كلية العلوم **المرحلة الثالثة**

قسم علوم الحياة **التقنيات الاحيائية**

طرق تحطيم الخلايا: Methods of Cell Breaking

هناك العديد من التقنيات التي تستخدم لتحطيم الخلايا من اجل استخلاص الجزيئات الحيوية المطلوبة الموجودة فيها وفيما يلي أهم هذه الطرق:

اولا": التقنيات الميكانيكية: Mechanical Techniques

١. تقنية السحق الآلي: Automated Milling Technique

في هذه التقنية يستخدم الهاون Mortar والمدقه (يد الهاون) Pestle لتحطيم الخلايا، هنا توضع العينة المراد سحقها في الهاون ثم تضاف لها بعض المواد لتسهيل عملية سحقها ومنها مادة النتروجين السائل التي تمتاز بأنها ذات درجة حرارة - ١٧٦°، عند إضافتها إلى العينة وبعد السحق الجيد تتحول العينة إلى مسحوق Powder ، وفي عدم توفر هذه المادة يمكن استخدام الرمل او مسحوق الزجاج والذي يضاف بكميات مناسبة لكمية العينة المستخدمة.

٢. تقنية استخدام المكسرات الميكانيكية: French Press Technique

تعتمد التقنية على تكسير الخلايا من خلال وضعها في محلول واستخدام الضغط والتفريغ في أجهزه ميكانيكية خاصة.

ثانيا": التقنيات الفيزياوية: Physical Methods

١. الموجات الفوق الصوتية: Sonication

يتم تعريض الخلايا لموجات او ذبذبات فوق الصوتية او عالية التردد، تقسم الموجات الصوتية إلى:

أ. موجات صوتية مسموعة تقع ترددتها بين ١٦٠٠٠ – ١٠٠٠٠.

ب. موجات فوق الصوتية Super Sound Waves وتقع ترددتها بين ١٦٠٠٠ – ٢٠٠٠٠.

ت. الأمواج الفائقة Ultrasound Wave والتي تقع ترددتها فوق ٢٠٠٠٠.

تكون الموجات الصوتية ضمن المدى المسموع غير مؤثرة على خلايا الأحياء المجهرية، بينما تؤثر الترددات الفائقة على خلايا الأحياء المجهرية إذ تتسبب في تلف بعض الجزيئات الكبيرة مثل البروتين والأحماض النووية، واستمرار هذه

الترددات يؤدي إلى حدوث اهتزازات عنيفة لمكونات الخلية مما يدمر عضيات الخلية وبالتالي موتها. من مساوئ هذه الطريقة حصول تحطيم للمادة الوراثية والجزيئات البروتينية الكبيرة ولكن هذه الطريقة مفيدة في استخلاص الأنزيمات والمكونات الداخلية على شرط التبريد لذا لا يجوز إطلاق الذبذبات إلا لفترة ٤٠ – ٢٠ ثانية والتوقف للتبريد ولمدة ٦ – ٣ مرات.

٢. التجميد والإذابة: Freezing & Thawing

يؤدي تجميد الخلايا وإذابتها بسرعة لمرتين على الأقل إلى تحطم الأنسجة ولكن هذه الطريقة لها الكثير من المساوئ.

ثالثا": التقنيات الكيميائية: Chemical Techniques

١. استخدام المنظفات: Detergents

يمكن تعريف المنظفات بأنها مركبات ذات نهايتين محبة وكارهة للماء تتداخل مع مكونات أغشية الخلية Lipoprotein وتخترقها مما يؤدي إلى تدميرها وبالتالي إلى النفاذية الكاملة لغشاء الخلية وخروج مكوناتها. يفضل عند استخدام المنظفات تدعيمها بمركب ال EDTA لغرض المحافظة على عضيات الخلية من التلف واحيانا" يستخدم السكروز Sucrose.

هنالك ثلاث أنواع من المنظفات وهي:

١. المنظفات السالبة: Anion Detergents

مثل ال SDS

٢. المنظفات الموجبة: Cation Detergents

مثل ال Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB)

٣. المنظفات المتعادلة : Neutral detergent

مثل Triton X-100

٢. المعالجة الحامضية أو القاعدية: Acid or Base Treatments

وهي محدودة الاستخدام مع الأنظمة الحيوية.

رابعا": الطرائق البيولوجية: Biological Methods

١. استخدام الانزيمات الحالة Hydrolysis Enzymes ومنها استخدام أنزيم Lysozyme.

٢. العاثيات Phages والتي يكون استخدامها محصور في مجال البحوث فقط.

٣. المضادات الحياتية Antibiotics ومنها استخدام البنسلين Penicilin ومشتقاته لتحطيم كبسولة البكتريا الضارية.

الجدول التالي يبين وظيفة كل مادة أو محلول في استخلاص ال DNA:

No.	المادة ام المحلول	الوظيفة