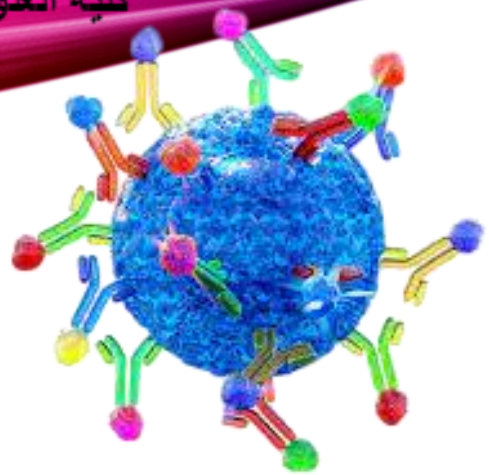
عمادة الدراسات العليا
كلية العلوم/قسم النبات والأحياء الدقيقة

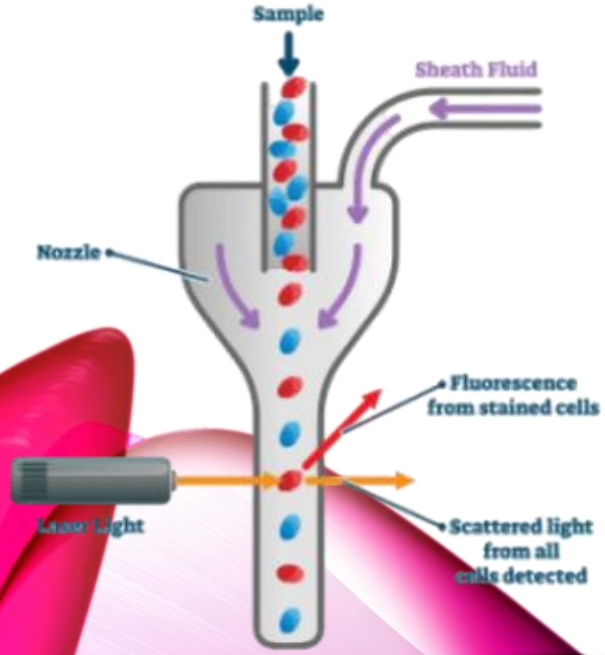
جامعة الملك سعود
King Saud University



مقرر وراثة خلوية المتقدم - نبت (553)

Flow Cytometry

تحليل التدفق الخلوي



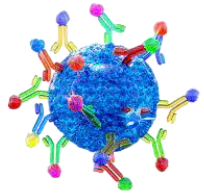
إعداد الطالبة

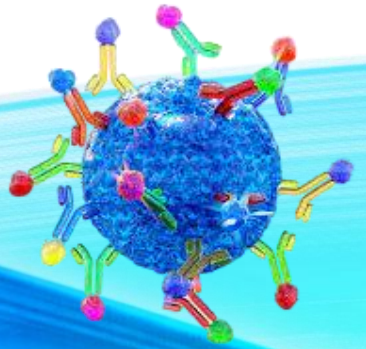
اماني اوغلي

ID:445205422

إشراف الدكتورة

حنان الحربي

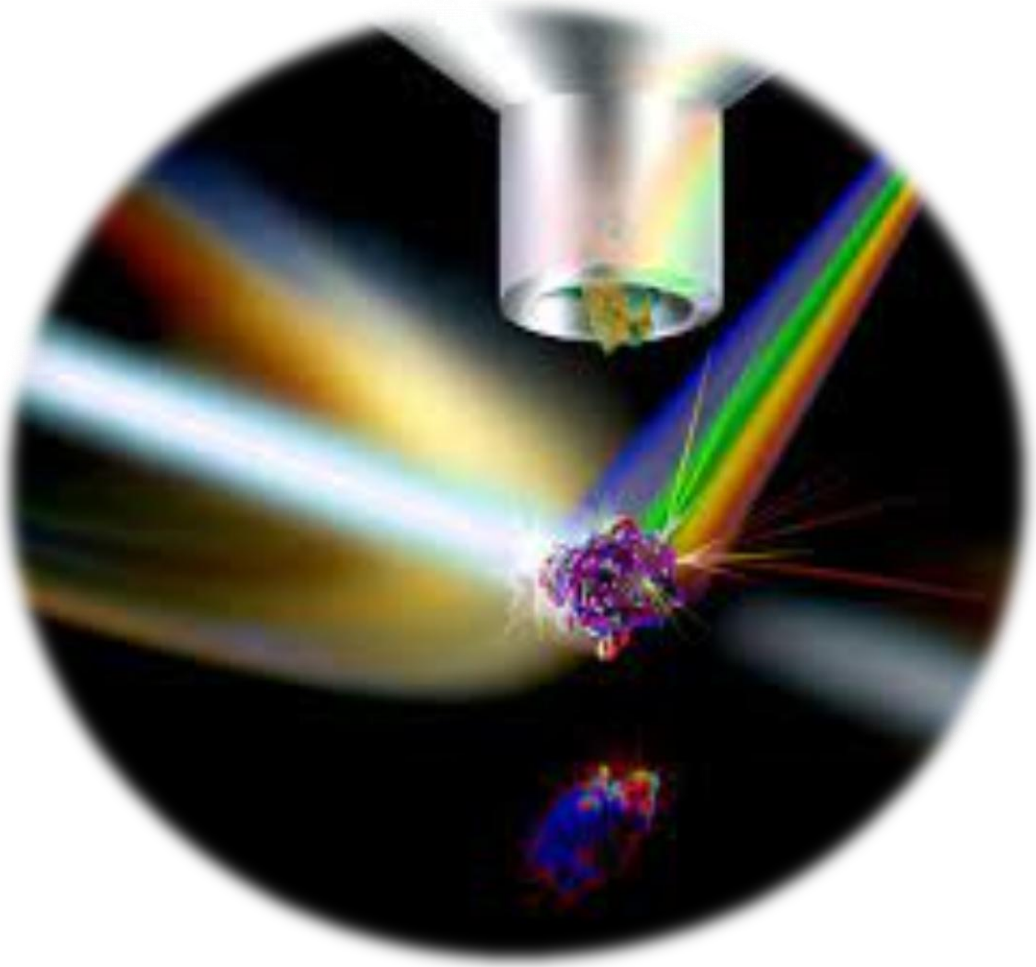




المحتوي

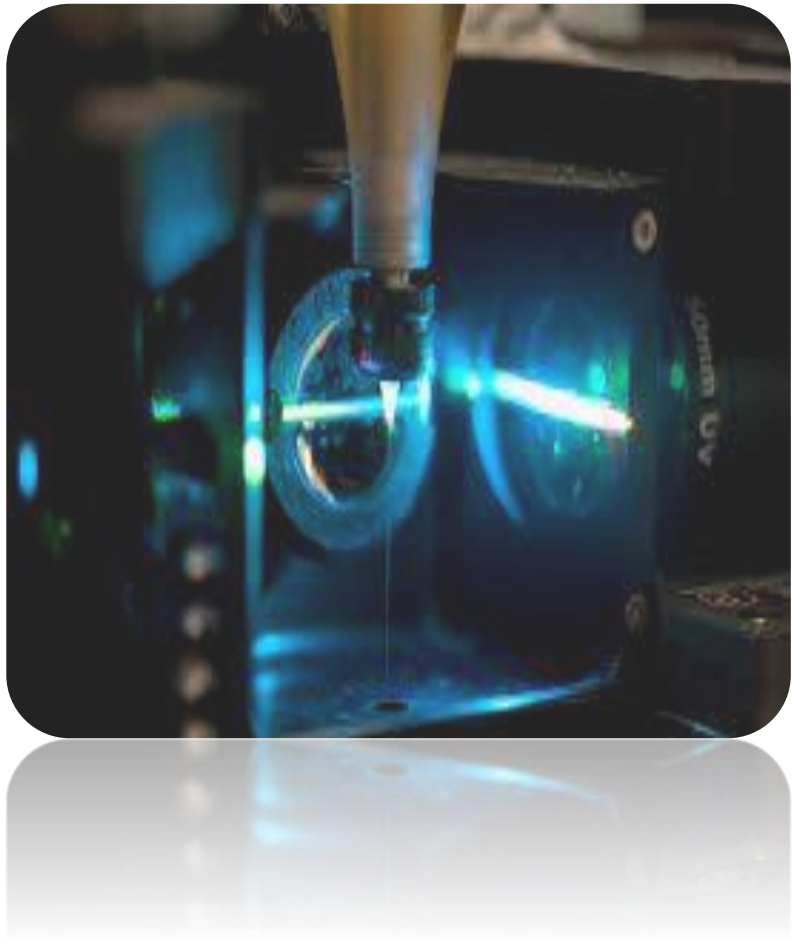
العنوان	رقم الشريحة	العنوان	رقم الشريحة
المقدمة	3	أنواع أجهزة Flow cytometry	14-13
الهدف من الدراسة حول تقنية Flow Cytometry	4	التطبيقات	16-15
ماهي تقنية Flow cytometry	5	الايجابيات وسلبيات تقنية Flow cytometry	17
فكرة تقنية Flow cytometry	7-6	الاستنتاج	18
الاستخدامات	8	الخاتمة	20-19
تاريخ تقنية Flow cytometry	9	المراجع	22-21
مكونات جهاز تقنية Flow cytometry	12-10		

المقدمة



تعد تقنية التدفق الخلوي (Flow Cytometry) من أحدث الأدوات الحديثة والمتقدمة في تحليل الخلايا والجسيمات المجهرية الدقيقة، حيث توفر معلومات كمية ونوعية دقيقة عن الخلايا بناءً على خصائصها الفيزيائية والكيميائية. وتعتمد هذه التقنية على تيار من السوائل لتمرير الخلايا عبر شعاع ليزر، مما يسمح بتحليل الخلايا. وتستخدم هذه التقنية في العديد من التطبيقات العلمية والطبية، مثل ابحاث السرطان، ومراقبة المناعة، وتشخيص الأمراض المعدية، ودراسة التفاعلات الخلوية، وتصنيف الخلايا الجذعية، وفصل الخلايا التي تستخدم لأغراض بحثية أو علاجية. وتتميز هذه التقنية بسرعتها ودقتها، مما يجعلها أداة قوية في دراسة الاختلاف الخلوي في العينات البيولوجية المختلفة، بالتالي تساهم في تطوير التشخيص والعلاج في المجالات الطبية والبحثية.

الهدف من الدراسة حول تقنية FLOW CYTOMETRY

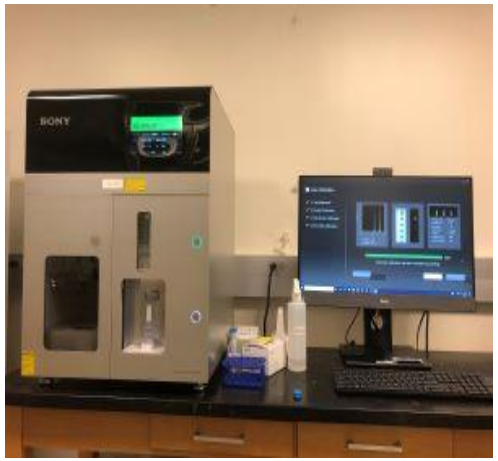


تهدف هذه الدراسة إلى تسليط الضوء على هذه التقنية باعتبارها أداة قوية في تحليل الخلايا والجسيمات المجهرية ، أهم الأهداف كالتالي:

- ✓ توضيح الأساس العلمي من حيث آلية العمل والمكونات الرئيسية.
- ✓ التطبيقات البيولوجية والطبية لهذه التقنية.
- ✓ مناقشة فوائد واضرارا التقنية.

وتساعد هذه الدراسة في توضيح الدور المتنامي لتقنية التدفق الخلوي في الأبحاث الطبية والتشخيصية، مما يسهم في تطوير استراتيجيات أكثر فعالية للكشف عن الأمراض ومراقبة صحة الأفراد.

ماهي تقنية FLOW CYTOMETRY

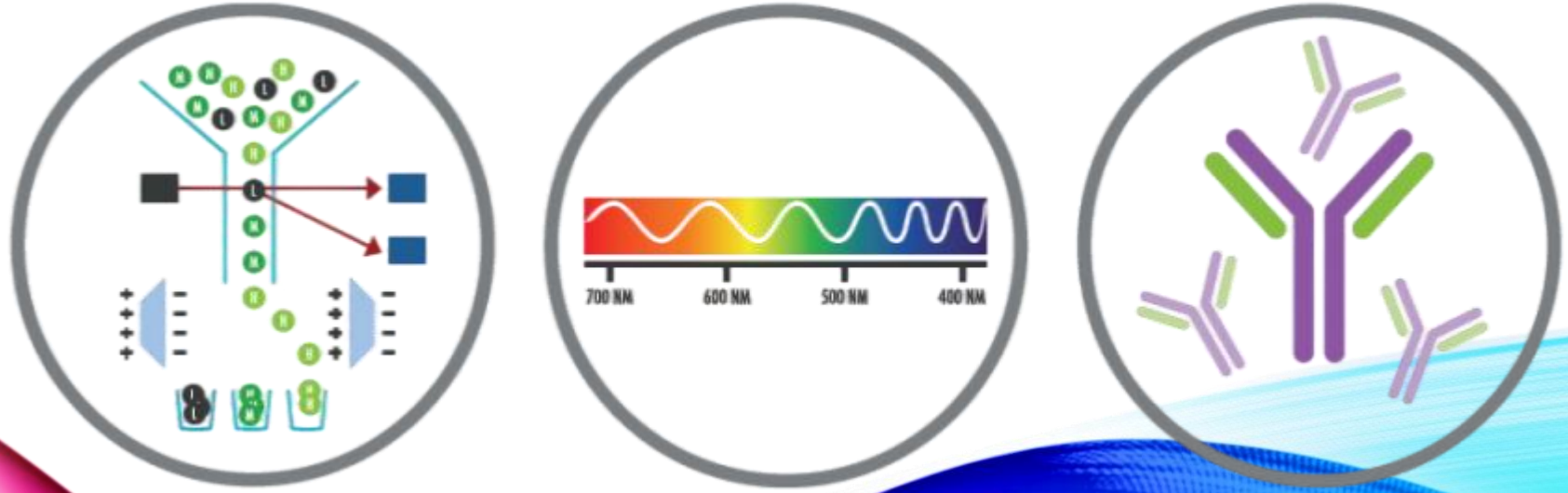



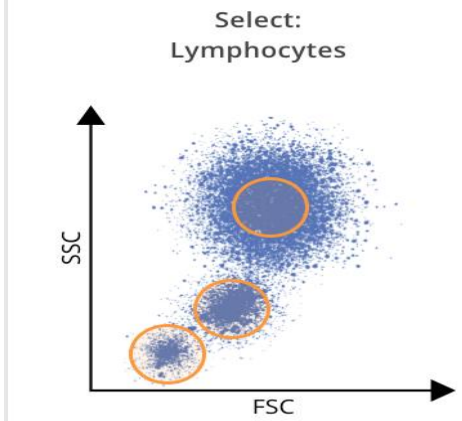


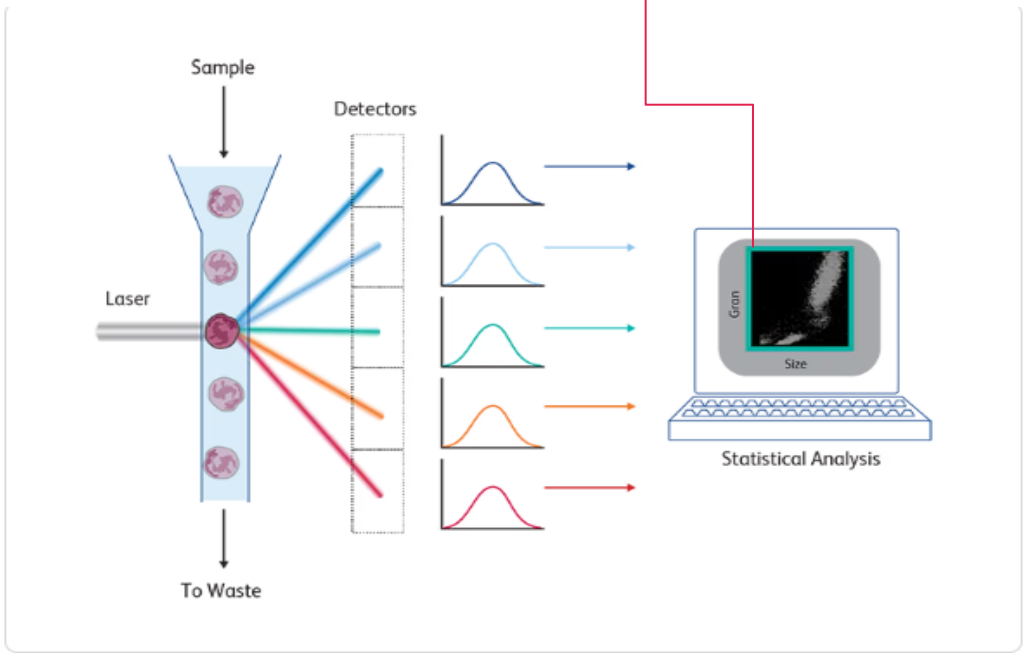
شكل(1): جهاز تقنية Flow cytometry

هي تقنية بيولوجية خلوية واختبار معملي تعتمد على الليزر، وتستخدم في تحليل وقياس الخصائص الفيزيائية والكيميائية للخلايا أو الجسيمات الدقيقة مثل النوى أو الكروموسومات ، لتحديد وتوصيف الحجم والشكل والتعبير الجيني وصحة الخلية ، في نطاق حجم يتراوح من 0.5 ميكرومتر إلى 40 ميكرومتر. يتم أولًا تعليق عينة من الخلايا أو الجسيمات في سائل. ثم تعالج هذه الخلايا بصبغات الأجسام المضادة الفلورية لتمييز بروتينات معينة على سطح الخلايا أو داخلها. وتعرف هذه العملية باسم فرز الخلايا المنشطة بالفلوريسين Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS) بعد ذلك، تحقن الخلايا في جهاز التدفق الخلوي. وينتشر الضوء عبر الخلايا وتطلق إشارات الفلورسنت عندما تتلامس مع الليزر، يتم اكتشاف الإشارة الفلورية وتضخيمها، ثم تترجم إلى إشارة إلكترونية وترسل إلى الحاسوب ،كما يمكن للكمبيوتر تحليل ومعالجة ما يقرب من 10,000 خلية في أقل من دقيقة.

FLOW CYTOMETRY(FCM) فكرة تقنية



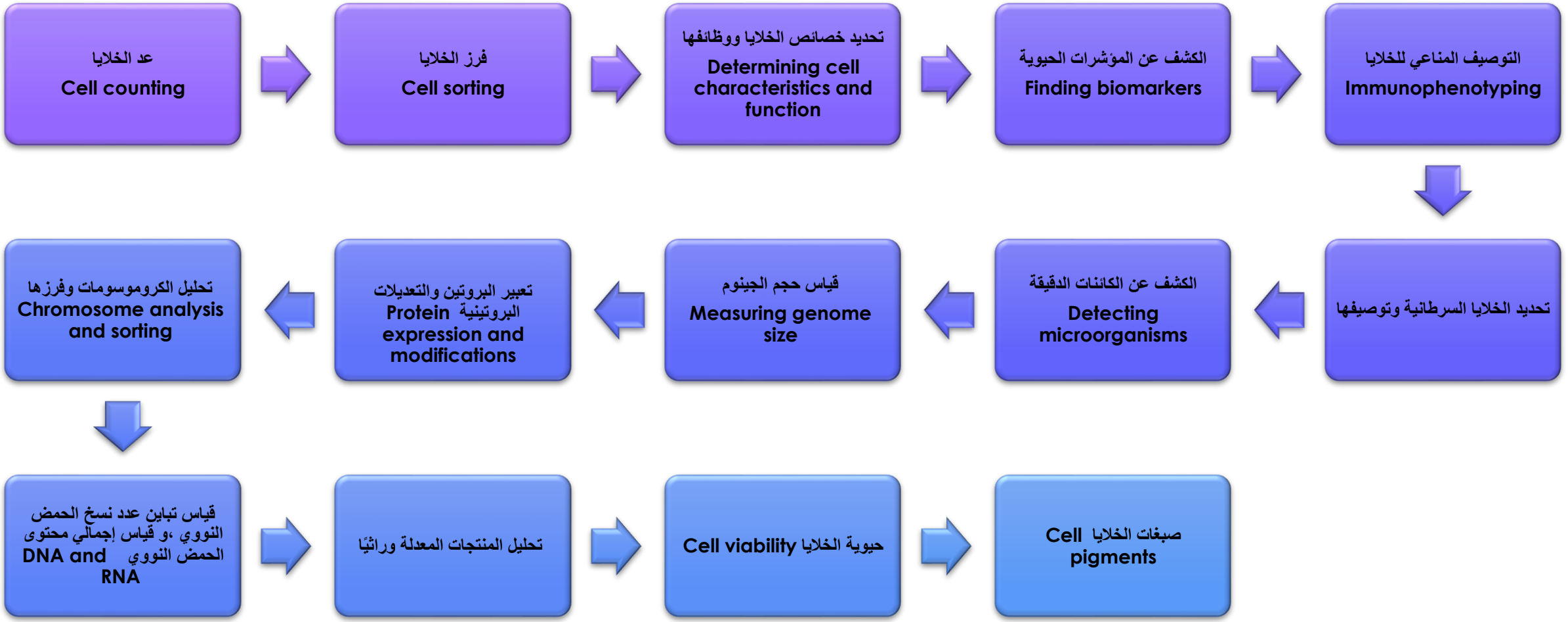




- توضع عينة من الدم أو النسيج أو نخاع العظم في معلق سائل، ثم تعالج العينة بأجسام مضادة معلمة فلوريًا، وقبل حقنها في جهاز التدفق الخلوي.
- يقوم جهاز التدفق الخلوي بترتيب الخلايا في خط فردي، ثم يمررها أمام شعاع ليزر، حيث تعمل الخلايا على تشتيت الضوء.
- يقوم الجهاز بعد وتصنيف الخلايا بناءً على كيفية انعكاس شعاع الليزر عنها.
- بمجرد جمع البيانات، يقوم جهاز التدفق الخلوي بإرسالها إلى الكمبيوتر.
- يقوم الكمبيوتر بإنشاء تقرير، يكون عادة على شكل مخطط نقطي أو شريطي.

الاستخدامات

- استخدمت هذه التقنية الفعالة في المجال الطبي لعقود من الزمن للمساعدة في الأبحاث الأساسية، والممارسات السريرية، والتجارب السريرية ، في تطوير فهم علم المناعة، وعلم الفيروسات، وبيولوجيا السرطان، ومراقبة الأمراض المعدية، وغيرها . ولإجراء الاختبار، يحتاجون إلى عينة من الدم أو نخاع العظم أو الأنسجة أو أي سوائل أخرى في الجسم. وتشمل الاستخدامات كالتالي:

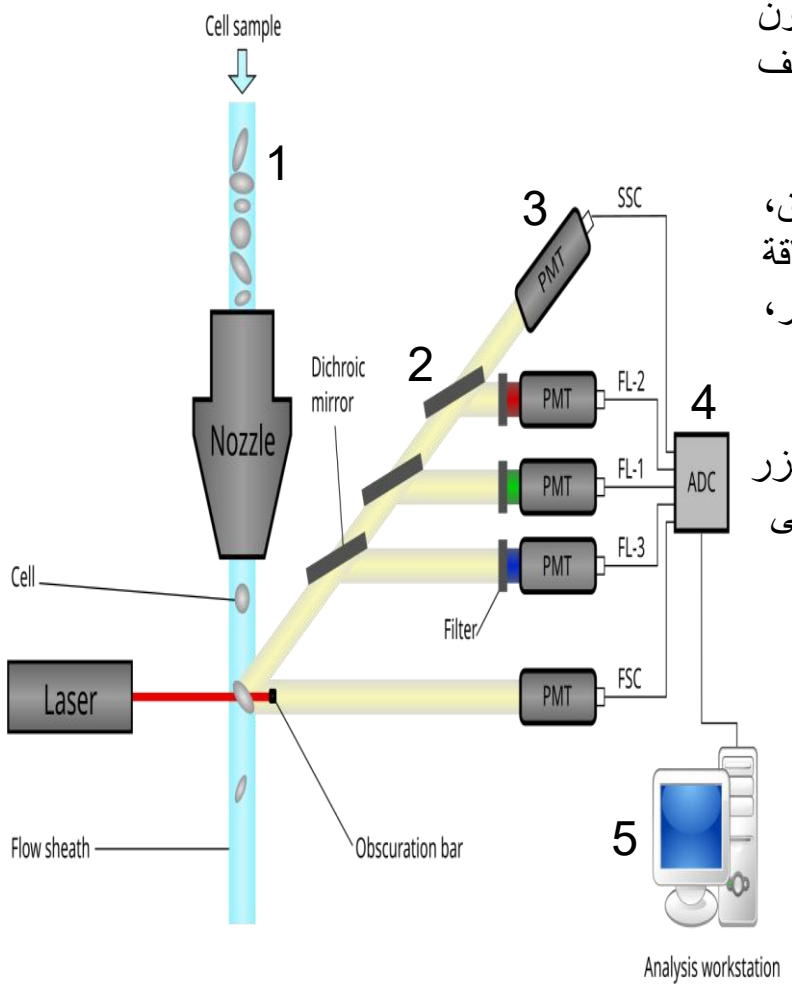


تاريخ تقنية flow cytometry



مكونات جهاز تقنية flow cytometry

يتكون من ثلاث مكونات رئيسية: نظام الموائع fluidics، نظام البصريات optics system، نظام الإلكترونيات electronics system.



شكل(2): مكونات جهاز تقنية Flow cytometry

fluidics

1-حجرة التدفق flow cell

تحتوي حجرة التدفق على تيار سائل (سائل الغلاف) عادة يكون محلول ملحي منظم، يحمل الخلايا ويصطفها بحيث تمر في صف واحد عبر شعاع الضوء ليتم استشعارها.

optics system

2-نظام قياس measuring system

يستخدم الأنظمة البصرية، التي تتضمن: مصابيح (مثل الزئبق، الزينون)، ليزرات عالية الطاقة مبردة بالماء، ليزرات منخفضة الطاقة مبردة بالهواء، ليزرات الصمام الثنائي (الأزرق، الأخضر، الأحمر، والبنفسجي) التي تنتج إشارات ضوئية.

3-كاشف detector

يقوم بتجميع الاطوال الموجية المنبعثة بعد تفاعل الجسيم مع شعاع الليزر المتناثر للأمام (FSC) والضوء المتناثر جانبيًا (SSC)بالإضافة إلى الإشارات الفلورية الخاصة بالأصباغ.

electronics system

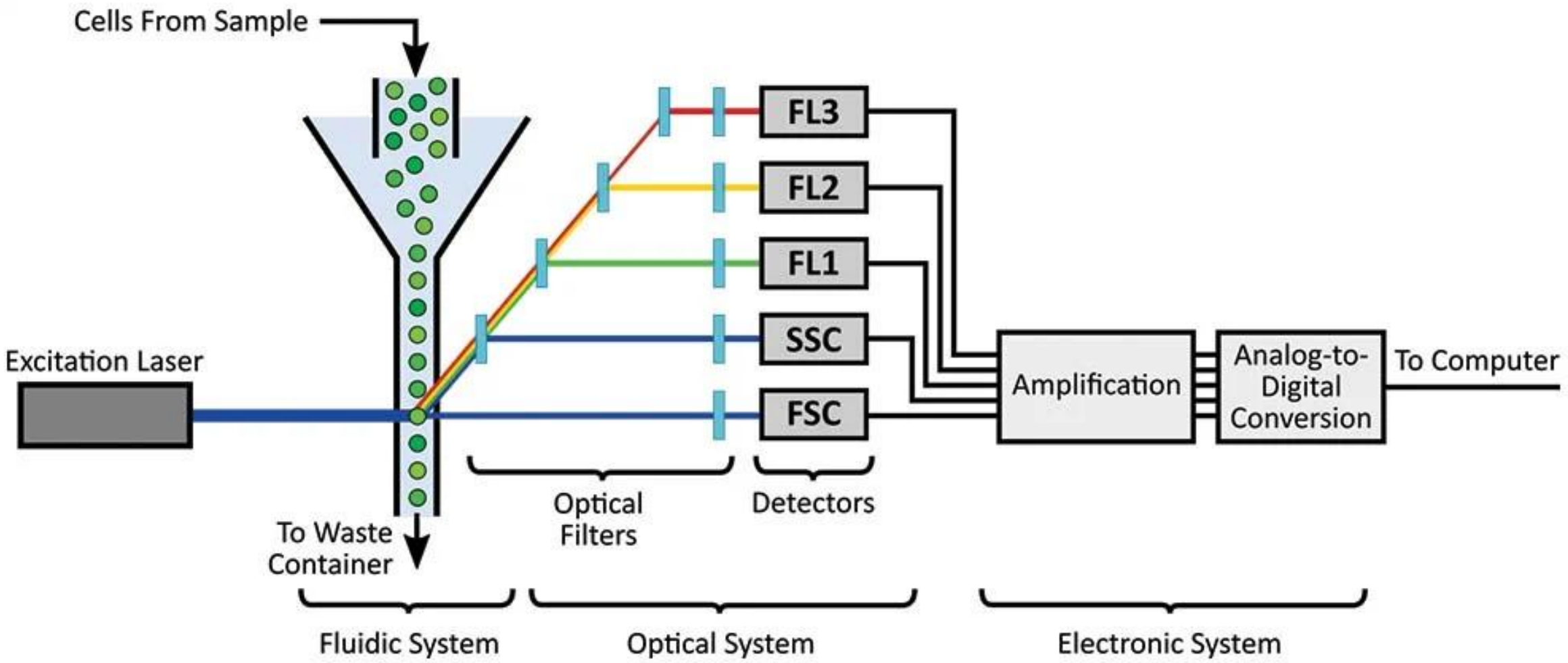
4-نظام تضخيم amplification system

يحول نظام التضخيم الإشارات الصادرة عن الكواشف إلى إشارات رقمية.

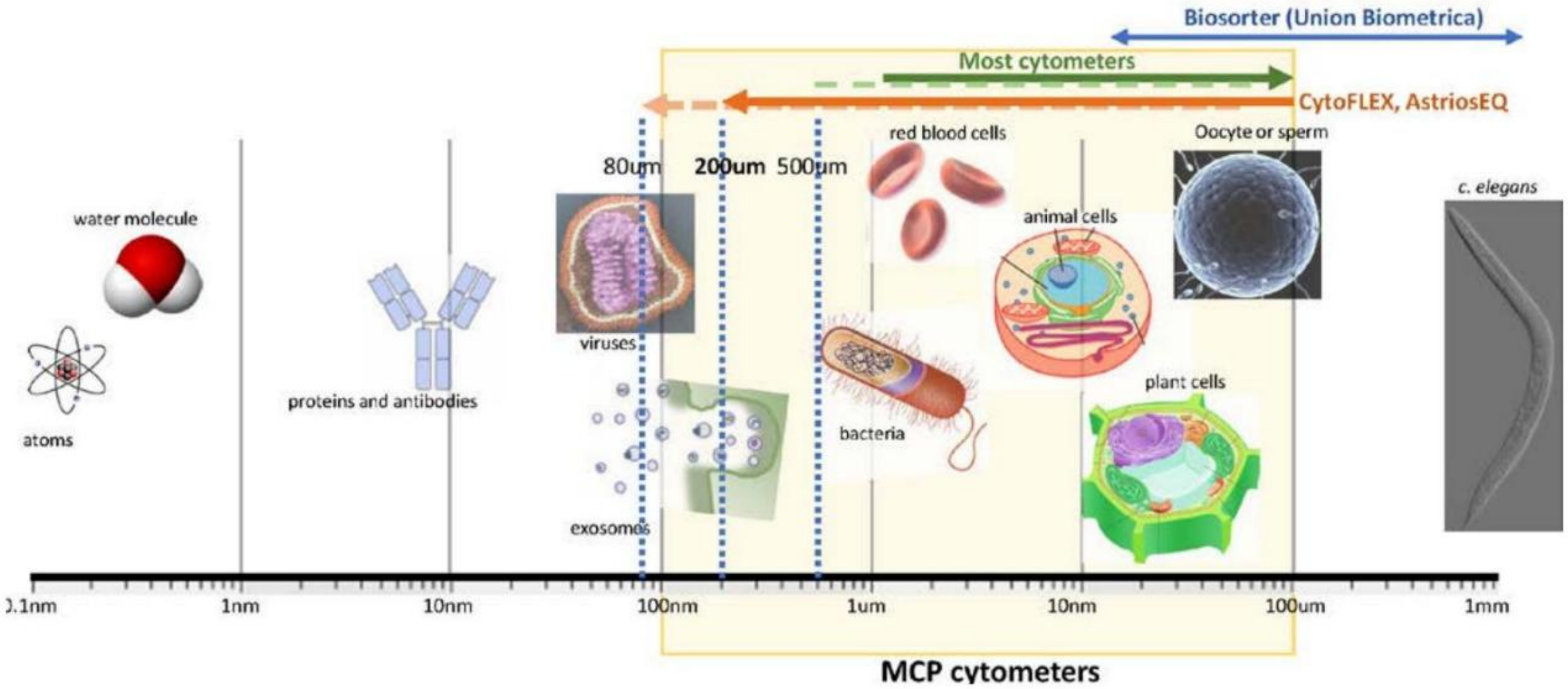
5-حاسوب لتحليل الإشارات computer for analysis of the signals

تحليل ومعالجة ما يقرب من 10,000 خلية في أقل من دقيقة، وإنشاء تقرير.

Flow Cytometry



شكل(3): رسم تخطيطي يوضح مكونات جهاز تقنية Flow cytometry



شكل(4): الجسيمات التي تم تحليلها بواسطة قياس التدفق الخلوي Flow cytometry

أنواع أجهزة FLOW CYTOMETRY

هناك أنواع مختلفة من أجهزة قياس التدفق الخلوي تعتمد على الغرض والدقة المطلوبة في العملية:

1. جهاز التدفق الخلوي التقليدي Traditional flow cytometers

تعد أجهزة القياس التقليدية الأكثر شيوعًا، ولعبت دورًا أساسيًا في العديد من التطبيقات مثل علم المناعة، الأمراض المعدية، وعلم الأورام.

2. جهاز التدفق الخلوي بالتركيز الصوتي Acoustic Focusing Cytometers

تستخدم الموجات فوق الصوتية لتركيز الخلايا من أجل التحليل، مما يساعد في منع انسداد العينة ويسمح بإدخال كميات أكبر من العينات.

3. جهاز التدفق الخلوي التصويري Imaging Flow Cytometer

يعمل بنفس آلية الجهاز التقليدي، ولكنه يتميز بقدرته على توفير صور لكل حدث يتم تحليله. تجمع هذه التقنية المتطورة بين سرعة وخصائص التحليل الكمي التي يوفرها التدفق الخلوي التقليدي مع خصائص التصوير الدقيقة التي يوفرها الفحص المجهري، مما ينتج عنه أداة فريدة تدمج بين التحليل الكمي والتصوير البصري.

4. جهاز التدفق الخلوي الطيفي الكامل Full Spectrum Flow Cytometer

يعتمد التدفق الخلوي الطيفي الكامل على نفس مبادئ التدفق الخلوي التقليدي، ولكنه يختلف في قدراته البصرية. ففي التدفق الخلوي التقليدي، يتم قياس قمة الانبعاث فقط لصبغة فلورية (مثل APC عند 660 نانومتر)، بينما في التدفق الخلوي الطيفي الكامل، يتم استخدام التوقيع الطيفي الكامل للصبغة (مثل APC بين 600 و750 نانومتر).

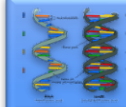
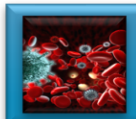
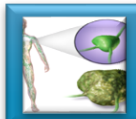
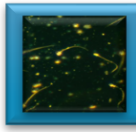
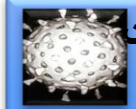
5. جهاز فرز الخلايا بالتدفق الخلوي Cell Sorter Flow Cytometer

يطبق هذا الجهاز مبادئ التدفق الخلوي ولكنه مصمم خصيصًا لفرز الخلايا المستهدفة من عينة غير متجانسة والاحتفاظ بها لإجراء تحليلات إضافية، وفصل الخلايا الموجبة عن الخلايا السالبة.

التطبيقات



لدى هذه التقنية تطبيقات في العديد من المجالات، بما في ذلك

- علم الأحياء الجزيئي 
- مجال الطب 
  - مجالات زراعة الأعضاء 
  - أمراض الدم 
  - الأورام 
  - العلاج الكيميائي 
  - فرز الحيوانات المنوية لاختيار الجنس 
- علم الأمراض 
- علم الفيروسات 
- علم الأحياء النباتي 
- علم الأحياء البحرية 

- قد تم تكييف استخدام قياس التدفق الخلوي للاستخدام في مياه الصرف الصحي لتحديد أعداد البكتيريا الحية والميتة، مما يرتقي بتقييمات الصحة إلى مستوى أعلى
- يستخدم لحساب عدد خلايا CD4 T في دم شخص مصاب بفيروس نقص المناعة البشرية HIV، يساعد هذا التحليل في تقييم صحة الجهاز المناعي وتتبع أي ضرر يسببه الفيروس.
- يستخدم لحساب عدد الخلايا الشبكية (خلايا الدم الحمراء الغير ناضجة) في نخاع العظم، مما يساعد في تحديد سبب فقر الدم. كما يمكن استخدامه لتقييم صحة نخاع العظم بعد عملية زرع النخاع أو بعد العلاج الكيميائي.
- يطبق في زرع الأعضاء البشرية، ويعمل التحليل قبل عملية زراعة الأعضاء، سواء كان الشخص متبرعًا أو مستلمًا للعضو.
- تحليل عدد الحيوانات المنوية، كما يستخدم في اكتشاف تشوهات الحيوانات المنوية المرتبطة بتجزئة الحمض النووي في اختبارات خصوبة الذكور.
- يمكن استخدام نتائج التدفق الخلوي لتشخيص وتصنيف سرطان الدم (اللوكيميا) أو سرطان الغدد الليمفاوية.
- يُستخدم لتقييم وظيفة الصفائح الدموية وتخثر الدم.
- وبشكل مكثف يساعد الأبحاث في الكشف عن محتوي الاحماض النووية وتلفها.
- يطبق في دراسة البكتيريا المقاومة للأدوية المتعددة للكشف عنها، والتفريق بينها، وتحديد كميتها في الدم.
- يتم استخدامه لتحديد متغيرات البروتين وهندسة البروتين .

الايجابيات وسلبيات تقنية FLOW CYTOMETRY

الايجابيات:

- سريعة جدًا في قياس عشرات الآلاف من الجزيئات في الثانية.
- يجمع عددًا كبيرًا من نقاط البيانات، مما يسمح بإجراء تحليل إحصائي قوي.
- يوفر قدرًا هائلًا من المعلومات، حيث يتم قياس العديد من الخصائص الفيزيائية والكيمائية في وقت واحد، مما يسمح بتمييز المجموعات المختلفة ووظائف الخلايا.
- توفر بيانات نوعية، وكمية غير متحيزة.
- يمكن استرداد الخلايا النقية والمعقمة والحية للاستخدامات اللاحقة مثل الاستزراع.

السلبيات:

- التكلفة المرتفعة للأجهزة والكواشف.
- الحاجة إلى فنيين مدربين تدريباً عالياً لتشغيل الأجهزة وتحليل البيانات.
- العملية تستغرق العملية وقتاً طويلاً، خاصة عند فحص عدد كبير من العينات أو إجراء تحاليل معقدة.
- تتأثر النتائج بعوامل مختلفة مثل جودة العينة وخصائصها الفيزيائية.
- قد لا يكون قياس التدفق الخلوي مناسبًا لجميع أنواع الخلايا أو التطبيقات.

الاستنتاج



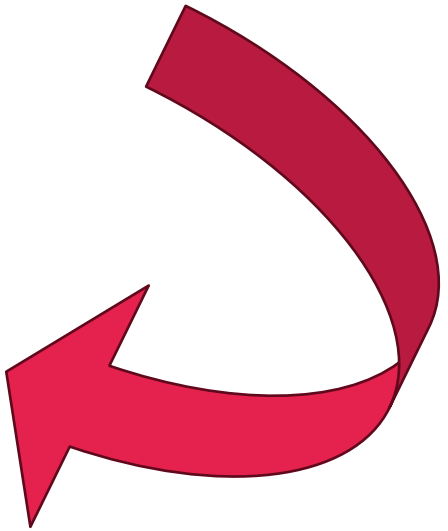
يعد قياس التدفق الخلوي من الأدوات المتطورة التي أحدثت ثورة في الأبحاث الطبية والبيولوجية، حيث مكن العلماء من تحليل الخلايا بدقة وكفاءة عالية. والكشف عن التغيرات البيولوجية المختلفة بفضل قدرته على فرز وتصنيف الخلايا بناءً على خصائصها الفيزيائية والكيميائية، وأصبح لهذه التقنية دور حاسم في مجالات متعددة، مثل علم المناعة، وعلم الأورام، والتشخيص الجيني، وعلم الأعصاب، وعلم الأحياء الدقيقة، حتى في التطبيقات السريرية المتعلقة بالعلاج الشخصي ومراقبة فعالية العلاجات. ومع استمرار التطورات التكنولوجية، مثل دمج الذكاء الاصطناعي وتحليل البيانات المتقدم، من المتوقع أن يصبح قياس التدفق الخلوي أكثر تطورًا ودقة، مما يفتح آفاقًا جديدة في تشخيص الأمراض وعلاجها، بالإضافة إلى فهم العمليات البيولوجية على مستوى الخلايا بشكل أعمق.

الخاتمة

وفي الخاتمة، يمكنا القول إن تقنية التدفق الخلوي تمثل ثورة في العلوم البيولوجية والطبية والبحث العلمي، وستظل واحدة من الأدوات الأساسية التي تعمل على تحسين التشخيصات الطبية، ومتابعة تطور الأمراض، وتطوير الاستراتيجيات العلاجية، وهو ليس مجرد تقنية مخبرية، بل هو أداة حيوية تساهم في إنقاذ الأرواح وتحسين جودة الحياة.



امسح على الباركود



المراجع

- Fulwyler, M. J. (1965). Electronic separation of biological cells by volume. *Science*, *150*(3698), 910-911.
- Dittrich, W., & Gohde, W. (1973). *U.S. Patent No. 3,761,187*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Osborn, R. A. (1971). Cytology Automation| Cytology Automation. Proceedings of Second Tenovus Symposium, DMD Evans (Ed.), E. & S. Livingstone Ltd, Edinburgh and London (1970), p. 275, Cardiff. 24th-25th October 1968, numerous figs.
- Kamentsky, L. A. (1973). Cytology automation. *Advances in biological and medical physics*, *14*, 93-161.
- Zamora, J. L. R., & Aguilar, H. C. (2018). Flow virometry as a tool to study viruses. *Methods*, *134*, 87-97.
- Murphy, R. W., Lowcock, L. A., Smith, C., Darevsky, I. S., Orlov, N., MacCulloch, R. D., & Upton, D. E. (1997). Flow cytometry in biodiversity surveys: methods, utility, and constraints. *Amphibia-Reptilia*, *18*(1), 1-13.
- Gorczyca, W., Traganos, F., Jesionowska, H., & Darzynkiewicz, Z. (1993). Presence of DNA strand breaks and increased sensitivity of DNA in situ to denaturation in abnormal human sperm cells: analogy to apoptosis of somatic cells. *Experimental cell research*, *207*(1), 202-205.
- Evenson, D. P. (2017). Evaluation of sperm chromatin structure and DNA strand breaks is an important part of clinical male fertility assessment. *Translational andrology and urology*, *6*(Suppl 4), S495.
- Tanaka, T., Halicka, H. D., Huang, X., Traganos, F., & Darzynkiewicz, Z. (2006). Constitutive histone H2AX phosphorylation and ATM activation, the reporters of DNA damage by endogenous oxidants. *Cell cycle*, *5*(17), 1940-1945.
- MacPhail, S. H., Banáth, J. P., Yu, Y., Chu, E., & Olive, P. L. (2003). Cell cycle-dependent expression of phosphorylated histone H2AX: reduced expression in unirradiated but not X-irradiated G1-phase cells. *Radiation research*, *159*(6), 759-767.
- Darzynkiewicz, Z., Juan, G., Li, X., Gorczyca, W., Murakami, T., & Traganos, F. (1997). Cytometry in cell necrobiology: analysis of apoptosis and accidental cell death (necrosis). *Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, *27*(1), 1-20.
- Edgar, R. H., Noel, C., Minard, A., Fernandez, R., Fitzpatrick, M., Sajewski, A., ... & Viator, J. A. (2019, February). Identification of MRSA infection in blood using photoacoustic flow cytometry. In *Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2019* (Vol. 10878, pp. 520-528). SPIE.

- Biotech, M. (2018). Flow cytometry instrumentation – an overview. Current Protocols in Cytometry, e52. DOI: 10.1002/cpcy.52
- McKinnon K. M. (2018). Flow Cytometry: An Overview. *Current protocols in immunology*, *120*, 5.1.1–5.1.11.
- Dean, P.N. and Hoffman, R.A. (2007), Overview of Flow Cytometry Instrumentation. Current Protocols in Cytometry, 39: 1.1.1-1.1.8.
- Menon, V., Thomas, R., Ghale, A. R., Reinhard, C., & Pruszak, J. (2014). Flow cytometry protocols for surface and intracellular antigen analyses of neural cell types. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (94), 52241.
- Antypas, H., Veses-Garcia, M., Weibull, E., Andersson-Svahn, H., & Richter-Dahlfors, A. (2018). A universal platform for selection and high-resolution phenotypic screening of bacterial mutants using the nanowell slide. *Lab on a Chip*, *18*(12), 1767-1777.
- Davey, H. M. (2011). Life, death, and in-between: meanings and methods in microbiology. *Applied and environmental microbiology*, *77*(16), 5571-5576.
- AlQahtani, F. S. (2015). Application and Disadvantages of Flow Cytometry in Hematopathology: A Brief Review. *Bahrain Medical Bulletin*, *37*(2).
- Du, X., Chen, X., Gao, C., Wang, J., Huo, X., & Chen, J. (2025). Recent Developments (After 2020) in Flow Cytometry Worldwide and Within China. *Biosensors*, *15*(3), 156.

المواقع الالكترونية

- Boskey.(2024).verywellhealth.What Is Flow Cytometry?A laboratory technique used to identify and count cells.https://www.verywellhealth.com
- Aryal and Sapkota.(2022).microbenotes.Flow Cytometry-Definition, Principle, Parts, Steps, Types, Uses.https://microbenotes.com/flow-cytometry