



الفصل الثاني: طرق دراسة الخلية الحصة التوجيهية رقم 3: طرق التجزئة الخلوية وتحت الخلوية

1- تعريف

تتمثل طرق التجزئة الخلوية في فصل المكونات المختلفة للخلية عن طريق تخريب الغشاء البلازمي وذلك لتحليل بنيتها ووظيفتها.

2- مراحل التجزئة الخلوية

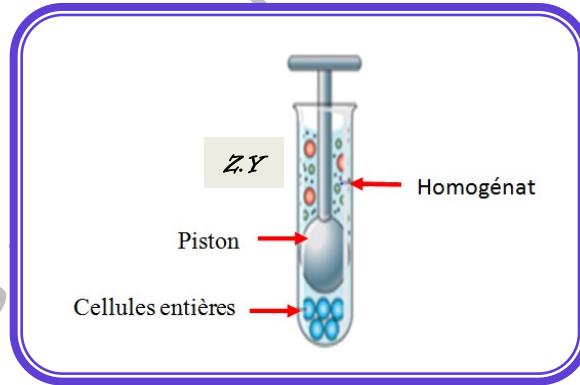
تتم عملية التجزئة الخلوية في مرحلتين:

- **المجانسة (Homogénéisation):** سحق الخلايا
- **التنقية (Purification):** فصل العضيات الخلوية بواسطة الطرد المركزي أو ما فوق الطرد المركزي.

1-2- المجانسة أو الطحن (Homogénéisation ou broyage)

تتضمن عملية المجانسة تخريب الغشاء البلازمي (بالإضافة إلى الجدار الخلوي في حالة الخلايا النباتية والفطرية). تؤدي هذه الخطوة إلى الحصول على مسحوق خلوي متجانس (homogénat) يحتوي على جميع مكونات الخلية. للحصول على مسحوق خلوي متجانس، توضع الخلايا في أنبوب اختبار به محلول متساوي التوتر (isotonique) و يتم تجزئة هذا المعلق بإحدى المعالجات التالية:

- **ميكانيكية:** سحق بواسطة مكبس.
 - **فيزيائية:** بواسطة الموجات فوق الصوتية أو الضغط العالي.
 - **كيميائية:** بواسطة منظفات (أحماض أو قواعد) أو بواسطة إنزيمات.
- يجب أن يفي وسط الطحن بالمتطلبات الكيميائية والأسموزية: له درجة حموضة (pH) متعادلة وتركيبه الأيوني أقرب ما يمكن إلى السيتوبلازم. يعتبر محلول سكرور تركيزه 0.25 مول وسط متساوي التوتر إتجاه معظم العضيات الحويصلية.



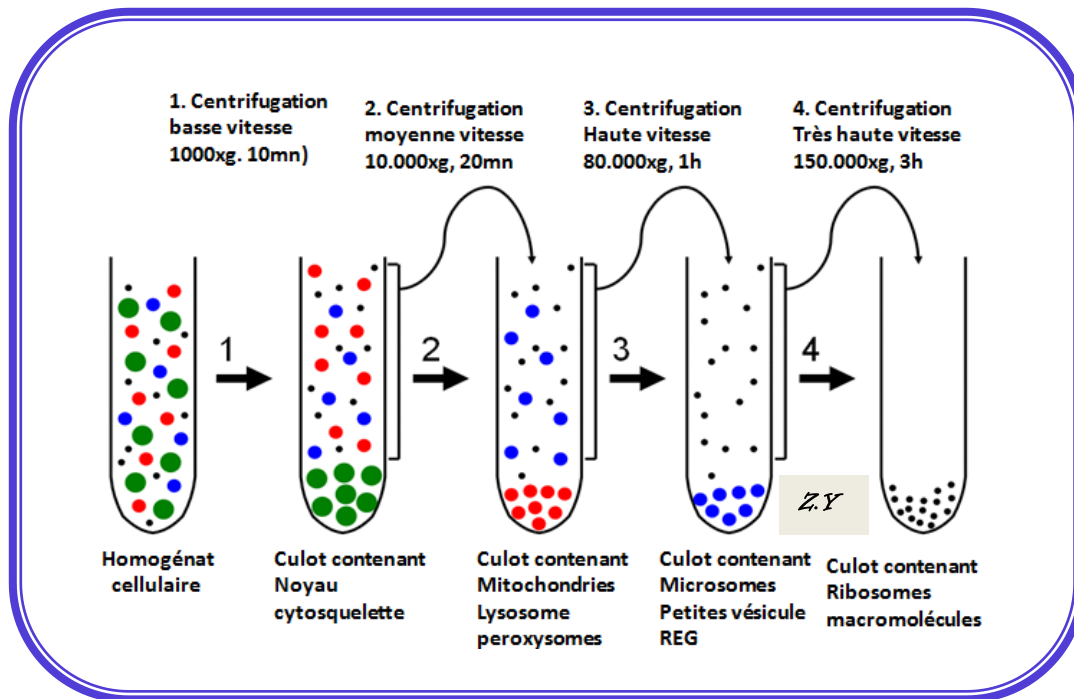
شكل 1: طحن ميكانيكي بواسطة مكبس

2-2- التنقية (Purification)

تتمثل عملية التنقية في فصل البنيات الخلوية إلى أجزاء نقية بواسطة تقنية الطرد المركزي (أو ما فوق الطرد المركزي).

1-2-2- الطرد المركزي التفاضلي

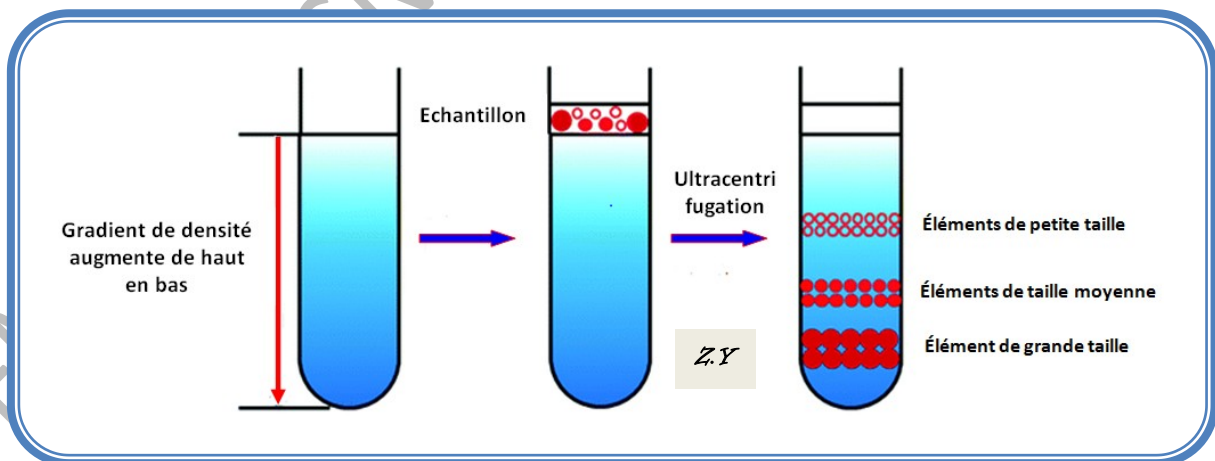
- يخضع المسحوق الخلوي المتجانس إلى سلسلة من عمليات الطرد المركزي ذات أزمنة و سرعات متزايدة.
- يتم تجزئة المستخلص الأولي إلى سلسلة من الرواسب (culots) والسوائل الطافية (surnageants).
- تتوقف سرعة ترسيب الجسيمات (عضيات ، جزيئات ضخمة،...) على حجمها، شكلها و كثافتها ، بحيث تشكل الجسيمات الأكبر حجما والأكثر كثافة في المستخلص الخلوي أول راسب (le premier culot).
- تحدد سرعة الترسيب بواسطة معامل الترسيب المعبر عنه بوحدة Svedberg (S).



شكل 2 : التجزئة الخلوية بواسطة الطرد المركزي و ما فوق الطرد المركزي

2-2-3- الطرد المركزي على وسط متدرج الكثافة

- تسمح تقنية ما فوق الطرد المركزي على وسط متدرج الكثافة، بفصل في مرة واحدة العضيات الخلوية وحتى الجسيمات البيولوجية الصغيرة التي لها سرعات ترسيب متقاربة جداً.
- يتمثل الطرد المركزي على وسط متدرج الكثافة، في وضع طبقة رقيقة من المسحوق الخلوي فوق محلول سكروز الذي يختلف تركيزه بانتظام ويتناقص من أسفل إلى أعلى.
- بعد إجراء الطرد المركزي، يترسب كل عنصر من العينة في منطقة من الأنبوبة تكون كثافتها مساوية لكثافة العنصر، بذلك يتم الحصول على أشرطة مختلفة (تكون الطبقة الأكثر كثافة في الأسفل).



شكل 3: التجزئة الخلوية بواسطة ما فوق الطرد المركزي على وسط متدرج الكثافة