

Deneysel sistemler ve yöntemler

Nefelometri – Trbidometri

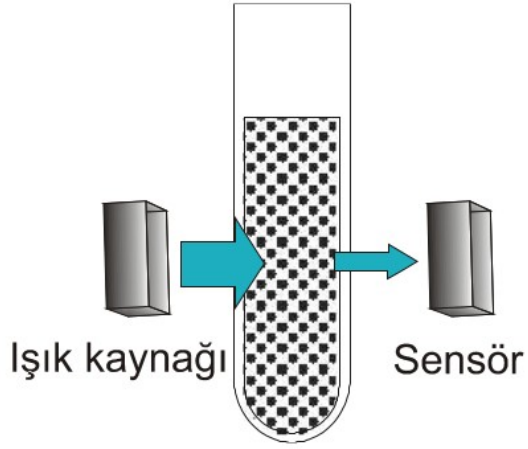
Bulanıklığın kantifikasyonu için ilk önemli deneyler 1900'lerde Whipple ve Jackson tarafından yapılmıştır. Bu araştırcılar diyatom toprağı ve silika süspansiyonlarının seri dilüsyonlarını yaparak bulanıklık standartlarını hazırlamışlardır. Geliřtirdikleri lm protokolleriyle gözle subjektif sayılabilecek okumalar yapmalarına karşın uyumlu sonuçlar elde etmişlerdir. Fotoelektrik algılayıcıların kullanıma girmesiyle ışık şiddeti elektriksel veriye dönüştürülmüş, bulanıklık ölçümünde insan faktörü ortadan kaldırılmıştır.

Bulanıklık ölçen düzenekler  tiptir:

- "Transmissive" sensörler
- "Scatter" sensörler
- Oran sensörleri

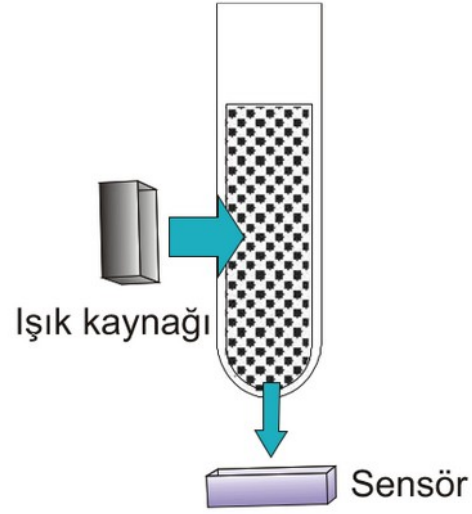
Her tipin kendine özgü avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. İlk iki sensör tipi, oran sensörlerine göre daha az elektronik ve optik bileşen içerdiğinden daha ucuzdur. Bununla birlikte oran sensörleri daha geniş bulanıklık yelpazesinde ölçüm yapabilme, sensöre ait elektriksel ve optik faktörlerden daha az etkilenme gibi üstünlüklere sahiptir. Kullanılacak sensör tipi saptanırken uygulamanın gerektirdiği duyarlılık, ölçülecek bulanıklık düzeyleri ve fiyat göz önünde tutulmalıdır.

"Transmissive" sensörler



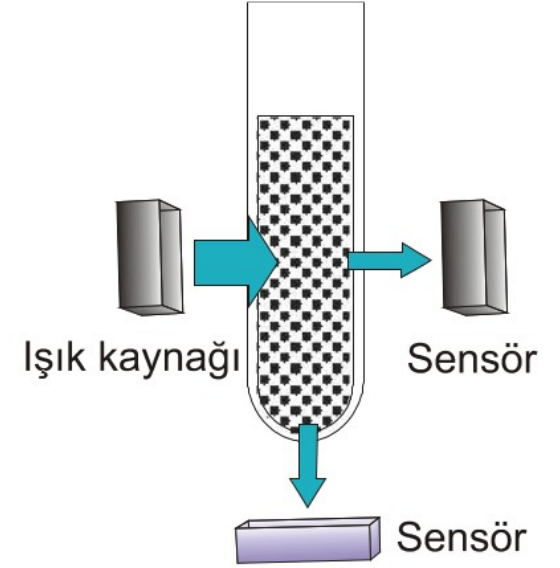
Şekil 1. "Transmissive" sensör

"Scattering" sensörler

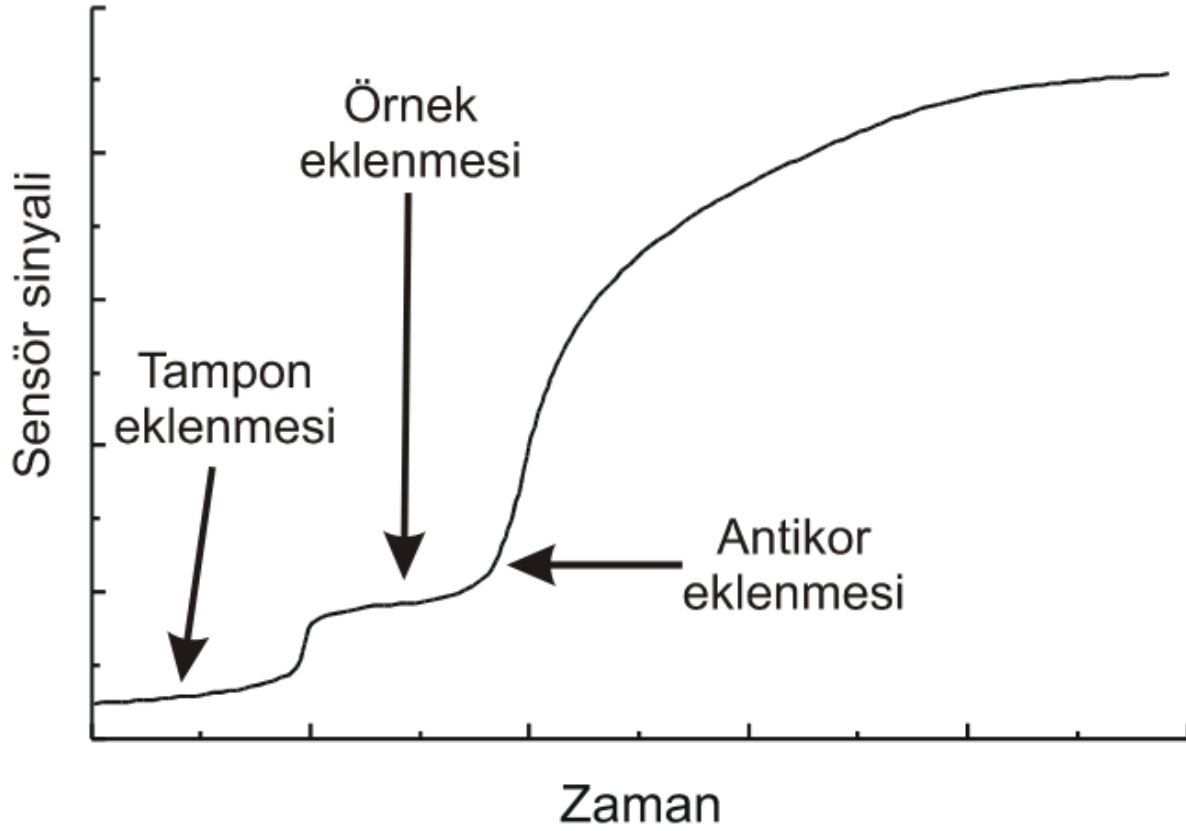


Şekil 2. "Scattering" sensör

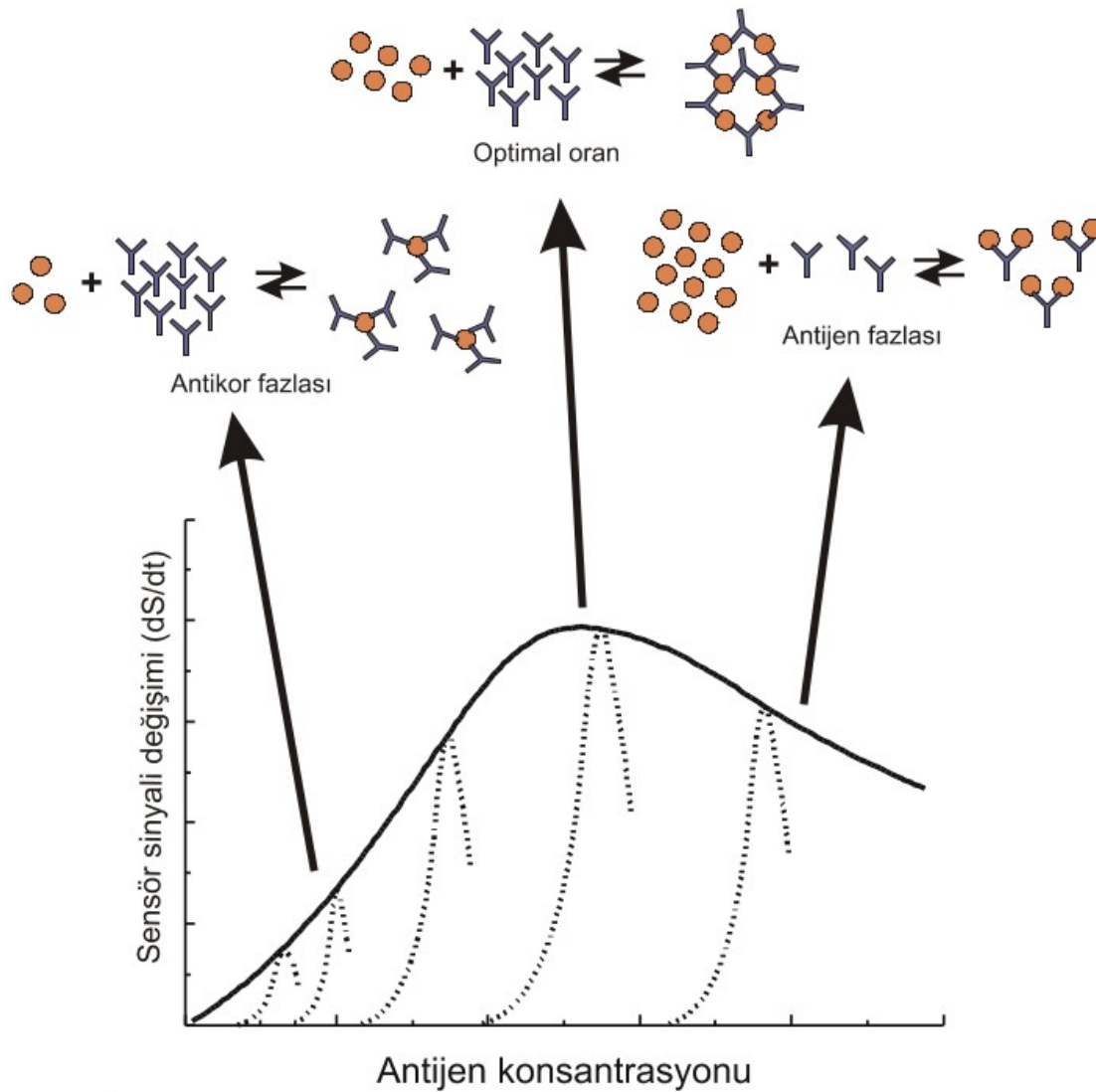
Oran sensörleri



Şekil 3. Oran sensörü



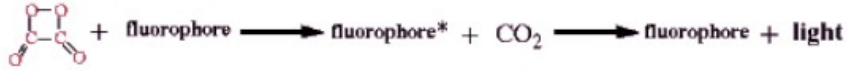
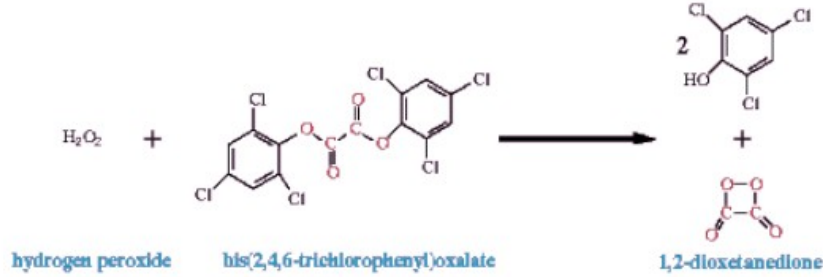
Şekil 4. Hız nefelometrisinde zamana karşı sensör sinyalinin kaydı. Tampon ve örnekten gelen arka plan gürültüsü ölçüm değerinden matematiksel olarak çıkarılır. Analit konsantrasyonu presipitasyon reaksiyonunun maksimal hızıyla orantılıdır.



Şekil 5. Antikor fazlası, optimal oran ve antijen fazlasının immüno-presipitasyon reaksiyonunun maksimal hızına etkisi.

Peroksioksalat kemiluminesansı

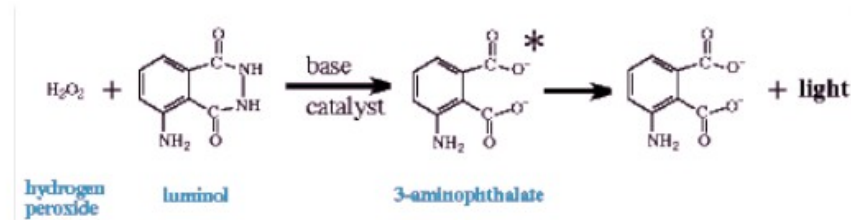
Bu reaksiyon dizisinde bis(2,4,6-triklorofenil)oksalat (TCPO) hidrojen peroksitle (oksitleyici ajan) reaksiyona girerek *reaktif ara ürün* olan 1,2-dioxetanedion'u oluşturur. Bu reaktif ara ürün bir *floropor* olan 9,10-difenilantresen'i aktive eder. Floropor ışık salınımıyla tekrar kararlı durumuna döner.

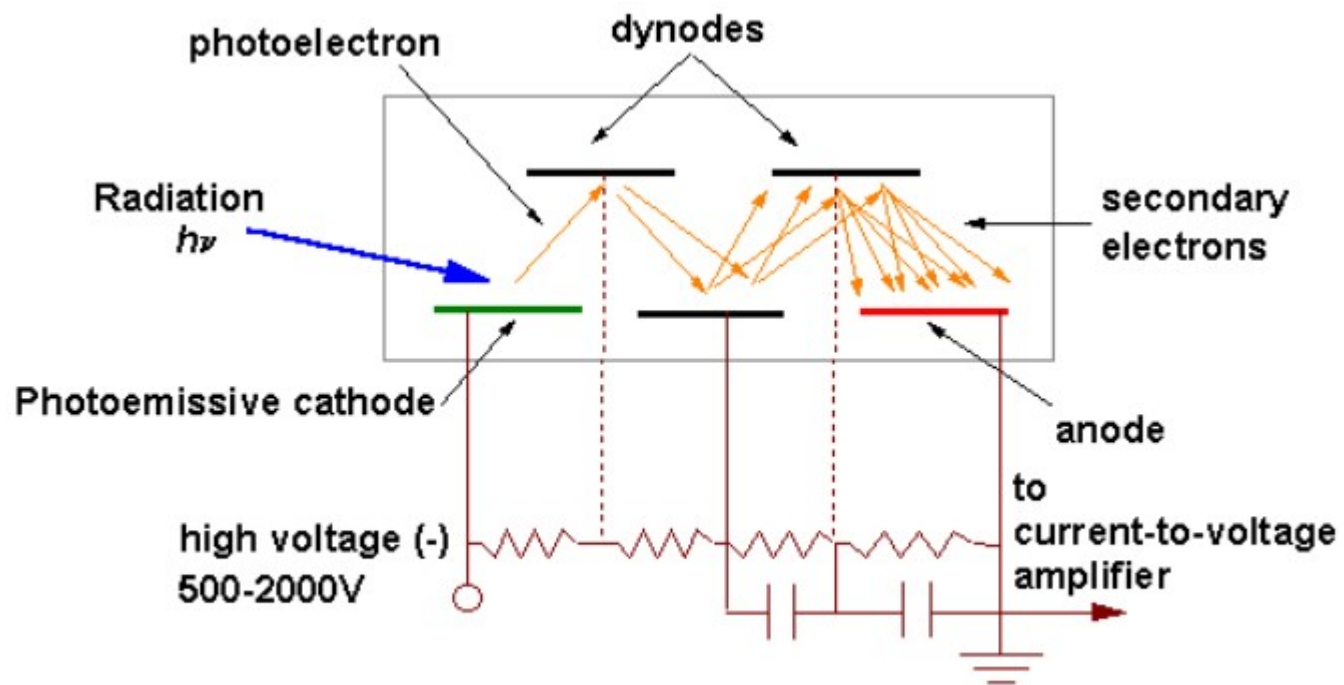


Şekil 6. Peroksioksalat kemiluminesansı

Luminol kemiluminesansı

Sıklıkla kullanılan bir diğer kemiluminesan madde ise luminol ya da türevleridir. Luminol reaksiyonunda bir ara ürün oluşmaz, doğrudan birinci reaksiyonun ürünü ışık salarak kararlı konuma ulaşır.





Şekil 8. Fotoçoğaltıcı tüp.

Beer – Lambert – Bouguer Yasası

Beer – Lambert yasası, absorbans ve elektromanyetik radyasyonu absorbe eden madenin konsantrasyonu arasındaki lineer bir ilişkiyi tanımlamaktadır.

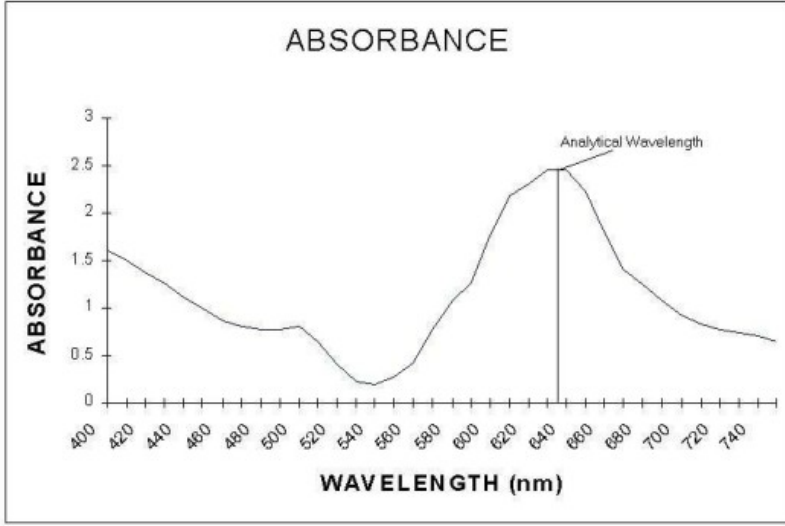
$$A = \varepsilon_{\lambda} \times b \times c$$

A: ölçülen absorbans

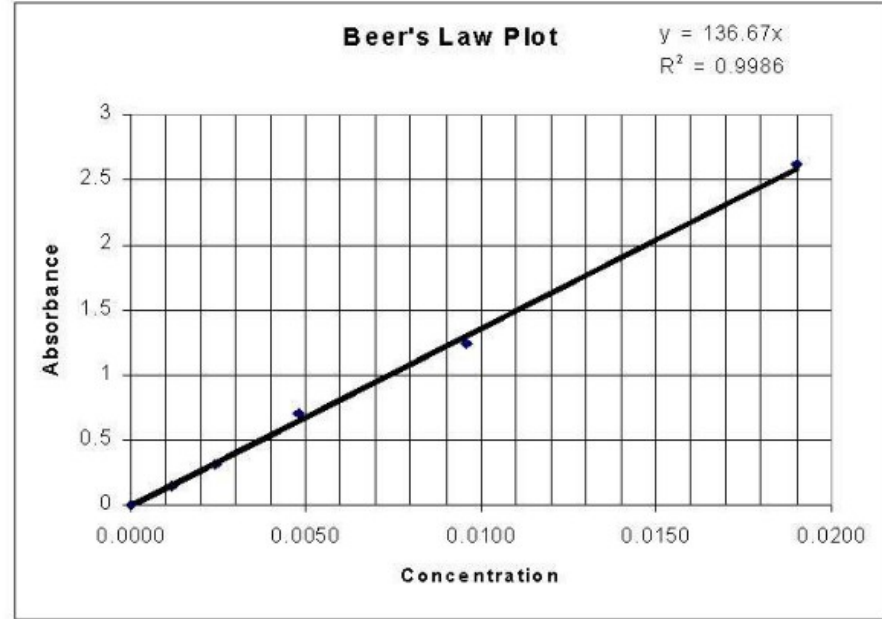
ε_{λ} : dalgaboyu bağımlı molar absorbtivite katsayısı

b : ölçülen örneğin kalınlığı

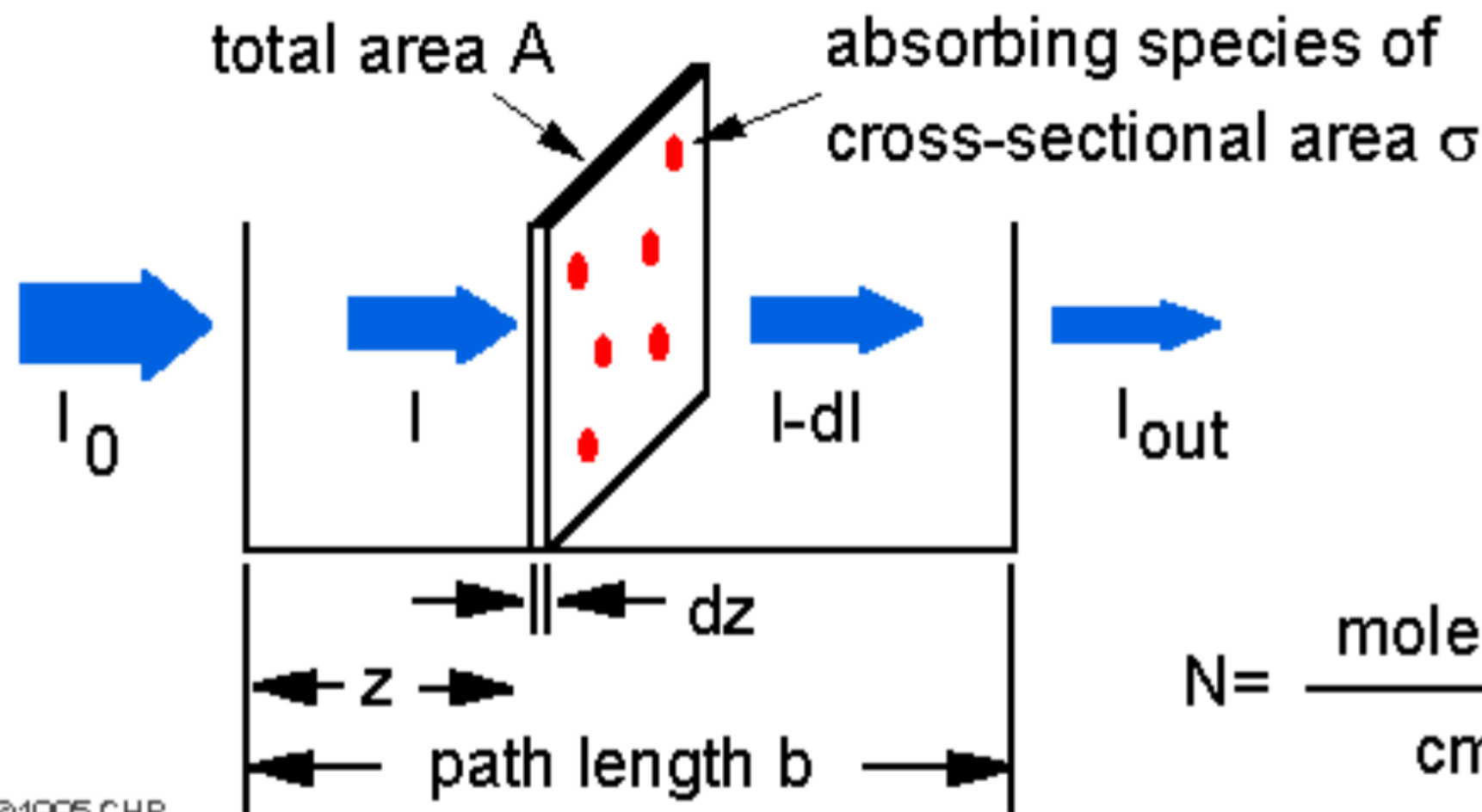
c : analit konsantrasyonu



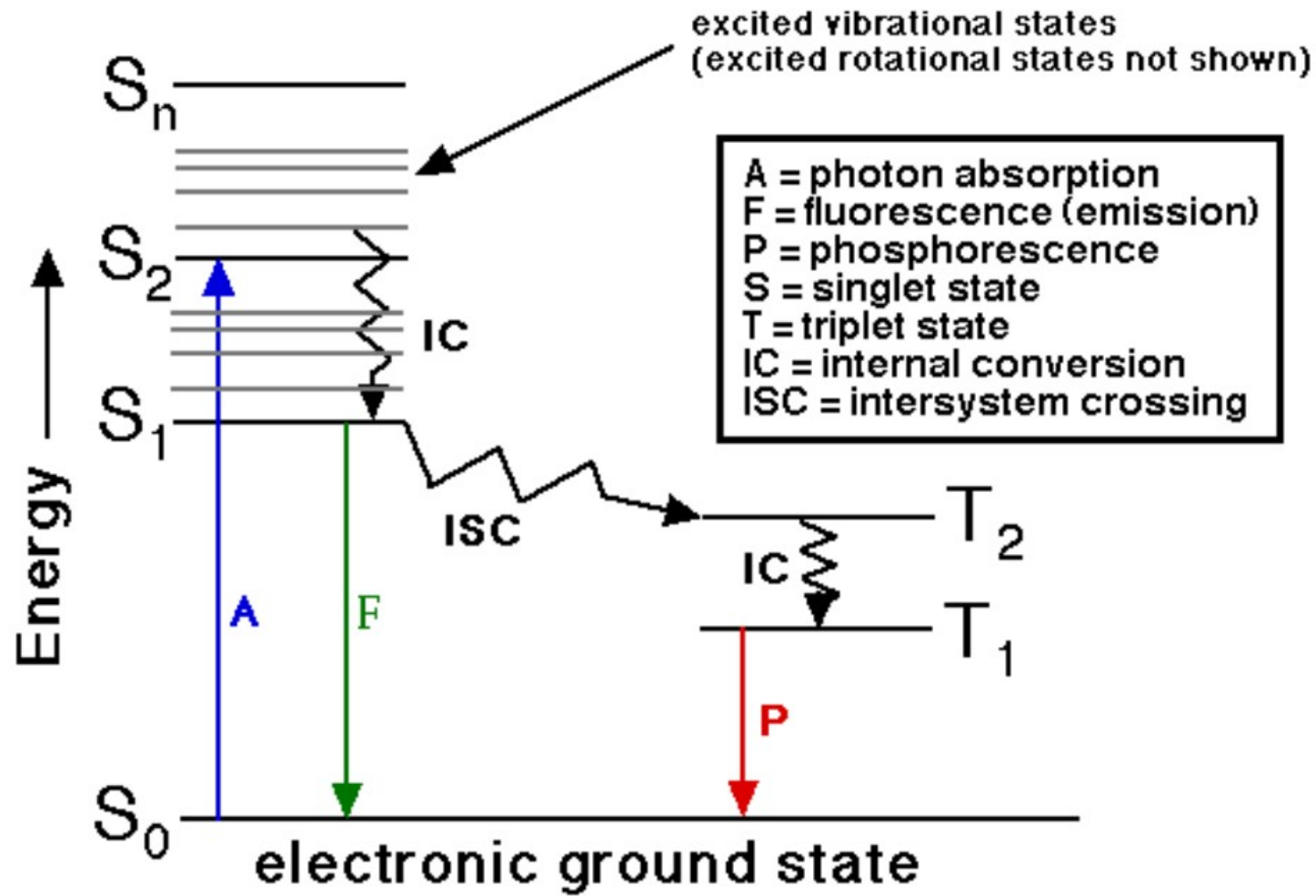
Şekil 9. Tüm dalgaboyu spektrumunda absorpsiyonlar.



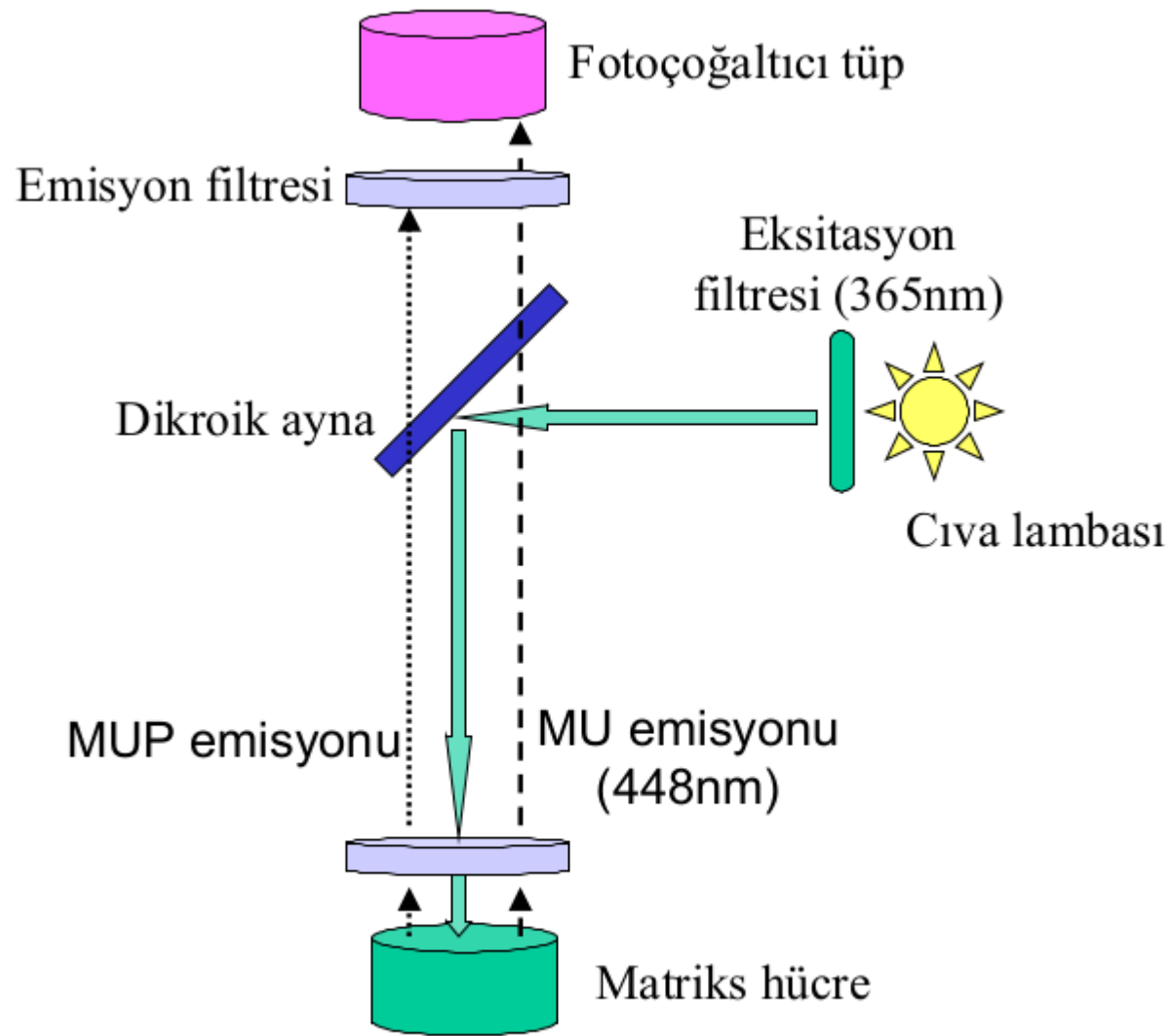
Şekil 10. Maddenin bilinen konsantrasyondaki çözeltilerinin analitik dalgaboyunda ölçülen absorpsiyon değerleri.



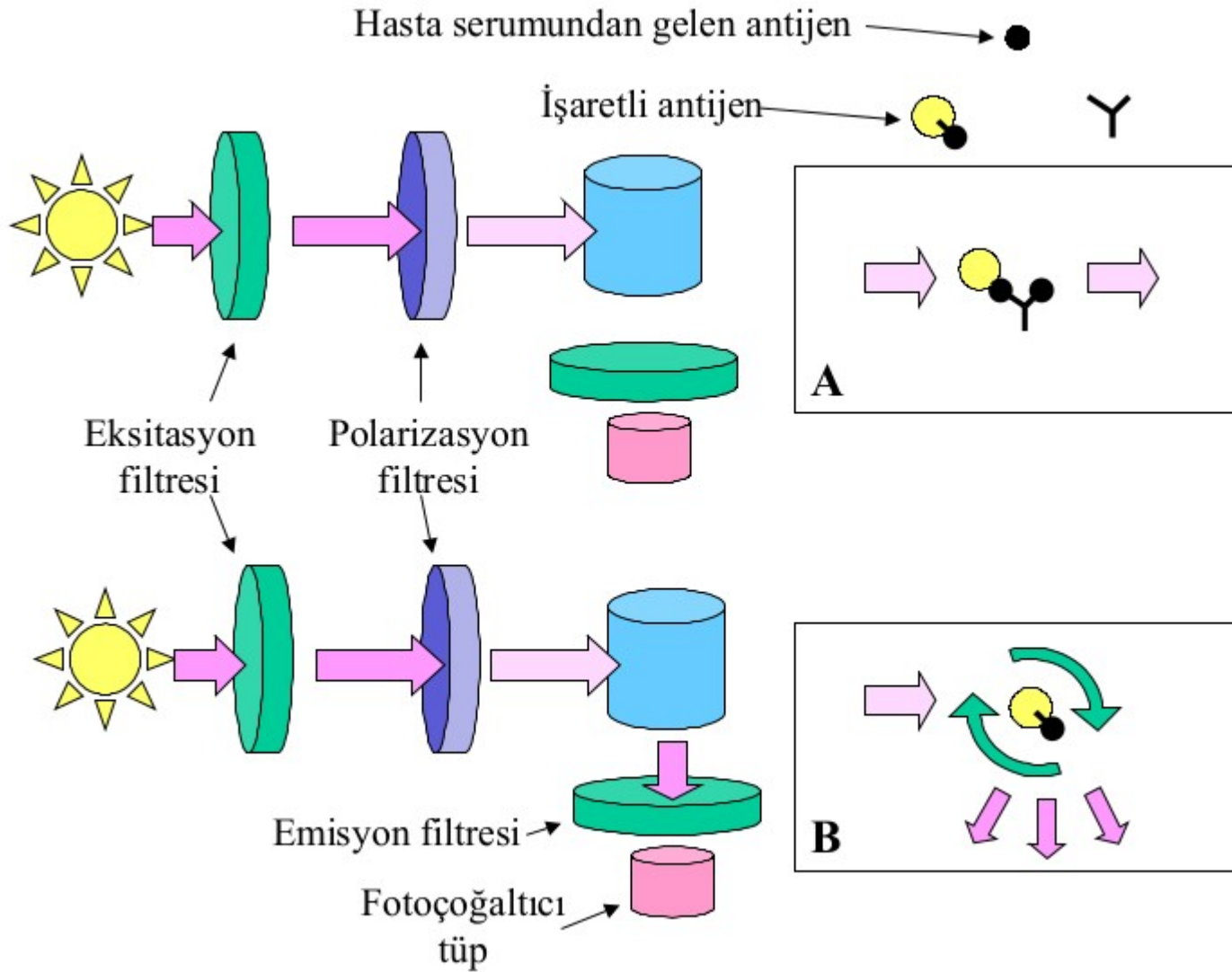
Şekil 11. Dalgaboyu bağımlı absorbans ve Beer - Lambert yasası.

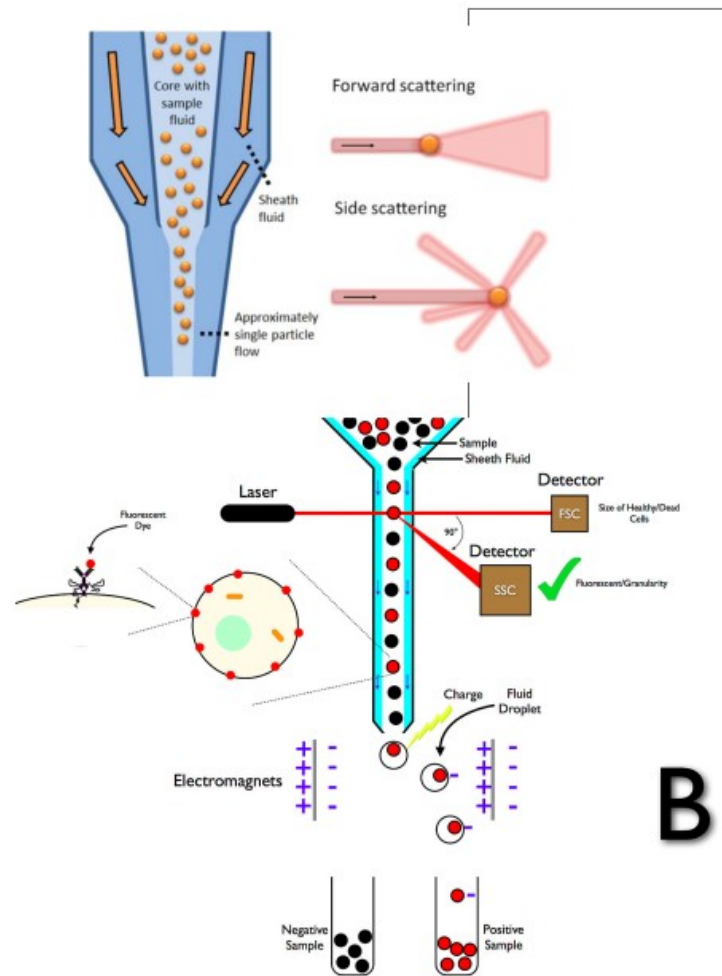
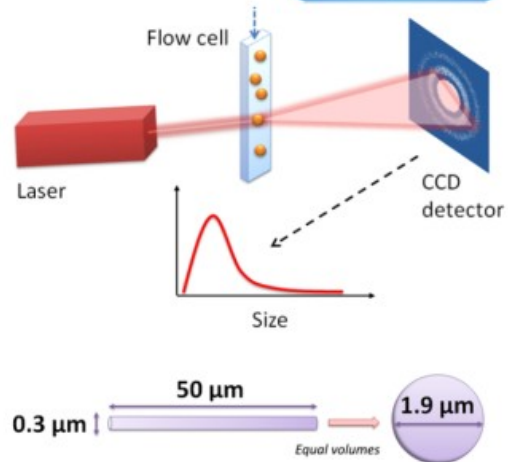
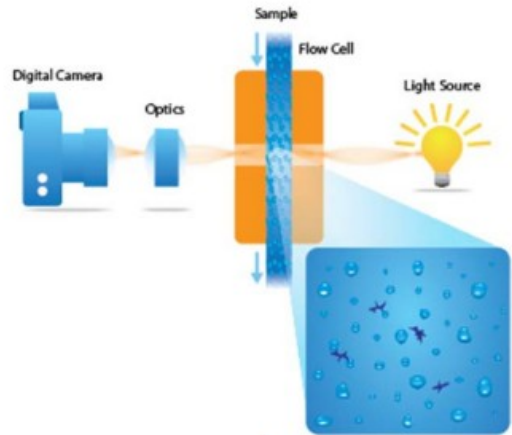


Şekil 12. Jablonski diyagramı. Elektronun aynı spin durumunda bir alt enerji düzeyine geçerken yaptığı foton emisyonuna floresans denir.



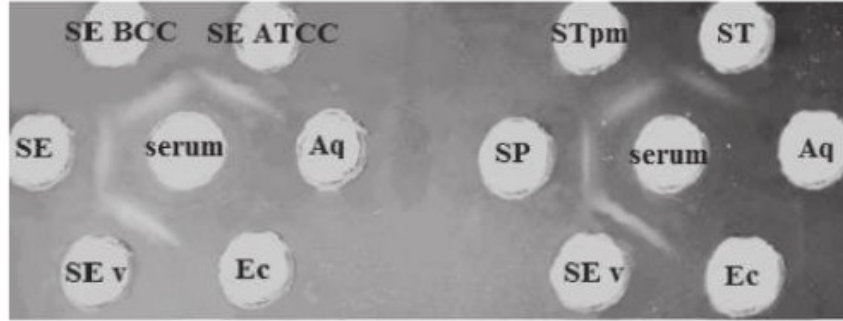
"Microparticle Enzyme Immunoassay" (MEIA)



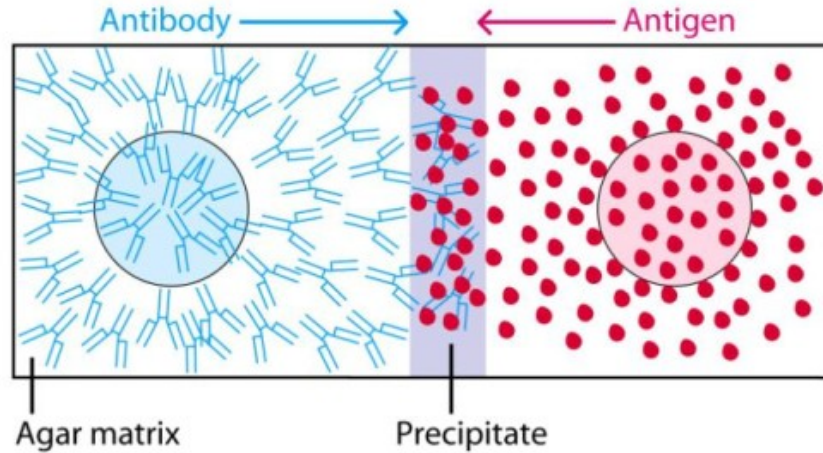


B

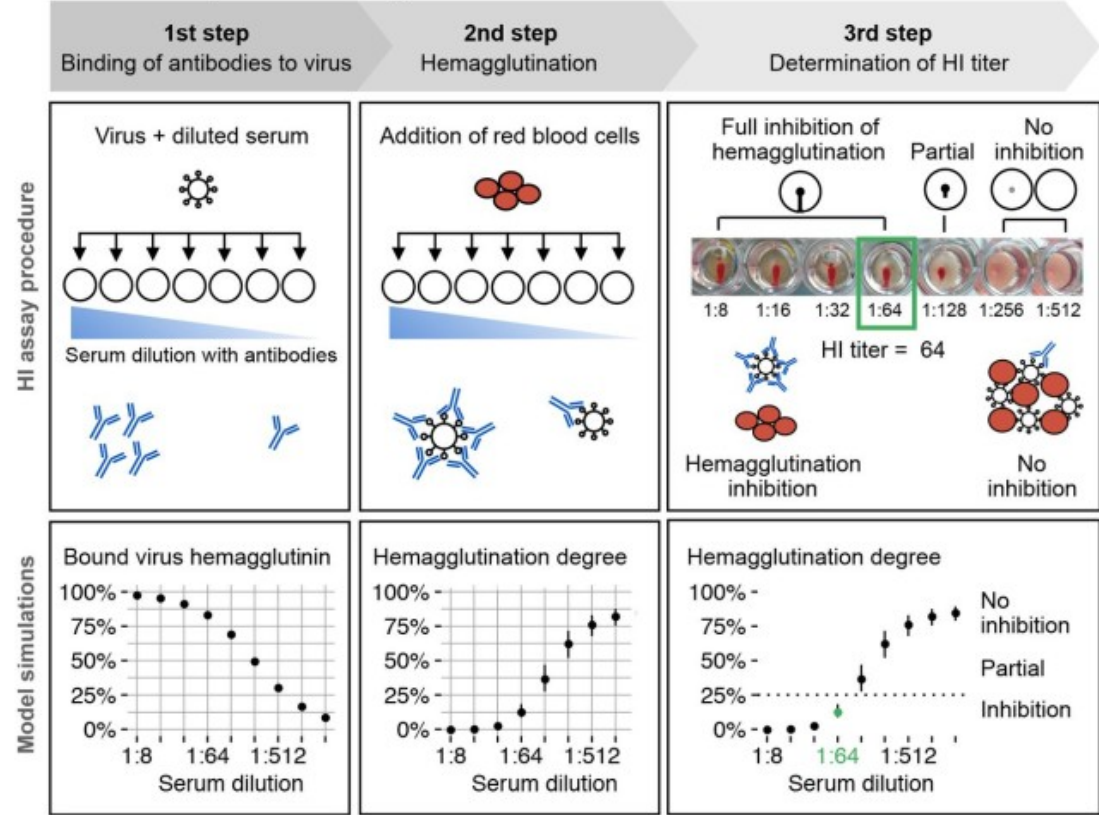
<https://www.biosciencenotes.com/immunodiffusion-reaction/>



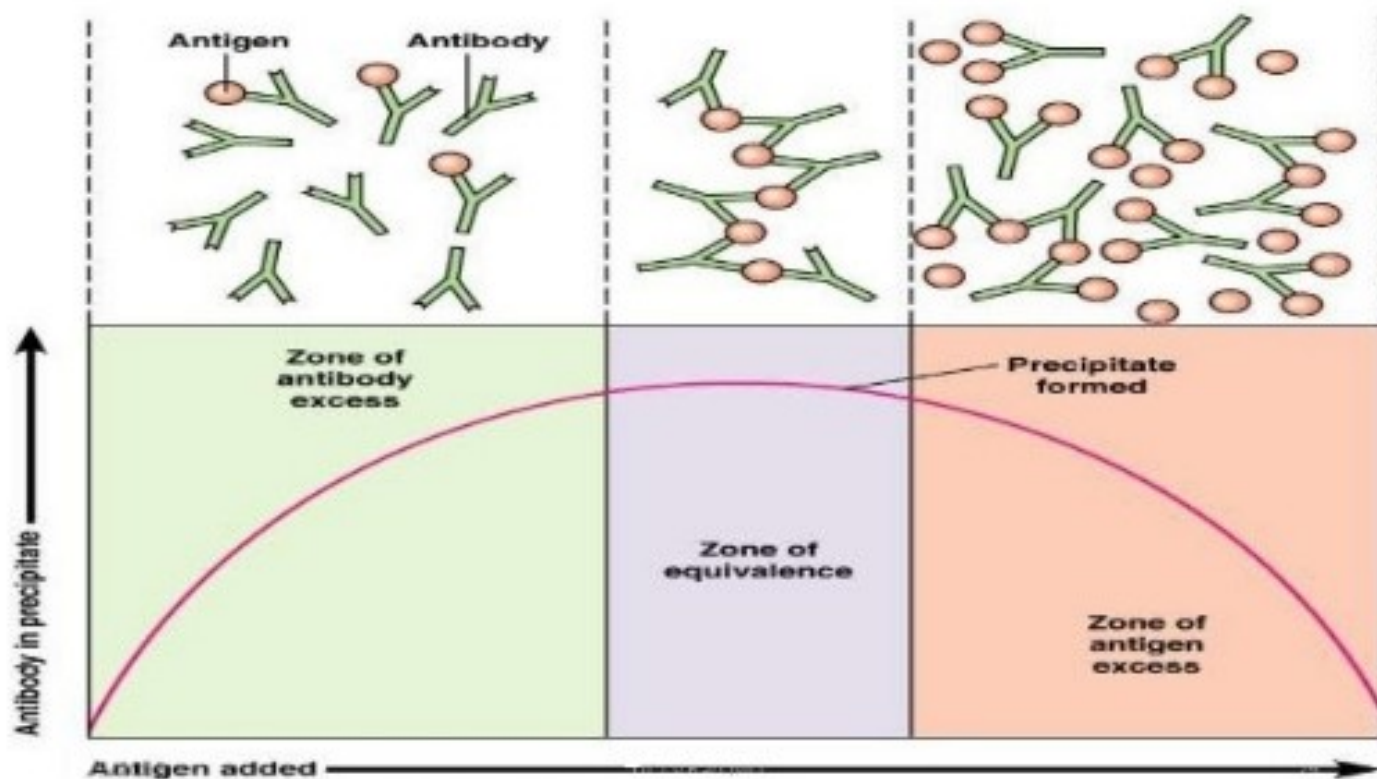
DOUBLE IMMUNODIFFUSION

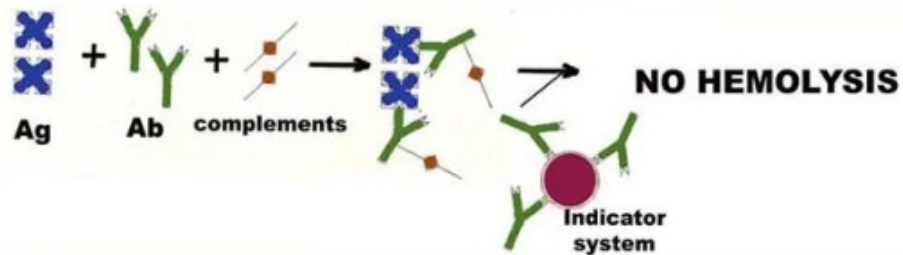
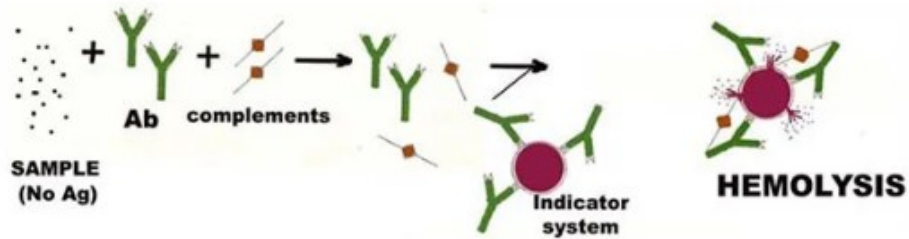


doi: <https://doi.org/10.1101/2020.10.05.326215>

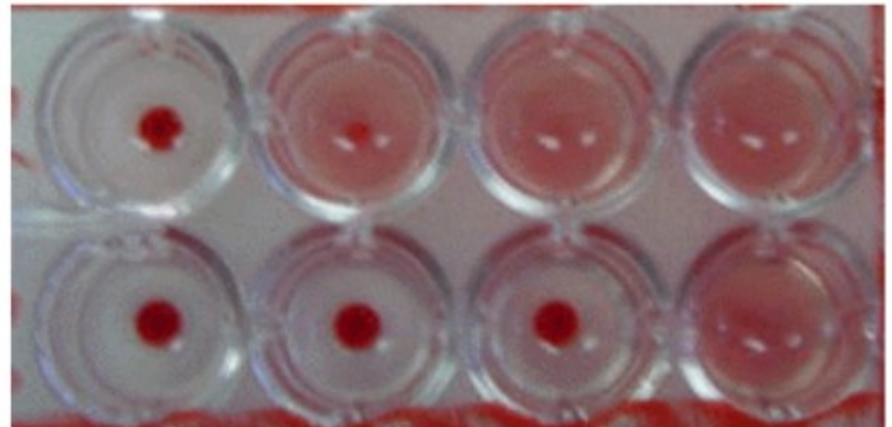
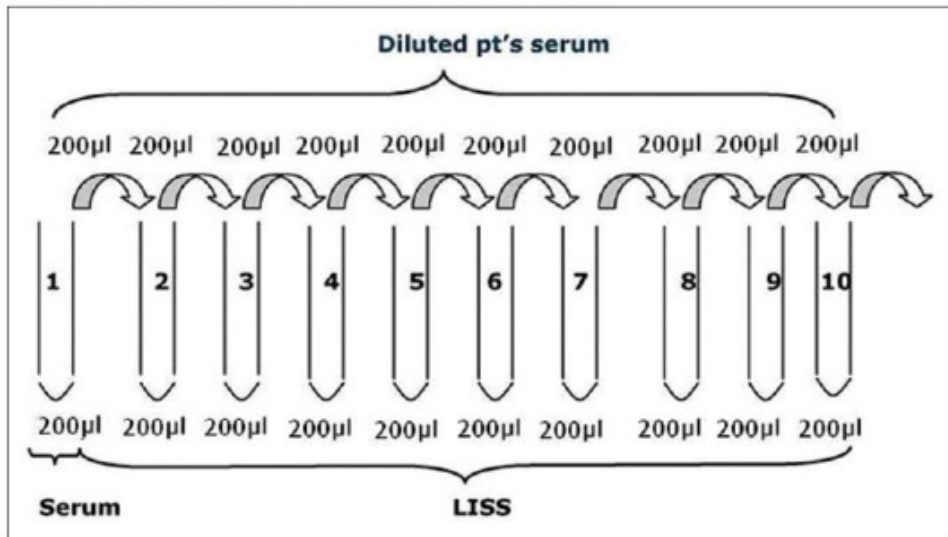


Precipitation Curve





Akut & konvelesan dönemlerde...



Ranieri E., Popescu I., Gigante M. (2014) CTL ELISPOT Assay. In: Ranieri E. (eds) Cytotoxic T-Cells. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols), vol 1186. Humana Press, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1158-5_6

Elispot Assay

CD8⁺ T cells, DC, Ag cultured
on Ab-coated
nitrocellulose/ PVDF plates

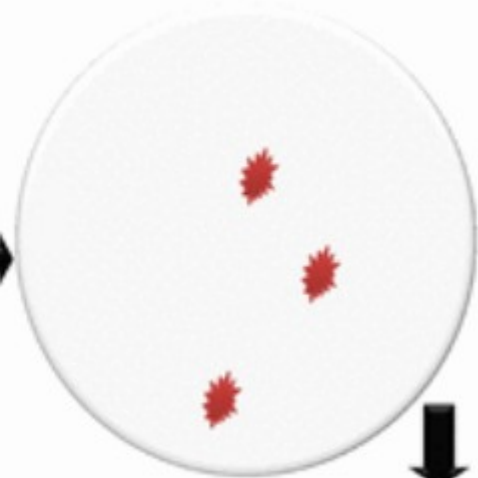


IFN- γ , Perforin, Granzyme B,
TNF- α , IL-12

Over 24- 48h
Ag-specific T cells
secrete cytokine



Captured cytokine
developed with second Ab,
enzyme, AEC



Enumerate

