# دراسة بعض الصفات الفيزياوية والمناعية للكتينات بذور بعض النباتات

رسالة مقدمة إلى
مجلس كلية العلوم، جامعة بابل
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير علوم
في علوم الحياة/ علم الأحياء المجهرية

من قبل
سنان عبد اللطيف محمد الماشطة

١٤٢٤ هـ ٢٠٠٣ م

# A Study on Certain Physical and Immunological Characters of Some Plant Seed Lectins

**A Thesis**
**Submitted to the Council of Science College**
**University of Babylon**
**In Partial Fulfillment of the Requirements**
**for the degree of**
**Master of Science**
**In**
**Biology/ Microbiology**

**By:**
**Senan Abdullatif Muhammad AL-Mashta**

**٢٠٠٣**

# Summary

The aim of the present work was to study certain physical and immunological characters of rice (*Oryza sativa*) sweet melon (*Cucumis melo*) and common millet (*Panicum miliaceum*) seed lectins, since no published information so far available about these plant seed lectins. Such seed lectins were separated by cold water and alcohol, then sultedout with ammonium sulfate (٤٠٪).

The lection identification criteria were including: precipitation with ammonium sulfate, positive biuret reaction (rice: ١٢.٨٣ mg/ml, sweet melon: ٨٢.٨٠mg/ml, common millet: ٨.٤٢ mg/ml), direct agglutinations with human erythrocytes (A: ٠-٤٠٩٦, B: ٠-٤٠٩٦, O: ٤-٤٠٩٦), and its ability to bind sugars as detected by lectin coated tanned sheep erythrocytes against serial dilutions of ١٠٪ (w/v) (glucose: ٢.٥-١٠٪, galactose: ١.٢٥-١٠٪, mannose: ٢.٥-١٠٪).

Among physical characters of these lectins, the effects of temperature and pH on agglutination of erythrocytes were checked (temperature increase lead to increase of agglutination titre up to certain temperature (٤٠ $^{o}$C), pH increase exhibit an increment in agglutinability of red cells with lectin up to pH=٧).

While the immunological characters were including: agglutination of newly hatched avian T and B lymphoid cells (alcoholic lectin solution showed positive agglutination with T & B lymphoid cells), agglutination of *Klebsiella pneumoniae* cell suspension (rice lectin solution showed bacterial cell agglutination (٢٢.٢٢٪) and a preliminary investigation of experimentally induced humeral immunomodulation in rabbits, these animals were preconditioned orally with three concentrations of sweet melon and common millet lectin solution for two weeks, then followed by oral administration of ٢٪ (w/v) ovalbumin antigen through fixed immunization programme. Ovalbumin specific antibody titre was leveled by passive hemagglutination test.

Results suggest that there were humoral immuno-modulation of dose-dependant type.

**الخلاصة**

تهدف هذه الدراسة للتعرف على بعض الصفات الفيزياوية والمناعية للكتينات بذور الرز (*Oryza sativa*) والبطيخ (*Cuscumis melo*) والدخن (*Panicum miliaceum*)، وإذ لم نعثر على دراسة سابقة بقدر ما امكننا الإطلاع عليه حول لكتينات بذور البطيخ والدخن. جرى فصل لكتينات البذور بطريقة الماء البارد والكحول بعدها رسبت بسلفات الأمونيوم (٤٠%). إشتملت قرائن الوصف للكتين: ترسبه بسلفات الأمونيوم وتفاعل البايوريت الموجب (الرز ١٢.٨٣ملغم/ مل، البطيخ ٨٢.٨٠ ملغم/ مل، الدخن ٨.٤٢ ملغم/ مل) وملازنته لكريات الدم الحمر البشرية تلازناً مباشراً (A= ٠-٤٠٩٦, B=٠-٤٠٩٦, O= ٤-٤٠٩٦)، وإمكانية ارتباطه بالسكر درست بتغطية محلول اللكتين لكريات حمر للضأن مدبوغة بحامض التانيك ودرست عياريتها لتراكيز متدرجة (w\v) ١٠٪ (كلوكوز: ٢.٥-١٠%، كالكتوز: ١.٢٥ – ١٠%، مانوز: ٢.٥ – ١٠%). وشمل الوصف الفيزياوي أثر درجة الحرارة والأس الهيدروجيني على خاصية التلازن لكريات الدم الحمر (زيادة درجة الحرارة يؤدي الى زيادة عيار التلازن الدموي لحين الوصول الى ٤٠مْ ، وزيادة الأس الهيدروجيني يؤدي الى زيادة عيار التلازن الدموي لحين الوصول الى أس هيدروجيني مقداره ٧). اما الصفات المناعية فقد اشتملت على تلازن الخلايا اللمفانية التائية والبائية للطير حديث الفقس (أبدت المحاليل اللكتينية الكحولية قدرة على ملازنة الخلايا اللمفانية التائية والبائية)، وتلازن عالق خلايا *Klebsiella pneumonia* (أظهر محلول اللكتين لنبات الرز اعلى قدرة على ملازنة خلايا هذه البكتريا وبنسبة ٢٢.٢٢%). بالإضافة الى دراسة أولية عن خاصية التحوير المناعي الخلطي التجريبي في الأرنب، حيث هيأت مسبقاً بالتجريع الفموي بثلاثة تراكيز من محلول اللكتين للبطيخ والدخن ولمدة اسبوعين ثم جرعت فموياً بمستضد آح البيض (٢%) ببرنامج تمنيع ثابت ثم درس عيار الضد المتخصص بآح البيض بالتلازن الدموي المنفعل.اوحت النتائج بوجود تحوير مناعي خلطي معتمد على الجرعة.

# توصية الأستاذين المشرفين

نشهد أن إعداد هذه الرسالة جرى تحت إشرافنا في قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة بابل وقسم علوم الكيمياء /كلية العلوم/ حامعة بابل كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير علوم في علوم الحياة/ أحياء مجهرية.

التوقيع: التوقيع:
اسم المشرف: إبراهيم محمد سعيد شناوه اسم المشرف: عوده مزعل ياسر
المرتبة العلمية: أستاذ المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة بابل العنوان: قسم علوم الكيمياء/كلية العلوم/ جامعة بابل
التاريخ: / /٢٠٠٣ التاريخ: / /٢٠٠٣

# توصية رئيس القسم

إشارة إلى التوصية أعلاه المقدمة من قبل الأستاذين المشرفين، أحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع:
الاسم: د. فكرت مجيد حسن
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة بابل
التاريخ: / /٢٠٠٣

# شكر وتقدير

شكر وتقدير إلى أستاذيَّ المشرفَين الدكتور إبراهيم محمد سعيد شناوة والدكتور عودة مزعل ياسر لاقتراحهما موضوع البحث المتابعة. أود أن أشكر رئاسة قسم علوم الحياة ورئاسة قسم علوم الكيمياء وعمادة كلية العلوم ورئاسة جامعة بابل لإتاحتهم الفرصة لإكمال دراستي.

**سنان**

# الـمحتويات


| رقم الفقرة | الموضوع | الصفحة |
|---|---|---|
| **١.** | **المقدمة** | ١ |
| ١.١. | مقدمة عامة | ١ |
| ١.٢. | التركيب العام للكتينات | ٣ |
| ١.٣. | أنواع اللكتينات واستعمالاتها | ١١ |
| ١.٤. | تلازن كريات الدم الحمراء للإنسان بواسطة اللكتين | ١٦ |
| ١.٥. | ارتباط جزيئات اللكتين بالسكريات | ١٨ |
| ١.٦. | تأثير الأس الهيدروجيني على خاصية التلازن اللكتيني | ١٩ |
| ١.٧. | تأثير درجة الحرارة على خاصية التلازن اللكتيني | ٢٠ |
| ١.٨. | تلازن الخلايا البكتيرية بواسطة اللكتين | ٢١ |
| ١.٩. | تلازن الخلايا اللمفانية بواسطة اللكتين | ٢٣ |
| ١.١٠. | اللكتينات بوصفها محورات مناعية | ٢٤ |
| ١.١١. | أهداف الدراسة | ٢٥ |
| **٢.** | **المواد وطرائق العمل** | ٢٦ |
| ٢.١. | المحاليل المستعملة | ٢٦ |
| ٢.٢. | الأوساط الزرعية المستعملة | ٢٧ |
| ٢.٣. | عزلا ت بكتريا الكلابسيلا الرئوية وتوكيد التشخيص | ٢٨ |
| ٢.٤. | فصل كريات الدم الحمراء وتخفيفها | ٣١ |
| ٢.٥. | فصل الخلايا اللمفانية للطير (أفراخ الدجاج) حديث الفقس | ٣٢ |
| ٢.٦. | بذور النباتات | ٣٣ |
| ٢.٧. | تقنيات فصل المحاليل اللكتينية من بذور النباتات | ٣٣ |
| ٢.٨. | كفاءة الترسيب لبعض مرسبات البروتين | ٣٦ |
| ٢.٩. | تقدير تركيز البروتين الكلي في المستخلصات النباتية | ٣٧ |
| ٢.١٠. | تلازن كريات الدم الحمر بواسطة اللكتين | ٣٨ |
| ٢.١١. | تحوير طريقة التلازن الدموي المنفعل الدقيق لتحديد قابلية اللكتينات على الارتباط بالسكريات | ٣٩ |

| رقم الفقرة | الموضوع | الصفحة |
|---|---|---|
| ٢.١٢. | تلازن الخلايا البكتيرية بواسطة اللكتين | ٤١ |
| ٢.١٣. | تلازن الخلايا اللمفانية بواسطة اللكتين | ٤١ |
| ٢.١٤. | الصفات الفيزياوية | ٤٢ |
| ٢.١٥. | الصفات المناعية | ٤٣ |
| ٢.١٦. | منوال الدراسة | ٤٥ |
| **٣.** | **النتائج** | ٤٦ |
| ٣.١. | الوصف الجزئي للكتينات | ٤٦ |
| ٣.٢. | الصفات الفيزياوية | ٥٠ |
| ٣.٣. | الصفات المناعية | ٥٣ |
| **٤.** | **المناقشة** | ٥٨ |

| | | |
|---|---|---|
| ٤.١. | الوصف الجزئي للكتينات | ٥٨ |
| ٤.٢. | الصفات الفيزياوية | ٦٢ |
| ٤.٣. | الصفات المناعية | ٦٥ |
| | **الاستنتاجات** | ٦٨ |
| | **التوصيات** | ٦٨ |
| | **المصادر الأجنبية** | ٦٩ |
| | **المصادر العربية** | ٧٣ |

# قرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه، نشهد بأننا اطلعنا على الرسالة الموسومة "دراسة بعض الصفات الفيزياوية والمناعية للكتينات بذور بعض النباتات" وقد ناقشنا الطالب سنان عبداللطيف محمد الماشطه في محتوياتها وفيما له علاقة بها وذلك بتاريخ ٢٠٠٣/٩/١٨ ووجدنا أنها مستوفية بالقبول بدرجة ( جيد جداً ) لنيل درجة الماجستير علوم في علوم الحياة/ علم الأحياء المجهرية.

التوقيع:
الاسم:د. مفيد جليل عوض (رئيس لجنة المناقشة)
المرتبة العلمية: أستاذ
العنوان:جامعة بابل/ كلية الطب
التاريخ: / /٢٠٠٣

التوقيع:
الاسم:د. آمنه نصيف جاسم (عضو)
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان:جامعة بغداد/ كلية العلوم للبنات
التاريخ: / /٢٠٠٣

التوقيع:
الاسم:د. قاسم نجم عبيد (عضو)
المرتبة العلمية:أستاذ مساعد
العنوان:جامعة بابل/ كلية طب الأسنان
التاريخ: / /٢٠٠٣

التوقيع:
الاسم:د. إبراهيم محمد سعيد شناوه (المشرف)
المرتبة العلمية: أستاذ
العنوان:جامعة بابل/كلية العلوم
التاريخ: / /٢٠٠٣

التوقيع:
الاسم:د. عوده مزعل ياسر (المشرف)
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان:جامعة بابل/ كلية العلوم
التاريخ: / /٢٠٠٣

## مصادقة كلية العلوم

التوقيع:
الاسم:د. عودة مزعل ياسر
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان:جامعة بابل/ كلية العلوم
التاريخ: / /٢٠٠٣

# الفصل الأول
# المقدمة

# Chapter One
# Introduction

## ١.١. مقدمة عامة
## General Introduction

اللكتينات (Lectins) (Sharon, ١٩٧٦) هي بروتينات كروية (Globular proteins) ملزنة للخلايا (Cellular agglutinins) وقادرة على الارتباط بالسكر، واسعة الانتشار في الطبيعة. هناك تعريف آخر للكتينات (Goldstein *et al.*, ١٩٨٠; Hoson & Masuda, ١٩٩٥) حيث عُرفت على أنها بروتينات أو بروتينات سكرية غير إنزيمية ترتبط مع الكاربوهيدرات ذو أصل غير مناعي. وعلّق عليها كما يأتي:

١- تحتوي جزيئة اللكتين على الأقل على موقعين يرتبطان بالسكر (Sugar binding sites)، البروتينات الحاوية على موقع واحد رابط للسكر لا تلزن أو ترسب التراكيب الحاوية على السكر ولذلك فلا تصنف على أنها لكتينات.
٢- تعرّف خصوصية اللكتين بوساطة السكر الأحادي أو المتعدد الذي يكون جيداً في تثبيط التلازن أو الترسيب الذي يسببه هذا اللكتين.
٣- توجد اللكتينات على شكل أنواع عديدة للكائن الحي فهو إما ذائب (Soluble) وإما مرتبط بالغشاء (Membrane bound) أو تكون بروتينات سكرية.
٤- تعد الإنزيمات المختصة بالسكر والبروتينات الناقلة (Transporting proteins) والسموم لكتينات إذا احتوت على مواقع متعددة رابطة للسكر.

وأشار (Barondes, ١٩٨٨; Arason, ١٩٩٦) إلى أن اللكتينات بروتينات رابطة للسكر وهي ليست إنزيمات أو أجسام مضادة.

أثبتت الدراسات في السنوات الأخيرة بأن اللكتينات مجسات (Probes) ممتازة لسطوح الخلايا الحيوانية الطبيعية منها والخبيثة (Sharon, ١٩٧٦) وكذلك للأحياء المجهرية، هذا وإن قدرة اللكتينات على التلازن التفضيلي (Preferential agglutination) بين الخلايا الجنينية والخبيثة أدى إلى استخدامها في دراسة التغيرات التي تعاني منها الخلايا أثناء التمايز (Differentiation) والتحول إلى النوع الخبيث.

ينشأ عن ارتباط اللكتينات بالخلايا غالباً تأثيرات دراماتيكية في الوظيفة الخلوية، تلك المهمة منها هي حث الخلايا اللمفية على النمو والإنقسام وهذا هو التأثير المعروف بالحث المشطر (Mitogenic stimulation)، تحول الخلية اللمفية (Lymphocyte transformation) أو نشوء الأجنة (Embryogenesis)، هناك نتائج واضحة أخرى لإتحاد اللكتينات بالسطوح الخلوية كما في الجدول ١.١.

جدول* ١.١. خصائص اللكتينات

١- الاتحاد مع السكريات (مثل المانوز، الكالكتوز.... الخ).
٢- ترسيب السكريات المتعددة والبروتينات السكرية.
٣- تلزين كريات الدم الحمراء، الخلايا اللمفية، خلايا السرطان، الأحياء المجهرية والفيروسات.
٤- الحث المشطر للخلايا اللمفية.
٥- تثبيط عملية البلعمة بواسطة الخلايا الحبيبية.
٦- تثبيط إخصاب البيضة بواسطة الحيمن.
٧- تعمل عمل الإنسولين على الخلايا الدهنية.
٨- تثبيط النمو الفطري.

* مأخوذة عن (Sharon, ١٩٧٦)

الخاصيتين الأولى والثالثة التي ذكرت في الجدول أعلاه هي عامة لكل اللكتينات وهي قدرتها على الإتحاد مع سطوح الخلايا وتلزين الخلايا، أما الفعاليات الأخرى فشخصت فقط لعدد محدود منها في الظروف المناسبة، فإن التأثيرات المختلفة للكتينات على الخلايا تنشا عن طريق الإرتباط بالسكريات، البسيط منها أو المعقد، والتي يكون للكتين معها خصوصية (Specificity) الإتحاد، وقد أخذ هذا كدليل على أن اللكتينات تبدي فعالياتها من خلال الإتحاد مع مستقبلات السكر (Sugar receptors) على سطح الخلية التي يكون تركيبها متشابه، وليس بالضرورة أن يكون مطابق لتلك التي لدى السكريات المثبطة، مستقبلات السكر هذه هي مكونات بروتين سكرية (Glycoproteins) أو دهون سكرية (Glycolipids) ، والتي تخدم كمكون مهم من غشاء الخلية (Sharon, ١٩٧٦).

تستعمل في وقتنا الحاضر فحوصات مختبرية للتعرف على فصائل الدم (Blood groups) وتنميط أنواع البكتريا (Bacterial typing) وتحفيز الخلايا اللمفاوية على الإنقسام ولدراسة المواد الكاربوهيدراتية البسيطة والمركبة على سطوح الخلايا وفي المحاليل والتعرف على أنواع الخلايا وفصلها ولإختيار الخلايا الحيوانية الطافرة وهي ذات كلف إقتصادية مرتفعة ، لذلك جرت محاولة لفصل اللكتينات من بذور نباتات محلية وإختبار صلاحيتها لبعض الأغراض الآنفة الذكر، والتي تتميز بقلة الكلفة وببساطة التحضير.

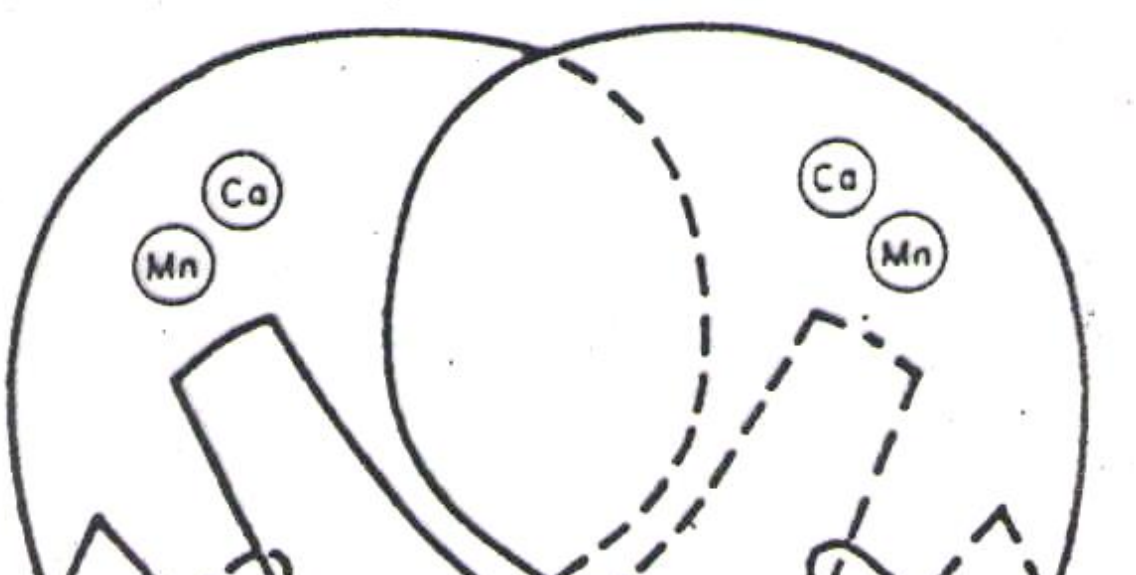
## ٢.١. التركيب العام للكتينات Overall Structure of Lectins

يتألف اللكتين المعروف بـ Concanavalin A (شكل ١.١) ويرمز له إختصاراً بـ (Con A) الذي مصدره نوع من البقول (Legumes) يطلق عليها بقول جاك (Jack beam) واسمها العلمي *Canavalia ensiformus* من وحدات متطابقة (Identical units) كل واحدة تتألف من ٢٣٧ حامض أميني وآيون كالسيوم واحد وآيون منغنيز واحد وموقع رابط واحد للكاربوهيدرات (Cunningham, ١٩٧٦). على النقيض من معظم اللكتينات لا يحتوي هذا اللكتين على الكاربوهيدرات ولا يملك مجموعة إضافية أخرى. إن تسلسل الأحماض الأمينية يظهر بعض الهيئات غير الاعتيادية ماعدا حقيقة كون بقايا (Residues) ١١ فنيل-

ألانين تقع كلها في نصف الطرف الكاربوكسيلي للجزيئة وكل اللكندات (Ligands) البروتينية لأيونات المعادن تقع في المنطقة القصيرة المحبة للماء (Hydrophilic short region) قرب الطرف الأميني .

أظهرت دراسات علم البلورات (Crystallographic studies) بأن أبعاد القطعة الأحادية لهذا اللكتين هي ٤٠×٣٩×٤٢ أنكستروم. إن ميزة التركيب الرئيسية لهذا اللكتين هو وجود اثنان من تراكيب بيتا (β structures) كبيرة أو ما تسمى بالصفائح المطوية (Folded sheets) التي تشمل أكثر من نصف بقايا الأحماض الأمينية. تتألف الصفيحة المطوية الأكبر من ٦٤ من البقايا في ست سلاسل غير متوازية تغطي الجزء الخلفي للجزيئة بالكامل، أما الصفيحة المطوية الأصغر فتتكون من ٥٧ من البقايا في خمس سلاسل غير متوازية وتمر عبر وسط الجزيئة، على النقيض من الصفيحة الواقعة خلف الجزيئة التي تكون مسطحة نسبياً، تكون الصفيحة الأصغر لولبية (Helical) لذلك تكون السلاسل في النهايات المتعاكسة للصفيحة متعامدة على بعضها البعض.

في الأس الهيدروجيني الوظيفي Physiological pH (pH=٦.٨) يكون هذا اللكتين رباعي القطعة (Tetrameric) من الوحدات التي وصفت في أعلاه، لكن في أس هيدروجيني أقل من ٦، فإن الشكل السائد هو ثنائي القطعة (Cunningham, ١٩٧٦). يستعمل التركيب بيتا الواقع خلف الجزيئة بصورة سائدة في تفاعلات الوحدات الصغرى، تساهم ذرات السلسلة الرئيسية لتركيب بيتا في التفاعلات بين القطع الأحادية في حين تساهم السلاسل الجانبية الممتدة إلى الخارج من تركيب بيتا في التفاعلات بين القطع الثنائية (Dimers)، في أس هيدروجيني منخفض تتبدل الحالات الأيونية لبعض من هذه السلاسل الجانبية لتعطل هذه التفاعلات سامحة للجزيئة بأن تتفكك إلى قطع ثنائية (Cunningham, ١٩٧٦) وكما موضح في الشكل (١.١).



**شكل ١.١. التركيب العام للكتين Con A (Cunningham *et al.*, ١٩٧٦)**
**Ca= ايون الكالسيوم**
**Mn= أيون المنغنيز**

أما التركيب العام للكتين المسمى (DB٥٨) (شكل ٢.١) الذي يتواجد في اللوبياء الهلْيَونية *Dolichos bifloris* فتحتوي بلورات الوحدة غير المتماثلة له على ست قطع أحادية (A-F) ، وبسبب تقييد التماثل غير البلوري الذي طبق أثناء التنقية تظهر متطابقة تقريباً. تشترك أربع قطع أحادية لهذا اللكتين (A, B, C, D) في التركيب الرباعي. إن وجود القطعة الثنائية المنعزلة غير المتزنة (Non canonical isolated dimer) والمتكونة من القطع الأحادية المتبقية (E&F) في البلورة تؤكد بأن القطعة الثنائية تستطيع التواجد بشكل مستقل ويجب أن تكون التركيب الرباعي للبروتين في المحلول (Buts *et al.*, ٢٠٠١)

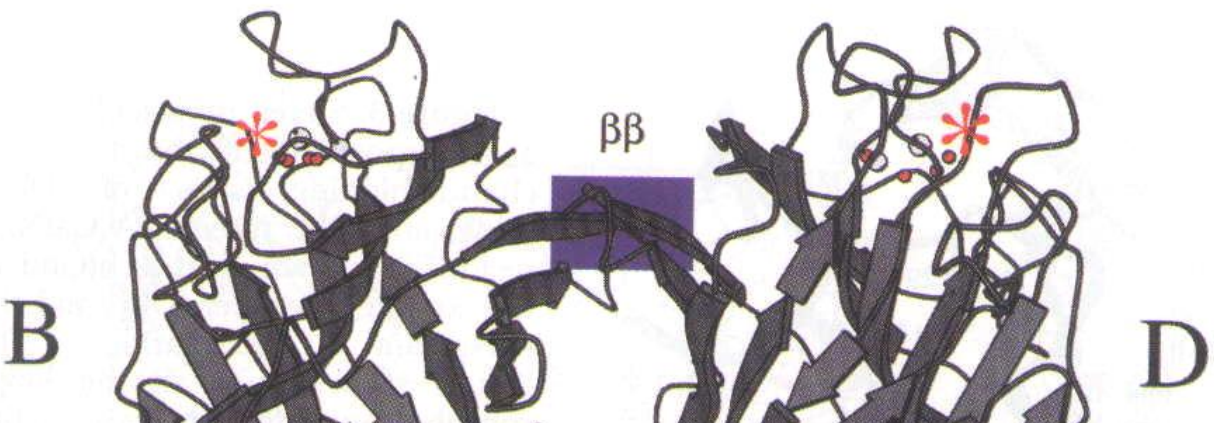
إن بعض لكتينات العائلة البقولية تملك موقعاً رابطاً كارهاً للماء (Hydrophobic binding site) مع ألفة عالية للقاعدة النيتروجينية (Adenine) وهرمونات نباتية معينة مشتقة منه (Roberts and Goldstein, ١٩٨٣; Maliarik and Goldstein, ١٩٨٨; Buts *et al.*, ٢٠٠١) ، إنَّ هذا الموقع والموقع الرابط للسكر الأحادي يكونان مميزين ولا يمكنهما التفاعل بأي طريقة كانت. إن ارتباط القاعدة النيتروجينية (Adenine) قد شخص بصورة رئيسية في لكتينات البقوليات رباعية القطعة. وبالرغم من كون هذا اللكتين ثنائي القطعة فإنه يستطيع أيضاً ربط القاعدة النيتروجينية (Adenine). إن حقيقة تكوين هذا اللكتين للقطعة الثنائية غير المتزنة قد دعمت بقوة بوساطة مشاهدة ربط القاعدة النيتروجينية (Adenine) بهذا البروتين. يحتوي هذا اللكتين على موقعي ارتباط سكري (Glycosylation) فعالين (Asn١٢-Ser-Ser and Asn٧٩-Lys-Ser) اللذان

وجـــد بأنهمـــا مربوطـــان ســـكرياً (Glycosylated) فـــي الاختبـــارات الكيموحياتية،(Etzler, ١٩٩٤; Buts *et al.*, ٢٠٠١). لا توجد كثافة قابلة للتفسير للمركـب (Asn ١٢ glycan)، إن البقيـة المركزيـة (GlcNAc) للمركـب (Asn ٧٢ glycan) كانت مرئية في القطع الأحادية (B&E) ويمكن ملاحظة اللب الكامل (Entire core) للسكر الثلاثي بوضوح في القطعة الأحادية F .

لم تلحظ أي كثافة من القطع الأحادية (A, D & F) للمركب (Glycan) الذي يكون قريباً للموقع الرابط للسكر الأحادي. تكون المواقع الرابطة للمعادن في هذا اللكتين متطابقة مع تلك المواقع الموجودة في اللكتينات البقولية الأخرى، وكما هو متوقع. توجد آصرة الببتيد (Peptide bond) شديدة المحافظة ذات الموقع المتجاور (Cis) الذي يقع بين (Ala ٨٤) و (Asp ٨٥). أدخلت الليكاندات الأربعة المائية للمعادن في هذا الشكل باستعمال علم الهندسة الجمعية للأواصر التناسقية (Consensus geometry for the coordination bonds) بالاعتماد على التراكيب عالية الفصل (High resolution structures) المتوافرة للكتينات البقولية الأخرى (Buts *et al.*, ٢٠٠١) .

الوجـــه البينـــي غيـــر القـــويم للقطعـــة الثنائيـــة (Non canonical dimer interface): إن القطعتين الأحاديتين في القطعة الثنائية غير المتزنة يؤلفان الوجهين البينيين وهما الوجه البيني ββ بين حزمتي بيتا متساويتين والوجه البيني αβ بين لولب ألفا (α- helix) وجزء من صفيحة بيتا (Hamelryck et al., ١٩٩٩). يتألف الوجه البيني ββ من السلاسل الجانبية للبقايا ١٨٧، ١٨٩، ١٩١ في حزمتي β متساويتين من القطع الأحادية المتقابلة، على حين يتألف الوجه البيني الثاني بين دورتي لولب ألفا من الطرف الكاربوكسيلي (البقايا ٢٤٢-٢٥٠) للقطعة الأحادية غير المقطوعة وجزء من الصفيحة الخلفية (حزم بيتا ٢-٨ ، ٦٦-٧١ ، ٢٢٣-٢٣٣) للقطعة الأحادية الأخرى المقطوعة.

هنالك متسع للولب واحد فقط في الوجه البيني، لكن هذا اللولب يسهم بكل من القطعتين الأحاديتين مُفضية إلى إتجاهين غير متوازيين للولب في البلورة. يكون اللولب متناسق تقريباً ويلائم بصورة جيدة الأخدودين في صفائح بيتا المتطابقة على كل جانب (Buts *et al.*, ٢٠٠١) وكما موضح في الشكل (٢.١).



**شكل ٢.١. التركيب العام للكتين DB٥٨ (Buts *et al.*, ٢٠٠١)**

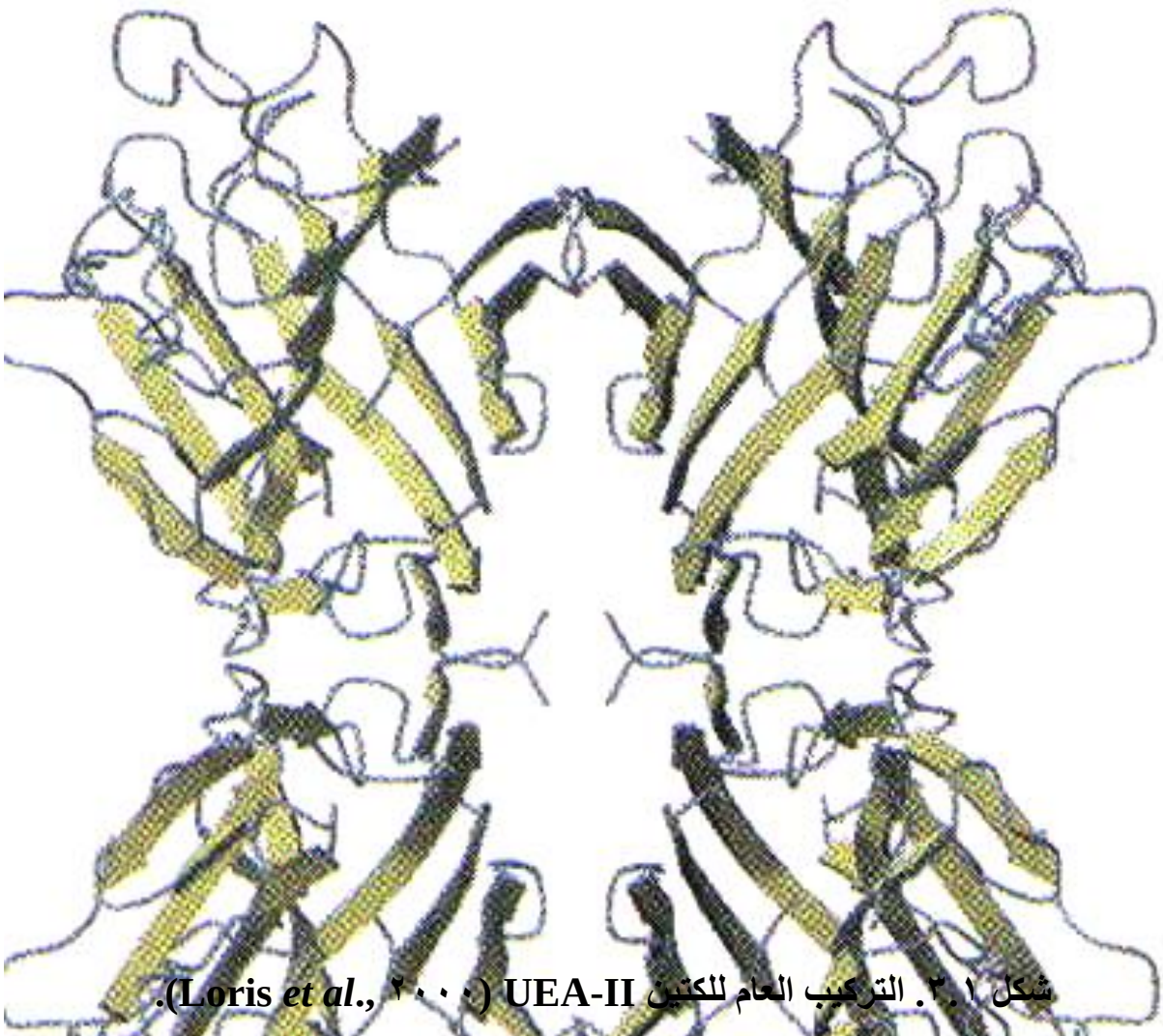
**A,B,C,D = القطع الأحادية المكونة للكتين.**
**αβ, ββ = الوجهان البينيان غير المتزنين للقطعة الثنائية للكتين.**
**CDI = الوجه البيني المتزن للقطعة الثنائية للكتين.**
**N = الطرف الأميني لسلسلة الأحماض الأمينية المكونة للكتين.**
**C = الطرف الكاربوكسيلي لسلسلة الأحماض الأمينية المكونة للكتين.**

إن القطع الأحادية للكتينات العائلة البقولية متشابهة مع بعضها البعض ومنها لكتين نبات الجولق الأوربي *Ulex europaeus* شكل (٣.١)، فالتركيب العام للقطعة الأحادية له مشابه للقطع الأحادية لبقية لكتينات العائلة البقولية. إن البلورات الطبيعية له تكون رباعية القطعة في وحدتها غير المتناسقة وقطعها الأحادية المكونة لها ترقم (I-IV). تكون الكثافة الإلكترونية (Electronic density) واضحة ومتصلة لكل البقايا من (Ser٣) إلى (Leu٢٣٨)، ماعدا الحلقة (Ser٤٠-Thr٤٣)، التي لا تكون معرفة بشكل جيد في القطعة الأحادية رقم I. إن الهيأة الفراغية أو الشكل المجسم للقطع الأحادية في الوحدات غير المتناظرة للتركيب غير المعقد لجزيئة اللكتين ومعقداتها الكاربوهيداتية تكون متطابقة ضمن مجال الأخطاء المتناغمة التي تستدعيها قابلية فصل المعلومات ونوعيتها. إن الإختلافات الوحيدة التي من الممكن أن ترى هي في شكل الحلقة (Ser٤٠-Thr٤٣) التي تكون معتمدة على تراص البلورة وإتجاه السلسلة الجانبية للحامض الأميني (Tyr١٣٥) التي تعتمد على طبيعة السكر الذي يتواجد في الموقع الرابط (Loris *et al.*, ٢٠٠٠).

لقد لوحظ خلال عملية التنقية عدد هائل من التناقضات بين خريطة الكثافة الإلكترونية التجريبية وما هو منشور حول تسلسل الأحماض الأمينية لهذا اللكتين (UEA-II)(Konami *et al.*, ١٩٩١). ولهذا السبب، فقد سُلِكَ عدد من الكلونات (Clones) من الحامض النووي منقوص الأوكسجين الكلوني (cDNA) وكذلك الحامض النووي منقوص الأوكسجين الوراثي (Genomic DNA) من نباتات محصورة محلياً من نوع الجولق الأوربي. هذه التسلسلات عادت إلى عائلتين

منفصلتين اللتان يكون فيهما تسلسل الأحماض الأمينية المترجمة متطابقاً بنسبة ٧٥%.

لقد لائم هذا التسلسل بصورة جيدة خريطة الكثافة الضوئية التجريبية باستثناء ستة أحماض أمينية، خمس منها هي: (Asp٢٥, Ile٦٢, Gly١٠٦, Gly١٩١, Val٢٢٩)، بالإضافة إلى ذلك، فإن طفرة نقطية مفردة (على صعيد الـ DNA) لهذه التسلسلات المشتقة من الـ DNA كانت فعالة لإنتاج بقايا الأحماض الأمينية المشتقة من الأشعة السينية (Loris *et al.*, ٢٠٠٠) وكما موضح في الشكل (٣.١).



**شكل ٣.١. التركيب العام للكتين UEA-II (Loris *et al.*, ٢٠٠٠).**

## ٣.١. أنواع اللكتينات واستعمالاتها Types and Uses of Lectins

اللكتينات هي بروتينات سكرية مصدرها النباتات والحيوانات الفقرية واللافقرية والأحياء المجهرية متخصصة بالسكريات ملزنة للخلايا توجد معظمها بصورة رئيسية في البذور وبنسب أقل في الأنسجة النباتية الأخرى، هذا وإن

السكريات المرتبطة مع جزيئة البروتين بأواصر تساهمية لا تساهم في الفعاليات الحياتية للكتينات ، اللكتينات الحيوانية الفقرية تقسم على مجموعتين: الأولى هي جزء من الأغشية وتحتاج إلى مواد منظفة (Detergents) لإستخلاصها، والثانية: هي اللكتينات الذائبة، توجد لكتينات اللافقريات في معظم شعبها الثلاثين ولمختلف أصنافها وتتركز في السائل الدموي اللمفي والأعضاء التناسلية، أما لكتينات البكتريا فأنواعها الملزنة لكريات الدم الحمراء وغيرها من الخلايا توجد بشكل زوائد خيطية تعرف بـ (Fimbriae) أو (Pili) ، توجد اللكتينات أيضاً في الـ (Actinomyces) مثل *A. viscosus* وهذه تلزن بكتريا المكورات المسبحية Streptococci والخلايا الطلائية ويعتقد أن هذه اللكتينات تعمل كوسائط لإلتصاق هذه البكتريا في الفم وتساهم في تكوين التسوس في الأسنان (السعد والزبيدي، ١٩٩١)

إن بعضاً من اللكتينات لها القدرة على تحفيز الخلايا على الإنقسام مما يجعلها مهمة في دراسة الخلايا ولاسيما الخلايا اللمفاوية من هذه اللكتينات:

١- Concanavalin A ويرمز له (Con A) وهو لكتين رابط لسكر (α-D-Mannose, α-D Glucose) ملزن لكريات الدم الحمراء مصدره نوع من البقول يطلق عليها بقول جاك (Jack bean) واسمها العلمي *Canavalia ensiformis* هذا اللكتين يحفز خلايا الإنسان اللمفية على الإنقسام خاصة الخلايا T. فعند تعرض هذه الخلايا للكتين تتنبه وتفرز بعض العوامل مثل (Lymphokines) و (Interferons)وقد يغير اللكتين من حالتها الوظيفية فتتحول مثلاً إلى خلايا سمية للخلايا (Cytotoxic).

٢- ملزن الدم النباتي (Phytohaemagglutinin) ويرمز له (PHA) وهو نوع من اللكتينات ينبه مجموعة أخرى من الخلايا اللمفية T و B في الإنسان على الإنقسام وملزن لكريات الدم الحمراء مصدره نوع من البقول (Red Kidney Bean) واسمها العلمي (*Phaseolus vulgaris*) هذا اللكتين متخصص بالسكر (Acetyl D-Galactosamine).

٣- مايتوجين الأعشاب (Pokeweed Mitogon) مواد مستخلصة من جذور وأوراق وسيقان وثمار العشب *Phytolacca americana* ملزنة ضعيفة لكريات الدم الحمراء ولكنها محفزة لإنقسام الخلايا اللمفاوية T و B في الإنسان منشطة لكلا النوعين من الخلايا في الفئران . وإن المادة الفعالة في هذه المستخلصات بروتينية التركيب (السعد والزبيدي، ١٩٩١).

أما وظائف اللكتينات فتتمثل كما جاء في (Sharon, ١٩٧٦):

١- تلازن الخلايا الحمراء للفقريات والإنسان.
٢- تلازن الخلايا اللمفية للفقريات والإنسان.
٣- تلازن الخلايا السرطانية وإمكانية استخدامها في التشخيص.
٤- تشطير الخلايا اللمفية.
٥- عامل فصل للخلايا من الفقريات.
٦- تلازن البكتريا.

٧- دراسة تطور الكائنات الحية (من خلال دراسة التراكيب الجزيئية لها).

أما (Arason, ١٩٩٦) فقد صنف اللكتينات إلى ست عوائل على الأقل بالقياس مع الحقل المميز للكاربوهيدرات (Carbohydrate recognizing domain) وهي:

١- لكتينات البقوليات.
٢- لكتينات الحبوب.
٣- لكتين -P.
٤- لكتين - S.
٥- لكتين النوع – C.
٦- اللكتينات المسماة بـ Pentraxins (Sharon, ١٩٩٣; Drickamer and Taylor, ١٩٩٣). ومن الجدير بالذكر بأن الأنواع الأربعة الأخيرة فقط وجدت في الحيوانات البعدية (Metazoa) لحد الآن (Barondes, ١٩٨٨).

إن المادة اللاصقة للطفيلي *Entamoeba histolytica* ولكتينات *Axinella polypoides* مختلفة تركيبياً من هذه العوائل وتبدو مكونة لمجاميع منفصلة من اللكتينات (Buck *et al.*, ١٩٩٢; McCoy *et al.*, ١٩٩٤) ، ولم يعرف لحد الآن فيما إذا كانت تجسد الحيوانات البعدية المتقدمة. تحتوي بيوض قنفذ البحر (*Anthocidaris crassispina*) على لكتين فريد رابط للكالكتوز من المحتمل إن له دور في التمايز (Ozeki *et al.*, ١٩٩١)، ويرى على الأرجح بأن هذا اللكتين له نسخ متطابقة في الحيوانات البعدية الأخرى. إن عوائل اللكتينات (Lectin families) ربما تختلف في التخصصية وكذلك متطلباتها لأيونات المعادن (جدول ٢.١.). يتواجد الحقل المميز للكاربوهيدرات في كل سلسلة بروتينية كنسخة مفردة أو كأعداد مثل ٢، ٨ أو ١٥، وتبلغ من الوزن ٢٥-٣٠ كيلو دالتون في لكتينات البقوليات و ١٤-١٨ كيلو دالتون في الأصناف الأخرى.

بصورة عامة فإن اللكتينات تتألف من قطع متعددة مع عدد متباين من الوحدات الصغرى، تمسك سوية بآصرة غير تساهمية (Non covalent bond) أو بوساطة أواصر ثنائية الكبريت (Disulphide bonds). عشرة لكتينات على الأقل حلت أبعادها الثلاثية بوساطة تحليل أشعة X عالي الفصل (Weis *et al.*, ١٩٩٢; Sharon, ١٩٩٣; Weis, ١٩٩٤; Barondes *et al.*, ١٩٩٤; Emsley *et al.*, ١٩٩٤)، حيث أبدت تنوعاً واسعاً في الإختلاف التركيبي. الوحدات الصغرى للكتين البقوليات يكون على شكل القبة (Dome shaped) مع موقع رابط مكوناً إنخفاضاً مسطحاً في القمة تكون هذه اللكتينات فاقدة لمحاور – ألفا وتحوي على وفرة من صفائح بيتا غير المتوازية. لكتين – S ذو وزن ١٤ كيلو دالتون يكون ثنائي القطعة ذو إثنان من الحقول المميزة للكاربوهيدرات تكون كروية أو ذا شكل جرسي كل واحدة تتألف من ساندويج يتألف من حزمتين مصفحتين. إن الطية الثلاثية للمكون – P لمصل الإنسان الأميلي (Amylated human serum) والإسطوانة الهلامية المسطحة (Flattened jelly roll) من

نوع بيتا متشابهة إلى حد كبير للكتينات البقولية، على الرغم من وجود تشابه ضئيل للتسلسل.

جدول ٢.١. عوائل اللكتينات

| عائلة اللكتين | الوحدات الصغرى | الوزن الجزيئي للوحدات الصغرى (KDa) | الحقل المميز للكاربوهيدرات لكل وحدة صغرى | الإعتماد على أيون $Ca^{+2}$ | الأواصر ثنائية الكبريت | التخصصية |
|---|---|---|---|---|---|---|
| لكتينات البقول | ٢ أو ٤ | ٣٠-٢٥ | ١ | + | - | متنوع |
| لكتينات الحبوب | ٢ | ١٨ | ٢ | - | + | Calc NAC NeuAC |
| لكتين - P | ١-٤* | ٤٦ أو ٢٧٥ | ١ أو ١٥ | - | + | Man-٦-P |
| لكتين - S | ١ أو ٢ | ٣٥-١٤ | ١ أو ٢ | - | - | Gal |
| لكتين - C | متباين | ١٤-١٦٥** | ١ أو ٨ | + | + | متنوع |
| Pentraxins | ٥ أو ٦ | ٢٥-٢٠ | ١ | + | + | متنوع |

عن (Kornfeld, ١٩٩٢; Sharon, ١٩٩٣; Drickamer and Taylor, ١٩٩٣; Tennent and Pepys, ١٩٩٤).

* يبقى التخمين قائماً فيما إذا لو كانت اللكتينات من النوع P أحادية القطعة أو تتجمع في الغشاء لتكون قطع ثنائية أو رباعية.

** الوحدات الصغرى للكتينات النوع C تتألف من حقول مميزة لكاربوهيدرات حوالي ١٢٠ حامض أميني (١٤ كيلو دالتون تقريباً) والتي ربما تتواجد منفصلة (في اللافقريات) أو متصلة مع حقول أخرى (اللبائن، الطيور).

يحتوي الحقل المميز للكاربوهيدرات للكتين – C على إثنين من محاور ألفا وعلى صفيحتين من النوع بيتا وبعض الحلقات. يكون الموقع الرابط للكاربوهيدرات موجوداً في إحدى الحلقات ويشترك إلى حد كبير مع موقعين رابطين للكالسيوم. الكالسيوم مهم للإرتباط بالكاربوهيدرات. وإن التخصصات المختلفة تنتج بسبب التغاير التركيبي البسيط قرب الموقع الرابط للسكر. شخصت أربع عوائل لكتينية في الحيوانات البعدية، فقط إثنان منها لها وظيفة التمييز بين ما هو ذاتي وما هو غير ذاتي (Self and non self) وهما لكتينات C و الـ Pentraxins (Arason, ١٩٩٦).

إن اللكتينات التي تعود إلى هذه العوائل تتواجد في الفراغ خارج الخلايا كجزيئات ذائبة أو جزيئات عبر غشائية (Transmembrane molecules) أو كبروتينات حشوية (Parenchymatous proteins). اللكتينات من النوعين P و S ليست دفاعية، لقد وصف لكتينان من النوع P (Kornfeld, ١٩٩٢) ، كلاهما بروتينات عبر غشائية ، داخل خلوية مع تخصص تجاه مانوز – ٦ – فوسفيت ويقومان بوظيفة الإستهداف الداخل خلوي للإنزيمات الحالة.

لكتينات S أو (Galectins) تكون صغيرة وهي عبارة عن بروتينات ذائبة مع ألفة لسكر Lactosamine وإنزيمات β-galactosides غير معتمدة على الكالسيوم (Barondes *et al.*, ١٩٩٤; Drickamer & Loylor, ١٩٩٣; Hirabayashi & Kasai, ١٩٩٣) يحوي الحقل المميز للكاربوهيدرات على ١٩ حامض أميني غير متباين و ٣٦ حامض أميني محافظ ، أما

(Hirabayashi, Internet private speech) فقد صنف اللكتينات على العوائل الآتية:

١- Galectins: لكتينات حيوانية سريعة النمو، كلها تشترك في تخصصها تجاه سكر الكالكتوز.
٢- اللكتينات الحيوانية (نوع -C) المعتمدة على الكالسيوم تؤلف عائلة كبيرة تتكون من أعضاء تمتلك وظائف وتراكيب متنوعة.
٣- Selectins (من النوع C) تكون عائلة صغيرة متميزة بوظيفتها الخاصة في إلتصاق كريات الدم البيضاء على الخلايا الطلائية.
٤- Collectins (من النوع C أيضاً) متخصصة بسكر المانوز تملك تركيباً فريداً يتألف من الحقل اللكتيني من النوع C و الحقل الذي يشبه الكولاجين، من المفترض بأنها تدخل في المناعة الفطرية.
٥- لكتينات اللافقريات مجموعة واسعة تتواجد في السوائل الجسمية، من المحتمل بأنها عوامل حماية للجسم.
٦- Annexins مجموعة من البروتينات لها ألفة تجاه الدهون ، أثبت أخيراً بأنها لكتينات تظهر فعالية رابطة لسكريات (Glycosaminoglycans).
٧- عائلة لكتينات البقوليات تتكون من عدد كبير من اللكتينات مثل Con A تتمتع بتخصصية متنوعة تجاه السكريات بالقياس مع لكتينات النوع C.
٨- Ricin: وهو أول لكتين أكتشف في روسيا قبل أكثر من مئة عام وإنه من المؤكد في الوقت الحاضر بأن هذا اللكتين له أعداد متشابهة أخرى التي تختلف بسميتها أو التخصصات نحو السكريات.

### ٤.١. تلازن كريات الدم الحمراء للإنسان بوساطة اللكتين

### Agglutination of Human Erythrocytes by Lectin

جاء في بحث لـ (Ray and Chatterjee, ١٩٩٥) إنهما استعملا لكتين بذور نبات السراكه الهندية *Saraca indica* النقي ولاحظا قابلية تلزينه لكريات الدم الحمراء للإنسان والحيوانات، فمع كريات الدم الحمراء للإنسان بفصائلها المختلفة (A, B, O, AB) فقد بلغ عيار التلازن الدموي (Hemeagglutination titre) (١٦، ١٦، ٣٢، ٨) على التوالي، أما كريات الدم الحمراء لكل من الدجاج والماعز والبط والأرنب فقد بلغ العيار (١٦) ، وبلغ عيار التلازن الدموي (٨) في حالة كريات الدم الحمراء للجرذ (سجل العيار عند بروتين تركيزه ٨٠ ملغم/ مل) ولزن هذا اللكتين وكما هو واضح فصائل دم البشر (AB, O, B, A) بصورة متساوية تقريباً مما يعني أن هذا اللكتين يتخصص بأكثر من مجموعة دم واحدة. ولزّن هذا اللكتين كريات الدم الحمراء للدجاج والماعز والبط والأرنب والجرذ (Ray and Chatterjee, ١٩٩٥).

استعمل (Suseelan *et al.*, ١٩٩٧a) كريات الدم الحمراء للأرنب عند دراستهم لنوعين من اللكتين في بذور نوع من اللوبيا *Vigna radiata* حيث سجل اللكتين رقم ١ ما قيمته ١٩٨ وحدة تلازنية (Agglutination unit) لكل مايكرو

غرام لكتين، وسجل اللكتين الثاني ٨٨ وحدة تلازنية لكل مايكرو غرام لكتين، وأشار (Suseelan *et al.*, ١٩٩٧b) إلى أن لكتين نبات الماش *Vigna mungo* يلزن كريات الدم الحمراء للأرنب حيث إنه عند تحضير محلول اللكتين الخام أعطى ٢٧٠٩٢٠٠ وحدة تلازنية.

أما الباحثان (Suseelan and Mitra, ٢٠٠١) اللذان عملا على أوراق نبات رجل الإوز *Chenopodium amaranticolor* وفصلا اللكتين بشكل نقي فقد لاحظا أن هذه المادة قد لزنت خلايا الدم الحمراء للأرنب ولم يُلاحظ أي نشاط تلازني لخلايا الدم الحمراء للإنسان بفصائلها المختلفة مما يدل على أن هذا اللكتين غير متخصص بمجموعة دموية، وأوضح الباحث شناوة (Shnawa, ٢٠٠١) وأثناء عمله على بعض لكتينات العائلة البقولية لاحظ أن مستخلصات اللكتين العائدة لنباتات اللوبياء *Dolichos biflorus* ، الباقلاء *Vicia faba* ، الفاصوليا *Phaseolus laurantus* ، والحمس *Cicer orientun* في الماء البارد قد لزّنت كريات الدم الحمراء من فصيلة A، أما محلول لكتين نبات الفاصولياء *Phaseolus laurantus* فقد لزّن فصيلة الدم B ، وقد لزنت محاليل لكتين الفاصولياء *Phaseolus laurantus* والماش *Phaseolus aureus* فصيلة الدم O. لقد جرّبت في هذا البحث عوالق الكريات الحمراء بتخافيف مختلفة تتراوح ما بين ٢.٥% و٥٠% ووجد أن أمثل تخفيف لكريات الدم الحمراء في المحلول الوظيفي هو ٢.٥%.

وبالنظر إلى أن كريات الدم الحمراء للإنسان والحيوانات المختلفة بل وحتى داخل النوع الواحد تختلف في طبيعة السكر الطرفي المكون لأغشية هذه الكريات الحمراء، واختلاف المواقع الفعالة الرابطة للسكر في جزيئات اللكتين بحسب تسلسل الأحماض الأمينية (Amino acid sequence) المكونة لها في الوقت نفسه لذلك فإن هناك عوامل مختلفة تؤثر على عملية التلازن الدموي وكما هو واضح في أعلاه، ومن هذه العوامل المختلفة هي: طريقة الفصل ، نوع كريات الدم الحمراء، نوع اللكتين المستعمل، نسب المواد المتفاعلة ، وظروف التفاعل المختلفة، إن جزيئات اللكتين بتلازنها مع كريات الدم الحمراء تبدي تشابهاً كبيراً مع الكلوبيولينات المناعية (Immunoglobulins) وعلى العموم فإن جزيئات اللكتين تكون ذات خصوصية واسعة نسبة إلى خصوصية الكلوبيولينات المناعية (Sharon, ١٩٩٣).

### ١.٥. إرتباط جزيئات اللكتين بالسكريات

### Sugar's Binding with Lectin Molecules

تتواجد اللكتينات النباتية بصورة سائدة في بذور العوائل النباتية المختلفة وبشكل خاص في العائلة البقولية، حيث تكون هذه اللكتينات ذات تخصصات مختلفة تجاه السكر بسبب وجود المواقع الفعالة الرابطة للسكر في جزيئات اللكتين والمكونة من الأحماض الأمينية والبعض منها ينتشر بوفرة في الطعام المستهلك من قبل الإنسان. الصنف المهم الآخر الذي يحوي لكتين بشكل واسع في الطعام هو صنف لكتينات العائلة النجيلية (Graminea) وهي ذات تخصص لسكر (N-

(acetylglucosamine. إن لكتينات نبات الحنطة والجاودار والشعير والرز تعد من هذا الصنف (Sollid *et al*., ١٩٨٥; Kolberg, ١٩٩٢) وعند استعمال الباحثين (Goldstein and Hayes, ١٩٧٨; Raychoudhury *et al*., ١٩٩٣) لبعض النباتات فقد عرفوا السكر القابل للإرتباط مع لكتين النوع النباتي، فلكتين الحنطة *Triticum vulgaris* يرتبط مع السكّرين (N-acetylglucosamine, N-acetylneuraminic acid)، أما لكتين الفول السوداني *Arachic hypogaea* فيرتبط مع السكر (D-galactose (١-٣) –D-N-acetylgalactosamine)، ولكتين الجولق الأوربي *Ulex europaeus* فيتحد مع سكر (L-fucose)، على حين ان لكتين اللوبياء الهِليونية *Dolichos biflorus* يتحد مع السكر (N-acetylgalactosamine)، ولكتين الخروع *Ricinus communis* يتخصص بسكر (D-galactose)، وأخيراً فإن لكتين بقول جاك *Canavalia ensiformis* متخصص بالسكرين (D-glucose, D-mannose)، أما (Ainsworth, ١٩٩٣) فقد عمل على بعض النباتات ودون السكريات التي يمكنها الإرتباط بها فذكر أن لكتين نبات الفول السوداني *Arachis hypogaea* يتحد مع السكر (β-D-gal (١- ٣) – D-N-acetylgalactosamine)، أما لكتين بقول جاك *Canavalia ensiformis* فإنها ترتبط بالسكرين (α-D-mannose, α-D-glucose)، لكتين نبات الأرثرينا *Erythrina corallodendron* يتحد مع السكر (β-D-gal (١- ٤)-N-actylglucosamine)، ولكتين الخروع *Ricinus communis* مع سكر (β-D-galactose)، أما لكتين القرنبوش *Tetragonolobus purpureas* فيتخصص بسكر (α-L-fucose)، ولكتين الحنطة *Triticum vulgaris* متخصص بالسكرين (N-acetyl-D-glucosamine, N-acetylneuraminic acid).

## ١.٦. تأثير الأس الهيدروجيني على خاصية التلازن باللكتين
## Effect of pH on the Agglutination by Lectin

درس الباحثان (Ray & Chatterjee, ١٩٩٥) الفعالية التلازنية للكتين المستخلص من أغلفة بذور نبات السراكة الهندية *Saraca indica* في درجات أس هيدروجيني مختلفة (٣-١٠) حيث بقيت فعالية اللكتين في كل من هذه الدرجات ولكن بنسب متفاوتة، ففي الدرجتين ٣ و ٤ كان عيار التلازن الدموي (١٦) ، أما في الدرجتين ٥ و ٧ فكان العيار (٣٢)، وفي درجة ٨ كان العيار (٦٤)، انخفض العيار (١٦) في درجة ٩ وانخفض أكثر (٨) في درجة ١٠، وفحص الباحثون (Suseelan *et al*., ١٩٩٧a) اللكتينين المستخرجين من بذور نوع من اللوبياء *Vigna radiata* ولاحظوا تغير الفعالية التلازنية في درجات أس هيدروجيني مختلف (٣-١٠) حيث بقي اللكتينان فعالين في أس هيدروجيني يتراوح ما بين ٤ و ٨، أما أقصى فعالية لهما فقد سجلت في درجتي ٥ و ٦، أما عند دراسة اللكتينين المنقيين من بذور نبات الماش *Vigna mungo* من قبل (Suseelan *et al*., ١٩٩٧b) فقد اختبرت

الفعالية التلازنية لهما في درجات أس هيدروجيني (١-١٠) حيث وجد أنهما بقيا فعالين في درجات تتراوح (٣.٥-٧.٥)، أ ما أمثل فعالية تلازنية فكانت محصورة بدرجات حامضية (٤ و ٥) ، وقد فقدا نصف فعاليتهما في درجتي الأس الهيدروجيني ٦ و ٧ ، و٩٠% من الفعالية بدرجة ٨ وأصبحا عديما الفعالية بدرجتي ٣ و ٨.

تمت دراسة فعالية لكتين آخر منقى من أوراق نبات رجل الإوز *Chenopodium amaranticolor* من قبل (Suseelan & Mitra, ٢٠٠١) وأثر الأس الهيدروجيني على هذه الفعالية بدرجات (١-١٢) حيث وجد بأن الفعالية اللكتينية بقيت ثابتة في أس هيدروجيني محصور بين (٣-١٢)، أما في الأس الهيدروجيني بدرجة تقل عن ٣ فقد انخفضت فعالية اللكتين بالتدريج.

يتضح مما ورد سابقاً أن لتركيز أيونات الهيدروجين في المحلول اللكتيني تأثيراً على الفعاليات الحيوية لذلك اللكتين .

### ٧.١. تأثير درجة الحرارة على خاصية التلازن باللكتين

### Effect of Temperature on the Agglutination by Lectin

أثناء عمل الباحثين (Ray & Chatterjee, ١٩٩٥) على اللكتين المستخلص من أغلفة بذور نبات السراكة الهندية *Saraca indica* عُرِّض هذا اللكتين إلى درجات حرارة تصل إلى ٥٥°م لوحظ بقاء الفعالية التلازنية لهذا اللكتين إذ كان العيار (١٦) قلت الفعالية تدريجياً إلى أن وصلت إلى الصفر في درجة حرارة ٩٥مْ، أما البحث الذي أجراه الباحثون (Suseelan *et al.*, ١٩٩٧a) على اللكتينين المستخرجين من بذور نوع من اللوبياء *Vigna radiata* فقد ثبتت الفعالية التلازنية لهما حيث كانت على أشدها في درجات الحرارة التي تراوحت ما بين ٢٥ مْ و٤٠ مْ، بعدها قلت الفعالية إلى أن وصلت إلى الصفر في درجة حرارة ٦٠ مْ، واشتغل الباحثون (Suseelan *et al.*, ١٩٩٧b) على لكتيني نبات الماش *Vigna mungo* حيث عرّضا لدرجات حرارة متباينة (٢٥ مْ ، ٣٥ مْ ، ٤٥ مْ ، ٥٥ مْ ، ٦٥ مْ ، ٧٥ مْ ، ٨٥ مْ ، ١٠٠ مْ) لمدة ١٠ دقائق وسجلت الفعالية التلازنية في كل حالة حيث لوحظ وجود علاقة خطية (Linear relationship) بين الفعالية التلازنية ودرجة الحرارة فعندما عرضت هذه اللكتينات إلى درجة حرارة ٤٥ مْ فقدت ٥٠% من الفعالية التلازنية في ١٠ دقائق وأكثر من ٩٠% من هذه الفعالية خلال ٦٠ دقيقة. أما في درجة حرارة ٥٠ مْ فقد فقدت ٥٠% من الفعالية خلال ٥ دقائق وفقدت كل الفعالية خلال ١٠ دقائق. وعند دراسة اللكتين المنقى من أوراق نبات رجل الإوز *Chenopodium amaranticolor* من قبل (Suseelan & Mitra, ٢٠٠١) فقد وجدا أنه عند تسخين هذا اللكتين من ٢٥ مْ وصعوداً إلى كل ١٠ درجات مئوية لحين الوصول إلى ١٠٠ مْ إن تبقى الفعالية التلازنية موجودة إلى حد الوصول إلى درجة حرارة ٨٠ مْ.

وأخذ الباحث (Shnawa, ٢٠٠١) عند اشتغاله على بذور بعض نباتات العائلة البقولية (اللوبياء *Dolichos biflorus*، الباقلاء *Vicia faba*،

الفاصولياء *Phaseolus laurantus*، الماش *Phaseolus aureus*، الحمص *Cicer orientum*) درجات حرارة مختلفة (٤ مْ ، ٢٥ مْ ، ٣٧ مْ) وتبين أن درجة الحرارة المثلى لحصول أعظم تلازن دموي هي ٣٧ مْ. وبذلك فإن هذه الدراسات تؤكد طبيعة جزيئات اللكتين كونها مواد بروتينية تتأثر بدرجات الحرارة المتغايرة.

### ٨.١. تلازن الخلايا البكتيرية بوساطة اللكتين

### Bacterial Cell's Agglutination by Lectin

تشكل عملية البلعمة (Phagocytosis) خط الدفاع الأول للمضيف (Host) وبدونها يصبح المضيف خاضعاً للإصابة. إن معدل هضم أو إبتلاع البكتريا ممكن أن يرتفع بوجود المواد الطاهية (Opsonins) مثل المكون ($C_3$) من نظام المتمم (Complement system) والأجسام المضادة للجراثيم (Ofek & Sharon, ١٩٨٨; Stossel, ١٩٧٤a,b,c; Ainsworth, ١٩٩٣). على أية حال، هنالك طراز آخر من البلعمة يعرف بعملية البلعمة اللكتينية (Lectinophagocytosis) تتضمن تفاعل اللكتينات الموجودة على البكتريا أو الخلايا البلعمية مع مادة الكاربوهيدرات المكملة على الخلايا المقابلة (Opposing cells)، (Freimer *et al.*, ١٩٧٨; Ofek & Sharon, ١٩٨٨; Ainsworth, ١٩٩٣). تمتلك الخلايا الحيوانية مثلها مثل اللكتينات المختلفة السكريات التي تكون موجودة على سطوحها سامحة بذلك للتفاعلات المكملة بين البكتريا والأنسجة الحيوانية بالحدوث (Ofek *et al.*,١٩٨٥;Ainsworth, ١٩٩٣) تحدث التفاعلات البكتيرية-الخلوية بثلاث آليات: (١) يرتبط اللكتين البكتيري بمستقبل الخلية المضيفة ، (٢) يرتبط لكتين خلية المضيف بالمستقبل البكتيري ، (٣) تنتج البكتريا لكتينات خارج خلوية تعمل عمل الجسر بين خلية المضيف ومستقبلات البكتريا (Sharon, ١٩٨٤; Ainsworth, ١٩٩٣).

هناك بيانات كثيرة تدعم النظرية القائلة بأن لكتينات سطح البكتريا تنتج الإصابة عن طريق الالتصاق بأنسجة المضيف (Sharon, ١٩٨٤; Ainsworth, ١٩٩٣) ، وعلى أية حال، فإن التلاعب بتفاعلات اللكتين مع الكاربوهيدرات يخلق وسائل جديدة لمنع الإصابة كما في حالة اعطاء الحيوان علف يحوي سكر متخصص للكتين الموجود على سطح البكتريا الممرضة (Sharon, ١٩٨٦; Ainsworth, ١٩٩٣).

لقد استعمل الباحث (Ainsworth, ١٩٩٣) عزلات عديدة لبكتريا *Edwardsiella ictaluri* التي تصيب نوعاً من الأسماك التجارية وحاول معرفة مدى تلازن هذه العزلات مع لكتينات نباتية مختلفة (بقول جاك *Canavalia ensiformis* ، الخروع *Ricinus communis* ، الحنطة *Triticum vulgaris*) ، إذ حدث تلازن لخلايا هذه البكتريا مع لكتين نباتي بقول جاك والخروع. وبما أن كل البكتريا نمت تحت نفس الظروف ولها نفس الكثافة تقريباً، لذلك فإن حدوث عملية التلازن الأقل شدة جاء من كون بعض العزلات لا تملك سكر الكالكتوز بكمية كبيرة في السطح الخارجي للجدار الخلوي. إن عملية تلازن عزلات هذه

البكتريا بوساطة لكتين نبات الخروع يمكن أن يُبطل بوساطة الحَضن المسبق (Preincubation) لهذا اللكتين مع سكر β-D-galactose أو سكر L-fucose ولهذا السبب فإن هذا التلازن يحدث بسبب بقايا سكر الكالكتوز. أما منع عملية التلازن بوساطة سكر L-fucose فمن الممكن أن يفسر بحقيقة كون هذا السكر هو من مشتقات الكالكتوز الذي يطلق عليه ٦-deoxy-L-galactopyranose. إن وجود كميات كبيرة أو ضئيلة من الكالكتوز على سطح الجدار الخلوي البكتيري يمكن أن يلعب دوراً مهماً في عملية الالتصاق داخل جسم الكائن الحي (Ainsworth, ١٩٩٣).

اشتغل الباحث (Shnawa, ٢٠٠١) على بعض نباتات العائلة البقولية ( اللوبيا *Dolichos biflorus*، الباقلاء *Vicia faba*، الفاصولياء *Phaseolus laurantus*، الماش *Phoseolus aureus*، الحمص *Cicer orientum*) وجرب مستخلصاتها على خلايا بكتيريا *Escherichia coli* إذ لاحظ تلزين لكتين نباتي اللوبياء والماش ( المستخلص بالماء البارد ) لخلايا هذه البكتريا. يمكن أن تستعمل اللكتينات - بصورة عامة – في التنميط اللكتيني للبكتريا كبكتريا الجمرة الخبيثة *Bacillus anthracis* والسيلان *Neisseria gonorrhoea* (Lis & Sharon, ١٩٨٦) ، ووجد إنه من الممكن استخدام اللكتينات النباتية في تنميط بكتريا *Campylobacter fetus* (Gill & Corbel, ١٩٨٦).

### ٩.١. تلازن الخلايا اللمفانية بوساطة اللكتين

### Lymphoid cell Agglutination by Lectin

تحوي سطوح الخلايا اللمفية كبقية الخلايا الحية على مجاميع سكر طرفية (Terminal sugar group) تختلف اعتماداً على نوع هذه الخلايا وجنس الكائن الحي وبصورة عامة تعد اللكتينات من المواد المشطرة للخلايا اللمفية ولا تتم هذه العملية من دون حدوث عملية أخرى قبلها هي عملية ارتباط جزيئات اللكتين بالسكر الطرفي الموجود على سطوح الخلايا الحية. أثبت (Sharon, ١٩٧٦) أن لكتين بعض النباتات من البقوليات يملك خاصية تلزين الخلايا الحية المختلفة ومنها الخلايا اللمفية، أما الباحثون (Cunningham *et al*., ١٩٧٦) فقد وجدوا أن لكتين نبات الفاصولياء الشائعة *Phaseolus vulgaris* يستطيع الحث على عملية التكاثر للخلايا اللمفية الطبيعية للإنسان. وقد وجد الباحثون (Ghosh *et al*., ١٩٩٩) بأن لكتين نبات السراكه الهندية *Saraca indica* يشطر الخلايا اللمفية للإنسان، أما الباحث (Shnawa, ٢٠٠١) وأثناء عمله على بعض نباتات العائلة البقولية فقد وجد أن لكتين نباتي الفاصولياء *Phaseolus laurantus* والحمص *Cicer orientum* (مستخلص الماء البارد) قادر على تلزين الخلايا اللمفانية البائية لأفراخ الدجاج كما يلزن لكتين نبات الفاصولياء *Phaseolus laurantum* الخلايا اللمفانية التائية لها.

### ١٠.١. اللكتينات بوصفها محورات مناعية

### Lectins as Immunomodulants

المحـورات المناعيـة مجموعـة مـن المـواد متباينـة فـي تراكيبهـا الكيمياويـة ومختلفة في تأثيراتها الفسلجية. فالمضادات الحيوية، والمبيدات، والفيتامينات تعمل عمل محورات مناعية عند إعطائها قبل المستضد أو بعده يعني أنها قد تؤدي إلى تضخيم الاستجابة المناعية للمستضد أو تؤدي لخفض الاستجابة المناعية المتخصصة بالمستضد بالقياس مع الحالة عند التنبيه بالمستضد لوحده (الجبوري، ٢٠٠٣) وهناك إشارة من أن بعض اللكتينات النباتية تعمل عمل محورات مناعية (Wang *et al.*, ١٩٩٨) وقد عزل الباحثون (Wang *et al.*, ١٩٩٨) اللكتينات من بعض العراهين (Mushrooms) ووجدوا أ نها قد تكون معدّلة للجهاز المناعي وضد السرطان ولها فعاليات سمية ، ومن هذه الأنواع: *Boletus satanas, Agaricus bisporus, Grifola frondosa, Ganoderma lucidum, Flammulina velutipes, Volvariella volvacea, Tricholoma mongolicum*، حيث إن من صفات هذه اللكتينات تشطير الخلايا ، تحفيز الجهاز المناعي ، تثبيط تكاثر الخلايا ، فعل مضاد للخلايا السرطانية ، توسيع الأوعية الدموية أو تخفيض الضغط.

**١١.١. أهداف الدراسة Aims of Study**

١- محاولة استعمال طرق مختلفة لفصل اللكتينات من بذور بعض النباتات.
٢- تحديد الطريقة الأمثل لفصل هذه اللكتينات.
٣- توصيف حياتي لجزيئات هذه اللكتينات عن طريق دراسة مدى تلزينها لكريات الدم الحمراء للإنسان بفصائلها المختلفة (A, B, O).
٤- توصيف كيميائي لجزيئات هذه اللكتينات وتشمل إختبار كفاءة مرسبات البروتين المختلفة عليها وتقدير كمية البروتين لها ودراسة تخصص بعض السكريات معها وأثر الأس الهيدروجيني عليها.
٥- توصيف فيزيائي لجزيئات هذه اللكتينات ويشمل تأثير درجات الحرارة المختلفة عليها.
٦- دراسة هذه اللكتينات بوصفها ملزنات لـ:
   أ- عزلات من بكتريا *Klebsiella pneumoniae*.
   ب- الخلايا اللمفانية للطير.
٧- دراسة هذه اللكتينات بوصفها محورات مناعية في الأرنب.

## الفصل الثاني Chapter Two

## المواد وطرائق العمل Material and Method

### ١.٢. المحاليل المستعملة Solutions

#### ١.١.٢: المحلول الملحي الفسلجي (الوظيفي) ٠.٨٥% Normal Saline

تم تحضير هذا المحلول بإذابة ٠.٨٥ غرام من مادة كلوريد الصوديوم شركة BDH (الوزن الجزيئي ٥٨.٤٤) – في كمية قليلة من الماء المقطر وإكمال الحجم النهائي إلى ١٠٠ مل وتعقيم المحلول في جهاز المؤصدة بدرجة حرارة ١٢١° م وضغط ١٥ بار لمدة ١٥ دقيقة.

#### ٢.١.٢. المحلول الملحي الوظيفي الفورمالييني Formal Normal Saline

حضر هذا المحلول بإضافة ٠.٥ مل من الفورمالديهايد (H-CHO) شركة BDH (الوزن الجزيئي ٣٠.٠٣) إلى ٩٩.٥ مل من المحلول الملحي الوظيفي ليصبح التركيز النهائي للفورمالين في هذا المحلول ٠.٥% ، حيث استخدم هذا المحلول لغرض منع الأحياء المجهرية من النمو في المستخلصات النباتية المحضرة.

#### ٣.١.٢. محلول البايوريت Biuret Solution

جرى تحضير هذا المحلول بإذابة ٣ غرام من مادة كبريتات النحاس ($CuSO_4.5H_2O$) – شركة BDH (الوزن الجزيئي ٢٤٩.٥) – في نصف لتر من الماء المقطر، وتم إضافة ٩ غرام من مادة ترترات الصوديوم – البوتاسيوم ($NaKC_4H_4O_6.4H_2O$)- شركة BDH (الوزن الجزيئي ١٦٦) – وتم إضافة ٥ غرام من مادة آيوديد البوتاسيوم – شركة Evans وبعد إذابة هذه المكونات الثلاثة أضيف ١٠٠ مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) شركة BDH - بتركيز (٠.٦ عياري) وتمّ إكمال الحجم النهائي إلى لتر بإضافة الماء المقطر. وقد استعمل هذا المحلول لغرض قياس تركيز البروتين الكلي في المستخلصات النباتية المستخدمة.

#### ٤.١.٢. محلول كبريتات الأمونيوم ٤٠% Ammonium Sulfate Solution (٤٠٪)

جرى تحضير هذا المحلول بإذابة ٤٠ غرام من مادة كبريتات الأمونيوم ($(NH_4)_2SO_4$) – شركة BDH (الوزن الجزيئي ١٣٢.١٣) – في كمية قليلة من الماء المقطر وإكمال الحجم النهائي إلى ١٠٠ مل في قنينة حجمية. تم استعمال هذا المحلول لغرض ترسيب البروتينات في المستخلصات النباتية المستعملة.

#### ٥.١.٢. محلول حامض التانيك ٠.٥% Tannic Acid Solution (٠.٥٪)

حضر هذا المحلول بإذابة ٠.٥ غرام من مسحوق حامض التانيك ($C_{76}H_{52}O_{46}$) – شركة BDH (الوزن الجزيئي ١٧٠١.٢٢) – في كمية قليلة من الماء المقطر وإكمال الحجم النهائي إلى ١٠٠ مل ، تم استعمال هذا المحلول لإزالة

المستضدات الموجودة على سطوح كريات الدم الحمراء للخراف ، حسب (Garvey *et al.*, ١٩٧٧).

**٦.١.٢. محلول السيفر Alsever's Solution**

حضر هذا المحلول بإذابة ٢٠.٥٠ غرام من الكلوكوز – شركة BDH- و٨ غرام من مادة سترات الصوديوم – شركة TAAB- و٠.٥٥ غرام من مادة حامض الستريك، و ٤.٢٠ غرام من كلوريد الصوديوم – شركة BDH – في لتر واحد من الماء المقطر، يوضع المحلول في جهاز المؤصدة حيث يكون الأس الهيدروجيني ٦.١. استعمل هذا المحلول لمنع تجلط عينات دم الخراف ولحفظها لمدة طويلة نسبياً (Garvey *et al.*, ١٩٧٧).

**٢.٢. الأوساط الزرعية المستعملة Culture Media**

استعملت الأوساط الخاصة بشركة (Oxoid) وحضرت على وفق تعليمات الشركة المجهزة ، والأوساط هي:

١- وسط ماكونكي الصلب MacConkey Agar Medium.
٢- وسط البيتون السائل Liquid Pepton Water Medium.
٣- وسط Methyl Red, Vogas Proskaur Medium- MRVP
٤- وسط سيمون – سترات Simmon-Citrate Medium.
٥- وسط اليوريا الصلب Urea Agar Medium.
٦- وسط كلكلر الصلب Kligler Agar Medium.
٧- وسط الدم الصلب Blood Agar Medium.
٨- وسط نقيع القلب والدماغ Brain-Heart Infusion Medium.

**٣.٢. عزلات بكتريا الكلابسيلا الرئوية وتوكيد التشخيص**

**Bacterial Isolates of *Klebsiella pneumoniae* and Identification Confirmation**

استعملت ٣٦ عزلة من مصادر مختلفة (الحروق، الإدرار، الأذن، القشع، الخروج) من مستشفيات الحلة، وجرى توكيد التشخيص باستخدام الفحوصات التالية:

**أ. الفحص المظهري والمجهري**

**Microscopic Examination and Appearance**

تشخص هذه البكتريا أولياً اعتماداً على شكل المستعمرات ولونها وحافاتها وطبيعتها ثم توضع تحت المجهر بعد صبغها بصبغة غرام لمشاهدة شكل ولون وتجمع الخلايا. شخصت العزلات بحسب ما أورده (Holt *et al.*, ١٩٩٤) وأيضاً (Baron and Finegold, ١٩٩٠).

**ب- الكشف عن المحفظة البكتيرية بطريقة التصبيغ السالب**

**Bacterial Capsule Detection by Negative Staining Method**

توضع قطرة من الحبر الهندي على شريحة زجاجية نظيفة وجافة ويتم نقل جزء من المستعمرة البكتيرية بعمر ١٨-٢٤ ساعة بوساطة العروة الناقلة وتمزج مع الحبر

الهندي مزجاً جيداً ثم يوضع غطاء الشريحة ويضغط برفق لتفريق تكتلات (Clumps) الخلايا ، ثم تفحص الشريحة بالعدسة الزيتية للمجهر الضوئي، حيث إن وجود هالة شفافة غير مصبوغة بالحبر حول الخلايا يعد دليلاً على وجود المحفظة.

**ج- الاختبارات الكيموحيوية Biochemical Tests**

ويشمل الفحوصات الآتية:

١- **فحص الإندول:** بعض البكتريا لديها القدرة على تكسير الحامض الأميني- تربتوفان- الموجود في ماء الببتون وتحويله إلى الإندول ، حيث يتم إضافة كاشف كوفاكس إلى الوسط الزرعي النامي وبعمر ٢٤ ساعة حيث تتكون حلقة حمراء في حالة الفحص الموجب وحلقة خضراء مصفرة في حالة الفحص السالب (Macfadden, ٢٠٠٠).

٢- **فحص أحمر المثيل:** باستعمال وسط MRVP تم هذا الاختبار بإضافة كاشف أحمر المثيل إلى الزرع البكتيري النامي وبعمر ٢٤ ساعة حيث تم الكشف عن قابلية البكتريا لإنتاج الإنزيمات القادرة على تحويل النواتج النهائية (لأيض الكلوكوز إلى حامض، إن تحول الوسط إلى اللون الأصفر بعد إضافة الكاشف دليل على أن الأس الهيدروجيني يكون أكثر من ٦ أي الفحص سالب، أما في حالة بقاء الوسط محتفظاً بلون الكاشف الأحمر فيعني أن الفحص موجب (Macfadden, ٢٠٠٠).

٣- **فحص فوكاس- بروسكور**: من الكاربوهيدرات تستطيع بعض أجناس البكتريا إنتاج Acetyl methylcarbinol الذي بوجود KOH والهواء يتأكسد إلى Diacetyl وهذا يتفاعل مع α-naphthol وتكسير الأرجنين في ماء الببتون ينتج لوناً أحمراً ويعني أن الفحص موجب (Macfadden, ٢٠٠٠).

٤- **فحص استهلاك السترات**: تم هذا الإختبار بنقل مستعمرات من وسط ماكونكي الصلب إلى وسط سيمون – سترات وتم الحضن بدرجة حرارة ٣٧ مْ ولمدة ٢٤-٤٨ ساعة. إن نمو البكتريا على هذا الوسط يدل على استهلاكها للسترات بوصفها مصدراً للكاربون حيث يتحول لون الوسط من الأخضر إلى الأزرق ، أما إذا بقي الوسط محتفظاً بلون الكاشف الأخضر فتكون النتيجة سلبية (Macfadden, ٢٠٠٠).

٥- **فحص اليوريز**: بعض أجناس البكتريا تستطيع تحويل اليوريا مائياً إلى الأمونيا وثاني أوكسيد الكاربون بوساطة إنتاج إنزيم اليوريز. يتم تلقيح أغار اليوريا المائل بمستعمرات البكتريا وتحضن بدرجة حرارة ٣٧ مْ ولمدة ٢٤ ساعة، حيث إن تحول الوسط إلى اللون الوردي يدل على إيجابية الفحص، أما احتفاظ الوسط بلونه الأصلي فيدل على أن الفحص سالب (Macfadden, ٢٠٠٠).

٦- **فحص كلكلر (Kligler):** تم الكشف عن قابلية البكتريا على تخمير السكريات اللاكتوز، الكلوكوز وذلك بنقل الزرع النامي بعمر ٢٤ ساعة إلى وسط كلكلر (Kligler) المائل ويتم حضن الوسط بدرجة حرارة ٣٧°م ولمدة

٢٤ ساعة، إن تحول الكاشف أحمر الفينول إلى اللون الأصفر دليل على إيجابية الفحص، أما احتفاظ الوسط بلون الكاشف فهو دليل على سلبية الفحص (Macfadden, ٢٠٠٠).

٧- **فحص إنتاج محلل الدم:** تم زرع العزلات البكتيرية على وسط أغار الدم بطريقة التخطيط وبعد حضن الأطباق بدرجة حرارة ٣٧°م ومدة ٢٤ ساعة تشاهد الأطباق حيث إن وجود هالة شفافة حول المستعمرات البكتيرية تدل على أن النتيجة إيجابية ، أما عدم تكون هالة شفافة حول المستعمرات فيعني أن الفحص سالب.

والجدول ٢-١ يبين مصادر عزلات الكلابسيلا.

**جدول ٢-١ يبين مصادر عزلات الكلابسيلا الرئوية *Klebsiella pneumoniae*.**

| المصدر | السمة | عدد العزلات |
|---|---|---|
| البول | ١, ٦, ٩, ٢٤, ٢٥, ٣٠, ٣٤, ٤٣ | ٨ |
| الحروق | ٣, ٥, ٨, ١٠, ١١, ١٥, ١٦, ١٧, ١٣, ١٤, ٢٠, ٢٢, ٢٣, ٣١, ٣٥, ٣٦, ٣٧, ٤١, ٢٧, ٣٨, ٣٩, ٢٦ | ٢٢ |
| الأذن | ١٨, ٢١ | ٢ |
| القشع | ٥, ١٩ | ٢ |
| البراز | ٤, ٧ | ٢ |

### ٤.٢. فصل كريات الدم الحمراء وتخفيفها

### Isolation and Dilution of Erythrocytes

١- تنقل ٥ مل من عينات فصائل الدم المخففة (A, B, O) الموضوعة في حاويات تحوي على مادة الهيبارين لمنع تجلط الدم إلى أنابيب الطرد المركزي (Centrifuge tubes).

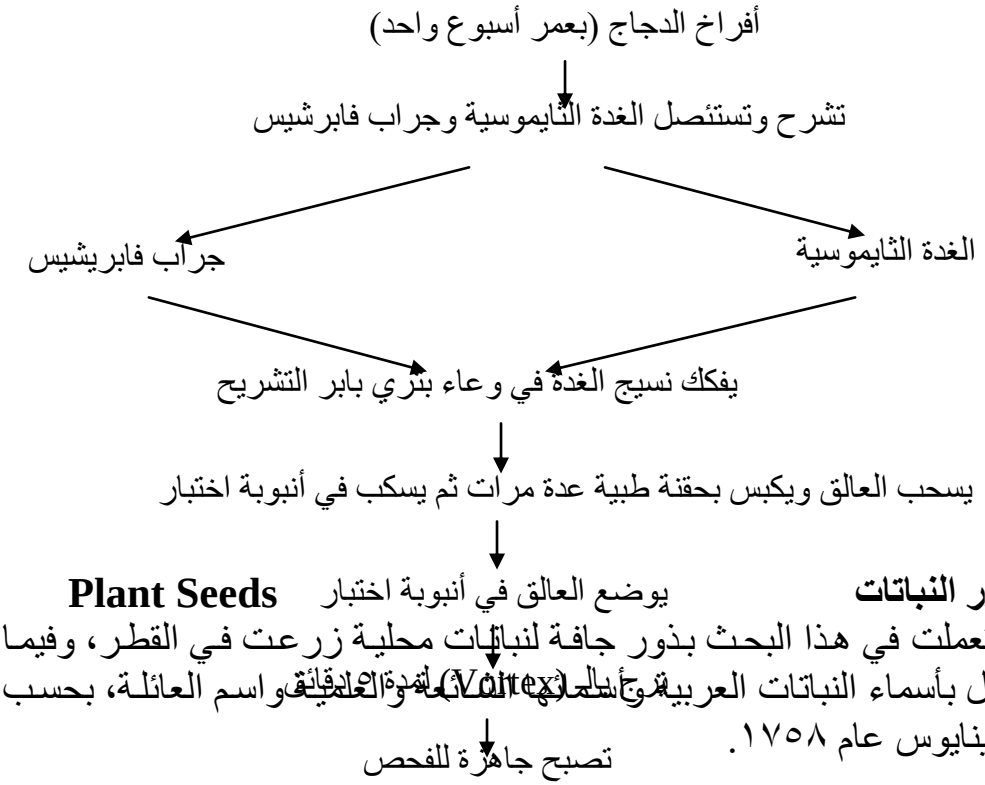
٢- يتم نبذ عينة الدم بواسطة جهاز الطرد المركزي لمدة ٥ دقائق وبسرعة ٢٤٥ g ، يهمل الراشح ويؤخذ الراسب.

٣- يضاف إلى الراسب ٥ مل من المحلول الملحي الفسلجي ويخلط المحلول بوساطة ماصة باستور (Pastaur pipette) نظيفة ومعقمة ، وتكرر الخطوة السابقة مرتين لغرض غسل كريات الدم الحمراء جيداً.

٤- يؤخذ حجم ٠.٢٥ مل من الخلايا الدموية الحمراء المضغوطة ويضاف لها ١٠ مل من المحلول الملحي الفسلجي حيث يصبح تركيز الخلايا ٢.٥% ، يحفظ بالثلاجة لحين الاستعمال.

## ٥.٢. فصل الخلايا اللمفانية للطير (أفراخ الدجاج) حديث الفقس
## Isolation of Avian Lymphoid Cells (Chicks)Newly Hatched

١- تخدر أفراخ الدجاج بعمر أسبوع واحد بمادة الأيثر عن طريق الاستنشاق.
٢- تشرح وتستئصل الغدة الثايموسية وجراب فابريشس.
٣- تجمع الغدد الثايموسية على حدة وجرابات فابريشس على حدة في وعائي بتري يحويان حجم معين من المحلول الملحي الفسلجي المعقم.
٤- يفكك نسيج الغدد بإبر التشريح جيداً.
٥- يسحب العالق بمحقنة طبية (خالية من الإبرة) ثم يكبس بقوة من جديد في الطبق ، تكرر هذه العملية عدة مرات ثم يسكب المعلق في أنبوبة اختبار بلطف من السرنجة للحيلولة دون مرور الأجزاء الكبيرة غير المرغوب فيها.
٦- ترج هذه الأنبوبة جيداً بوساطة جهاز الرج الكهربائي (Vortex) ولمدة خمس دقائق ليصبح لدينا عالق من خلايا لمفانية من نوع T، وآخر من خلايا لمفانية من نوع B وكما موضح في الشكل ١.٢.




شكل ١.٢ مخطط يوضح كيفية فصل الخلايا اللمفانية لأفراخ الدجاج

## ٦.٢. بذور النباتات Plant Seeds

استعملت في هذا البحث بذور جافة لنباتات محلية زرعت في القطر، وفيما يأتي جدول بأسماء النباتات العربية والعلمية والشائعة واسم العائلة، بحسب تصنيف لينايوس عام ١٧٥٨.

جدول ٢-٢ النباتات المستعملة والاسم العلمي والشائع واسم العائلة إزاء كل منها

| الاسم العربي | الاسم العلمي | الاسم الشائع | اسم العائلة |
|---|---|---|---|

| | | | للنبات |
|---|---|---|---|
| Gramineae | Rice (Amber) | *Oryza sativa* | الرز (عنبر) |
| Leguminosae | Cowpea | *Vigna unguiculata* | اللوبياء |
| Leguminosae | Chickling Vetch (Grass pea) | *Lathyrus sativus* | الهرطمان |
| Gramineae | Wheat | *Triticum aestivum* | الحنطة |
| Cucurbitaceae | Muskmelon (Sweet Melon) | *Cucumis melo* | البطيخ |
| Graminae | Common Millet | *Panicum miliaceum* | الدخن |

### ٢.٧.٢. تقنيات فصل المحاليل اللكتينية من بذور النباتات
### Isolation Technologies of Lectin Solutions from Plant Seeds

استخدمت تقنيات فصل محاليل اللكتينات بالماء البارد والكحول مع الترسيب بسلفات الامونيوم ٤٠% (Shnawa, ٢٠٠١) .

#### ١.٧.٢: تقنية الاستخلاص اللكتيني بالماء البارد

ونلخصها فيما يأتي :

١- تغسل البذور النباتية بالماء وتجفف في الفرن بدرجة لا تزيد عن ٤٥ مْ ولمدة ساعة واحدة.
٢- تطحن البذور لتحول إلى مسحوق باستعمال الهاون والمطحنة الكهربائية .
٣- يؤخذ غرام واحد من المسحوق ويوضع في أنبوبة ويضاف له ١٠ مل من المحلول الملحي الفسلجي .
٤- ترج الأنبوبة جيداً باستعمال الرجّ الكهربائي ثم تحفظ في الثلاجة (٤م) لمدة يوم واحد .
٥- توضع الأنبوبة في جهاز الطرد المركزي بسرعة ٦٢٧g ولمدة ١٠ دقائق.
٦- ينقل ٥ مل من المحلول الطافي إلى أنبوبة أخرى ويضاف لها حجم مساوٍ من مسحوق سلفات الأمونيوم بتركيز ٤٠%.
٧- توضع الأنبوبة في الثلاجة لمدة ساعة واحدة ثم تنبذ بجهاز الطرد المركزي بسرعة g ٩٧٩.
٨- يهمل الراشح ويذاب الراسب في ٠.٥ مل من المحلول الملحي الفسلجي الفورماليني شكل (٢.٢).

#### ٢.٧.٢. تقنية الاستخلاص اللكتيني بالكحول

١- تعاد الخطوتان الأولى والثانية من الفقرة (١.٧.٢).
٢- يؤخذ غرام واحد من المسحوق ويوضع في أنبوبة ويضاف له ١٠ مل من الكحول الأثيلي بتركيز ٩٥% وترج الأنبوبة جيداً لمدة ٥ دقائق.
٣- تترك الأنبوبة في الثلاجة لمدة ساعة واحدة.
٤- ينقل الراشح إلى وعاء ويضاف للراسب في الأنبوبة ١٠ مل كحول أثيلي (٩٥%) وترج جيداً وتحفظ في الثلاجة لمدة ساعة واحدة .
٥- تكرر الخطوة السابقة مرة ثانية.

٦- يؤخذ الوعاء الحاوي على الراشح من الخطوات السابقة وينقل منه ١٠ مل إلى أنبوبة وتوضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة ٦٢٧g .
٧- ينقل ٥ مل من المحلول الطافي إلى أنبوبة ثانية ويضاف لها حجم مساوٍ من مسحوق سلفات الأمونيوم بتركيز ٤٠%.
٨- توضع الأنبوبة في الثلاجة لمدة ساعة واحدة ثم تنبذ بجهاز الطرد المركزي بسرعة ٩٧٩g .
٩- يهمل الراشح ويذاب الراسب في ٠.٥ مل من المحلول الملحي الفسلجي الفورماليني شكل (٢.٢).

(٤%

**شكل ٢.٢. مخطط يبين طريقتي الاستخلاص المائي والكحولي**

يؤخذ الراسب

يؤخذ الراسب

**٨.٢. كفاءة الترسيب لبعض مرسبات البروتين**

شكل (٢) مخطط لطريقتي الاستخلاص المائي و الكحولي (شناوه ٢٠٠١)

**Precipitation Efficiency of Some Protein Precipitants**

١- تعاد نفس الخطوات في الفقرة (١.٧.٢) على ثلاثة أنابيب لحين الوصول إلى الخطوة السادسة حيث يتم إضافة ٥ مل من كل من حامض الخليك ثلاثي الكلورايد (٣٦%) (Sollid *et al.*, ١٩٨٥)، سلفات الأمونيوم (٤٠%) ، الكحول الأثيلي (٩٩.٩%) على حدة إلى ٥ مل من المحلول الطافي الحاوي على اللكتين لأحد النباتات المختارة.

٢- تستكمل بقية الخطوات كما في الفقرة (١.٧.٢).

٣- يخفف كل محلول من المحاليل المحضرة في أعلاه تخافيف متسلسلة في طبق المعايرة (Microliter plate) حيث يوضع في كل حفرة من حفر الطبق ٥٠ مايكرولتر من المحلول الملحي الفسلجي ثم يوضع في الحفرة

الأولى ٥٠ مايكرولتر من أحد المحاليل المحضرة ويخلط بالماصة ثم ينقل منها ٥٠ مايكرولتر إلى الحفرة الثانية وتكرر نفس العملية لحين الوصول إلى الحفرة الأخيرة من الطبق حيث يتم أخذ ٥٠ مايكرولتر منها وتهمل (يبقى حجم السائل في كل حفرة ثابتاً وهو ٥٠ مايكرولتر).

٤- تنتخب إحدى فصائل الدم ويضاف إلى كل حفرة ٥٠ مايكرولتر من محلول الدم المخفف المحضر كما في الفقرة (٤.٢) ويرج طبق المعايرة بلطف.

٥- يوضع طبق المعايرة في الحاضنة بدرجة ٣٧ مْ ولمدة ٤٥ دقيقة.

٦- يخرج الطبق من الحاضنة ويسجل مقدار العيار بعد تدوير الطبق باليد بلطف لمعرفة كفاءة الترسيب.

جرت محاولات عديدة للحصول على محلول لكتيني عالي النقاوة عن طريق تطبيق عدد من التقنيات ، إذ استخدمت تقنية الفرز الغشائي (الديلزة) ، ووجد بعد عدد من المحاولات انخفاض عيار التلازن الدموي المباشر عما هو عليه قبل الديلزة ، مما يوحي لفقد بأسباب تقنية ربما تعود لمسامية غشاء الديلزة المستخدم ، وجرت محاولات لاستخلاص اللكتين بمحاليل منظمة مختلفة . كما وجرت تقنية كروماتوكرافيا الورقة الرقيقة فكونت آثار لبقع منتشرة وليست بقع واضحة المعالم ، وربما يعود ذلك لانخفاض بتراكيز اللكتين في محلول البروتين المفصول من بذور النبات نتيجة لفقد تقني ، بالإضافة لتطبيق الرحلان الكهربائي بالهلام باستخدام محاليل لكتين هذه البذور فتعذر رصد رحلان البروتين من هذه المحاليل بسبب عوز تقني حول موضوع تحديد نقطة تعادل الشحنة قبل استحصال رصد رحلان البروتين ، وجرى التدرب على فصل اللكتين بتقنية كروماتوكرافيا العمود باستخدام راتنجات بدرجة ملائمة لفصل هذه البروتين ، إلاّ انه لم يتم فصل جزء له فاعلية لكتينية مما يوحي باحتجازه في راتنجات العمود بسبب عدم ربط هذه الراتنجات إلى لكتين قياسي يوقف إمكانية الاحتجاز هذه . من هنا يتضح إن فصل اللكتين بالتقنيات أعلاه ممكن إلاّ انه لم يتحقق لأسباب متعددة أبرزها العوز التقني .

### ٩.٢. تقدير تركيز البروتين الكلي في المستخلصات النباتية
### Total Protein Estimation of Plant Extracts

تستعمل طريقة البايوريت لقياس تركيز البروتين الكلي (Bishop *et al.*, ١٩٨٥) وتتضمن الطريقة الخطوات الآتية:

١- يوضع ٤.٨ مل من محلول البايوريت في أنبوبة خاصة بجهاز المطياف (Spectronic ٢٠).

٢- يضاف حجم ٠.٢ مل من المستخلص النباتي المحضر كما جاء في الفقرة (١.٧.٢) إلى الأنبوبة المذكورة في الخطوة الأولى التي تمثل أنبوبة الفحص.

٣- يضاف ٠.٢ مل من المحلول الملحي الفسلجي إلى أنبوبة أخرى تحوي ٤.٨ مل من محلول البايوريت لغرض تصفير الجهاز (أنبوبة السيطرة).

٤- تخلط الأنابيب جيداً وتترك في درجة حرارة الغرفة لمدة نصف ساعة ، ثم تقرأ الكثافة الضوئية لأنبوبة الفحص بعد تصفير الجهاز عند طول موجي مقداره (٥٤٠ نانومتر).

٥- تستعمل المعادلة الرياضية $\hat{Y} = -4.1 + 147.3X$ (Bishop *et al.*, ١٩٨٥) لحساب تركيز البروتين الكلي حيث أن :

$\hat{Y}$ = تركيز البروتين الكلي بوحدة ملغم/ مل .

$X$ = الامتصاصية .

### ١٠.٢. تلازن كريات الدم الحمر بوساطة اللكتين

### Erythrocytes' Agglutination by Lectin

استخدم طبق المعايرة لغرض إجراء التلازن وكالآتي :

١- يوضع في كل حفرة ٥٠ مايكرولتر من المحلول الملحي الفسلجي .

٢- يضاف إلى الحفرة الأولى ٥٠ مايكرولتر من المستخلص اللكتيني المحضر كما مر ذكره سابقاً في الفقرة (١.٧.٢) والفقرة (٢.٧.٢) ويخلط بالماصة.

٣- ينقل ٥٠ مايكرولتر من الحفرة الأولى إلى الحفرة الثانية ويخلط بالماصة.

٤- تكرر الخطوة السابقة لحين الوصول إلى آخر حفرة حيث يؤخذ منها ٥٠ مايكرولتر (يهمل) وبذلك يكون المستخلص اللكتيني قد خفف مرات عديدة (يبقى حجم السائل في الحفر ثابتاً).

٥- يضاف إلى كل حفرة ٥٠ مايكرولتر من محلول الدم المخفف ويرج الطبق بلطف .

٦- يحضن الطبق بدرجة ٣٧°م ولمدة ٤٥ دقيقة .

٧- يخرج الطبق من الحاضنة ويتم تدويره بلطف ويسجل مقدار العيار ، إن النتيجة السالبة تعني وجود كريات الدم الحمر على شكل دائرة منتظمة المحيط في قعر الحفرة ، أما النتيجة الموجبة فإن كريات الدم الحمر تكون على شكل دائرة غير منتظمة المحيط .

### ١١.٢. تحوير لطريقة التلازن الدموي المنفعل الدقيق لتحديد قابلية اللكتينات على الارتباط بالسكريات

### Modification of Passive Hemeagglutination Method for Determining the Ability of Lectins to Bind Sugars.

استعملت طريقة التلازن الدموي المنفعل لتحديد نوع السكر الخاص باللكتين على وفق تحوير طريقة (Garvey *et al.*, ١٩٧٧) ، وكما يأتي:

١- تم الحصول على دم الخراف أثناء ذبح الحيوان حيث يجمع الدم في قنينة زجاجية معقمة تحوي محلول السيفر الذي يمنع التخثر حيث تكون نسبة الدم إلى هذا المحلول ١:١ ، ويمزج معه بلطف ويتم حفظ الدم بدرجة حرارة ٤°م.

٢- بوساطة ماصة نظيفة ومعقمة ينقل ٣ مل من المحلول الحاوي على دم الخراف (الخطوة الأولى) إلى أنبوبة الطرد المركزي حيث ينبذ لمدة ٥ دقائق وبسرعة ٢٤٥g .

٣- بوساطة ماصة باستور المعقمة يسحب الراشح ويتم الإحتفاظ بالراسب وينقل إليه ١٠ مل من محلول الملح الفسلجي وبعد ذلك يمزج جيداً بوساطة الماصة.
٤- تنبذ الأنبوبة في جهاز الطرد المركزي لمدة ٥ دقائق وبسرعة ٢٤٥g ، ثم يترك الراشح ويتم الإحتفاظ بالراسب.
٥- يتم أخذ ٠.٢٥ مل من الخلايا الحمراء المضغوطة ويضاف إليها ١٠ مل من محلول الملح الفسلجي وتمزج الأنبوبة جيداً بوساطة ماصة باستور.
٦- يؤخذ ٣ مل من العالق أعلاه (الخطوة السابقة) ويضاف إليه ٣ مل من محلول حامض الثانيك (٠.٥%) ثم يمزج جيداً ، بعد ذلك توضع الأنبوبة في حمام مائي درجة حرارته ٣٧°م ولمدة ١٥ دقيقة.
٧- تنبذ الأنبوبة في جهاز الطرد المركزي لمدة ٥ دقائق وبسرعة ٢٤٥g بعد ذلك يتم ترك الراشح والاحتفاظ بالراسب حيث يعاد تذويبه بـ ٣ مل محلول ملحي فسلجي ، حيث تكرر هذه العملية مرة ثانية .
٨- يتم تغطية كريات الدم الحمراء بمحلول اللكتين وذلك بأخذ ٤.٨ مل من المحلول الملحي الوظيفي ويضاف لها ٠.٢ مل من محلول اللكتين المحضر في الفقرة (١.٧.٢) و١ مل من المحلول في الخطوة (٧) حيث يترك هذا المعلق لمدة ١٠ دقائق وبدرجة حرارة الغرفة (٢٥م).
٩- تنبذ الأنبوبة الحاوية على عالق كريات الدم الحمراء المغطاة باللكتين لمدة ٥ دقائق وبسرعة ٢٤٥g .
١٠- يهمل الراشح ويتم الاحتفاظ بالراسب ويضاف إليه ٢ مل من محلول الملح الوظيفي لغرض غسل الخلايا ، ثم تنبذ الأنبوبة بجهاز الطرد المركزي بسرعة ٢٤٥g ، ولمدة ٥ دقائق ويعاد تذويب الراسب بـ ١ مل محلول ملحي وظيفي حيث أصبحت كريات الدم الحمراء جاهزة للاستعمال. وعلى جانب آخر يؤخذ طبق المعايرة لغرض إجراء التلازن ويتم الآتي:
١١- يوضع في كل حفرة ٥٠ مايكرولتر محلول ملحي فسلجي.
١٢- يضاف إلى الحفرة الأولى ٥٠ مايكرولتر محلول سكري بتركيز ١٠% وزن : حجم ( ١ غرام سكر + ١٠ مل ماء مقطر ) ويخلط بالماصة .
١٣- ينقل ٥٠ مايكرولتر من الحفرة الأولى إلى الحفرة الثانية ويخلط بالماصة وتكرر هذه العملية لحين الوصول إلى آخر حفرة حيث يؤخذ منها ٥٠ مايكرولتر ويهمل ، وبذلك يكون المحلول السكري قد خفف إلى مقدار النصف في كل نقلة .
١٤- يضاف إلى كل حفرة ٥٠ مايكرولتر من محلول الدم المغطى باللكتين (الخطوة ١٠) ويرج الطبق بلطف.
١٥- يحضن الطبق بدرجة ٣٧°م ولمدة ٤٥ دقيقة.
١٦- يُخرج الطبق من الحاضنة ويتم تدويره بلطف ويسجل مقدار أقل تركيز حصل فيه التلازن بين اللكتين النباتي والسكر (السكريات) المتخصص للارتباط به .

### ١٢.٢. تلازن الخلايا البكتيرية بوساطة اللكتين
### Bacterial Cells' Agglutination by Lectin

١- تؤخذ شريحة زجاجية نظيفة وتوضع عليها قطرتان من المحلول الملحي الوظيفي ، قطرة على كل جانب من جوانب الشريحة.
٢- يؤخذ جزء من المستعمرة البكتيرية النامية بوساطة العروة الناقلة وتخلط جيداً مع إحدى قطرتي المحلول الملحي الوظيفي حتى يتكون عالق بكتيري من خلايا متفرقة.
٣- تكرر الخطوة السابقة مع القطرة الثانية بعد تعقيم العروة الناقلة (Loop) .
٤- تضاف قطرة من المستخلص النباتي إلى إحدى القطرتين في أعلاه (قطرة الفحص) وتخلط جيداً وتترك لمدة ٢-٣ دقيقة.
٥- تسجل النتيجة إيجابياً إذا حدث تكتل بعد إضافة المستخلص قياساً بالسيطرة وسلبياً إذا لم يحدث تغير بين قطرة الفحص وقطرة السيطرة.
٦- تكرر هذه الخطوات على جميع العزلات البكتيرية المتوافرة.

### ١٣.٢. تلازن الخلايا اللمفانية بوساطة اللكتين
### Lymphoid Cells' Agglutination by Lectin

توضع قطرتين من العالق المحضر كما جاء في الفقرة (٥.٢) كل قطرة على جانب من جوانب شريحة زجاجية نظيفة، بعد ذلك يضاف إلى إحدى القطرتين قطرة من المحلول الحاوي على اللكتين والمحضر كما جاء في الفقرتين (١.٧.٢) و (٢.٧.٢) وتفحص القابلية التلازنية مع خلايا T أو مع خلايا B حيث تكون النتيجة موجبة إذا حدثت تكتلات على الشريحة وسالبة إذا بقيت بدون تغيير قياساً بقطرة السيطرة.

### ١٤.٢. الصفات الفيزياوية Physical Characters

### ١.١٤.٢ تأثير الأس الهيدروجيني على خاصية التلازن اللكتيني
١- تستعمل نفس الخطوات المذكورة في الفقرة (١.٧.٢) ماعدا الخطوة الأخيرة حيث يذاب الراسب في ٠.٥ مل من محاليل ملحية فسلجية ذات أس هيدروجيني مختلف ذات قيم (٢.٥، ٥، ٧، ٨) ويتم ذلك بإضافة قاعدة هيدروكسيد الصوديوم أو حامض الفوسفوريك للمحلول الملحي الفسلجي ويقاس الأس الهيدروجيني للمحاليل بجهاز (pH-meter) لغرض ضبط الأس الهيدروجيني كما في أعلاه.
٢- تكرر الخطوة السابقة على بقية النباتات المستعملة.
٣- تنتخب إحدى فصائل الدم.

٤- باستعمال طبق المعايرة تكرر نفس الخطوات التي جاءت في الفقرة (١٠.٢).

### ٢.١٤.٢ تأثير درجة الحرارة على خاصية التلازن باللكتين
### Effect of Temperature on the Agglutination by Lectin

١- باستعمال نفس الخطوات التي جاءت في الفقرة (١.٧.٢) يتم عمل عدد من المحاليل المستخلصة.
٢- لنبات واحد يوضع أحد هذه المحاليل في درجة ٢٥°م (درجة حرارة الغرفة) ويوضع محلول آخر في حمام مائي بدرجة حرارة ٤٠°م لمدة ١٠ دقائق ، والمحلول الثالث في درجة حرارة ٦٠°م ، أما المحلول الرابع فيوضع في ٩٠°م حيث يوضع كل من هذه المحاليل في حمام مائي لمدة (١٠) دقائق .
٣- تنتخب إحدى فصائل الدم .
٤- يستعمل طبق المعايرة وتكرر نفس الخطوات التي ذكرت في الفقرة (١٠.٢).

## ١٥.٢. الصفات المناعية Immunological Characters

### ١.١٥.٢ تحضير جرع المستضد ( أح البيض )

يتم بإذابة ٢ غرام من مادة أح البيض في ١٠٠ مل من الماء المقطر أو ما يكافئ هذه النسب بحيث يصبح التركيز النهائي ٢% .

### ٢.١٥.٢ تحضير جرع المحوّر المناعي (المحاليل اللكتينية)

تحضر الجُرع اللكتينية كما ذكر في الفقرة (١.٧.٢) عدا الخطوة السادسة حيث يتم نقل ٣ مل ، ٥ مل ، ٧ مل من المحلول الطافي وكان تركيز البروتين في هذه الحجوم ٢٤.٣ ملغم/ مل، ٤٠.٢ ملغم/ مل ، ٥٦.٤ ملغم/ مل على التوالي بالنسبة لنبات البطيخ ، و ٢.٥ ملغم/ مل ، ٤.٢ ملغم/ مل ، ٥.٧ ملغم/ مل على التوالي بالنسبة لنبات الدخن إلى أنبوبة أخرى ويضاف لها حجم مساوٍ من محلول سلفات الأمونيوم (٤٠%)، وأيضاً في الخطوة الأخيرة حيث يذاب الراسب في ٢مل من المحلول الملحي الوظيفي ، يعطى كل حجم في أعلاه إلى أرنبين من أرانب المعاملة عن طريق الفم في أثناء فترة إعطاء اللكتين .

### ٣.١٥.٢ حيوان المختبر

أ- تم استعمال الأرانب المحلية البالغة *Oryctolagus cuniculus* (١٤) حيواناً حسب تصنيف متحف التأريخ الطبيعي وبمعدل وزن كيلو غرام واحد للحيوان، طعام الحيوان كان من العليقة الخضراء (نبات الجت) وماء الشرب هو ماء الصنبور، تم تجريب المستخلصات النباتية المستعملة ودراسة أثرها المحور للجهاز المناعي لهذه الحيوانات.
ب- تمّ استعمال عدد من أفراخ الدجاج المحلي Gallus domesticus بحسب تصنيف متحف التاريخ الطبيعي وبعمر أسبوع واحد لغرض فصل الخلايا

اللمفانيــة التائيــة والبائيــة مــن غــدة التوتــة وجــراب فابريشــس لدراســة دور المستخلصات اللكتينية كملزنات لهذه الخلايا اللمفية .

**٤.١٥.٢ منوال التمنيع**

كانت مدة التجريع وكميتها كالآتي:

١. فترة التكيف: حيث توضع الحيوانات في المكان الجديد كي تعتاد عليه ويتوافر لها نفس ظروف التجربة، تستمر هذه الفترة أسبوعاً على الأقل.
٢. فترة إعطاء اللكتين: حيث تزرق أرانب المعاملة (حيوانين لكل تركيز) فموياً (Orally) بمحلول اللكتين بواقع خمس جرعات يفصل بينها يوم واحد ، بثلاث تراكيز لكل لكتين ، على حين تعطى حيوانات السيطرة (حيوانين) محاليل ملحية فسلجية بنفس الحجم وفي نفس الفترة .
٣. فترة إعطاء آح البيض: حيث تعطى جميع الحيوانات (المعاملة والسيطرة) بمحلول آح البيض على ثلاث جرعات يفصل بينها خمس أيام.
٤. فترة تكوين الأجسام المضادة: حيث تترك الحيوانات لمدة أسبوع.

**٥.١٥.٢ إستحصال الأمصال وحفظها والفحص المصلي**

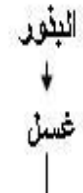
بعد إنهاء عملية تمنيع الحيوانات يتم جمع الأمصال منها وذلك بسحب الدم من القلب مباشرة حيث يجمع الدم في أنابيب معقمة وتترك لكي يتخثر الدم، بعدها توضع هذه الأنابيب في جهاز الطرد المركزي وتنبذ لمدة ٥ دقائق وبسرعة ٢٤٥g، ثم يفصل المصل بواسطة ماصة باستور نظيفة ومعقمة ، وتوضع في أنابيب لحفظ العينات وتحفظ في المجمدة لحين الاستخدام. أما الفحص المصلي فيتم بطريقة التلازن الدموي المنفعل كما جاء في طريقة (Garvey *et al.*, ١٩٧٧) المحورة (الفقرة ١١.٢) باستثناء الخطوة الثامنة حيث يتم تغطية كريات الدم الحمراء بمحلول آح البيض (٢%) وذلك بأخذ ٤ مل من المحلول الملحي الوظيفي ويضاف لها ١ مل من محلول آح البيض و ١مل من المحلول في الخطوة (٧) وإلى آخر الخطوات، بعد ذلك يخفف المصل بطبق المعايرة ويضاف له ٥٠ مايكرولتر من محلول الدم المغطى بآح البيض إلى كل حفرة وإلى آخر الطريقة التي جاءت في الفقرة (١١.٢).

**٦.١٥.٢ تحديد التحوير المناعي**

إن زيادة عيار الضد المتخصص بآح البيض زيادة واضحة في المجاميع المعاملة باللكتينات عن تلك المجاميع غير المعاملة بها يعني حصول تحوير مناعي مضخم للإستجابة المناعية. ونقصان العيار بصورة واضحة عن تلك غير المعاملة يعني حصول تحوير مناعي خافض للإستجابة المناعية.

**١٦.٢. منوال الدراسة Study Programme**

جرى إتباع منوال للدراسة يبدأ بفصل ووصف جزئي للكتين ثم دراسة دوره كملزن ومحور مناعي كما مبين في الشكل المرفق:



**شكل ٣.٢. مخطط يوضح منوال الدراسة**

**الفصل الثالث** **Chapter Three**
**النتائج** **Results**

## ١.٣. الوصف الجزئي للكتينات Partial Characterization of Lectins

شملت دراسة الوصف الجزئي للكتينات ، كفاءة المرسبات وتحديد تركيز البروتين وملازنة الكريات الحمر والأس الهيدروجيني والارتباط مع السكريات وتأثير درجة الحرارة والأس الهيدروجيني.

### ١.١.٣. كفاءة الترسيب لبعض مرسبات البروتين

جربت ثلاث مواد مرسبة للبروتين ، وهي:

١- حامض الخليك ثلاثي الكلورايد بتركيز ٢.٢ مولاري (٣٦%).
٢- سلفات الأمونيوم بتركيز ٤٠%.
٣- الكحول الأثيلي بتركيز ٩٩.٩%.

أختير نبات الرز وأخذ عيار التلازن مع فصيلة الدم (B) وكانت النتيجة كما موضحة بالجدول:

جدول ٣-١ كفاءة الترسيب بدلالة عيار التلازن الدموي.

| مرسب البروتين | التركيز | عيار التلازن الدموي |
|---|---|---|
| حامض الخليك ثلاثي الكلورايد | %٣٦ | ٢٥٦ |
| سلفات الأمونيوم | %٤٠ | ١٦ |
| الكحول الأثيلي | %٩٩.٩ | ٤ |

ومن الملاحظ أنه في حالة حامض الخليك ثلاثي الكلورايد يتعذر ظهور نتيجة إيجابية أو سلبية في التراكيز العليا بسبب تأثر كريات الدم الحمراء بأثر المرسب في الأنبوبة عند عمل التلازن.

### ٢.١.٣. تقدير كمية البروتين الكلي في المستخلصات النباتية

عند قياس كمية البروتين الكلي الموجود في النباتات المستعملة وجد أن محلول اللكتين في نبات الرز يحتوي على ١٢.٨٣ ملغم/ مل من البروتين، على حين وجد أن كمية البروتين في نبات البطيخ وجد أن كمية البروتين هي ٨٢.٨٠ ملغ/ مل، في حين أن نبات الدخن يحتوي على ٨.٤٢ ملغم/ مل في محلول اللكتين الذي حجمه ١ مل في كل من النباتات المذكورة آنفاً وكما مبينة في الجدول.

جدول ٣-٢ تركيز البروتين الكلي في المستخلصات النباتية المستعملة.

| النوع النباتي | الاسم العلمي | الاسم الشائع | الامتصاصية ٥٤٠ نانومتر | التركيز (ملغم/مل)* |
|---|---|---|---|---|
| الرز | *Oryza sativa* L. | Rice | ٠.١١٥ | ١٢.٨٣ |
| البطيخ | *Cucumis melo* L. | Sweet Melon | ٠.٥٩ | ٨٢.٨٠ |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | (Musk Melon) | | |
| ٨.٤٢ | ٠.٠٨٥ | Common Millet | *Panicum miliaceum* L. | الدخن |

* المعادلة المستعملة هي: $\hat{Y} = -4.1 + 147.3X$

حيث أن:

$X$ = امتصاصية.

$\hat{Y}$ = تركيز البروتين الكلي

**٣.١.٣ . تلازن كريات الدم الحمراء للإنسان بوساطة اللكتين**

يوضح الجدول (٣-٣) قابلية المستخلصات المائية للنباتات المستعملة على تلزين كريات الدم الحمراء للإنسان بفصائلها المختلفة (A, B, O) ، حيث أظهر المستخلص اللكتيني الخام لنبات الرز تلازناً مع فصيلة الدم (O) حيث كان العيار (٦٤) وتلازناً أقل شدة (٣٢) مع فصيلة الدم (A) وأقل مع فصيلة (B) حيث بلغ العيار (١٦)، بينما في نبات البطيخ فقد أظهر المستخلص تلازناً (١٦) مع فصيلة الدم (O) بينما لم يعط أي نتيجة مع فصيلتي (A) و (B).

أعطى مستخلص نبات الحنطة تلازناً واطئاً مع فصائل الدم المختلفة حيث كان أشده مع الفصيلة (O) حيث بلغ العيار (١٦). أعطت اللوبياء أعلى العيارات مع فصائل الدم المختلفة (٢٥٦، ١٢٨، ٥١٢) مع (O, B, A) على التوالي، في حين كان نبات الهرطمان من بين النباتات التي أعطت عيارات متوسطة بصورة عامة حيث بلغت (٨، ١٦، ١٦) مع (O, B, A) على التوالي في الوقت الذي أعطى فيه نبات الدخن أقل العيارات ضمن النباتات المستعملة حيث وصل إلى (٤) مع كل من الفصائل.

جدول (٣-٣) تلازن كريات الدم الحمر للإنسان للفصائل (O, B, A) نتيجة فعل اللكتين الموجود في بذور النباتات المستعملة (المستخلص المائي).

| نوع النبات | فصيلة الدم (A) | فصيلة الدم (B) | فصيلة الدم (O) |
|---|---|---|---|
| الرز | (٣٢) | (١٦) | (٦٤) |
| البطيخ | (٠) | (٠) | (١٦) |
| الحنطة | (٢) | (٢) | (١٦) |
| اللوبياء | (٢٥٦) | (١٢٨) | (٥١٢) |
| الهرطمان | (٨) | (١٦) | (١٦) |
| الدخن | (٤) | (٤) | (٤) |

* ( ) = العيارية .

أما جدول (٣-٤) فيبين قدرة المستخلصات الكحولية لنفس النباتات على تلزين فصائل الدم، فقد أبدى مستخلص نبات الرز تلازناً واطئاً مع فصائل الدم المختلفة حيث بلغ العيار (٤) لكل من الفصائل ، مستخلص نبات البطيخ سجل عياراً أعلى مما للرز (٤، ٨، ١٦) مع (O, B, A) على التوالي. في نبات الحنطة كانت العيارات

كالتالي: (٨) مع فصيلة (A) ، (٤) مع فصيلة (B) ، (١٦) مع فصيلة (O). في اللوبياء كان العيار منخفضاً مع فصيلة (A) حيث بلغ (٤) أما مع فصيلتي الدم (B) و (O) كان العيار عالياً حيث كان (٤٠٩٦). كان العيار عالياً في نبات الهرطمان (٤٠٩٦) مع فصيلة الدم (A) ومنخفضاً (٤) لكل من الفصيلتين (B) و (O) ، أما في نبات الدخن فكان العيار (١٦) لكل من الفصائل.

جدول ٣-٤ تلازن كريات الدم الحمر للإنسان للفصائل (O, B, A) نتيجة فعل اللكتين الموجود في بذور النباتات المستعملة (المستخلص الكحولي).

| نوع النبات | فصيلة الدم (A) | فصيلة الدم (B) | فصيلة الدم (O) |
|---|---|---|---|
| الرز | (٤) | (٤) | (٤) |
| البطيخ | (٤) | (٨) | (١٦) |
| الحنطة | (٨) | (٤) | (١٦) |
| اللوبياء | (٤) | (٤.٩٦) | (٤.٩٦) |
| الهرطمان | (٤.٩٦) | (٤) | (٤) |
| الدخن | (١٦) | (١٦) | (١٦) |

* ( ) = العيارية

### ٤.١.٣. قابلية اللكتينات للإرتباط مع السكريات

أعطى المستخلص اللكتيني الخام بالماء البارد لنبات الرز نتيجة إيجابية مع سكر المانوز (D) بالتراكيز (٢.٥-١٠) ومع سكر الكلوكوز (D) بالتركيز العالي (١٠)، أما مستخلص الحنطة فكان موجباً مع سكر الكالكتوز (D) بالتراكيز (١.٢٥-١٠). في مستخلص البطيخ كانت النتيجة موجبة مع سكر الكالكتوز (D) بالتركيز العالي (١٠) وسالبة مع كل من المانوز (D) والكلوكوز (D) ، في مستخلص الهرطمان كان الإتحاد مع سكر الكلوكوز (D) في التركيز (٢.٥-١٠) ولم يعط نتيجة إيجابية مع سكري المانوز (D) والكالكتوز (D) ، كما كان الحال في مستخلصي اللوبياء والدخن.

في الوقت نفسه لم تبِدالمستخلصات الكحولية لأي من النباتات المستعملة أي فعالية تذكر تجاه السكريات المجربة (المانوز (D)، الكالكتوز (D)، الكلوكوز (D)) كما موضح في الجدول في أدناه.

جدول ٣-٥ يبين قابلية المستخلصات اللكتينية للارتباط مع السكريات والنسبة المئوية لتركيز السكر عند التلازن الدموي (المستخلص المائي).

| نوع اللكتين | سكر المانوز + | سكر الكالكتوز | سكر الكلوكوز |
|---|---|---|---|
| لكتين الرز | *(٢.٥-١٠) | - | (١٠) |
| لكتين الحنطة | - | (١.٢٥-١٠) | - |
| لكتين البطيخ | - | (١٠) | - |
| لكتين اللوبياء | - | - | - |
| لكتين الهرطمان | - | - | (٢.٥-١٠) |

| | | | |
|---|---|---|---|
| لكتين الدخن | - | - | - |

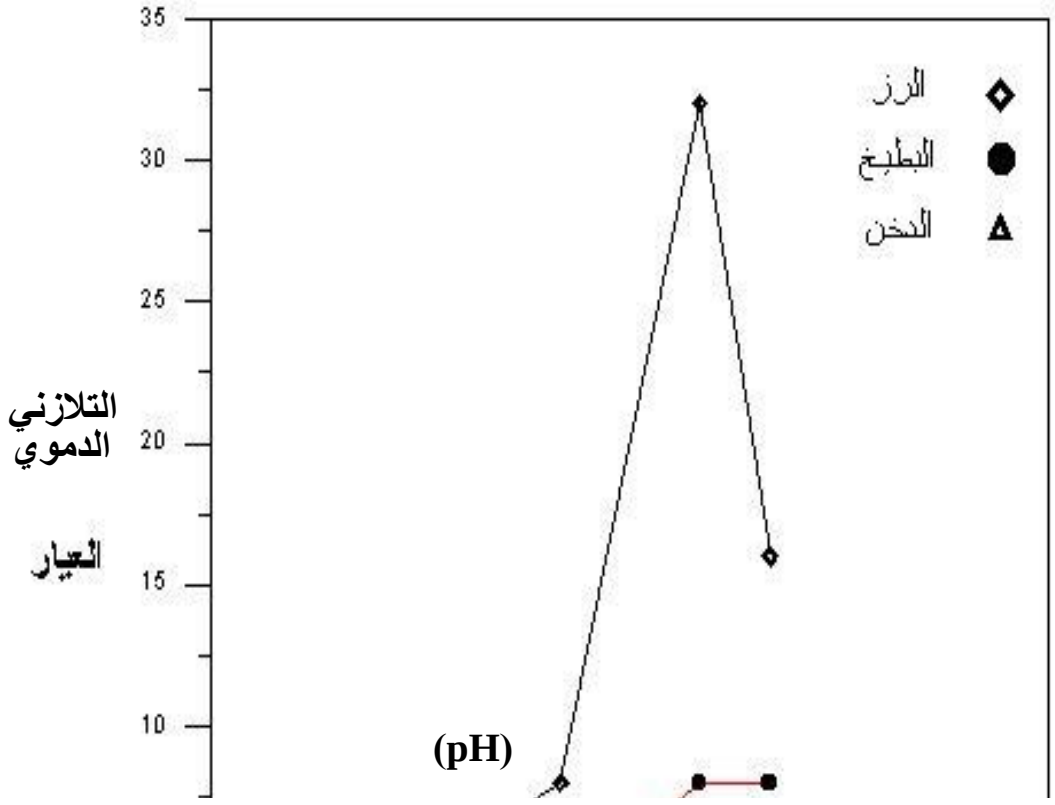
+ = السكريات في الجدول من نوع D.
* ( ) = النسبة المئوية لتركيز السكر عند التلازن الدموي.
* لم تعط المحاليل اللكتينية الكحولية أي نتيجة تذكر.

## ٢.٣. الصفات الفيزياوية Physical Character

### ١.٢.٣ تأثير الأس الهيدروجيني على خاصية التلازن اللكتيني

أظهر المحلول الحاوي على اللكتين في نبات الرز فعالية عظمى في أس هيدروجيني مقداره ٧ حيث بلغ العيار التلازني الدموي (٣٢) وفي أس هيدروجيني يساوي ٨ بلغ العيار (١٦) أما في أس هيدروجيني ٥ فبلغ العيار (٨) وأخيراً في الأس الهيدروجيني ٢.٥ بلغ العيار (٤). أما في نبات البطيخ فبلغت فعالية اللكتين أشدها في أس هيدروجيني ٧ و ٨ إذ بلغ العيار (٨) أما في أس هيدروجيني ٥ و ٢.٥ فبلغ العيار (٤) و (٢) على التوالي.

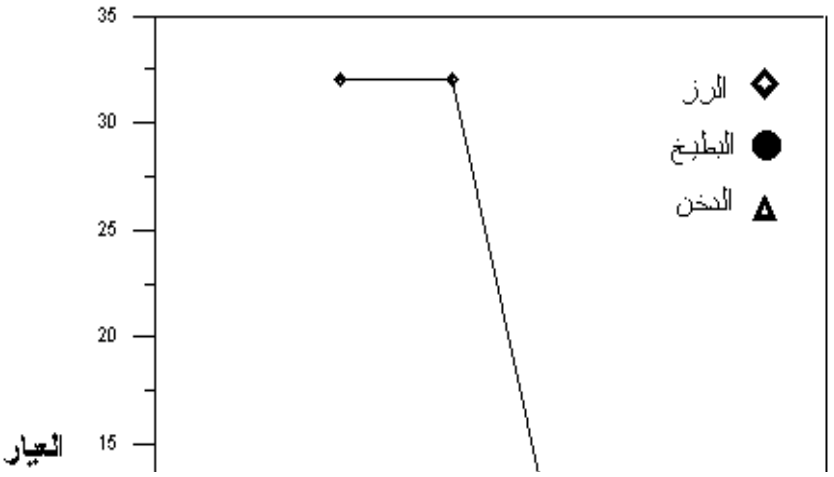
أما الدخن فقد سجل أعلى تلازن (٤) في أس هيدروجيني مقداره ٧ أما في القيمتين ٨ و ٥ له فكان العيار (٢) في حين لم يسجل فعالية للكتين في الأس الهيدروجيني ٢.٥، كما هو مبين في الشكل ٣-١.




**شكل ٣.١. تأثير الأس الهيدروجيني على خاصية التلازن اللكتيني للنباتات المستعملة**

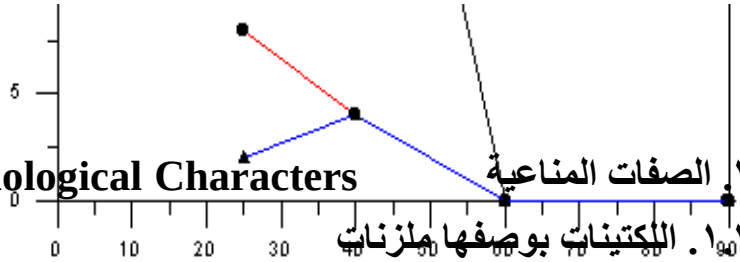
### ٣.٢.٢. تأثير درجة الحرارة على خاصية التلازن اللكتيني

سجل اللكتين في نبات الرز أعلى فعالية تلازنية إذ وصل العيار إلى (٣٢) في درجتي الحرارة ٢٥ مْ و ٤٠ مْ ، في وقت سجل فيه لكتين البطيخ أعلى فعالية (٨) بدرجة حرارة ٢٥ مْ وفعالية تلازنية أقل (٤) بدرجة ٤٠ مْ. في نبات الدخن كان اللكتين يعطي أعلى عيار تلازني (٤) بدرجة حرارة ٤٠ مْ وعيار أقل (٢) بدرجة حرارة ٢٥ مْ. ولم تسجل أي فعالية للكتينات الموجودة في النباتات المذكورة في أعلاه بدرجتي الحرارة ٦٠ مْ و ٩٠ مْ ، كما هو واضح في الشكل ٣-٢.






شكل ٣ . ٢ . تأثير درجة الحرارة على خاصية التلازن اللكتيني للنباتات المستعملة



## ٣.٣. الصفات المناعية Immunological Characters

### ٣.٣.١. اللكتينات بوصفها ملزنات

شملت دراسة اللكتينات بوصفها ملزنات تنميط اللكتينات للكلابسيلا والخلايا اللمفية للطير حديث الفقس .

ل (٤-٢): تأثير درجة الحرارة على خاصية التلازن اللكتيني للنباتات المستخدمة بالبكتريا *Klebsiella pneumoniae*

أخذت ٣٦ عزلة من البكتريا معزولة من مصادر مختلفة من جسم الإنسان ونمّطت باستعمال طريقة التلازن مع اللكتين ضمن المستخلصات النباتية، حيث أظهر المستخلص المائي لنبات الرز نتيجة إيجابية (حصول تلازن) بنسبة ٢٢% ، على حين كانت نسبة العزلات القابلة للتلزين في لكتين البطيخ ٨% تقريباً ، في حين لم يعط المستخلص المائي لنبات الدخن أي نتيجة إيجابية ، وكانت معظم العزلات القابلة للتنميط من بين عزلات الحروق. لم تلاحظ نتائج موجبة لتلازن اللكتين مع هذه البكتريا عند استعمال المستخلصات الكحولية لنفس البذور النباتية الآنفة الذكر. (جدول ٦.٣).

جدول ٦.٣. يوضح تلازن عزلات من بكتريا *Klebsiella pneumoniae* (٣٦ عزلة) معزولة من مصادر مختلفة نتيجة وجود اللكتين في النباتات المستعملة (المستخلص المائي).

**جدول (٤). تلازن عزلات من بكتريا *Klebsiella pneumoniae* (٣٦عزلة) معزولة من مصادر مختلفة نتيجة وجود اللكتين في النباتات المستخدمة (المستخلص المائي)**

| مصدر العزلة | عددها | عدد العزلات التي اعطت نتيجة موجبة مع لكتين الرز | عدد العزلات التي اعطت نتيجة موجبة مع لكتين البطيخ | عدد العزلات التي اعطت نتيجة موجبة مع لكتين الدخن |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |

- كافة محاليل اللكتينات الكحولية المفصولة كانت سالبة في تفاعلها مع بكتريا *Klebsiella pneumoniae*
- عينات أذن وقشع وخروج .

البائية والتائية لأفراخ الدجاج ، في حين كانت المستخلصات المائية ذات نتائج سلبية في تلزين هذه الخلايا (جدول ٣-٧).

**جدول ٣-٧ يبين قابلية اللكتينات المستعملة على تلزين الخلايا اللمفانية (البائية والتائية) لأفراخ الدجاج.**

| نوع الخلايا اللمفية | الرز | | البطيخ | | الدخن | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | مائي | كحولي | مائي | كحولي | مائي | كحولي |
| الخلايا اللمفانية البائية | - | + | - | + | - | ± |
| الخلايا اللمفانية التائية | ± | + | - | + | - | + |

### ٢.٣.٣. اللكتينات بوصفها محورات مناعية في الأرنب

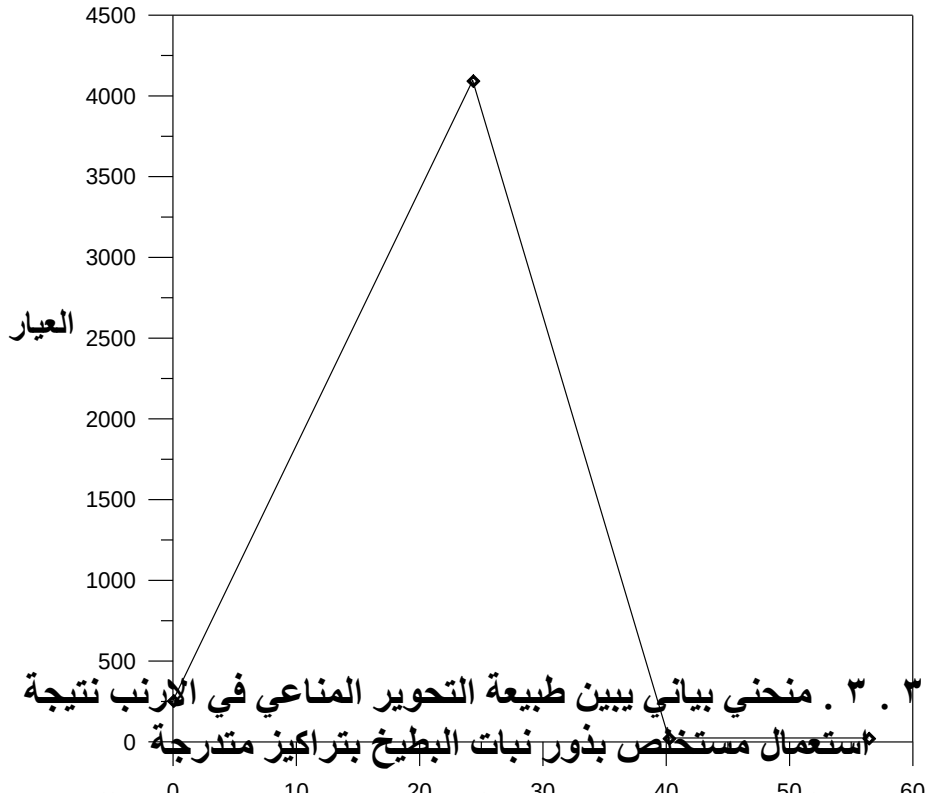
### Lectins as Immunomodulants in the Rabbit

للتعرف على إمكانية عمل أي مادة (محور مناعي) فإنها قد تعطى في آن واحد وبشكل منفصل للحيوان، وقد تعطى للحيوان لتعمل تهيئة مسبقة للجهاز المناعي للحيوان ثم يزرق المستضد بعد فترة. في هذه الدراسة عمدنا للأسلوب الأخير.

عند إعطاء مستضد آح البيض لمجموعة أرانب السيطرة التي سبق تجريعها بالمحلول الملحي الفسلجي باستعمال طريقة التمنيع الفموي فكان عيار التلازن الدموي (٢٥٦) ، أما الحيوانات التي جرعت بآح البيض والتي سبق تجريعها بمحاليل اللكتين لنبات البطيخ بتراكيز متدرجة (٢٤.٣ ملغم/ مل، ٤٠.٢ ملغم/ مل، ٥٦.٤ ملغم/ مل) فكانت عيارات الضد (٤٠٩٦، ٢٤، ٢٤) على التوالي، وهذا يعني أن زيادة تركيز محلول اللكتين يواكبه إنخفاض في عيار الضد (الجدول ٣-٨ والشكل ٣-٣).

جدول ٣-٨ يبين التحوير المناعي في الأرنب نتيجة استعمال مستخلص بذور نبات البطيخ بتراكيز متدرجة.

| ت | نوع الممنع | العيار التلازني الدموي | | |
|---|---|---|---|---|
| | | أرنب (١) | أرنب (٢) | المعدل |
| ١ | مستضد آح البيض | ٢٥٦ | ٢٥٦ | ٢٥٦ |
| ٢ | مستضد آح البيض+ ٢٤.٣ ملغم/ مل لكتين | ٤٠٩٦ | ٤٠٩٦ | ٤٠٩٦ |
| ٣ | مستضد آح البيض+ ٤٠.٢ ملغم/ مل لكتين | ١٦ | ٣٢ | ٢٤ |
| ٤ | مستضد آح البيض+ ٥٦.٤ ملغم/ مل لكيتن | ١٦ | ٣٢ | ٢٤ |



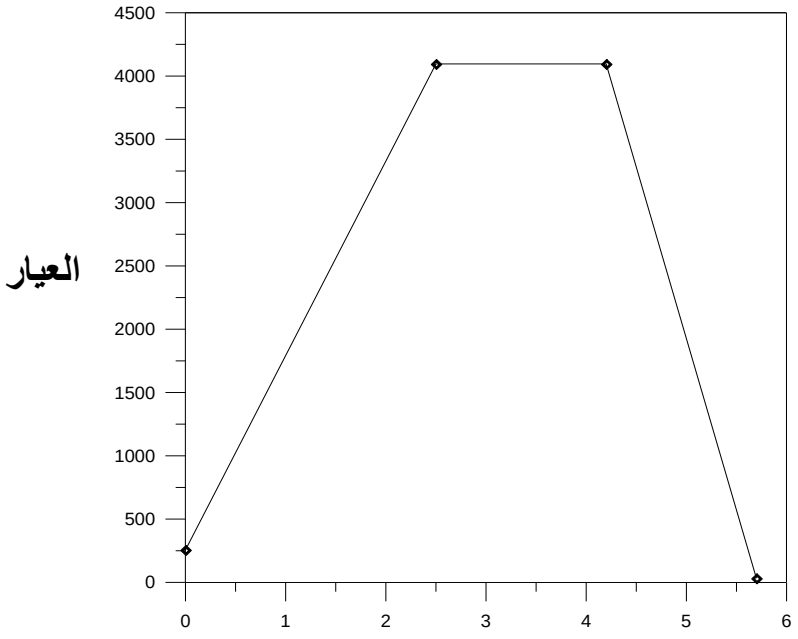

**شكل ٣ . ٣ . منحني بياني يبين طبيعة التحوير المناعي في الارنب نتيجة استعمال مستخلص بذور نبات البطيخ بتراكيز متدرجة**

فيما يخص لكتين بذور نبات البطيخ فاستعملت التراكيز المتدرجة من اللكتين وهي (٢.٥ ملغم/ مل، ٤.٢ ملغم/ مل، ٥.٧ ملغم/ مل) لمجموعة ثانية من الحيوانات قبل إعطائها آح البيض وبعد انتهاء التجريع بآح البيض كانت عيارات

التلازن الدموي (٤٠٩٦، ٤٠٩٦، ٣٢) على التوالي، حيث استعملت نفس حيوانات السيطرة أعلاه. تبين من هذا النبات أن زيادة تركيز محلول اللكتين لغاية ٤.٢ ملغم/ مل يواكبها زيادة في عيار الضد، أما في تركيز ٥.٧ ملغم/ مل حدث تثبيط لعيار الضد (الجدول ٣-٩ والشكل ٣-٤).

جدول ٣-٩ التحوير المناعي في الأرنب نتيجة استعمال مستخلص بذور نبات الدخن بتراكيز متدرجة.

| ت | نوع الممنع | عيار التلازن الدموي | | |
|---|---|---|---|---|
| | | أرنب (١) | أرنب (٢) | المعدل |
| ١ | مستضد آح البيض | ٢٥٦ | ٢٥٦ | ٢٥٦ |
| ٢ | مستضد آح البيض+ ٢.٥ ملغم/ مل لكتين | ٤٠٩٦ | ٤٠٩٦ | ٤٠٩٦ |
| ٣ | مستضد آح البيض+ ٤.٢ ملغم/ مل لكتين | ٤٠٩٦ | ٤٠٩٦ | ٤٠٩٦ |
| ٤ | مستضد آح البيض+ ٥.٧ ملغم/ مل لكتين | ٣٢ | ٣٢ | ٣٢ |




**شكل ٣ . ٤. منحني بياني يبين طبيعة التحوير المناعي في الارنب نتيجة استعمال مستخلص بذور نبات الدخن بتراكيز متدرجة**

**الفصل الرابع**
**المناقشة**

**Chapter Four**
**Discussion**

## ١.٤. الوصف الجزئي للكتينات Partial Characterization of Lectins

### ١.١.٤. كفاءة الترسيب لبعض مرسبات البروتين

جربت ثلاث مواد مرسبة للبروتين وهي:

١- حامض الخليك ثلاثي الكلورايد بتركيز ٢.٢ مولاري أو ٣٦% (وزن/حجم).
٢- سلفات الأمونيوم بتركيز ٤٠% (وزن/ حجم).
٣- الكحول الأثيلي بتركيز ٩٩.٩% (حجم/ حجم).

أختبر نبات الرز وأخذ عيار التلازن مع فصيلة الدم (B) فلوحظ إن أعلى عيار سجل في حالة استعمال حامض الخليك ثلاثي الكلورايد كمرسب للبروتين (٢٥٦) ومن ثم جاءت سلفات الأمونيوم حيث كان العيار (١٦) وأخيراً كانت مادة الكحول الأثيلي حيث سجلت عياراً مقداره (٤) ، وكما هو ملاحظ فإن حامض الخليك ثلاثي الكلورايد هو الأفضل بالترسيب غير أنه يتعذر ظهور نتيجة إيجابية أو سلبية في التراكيز العليا بسبب تأثر كريات الدم الحمراء بأثر المرسب في الأنبوبة عند عمل التلازن. استعمل حامض الخليك ثلاثي الكلورايد بنفس التركيز أعلاه في بحث على لكتين نبات الحنطة للباحثين (Sollid *et al.*, ١٩٨٦) ، أما سلفات الأمونيوم فاستعملت كمرسب للبروتين في العديد من البحوث على نباتات مختلفة بتراكيز تراوحت بين (٤٠%-٧٠%) ومن هذه البحوث (Kolberg *et al.*,١٩٨٨; Suseelan *et al*, ١٩٩٧a; Suseelan *et al.*,١٩٩٧b; Suseelan & Mitra, ٢٠٠١; Hirano *et al.*, ٢٠٠٠; Shnawa, ٢٠٠١)

### ٢.١.٤. تلازن كريات الدم الحمر للإنسان بواسطة اللكتين

تلازن اللكتين مع مستضد زمرة الدم O يعني أن اللكتين قد تفاعل مع السكر السطحي الجانبي على سطح كرية الدم الحمراء وهو (L-Fucose) وفي حالة التفاعل مع مستضد زمرة الدم A فإن اللكتين سيتحد مع سلسلة السكر الجانبية وهي من نوع (N-Acetyl-D-galactosamine)، أما عند التفاعل مع مستضد زمرة الدم B فإنه يدل على تفاعل اللكتين مع سلسلة السكر الجانبية (D-galactose).

عند حصول تفاعل مع أكثر من مستضد سطحي على الكريات الحمراء فإنه يعني وجود لكتين متعدد التخصص أو نوعين لكتينيين ، وإن زيادة عيار التلازن الدموي اللكتيني يعني وجود تركيز أعلى للكتين في النوع النباتي المحدد (Sheeler and Bianchi, ١٩٨٣).

درست قدرة اللكتينات على تلزين كريات الدم الحمراء في العديد من البحوث ومنها بحث (Shnawa, ٢٠٠١) الذي درس اللكتينات في نباتات اللوبياء *Dolichos biflorus*، الباقلاء *Vicia faba*، الفاصولياء *Phseolus laurantus*، الماش *Phaseolus aureus*، الحمص *Cicer orientum* حيث أخذت معلقات من كريات الدم الحمراء بنسب تتراوح ما بين ٢.٥% و٥٠% إذ وجد أن أحسن تخفيف هو ٢.٥% وأخذت درجات حرارة مختلفة ٤°م ،٢٥°م، ٣٧°م، وكانت درجة الحرارة المثلى هي ٣٧°م، جربت فترات حضن متنوعة ١٠ ، ٢٥، ٣٥، ٤٥ دقيقة ، كانت فترة الحضن الأفضل هي ٤٥°م ، وأيضاً استعملت محاليل ملحية فسلجية مختلفة بتراكيز ٠.٥%، ٠.٦% و٠.٨٥% كان التركيز الأمثل هو ٠.٨٥%.

هناك عوامل عديدة تؤثر على التلازن الدموي، منها: طريقة فصل اللكتين، نوع كريات الدم الحمراء، نوع اللكتين المستعمل، نسب المواد المتفاعلة وظروف التفاعل المختلفة. إن جزيئات اللكتين بتلازنها مع كريات الدم الحمراء تبدي تشابهاً كبيراً مع الكلوبيولينات المناعية ، وعلى العموم ، فإن جزيئات اللكتين تكون ذات خصوصية واسعة نسبة إلى خصوصية الكلوبيولينات المناعية. وأظهر البحث السابق نفسه إلى أن مستخلصات اللكتين في الماء البارد لكل من نباتات اللوبياء ، الباقلاء ، الفاصولياء ، والحمص قد لزّنت كريات الدم الحمر من فصيلة A ، أما المحلول اللكتيني لنبات الفاصولياء فقد لزّن فصيلة الدم B ، أما فصيلة O فإنها لُزّنت بفعل محلول اللكتين لنباتي الفاصولياء والماش. في بحث آخر (Ray and Chatterjee, ١٩٩٥) درس هذان الباحثان لكتين بذور نبات السراكه الهندية *Saraca indica* النقي ولوحظت قابلية تلزينه لكريات الدم الحمر للإنسان والحيوانات ، إذ تتفق نتائج هذان الباحثان مع نتائج هذه الدراسة في حدود عيار التلازن الدموي لخلايا من دم الإنسان الحمر .

جاء في (Suseelan *et al.*, ١٩٩٧a) الذين درسوا نوعين من اللكتين في بذور نوع من اللوبياء *Vigna radiata* إنهم استعملوا كريات الدم الحمر للأرنب حيث سجل اللكتين رقم (١) ما يساوي ١٩٨ وحدة تلازنية لكل مايكروغرام لكتين، وسجل اللكتين رقم ٢ فقط ٨٨ وحدة تلازنية بالمايكروغرام لكتين. وقال الباحثان (Suseelan and Mitra, ٢٠٠١) اللذان اشتغلا على أوراق نبات رجل الإوز *Chenopodium amaranticolor* وفصلا اللكتين بشكل نقي إن هذه المادة قد لزّنت خلايا الدم الحمراء للأرنب. ولم تشاهد أي فعالية تلازنية لخلايا الدم الحمراء للإنسان بفصائلها المختلفة مما يدل على أن هذا اللكتين غير متخصص بمجموعة دموية. وأشار (Suseelan *et al.*, ١٩٩٧b) في بحث ثانٍ إلى لكتين نبات الماش *Vigna mungo* بأنها يلزنان كريات الدم الحمراء للأرنب حيث عند تحضير محلول اللكتين الخام أعطى ٢٧٠٩٢٠٠ وحدة تلازنية.

### ٣.١.٤. قابلية اللكتينات للارتباط بالسكريات

إن قدرة جزيئات اللكتين للارتباط بالسكريات المختلفة ينبع من وجود مواقع فعالة في جزيئات اللكتين على شكل حلقات مكونة من أحماض أمينية مختلفة التسلسل وبحسب نوع جزيئة اللكتين قادرة على ربط مجموعة أو أكثر من المجاميع الفعالة المكونة للسكريات المختلفة ويقال لذلك اللكتين بأن له ألفة تجاه السكر المعين. قد يملك نوع من اللكتين القدرة على الإتحاد مع أكثر من نوع من السكر وهذا يعني بأن هذا اللكتين متعدد التخصص.

لقد وجد الباحث (Kolberg, ١٩٩٢) في عمله على نخالة الرز بأن اللكتين المعزول يرتبط مع سكر (N-acetylglucosamine) وأشار الباحثون (Raychoudhury *et al.*, ١٩٩٣) - عند استعمالهم لبعض النباتات - إلى السكر الذي ارتبط باللكتين وحسب النوع النباتي.

إذ لزّ نَلكتين نبات الحنطة (*Triticum vulgaris*) كل من السكرين N-acytylglucosamine ، والسكر N-acytylneuraminic *acid* ، أما لكتين الفول السوداني (*Arachis hypogaea*) فيرتبط بالسكر D-galactose (١-٣)-D-N-acytylgalactosamine ، ولكتين الجولق الأوربي (*Ulex europaeus*) فيتحد مع L-focuse ، في حين إن لكتين اللوبياء الهليونية (*Dolichos bifloris*) يتحد مع N-acytylgalactosamine ، أما الخروع (*Ricinus communis*) فيرتبط مع سكر D-galactose ، وأخيراً فان لكتين بقول جاك (*Canavalia ensiformis*) فيتحد بالسكرين D-galactose و D-mannose .

واستعمل (Ainsworth, ١٩٩٣) ضمن بحثٍبعض الأنواع النباتية وسجل السكريات المتخصصة بها .

جاء في البحث ، إن لكتين الفول السوداني (*Arachis hypogaea*) يرتبط بالسكر β-D-gal(١-٣)-D-N-acytylgalactosamine ، أما لكتين بقول جاك (*Canavalia ensiformis*) فيتحد مع α-D-glucose و α-D-mannose ، في الوقت نفسه ، يتحد لكتين الأرثرينا (*Erthrina corallodendron*) مع سكر N-acytylglucosamine-β-D-gal(١-٤) ، أما لكتين الخروع (*Ricinus communis*) فيرتبط مع سكر β-D-galactose ، ولكتين نبات القرنبوش (*Tetragonolobus purpureas*) يتحد مع α-L-fucose ، أما لكتين الحنطة (*Triticum vulgaris*) فيتحد مع كل من السكرّين N-acytyl-D-glucosamine و N-acytylneuraminic acid .

وجاء ضمن بحث لـ (Sollid *et al.*, ١٩٨٦) على نبات الحنطة بأن اللكتين الموجود فيها يرتبط مع سكر (N-acetyl-D-glucosamine). ولقد أشار (Sheeler and Bianchi, ١٩٨٣) إلى طريقة المعاملة الإنزيمية المتسلسلة للتعرف على طبيعة السكر المرتبط باللكتين ، ولكن بهذه الدراسة استعملت طريقة التلازن الدموي المنفعل إذ تم تشبيع محلول اللكتين على سطح كريات الدم الحمراء للضأن مدبوغة بحامض التانيك ومن ثم جرى الكشف عن قابلية تلازنها مع سلسلة

تخافيف من السكريات المدروسة ، وعلى قدر إطلاعنا فإن هذا التحوير يعد دراسة أولية لا سابق لها عن طريقة للتحري عن إرتباط السكر اللكتين.

## ٢.٤. الصفات الفيزياوية Physical Character

### ١.٢.٤ تأثير الأس الهيدروجيني على خاصية التلازن اللكتيني

أعطت المستخلصات اللكتينية المستعملة في هذا البحث أعلى فعالية تلازنية في محاليل ذات أس هيدروجيني متعادل بصورة عامة حيث يتساوى تركيز أيونات الهيدروجين الموجبة الشحنة مع تركيز أيونات الهيدروكسيل السالبة الشحنة، وتقل الفعالية اللكتينية تدريجياً كلما انخفض أو ارتفع الأس الهيدروجيني عن نقطة التعادل. جرى اختبار الفعالية اللكتينية من خلال درجة تلازن اللكتين مع كريات الدم الحمراء (قياس عيار التلازن الدموي). في دراسة للباحث (Suseelan *et al.*, ١٩٩٧b) على اللكتينين المنقيين من بذورنبات الماش *Vigna mungo* اختبرت الفعالية التلازنية لهذين اللكتينين في درجات أس هيدروجيني مختلف (١-١٠) حيث بقيا فعالين في أس هيدروجيني محصور بين (٣.٥-٧.٥) ، أما الفعالية التلازنية المثلى فكانت محصورة بدرجات أس هيدروجيني ٤ و٥ وفقدا نصف فعاليتهما في أس هيدروجيني بدرجة ٦ و٧، و٩٠% من الفعالية بدرجة ٨ وفقدا كل فعاليتهما بدرجتي ٣ و٨. في بحث آخر للباحثين (Suseelan and Mitra, ٢٠٠١) تمت دراسة فعالية اللكتين المنقى من أوراق نبات رجل الإوز *Chenopodium amaranticolor* حيث اختبرت فعالية اللكتين في أس هيدروجيني (١-١٢)، ووجد بأن الفعالية التلازنية لهذا اللكتين بقيت ثابتة في أس هيدروجيني محصور بين (٣-١٢) ، أما الأس الهيدروجيني بدرجة تقل عن ٣ فإن اللكتين تنخفض فعاليته التلازنية بالتدريج. أقام الباحثون (Suseelan *et al.*, ١٩٩٧a) فحصاً للكتينين المستخرجين من بذور نوع من اللوبياء *Vigna radiata* حيث درست فعاليتهما التلازنية في درجات أس هيدروجيني مختلفة (٣-١٠) وجد بأن اللكتينين بقيا فعالين في أس هيدروجيني مقداره ٤ و ٨ ، أما أقصى فعالية فقد ظهرت في درجتي ٥ و٦. أما الباحثان (Ray and Chatterjee, ١٩٩٥) فقد قاسا الفعالية التلازنية للكتين المستخلص من أغلفة بذور نبات السراكه الهندية *Saraca indica* في درجات أس هيدروجيني مختلف (٣-١٠) حيث بقيت فعالية اللكتين في كل من هذه الدرجات، ففي درجتي ٣ و٤ كان العيار التلازني الدموي (١٦) أما في درجتي ٥ و٧ فكان العيار (٣٢)، وعياراً مقداره (٦٤) في درجة ٨، وانخفض العيار في درجة ٩ ليصبح (١٦) ودرجة ١٠ ليصبح (٨)، وهذا يعني بأن نتائج هذه الدراسة متفقة مع الدراسات الأخرى (Suseelan *et al.*, ١٩٩٧b; Suseelan and Mitra, ٢٠٠١; Suseelan *et al.*, ١٩٩٧a) أن لتركيز أيونات الهيدروجين في المحاليل اللكتينية أثر على الفعالية الحيوية لهذه اللكتينات.

### ٢.٢.٤ تأثير درجة الحرارة على خاصية التلازن اللكتيني

استعملت درجات حرارة مختلفة (٢٥ مْ ، ٤٠ مْ ، ٦٠ مْ ، ٩٠ مْ) لمعرفة تأثيرها على فعالية اللكتينات المستعملة في هذا البحث حيث بقيت هذه اللكتينات فعالة في درجتي الحرارة ٢٥ مْ و٤٠ مْ، ولم تسجل أي فعالية للكتينات في درجتي الحرارة ٦٠ مْ و٩٠ مْ مما يدل على تأثر اللكتينات بدرجات الحرارة العالية نسبياً كونها بروتينات حيث تمسخ (Denatured) ويتغير تركيبها في مثل هذه الدرجات العالية. في بحث للباحثين (Ray and Chatterjee, ١٩٩٥) أثناء الدراسة على اللكتين المستخلص من أغلفة بذور نبات السراكه الهندية *Saraca indica* عُرّض هذا اللكتين إلى درجات حرارة تصل إلى ٥٥ مْ حيث لوحظ بقاء الفعالية التلازنية لهذا اللكتين إذ كان العيار (١٦) ، وبدأت الفعالية تقل تدريجياً إلى أن وصلت إلى الصفر في درجة حرارة ٩٥°م. في البحث الذي أجراه الباحثون (Suseelan *et al.*, ١٩٩٧a) على لكتينين مستخرجين من بذور نوع من اللوبياء *Vigna radiata* ثبت أن فعاليتهما التلازنية كانت على أشدها في درجات حرارة تتراوح ما بين ٢٥ مْ و ٤٠ مْ بعدها بدأت الفعالية تقل إلى أن وصلت إلى الصفر في درجة حرارة ٦٠ مْ. وفي بحث آخر للباحثين (Suseelan *et al.*, ١٩٩٧b) أجري على لكتينين لنبات الماش *Vigna mungo* عرض اللكتينين لدرجات حرارة مختلفة (٢٥ مْ ، ٣٥ مْ ، ٤٥ مْ ، ٥٥ مْ ، ٦٥ مْ ، ٧٥ مْ ، ٨٥ مْ ، ١٠٠ مْ) لمدة ١٠ دقائق وقيست الفعالية التلازنية في كل حالة، لوحظ وجود علاقة خطية بين الفعالية التلازنية الباقية ودرجة الحرارة، عندما سخنت هذه اللكتينات بدرجة ٤٥°م فقدت ٥٠% من فعاليتها التلازنية في ١٠ دقائق وأكثر من ٩٠% من الفعالية خلال ٦٠ دقيقة، في درجة حرارة ٥٠ مْ فقدت ٥٠% من الفعالية التلازنية خلال ٥ دقائق وفقدت كل الفعالية خلال ١٠ دقائق. أما عند دراسة اللكتين المنقى من أوراق نبات رجل الإوز *Chenopodium amaranticolor* من قبل (Suseelan and Mitra, ٢٠٠١) فقد وجد إنه عند تسخين هذا اللكتين من ٢٥°م وصعوداً إلى كل ١٠ درجات مئوية لحين الوصول إلى ١٠٠ مْ وجد أن الفعالية التلازنية تبقى موجودة إلى حد ٨٠مْ. وجاء في البحث الذي نشره (Shnawa, ٢٠٠١) عند دراسته للكتينات في بذور نبات اللوبياء *Dolichos biflorus*، والباقلاء *Vicia faba*، والفاصولياء *Phaseolus laurantus*، والماش *Phaseolus aureus*، الحمص *Cicer orientum* أن درجة الحرارة المثلى لحدوث أعظم تلازن دموي هي ٣٧ مْ حيث جربت درجات حرارة مختلفة وهي ٤ مْ ، ٢٥ مْ ، ٣٧ مْ ، أي إن اللكتينات النباتية المختلفة لها حدود تحمل متباينة لدرجات الحرارة المتنوعة.

## ٣.٤. الصفات المناعية Immunological Character

### ١.٣.٤ اللكتينات بوصفها ملزنات

#### ١.١.٣.٤ لبكتريا *Klebsiella pneumoniae*

كان لكتين نبات الرز *Oryza sativa* من أكثر اللكتينات المستعملة قابلية على تلزين خلايا البكتريا إذ كانت نسبة التلزين ٨ من أصل ٣٦ عزلة بكتيرية، تلاه لكتين نبات البطيخ *Cucumis melo* (٣ عزلات من أصل ٣٦ )، في حين لم يبدِ لكتين نبات الدخن *Panicum miliaceum* أي قابلية تلازنية كما كان الحال مع المستخلصات الكحولية لهذه النباتات ، وكما نلاحظ فإن التلازن لم يحصل مع كل العزلات كما إن المستخلص المائي لنبات البطيخ لا يرتبط مع سكر المانوز الذي يدخل في تركيب الكبسولة والزوائد الخيطية المعروفة باسم (Pili) أو (Fimbriae) وبالرغم من ذلك إتحد مع البكتريا في ثلاث عزلات، والسبب في ذلك ربما يعود إلى أن ليس كل الخلايا البكتيرية في العزلات تحوي على سكر طرفي من نوع المانوز على الكبسولة أو على الزوائد الخيطية. لقد استعمل الباحث (Ainsworth, ١٩٩٣) عزلات مختلفة لبكتريا *Edwardsiella ictaluri* التي تصيب نوعاً من الأسماك في معرفة تلازنها مع لكتينات مختلفة لنباتات: بقول جاك *Canavalia ensiformis* والخروع *Ricinus communis* والحنطة *Triticum vulgaris* حيث أُزنت خلايا هذه البكتريا بفعل لكتين نباتي بقول جاك والخروع، أما لكتين نبات الحنطة فلم يستطع تلزين هذه الخلايا البكتيرية. أما الباحث (Shnawa, ٢٠٠١) فقد استعمل بعض نباتات العائلة البقولية في بحثه وجرب مستخلصاتها على خلايا بكتريا *Escherichia coli* حيث لزن لكتين نبات اللوبياء *Dolichos biflorus* والماش *Phaseolus aureus* (مستخلص الماء البارد) خلايا هذه البكتريا. ووجد أنه من الممكن استعمال اللكتينات النباتية في تنميط بكتريا *Campylobacter fetus* (Gill and Corbel, ١٩٨٦) ، كما وتستعمل اللكتينات في التنميط اللكتيني للبكتريا كبكتريا الجمرة الخبيثة والسيلان (Lis and Sharon, ١٩٨٦).

**٢.١.٣.٤ الخلايا اللمفانية للطيور (أفراخ الدجاج)**

استعملت اللكتينات في هذا البحث بالمستخلصين المائي والكحولي لمعرفة مدى قابلية تلزينها للخلايا اللمفية لأفراخ الدجاج إذ ثبت أن المستخلص الكحولي لبذور هذه النباتات قادر على تلزين الخلايا اللمفية لأفراخ الدجاج بنوعيها (خلايا لمفانية T وB) على العكس من المستخلص المائي الذي أعطى نتائجاً سلبية مع هذه الخلايا، من المعروف أن الخلايا اللمفية في الكائنات الحية حالها حال بقية الخلايا الحية بامتلاكها زوائد سكرية على سطوحها تختلف تبعاً لنوع هذه الخلايا وجنس الكائن الحي مما يعني أن المستخلص الكحولي لبذور هذه النباتات فصل نوعاً من اللكتينات تمكن من تلزين هذه الخلايا لم يمكن الحصول عليه في المستخلص المائي. ومن الملاحظ أن اللكتينات – بصورة عامة – تعد من المواد المشطرة للخلايا اللمفية ولا تتم عملية التشطير من دون حدوث عملية مسبقة هي عملية الإرتباط بين اللكتين والسكر الموجود على سطوح الخلايا اللمفية. لقد لاحظ الباحثون (Cunningham *et al.*, ١٩٧٦) أن اللكتين النباتي للفاصولياء المعروفة *Phaseolus vulgaris* يستطيع إستحثاث عملية التكاثر للخلايا اللمفية الطبيعية للإنسان. اشتغل الباحث (Sharon, ١٩٧٦) على بعض النباتات من العائلة البقولية وأثبت أن أحد خصائص

اللكتين الموجود فيها هو قدرته على تلزين الخلايا الحية ومن ضمنها الخلايا اللمفية. وجد الباحثون (Ghosh *et al.*, ١٩٩٩) أثناء دراستهم على لكتين نبات السراكه الهندية *Saraca indica* أن هذا اللكتين يشطر الخلايا اللمفية للإنسان. أما الباحث (Shnawa, ٢٠٠١) وأثناء دراسته على بعض نباتات العائلة البقولية وجد أن لكتين نباتي الفاصولياء *Phaseolus laurantus* والحمص *Cicer orientum* المستخلص بالماء البارد يلزن الخلايا اللمفانية البائية لأفراخ الدجاج، مثلما يلزن لكتين نبات الفاصولياء الخلاياالمفانية التائية لها.

### ٣.١.٣.٤ اللكتينات بوصفها محورات مناعية في الأرنب

Lectins as Immunomodulants in the Rabbit

عند إعطاء المستخلص المائي لنبات البطيخ للأرنب جرت زيادة في العيار التلازني الدموي عن حيوانات السيطرة لغاية المستخلص الذي تركيزه ٢٤.٣ ملغم/ مل ومن ثم بدأ انخفاض كبير في عيار الضد، أما المستخلص المائي لنبات الدخن فقد ارتفع عيار الضد مع زيادة تركيز المستخلص لغاية ٤.٢ ملغم/ مل ثم انخفض عيار الضد كثيراً في مستخلص تركيزه ٥.٧ ملغم/ مل. إن الزيادة في عيار الضد سببها كون هذه المستخلصات النباتية بروتينات غريبة إلى الحد الذي يصل فيه تركيز المستخلص إلى المقدار السمي للخلايا المناعية والذي يعزي إليه الانخفاض الكبير في عيار الضد. جاء في بحث الباحثين (Wang *et al.*, ١٩٩٨) الذين عزلوا ودرسوا اللكتينات من بعض العراهين أ ن هذه اللكتينات يمكن أن تكون معدّلة للجهاز المناعي وضد السرطان ولها فعاليات سمية، ومن هذه العراهين: (*Agaricus bisporus, Ganoderma lucidum, Flammulina velutipse,Boletus satanas, Volvariella volvacea, Tricholoma mongolicum, Grifola frondosa)* حيث يمكن أن تكون لكتينات هذه العراهين مشطرة للخلايا ، محفزة للجهاز المناعي ، مضادة لتكاثر الخلايا ، مضادة للخلايا السرطانية ، موسعة للأوعية الدموية أو خافضة للضغط.

**الاستنتاجات**

١- من خلال استعمال طريقتين لفصل اللكتينات وهما: (أ) الاستخلاص بالماء البارد. (ب) الاستخلاص بالكحول الأثيلي تبين أن كل طريقة تستخلص نوع من اللكتين لا يمكن استخلاصه بالطريقة الثانية.

٢- عند استعمال عدة أنواع من مرسبات البروتين (حامض الخليك ثلاثي الكلورايد ، سلفات الأمونيوم ، الكحول الأثيلي) لوحظ أن حامض الخليك ثلاثي الكلورايد كان الأفضل من بينها.

٣- تبين بأن هناك علاقة عكسية بين زيادة درجة الحرارة وزيادة الأس الهيدروجيني عن نقطة التعادل وبين نشاط اللكتين الملزن للخلايا الحمراء وبحدود معينة.

٤- يمكن استعمال اللكتينات في التعرف على الخلايا اللمفية للطير وتنميط البكتريا مثل بكتريا *Klebsiella pneumoniae*.

٥- وجد بأن التهيئة المسبقة للأرنب بمحلول لكتين البطيخ والدخن لمدة أسبوعين ، بخمس جرع فموية يفصل بينها يوم واحد ، بعدها تجرع بثلاث جرعات من مستضد آح البيض بفاصل خمسة أيام أدى إلى تحوير مناعي خلطي متخصص بآح البيض معتمد على الجرعة . وبحدود هذه التجربة الأولية هناك إيحاء لعمل هذه اللكتينات باعتبارها محورات مناعية ولتبين ذلك ، نحتاج إلى دراسة تعزيزية توضح الأمر .

**التوصيات**

محاولة الحصول على محلول لكتيني ذي نقاوة عالية والكشف عن إمكانية عمله كمشطر للخلايا اللمفية .

# مساق الأشكال


| رقم الشكل | العنوان | الصفحة |
|---|---|---|
| ١.١. | التركيب العام للكتين Con A | ٥ |
| ٢.١. | التركيب العام للكتين DB٥٨ | ٨ |
| ٣.١. | التركيب العام للكتين UEA-II | ١٠ |
| ١.٢. | مخطط يوضح كيفية فصل الخلايا اللمفانية لأفراخ الدجاج. | ٣٢ |
| ٢.٢. | مخطط لطريقتي الاستخلاص المائي والكحولي. | ٣٥ |
| ٣.٢. | مخطط يوضح منوال الدراسة. | ٤٥ |
| ١.٣. | تأثير الأس الهيدروجيني على خاصية التلازن اللكتيني للنباتات المستعملة | ٥١ |
| ٢.٣. | تأثير درجة الحرارة على خاصية التلازن اللكتيني للنباتات المستعملة. | ٥٢ |
| ٣.٣. | منحني بياني يبين طبيعة التحوير المناعي في الأرنب نتيجة استعمال مستخلص بذور نبات البطيخ بتراكيز متدرجة. | ٥٥ |
| ٤.٣. | منحني بياني يبين طبيعة التحوير المناعي في الأرنب نتيجة استعمال مستخلص بذور نبات الدخن بتراكيز متدرجة. | ٥٧ |

# مساق اصطلاحي

| المصطلح | المعنى |
|---|---|
| Agglutination unit | وحدة تلازنية |
| Agglutinin | ملزن |
| α- helix | لولب ألفا |
| Amino acid sequence | تسلسل الحامض الأميني |
| Amylated human serum | مصل الإنسان الأميلي |
| Avian lymphocytes | الخلايا اللمفية للطير |
| Bacterial typing | التنميط البكتيري |
| Blood groups | فصائل الدم |
| β-structure | تركيب بيتا |
| Carbohydrate recognizing domain | الحقل المميز للكاربوهيدرات |
| Centrifuge tubes | أنابيب جهاز الطرد المركزي |
| Characterization | وصف |
| Cis | متجاور |
| Clones | كلوناث |
| Clumps | تكتلات |
| Complement system | نظام المتمم |
| Consensus geometry for the coordination bonds | علم الهندسة الجمعية للأواصر التناسقية |
| Crystallographic studies | دراسات علم البلورات |
| Denaturation | مسخ |
| Detergents | مواد منظفة |
| Differentiation | تمايز |
| Dimer | قطعة ثنائية |
| Disulphide bond | آصرة ثنائية الكبريت |
| Dome shaped | بشكل القبة |
| Electronical density | كثافة الكترونية |
| Embryogenesis | النشوء الجنيني |
| Entire core | لب كامل |
| Erythrocytes | كريات الدم الحمراء |
| Fimbriae (pili) | زوائد خيطية للبكتريا |
| Flattened jelly roll | اسطوانة هلامية مسطحة. |
| Folded sheets | صفائح مطوية |
| Globular proteins | بروتينات كروية |
| Glycolipid | دهن سكري |
| Glycoprotein | بروتين سكري |
| Glycosylation | الارتباط السكري |

| | |
|---|---|
| Graminea | العائلة النجيلية |
| Helical | لولبي |
| Hemeagglutination titer | عيار التلازن الدموي |
| High resolution structures | تراكيب عالية الفصل |
| Host | مضيف |
| Hydrophilic short region | منطقة قصيرة محبة للماء |
| Hydrophobic binding site | موقع رابط كاره للماء |
| Identical units | وحدات متطابقة |
| Immunoglobulins | كلوبيولينات مناعية |
| Immunomodulant | محور مناعي |
| Immunostimulation | تحفيز مناعي |
| Immunosuppression | تثبيط مناعي |
| Jack bean | بقول جاك |
| Lectin | لكتين |
| Lectinophagocytosis | عملية البلعمة اللكتينية |
| Legumes | بقوليات |
| Ligands | ليكاندات |
| Linear relationship | علاقة خطية |
| Loop | العروة الناقلة |
| Lymphocyte transformation | تحول الخلايا اللمفية |
| Membrane bound | مرتبط بالغشاء |
| Metazoa | الحيوانات البعدية |
| Microtitre plate | طبق المعايرة |
| Mitogenic stimulation | حث مشطر |
| Mushrooms | عراهين |
| Non canonical dimer interface | الوجه البيني غير المتزن للقطعة الثنائية |
| Non covalent bond | آصرة غير تساهمية |
| Optical density | كثافة ضوئية |
| Orally | عن طريق الفم |
| Parenchymatous protein | بروتين حشوي |
| Passive | منفعل |
| Pastaur pipette | ماصة باستور |
| Peptide bond | آصرة ببتيدية |
| Phagocytosis | عملية البلعمة |
| Physiologic pH | الأس الهيدروجيني الوظيفي |
| Phytohaemagglutinin | ملزن الدم النباتي |
| Preferential agglutination | تلازن تفضيلي |
| Preincubation | حضين مسبق |
| Preservation | حفظ |

| | |
|---|---|
| Probe | مجس |
| Residues | بقايا |
| Self \ non Self | ذاتي/ غير ذاتي |
| Soluble | ذائب |
| Specificity | خصوصية |
| Sugar binding sites | مواقع رابطة للسكر |
| Sugar receptors | مستقبلات السكر |
| Terminal sugar group | مجموعة سكر طرفية |
| Tetrameric | رباعي القطعة |
| Transmembrane molecules | جزيئات عبر غشائية |
| Transporting proteins | بروتينات ناقلة |
| Vortex | جهاز الرج الكهربائي |

# مساق الجداول


| رقم الجدول | العنوان | الصفحة |
|---|---|---|
| ١.١. | خصائص اللكتينات | ٢ |
| ٢.١. | عوائل اللكتينات | ١٤ |
| ١.٢. | مصادر عزلات الكلابسيلا الرئوية *Klebsiella pneumoniae* | ٣١ |
| ٢.٢. | النباتات المستعملة والاسم العلمي والشائع واسم العائلة إزاء كل منها | ٣٣ |
| ١.٣. | كفاءة الترسيب بدلالة عيار التلازن الدموي | ٤٦ |
| ٢.٣. | تركيز البروتين الكلي في المستخلصات النباتية المستعملة | ٤٧ |
| ٣.٣. | تلازن كريات الدم الحمر للإنسان للفصائل (O, B, A) نتيجة فعل اللكتين الموجود في بذور النباتات المستعملة (المستخلص المائي) | ٤٨ |
| ٤.٣. | تلازن كريات الدم الحمر للإنسان للفصائل (O, B, A) نتيجة فعل اللكتين الموجود في بذور النباتات المستعملة (المستخلص الكحولي) | ٤٩ |
| ٥.٣. | قابلية المستخلصات اللكتينية للإرتباط مع السكريات والنسبة المئوية لتركيز السكر عند التلازن الدموي (المستخلص المائي) | ٥٠ |
| ٦.٣. | تلازن عزلات من بكتريا *Klebsiella pneumoniae* (٣٦ عزلة) معزولة من مصادر مختلفة نتيجة وجود اللكتين في النباتات المستخدمة (المستخلص المائي) | ٥٣ |
| ٧.٣. | قابلية اللكتينات المستعملة على تلزين الخلايا اللمفانية (البائية والتائية) لأفراخ الدجاج. | ٥٤ |
| ٨.٣. | التحوير المناعي في الأرنب نتيجة استعمال مستخلص بذور نبات البطيخ بتراكيز متدرجة | ٥٥ |
| ٩.٣. | التحوير المناعي في الأرنب نتيجة استعمال مستخلص بذور نبات الدخن بتراكيز متدرجة | ٥٦ |

## مساق الرموز والاختصارات

| الرمز أو الاختصار | المفردة الإصطلاحية | المعنى |
|---|---|---|
| α | Alpha | ألفا |
| Ala | Alanine | الحامض الأميني (ألانين) |
| Asn | Asparagine | الحامض الأميني (أسباراجين) |
| Asp | Aspartic acid | الحامض الأميني (حامض الأسبارتيك) |
| β | Beta | بيتا |
| $C_3$ | Complement component | أحد قطع نظام المتمم |
| cDNA | Clonned deoxyribonucleic acid | الحامض النووي الوراثي منقوص الأوكسجين (دنا) مكلون |
| Con A | Concanavalin A | أحد أنواع اللكتينات |
| D | Dextrorotary | أيمن الدوران |
| DB ٥٨ | *Dolichos biflorus* ٥٨ | أحد أنوع اللكتينات |
| DNA | Deoxyribonucleic acid | الحامض النووي الوراثي منقوص الاوكسجين (دنا) |
| Gly | Glycine | الحابمض الأميني (كلايسين) |
| Ile | Isoleucine | الحامض الأميني (آيزوليوسين) |
| L | Levorotary | أيسر الدوران |
| Leu | Leucine | الحامض الأميني (ليوسين) |
| PHA | Phytohaemagglutinin | أحد أنواع اللكتينات |
| Ser | Serine | الحامض الأميني (سيرين) |
| Thr | Threonine | الحاضم الأميني (ثريونين) |
| Tyr | Tyrosine | الحامض الأميني (تايروسين) |
| UEA | *Ulex europaeus* agglutinin | لكتين نبات الجولق الأوربي |
| Val | Valine | الحامض الأميني (فالين) |

# مساق بأسماء الجراثيم الواردة في الرسالة

| الاسم العربي | الاسم العلمي |
|---|---|
| عصيات الفحام | *Bacillus anthracis* |
| المنحنيات الجنينية | *Campylobacter fetus* |
| إدوارد سيلا | *Edwardsiella ictaluri* |
| إيشركيا القولون | *Escherichia coli* |
| الكلابسيلا الرئوية | *Klebsiella pneumoniae* |
| نسريا السيلان | *Neisseria gonorhoeae* |

## مساق بأسماء النباتات الواردة في الرسالة

| الاسم العربي | الاسم العلمي |
|---|---|
| الفول السوداني | *Arachis hypogaea* |
| بقول جاك | *Canavalia ensiformis* |
| رجل الإوز | *Chenopodium amaranticolor* |
| الحمص | *Cicer orientum* |
| البطيخ | *Cucumis melo* |
| اللوبياء الهليونية | *Dolichos biflorus* |
| نبات الأرثرينا | *Erythrina corallodendron* |
| الهرطمان | *Lathyrus sativus* |
| الجت | *Medicago sativa* |
| الرز | *Oryza sativa* |
| الدخن | *Panicum miliaceum* |
| الفاصولياء | *Phaseolus laurantus* |
| الفاصولياء الشائعة | *Phaseolus vulgaris* |
| عشب أمريكي | *Phytolacca americana* |
| الخروع | *Ricinus communis* |
| السراكه الهندية | *Saraca indica* |
| قرنبوش | *Tetragonolobus purpureas* |
| الحنطة | *Triticum aestivum* |
| الحنطة | *Triticum vulgaris* |
| الجولق الأوربي | *Ulex europaeus* |
| الباقلاء | *Vicia faba* |
| الماش | *Vigna mungo* |
| نوع من اللوبياء | *Vigna radiata* |
| اللوبياء | *Vigna unguiculata* |

## المصادر الأجنبية


١- Ainsworth, A.J. (١٩٩٣). Carbohydrate and lectin interactions with *Edwardsiella ictaluri* and channed catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), anterior kidney leucocytes and hepatocytes. J. Fish Dis., ١٦: ٤٤٩-٤٥٩.

٢- Arason, G.J. (١٩٩٦). Lectins as defence molecules in vertebrates and invertebrates. Fish & Shellfish Immunol., ٦: ٢٧٧-٢٨٩.

٣- Baron, E.J. & Finegold, S.M. (١٩٩٠). Baily & Scott's diagnostic microbiology. (٨th ed.), E.J. Baron & S.M. Finegold (eds.), p: ٢٤٩-٢٥٧. Mosby – Year Book Inc., London.

٤- Barondes, S. (١٩٨٨). Bifunctional properties of lectins: lectins redefined. Trends Bioche. Sci., ١٣: ٤٨٠-٤٨٣.

٥- Barondes, S.H., Cooper, D.N., Gitt M.A. & Leffler, H. (١٩٩٤). Galectins. Structure and function of a large family of animal lectins. J. Biol. Chem., ٢٦٩: ٢٠٨٠٧-٢٠٨١٠.

٦- Bishop, M.C., Dben-Von, J.L., Fody E. & thirty three contributors. (١٩٨٥). Clinical chemistry principles, procedures & correlations. P: ١٨١-١٨٢. The Murry Printing Com., Philadelphia.

٧- Buck, F., Luth C.; Strupat K. & Bretting H. (١٩٩٢). Comparative investigations on the amino-acid sequences of different isolectins from the sponge *Axinella polypoides* (Schmidt) Biochim. Biophys. Acta, ١١٥٩: ١-٨.

٨- Buts, L., Dao-Thi M., Loris R., Wyns L., Etzler M. & Hamelryck T. (٢٠٠١). Week protein-protein interactions in lectins: the crystal structure of a vegetative lectin from the legume *Dolichos biflorus*. J. Mol. Biol., ٣٠٩: ١٩٣-٢٠١.

٩- Cunningham, B.A., Sela B., Yahara I. & Edelman G.M. (١٩٧٦). Structure and activities of lymphocyte mitogens. In: Mitogens in immunology. J.J. Openheim & D.L. Rosenstreich (eds.) p: ١٣-٣٠. Academic Press., New York.

١٠- Drickamer, K. & Taylor M.E. (١٩٩٣). Biology of animal lectins. Anal. Rev. Cell Biol., ٩: ٢٣٧-٢٦٤.

١١- Emsley, J., White H.E., O'Hara B.P., Oliva G., Srinivasan N., Tickle I.J., Pepys M.B. & Wood S.P. (١٩٩٤). Structure of pentameric human serum amyloid P component. Nature, ٣٦٧: ٣٣٨-٣٤٥.

١٢- Etzler, M.E. (١٩٩٤). Isolation and characterization of subunits of DB٥٨, a lectin from the stems and leaves of *Dolichos biflorus*. J. Biochem., ٣٣: ٩٧٧٨-٩٧٨٣.

١٣- Friemer, N.B., Ogmundsdottir H.M., Blackwell C.C., Sutherland I.W, Graham L. & Weir D.M. (١٩٧٨). The role of the cell wall carbohydrates in binding of microorganisms to mouse peritoneal exudates macrophages. Acta Pathol. Microbiol. Scand., ٨٦: ٥٣-٥٧.

١٤- Garvey, J.S., Cremer N.E. & Sussdorf D.H. (١٩٧٧). Methods in

immunology. (٣rded.) p: ٥١٨, ٣٥٦-٣٥٩. W. A. Benjamin, Inc., Massachusetts.

١٥- Ghosh, S., Majumder M., Majumder S., Ganguly N.K. & Chatterjee B.P. (١٩٩٩). Saracin: a lectin from *Saraca indica* seed integument induces apoptosis in human T-lymphocytes. Arch. Biochem. Biophys., ٣٧١(٢): ١٦٣-١٦٨.

١٦- Gill, K.P.W. & Corbel M.J. (١٩٨٦). Lectin agglulination for the differentiation of *Campylobacter fetus* serotypes. Vet. Rec., ١١٨: ١٥٨.

١٧- Goldstein, I.J. & Hayes C.E. (١٩٧٨). The lectins: carbohydrate binding proteins of plants and animals. Adv. Carbohyd. Chem. Biochem., ٣٥: ١٢٧-٣٤٠.

١٨- Goldstein, I.J., Hughes R.C., Monsigny M., Osawa T. & Sharon N., (١٩٨٠). What should be called a lectin? Nature, ٢٨٥: ٦٦.

١٩- Hamelryck, T.W., Loris R., Bouckaert J., Dao Thi M. H., Strecker G., Imberty A., Fernandez E., Wyns L.& Etzler M.E.. (١٩٩٩). Carbohydrate binding, quaternary structure and a novel hydrophobic binding site in two legume lectin loligomers from Dolichos biflorus. J. Mol. Biol., ٢٨٦: ١١٦١-١١٧٧.

٢٠- Goldstein, H.J. & Hayes C.E. (١٩٧٨). The lectins: carbohydrated binding proteins of plants and animals. Adv. Carbohyd. Chem. Biochem., ٣٥: ١٢٧-٣٤٠.

٢١- Goldstein, I.J., Hughes R.C., Monsigny M., Osawa T. & Sharon N. (١٩٨٠). What should be called a lectin? Nature, ٢٨٥:٦٦.

٢٢- Hamelryck, T.W., Loris R., BoucKaert J., Dao Thi M. H, Strecker G., Imberty A., Fernandez E., Wyns L.& Etzler M.E. (١٩٩٩). Carbohydrate binding, quaternary structure and a novel hydrophobic binding site in two legume lectin oligomers from Dolichos biflorus. J. Mol. Biol., ٢٨٦: ١١٦١-١١٧٧.

٢٣- Hirabayashi, J. & Kasai K. (١٩٩٣). The family of metazoan metal-independent beta-galactoside-binding lectins: structure, function and molecular evolution. Glycobiol., ٣: ٢٩٧-٣٠٤.

٢٤- Hirano, K., Teraoka T., Yamanaka H., Harashima A., Kunisaki A., Takahashi H. & Hosokawa D. (٢٠٠٠). Novel. Mannose-binding rice lectin composed of some isolectins and its relation to a stress-inducible *salT* gene. J. Plant cell Physiol., ٤١ (٣): ٢٥٨-٢٦٧.

٢٥- Holt, J.G., Krieg N.R., Smeath P.H.A., Staley J.T. & Williams S.T. (١٩٩٤). Bergey's manual of determinative bacteriology. (٩th ed.). Williams & Wilkins Inc., Baltimore, Maryland.

٢٦- Hoson, T. & Masuda Y. (١٩٩٥). Concanavalin A inhibits auxin induced elongation and breakdown of (١→٣), (١→٤)- β-D-glucans in segments of rice coleoptiles. J. Plant Cell Physiol., ٣٦(٣): ٥١٧-٥٢٣.

٢٧- Kolberg, J. (١٩٩٢). Monoclonal antibodies against rice bran lectin.

J. Biol. Chem. Hoppe-Seyler, ٣٧٣: ٧٧-٨٠.

٢٨- Kolberg, J., Michaelsen T.E., Wedege E. & H.E. Heier.(١٩٨٨). Reactivity with legume lectins of three monoclonal antibodies made against the *Lathyrus odoratus* lectin. J. Biol. Chem. Hoppe-Seyler, ٣٦٩: ٣٦٥-٣٧٠.

٢٩- Konami, Y., Yamamoto K. & Osawa T. (١٩٩١). The primary structures of two type of the *Ulex europaeus* seed lectin. J. Biochem., ١٠٩: ٦٥٠-٦٥٨.

٣٠- Kornfeld, S. (١٩٩٢). Structure and function of the mannose ٦-phosphate/ insulin like grown factor II receptors. Anal. Rev. Biochem., ٦١: ٣٠٧-٣٣٠.

٣١- Lis, H. & Sharon N. (١٩٨٦). Lectins as molecules and as tools. Anal. Kev. Biochem., ٥٥: ٣٥-٦٧.

٣٢- Loris, R., Greve H.D., Dao-Thi M., Messens J., Imberty A. & Wyns L. (٢٠٠٠). Structural basis of carbohydrate recognition by lectin ١١ from *Ulex europaeus*, a protein with a promiscuous carbohydrate-binding site. J. Mol. Biol., ٣٠١: ٩٨٧-١٠٠٢.

٣٣- Macfaddin, J.E. (٢٠٠٠). Individual biochemical tests. In: Biochemical test for identification of medical bacteria. (٣rd ed.), Macffadden, J.E. (ed.), p: ٢٧-٤٣٩. Lioncott Williams & Wilkins Co., Baltimore, U.S.A.

٣٤- Maliarik, M.J. & Goldstein I.J. (١٩٨٨). Photoaffinity labeling of the adenine binding site of the lectins from Lima bean, *Phaseolus lunatus* and the kidney bean, *Phaseolus vulgaris*. J. Biol. Chem., ٢٦٣: ١١٢٧٤-١١٢٧٩.

٣٥- McCoy, J.J., Mann B.J. & Petri W.A.Jr. (١٩٩٤). Adherence and cytotoxicity of *Entamoeba histolytica* or how lectins let parasites stick around. Infect. Immun., ٦٢: ٣٠٤٥-٣٠٥٠.

٣٦- Ofek, I., Lis H. & Sharon N. (١٩٨٥). Animal Cell surface membranes. In: Bacterial adhesion. D.C. Savage (ed.), pp: ٧١-٨٨. Plenum Press, New York, NY.

٣٧- Ofek, I. & Sharon N. (١٩٨٠). Lectinophagocytosis: a molecular mechanism of recognition between cell surface sugars and lectins in the phagocytosis of bacteria. Infect. Immun., ٥٦: ٥٣٩-٥٤٧.

٣٨- Ozeki, Y., Matsui T., Suzuki M. & Titani K. (١٩٩١). Amino acid sequence and molecular characterization of a D-galactoside-specific lectin purified from sea urchin (*Anthocidaris crassispina*) eggs. Biolog. Chem., ٣٠: ٢٣٩١-٢٣٩٤.

٣٩- Ray, S. & Chatterjee B.P. (١٩٩٥). Saracin: a lectin from *Saraca indica* seed integument recognizes complex carbohydrates. Phytochem., ٤٠(٣): ٦٤٣-٦٤٩.

٤٠- Raychoudhury, S.S., Suarez S.S. & Buhi W.C. (١٩٩٣). Distribution of lectin binding sites in the oviducts of cycling and hormone-treated pigs. J. Exp. Zool., ٢٦٥: ٦٥٩-٦٦٨.

٤١- Roberts, D.D. & Goldstein I.J. (١٩٨٣). Adenine binding sites of the lectin

from Lima beans (*Phaseolus lunatus*). J. Biol. Chem., ٢٥٨: ١٣٨٢٠-١٣٨٢٤.

٤٢- Sharon, N. (١٩٧٦). Lectins as mitogens. In: Mitogens in immunology. Oppenheim J.J. & Rosenstreich D.L. (eds.), p: ٣١-٤١. Academic Press, New York.

٤٣- Sharon, N. (١٩٨٤). Surface carbohydrates and surface lectins are recognition determinants in phagocytesis. Immunol. Today, ٥: ١٤٣-١٤٩.

٤٤- Sharon, N. (١٩٨٦). Bacterial lectins, cell-cell recognition and infectious disease. FEMS Microbiol. Lett., ٢١٧: ١٤٥-١٥٧.

٤٥- Sharon, N. (١٩٩٣). Lectin-carbohydrate complexes of plants and animals: anatomic view. Trends Bioche. Sci., ١٨: ٢٢١-٢٢٦.

٤٦- Sheeler, P. & Bianchi D.E. (١٩٨٣). Cell biology. (٢nd ed.), p: ٣٤٣-٣٤٤. John Wiley and Sons, Inc. New York.

٤٧- Shnawa, I.M.S. (٢٠٠١). Separation and functional characterization of five plant seed lectins. Natl. J. Chem., ٤: ٥٩٥-٦٠٦.

٤٨- Sollid, L.M., Kolberg J., Scott H., J.EK, Fausa O. & Brandtzaeg P. (١٩٨٦). Antibodies to wheat germ agglutinin in coeliac disease. Clin. Exp. Immunol., ٦٣: ٩٥-١٠٠.

٤٩- Stossel, T.P. (١٩٧٤a). Phagocytosis. New England J. Medicine, ٩٠: ٨٣٣-٨٣٩.

٥٠- Stossel, T.P. (١٩٧٤b). Phagocytosis. New England J. Medicine, ٩٠: ٧٧٤-٧٨٠.

٥١- Stossel, T.P. (١٩٧٤c). Phagocytosis. New England J. Medicine, ٩٠: ٧١٧-٧٢٣.

٥٢- Suseelan, K.N., Bhatia C.R. & Mitra R. (١٩٩٧a). Characteristics of two major lectins from mungbean (*Vigna radiata*) seeds. Plant Foods Human Nutr., ٥٠: ٢١١-٢٢٢.

٥٣- Suseelan, K.N., Bhatia C.R. & Mitra R. (١٩٩٧b). Purification and characterization of two major lectins from *Vigna mungo* (Blackgram). J. Biosci., ٢ (٤): ٤٣٩-٤٥٥.

٥٤- Suseelan, K.N. & Mitra R. (٢٠٠١). Purification and characterization of a hemagglutinin isolated from the leaves of *Chenopodium* (*Chenopodium amaranticolor*). Ind. J. Biochem. Biophys., ٣٨: ١٨٦-١٩٢.

٥٥- Tennet, G.A. & Pepys M.B. (١٩٩٤). Glycobiology of the pentraxins. Bioche. Soc. Transactions, ٢٢: ٧٤-٧٩.

٥٦- Wang, H., T.B.NG & Ooi, V.E.C.. (١٩٩٨). Lectins from mushrooms. Mycol. Res., ١٠٢ (٨): ٨٩٧-٩٠٦.

٥٧- Weis, W.I. (١٩٩٤). Lectins on a roll: the structure of E-selectin. Structure, ٢: ١٤٧-١٥٠.

٥٨- Weis, W.I., Drickamer K. & Hendrickson W.A. (١٩٩٢). Structure of a C-type mannose-binding protein complexed with an oligosaccharide. Nature, ٣٦٠: ١٢٧-١٣٤.

## المصادر العربية


١- السعد ، مها رؤوف والزبيدي ، طارق. (١٩٩١). علم المناعة. ص: ١٢٨-١٣٠. الطبعة الثانية، مطبعة جامعة بغداد، بغداد .

٢- الجبوري ، سماح أحمد كاظم . (٢٠٠٣) . التحوير المناعي التجريبي المحدث ببعض الأدوية والمواد الكيمياوية في الأرانب . رسالة ماجستير ، قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة بابل ، العراق .

٣- الشهابي ، مصطفى. (١٩٨٨). معجم الشهابي في مصطلحات العلوم الزراعية. الطبعة الثالثة ، مكتبة لبنان ، ساحة رياض الصلح، بيروت.