تحطيم الخلايا والانسجة

ان استخلاص الجزيئات الحيوية (مثل الـDNA والـ RNA أو البروتين او الدهون ..) تمثل اهم طريقة في علم البايولوجي الجزيئي، فهي تمثل اول خطوة في دراسة الجزيئات الحيوية. وتعتمد طريقة الاستخلاص على نوع العينة والمكونات المستهدفة التي ترغب في استخراجها.ان تحطيم الخلايا والأنسجة هي الخطوة الاولى في التجربة، كما ان تحطيم الأنسجة يتطلب غالباً تقنيات متقدمة مقارنة بالخلايا المفردة، نظراً لوجود الأنسجة في شكل معقد يحتوي على خلايا متعددة. وهناك طرق مختلفة للتحطيم تختلف وفقاً لطبيعة التجربة. وتصنف الى

طرق كيميائية

تتم باضافة مواد كيميائية مثل المنظفات (Detergents) أو المواد الحافظة لتمزيق جدران الخلايا والأنسجة، ويفضل استخدام الطرق الكيميائية في بكتريا E.coli والمزارع الخلوية.

طرق فيزيائية وميكانيكية

يفضل استخدام الطرق الفيزيائية والميكانيكية في العينات الصلبة مثل البذور والعينات والمغلفة بمواد سميكة التي من غير الممكن ان تحطم بكفاءة باستخدام الطرق الكيميائية. ويمكن تقسيم الطرق الفيزيائية الى :

1- الطحن

يمكن استخدام الطحن للنماذج الرطبة والجافة والمجمدة، يعتمد الطحن على عامل الاحتكاك والذي يؤدي الى توليد حرارة ولهذا تستخدم النماذج المبردة او يستخدم معه النيتروجين السائل كعامل مبرد، ويسخدم في عملية الطحن:

- الهاون : من ميزاته سهل الاستخدام ورخيص الثمن لكنه بطيئ مع النماذج الكثيرة او يسبب ضياع وفقدان جزء من العينات الصغيرة نتيجة الالتصاق به هذه الطريقة مناسبة للخلايا النباتية او الانسجة الحيوانية الصلبة.

- الطحن باستخدام الكريات: سهلة الاستخدام ومتوفرة في جميع المختبرات، تتم باستخدام كريات او حبيبات طاحنة الى انبوب النموذج، تستخدم عادة لخلايا الاحياء المجهرية ويتم تبريد النموذج بالثلج او بغيره او التشغيل بنظام النبضات لتقليل توليد الحرارة.

2- القص

تتضمن تحويل النماذج الى قطع صغيرة وتستخدم لذلك عدة اجهزة منها :

- الخلاط : من ميزاته هو توفره وقابليته للتعقيم وامكانية استخدام كميات كبيرة من العينات، ومن عيوبه انه ممكن ان يكون الرغوة التي تؤدي الى مسخ البروتينات.
- الخلاط ذو الذراع الثابت: ويتكون من ذراع ثابت مرتبط بجزء دوار من ميزاته انه ذو كفاءة عالية في المجانسة لكنه غالي الثمن وهناك صعوبة في تنظيفه كما انه يولد حرارة قد تؤدي الى مسخ البروتينات.

3- الخفق

تشبه الطحن لكنها تستخدم حبيبات زجاجية لتمزيق النموذج دون انتاج حرارة لكن عيوبها هو صغر النموذج المستخدم. وتستخدم لتمزيق خلايا البكتريا والفطريات والخمائر.

4- الصدمة

الصدمة تنتج عن تسليط الضغط على النموذج باستخدام الامواج الصوتية ذات الترددات العالية الامر الذي يؤدي الى توليد فقاعات داخل الخلايا وبالتالي تحطيم الجدار الخلوي، من ميزاتها هي استخدامها للعينات الصغيرة حيث تعمل على تمزيق الخلايا المفردة والمعلق الخلوي والاحياء المجهرية خلال ثوانٍ معدودة، لكنها تولد حرارة قد تؤدي الى مسخ البروتينات.

الاعتبارات الهامة عند اختيار طريقة التحطيم

- **نوع العينة** :هل هي خلايا مفردة أم أنسجة معقدة؟ بعض الطرق مثل الطحن بالهاون قد تكون أفضل للأنسجة، بينما قد تكون الموجات فوق الصوتية أكثر فعالية في تحطيم الخلايا المفردة.
- **حجم العينة** :العينة الصغيرة قد تستفيد من تقنيات مثل الألتراساوند أو التحطيم الميكانيكي. بينما الأنسجة الأكبر تتطلب غالباً معدات متقدمة مثل المجانسات أو الضغط العالي.
- **المواد المستخلصة** :يعتمد اختيار الطريقة على المكون الذي تريد عزله (بروتين، DNA، RNA على سبيل المثال، في حالة استخراج RNA يجب استخدام طرق أكثر رفقًا للحفاظ على استقرار الـRNA .).

لذلك يفضل اخذ الوقت الكافي في البحث عن استخدام الطريقة الافضل للعينة وفي كثير من الاحيان قد يكون الحاجة لاستخدام اكثر من طريقة، مثلا يتم تقطيع الخلايا باستخدام مقص ثم تطحن باستخدام الهاون ثم المجانس الكهربائي.

س/ لماذا يعمل المزج القوي او الفقاعات على مسخ البروتينات؟