طرائق دراسة الخلية

ان الهدف المباشر من دراسة كيمياء الخلية يكمن في تحديد وجود ومواقع المكونات الكيميائية للخلية. ويتضمن هذا الهدف جانبان هما الجانب الكمي والجانب النوعي وان الخطوة التي تلي تحقيق هذا الهدف تتضمن دراسة التغيرات الديناميكية في التنظيم الكيميائي للخلية والتي يمكن متابعتها في المراحل الوظيفية المختلفة وبهذه الطريقة يمكن اكتشاف دور المكونات الخلوية المختلفة في عمليات الايض metabolism الجارية داخل الخلية. يوجد ثلاث مسالك للبحث في كيمياء الخلية يعتمد في احد هذه المسالك على المجهر فقط حيث يتم تشخيص وقياس المكونات الكيميائية المختلفة الموجودة داخل الخلية بواسطة سلسلة من الطرق الكيميائية والفيزيائية. ويعتمد المسلك الثاني على الطرق التقنية المعروفة في الكيمياء الحياتية (Biochemistry) لعزل الاجزاء المكونة للخلية لغرض بحثها اما بالنسبة للمسلك الثالث فيشتمل على تطبيق الطرق التقنية لدراسة كميات صغيرة جداً من المادة المراد دراستها او حتى اجزاء من الخلية الواحدة ويستخدم في علم حياة الخلية انواع مختلفة من النماذج والطرق التقنية في تحليل النظام الخلوي والكيميائي ولحل مشكلة من المشاكل المتعلقة بهذا العلم تتطلب استخدام نوع واحد او انواع قليلة من الخلايا العائدة لكائنات حية معينة فمثلاً تعتبر الغدد الجنسية للحشرات مناسبة لدراسة الكروموسومات وسلوكها في خلال الانقسامين الاعتيادي Mitosis والاختزالي Meiosisويمكن ان يستخدم لمثل هذا النوع من الدراسة الانسجة المرستيمية للجذور والسيقان او الخلايا الامية لحبوب لقاح النباتات ويمكن ان تدرس مركبات المايتوكوندريا بشكل جيد في المزارع النسيجية Tissue Cultures وتدرس النضوحية الخلوية Cell Permability في خلايا الدم الحمراء Erythrocytes والشرب الخلوي Pinocytosis في الاميبا وبناء البروتين في الخلايا الشبكية Reticulocytes والوراثة الجزيئية في البكتريا والفايروسات .

فحص الخلايا الحية

يمكن فحص الخلايا الحية بصورة مباشرة داخل الكائن الحي (in Vivo) ويسمى هذا النوع من الفحص بالفحص الحيوي Vital examination او بعد نقلها من المكان الحي مباشرة وخارج جسم الكائن الحي in Vitro ويسمى بالفحص فوق الحيوي Supravital examination يمكن اجراء هذين النوعين من الفحوصات على الخلايا عندما تكون في وسط غذائي سائل وعندما تكون بشكل خلايا معزولة متكونة من مقاطع نسيجية ويمكن ان تكون على اغشية شفافة أو على مستوى اعضاء غير شفافة وتستعمل الاصباغ لتحسين الفحوصات والتي ليس لها تأثير أو لها تأثير قليل جداً على الخلايا مثل صبغة الاحمر المعتدل Neutral red واخضر جانس Janes green وازرق تربيان Trypan blue والمثيلين الازرق Metheline blue ويمكن دراسة الخلايا الحية بعدة طرق ومن هذه الطرق مزرعة الخلايا Cell culture وكذلك الجراحة المجهريةMicrosurgery .

Asel Mokdad Hatam Abdulwahed

مزارع الخلايا Cell cultures

هذه الطريقة يمكن ان تجرى من خلال زرع اجزاء صغيرة متكونة من انسجة خلوية مختلفة وقد تكون جنينية حيث توضع في وسط مناسب والذي يساعد الخلايا على التكيف والنمو فيه تلقائياً ويتألف وسط الزرع بصورة عامة من قطرة بلازما او مصل Serum واخرى من السائل الجنيني وحيث توضعان على غطاء شريحة زجاجية Cover glass بعدها تقلب هذه الشريحة وتوضع فوق شريحة زجاجية تملك في وسطها تقعر دائري ثم تشمع حواف غطاء الشريحة الزجاجية المتصلة بالشريحة الزجاجية بشمع البارافين تحضن هذه الشريحة في درجة حرارة مطابقة لدرجة حرارة جسم الكائن الحي الذي اخذت منه قطعة النسيج المزروعة وعند توفر العناصر الغذائية والاوكسجين تنمو الخلايا وتنتشر على المصل او البلازما المتخثرة لتكون منطقة النمو Zone of growth وتمتاز بكونها رقيقة ومناسبة للفحص بواسطة المجهر وهناك ثلاثة انواع من المزارع هي :

- **المزارع الاولية Primary Cultures :**وهي المزارع المأخوذة مباشرة من انسجة الحيوان فيزال العضو ثم يقطع الى اجزاء صغيرة ويعامل مع انزيم التربسين Trypsin الذي يعمل على تفريق الخلايا المتجمعة الى خلايا مفردة عالقة بدون التأثير على فعاليتها بعد ذلك توضع الخلايا في صحون بترى Petri dishes معقمة وبعدها تنقل الى الوسط الزرعي المناسب لتنميتها.
- **المزارع الثانوية :Secondary Cultures**وهي تلي المزارع الاولية حيث يحصل عليها بعد معاملة خلايا المزارع الاولية بالتربسين حيث تزرع هذه الخلايا في صحون بترى معقمة وتنقل الى وسط زرعي جديد.
- **السلالات الثابتة للخلايا Established cell line :** وهي مزارع الخلايا المنماة لفترة طويلة خارج اجسام الكائنات الحية مثال لها خلايا هيلا Hela Cells المأخوذة من سرطان الانسان الغدي Human Carcinoma وخلايا الـ ٣ T3المأخوذة من جنين الفأر وخلايا BHK المأخوذة من كلية صغار الجرذان وخلايا CHO المأخوذة من مبايض الجرذان الصينية ان اختيار المثبت المناسب يتعلق بنوع الدراسة المرغوب عملها والسبب في ذلك يعود الى الاختلاف الكبير سواء أكان من الناحية الكيميائية او التركيبية لمكونات الخلايا او نوعية الفعاليات التي تجري داخلها فمن المثبتات ما هو مختص بالنواة والكروموسومات فقط كالمثبتات الحامضية Acid fixatives مثل حامض الخليك Acetic acid والكحول وغيرها ما هو مختص بالسايتوبلازم كحامض الكروميك Chromic acid ورابع اوكسيد الاوزميوم Osmium tetraoxide ولهذه الاسباب فقد تم استعمال مخاليط من هذه المثبتات لتلافي النقص او الخطأ في عمل مثبت معين ومنها F.A.A المتكون من الفورمالين والكحول المطلق وحامض الخليك. وتكون اغلب المثبتات المستعملة للاغراض البايلوجية سائلة حيث تؤثر بصورة اساسية على الجزء البروتيني للخلية وترسبه فمثلاً الفورمالين والكلوترالديهايد gluterdehyde والدايكروميت Dichromate وكلوريد الزئبق mercuric chloride تقوم بتكوين روابط عرضية قوية بين

Aseel Miqdad Hatam Abdulwahed

جزيئات البروتين فمثلاً تتفاعل الالديهايدات مع مجاميع الامينو والكاربوكسيل والاندول للبروتين لتكون جسور المثيلين methylene bridges مع جزيئات اخرى من البروتين ويمكن توضيح خطوتي التفاعل هذه كما يلي :

$$-N-H + HCHO \longleftrightarrow NH-CH_2OH$$

H

(Amion group) (formaline) (Methylol)

$$-N-H + NH-CH_2OH \longrightarrow NH-CH_2-NH + H_2O$$

H

(Amino group) + (Methylol) ⟶ (Methlene bridge)

اما بالنسبة لأملاح الكروم مثل Potassium dichromate فتكون رابطة الكروم Chromium link وكذلك ترتبط مع الدهون المفسفرة .Phospholipids في حين يكون كلوريد الزئبق رابطة الزئبق Mercury Linkage مع اجزاء مختلفة من جزيئة البروتين وينتقل المثبت خلال النسيج بواسطة الانتشار Diffusion لذلك فلهذا السب يكون لكل نسيج مثبت حيث يتدرج تثبيت الخلايا فيه Graduation of Fixation حسب سرعة نفاذية المثبت وعلى تخفيفه المثالي داخل النسيج كما ويعتمد ايضاً على الحاجز البروتيني المترسب في حواف النسيج لذلك يقطع النسيج الى مقاطع صغيرة يكون سمكها بين ٠.٥-١ نانوميتر لضمان تثبيت جميع الخلايا بصورة متساوية .

التجميد والتجفيف Freeze-Drying

تعتبر هذه الطريقة الحالة الوسطى بين فحص الخلايا الحية او المثبتة بواسطة المثبتات وتتضمن هذه الطريقة غمر الانسجة في سوائل باردة جداً كسائل الهليوم النايتروجيني (-١٦٠مْ الى -١٩٠مْ) وبعدها ينقل النسيج الى جهاز مفرغ للهواء تحت درجة (-٣٠مْ) الى (-٤٠مْ)حيث يتحول الماء الموجود في النسيج الى غاز يمكن التخلص منه بواسطة مفرغة الهواء ومن ثم يقطع النسيج ويدرس وأما اهمية هذه الطريقة فتكون-:

- **عدم انكماش النسيج.**
- **التثبيت يكون متماثل في جميع اجزاء النسيج .**
- **الحفاظ على المواد الذائبة للخلايا المكونة للنسيج .**

Aseel Mokdad Hatam Abdulwahed

- **يحافظ على تركيب الخلايا ومكوناتها الكيميائية بصورة عامة عدا بعض التغيرات القليلة جداً تحدثها البلورات الثلجية .**
- **من الممكن تثبيت الخلايا بهذه الطريقة في لحظات حرجة كدراسة خلايا معينة عند فرزها مواد ملونة مثلاً .**

التخلل والطمرInfiltration and Embedding

بعد ان يتم تثبيت النسيج من خلال المرور في سلسلة من الكحولات حيث تكون تصاعدية (٥٠% ، ٦٠% ، ٧٠% ، ٨٠% ، ٩٠% ، ٩٥% ، ١٠٠%، ١٠٠% مرة ثانية) بعد ذلك توضح الانسجة او الخلايا وذلك باستعمال مواد مثل الزايلول و التولوين ثم توضع في شمع البارافين الذائب لكي يتخلل البارافين داخل الانسجة والخلايا ثم توضع في قوالب من شمع البارافين وعند تركه يبرد فأنه يتجمد بسرعة حيث تكون هذه القوالب جاهزة لعمل مقاطع مناسبة للفحص بالمجهر الضوئي ويتضمن شمع البارافين انواع عديدة تختلف في درجة انصهارها Melting point والتي تتراوح بين ٥٠ْC الى ٦٨ْC وان سمك المقاطع المطلوبة ونوعية الانسجة هي التي تحدد النوع الذي يستعمل فضلاً عن تأثير درجة حرارة المختبر الذي يتم العمل فيه.

ومن المواد الاخرى التي تستخدم لنفس الغرض السيلويدين Ciloidin والمتكونة من مواد سليلوزية ومن مميزات العمل بهذه المواد انها تستعمل للتخلل السريع في الانسجة وتكوين قوالب اصلب من قوالب البارافين .

ومن الجدير ذكره مايتعلق بالمجاهر الالكترونية EM حيث للمجاهر الالكترونية يستعمل مواد بلاستيكية Resins بدلاً من شمع البرافين والمواد السليلوزية والسبب يعود الى ثبات هذه المواد البلاستيكية تحت سيل الالكترونات وهنالك انواع مختلفة منها وهي.Sparr , Methacrylate , Vestopal , Epory :

الصبغStaining

يلاحظ ان اغلب الاصباغ المستعملة في صبغ الخلايا هي عبارة عن مركبات عضوية اروماتية Aromatic dyes ويوجد نوعين اساسين من الاصباغ وهي الاصباغ القاعدية والاصباغ الحامضية وتتألف كل صبغة من جزئين .

الجزء الحامل للصبغةChramophoric group

ويكون قاعدي التفاعل في الاصباغ القاعدية ومن الامثلة عليها مجموعة الازو azo group(-N=N-) ومجموعة الاندامين indamin group(=N-) واما في الاصباغ الحامضية فيكون الجزء الحامل للصبغة حامضياً ومن الامثلة عليها مجموعة النايترو

Asel Mokdad Hatam Abdulwahed

Nitro group -NO2-))ومجموعة الكوينويدquinoid

(= O o-).

الجزء المساعدAuxochrome

ويتم بواسطة الجزء المساعد اتحاد الصبغة بالنسيج ويكون جزء قاعدي او حامضي حسب نوع الصبغة فمثلاً Picric acidوهو صبغة حامضية تحتوي على ثلاث مجاميع نايترو (NO2) ومجموعة (OH)

ميكانيكية (آلية) الاصطباغMechanism of Staining

ان تأين الكثير من المواد في الخلية يعتمد على الوسط الذي توجد فيه فمثلاً البروتينات وقسم من السكريات المتعددة والاحماض النووية والتي قد تتأين اما كقاعدة او كحامض. حيث ان آليةاصطباغ البروتينات تعتمد على تأين مجاميعها الحامضية (مجاميع الهيدروكسيل OH والكاربوكسيل COOH والكبريتيك HSO4 والفوسفوريك H2PO4) او على تأين مجاميعها القاعدية مثل مجموعة الامينو . NH2 لذلك فان قابلية اخذ صبغة معينة يعتمد على الاس الهيدروجيني pHللمحيط فمثلاً يكون اصطباغ البروتين في حدوده الدنيا عندما يكون الوسط pH عند نقطة التعادل الايوني Iosoelectris point (=6)ويصطبغ البروتين بالاصباغ الحامضية عند pH اقل من نقطة التعادل الايوني (اقل من ٦) ويصطبغ بالاصباغ القاعدية عند pH اعلى من نقطة التعادل الايوني (اعلى من ٦. (

وتعد اصباغ Crystal violet , methylene blue من الاصباغ القاعدية اما الامثلة على الاصباغ الحامضية فهي Aniline blue, Eosin , Orange Gوتؤثر درجة حموضة او قاعدية الوسط وعدد المجاميع الحامضية او القاعدية على شدة الاصطباغ. اما مايخص الحوامض النووية Nucleic acids فان تحلل مجموعة الفوسفات هي التي تحدد الشحنة الكهربائية الايونية النهائية. وتصطبغ الحوامض النووية عند pH قليل وذلك لكون نقطة التعادل الايوني لها هي عند .pH=2 ولهذا السبب فهي تصطبغ بالاصباغ القاعدية مثل Toluidine blue , Azure B فالاول يستعمل بصورة كثيرة فعلاً لصبغ ألـRNA.

Metachromasis

تتضمن هذه الظاهرة تكون تركيب داخل الخلية بلون هو غير الصبغة الاصلية في المحلول وتشمل هذه الحالة بعض الاصباغ القاعدية مثل Toluidine ، Azure Bوتبرز هذه الظاهرة مثلاًَ في حالة الاحماض الامينية او السكريات

Aseel Mokdad Hatam AbdulWahed

المتعددة المخاطية Mucopolysaccharides وبالاخص تلك الحاوية على مجموعة الـ Sulfate وهذه الظاهرة يمكن ان تعزى الى نوعية الجزيئات Dimeric او Polymeric المتكونة من تفاعل الصبغة مع المادة المراد تلوينها .

طرق تكسير الخلايا Cell fractionation Methods

ان هذه الطرق تتضمن العمل على تجانس او تحطيم الخلايا بطرق ميكانيكية او كيميائية نتيجة فصل الاجزاء الخلوية المكسرة وفقاً لكتلتها وسطحها ووزنها النوعي وبعدها تحليل هذه الاجزاءالخلوية بطرق الكيمياء الحياتية والكيمياء الدقيقة فضلاً عن دراستها بالمجهر الالكتروني. وان هذه الطرق التقنية مهمة لدراسة التركيب الكيميائي للعضيات الخلوية organellsالمختلفة. يوجد عدة طرق لتكسير الخلايا ومعظم هذه الطرق تستند على تحضير محاليل او اوساط مائية متكونة عادة من محاليل السكروز Sucrose بتراكيز مختلفة تعمل على تحطيم الخلايا ميكانيكياً لحين تجانسها ويمكن ايضاً تكسير الخلايا في اوساط غير قطبية Nonpolar media وكما في طريقة بيهرين Behrene s method التي تستخدم لفصل الانوية ولهذه الطريقة اهميتها لاختزالها كمية المواد الذائبة المفقودة ومنها البروتينات وانزيمات معينة.

ولا بد من التفريق بين مصطلح الاجزاء المكسرة للخلية cell fractions والعضيات الخلوية cell organells فمثلاً ان اجزاء المايتوكوندريا التي حصل عليها من تحطيم خلايا الكبد تحتوي بصورة رئيسية على المايتوكوندريا بينما اجزاء المايتوكوندريا التي حصل عليها من تكسير خلايا الدماغ فتكون غير متجانسة حيث تحتوي على النهايات العصبية والنخاع myelin اضافة الى مايتوكوندريا حرة. أما المايكروسومات microsomes فهي ليست عضيات خلوية وان الميكروسوم التي حصل عليها بعد تكسير الخلايا يتألف بصورة رئيسية من الاجزاء المكسرة للشبكة الاندوبلازمية بضمنها الرايبوسومات ومعقد كولجي واغشية اخرى. ويمكن ان نوضح خطوات عزل المكونات الخلوية كما يلي: يحصل من تكسير الخلايا بالطريقة القياسية على اربع اجزاء Fractions رئيسية وهي كما يلي حسب تسلسل الحصول عليها من الطردالمركزي .

- **اجزاء تحتوي على الانوية Nuclear fractions .**
- **اجزاء تحتوي على المايتوكوندريا Mitochondrial fractions .**
- **اجزاء تحتوي على المايكروسوماتMicrosomal fractions .**
- **اجزاء تحتوي على مواد ذائبة Soluble material .**

أ- **تجانس Homogenization** النسيج بطريقة من طرق تكسير الخلايا المختلفة وتجري عملية التكسير او التحطيم في محلول السكروز وبتركيز (٠.٢٥ .(M

Aseel Mokdad Hatam Abdulwahed

ب- عند استعمال جهاز الطرد المركزي بسرعة 700 × g ولمدة عشر دقائق فان الراسب الاول (راسب ١) يحتوي على الانوية وخلايا كاملة اما المحلول الطافي الاول (محلول طافي ١) فتجري عليه الخطوة التالية .

ج- يوضع المحلول الطافي الاول في الخطوة اعلاه في جهاز الطرد المركزي بسرعة 5000 × g ولمدة عشر دقائق يتكون الراسب الثاني (راسب (II في قعرانبوب الاختبار الذي يحتوي على المايتوكوندريا ويعتبر المحلول الطافي هو الثاني (محلول طافي .(II

د- يعاد تشتيت المحلول الطافي الثاني في الخطوة اعلاه ويوضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة 24000 × g ولمدة ١٠ دقائق ايضاً فيتكون راسب مشابه للراسب ((II من حيث محتواه حيث يحتوي ايضاً على المايتوكوندريا والمحلول الطافي في هذه الحالة هو رقم II a)) أي الثاني المكرر.

هـ- عند وضع المحلول الطافي II a)) في جهاز الطرد المركزي بسرعة 54000 × g ولمدة ستون دقيقة تتسرب الميكروسومات Microsomes الراسب الثالث أي (راسب III) اما المحلول الطافي الثالث (محلول طافي III) فيحتوي على مواد ذائبة .

ان هذه الطريقة والمستعملة لفصل الاجزاء الخلوية تعرف بطريقة الطرد المركزي التباينية Differential Centrifugationويستخدم في هذه الطريقة جهازين للطرد المركزي هما جهاز الطرد المركزي القياسي Standard Centrifugesوجهاز الطرد المركزي الفائق .Ultacentrifuge اما بالنسبة الى المدة التي تحتاجها كل جزيئة لكي تترسب وتستقر في قعر انبوب الاختبار فتعتمد على حجمها وكثافتها ويمكن ان نحسن طريقة تكسير الخلايا من خلال استخدام درجات ميل او انحدار الكثافة gradient Density المستمرة Continuous وغير المستمرة .discontinuousفي هذه الحالة يواصل عمل جهاز الطرد المركزي لحين وصول الجسيمات المتنوعة حالة التوازن مع درجة انحدار الكثافة .

التصوير الاشعاعي الذاتيAutoradiography

تجري هذه الطريقة وذلك باستخدام مواد معلمة بالنظائر المشعة Radioisotopes تعطي النظائر المشعة للخلايا ثم تثبت بعد ذلك ويغطي النسيج بمستحلب التصوير المتكون عادة من بروميد الفضة ثم تطبع الصورة المتكونة طبعاً اعتيادياً وتقارن لتحديد موضع آثار النظير المشع بالنسبة للخلايا وبهذه الطريقة يمكن ان نعرف موضع النظير المشع بالضبط. ومن النظائر المشعة المستخدمة كثيراً النظائر المشعة للحوامض الامينية ٣ H-Leucine 3H-thymidine orمثلاً المستعملة في دراسة الـ DNA و RNA او المركبات C14 المستعملة في دراسة التركيب الضوئي .

Freeze – etching

وتستخدم هذه الطريقة لدراسة الاغشية البايلوجية وتجري هذه الطريقة بالتجميد السريع للنموذج وتقطيعه بعد ذلك في جهاز تفريغ الغازات Vacumme عند درجة (-١٠٠)مْ ان سكينة القطع لا تستطيع تقطيع النموذج عند هذه الظروف غير انها تعمل على كسر النموذج على طول خطوط ضعيفة في ترابطها طبيعياً مثل الجزء الوسطي للغشاء البلازمي وتترك القطعة المكسرة في مفرغة الغازات لفترة مناسبة لكي يسمح لبعض الماء من التبخر من السطح المكشوف للخارج وهذا ما يؤدي الى انكماش المساحات الطرية للنموذج قليلاً. وتظلل السطوح المكشوفة للخارج بواسطة طبقة رقيقة جداً من عناصر ثقيلة مثل الكاربون والبلاتين لتزويده بالتباين المناسب يزال بعد ذلك النموذج بواسطة حوامض تاركة نسخة العنصر Metal copy التي يتم فحصها بواسطة المجهر الالكتروني الماسح او النفاذ.

الكروماتوكرافيا Chromatography

تستخدم هذه التقنية في فصل الجزيئات لمواد مختلفة تتواجد مع بعضها في المحلول او في السايتوسول Cytosol حيث يوضع المحلول في وسط غير ذائب والذي يملك الفة مختلفة لجميع جزيئات المحلول ولذلك فالجزيئات سوف تهاجر خلال الوسط بمعدلات مختلفة، ويستخدم من هذه التقنية نوعين هما:

اولاً: Paper chromatography

وهذه التقنية هي طريقة بسيطة لفصل الجزيئات الصغيرة بعضها عن البعض الاخر ولذلك توضع على صفيحة من ورقة مناسبة ثم توضع في وعاء يحتوي مذيب مناسب، ويمكن التمييز في هذه التقنية طبقاً الى هجرات المذيب على الورق من الاسفل الى الاعلى وان مكونات المذاب العالية لخليط النموذج سوف تهاجر من المذيب في الامام ثم تتحرك بقية المكونات ببطئ طبقاً لقابلية ذوبانها ولهذا فان المذيب المختار سوف يحدد سرعة هجرة الجزيئات المفردة. ان هذه التقنية تستخدم لفصل الاحماض الامينية والنيوكليوتيدات وبعض الجزيئات الناتجة عن الايض.

ثانياً: Column chromatography

في هذه التقنية يوضع وسط غير ذائب في انبوبة زجاجية وان طول وعرض هذه الانبوبة سوف يؤثر على فصل الجزيئات. ولغرض فصل الجزيئات توضع في قمة العمود وعند اضافة المذيب تبدأ بالهجرة. ان اختيار المذيب والمادة الناقلة يعتمد على خصائص الفصل. ان المادة الناقلة للشحنات الموجبة سوف ترتبط بالجزيئات الحاملة للشحنات السالبة. وهناك نواقل اخرى تحتوي فتحتان من خلالها تنفذ الجزيئات الاصغر والتي تنزل الى الاسفل. ان المحلول الذي يسيل من

Aseel Mokdad Hatam Abdulwahed

المحلول يجمع بشكل اجزاء صغيرة والتي تحتوي اصناف مختلفة من الجزيئات هذه التقنية مفيدة في فصل خليط من البروتينات وكذلك في عزل الانزيمات مثل السايتوكروم-سي- او انزيم بلمرة الحامض النووي.RNA

الترحيل الكهربائي Electrophoresis

يمكن فصل الجزيئات والجزيئات الكبيرة في حقل كهربائي اذا احتوت هذه الجزيئات شحنات كهربائية وبمقادير مختلفة، وذلك بوضع الخليط على طبقة رقيقة حيث تغطس في حاويتين مملوءة بمحلول ملحي وان احدى هاتين الحاويتين تحمل القطب السالب في حين تحمل الاخرى القطب الموجب. عند امرار تيار كهربائي مستمر فان الجزيئات ذات الشحنة السالبة تهاجر الى القطب الموجب بينما تهاجر الجزيئات ذات الشحنة الموجبة الى القطب السالب، ويمكن ان تكون الطبقة الرقيقة من الورق او الاكار او النشأ. ان معدل هجرة الجزيئات في حقل كهربائي يتحدد بواسطة حجم الجزيئات وعدد المجاميع المشحونة لكل جزيئة. تستخدم هذه التقنية لفصل البروتينات والاحماض النووية ومركباتهما. ومن الانواع الشائعة لهذه التقنية والمستخدمة في علم حياة الخلية هي-:

- Moving boundary electrophoresisوالذي يستخدم لفصل البروتينات.
- Gel or Zone electrophoresisويستخدم ايضاً لفصل البروتينات.
- Discontinuous electrophoresisويستخدم لفصل البروتينات من الغشاء البلازمي
- SDS-PAGEويستخدم لفصل وتحديد حجم الجزيئات الكبيرة كالبروتينات.
- Mexam-Gilbert techniqueويستخدم لفصل اجزاء متعدد النيوكليوتيدات للـ RNA والـ.DNA
- Immuno electrophoresisوتستخدم للمستضدات والاجسام المضادة.

الديلزة Dialysis

وهي طريقة حساسة تستخدم لفصل المركبات ذات الاوزان الجزيئية الصغيرة عن المركبات ذات الاوزان الجزيئية الكبيرة. وفيها يستخدم غشاء رقيق بشكل انبوبة تملأ بالمحلول الحاوي على الجزيئات المراد فصلها. ان حجم الثقوب الموجودة في الغشاء يسمح بانتشار الجزيئات الصغيرة كالاملاح والاحماض الامينية في حين لايسمح بمرور الجزيئات الكبيرة مثل البروتينات والاحماض النووية لذلك تبقى هذه المواد داخل انبوبة الديلزة .

- **المصدر**
- **كتاب علم حياة الخلية:الدكتور عباس حسين مغير الربيعي**

Aseel Mokdad Hatam Abdulwahed