الفعالية الحيوية للكتين جنين الحنطة

إيناس مظفر العبادي* محمد عمر محي الدين* علي عبد الرحمن طه**

الملخص

تم في هذا البحث دراسة الفعالية الحيوية للكتين جنين الحنطة المنقى وأظهرت نتائج الدراسة ان للكتين القدرة على ملازنة كريات الدم الحمر البشرية السليمة إذ تراوحت عيارية التلازن للكتين مع الفصائل الأربعة لكريات الدم الحمر البشرية السليمة بين 16–32، إلا أن مدى عيارية التلازن ارتفع ما بين 64–128 عند معاملة الفصائل الأربعة لكريات الدم بانزيم التربسين.

لوحظ ان قدرة اللكتين على ملازنة كريات الدم لحيوانات مختلفة شملت البقر والماعز والغنم والدجاج كانت اقل مقارنة مع عيارية التلازن للكتين مع كريات الدم البشرية.

اظهر اللكتين قدرة على ملازنة البكتريا الموجبة لصبغة كرام المتمثلة بالأجناس *Bacillus* sp. و *Arthrobacter* sp. و *Brevibacterium* sp. و *Staphylococcuss aureus* مع تفوق واضح في الفعالية التلازنية مع البكتريا الأخيرة. ولوحظ ان الفعالية التلازنية للكتين مع البكتريا السالبة لصبغة كرام التي تمثلت بنوعي البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* و *Salmonella typhi* كانت ضعيفة مقارنة مع البكتريا الموجبة لصبغة كرام وذلك بطريقة الشريحة الزجاجية.

امتلك اللكتين فعالية مضادة لنمو بعض الفطريات الخيطية التي تنتمي لصنف Zygomycetes تمثلت بالعفن *Rhizopus stolonifer* وصنف Deuteromycetes شملت *Aspergillus* sp. و *Aspergillus terreus* و *Fusarium moniliform*.

المقدمة

على الرغم من اكتشاف اللكتينات في بذور النباتات قبل اكثر من قرن من الزمان، إلا ان تلك البروتينات الملازنة للخلايا والمتخصصة تجاه الكربوهيدرات لم تصبح محط اهتمام بالغ إلا في أواخر الستينيات من القرن العشرين بسبب قابليتها على الارتباط بالكربوهيدرات الموجودة في سطح الخلايا المختلفة (27).

عرف اللكتين على انه بروتين سكري (Glycoprotein) بروتين أو رابط للكربوهيدرات من اصل غير مناعي يسبب تلازن أو ترسب المركبات المحتوية على الكربوهيدرات (24). أن قدرة اللكتينات على الارتباط بشكل متخصص وعكسي بالكربوهيدرات، جعل منها أدوات بالغة الأهمية استثمرت في عدد من المجالات المختلفة فقد استخدمت كمجسات Probs لدراسة أغشية أنواع عديدة من الخلايا. وأدى توفر عدد من اللكتينات المنقاة والمعروفة التخصص إلى تبنيها في تقنية كروماتوكرافيا الألفة لتنقية المقترنات السكرية (7). واستخدمت في تشخيص خلايا الأحياء المجهرية (12). كما ان حقيقة حدوث تغيرات في المحتوى الكربوهيدراتي للأغشية الخلوية في أثناء تطور الأورام السرطانية ولد فكرة استخدام اللكتينات في الأبحاث الخاصة في إيجاد طرائق جديدة لتشخيص تلك الأورام وعلاجها (15). واستخدمت اللكتينات في تنميط الدم والدراسات التركيبية للمواد ومجموعات الدم وتشخيص الأنواع الجديدة من الدم (25) .

جزء من اطروحة دكتوراه للباحث الأول.

* كلية الزراعة- جامعة بغداد –بغداد، العراق.

**مركز بحوث التقانات الاحيائية – جامعة النهرين– بغداد، العراق.

يوحي توزيع اللكتينات بشكل واسع في المملكة النباتية وغزارته في العديد من النباتات إلى الأهمية الفسيولوجية لتلك الجزيئات بالنسبة للنبات إذ إنها قد تعمل أجساما مضادة لحماية النباتات تجاه البكتريا الضارة في التربة وقد تؤدي اللكتينات دورا مهما بوصفها محفزات مايتوجينية لخلايا النبات الجنينية وتعد اللكتينات غذاء مخزونا في النبات وينسجم موقع اللكتينات ضمن الخلية في الأجسام البروتينية مع تلك الأدوار (**14**).

يعد لكتين جنين الحنطة والذي يعرف بتسمية شائعة **Wheat germ agglutinin (WGA)** أحد أفراد لكتينات العائلة النجيلية وقد درس توزيع اللكتينات وتطورها وموقعها بشكل موسع في الحنطة. ووجد **Mishkind** وجماعته (**22**) ان لكتين الحنطة يوجد بكميات قليلة نسبيا في الحبوب الجافة، بخلاف الكميات الكبيرة من اللكتين الموجودة في حبوب البقوليات.

أشار **Mirelman** وجماعته (**21**) إلى ان تركيز اللكتين في الطبقات السطحية للجنين قد يوحي بالدور المحتمل لذلك اللكتين في حماية النبات تجاه مهاجمة الفطريات وضد الأمراض الفطرية.

وبسبب الأهمية المتزايدة للكتين في التطبيقات التشخيصية ولارتفاع ثمن المستورد منه، إذ يعد لكتين جنين الحنطة أحد اللكتينات الباهضة الثمن، ونظرا الى افتقار المنطقة العربية وخاصة العراق إلى مثل هذا النوع من الدراسات وللحاجة الماسة إلى مثل هذه التطبيقات وخاصة فيما يتعلق بالإفادة من نواتج تصنيع الحنطة بوصفها مادة خام يمكن الإفادة منها في هذا المجال الحيوي، فقد وقع الاختيار على مخلفات المطاحن من جنين الحنطة الذي يعزل في بعض مطاحن العراق بشكل أكثر نقاوة عن النخالة، بهدف تنقية اللكتين منه وجاء هذا البحث مكملا لأبحاث سابقة (**2**، **4**) بهدف دراسة الفعالية الحيوية للكتين جنين الحنطة وإمكانية اعتماده أداة مهمة في حقل البحوث الحيوية عن طريق استخدامه وسيلة تشخيصية في الكيمياء الحياتية وفي مجالات المناعة وعلم الأحياء المجهرية والمجالات الأخرى ذات الصلة.

مواد وطرائق البحث

تهيئة مسحوق جنين الحنطة

تم الحصول على جنين الحنطة من الشركة العامة لتصنيع الحبوب/مطحنة الدورة/بغداد إذ استخدم بوصفه مصدرا للكتين وجرى طحنه وغربلته في طاحونة كهربائية مختبرية للحصول على مسحوق ناعم حفظ في أكياس بولي اثيلين جافة ونظيفة ومحكمة الإغلاق بدرجة حرارة – **18** م لحين الاستخدام.

استخلاص اللكتين وتنقيته

حضر مستخلص اللكتين بعد ازالة الدهن من جنين الحنطة بالهبتان ثم استخلاص اللكتين بمحلول **0.05** مولار حامض الهيدروكلوريك ونقي المستخلص الحامضي بسلسلة من الخطوات تضمنت تركيز اللكتين بالترشيح الفائق وكروماتوكرافيا التبادل الأيوني بأسلوب الوجبة باستخدام المبادل **DEAE-Cellulose** وكروماتوكرافيا الألفة بعمود الكايتين المحضر مختبريا من مخلفات الروبيان بأبعاد (**2.5**×**48** سم) وفق الطريقة المذكورة تفاصيلها في العبادي (**2**)، وتم التأكد من نقاوة اللكتين بظهوره حزمة واحدة عند ترحيله كهربائيا في هلام متعدد الاكريلامايد بظروف ماسخة **SDS-PAGE** تبعا للطريقة الموصوفة من قبل **Garfin** (**16**).

فعالية اللكتين في ملازنة البكتيريا

العزلات البكتيرية

اختبر تأثير اللكتين في تلازن عدد من العزلات البكتيرية الموجبة شملت ***Stapylococcus aureus*** و ***Bacillus* sp.** و ***Arthrobacter* sp.** و ***Brevibacterium* sp.** وبكتريا سالبة لصبغة كرام وهي

Pseudomonas aeruginosa و*Salmonella typhi* التي أمكن الحصول عليها من قسم علوم الحياة في كلية العلوم – جامعة بغداد.

تحضير عالق الخلايا البكتيرية الكاملة

نميت العزلات البكتيرية على الوسط الغذائي السائل **Nutrient broth** وحضنت بدرجة حرارة **37** م لمدة **18** ساعة، ثم نبذت المزارع السائلة مركزيا بسرعة **g ×3000** لمدة **10** دقائق وغسلت الخلايا المترسبة بإضافة **3** مل من محلول فوسفات الصوديوم الدارئ **Phosphate Buffer Saline (PBS)** بتركيز **0.01** مولار الحاوي على كلوريد الصوديوم بتركيز **0.15** مولار ذي أس هيدروجيني **6.8** وتمت عملية النبذ المركزي بالأسلوب نفسه وكررت العملية مرتين مع إهمال الرائق في كل مرة. ثم علقت الخلايا بمحلول **PBS** إذ بلغت قيمة الامتصاصية باستخدام المطياف الضوئي على طول موجي **550** نانومتر بحدود **0.9** ، وتم تصفير الجهاز بمحلول **PBS**.

طريقة التلازن باستخدام الشريحة الزجاجية (Slide agglutination test)

اجري فحص التلازن على سطح شريحة زجاجية وفقا للطريقة التي ذكرها **Aabenhus** وجماعته (**5**) بمزج **20** مايكرولتر من عالق الخلايا البكتيرية الكاملة مع **10** مايكرولتر من محلول لكتين جنين الحنطة بتركيز **0.5** ملغم / مل وتم إمالة الشريحة بلطف وقيمت النتائج بالمعاينة البصرية بملاحظة سرعة تلازن الخلايا وشدتها بعد مرور خمس دقائق وقورنت النتيجة مع نموذج السيطرة إذ مزج **20** مايكرولتر من عالق الخلايا البكتيرية مع **10** مايكرولتر من محلول **PBS** .

اختبار حفر المعيار الدقيق (Microtiter well assay)

مزج **50** مايكرولتر من عالق الخلايا البكتيرية الكاملة مع **15** مايكرولتر من محلول لكتين جنين الحنطة قيد الاختبار في حفر المعيار الدقيق ذات قاعدة بشكل حرف **U (U-shaped)** لمدة خمس ثوان وترك ليركد لغاية اليوم التالي بدون تحريك بدرجة حرارة **20** م وقورنت النتائج مع معاملة السيطرة التي أنجزت بمزج **50** مايكرولتر من عالق الخلايا البكتيرية مع **15** مايكرولتر من **PBS**. وقيمت النتائج بالملاحظة البصرية وسجلت النتيجة الموجبة من ملاحظة تكون بساط **carpet** من المخلفات الخلوية المتجمعة بشكل نقطة في أسفل الحفرة في حين سجلت النتيجة السالبة بملاحظة تكون تجمع من الخلايا المترسبة في أسفل الحفرة. وتم التحقق من النتائج السالبة بإمالة الحفر بزاوية أكثر من **45** °وملاحظة حركة المخلفات الخلوية (**5**) .

طريقة الطيف الضوئي (Spectrophotometric method)

اتبعت الطريقة التي ذكرتها الدوري (**1**) إذ استخدمت العزلة البكتيرية ***Staph. aureus*** التي أعطت افضل قوة تلازنية مع لكتين جنين الحنطة وحضرت منها تخافيف مضاعفة(**1/2** و**1/4** و **1/8** و**1/16** و**1/32** و**1/64**) باستخدام محلول فوسفات الصوديوم الدارئ **PBS**. وضع **1.5** مل من كل تخفيف في أنابيب اختبار وأضيف إليه **0.5** مل من محلول اللكتين حضنت الأنابيب جميعها بدرجة حرارة **20** م لمدة **1.5**ساعة ومن ضمنها أنبوب السيطرة لكل تخفيف يحتوي على البكتريا دون اللكتين إذ استبدل بمحلول **PBS**. قيست امتصاصية الجزء العلوي المنفصل لكل أنبوب على طول موجي **600** نانومتر واستخدم **PBS** كمحلول كفء **(Blank)**.

فعالية اللكتين في تثبيط نمو الفطريات الخيطية

استخدم عدد من العزلات الفطرية العائدة لمجموعتين تصنيفيتين مختلفتين هما **Zygomycetes** تمثلت بالنوعين ***Rhizopus stolonifer*** و**Deteromycetes** شملت ***Fusarium moniliform*** و ***Aspergillus terreus*** و ***Aspergillus* sp.** . وتم الحصول عليها من كلية الزراعة– جامعة بغداد. ونميت العزلات المختلفة بدرجة

حرارة 28 م لمدة 7 أيام. استخدمت طريقة الانتشار في الحفر Well diffusion إذ نشر 1مل من عالق الابواغ الفطرية في أطباق بتري معقمة حاوية على الوسط الغذائي PDA استعملت ماصة باستور معقمة لعمل ثقوب بقطر0.5 سم في الوسط الغذائي، ملئت الحفر بمقدار100 مايكرولتر من محلول لكتين جنين الحنطة بتركيز 30 ملغم / مل. حضنت الأطباق بدرجة حرارة 28 م لمدة 7 أيام ثم قيس قطر منطقة التثبيط (Inhibition zone) أو الهالة المحيطة بالحفرة والخالية من النمو الفطري التي يتناسب قطرها طرديا مع الفعالية التثبيطية للكتين.

النتائج والمناقشة

فعالية اللكتين تجاه فصائل كريات الدم الحمر البشرية السليمة و المعاملة بالتربسين

يوضح جدول (1) فعالية التلازن الدموي للكتين جنين الحنطة تجاه عالق كريات الدم الحمر البشرية السليمة إذ بلغت 32، 16، 32 و32 للفصائل A^+ ،B^+ ،AB^+ وO^+ على التوالي. يتضح من تلك النتائج ان لكتين جنين الحنطة، كما هو الحال مع العديد من اللكتينات، انه لم يكن متخصصا تجاه فصيلة معينة من فصائل الدم البشري وتؤكد هذه النتيجة ما ذكره Wu وجماعته (29) من ان هذا الملازن غير متخصص تجاه مجموعة ما من مجموعات الدم البشري.

جدول 1: فعالية التلازن الدموي للكتين جنين الحنطة تجاه فصائل كريات الدم الحمر البشرية السليمة

فصيلة الدم	عيارية التلازن الدموي
A^+	32
B^+	16
AB^+	32
O^+	32

ويعلل حدوث التلازن الدموي للكتين جنين الحنطة مع فصائل الدم البشري بعاملين رئيسين ، أحدهما يعود لارتباط اللكتين بمستقبلات خلايا سطح الدم المتمثلة بالكلايكوفورين glycophorin وتؤدي الوحدات الطرفية غير المختزلة N-acetylnuraminic acid (NeuNAc) في البروتينات السكرية واللبيدات السكرية (glycolipid) دورا مهما في الارتباط وبشكل اقل من وحدات N-acetylglucosamine (GlcNAc) الداخلية، ومما يلفت الانتباه إلى دور مجموعة N-acetyl في ارتباط اللكتين بكل من GlcNAc وNeuNAc هو للتشابه التركيبي بينهما (8). ويتعلق السبب الأخر بتأثير الشحنة الكهربائية، نظرا الى ان اللكتين المنقى هو بروتين قاعدي يمتلك نقطة تعادل كهربائي مقدارها 8.7 (4) عليه فان من المرجح ان الشحنة الموجبة تؤثر بطريقة إيجابية في الارتباط المتخصص للكتين مع NeuNAc ذي الشحنة السالبة، إذ وجد ان الشكل المحور للكتين Succinylated WGA الذي يحمل شحنة سالبة لا يتمكن من الارتباط بالمقترنات الموجودة في سطح الخلية والحاوية على NeuNAc خلافا للكتين الطبيعي الذي يحمل شحنة موجبة (23).

يوضح جدول (2) ان معاملة كريات الدم الحمر البشرية السليمة بانزيم التربسين تؤدي إلى ارتفاع فعالية التلازن الدموي تجاه فصائل كريات الدم الحمر إذ بلغت 128 ، 64 ، 64 و64 للفصائل A^+ ،B^+ ،AB^+ وO^+ على التوالي.

وقد يعود السبب في زيادة الفعالية التلازنية إلى ان معاملة كريات الدم بالبروتييزات تؤدي إلى إزالة ببتيدات أو ببتيدة سكرية في سطح الخلية كانت تمنع الخلايا من التقارب مع بعضها بشكل يسمح بتكوين ارتباطات عرضية

جدول 2: فعالية التلازن الدموي تجاه فصائل كريات الدم الحمر البشرية المعاملة بانزيم التربسين

فصيلة الدم	عيارية التلازن الدموي
A^+	128
B^+	64
AB^+	64
O^+	64

"cross linking"بوساطة جزيئات اللكتين أو خفض مقدار الشحنة السطحية السالبة (صافي الشحنة السالبة)، وتعد وحدات حامض السياليك مسؤولة عن معظم الشحنة السالبة على سطح الخلية (26) أو ان تلك المعاملة تؤدي إلى تكشف مستقبلات جديدة على سطح الكرية الحمراء أو إزالة مجموعة آلفة للماء (هيدروفيلية) منها (17).

وتؤدي البروتييزات Proteases التي استخدمت بنجاح في علم Blood group serology دورا مهما في تسببها بزيادة حساسية كريات الدم الحمر للتلازن عند معاملتها بتلك الانزيمات المحللة للبروتين proteolytic enzymes، وعلى الرغم من شيوع استخدام البروتييزات إلا ان الانزيمات المحللة للكلايكوسيدات استخدمت أيضا بمفردها لهذا الغرض مثل انزيم Neuraminidase (Sialidase) أو جنبا إلى جنب مع البروتييزات، وتعمل تلك البروتييزات على شطر البروتينات في مواقع محددة ضمن السلسلة البتيدية المكونة للبروتين مما يسبب زيادة الفعالية التلازنية (28).

فعالية اللكتين تجاه كريات الدم الحمر للحيوانات

يبين جدول (3) ان لكتين جنين الحنطة المنقى في هذه الدراسة ذي قدرة تلازن مع كريات الدم الحمر للبقر والماعز والغنم والدجاج إذ كان معيار التلازن الدموي 16 فيما أبدى فعالية تلازنية ضعيفة تجاه دم الدجاج إذ بلغ معيار التلازن الدموي 4.

جدول 3: فعالية التلازن الدموي للكتين جنين الحنطة تجاه كريات الدم الحمر لحيوانات مختلفة

نوع الدم	عيارية التلازن الدموي
بقر	16
ماعز	16
غنم	16
دجاج	4

وتشير الأبحاث إلى تباين اللكتينات في قدرتها على ملازنة كريات الدم الحيوانية ويعزى ذلك إلى سببين أساسيين الأول يتعلق بخلايا الدم الحمر نفسها إذ تختلف المستقبلات الموجودة في أغشية كريات الدم تبعا لمصدرها فضلا عن معاملتها بالانزيمات المحللة للبروتييز أو انزيم النيوامنيديز.

ويعود الأمر الأخر المؤثر في تباين الفعالية التلازنية إلى نوع اللكتين إذ تختلف المواقع الفعالة الرابطة للسكر في جزيئة اللكتين على وفق تسلسل الحوامض الأمينية المكونة لها، كما يؤثر تركيز اللكتين وظروف فصله زيادة في العوامل الأخرى مثل ظروف التفاعل ونسب المواد المتفاعلة في فعالية اللكتين. كما يتطلب حدوث تفاعل التلازن لبعض اللكتينات توفر أيونات المعادن مثل Ca^{+2} و/أو Mn^{+2} كما هو الحال مع لكتينات العائلة البقولية (11،19).

نستنتج من نتائج التلازن الدموي للكتين المنقى مع دم الغنم والماعز فضلا عن نتائج التلازن الدموي مع كريات الدم الحمر البشرية A^+ وO^+ قدرة اللكتين على الارتباط مع NeuNAc، نظرا الى امتلاكها نسبة عالية من وحدات

NeuNAc (13). ويحدث الارتباط المتخصص للكتين جنين الحنطة مع NeuNAc نظرا الى التشابه التركيبي بين NeuNAc وGlcNAc (23).

من جانب أخر بينت أبحاث سابقة ان لكتين جنين الحنطة يتمكن من ملازنة كريات الدم الحمر للحصان والأرنب بتركيز 10 مكغم/مل (23،9) لامتلاكهما محتوى عاليا من 4-*O*-AC-Neu Ac و 9-*O*-AC-Neu Ac على التوالي (13).

ونظرا الى التباين استجابة اللكتين للارتباط بالدم من مصادر مختلفة عليه يمكن القول ان التحري عن وجود اللكتينات في مستخلص ما يجب ان يتضمن استخدام كريات دم من مصادر مختلفة قبل معاملتها بانزيمات محللة للبروتين وبعده. وان تباين الفعالية التلازنية للكتينات تجاه كريات الدم من مصادر مختلفة يدل على وجود تباين في تركيب المستقبلات على سطوحها مما يؤكد أهمية استخدام اللكتينات بوصفها أدوات مهمة للتحري عن تركيب تلك المستقبلات.

فعالية اللكتين في ملازنة البكتريا

يوضح جدول (4) فعالية اللكتين في ملازنة البكتريا بطريقة الشريحة الزجاجية التي سجلت نتائجها بمقارنة مقدار الترسب الناتج جراء تلازن اللكتين مع أنواع البكتريا المختلفة وكما هو موضح في شكل (1) ويلاحظ من جدول (4) ان الفعالية التلازنية للكتين اختلفت باختلاف البكتريا. وكانت فعالية التلازن عالية تجاه البكتريا الموجبة لصبغة كرام *Staphylococcus aureus* تلتها البكتريا *Bacillus* sp. و*Arthrobacter* sp. و*Brevibacterium* sp. على التوالي. إلا ان البكتريا السالبة لصبغة كرام *Pseudomonas aeruginosa* و*Sallmonella typhi* كانت اقل شدة في قابليتها التلازنية مع اللكتين وتأكد هذا الضعف في تلازن اللكتين مع البكتريا السالبة لصبغة كرام بطريقة أطباق المعيار الدقيق وكما هو موضح في جدول (4) إذ لوحظ ترسب البكتريا بشكل نقطة في قعر حفر أطباق المعيار الدقيق.

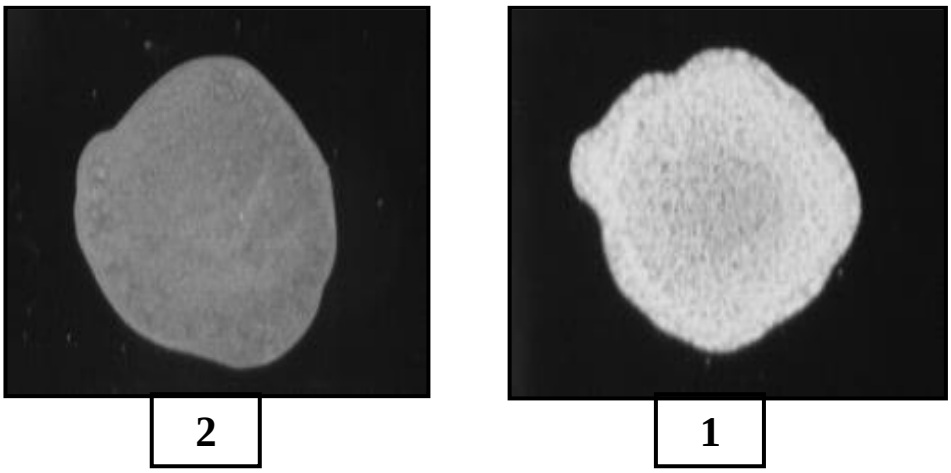
ويوضح الشكلان (3،2) تأثير لكتين جنين الحنطة في ملازنة بكتريا *Arthrobacter* sp. و *Bacillus* sp.على التوالي تحت المجهر الضوئي المركب وتظهر في الشكلين خلايا بكتيرية متكتلة بوجود اللكتين.

جدول 4: فعالية لكتين جنين الحنطة في ملازنة أنواع من البكتريا

اسم البكتريا	قوة التلازن بطريقة * الشريحة الزجاجية	قوة التلازن بطريقة أطباق المعيار الدقيق
بكتريا موجبة لصبغة كرام		
Staphylococcus aureus	++++	+
Bacillus sp.	+++	+
Arthrobacter sp.	++	+
Brevibacterium sp.	++	+
بكتريا سالبة لصبغة كرام		
Pseudomonas aeruginosa	+	−
Sallmonella typhi	+	−

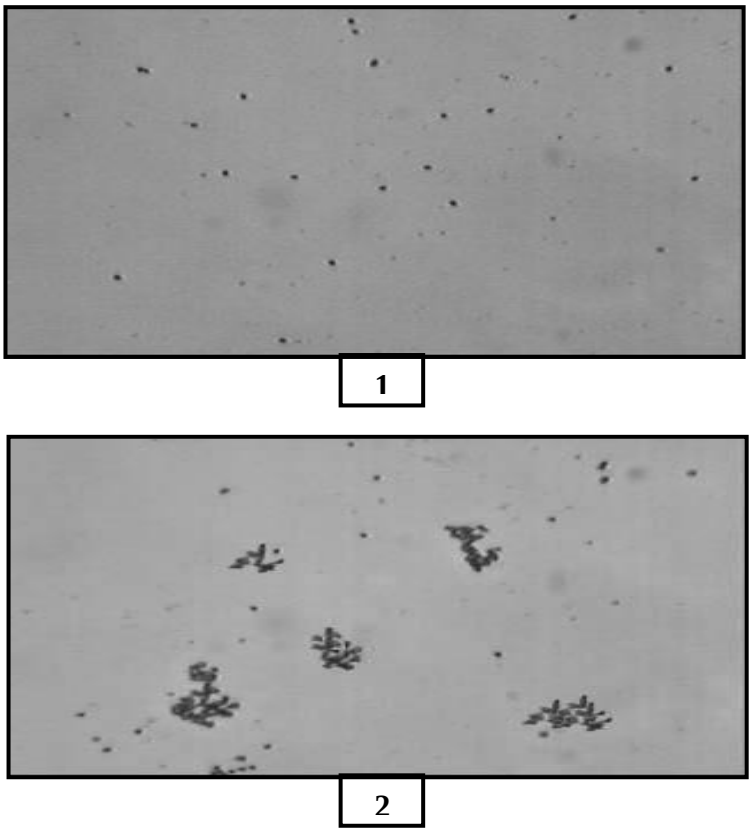
العلامة (+) تمثل وجود التلازن . وزيادة العلامات يدل على زيادة قوة التلازن.

العلامة (−) تمثل عدم حدوث التلازن.



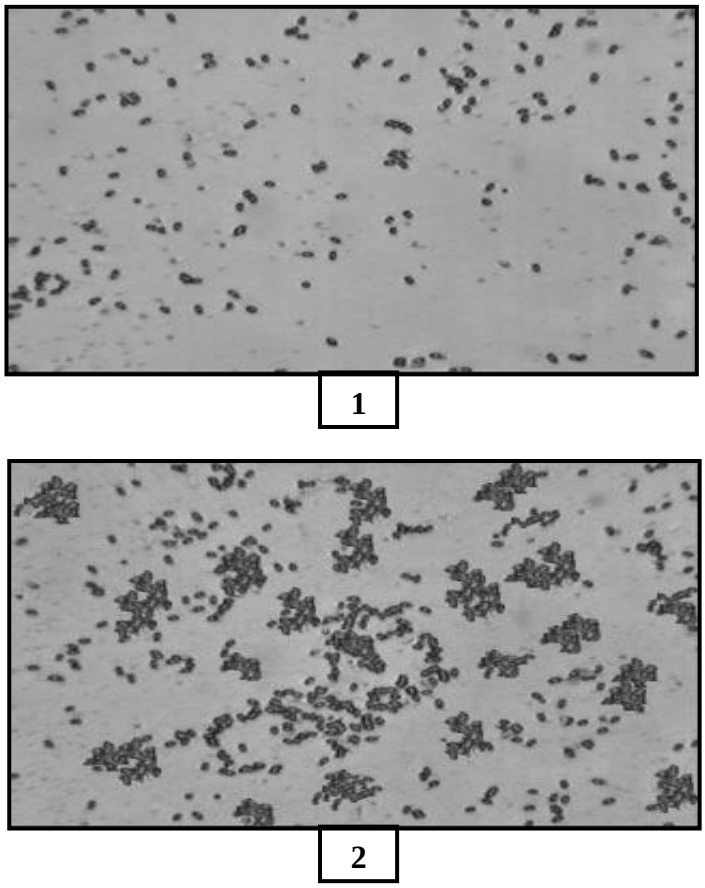
شكل 1: تأثير لكتين جنين الحنطة في ملازنة الخلايا البكتيرية بطريقة الشريحة الزجاجية.

1- بكتيريا متكتلة بوجود اللكتين 2- معاملة سيطرة خالية من اللكتين



شكل 2: تأثير لكتين جنين الحنطة في ملازنة بكتريا ***Arthrobacter* sp.** مشاهدة تحت المجهر الضوئي المركب بقوة تكبير **400X**.

1- معاملة سيطرة خالية من اللكتين. 2- بكتيريا متكتلة بوجود اللكتين

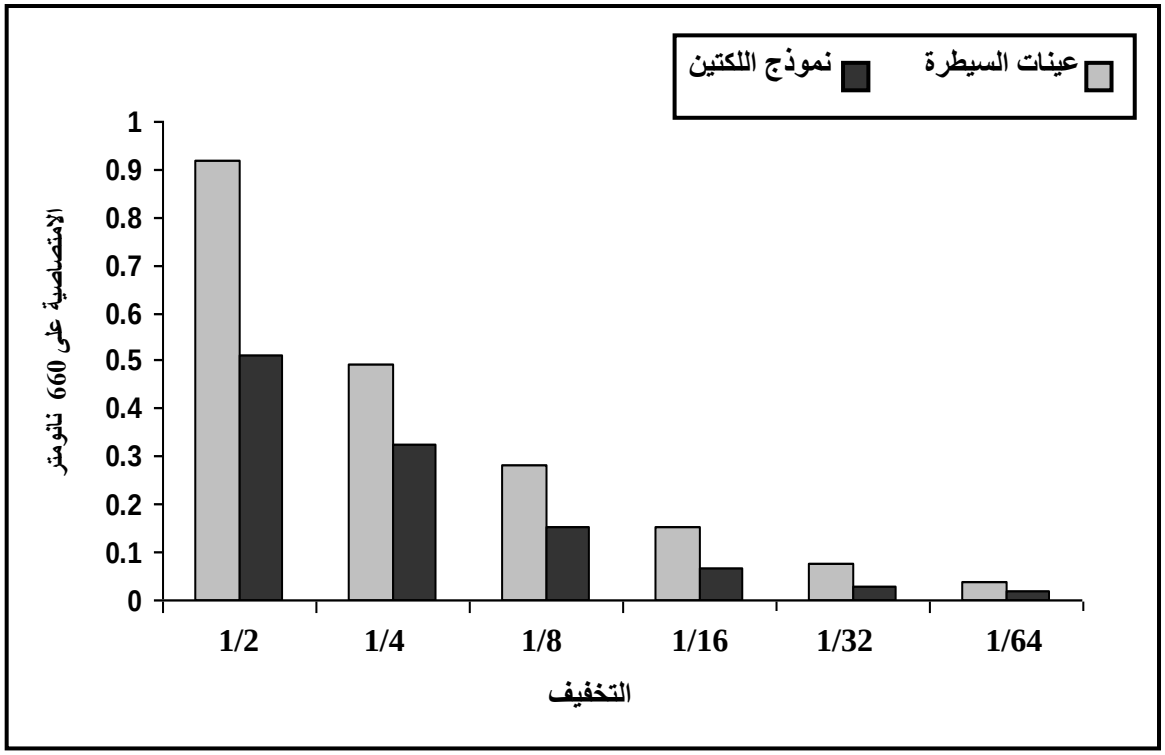


شكل 3: تأثير لكتين جنين الحنطة في ملازنة بكتريا *Bacillus* sp. مشاهدة تحت المجهر الضوئي بقوة تكبير 400X.
1- معاملة سيطرة خالية من اللكتين. 2- بكتيريا متكتلة بوجود اللكتين.

ويعزى الاختلاف في فعالية تلازن اللكتين مع الأنواع المختلفة من البكتريا إلى تأثير آليتين مختلفتين هما اختلاف عدد مواقع ارتباط اللكتين المتمثلة بمجموعات GlcNAc الموجودة ضمن تراكيب بوليمرات الجدار الخلوي، والى طبيعة الشحنات الموجودة على اللكتين وطبيعتها على بعض مكونات جدار الخلية في ظروف التفاعل. إذ تبين ان لكتين جنين الحنطة هو بروتين قاعدي يمتلك نقطة تعادل كهربائي 8.7 (4) مما يرجح فرضية ارتباطه ببوليمرات ذات شحنات سالبة في جدار الخلية البكتيرية مثل Techoic acid وTechuronic acid لاسيما في جدار البكتريا الموجبة لصبغة كرام. هذا من جانب ومن جانب اخر فان التركيب الكيميائي لجدار البكتريا يتسم بدرجة عالية من التعقيد ويعد الببتيدوكلايكان من أهم المكونات الكيميائية لجدار البكتريا إذ يتالف من وحدات متبادلة لنوعين من الكربوهيدرات الامينية هما GlcNAc وN-acetylmuramic acid (MurNAc) (20). بيد ان عدد طبقات الببتيدوكلايكان في الجدار الخلوي للبكتريا السالبة لصبغة كرام لا يتجاوز طبقة أو طبقتين تشكل 20% من الجدار تحيط بها من الخارج طبقات غنية بالمواد الدهنية التي يحتمل إنها تعمل على إعاقة ارتباط اللكتين ببوليمرات الببتيدوكلايكان، وبالمقابل يتألف جدار البكتريا الموجبة لصبغة كرام من طبقات عدة من الببتيدوكلايكان تشكل بحدود 90% من الجدار وينفرد بارتباطه بجزيئات حامض التكويك مما يفسر شدة تلازن اللكتين مع البكتريا الموجبة لصبغة كرام مقارنة مع البكتريا السالبة (3).

يوضح شكل (4) ان شدة متلازنات البكتريا مع اللكتين تشهد انخفاضا مع انخفاض تركيز البكتريا مما يدل على ان تفاعل التلازن هو علاقة كمية بين اللكتين وبين عدد المستقبلات الموجودة على سطوح خلايا البكتريا ***Staphylococcus aureus***.

ويملك لكتين جنين الحنطة قدرة تمييز عالية لأنواع أخرى من بكتريا ***Staphylococcus*** مثل سلالات بكتريا ***Staphylococcus epidermids*** إذ وجد **Jarlov** وجماعته (18) ان تلك السلالات تفاعلت مع اللكتين بنسبة 87.5% مقدرة بطريقة **Lectin –binding assay**.



شكل 4: شدة تلازن لكتين جنين الحنطة المنقى مع بكتريا ***Staphylococcus aureus*** بطريقة المطياف الضوئي.

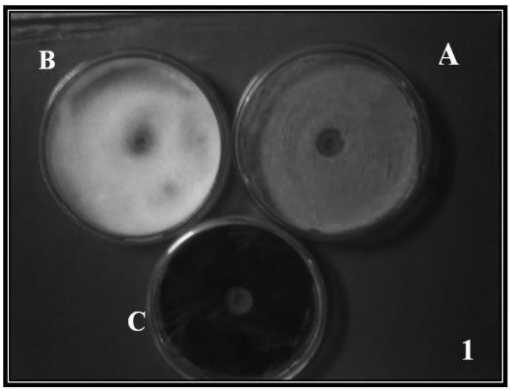
فعالية اللكتين في تثبيط نمو بعض الفطريات الخيطية

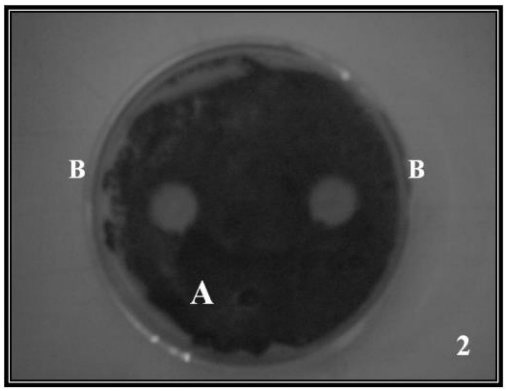
يظهر جدول (5) تأثير لكتين جنين الحنطة المنقى في تثبيط نمو عدد من عزلات الفطريات الخيطية العائدة لمجموعتين تصنيفيتين مختلفتين هما **Zycomycetes** و**Deuteromycetes** وتبين ان اللكتين يمتلك أعلى فعالية تثبيطية تجاه الفطر ***Fusarium moniliform*** تلاه ***Aspergillus terreus*** و***Aspergillus* sp.** فيما امتلك اقل فعالية تجاه ***Rhizopus stolonifer*** كما هو موضح في الشكل (5).

جدول 5: فعالية لكتين جنين الحنطة في تثبيط نموبعض انواع الفطريات الخيطية

الفطريات المختبرة	قطر منطقة التثبيط (ملم)
Zycomycetes	
Rhizopus stolonifer	5
Deuteromycetes	
Aspergillus terreu s	9
***Aspergillus* sp.**	9
Fusarium moniliform	12

ان التثبيط الذي يحدث في عزلات الفطريات الخيطية المختبرة العائدة **Zycomycetes** الممثلة بعفن ***Rhizopus stolonifer*** التي تكون جدران خيوطها الفطرية مؤلفة من **Chitosan-chitin** والفطريات العائدة **Deuteromycetes** المتمثلة بأجناس ***Aspergillus*** و ***Fusarium*** التي تتألف جدران خيوطها الفطرية من **Chitin-β-glucan** قد يعزى إلى ان الكايتين الموجود في حواجز الخيوط الفطرية وقممها يعد متاحا للكتين جنين الحنطة (وهو لكتين يتداخل بشكل متخصص مع **Chitin oligomers**) مما يؤدي إلى تثبيط تصنيع الكايتين ونمو الخيوط الفطرية وإنبات الابواغ، ذلك ان نمو الخيوط الفطرية يحدث نتيجة عمليات معقدة تتضمن تخليق جدار الخلية وامتداده وهي مقتصرة على قمة الخيط الفطري (**6**). وتماثل نتائج هذه التجربة ما وجده **Ciopraga** وجماعته (**10**) من تثبيط نمو ***Fusarium* sp.** بوساطة ذلك اللكتين.





شكل 5: فعالية لكتين جنين الحنطة في تثبيط نمو بعض أنواع الفطريات الخيطية

الصورة **1** (A) ***Aspergillus* sp.** (B) ***Rhizopus stolonifer*** (C) ***Aspergillus terreus***

الصورة **2** (A)معاملة السيطرة (B) تثبيط نمو ***Aspergillus terreus*** بفعل اللكتين (مكرران)

المصادر

1- الدوري، سندس حميد احمد (**1998**). تنقية وتوصيف اللكتينات ذات الأهمية الطبية من بذور بعض النباتات المحلية. اطروحة دكتوراه – كلية العلوم – جامعة بغداد، العراق.

2- العبادي، إيناس مظفر؛ محمد عمر محي الدين وعلي عبد الرحمن طه (**2008**). طريقة مبسطة لتنقية لكتين جنين الحنطة بطريقة كروماتوكرافيا الألفة. مجلة العلوم الزراعية العراقية، **39** (**2**): **44-53**.

3- باقر، عبد الواحد؛ أنيس مالك الراوي؛ فاروق ياس العاني؛ الحان مهدي الصقر؛ لوزان امين علي؛ زكي كوركيس عبد الغني؛ محمد عبد القادر ابراهيم وهدى صالح مهدي (**1989**). البكتريا. (تأليف). وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – جامعة بغداد – مطابع بيت الحكمة، العراق.

4- محي الدين، محمد؛ إيناس مظفر العبادي وعلي عبد الرحمن طه (**2008**). توصيف لكتين جنين الحنطة **Wheat germ lectin**. مجلة العلوم الزراعية العراقية، **39** (**3**):**94-103**.

5- **Aabenhus, R.; S. O. Hynes; H. Permin; A. P. Moran and L. P. Andersen (2002). Lectin typing of *Compylobacter concisus*. J. of Clinical Microbiology, 40(2):715-717.**

6- **Barkai-Golan, R.; D. Mirelman and N. Sharon (1978). Studies on growth inhibition by lectins of *Penicillia* and *Aspergilli*. Arch. Microbiol., 116:119-124.**

7– Beeley, J. G. (1985). Laboratory Techniques. In: Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology (ed. Burdon, R. H. and Knippenberg, P. H.). 16:301-364. Elsevier, New York.

8- Bhavanandan, V. P. and A. W. Katlic (1979). The interaction of wheat germ agglutinin with sialoglycoproteins. The role of sialic acid. J. Biol. Chem., 254(10):4000-4008.

9- Bouchard, P.; Y. Moroux; R. Tixier; J. Privat and M. Monsigny (1976). An improved method for purification of wheat germ agglutinin (lectin) by affinity chromatography. Biochimie., 58:1247-1253.

10- Ciopraga, J.; O. Gozia; R. Tudor; L. Brezuica; R. J. Doyle (1999). *Fusarium* sp. growth inhibtiion by wheat germ agglutinin. Biochem. Biophys. Acta., 1428:424-432.

11- Da Silva, A. L. C.; C. G. Horta and R. D. A. Morerira (2001). Isolation and partial characterization of a lectin from *Bauhinia pentandra* (Bong) Vog. ex. steua., 13 (3): 262-269.

12- Davidson, S. K.; K. F. Keller, and R. J. Doyle (1982). Differenetiation at Coagulase –positive and Coagulase –negative *Staphylococci* by lectins and plant agglutinin. J. Clin. Microbiol., 15:347-553.

13- Denis, M.; P. D. Mercy Palatty; N. Renuka Bai; S. Jeya Suriya (2003). Purification and characterization of a sialic acid specific lectin from the hemolymph of the freshwater crab *paratelphusa jacquemontii.* Eur. J. Biochem., 270:4348-4355.

14- Etzler, M. E. (1986). Plant lectins:Molecular and biological aspects. Ann. Rev. Plant Physiol., 36:209-34.

15- Gabius, H-J. (2001). Eukaryotic glycosylation and lectin:Hardware of the sugar cod (glycocode) in biological information transfer. Biological Information Transfer. 1-18.

16- Garfin, D. E. (1990). Purfication procedures: Electrophoretic Method. In: Method in Enzymology. (ed. Murray, E. D. and Dentscher, P.). 182:425-441.

17- Gilck, J.; N. Garber and D. Shohet (1987). Surface hemagglutinating activity of *Pseudomonas aeruginosa.* Microbs., 50:69-80.

18- Jarlov, J. O.; J. E. S. Hansen; V. T. Rosdahl and F. Espersen (1992). The typing of *Staphylococcus epidermidis* by a lectin –binding assay. J. Med. Microbiol., 37:195-200.

19- Marcos, M. J.; E. Villar; F. Gavilanes; G. G. Zhadan and V. L. Shnyrov (2000). Compact residual stracture in lentil lectin at pH 2 . Eur. J. Biochem., 267:2127-2132.

20- Meroueh, S. O.; K. Z. Bencze; D. Hesek; M. Lee; J. F. Fisher and T. L. Stemmler (2006). Three- dimensional structure of the bacterial cell wall peptedoglycan. PNAS., 103:4404 - 4409.

21- Mirelman, D.; E. Galun; N. Sharon and R. Lotan (1975). Inhibition of fungal growth by wheat germ agglutinin., 256:414-416.

22- Mishkind, M.; K. Keegstrae and B. Palevitz (1980). Distribution of wheat germ agglutinin in young wheat plant. Plant Physiol., 66: 950-955.

23- Monsigny, M.; A. Roche; C. Sene; R. Maget-Dana and F. Delmotte (1980). Sugar-Lectin Interaction: How does wheat –germ agglutinin bind sialoglycoconjugates? Eur. J. Biochem., 104:147-153.

24- Moreira, R. de-A.; I. L. Ainouz; J. T. De-oliveira and B. S. Cavada (1991). Plant lectins, chemical and biological aspect. Mem. Inst. Oswaldo.Cruzo., 86 suppl. 2:211-218.

25- Mosher, M.W. and H.C. Price (1975). Plant-derived lectins. Chemistry, 8(7):6-9.
26- Schnebli, H. P.; C. Roed and L. Tarcsay (1976). Reaction of lectin with human erthrocytes 111. Surface charge density and agglutination. Experimental Cell Res., 98:273-276.
27- Sharon, N. and H. Lis (2001). Lectins. Encyclopedia of Life Sciences.
28- Storry, J. R. (2000). A review: modification of the red blood cell membrane and its application in blood group serology. Immunohematology, 16(3):82.
29- Wu, A. M.; J. H. Wu; S. Song; M. Tsai and A. Herp (1998). Studies on the binding of wheat germ agglutinin (*Triticum vulgaris*) to *O*-glycans. FEBS Letters., 440:315-319.

THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF WHEAT GERM LECTIN

I. M. Al-Aubadi M. O. Muhyaddin A. A. Taha

ABSTRACT

The biological activity of lectin was studied and revealed that the ability of lectin for agglutinating intact human erythrocytes, the agglutination titer of lectin with four types of human erythrocytes ranged between 16-32. While the agglutination titer was raised to 64-128 when the four types of human erythrocytes were treated with trypsin.

It was found that the lectin had the ability for agglutinating erythrocytes of different animals including cow, goat, sheep and chicken being lower levels in comparision with agglutination titer of the lectin with human erythrocytes

The lectin had an ability of agglutinating gram positive bacteria that included *Bacillus* sp., *Arthrobacter* sp., *Brevibacterium* sp. and *Staphylococcus aureus* that displayed higher agglutinating activity for the later bacteria. It was found that the agglutinating activity of lectin with gram negative bacteria represented by *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhi* was weak in comparison with gram positive bacteria using slide agglutination test.

The lectin displayed *in vitro* antifungal activity against some filamentous fungi belongs to Zycomycetes such as *Rhizopus stolonifer* and Deutereomycetes including *Aspergillus* sp., *Aspergillus terreus* and *Fusarium moniliform*.

Part of Ph.D. thesis of the first author.

*** College of Agric.- Univ. of Baghdad – Baghdad, Iraq.**
****Biotechnology Res. Center- Al-Nahrain Univ. – Baghdad, Iraq.**