

تحري وجود بروتين ذو خواص تلازنية نحو كريات الدم الحمراء للإنسان في مستخلص ثمار الكيوي

مها عبد الكاظم عبد
جامعة الكوفة / كلية العلوم / قسم الكيمياء

الخلاصة :

الكيوي (*Actinidia deliciosa*) نبات ثنائي المسكن أحادي الجنس أشجاره متساقطة الأوراق , تعد الصين موطنه الاصلي, ثماره بيضوية الشكل ذات لون كستنائي ولها العديد من الفوائد الطبية نتيجة لاحتوائها على مركبات كيميائية ومعادن ذات أهمية حيوية لمختلف وظائف الجسم, لذا صممت الدراسة الحالية للتحري عن وجود بعض هذه المركبات في هذه الثمرة ودراسة خصائصها . كخطوة أولى تم استخلاص العصير من الثمرة وإجراء بعض العمليات الكيميائية التي تضمنت إزالة بعض مكونات العصير التي تعيق وتؤثر على دراسة المركبات والعناصر موضوع الدراسة. تم تعيين كمية البروتين الكلية في العينة باستخدام طريقة **Bradford method**, وكانت كمية البروتين التي تم حسابها 325 مايكروغرام لكل مليلتر واحد من العصير. كما تضمنت الدراسة التحري عن نوع خاص من البروتينات السكرية تدعى اللكتينات ودراسة قابليتها على التلازن مع عالق كريات الدم الحمراء لعينة دم إنسان وقد اتبعت طريقة **Lis & Sharon** المعدلة , تلا ذلك إجراء عدة تجارب لتعيين ظروف التلازن المثلى حيث أظهرت نتائج الدراسة بان أفضل عملية تلازن تحدث عند حضن لكتينات مستخلص العصير مع عالق كريات الدم الحمراء لفصيلة الدم B^+ لعينة دم إنسان عند درجة حرارة $30^{\circ}C$ وبفترة حضن مقدارها 45 دقيقة.

المقدمة :

رصد أول اكتشاف للكتينات عام 1888 كأداة تحليلية مهمة في التعرف على فصائل الدم عبر المستضدات (Antigen) على سطوح كريات الدم الحمراء لمختلف فصائل الدم بتوظيف فكرة امكانية التعرف على نوع فصيلة الدم للشخص بتمييزها بنوع معين من السكريات على سطح تلك الكريات له القابلية على التآلف نحو لكتين معين بحد ذاته [1], والكتينات مجموعة واسعة الانتشار من البروتينات غير متجانسة التركيب من مصادر غير مناعية تحتوي على الاقل على وحدتين من السلاسل الببتيدية التي ترتبط بشكل متخصص الى سكريات معينة او الى اجزاء من سكريات معقدة (Glycan) التي توجد ضمن تركيب مركبات السكريات البروتينية او السكريات الدهنية دون ان تحدث تغيرا تركيبيا على الجزء السكري لهذه الجزيئات [2].

نتيجة للتنوع في اللكتينات المكتشفة تنوعت الخصائص الفيزيائية والكيميائية لهذه المركبات مما نجم عنه تنوعاً في ادوارها تبعاً لهذا , ففي الحيوانات تنوعت ادوارها لتشتمل دورها في السيطرة على التخليق والتحليل الحيوي للبروتينات السكرية [3], استحثاث الفعل المناعي كذلك في عملية التلاصق الخلوي واستحثاث الفعل الهرموني ايضا في نمذجة القابلية الالتصاقية , كما تلعب ادوارا مهمة في مراحل التطور الجنيني لها اهمية كبيرة في الترابط الخلوي تلعب دورا محوريا في تنظيم بناء البروتينات ومرورها الى مواقع التشكيل النهائية في جسيمات كولجي واخيرا ظهر الدور البارز للكتينات الحيوية في دعم الفعل التناسلي من عدمه وقد استغلت هذه الخاصية في تسهيل عمليات التلقيح الاصطناعي. وفي النباتات تلعب اللكتينات دورا محوريا في حماية النباتات ضد هجوم الاحياء المجهرية , انواع الاوبئة والحشرات والفطريات [4] كذلك تعمل العديد من اللكتينات كمحفزات في نمو وتمدد الخلايا النباتية وفي حشد وخزن المواد التغذوية لحين احتياجها.

تبدأ اللكتينات النباتية دور الصدارة في البحوث التي اجريت على اللكتينات ولعقود عديدة , وابتدات البحوث بتناول اللكتينات في بذور النباتات البقلية (Catyledons Seed) حيث توجد في سايتوبلازم هذه النباتات كميات كبيرة من اللكتينات الذائبة كما توجد في جذور وسيقان هذه النباتات , بينت الدراسات السابقة على اللكتينات البقلية ان بذورها تحوي ما يعادل 2-3% من وزنها الجاف من اللكتين [5] وتكون النسبة هذه في اوجها عند الحصاد وقد درس توزيع اللكتين

وانتشاره في بذور نباتات من ذوات الفلقتين مثل البازلاء والفاصولياء والعدس اذ يشكل ما بنسبته 0.1% من وزن البذرة اما الفاصولياء فتشكل نسبة 3% . كما اشارت بحوث ودراسات اخرى الى كون اللكتين يشكل ما يقارب 10% من المحتوى النايتروجيني لمستخلصات الثمار الناضجة . امتدت الدراسات لتشمل بذور وثمار نباتات اخرى كان اهمها القمح وفول الصويا والجزء الخضري والجذرية لنباتات الصبر والصفيراء اليابانية وجنين وقشر نبات الارز وسيقان نبتة اللوباء وكذلك رحيق زهرة الكراث.

تصنف اللكتينات النباتية اعتمادا على التصنيف النسيجي ومستوى تشابه اجزاءها البروتينية الى سبعة اصناف اهمها العائلة البقلية التي كانت لها الريادة في البحوث التطبيقية تضم اغلب اللكتينات النباتية المنقاة من البذور مستويات تماثل عالي من حيث التركيب على المستوى التركيبي الاولي والثانوي من مستويات تركيب البروتين للوحدات الفرعية المكونة لهيكل اللكتين الكلي [1].

برز في السنوات الاخيرة توجهها بحثيا جديدا يميل الى دراسة خصائص اللكتينات لاستثمارها في مجالات تطبيقية تخص الجانب الصحي , فقد تم تنقية وتشخيص وتوصيف عدد من اللكتينات من ثمار بعض النباتات ودرست خصائصها الكيميائية علاوة على فعاليتها البايولوجية في كبح عدد من الامراض كان ابرزها دراسة حول دور اللكتينات المعزولة من ثمرة الموز في كبح الفعل البكتيري للكمخ الذي يصيب الرئتين [6] ودور اللكتين المعزول من ثمار الاناناس في معالجة نزلات البرد من حيث اهميته في استحثاث الفعل المناعي للشخص المصاب [7].

وكذلك تم دراسة الفعالية البايولوجية للكتين المستخلص من الكركم في كبح مسار السرطان في دراسة Cell Line خارج الجسم واثبتت فعالية اللكتين الكركمي في وقف عملية الانقسام الخلوي للنسيج المنمى. واجر الدراسات كانت حول تنقية لكتين من ثمار نبتة الخوخ وتبين انه بروتين سكري ذو وزن جزيئي 47 KD تشكل السكريات نسبة 13% وقد تبين دوره المهم كمضاد حيوي من ناحية وفي دعم دفاعات الجسم ضد الاصابات السمية ولذا اوصت الدراسة بتناوله للعمال في المجالات التي يشاع فيها التعرض الى الملوثات مثل محطات تعبئة الوقود والمعامل الصناعية ومحطات التدوير التصنيعي

وتوافقاً مع سياقات البحوث اعلاه صممت الدراسة الحالية للتحري عن وجود نوع جديد من اللكتينات في لب ثمرة الكيوي ودراسة قابليتها التلازمية وايجاد الظروف المثلى لعملية التلازن الدموي وتنقية ودراسة خصائصه الفيزيائية والكيميائية ودراسة فعاليته البايولوجية في كبح الاعتلالات المرضية .

طريقة العمل :

1- مصدر ثمار الكيوي المستخدمة في الدراسة :- تم الحصول على ثمار الكيوي المستخدمة في الدراسة الحالية من الاسواق المحلية لمحافظة النجف الاشرف .

2- تحضير عصير ثمرة الكيوي :- بهدف تحضير عصير ثمرة الكيوي تم غسل الثمار ثم تركها لتجف بعدها تم ازالة القشرة المغلفة للثمرة , ثم تقطيعها الى قطع صغيرة بعدها تمت عملية وزن (50 gm) من الثمار المقطعة . وباستخدام جهاز الخلاط الكهربائي العادي وبإضافة (50 ml) من الماء المقطر تمت عملية السحق لتحويل الثمار الى عصير سميك القوام . بعد اتمام عملية تحطيم خلايا نسيج الكيوي لتحرير مكوناتها تم ترشيح العصير المتكون عبر اربع طبقات من السليلوز لغرض التخلص من بقايا الخلايا المطحونة , عقب اتمام هذه الخطوة أخذ الراشح الناتج لاتمام عملية فصله باستخدام انابيب ذات غطاء محكم وضع الراشح الناتج في جهاز الطرد المركزي لمدة (5 دقائق) وبسرعة (5000xg) للتخلص من البقايا الخلوية الاصغر حجماً

للتخلص من المكونات الدهنية في ثمرة الكيوي تم إضافة (3 ml) من الايثر البترولي لكل 3 ml من العصير المرشح , ثم رج الانابيب بقوة و ادخالها في جهاز الطرد المركزي بسرعة (5000xg) لمدة (5 دقائق) حيث يلاحظ انفصال طبقتين عن بعضهما البعض بطبقة من الدهن البيضاء المميزة , تم إهمال الطبقة العضوية الحاوية على الدهن وعزل الطبقة السفلى (المائية). بعدها تم حفظ العصير الناتج في درجة حرارة -8°C [8] 0

3- دراسة الفعالية اللكتينية لعصير ثمرة الكيوي .

1-3: تحضير العالق الدموي : لغرض تحضير عالق كريات الدم الحمراء تم اخذ عينة لدم انسان ذات فصيلة (O^+) ووضعت في انابيب اختبار خاصة تحتوي على مادة مانعة للتخثر Anticoagulant , تم عزل كريات الدم الحمراء عن البلازما بإدخال الأنابيب الحاوية على العينة في جهاز الطرد المركزي بسرعة (5000xg) لمدة (5 دقائق) , بعدها تم إهمال البلازما واخذ كريات الدم الحمراء وغسلها بمحلول Normal Saline وتم ضبطها لتعطي امتصاصية مقدارها (1.4) عند الطول الموجي (620 nm) .

ملاحظه: أفضل النتائج تم الحصول عليها عند استخدام العالق الدموي المحضر بنفس اليوم المحاليل المستخدمة :-

2-3: التحري عن اللكتينات :- اتبعت طريقة (Lis & Sharon) المعدلة في تقدير الفعالية اللكتينية لعصير ثمرة الكيوي , حيث تضمنت الطريقة اخذ انبوتي اختبار Test و Blank ومجموعة انابيب Control يتراوح عددها 2-4 انابيب , في كل انبوبة تم وضع مزيج أدرجت مكوناته في الجدول التالي:

Component	Test	Blank	Control
1- The juice of Kiwi fruit	1 ml	1 ml	-
2- Erythrocyte suspension	2 ml	-	2 ml
3- Calcium Chloride	1 ml	1 ml	1 ml
4- Normal Saline solution	-	2 ml	1 ml

بعدها تم حضن الانابيب الحاوية على المزيج لمدة نصف ساعة بدرجة حرارة المختبر

المحاليل المستخدمة

- محلول (60 mM) من كلوريد الكالسيوم (CaCl_2) : تم تحضيره بإذابة (0.66 gm) من Ca Cl_2 في (100 ml) من الماء المقطر.

- محلول Normal Saline: تم بيان طريقة تحضيره في الفقرة 1-3

الحسابات :- تم حساب قيمة الاختزال في الكثافة الضوئية (Reduction of Optical Density) لعينة الدراسة وفق المعادلة الآتية:

$$\text{ROD}\% = \frac{A_c - A_t - b}{A_c} \times 100$$

حيث ان:

A_c : معدل الامتصاصية المحسوبة في الانابيب c

$A_t - b$: مقدار الامتصاصية في الانبوبة t مطروحاً منها مقدار الامتصاصية في الانبوبة b.

يعبر عن وحدة التلازن الدموي بـ HU (Hemagglutination unit) والتي تعرف على انها مقدار اللكتين الذي يسبب انخفاضاً في ROD% بمقدار 50% للأنبوبة t عما يقاس في الأنبوبة c ويعبر عنها بالفعالية اللكتينية , اما وحدة الفعالية اللكتينية التخصصية (Specific Hemagglutination Unit) هي مقدار الفعالية اللكتينية (HU) لكل غرام من البروتين في العينة الواحدة.

3-3: تعيين فصيلة الدم الأمثل لعملية التلازن :- لغرض تعيين فصيلة الدم الأمثل لعملية التلازم تم تحضير عالق دموي لعينات دم انسان لكل من الفصائل (O^+ , A^+ , B^+ , AB^+) بنفس الطريقة التي ذكرت في الفقرة 3-1, بعدها تم حضن عصير ثمرة الكيوي مع العالق الدموي لكل من الفصائل المذكورة اعلاه وباتباع طريقة (Lis & Sharon) التي ذكرت في الفقرة 2-3

المحاليل المستخدمة:- جميع المحاليل تم تحضيرها بنفس الطريقة التي ذكرت في الفقرة 2-3

الحسابات:- تم حساب قيمة ROD% باستخدام المعادلة التي ذكرت في الفقرة 2-3

4-3: تعيين زمن الحضانة الأمثل للتلازن :- استناداً الى النتائج المستحصل عليها في الفقرة 3-3 التي بينت افضل النتائج يمكن الحصول عليها عند استخدام فصيلة الدم (B^+) وعليه تم تحضير عالق دموي لفصيلة الدم (B^+) وحضن عصير ثمرة الكيوي مع العالق الدموي المحضر في فترات زمنية (30 , 45 , 60 , 75 دقيقة) ولمدة نصف ساعة بالطريقة التي تم ذكرها في الفقرة 2-3

المحاليل المستخدمة :- استخدمت نفس المحاليل التي ذكرت في الفقرة 2-3

الحسابات :- تم حساب قيمة ROD% باستخدام المعادلة التي ذكرت في الفقرة 2-3

5-3: تعيين درجة الحرارة الأمثل لعملية التلازن :- استناداً الى النتائج المستحصل عليها في الفقرتين 3-3 و 4-3 تم حضن عالق كريات الدم الحمراء لفصيلة الدم (B^+) مع عصير ثمرة الكيوي في درجات حرارة ($25^{\circ}C$, $30^{\circ}C$, $35^{\circ}C$, $40^{\circ}C$, $45^{\circ}C$) وباتباع الطريقة المذكورة في الفقرة 2-3 مع الاختلاف في فترة الحضانة حيث تم الحضانة في فترة زمنية مقدارها (45 دقيقة) بدلاً من نصف ساعة .

المحاليل المستخدمة :- جميع المحاليل تم تحضيرها بنفس الطريقة التي ذكرت في الفقرة 2-3.

الحسابات :- تم حساب قيمة ROD% باستخدام المعادلة التي ذكرت في الفقرة 2-3.

4-2: التقدير الكمي للبروتينات الكلية لعصير ثمرة الكيوي :- لتقدير كمية البروتين الكلية في عينة عصير ثمرة الكيوي اتبعت طريقة برادفورد *Bradford Method* والتي تضمنت اخذ أنبوبي اختبار اعتبرت الثانية مرجعاً لتقدير البروتين في العينة الاولى. تلخصت طريقة العمل المتبعة بالجدول الاتي:

Tube 1	Tube 2
100µl of kiwi juice sample 5 ml of dye reagent solution	100µl of phosphate buffer (pH 7.4, 20mM) 5 ml of dye reagent solution
تترك الأنبوبيتين في درجة حرارة المختبر لمدة 30 دقيقة	
تقاس الامتصاصية عند الطول الموجي 595 nm	

المحاليل المستخدمة :-

Dye Reagent Solution: حضر بإذابة 50mg من صبغة Coomassie Brilliant Blue في 25ml من الايثانول (96%) و 50ml من Phosphoric Acid (85%) و إكمال الحجم إلى 500ml بالماء المقطر.

:Stock Bovine Serum Albumin

التلازن :- تعتبر القابلية على احداث التلازن من اهم الخصائص التي تتميز بها اللكتينات بمختلف انواعها عن باقي انواع البروتينات, وتتضمن عملية التلازن احداث تداخلات بين اللكتينات عبر مواقع متخصصة للارتباط فيها مع الجزء السكري للبروتينات السكرية الموجودة ضمن التركيب الغشاء الخارجي لكريات الدم الحمر , ولحصول عملية التلازن يجب ان تكون كل من اللكتينات والسكريات الموجودة على سطوح كريات الدم الحمر في وضع فراغي مناسب بحيث يتيح لهما ان يرتبطا معا , لذا يجب اتخاذ عدة تدابير تسبق اجراء عملية التلازن لغرض تهيئتها للارتباط. تعد خطوة ازالة الدهون (Defatting) اول واهم الخطوات التحضيرية التي تسبق عملية احداث التلازن الدموي الى عينة البروتين في مستخلص ثمره الكيوي موضوع الدراسة بهدف تحرير اللكتين من البروتينات الدهنية الموجودة في المزيج , ولتحقيق هذه الخطوة تم استخدام الايثر البترولي كمذيب عضوي .

غُومل العالق الدموي المحضر (Erythrocyte suspension) مع انزيم التريسين لغرض زيادة انتقائية التلازن وتسريعه عبر اقتطاع عدد من مخلفات الاحماض الامينية التي قد تُرجى العملية وتحرير الاجزاء السكرية من البروتينات السكرية (Glycoprotein) على سطح كريات الدم الحمر . إعتمدت قيمة الامتصاصية 1.4 عند الطول الموجي 620 Mm كقيمة فضلى يشار من خلالها الى تركيز كريات الدم الحمر في العالق الدموي عبر الاطلاع على عدد من البحوث والدراسات السابقة التي توصلت الى هذه القيمة واعتمدها بعد تجربة مدى من التراكيز ومع عدد من الفصائل الدموية ومن مصادر مختلفة حيث تراوحت القيم المجربة سابقا ما بين 1.2 – 2.00 [4].

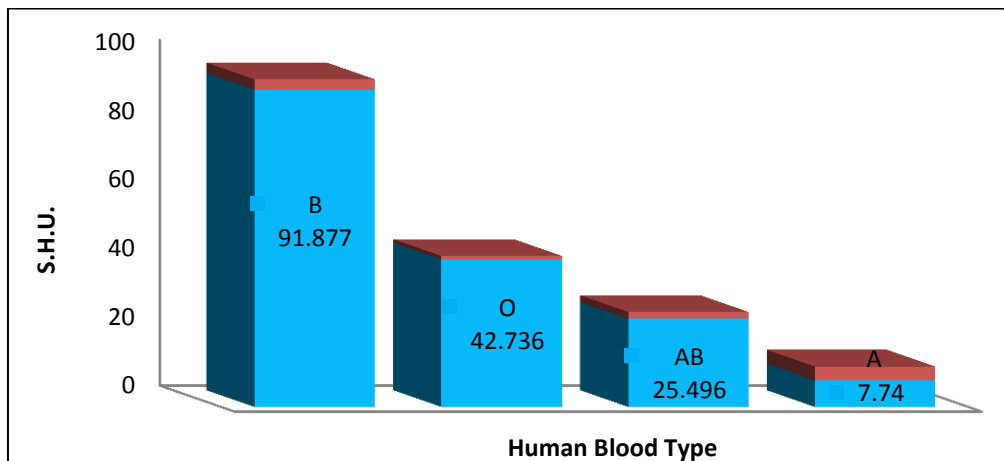
تتطلب عملية التلازن وجود ايونات معدنية معينة الهدف منها تقريب جزيئات اللكتين وكريات الدم الحمر حيث تعمل على تكوين ما يشبه كرة التناسق , ومن الايونات التي درست اهميتها في احداث هذا التقريب هي ايونات الكالسيوم والمغنيسيوم بشكل اساس حيث اتفقت اغلب البحوث على ان وجود احد هذين العنصرين (الكالسيوم بشكل خاص) بتركيز يتراوح ما بين 15 – 80 Mm وقد اعتمد التركيز 60 mM كتركيز توافقي لمدى التراكيز المجربة اعلاه ولكونه يمثل التركيز الامثل للتلازن لعدد كبير من البحوث الحديثة في هذا المضمار.

أنتقاء فصيلة الدم الامثل لعملية التلازن :- عمدت الدراسة الحالية الى اختبار الفعالية التلازنية لعصير ثمره الكيوي مع العالق الدموي لفصائل دم الانسان الاربعة لغرض معرفة الامثل من بينها في احداث عملية التلازن. اظهرت نتائج الدراسة ان حصن العصير مع العالق الدموي لفصيلة الدم B⁺ يعطي اعلى قيمة للفعالية التلازنية والتي بلغت 91.8% تلتها فصيلة الدم O⁺ حيث بلغت قيمة الفعالية التلازنية لها 42.7% في حين تباننت قيمة الفعالية التلازنية لبقية الفصائل. ان هذا التباين يعزى الى اختلاف المجاميع السكرية الموجودة على سطوح كريات الدم الحمر في فصائل الدم المختلفة والتي تتم من خلالها عملية التلازن من جهة , وحساسية لكتينات مستخلص العصير للارتباط بهذه المجاميع من جهة اخرى. يحتوي السطح الخارجي لكريات الدم الحمر في تركيبه على بروتينات سكرية يكمن الاختلاف في المحتوى السكري الداخل في تركيب هذه البروتينات في كل فصيلة عن مثيلاتها في الفصائل الاخرى. ان الخارطة التركيبية لسطح كرية الدم الحمراء هي ما يشكل اصل الاختلاف ما بين الفصائل الاربعة عن بعضها البعض مما يجعل فصيلة دون سواها تتجذب بشكل مميز الى جزيئة اللكتين للتلازن معه بشكل اكبر.

وفي دراسات اخرى تناولت تشخيص وعزل وتنقية لكتينات من مصادر نباتية اظهرت نتائجها بان اللكتينات تظهر تخصصية مختلفة تجاه فصائل الدم المختلفة حيث اظهرت نتائج دراسة للكتينات الموجودة في بذور التمر لأصناف مختلفة شملت الصنف زهدي والخستاي والبريم والبرحي [5]

باحثاء هذه الاصناف على لكتينات مختلفة لكل منها قدرة متفاوتة على احداث التلازن في عالق كريات الدم الحمر لجمع الفصائل, حيث ان مستخلص بذور الصنف زهدي اعطى اعلى قيمة للفعالية التخصصية تجاه فصيلة الدم O^+ , اما مستخلص بذور الصنف برحي فقد اظهر تخصصا تجاه فصيلة الدم B^+ في حين اظهر مستخلص الصنفين الخستاي والبريم تخصصا تجاه فصيلة الدم AB^+ .

اما لكتينات مستخلص عصير ثمرة الخوخ فقد اظهرت تخصصا تجاه فصيلة الدم O^+ و فصيلة الدم A^+ . ومؤخرا اظهرت نتائج دراسة تناولت مجموعة من اللكتينات النباتية لمستخلصات نباتات عديدة مختلفة شملت الخضروات والفواكه ودراسة قابليتها على احداث التلازن مع كريات الدم الحمر لمختلف فصائل دم الانسان بان قسم منها له قابلية على احداث التلازن مع فصائل الدم المختلفة وبنسب متفاوتة كمستخلص جذور و ثمرة البابايا و مستخلص لب العنب الاخضر و مستخلص الاوراق الفتية للشاي بينما اظهر قسما اخر فعالية تلازنية تجاه فصائل معينة دون غيرها كما في مستخلص ثمرة العنب الاخضر الذي اظهر تخصصا تجاه فصيلتي الدم AB^+ و O^+ في حين لم تظهر قسم منها أي قابلية للتلازن مع كريات الدم الحمر كما في مستخلص بذور ولب الطماطم و مستخلص جذور البنجر و مستخلص بذور الفلفل الاسود [3].



الشكل 3-1: يوضح انتقاء فصيلة الدم الأمثل لإحداث التلازن مع مستخلص عصير ثمرة الكيوي

انتقاء زمن الحضانة الأمثل لعملية التلازن :- باعتماد الظروف المثلى المثبتة في الفقرات السابقة , تم اختيار فترات حضان مختلفة للوصول الى زمن الحضان الأمثل لعملية تلازن لكتينات مستخلص ثمرة الكيوي مع العالق الدموي لفصيلة الدم B^+ . تراوحت الفترات ما بين 30 - 75 دقيقة. اظهرت النتائج المستحصلة بان حضان عصير ثمرة الكيوي مع العالق الدموي لفصيلة الدم B^+ لمدة 45 دقيقة يعطي اعلى قيمة للفعالية التلازنية المتخصصة من بين جميع الفترات الزمنية , علاوة على ذلك لوحظ انخفاضاً في قيمة الفعالية التلازنية المتخصصة عند حضان العصير مع العالق الدموي لمدة 30 .

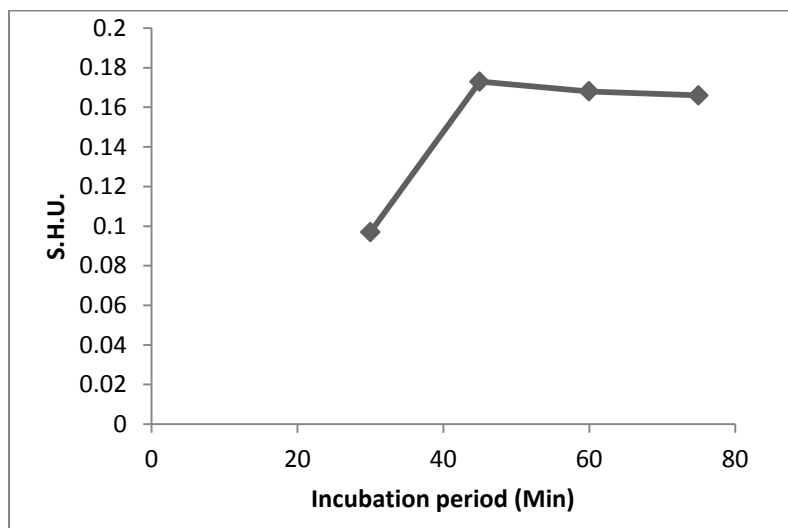
يلاحظ من الشكل (2-3) تدرجا في قيم الفعالية التلازنية المتخصصة قبل الوصول الى فترة الحضان المثلى ويمكن ان يعلل هذا الى التدرج بالاشباع التواتري للمواقع الفعالة على سطح كريات الدم الحمر؛ حيث تزداد قيمة الفعالية

التلازنية المتخصصة و بشكل مطرد مع امتلاء المواقع المهيئة في سطح الكريات الدم الحمر ببروتين مستخلص ثمرة الكيوي وصولا الى الامتلاء التام لكل المواقع المهيئة فراغيا للتلازن .

يلعب صافي الشحنة على اللكتين الموجود في مستخلص عصير ثمرة الكيوي دورا هاما في آلية الارتباط الى سطح كريات الدم الحمر .

من نتائج تجارب تحديد فترة الحضان المثلى لوحظ انخفاضاً في قيم الفعالية التلازنية المتخصصة عند زيادة فترة الحضان عن 45 دقيقة ويمكن ان يعزى ذلك الى نشوء حالة من التأثير بين جزيئات اللكتين مع بعضها البعض من ناحية وبين الجزيئات السكرية على سطوح كريات الدم الحمر والتي تلازنت آنفاً مع جزيئات اللكتين نحو جزيئات لكتينية مغايرة مما يولد حالة من الجذب يعمل على تقويض القوى الناشئة على التلازن الاول. من جهة اخرى تلعب الجاذبية الارضية دورا في العمل على فك الارتباطات الكهربائية الناشئة بين كريات الدم الحمر عبر اجزائها السكرية الى جزيئات اللكتين في المستخلص مما يؤدي الى النقصان المرصود في قيمة الفعالية التلازنية المنخفضة.

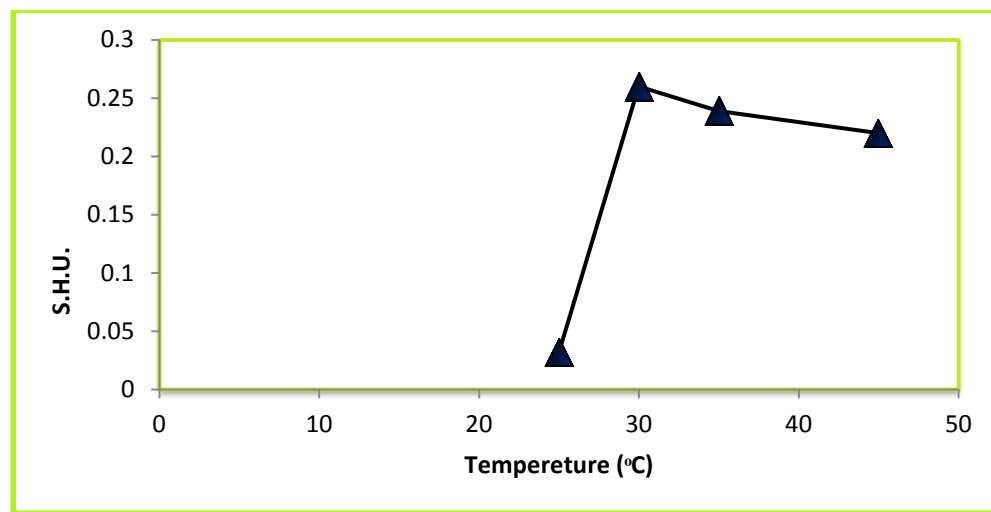
تمت دراسة التقصي عن فترة الحضان المثلى لتلازن العديد من الفصائل النباتية حيث وجد ان فترة الحضان المثلى لتلازن لكتين بذور *Bauhiniaforficata* 30 دقيقة [7], في حين وجد ان فترة الحضان المثلى لتلازن لكتين بذور *Vatairea guianensis* Aublet الى العالق الدموي لفصائل الدم الاربعة للانسان قد بلغت 60 دقيقة [6], بينما كانت فترة الحضان المثلى لتلازن لكتين عصير ثمرة الخوخ 75 دقيقة وقد جاءت نتائج الدراسة الحالية متوافقة ما بين نتائج الدراسات السابقة.



الشكل 3-2: يوضح تأثير زمن الحضان على الفعالية اللكتينية التخصصية النوعية لمستخلص عصير ثمرة الكيوي

انتقاء درجة الحرارة الامثل لعملية التلازن :- بهدف تحديد درجة الحرارة المثلى لعملية التلازن الدموي لكريات الدم الحمر من الفصيلة B^+ الى مستخلص ثمرة الكيوي تم تصميم عدة تجارب بمدى متدرج من درجات الحرارة مستندين الى ما تم اختياره من درجات حرارية في بحوث سابقة. اشتمل التقصي على الدرجات الحرارية $^{\circ}C$ (25, 30, 35, 40, 45) . بينت نتائج الدراسة ان درجة الحرارة $^{\circ}C$ 30 كانت هي الفضلى من بين الدرجات الحرارية المختبرة لتلازن اللكتين في مستخلص ثمرة الكيوي.

ان زيادة قيمة الفعالية اللكتينية عند الارتفاع التدريجي لدرجات الحرارة وصولا الى درجة الحرارة المثلى يمكن ان يعزى الى زيادة الطاقة الحركية للجزيئات في وسط التفاعل ونتيجة لذلك تزداد حركة الجزيئات مما يؤدي الى ان تقترب لكتينات عصير ثمرة الكيوي من المجاميع السكرية الموجودة على سطوح كريات الدم الحمر بحيث يمكن ان تكون تأثيرات بينها , كما اظهرت النتائج انخفاضاً في قيمة الفعالية اللكتينية بارتفاع درجات الحرارة لتصل الى اقل قيمة مسجلة لها , ان سبب ذلك يُعزى تغيّر في الهيئة الفراغية لمواقع الارتباط السكرية للكتين مما يُفقد او يقلل قابليته على الارتباط مع المجاميع السكرية لسطوح كريات الدم الحمر , كما تؤدي درجات الحرارة العالية الى كسر الارتباطات او أضعافها بين اللكتين من جهة والمجاميع السكرية لسطوح كريات الدم الحمر من جهة اخرى مما يؤدي الى النقصان في قيمة الفعالية اللكتينية.



الشكل 3-3: يوضح تأثير درجة الحرارة على الفعالية اللكتينية التخصصية النوعية لمستخلص عصير ثمرة الكيوي

References

- 1) Nascimento KS, Cunha AI , Cavada BS , Azevedo AM, and Air es- Barros MR . Molecular Recognition Journal (J. Mol.Recognit) .2012; 25: 527- 541.
- 2) Pereira FN , Silva HC , Freitas BT , Rocha BA , Nascimanto KS, Leal RB, Sampaio HA , and Cavada BS . Molecular Recognition Journal (J. Mol.Recognit) .2012; : 443-449.
- 3) Raman BV, Sravani B, Rekha PP, Lalitha KV, and Rao BN. International Journal of research (IJRAP); 2012: 255-263.
- 4) Jaseim RH . [2009]: Isolation, Purification, and Partial Characterization of Human Lectins from Patients of Kidney Tumors. M. Sc. Thesis, Chemistry Department, College of Science for Women, University of Baghdad.
- 5) Abass WA. [1999]: Study of Some Biologically Active Proteins in the Commercial Date- Palm Seeds(Phoenix dactylifera L.). M. Sc. Thesis, Chemistry Department, College of Science, University of Baghdad.



- 6) Silva HC, Nagano CS, Rocha BA, Sampaio HA , Assreuy AM , Pires AF , Damasceno LE, Domingos GF, and Cavada BS . Elsevier Journal; 2012: 2347-2355.
- 7) Silva MC, Santara LA, Mentale R , Ferreira RS , Mirada A, Lucca RS, Sampaio MU, Correia MT, and Oliva ML. Elsevier Journal; 2012: 1049-1059.
- 8) Jaseim RH. And Ghanim HT. [2012] . Investigation , Biochemical , purification and Characterization of A Novel protein from Peach Fruit .Proceeding of Conference of College of Basic Education , University of Babylon for the Period from 14-15 November;2012.

Abstract :

Kiwi (*Actinidia deliciosa*) plant two single-sex housing Deciduous trees, is his native China , an oval fruit with maroon color and it has many medical benefits as a result they contain chemical compounds and metals of vital importance to the various functions of the body, Therefore, the current study was designed to investigate some of these compounds and study their properties. As a first step was to draw the juice from the fruit and make some chemical processes which included the removal of some components of the juice that hinder and affect the study of compounds and elements subject of the study. Has been set amount of total protein in the sample using the Bradford method, And the amount of protein that is calculated 325 micrograms per milliliter and one of juice. The study also included the investigation of a special type of protein sugary called , and the study usability on lectins with the red agglutinate blood cells stuck to a human blood sample method has been followed Lis agglutinate . The subsequent conduct several experiments to set the conditions optimum where study results showed that the best process clumping occurs when the lap of Ktinat extract the juice with a stuck red blood cells to the blood type B sample blood human being at a temperature of 30°C and the period of the bosom of a 45 minutes.

.