، مورد استفاده قرار می گیرد. علاوه بر این، تمام سلول ها و ترکیبات سلولی مثل ارگانل ها، هسته، DNA، RNA، کروموزوم ها، سایتوکاین ها، هورمون ها و ترکیبات پروتئینی نیز می توانند با فلوسایتومتری تحلیل شوند. آنالیز و بررسی تکثیر و سیکل سلولی از دیگر موارد استفاده از فلوسایتومتری هستند.

نور از کناره های سلول منعکس می شود و پس از آن که لیزر به سلول ها برخورد می کند، آن چه را که ساطع می شود، پراکندگی نور می نامند. دو نوع پراکندگی نور وجود دارد که **Side Scatter (SSC)** و **Forward Scatter (FSC)** نام دارند. فاکتورهایی که بر پراکندگی های نوری اثر می گذارند شامل غشاء، هسته، گرانولوسیتة سلول، اندازه سلول و توپوگرافی سطح سلول می باشد. به طور کلی، سایز سلول یا ذره و پیچیدگی داخل هر سلول ویژگی و نوع هر پراکندگی را مشخص می کند.

FSC متناسب با سطح سلول و یا به عبارتی سایز آن می باشد و برای مشخص کردن بهتر ذرات نسبت به سایز آن هاست و به طور رایجی در ایمنوفنوتایپینگ استفاده می شود. نور **SSC** در واقع متناسب با گرانولوسیتی یا پیچیدگی داخل سلول است.

بخش دیگر، بخش مرتب کننده سلولی الکترواستاتیک یا به عبارتی **Cell Sorting** می باشد. مرتب کننده الکترواستاتیک سلولی برای عکس برداری و جداسازی سلول ها با ویژگی هایی که ذکر شده کارایی دارد. پروب های فلئورسنتی در سطح وسیعی استفاده می شود که از جمله آن ها می توان به جمعیت های مختلف سلولی، گیرنده های سطح سلولی و یا ارگانل های داخل سلولی، ردیف و مرتب کردن سلول ها، ایمنوفنوتایپینگ، مشخص کردن محتوای نوکلئیک اسید، اندازه گیری فعالیت آنزیم و جمعیت آپاپتوزی سلولی اشاره کرد.

کاربردهای فلوسایتومتری

۱. ایمونوفلوروسانس یا شناسایی فنوتیپیک سلول‌ها به منظور تعریف یک گروه سلولی ویژه در یک جمعیت سلولی مختلف در فلوسایتومتری استفاده می‌شود (همانند سلول‌های ایمنی در خون).
۲. آنتی‌ژن‌های اختصاصی سطح سلول که به عنوان مارکرهای سلولی شناخته می‌شوند را نیز می‌توان با استفاده از آنتی‌بادی‌ها مشخص کرد.
۳. از دیگر کاربردهای فلوسایتومتری می‌توان به اندازه‌گیری سریع مسیر آپتوز و نکروز اشاره کرد. آپتوز با انواعی از تغییرات مولکولی و مورفولوژیکی شناسایی می‌شوند. یکی از اتفاقات اولیه‌ای که در آبشار آپتوز رخ می‌دهد جا به جایی در غشای پلاسمایی است، که فسفاتیدیل سرین از لایه داخلی به لایه خارجی منتقل می‌شود و این بر سختی غشاء اثر می‌گذارد.
۴. همچنین اندازه‌گیری میزان زنده‌مانی سلول نقش مهمی در همه سلول‌ها دارد. بررسی زنده‌مانی می‌تواند اطلاعاتی درباره سلول‌های زنده و مرده فراهم کند.

بنابراین با توجه به مطالب گفته شده، می‌توان گفت فلوسایتومتری یکی از بهترین روش‌ها برای تجزیه و تحلیل نمونه‌های مختلف در مدت زمان کوتاه است که اطلاعات ارزشمندی در مورد آن نمونه را به محقق می‌دهد.

از: برگرفته <https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1128876>

مجله علمی پژوهشی
روپان