

ADLI KIMYADA
IMMONOASSAY

TANIM

- **İmmunoassay**
- İmmunoassay bir solüsyon içerisinde bir makro molekülün veya küçük molekülün varlığını ve konsantrasyonunu ölçmeye yarayan, bu ölçümü antikor veya antijenleri kullanarak yapan biyokimyasal bir yöntemdir. Bir numunede tayin edilecek maddelere analit denilir. İmmunoassay de analitler çoğu zaman proteinlerdir. Çözeltiler kan serumu , idrar vb vücut sıvıları olabilir.

TARİHÇE:

Rosalyn Sussman Yalow ve Solomon Berson tarafından 1950 lerde keşfedilmiştir. Radyoaktif insülin kullanarak, insülinin vücutta bulunma süresini ölçüyorlardı bu yöntemi kullanırken antikoları sayıyorlardı ve antikoları sayarak hormon miktarını ölçmeyi geliştirdiler. Daha sonra bunu tersine çevirerek immunoassayı geliştirdiler

Bağışıklık sistemi biyolojinin en kompleks konularından biridir. Farklı canlıların kendilerine has bağışıklık sistemleri olduğu gibi her bir canlı türünün bağışıklık sisteminin çok sayıda kompleks kademesi vardır. Bu çalışmada immunoassay yönteminin çalışma prensibini doğru anlayabilmek için bağışıklık sisteminin immunoassay ile ilgili kısıtlı ve ilgili bir bölümü ele alınmıştır. Suçiçeęi ve kızamık gibi hastalıkları bir kez geçirdikten sonra, bu hastalıklara bir daha aynı şiddette yakalanmayız. Kazanılmış bağışıklık kavramı.(sadece omurgalılarda bulunur). Kazanılmış bağışıklık lenfosit denilen akyuvar tiplerinden T ve B hücrelerine dayanır. T(timüs bezinde sinanır). B(kemik iliğinde sinanır). Tek bir B veya T hücrelerinin yüzeyinde yaklaşık 100.000 adet antijen reseptörü vardır.Bağışıklık sistemi milyonlarca çeşit antijen reseptörü üretebilir. Tek bir B veya tek bir T hücrelerinin yüzeyindeki tüm reseptörler aynıdır.

ANTİJEN : Vücuda girdiğinde bağışıklık sistemi tarafından antikor üretimine yol açan her türden yabancı moleküllerdir. Çoğu zaman protein veya polisakkaritler gibi büyük moleküllerdir. Çoğu antijen yabancı hücrelerin veya virüslerin zar ve çeperinden çıkıntı yapmış durumdadır. Bakteriler tarafından salınan toksinlerde hücre dışı sıvı ortamdadır

ANTİKOR: Artık Antikor kelimesini kullanabiliriz bu aşamaya kadar olan hücre zarındaki yapı antijen reseptörüydü. Antikor zardan ayrılmış halidir. Çözünebilen bir formudur. Immünoglobulin (Ig) denilir. Epitop ile antikor arasındaki bağ kovalent değildir.

○ Immunoassay Türleri



○ 1. Radio-immunoassay (RIA)

○ 2. Enzim-immunoassay (EIA)-Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA)

○ 3. Floresans-immunoassay (FIA)

○ 4.

Chemiluminescence immunoassay (CLIA)

○ 5. Electrochemiluminescence (ECL)

○ 6. Magnetic immunoassay (MIA)

Radio-immunoassay (RIA) :

- Sıklıkla antijen konsantrasyonunu ölçer. Ölçüm için Antikorları kullanır. Radyoaktif antijenlerle radyoaktif olmayan antijenlerin yer değiştirmesi veya oransal rekabeti esasına dayanır.
- Örneğin : Kanda hormon seviyesini ölçer.
- Örneğin : Alerjiye sebep olan Alerjenleri arar.
- Radyoaktif element içeren antikorlar ile kan serumu beraber bir şekilde içerisine antikorlar bağlanmış deney küvetlerine dökülür ve belirli süre sonunda bu küvetlerin içindeki fazla kan serumu yıkanır. Küvetlerdeki antikorlara tamamen radyoaktif antijenler bağlandıysa radyoaktif sinyal maksimum ölçülür. Çünkü bütün antikorlara radyoaktif antijenler bağlanmıştır. Eğer kanda aradığımız antijenden varsa o da bağlanır ve kandaki antijenin bağlandığı antikorlara radyoaktif antikorlar bağlanamadığı için radyoaktif sinyal düşük çıkar bu da kanda aradığımız antijenin olduğunun kanıtıdır. Radyo aktif sinyal ne kadar büyükse antijen o kadar az , radyoaktif sinyal ne kadar az ise antijen o kadar fazladır. Bu ilişkinin bir kalibrasyon eğrisi vardır. Ölçüm sonuçları bu kalibrasyon eğrisine göre değerlendirilir.

Enzim-immunoassay (EIA)-Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA):

- EIA : Daha çok ölçüm için antikorları kullanır
- ELISA: Daha çok ölçüm için antijenleri kullanır.
- İkisinin de benzer mekanizmaları vardır. Bu yöntemde radyoaktif malzeme kullanılmaz. Deney küvetlerine (EIA da) ilgili antikorlar önce yapıştırılır. Daha sonra kan serumu koyulur. Fazla sıvı alınır. Daha sonra aranan antijenlere tutunabilecek ucunda enzim etiketlemesi olan bir başka antikor eklenir ve aranan antijene tutunur. Bu enzim etiketleri ile reaksiyona girecek renk veren bir madde eklenir ve laboratuvardaki teknisyenin görebileceği renkte bir değişim gözlenir. Buna bakılarak ilgili antijenin orada olup olmadığı tespit edilmiş olur.

Floresans-immunoassay (FIA)

- Floresans madde eklenmiş antikorların antijenlere bağlanması sonucunda oluşan ışımının miktarına göre antikor antijen tayini yapan mekanizmadır. Floresans ışımaları miktarını ölçme işini cihazlar yapar.
-
- Çok daha fazla immunoassay yöntemi olsa da klinikte kullanılanlar RIA,FIA,EIA,ELISA dır.
-

ADLI KİMYADA İMMUNOASSAY

- Farklı vücut doku sıvılarında,kan,idrara vb, toksik maddelerin aranması. Zehirlenme türü olayların aranması.
- Çeşitli uyuşturucu türlerinin kan ve idrarda varlığının ve miktarının aranması.
- Çeşitli nesnelere bulaşmış olan uyuşturucu maddelerin aranması.(para,kıyafet vb.)
- TNT gibi patlayıcı maddelerin bulaşmış olduğu yerlerde yapılan aramalarda kullanılabilir.
- Örneklerde de görüldüğü gibi her zaman insan vücudundan alınan vücut sıvıları olmasına gerek yoktur.
- Genelde yayınlarda C A N N A B I S bitkisinin içerisindeki cannabinoids denilen uyuşturucu etken maddelerinin idrarda tespiti ile yayınlarda vardır.
- Bir başka yaygın uyuşturucu olan metilanfetaminin aranması ile ilgili adli yayınlarda sık karşılaşılmaktadır.
-