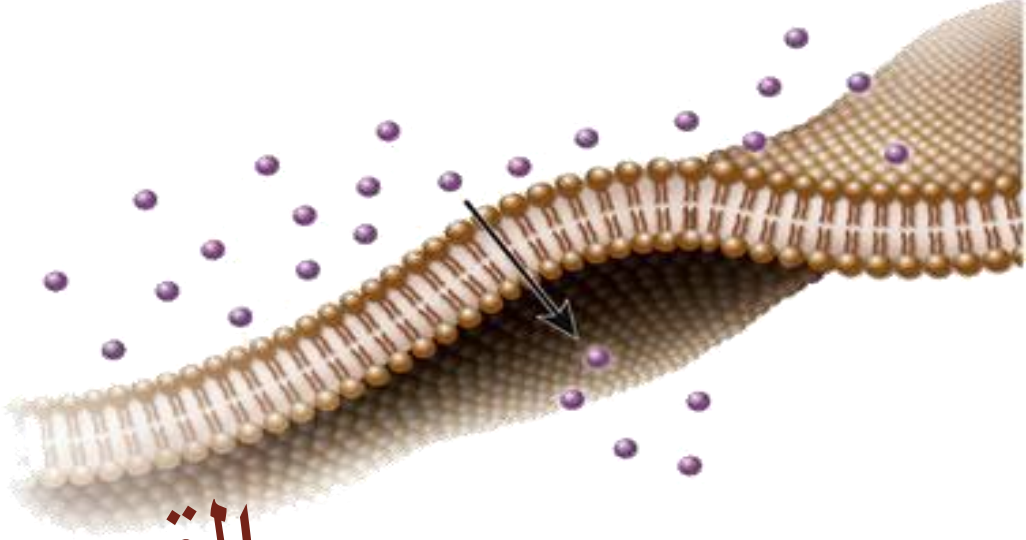
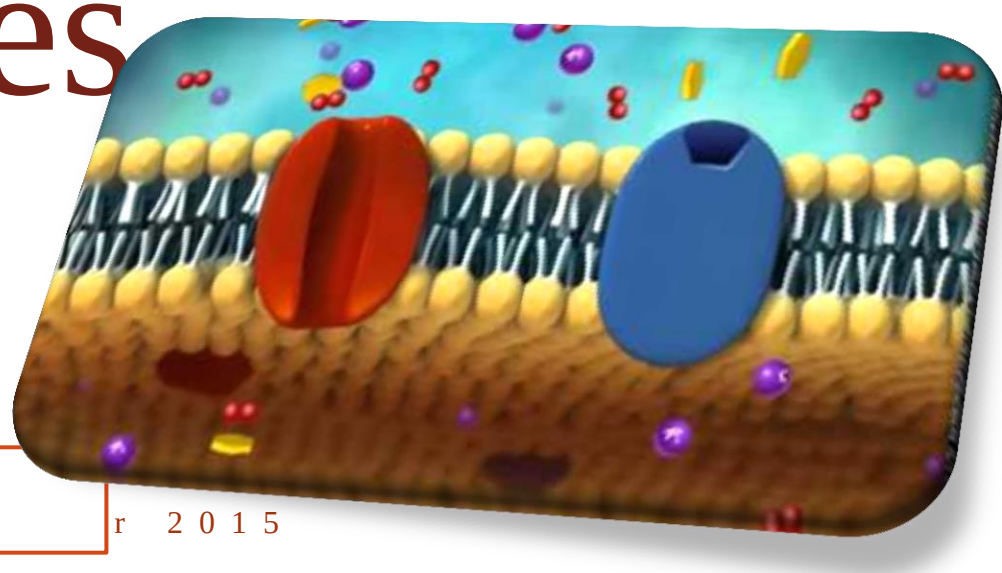


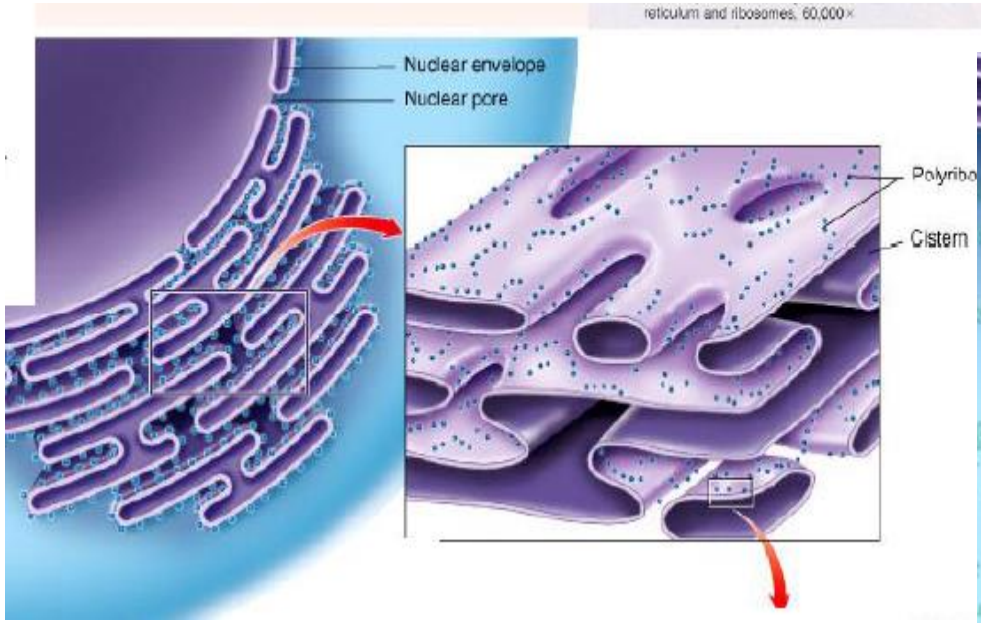
القسم الأول : الأغشية الحيوية

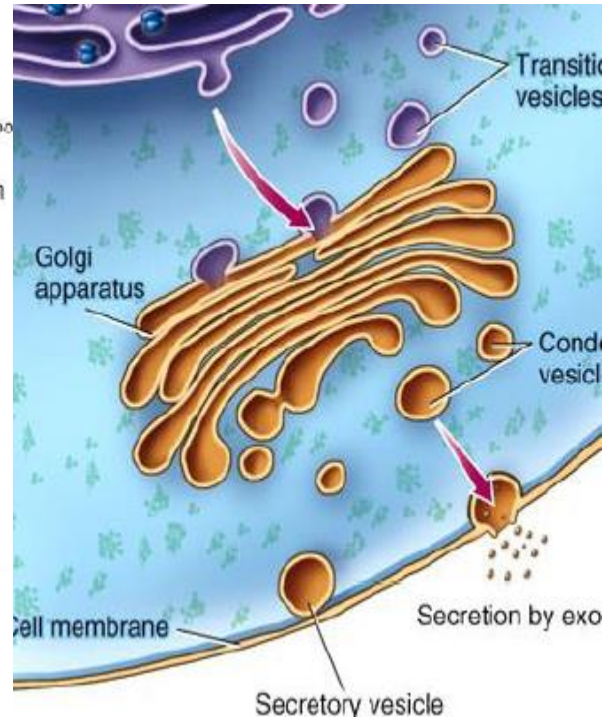
Biomembranes

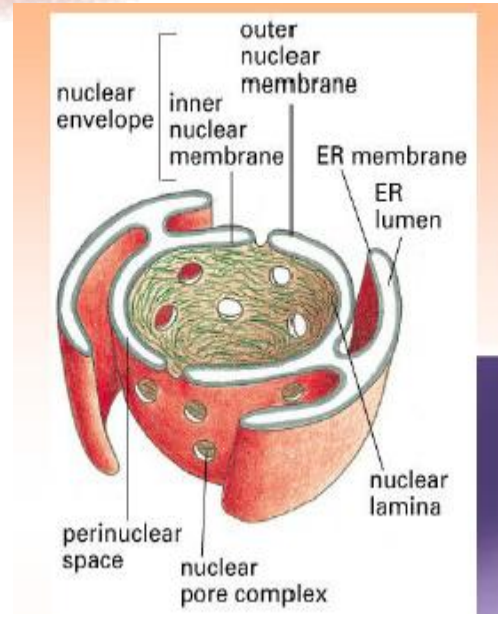


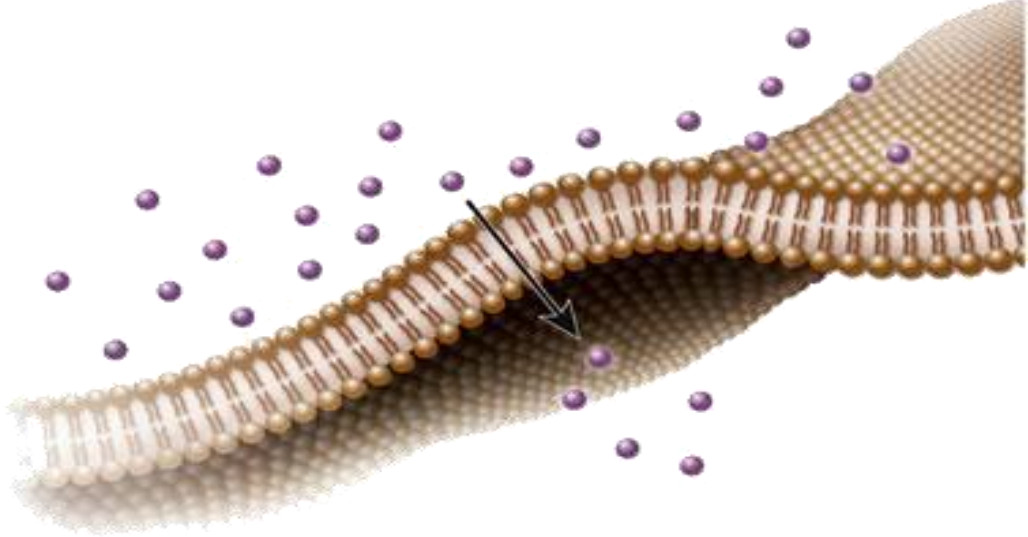
r 2015

الاغشية الحيوية









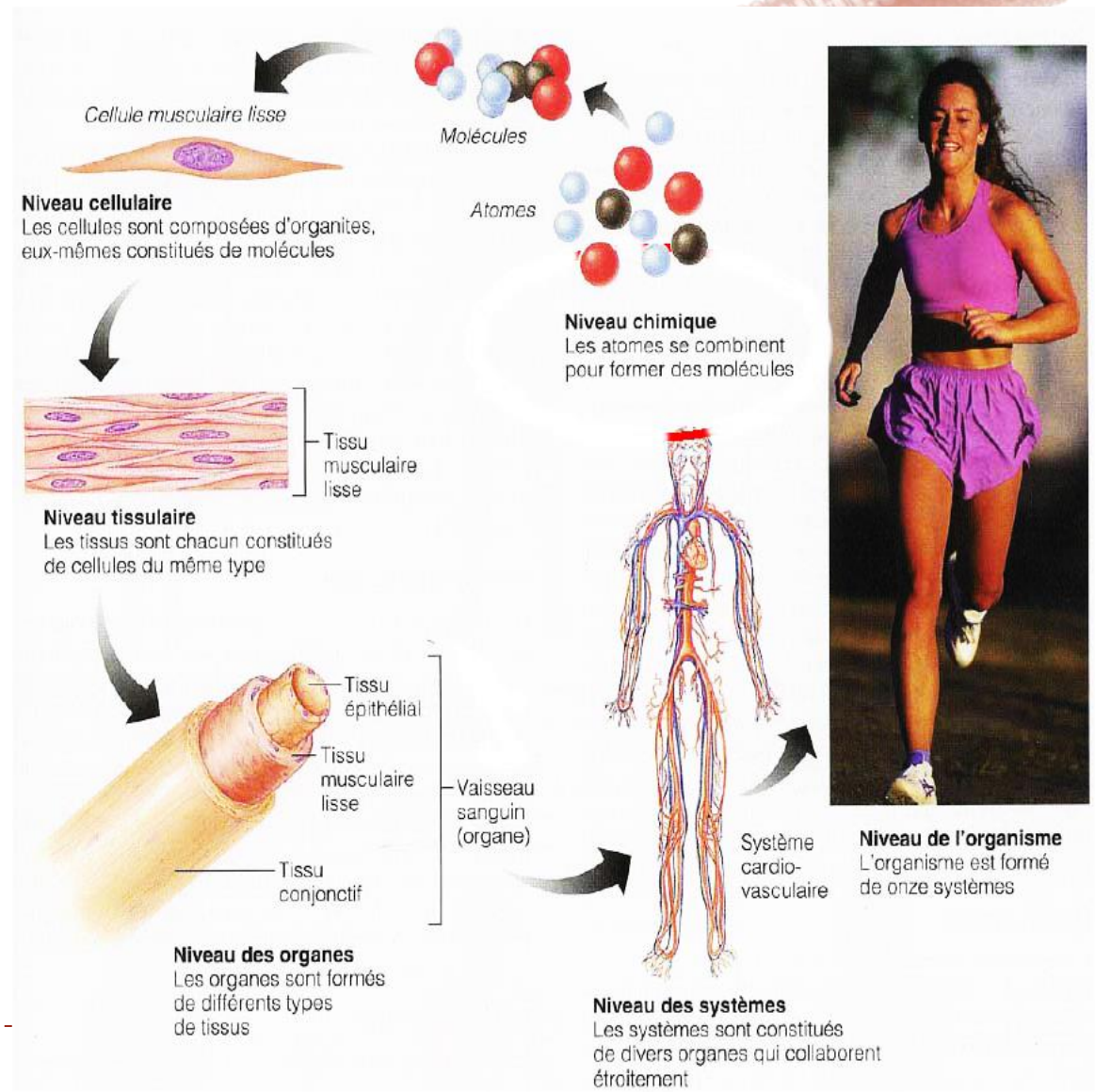
I. طرق دراسة الخلية

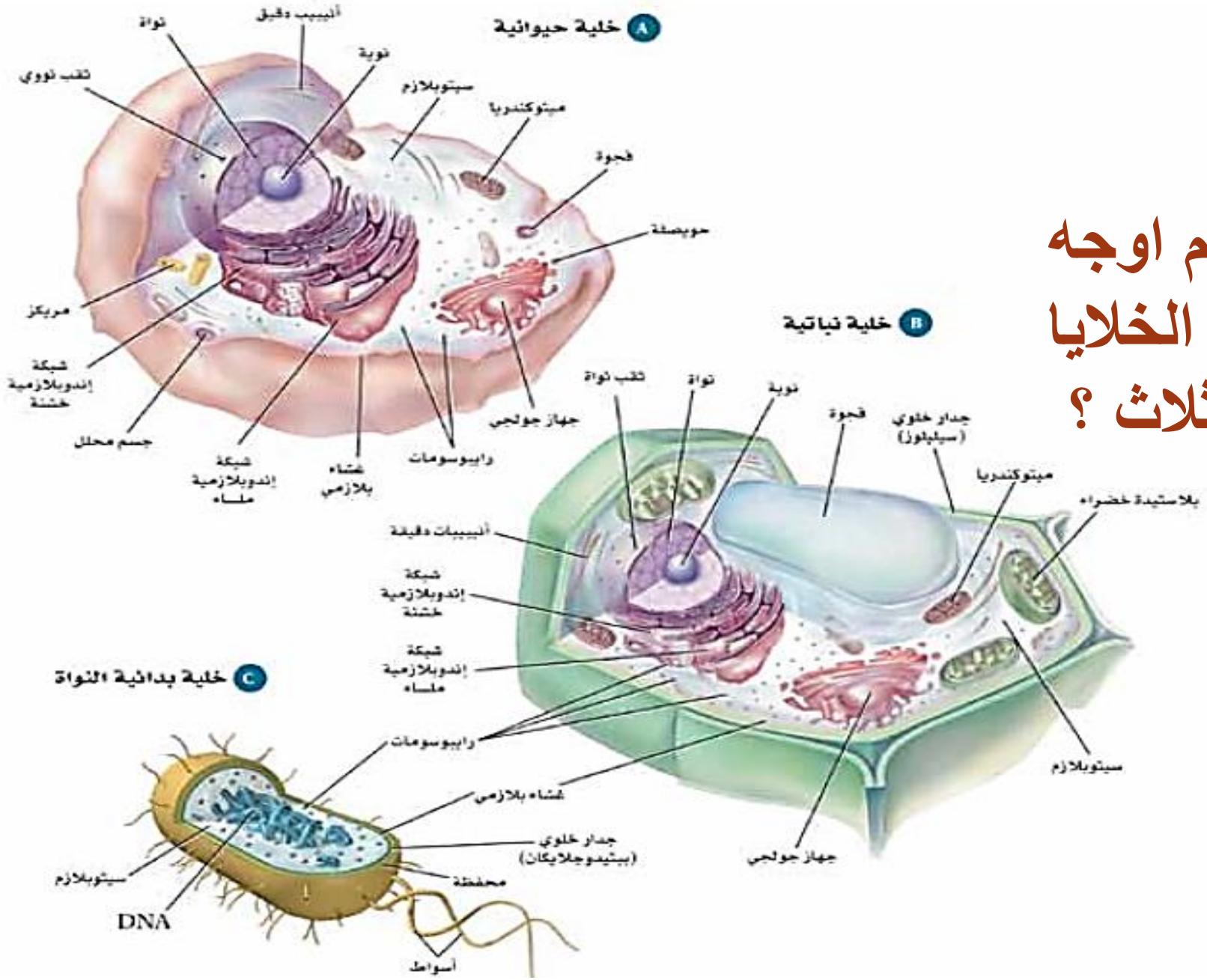
Méthodes d’études

Méthodes d'études

فيما تتشابه هذه الكائنات!

La Cellule الخلية





ما هي أهم اوجه التشابه بين الخلايا الثلاث ؟

Méthodes d'études طرق دراسة الخلية

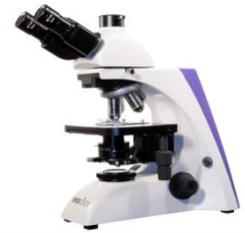
حجم الخلية

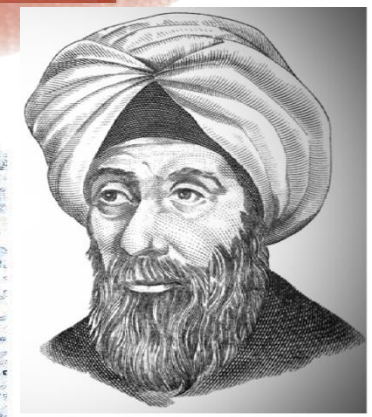
تتفاوت الخلايا في أحجامها، ويرتبط حجم وشكل كل خلية بوظيفتها. ومعظم الخلايا صغيرة جدا ولا يمكن رؤيتها بالعين المجردة لذا يطلق عليها مجهرية الحجم. ويتم قياس الخلية أو عضياتها بما يناسبها من الوحدات المترية الصغيرة المبينة في الجدول).

جدول (3-1): الوحدات المترية وقيمتها بالمتر.

الوحدة المترية	قيمتها بالمتر
السنتمتر [Centimeter (cm)]	(10^{-2}) 0.01
المليمتر [Millimeter (m)]	(10^{-3}) 0.001
الميكرومتر [Micrometer (µm)]	(10^{-6}) 0.000001
النانومتر [Nanometer (nm)]	(10^{-9}) 0.000000001
الأنجستروم [Angestrom (A°)]	0.000000000001 10^{-10}

1/ Microscope المجهر





حسن ابن الهيثم

- جاء العالم هوك سنة 1655م في منتصف القرن السابع عشر ولأول مرة استخدم أول مجهر ضوئي وأدى ذلك إلى اكتشاف الخلية وتسميتها بهذا الاسم أبان فحصه لقطاع من الفلين.
- جاء العالم الهولندي المشهور لوفنهوك سنة1674 م ووضع ثاني أشهر مجهر ضوئي في التاريخ والذي بواسطته تمكن من اكتشاف عالم الكائنات الدقيقة مثل الحيوانات الأولية والبكتيريا والحيوانات المنوية

أجزاء المجهر الضوئي المركب

أنواع المجاهر الضوئية

1. مجهر المجال المضيء Le microscope à fond clair

وفى هذا النوع من المجاهر **الحقل الميكروسكوبي مضيئًا إضاءة كاملة**، وبقية الأجسام المفحوصة تبدو داكنة، يفحص العينات المصبوغة و غير مصبوغة . ويصل أقصى تكبير إلى 1000مرة

أنواع المجاهر الضوئية

2 – مجهر المجال المظلم Dark field microscope

يستخدم هذا النوع لدراسة **العينات الحية غير المصبوغة**. فيه لا يصل أي ضوء للعين الا في الجسم الموجود على مسرح المجهر وتكون ارضية الشريحة معتمة تماما ويتركب هذا المجهر من نفس الأجزاء الموجودة في مجهر المجال المضيء

3- المجهر المتألق Fluorescence microscope

يعتمد مبدا عمله على اساس **امتصاص الطاقة** من قبل أي جسم ، ثم تحويل هذه الطاقة الى ضوء ، فالجسم المفحوص **له القدرة على امتصاص أشعة الضوء ذات الموجات القصيرة غير المرئية**، ثم تطلق أشعة ضوئية ذات موجات أطول ولونًا مميزًا وتسمى هذه الظاهرة الفلورسينية Fluorescence.

أنواع المجاهر

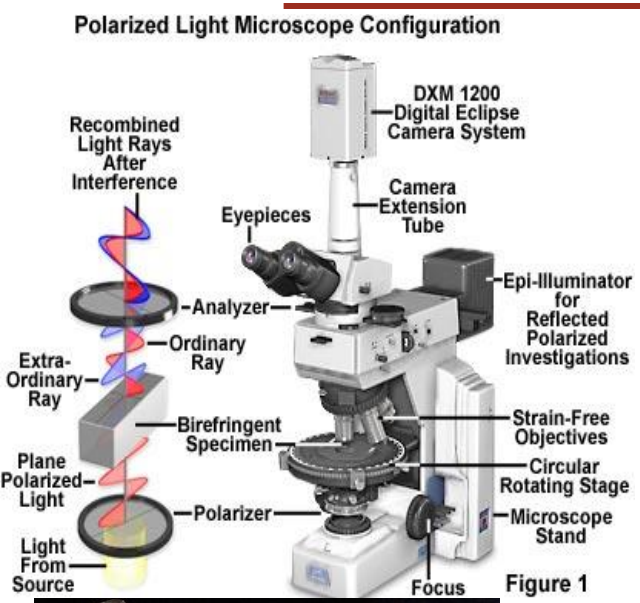


Figure 1

4- المجهـر المسـتقطب Polarized Microscope

يستخدم المجهر المستقطب **لدراسة العناصر ذات قوة انكسار مزدوجة** حيث يمر الضوء من خلال الموشور المحلل مسببا اضاءة الجسم و تكون الارضية معتمة يستعمل عادة لدراسة الصخور و**الزجاج والبلورات**

5. المجهر التشريحى

لهذا المجهر عدسة أو عدستان من العدسات العينية وعدسة شيئية مختلفة التكبيرات ويستعمل هذا المجهر **لفحص الحيوانات والنباتات الصغيرة وأجزائها** التي لا نستطيع مشاهدتها بوضوح بالعين المجردة ولا حاجه إلى عمل مقاطع رقيقه في الكائن الحي ويتراوح مدى تكبيره من 6 –50مرة

أنواع المجاهر

6 –مجهر متباين الأطوار Phase contrast microscope

وهو مجهر ضوئي عادى متخصص لفحص **العينات الحية الغير مثبته والغير معاملة بالصبغات.**

يعمل هذا المجهر على أساس أن الأجزاء المختلفة لشيء ما لها معاملات انكسار مختلفة للضوء. فيؤدي إلى حدوث تباين فتظهر الصور واضحة بالخلفيات ،ويمكن التحكم في زوايا سقوط الضوء لإحداث التباين

و الفرق بين المجهر المظلم و المجهر متباين الاطوار يكمن في أن حزمة الضوء لمجهر المجال المظلم تكون بزاوية واحدة أما المجهر المتباين الأطوار فيكون بزوايا مختلفة

أنواع المجاهر

-المجهر الإلكتروني Electron microscope

يستخدم للحصول على تفاصيل دقيقة جدا للعينة المفحوصة، مقارنة مع ما هو متاح بالمجهر الضوئي نتيجة لاستعمال موجات إلكترونية ذات أطوال قصيرة جدا، بدلا من موجات الضوء العادي، فى إضاءة الجسم المفحوص، مما يعطى قدرا أكبر من قوة التمييز. باستعمال المجهر الالكتروني يمكن الوصول إلى تكبيرات تزيد عن مليون مرة.

و المجهر الالكتروني نوعان: ماسح و نافذ

أنواع المجاهر الالكترونية

المجهر الالكتروني النافذ (Transmission electron microscope)

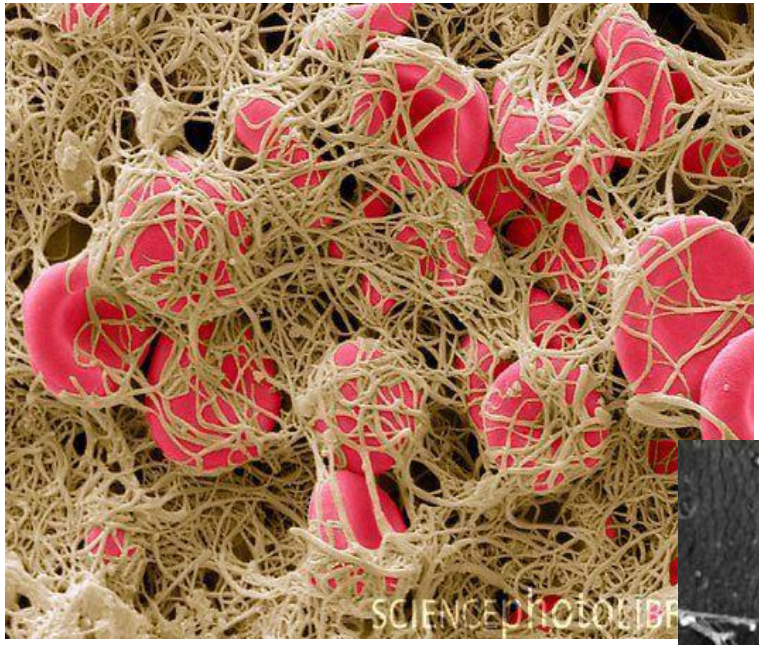
- وهو من أول المجاهر الالكترونية التي تم استخدامها في دراسة الخلية
- للمجهر الالكتروني النافذ الدور الكبير في دراسة التركيب الدقيق للخلية واكتشاف العديد من عضياتها المتناهية في الصغر
- يشترط أن يتراوح سمكها بين 0.01 – 0.2 ميكرومتر
- درجة التباين والوضوح تعتمد على كمية الالكترونات النافذة خلال العينة

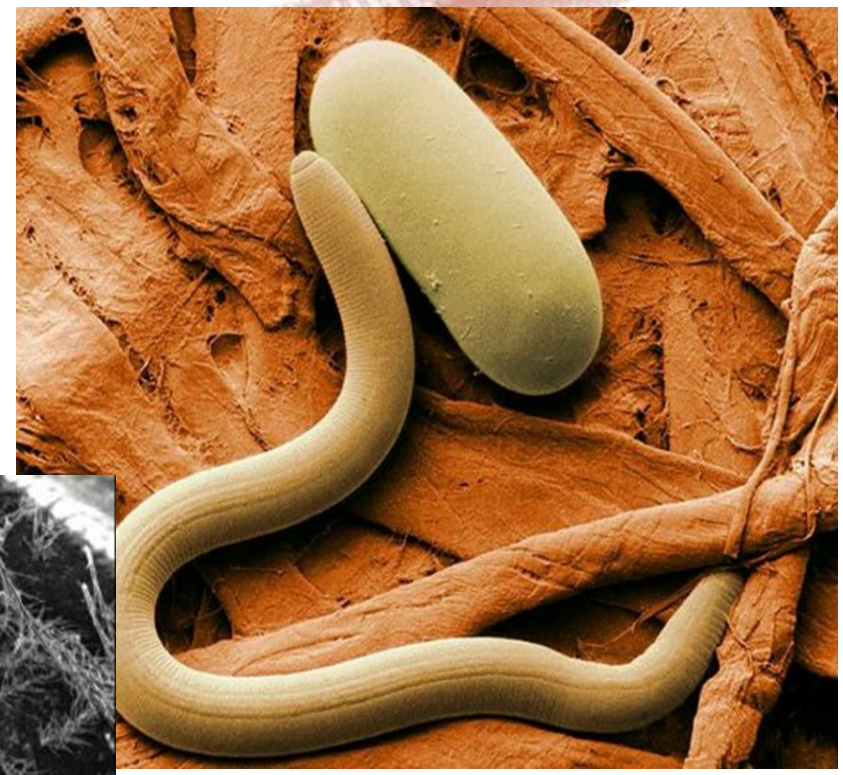
أنواع المجاهر الالكترونية

المجهر الالكتروني الماسح (Scanning electron microscope)

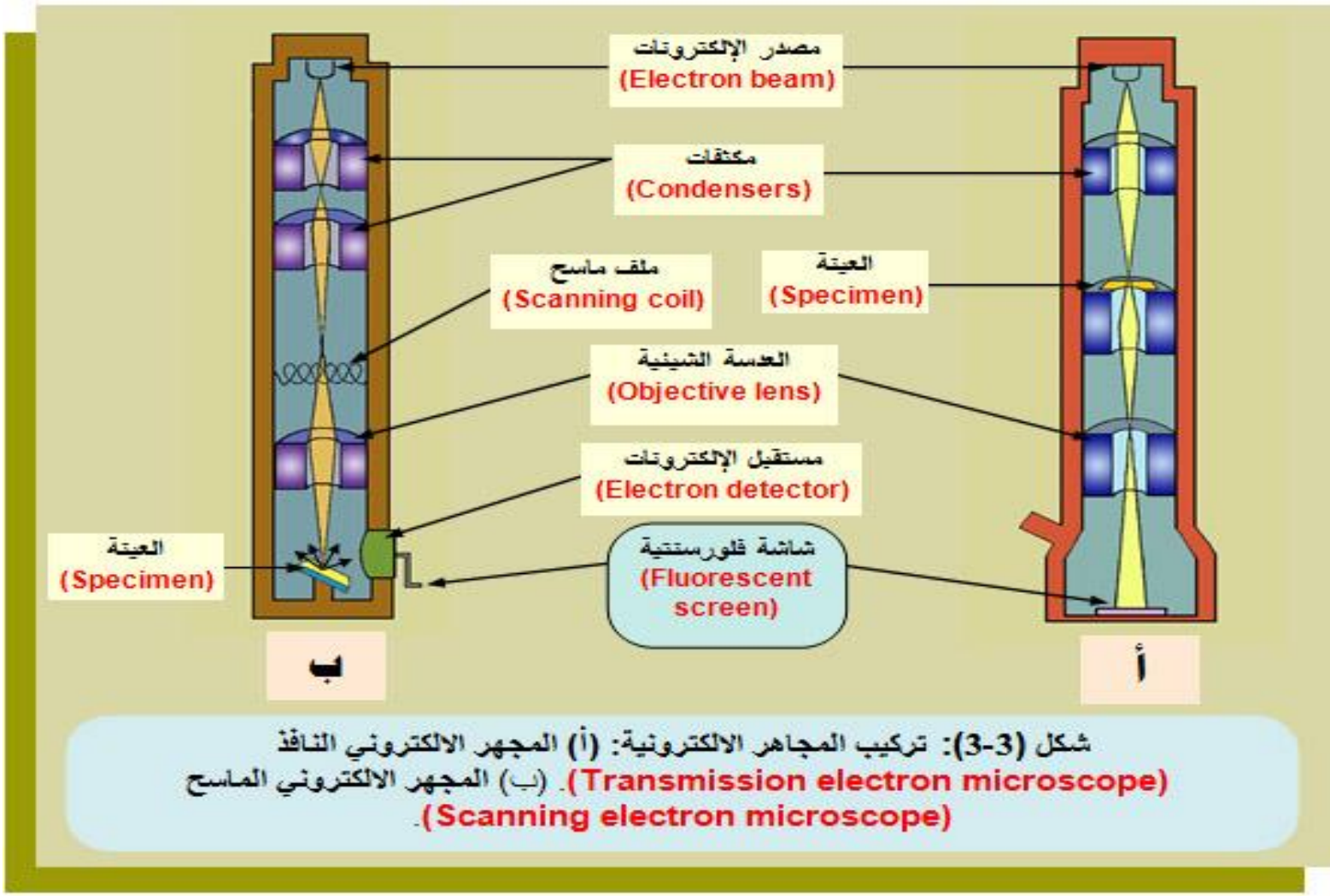
وهو من المجاهر الحديثة و تركيب المجهر الالكتروني الماسح يشبه المجهر الالكتروني النافذ من حيث مصدر الإضاءة والعدسات المستخدمة إلا أنه يختلف عن النافذ في كيفية إظهار صورة العينة حيث يعتمد إظهار الصورة في هذا النوع من المجاهر الالكترونية على الالكترونات المرتدة من على سطح العينة لتظهر على شاشة تلفزيونية وعادة ما يستخدم المجهر الالكتروني الماسح في دراسة العينة كاملة أو جزء منها.

أنواع المجاهر الالكترونية



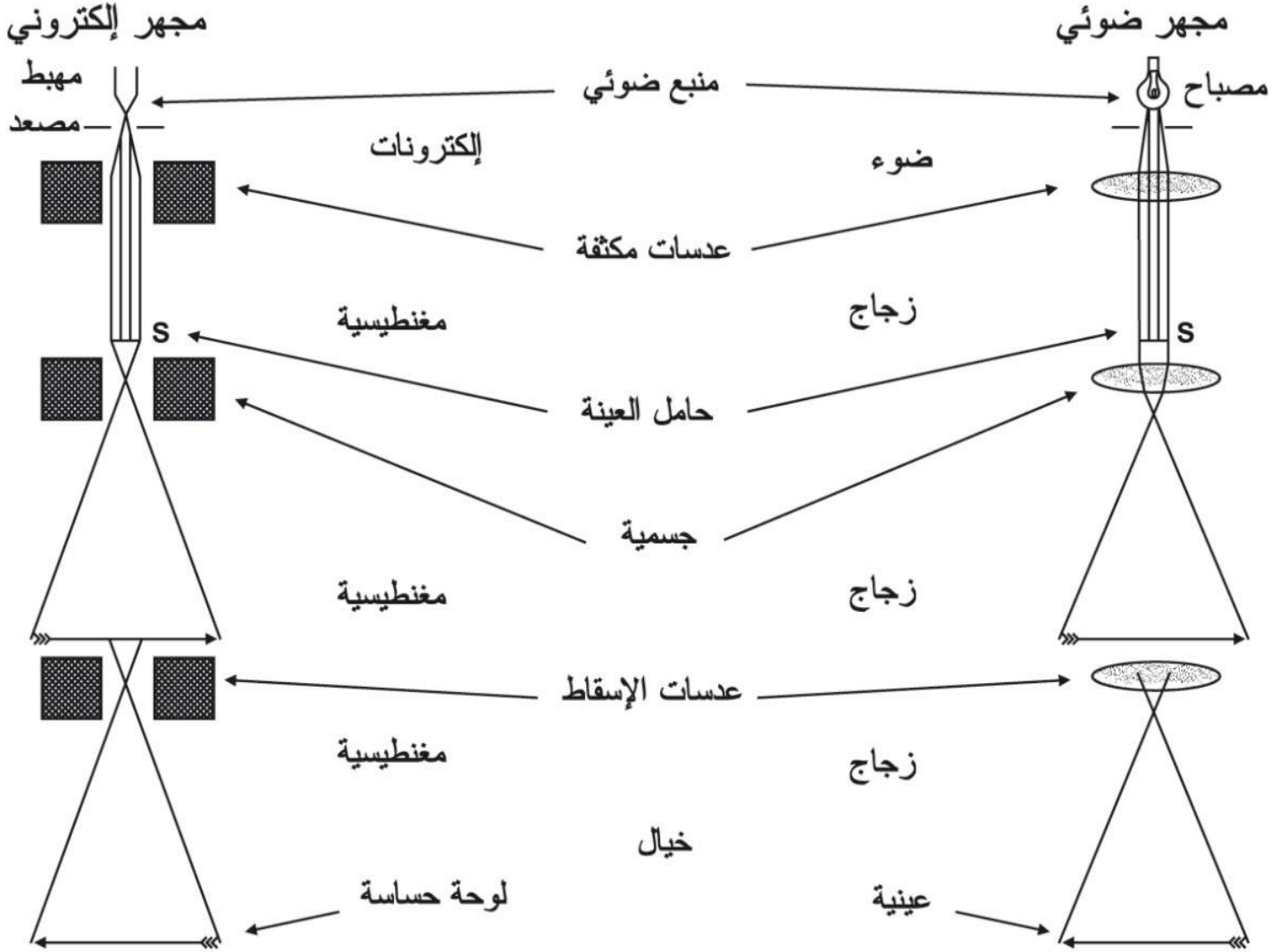


أنواع المجاهر الالكترونية



شكل (3-3): تركيب المجاهر الالكترونية: (أ) المجهر الالكتروني النافذ (Transmission electron microscope). (ب) المجهر الالكتروني الماسح (Scanning electron microscope).

مقارنة بين المجهر الضوئي و الالكتروني



مقارنة بين المجهر الضوئي و الالكتروني

.الخواص	المجهر الضوئي	المجهر الإلكتروني
التكبير	من 25 إلى 1500 مرة	من 500 إلى مئات الألاف
المحضر	المحضر يخترق بواسطة الفوتونات الضوء	المحضر يخترق بواسطة الالكترونات
نوع العدسات	عدسات زجاجية	العدسات في حقول مغناطيسية
سمك العينة	بين 5 ← 15 UM	سمك العينة 0.05 UM
المشاهدة المحضرات	تلاحظ العينة مباشرة بالعين الخلايا حية أو ميتة	تلاحظ العينة العينة على شاشة متفلورة الخلايا ميتة
التلوين	يمكن تلوين المحضرات أو مشاهدة الألوان الطبيعية مثل البلاستيدة الخضراء	لا تستعمل الملونات و لا تشهد الألوان الطبيعية للعناصر الخلوية.

تحضيرالعينة المجهرية

- مرحلة التثبيت La fixation :
- نزع الماء.La déshydratation
- التضمين l’imprégnation :
- القطع :
- التلوين la coloration :

تحضير العينة المجهرية

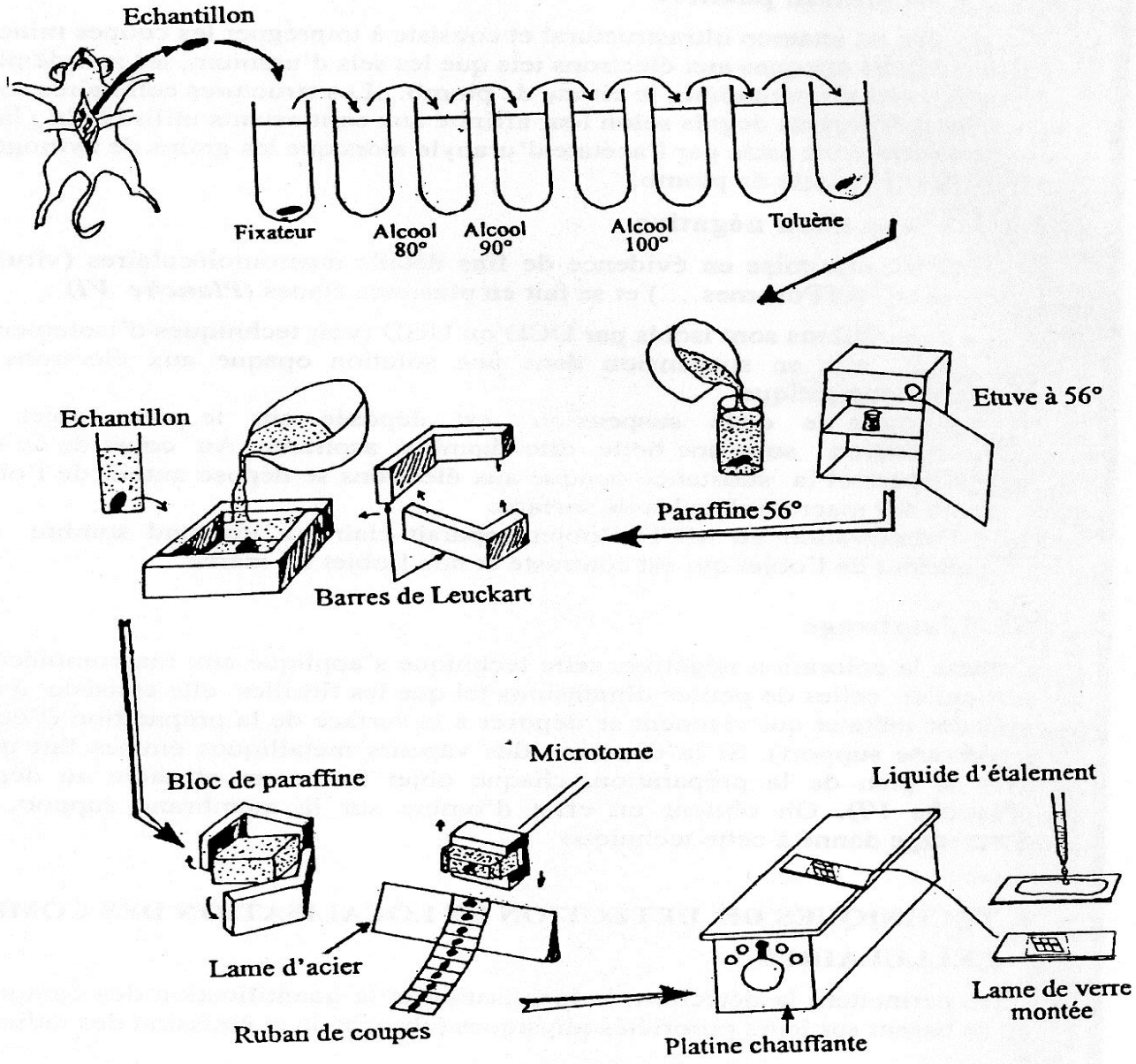


Planche III : Technique cytologique (microscopie photonique).

طرق دراسة الخلية

2. ملاحظة حية
3. زراعة الانسجة
4. تجزئة الخلايا

_ الصدمة الحلولية

_ المهاجمة الانزيمية

_ الامواج فوق صوتية

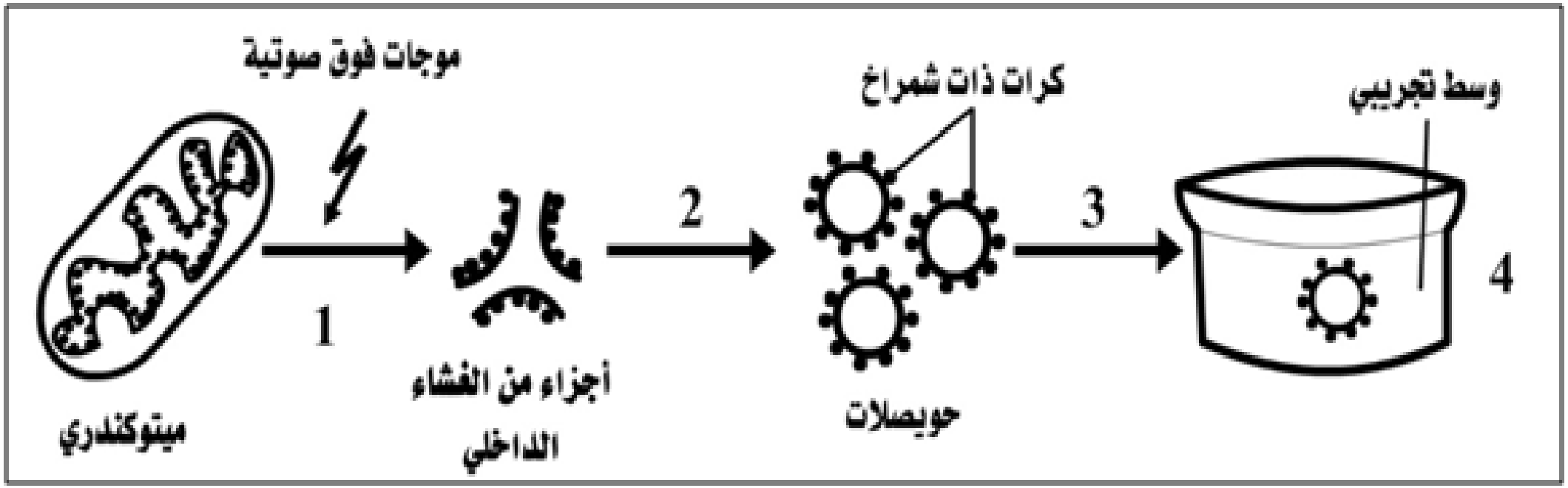
_ سحق الخلية

_ الطرد المركزي

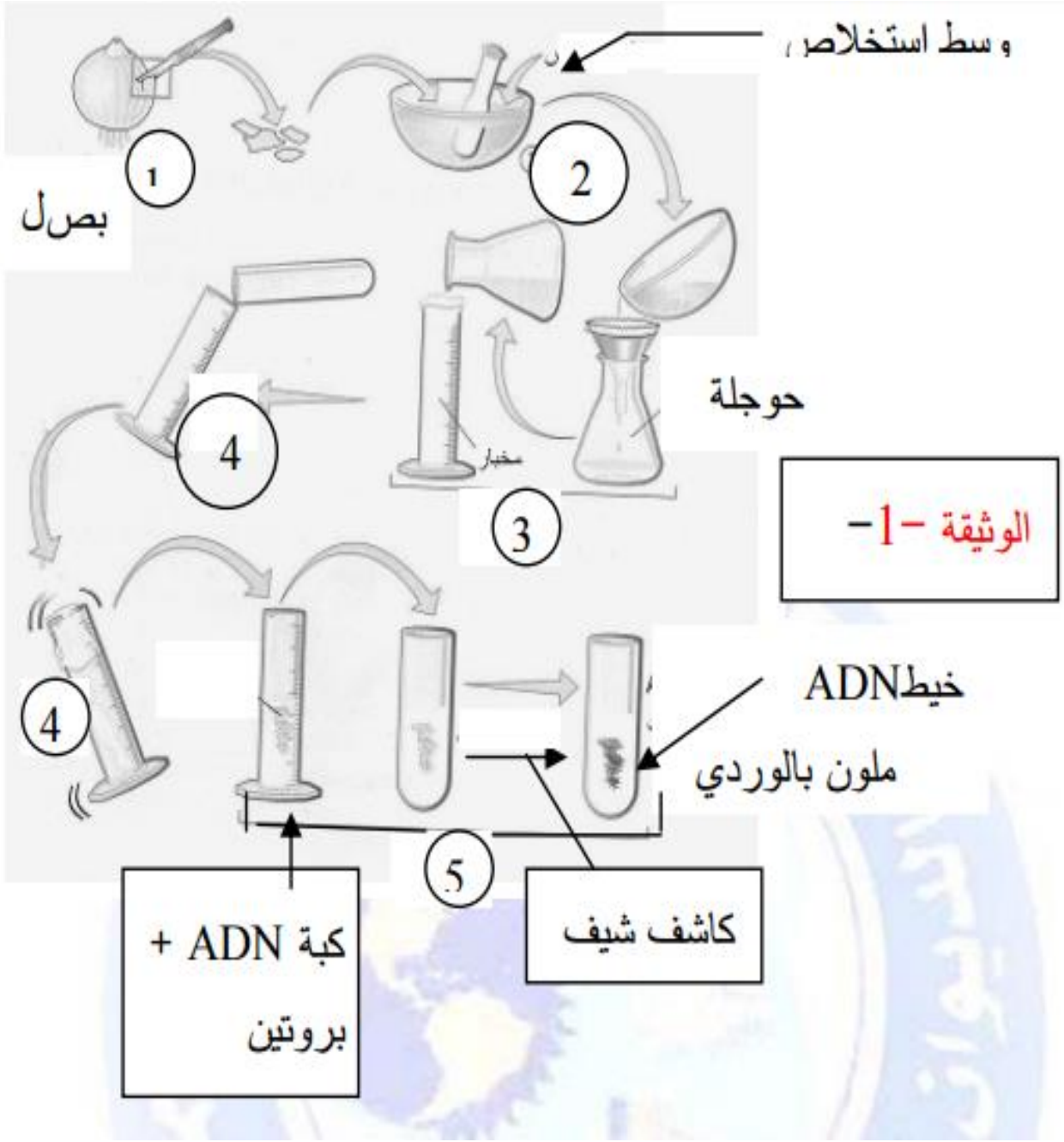
طرق دراسة الخلية

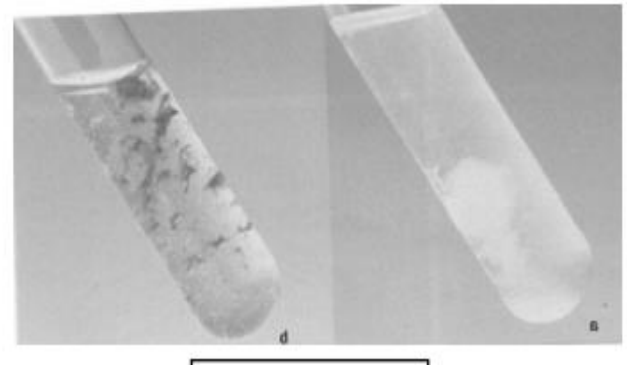
4. تجزئة الخلايا

استعمال الامواج فوق صوتية



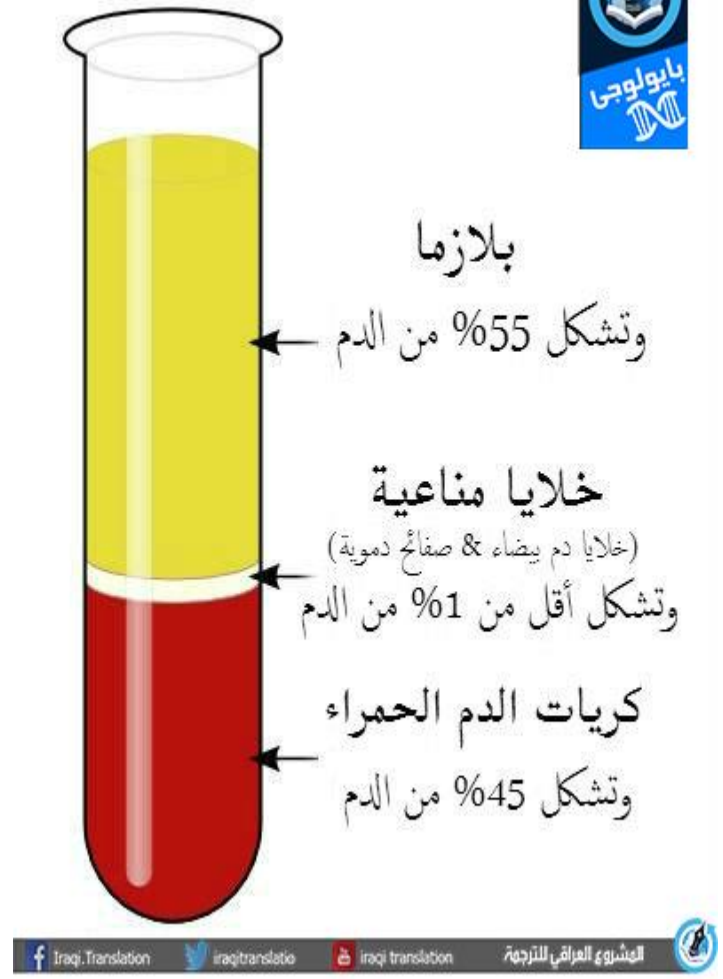
سحق الخلية


وسط استخلاص
بصل
1
2
حوجلة
4
مخبار
3
4
5
الوثيقة -1-
خيطADN
ملون بالوردي
كاشف شيف
كبة ADN +
بروتين

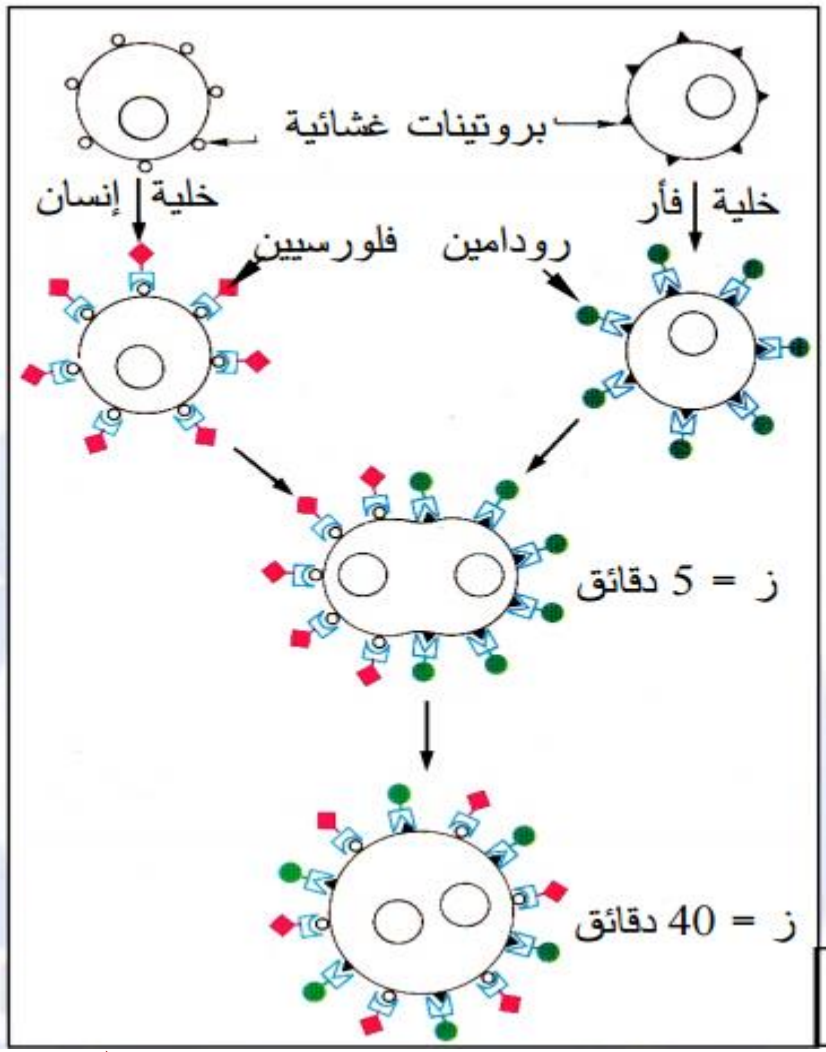


الطرد المركزي

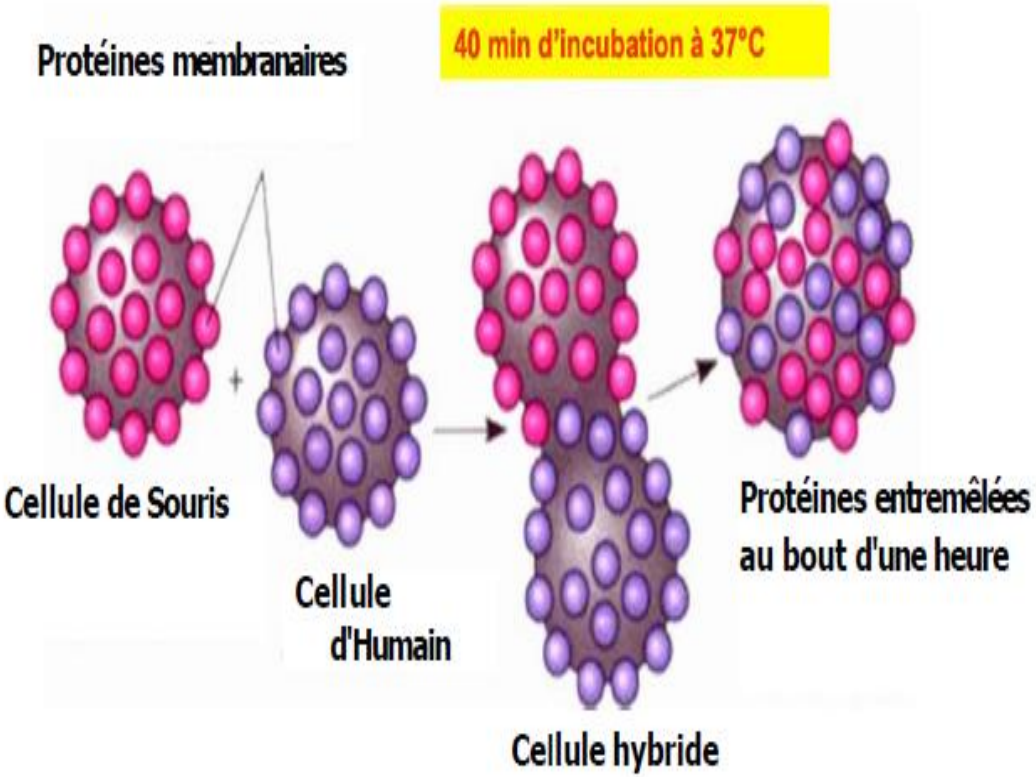
الطرد المركزي

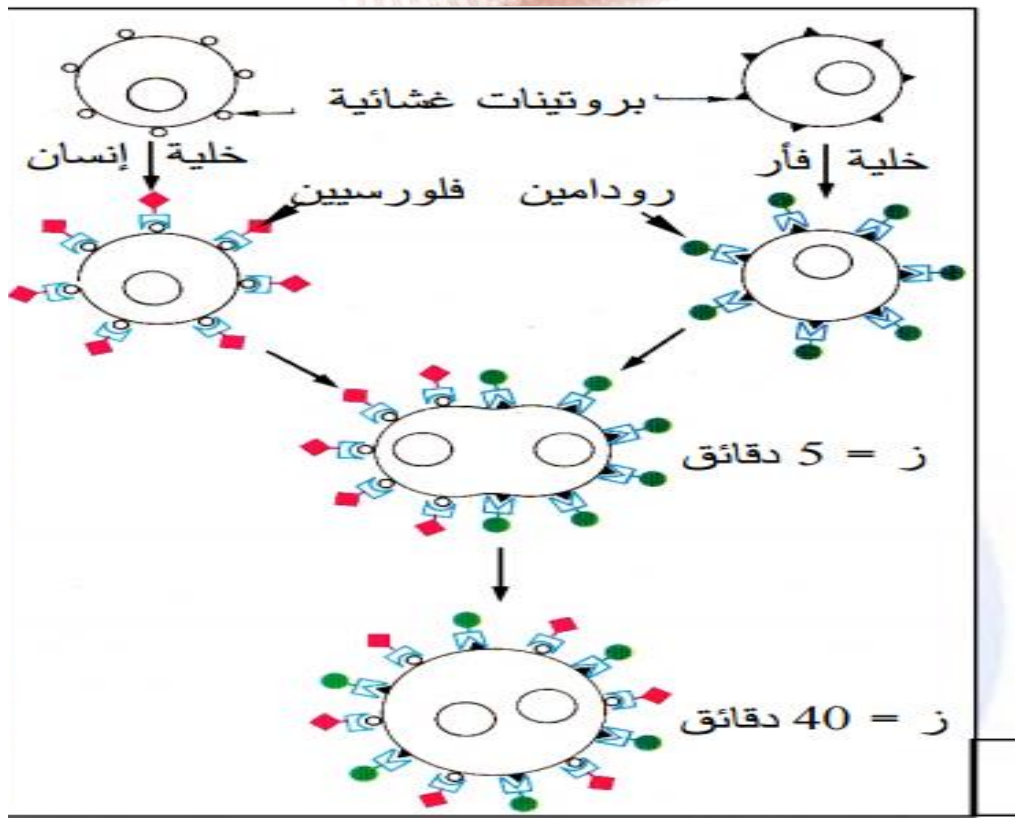


5. الفحص الكيميائي المناعي



تعتمد هذه الطريقة تفاعل الأجسام المضادة مع المستضدات حيث يتم أولا اتحاد الأجسام المضادة مع مواد مفلورة ثم تزرع في الجسم و عند الفحص بالمجهر الخاص لهذا الغرض فتظهر المناطق التي وصل فيها التفاعل كمناطق اشعاع





Expérience démontrant la mobilité des protéines membranaire

التصوير الاشعاعي الذاتي

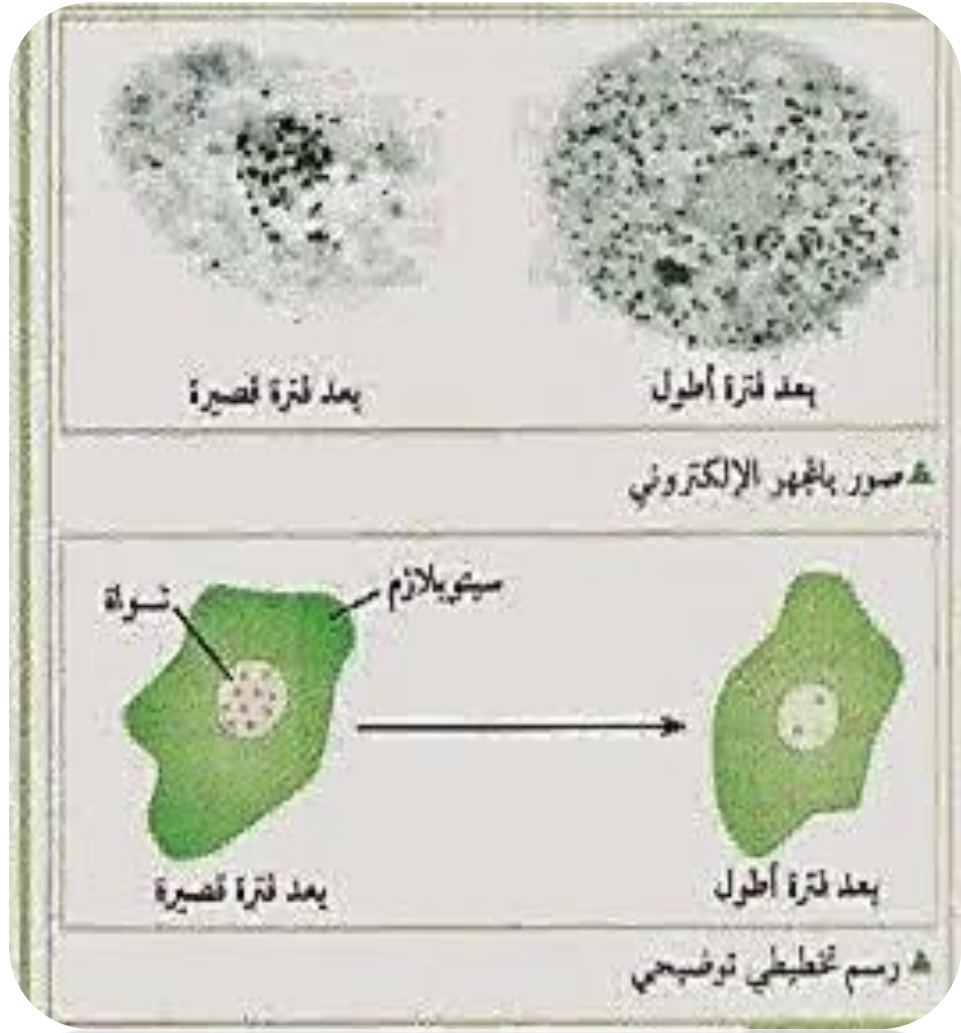


Image From: Lodish, Molecular Cell Biology 7e. 2013

6. التصوير الاشعاعي الذاتي

تعتمد هذه الطريقة على استعمال النظائر المشعة للعناصر الكيميائية التي تدخل في تركيب المكونات الحية وهي على سبيل المثال O18،C14 ، N18 ، H3 :

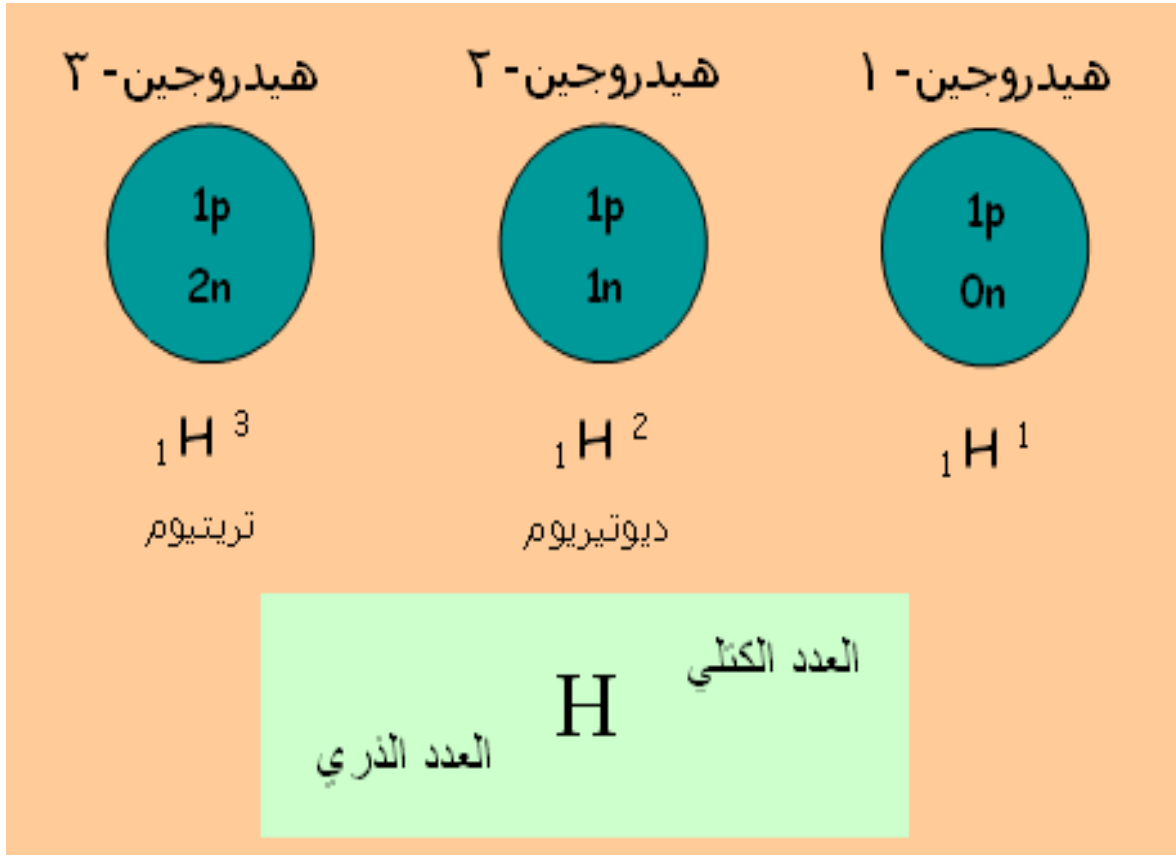
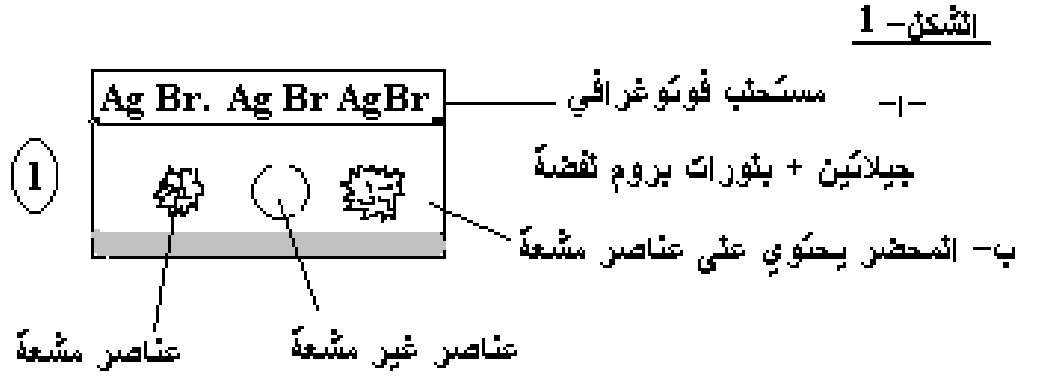


Image From: Lodish, Molecular Cell Biology 7e. 2013

6. التصوير الاشعاعي الذاتي

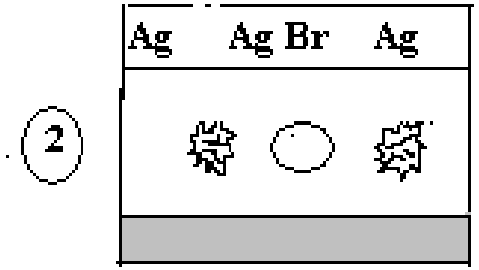


الشكل – 1

أ- مستحلب فوتوغرافي

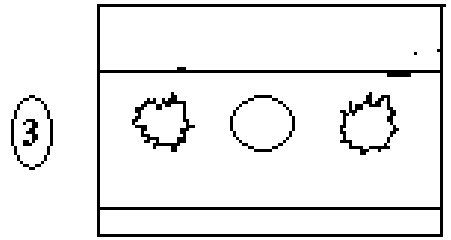
جيلاتين + بلورات بروم الفضة

ب- المحضر يحتوي على عناصر مشعة



الشكل – 2

الإشعاع الصادر من المشع يرجع شوارد الفضة إلى فضة معدني



الشكل – 3

بعد معالجة الشريط تظهر حبيبات الفضة و تصبح مرئية على شكل حبيبات سوداء

Image From: Lodish, Molecular Cell Biology 7e. 2013

6. التصوير الاشعاعي الذاتي

- تعتمد على مبدأ الوسم بالعناصر المشعة
- في غرفة مظلمة يتم تغطية المحضر بشريط حساس وهو عبارة عن مستحلب فوتوغرافي يتكون من بلورات بروم الفضة AgBr والجيلاتين
- الإشعاعات الصادرة عن العناصر المشعة والداخلة في تركيب الجزيئات الخلوية ترجع شوارد الفضة
- معا لجة الشريط الحساس بالتحميض والتثبيت تظهر الفضة على شكل حبيبات (بقع) سوداء تدل على أماكن تواجد المادة المراد الكشف عنها

Image From: Lodish, Molecular Cell Biology 7e. 2013

7. الفحص الوراثي الخلوي

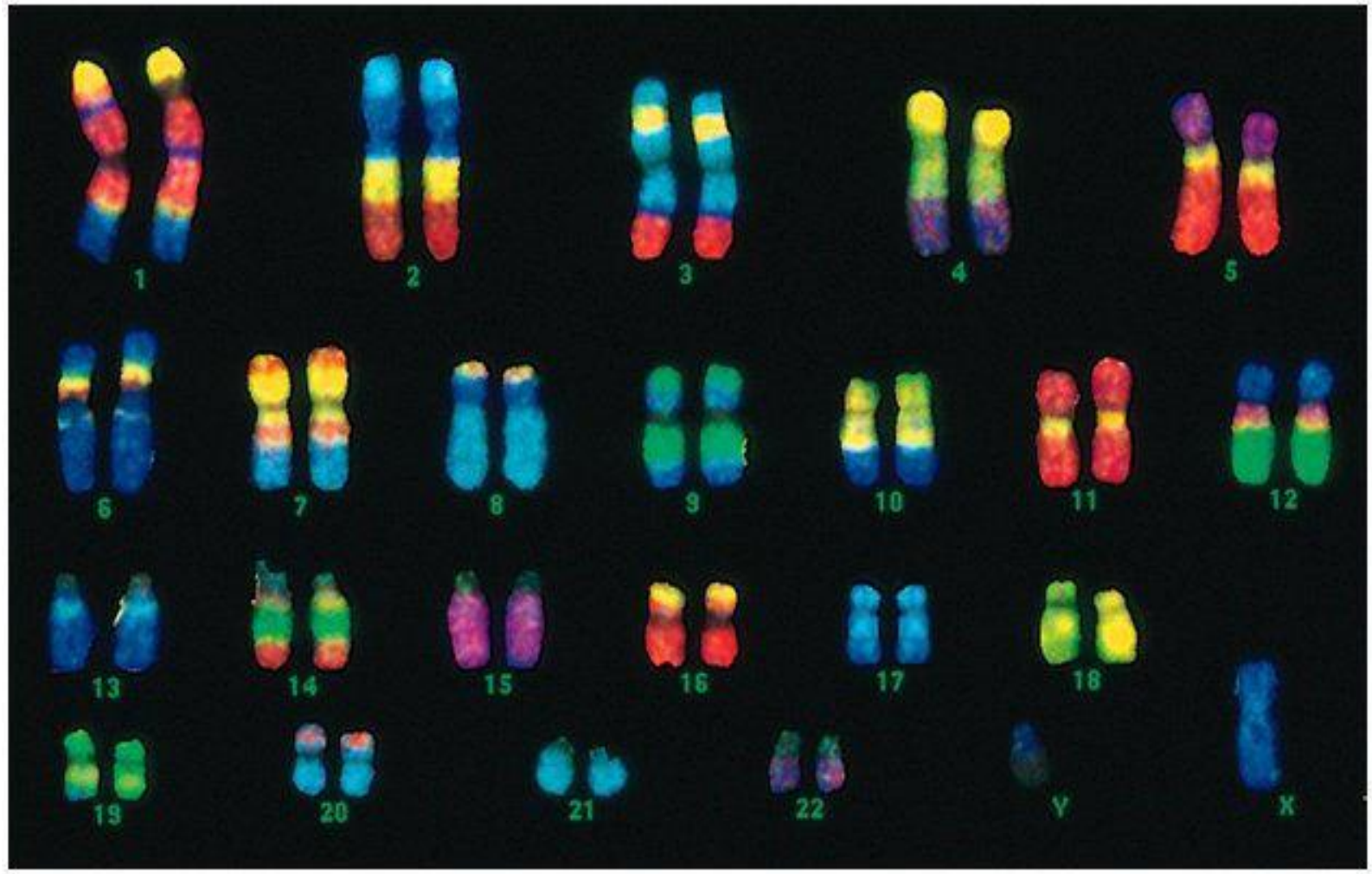


Image From: Lodish, Molecular Cell Biology 7e. 2013

9. الهجرة الكهربائية

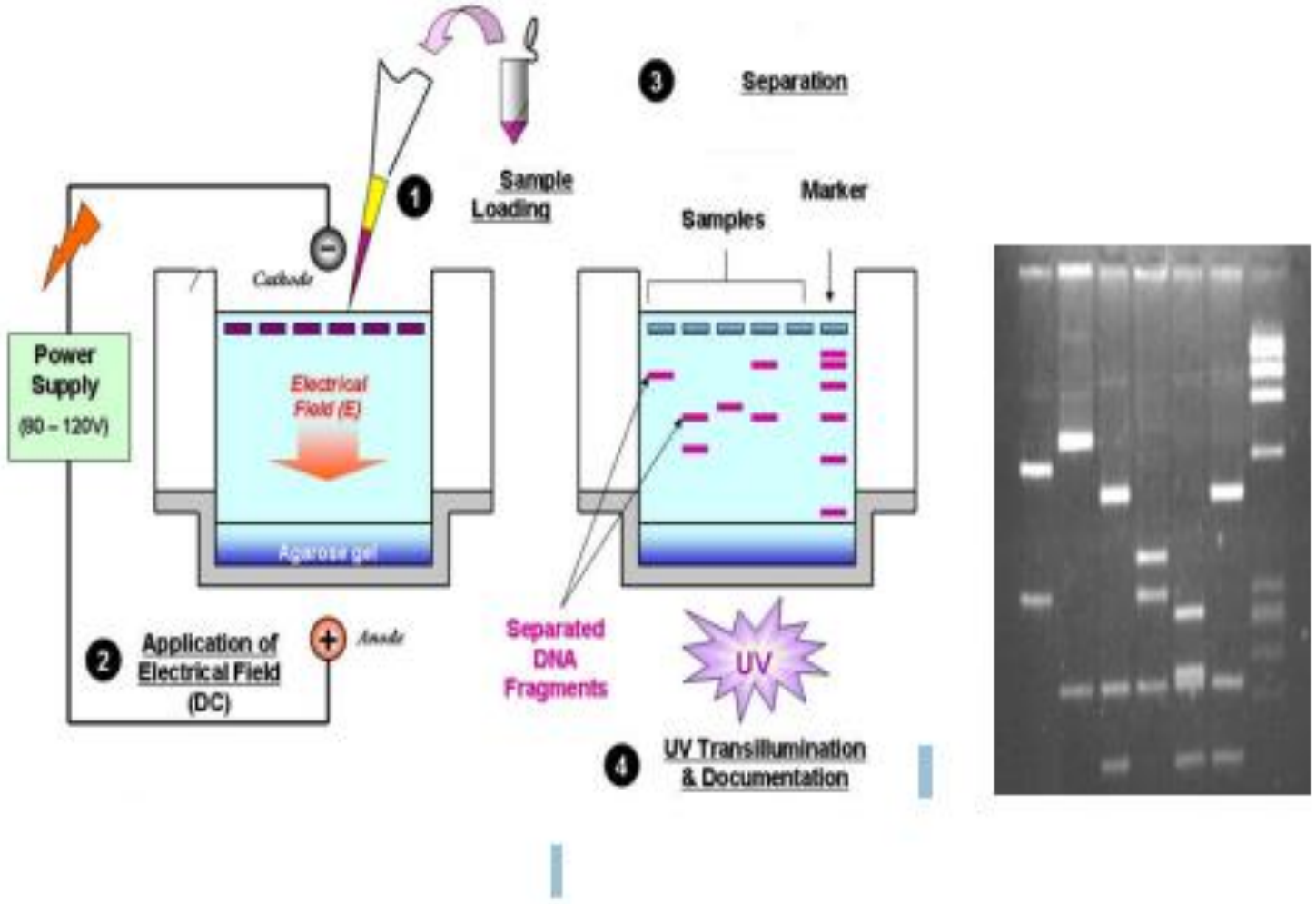


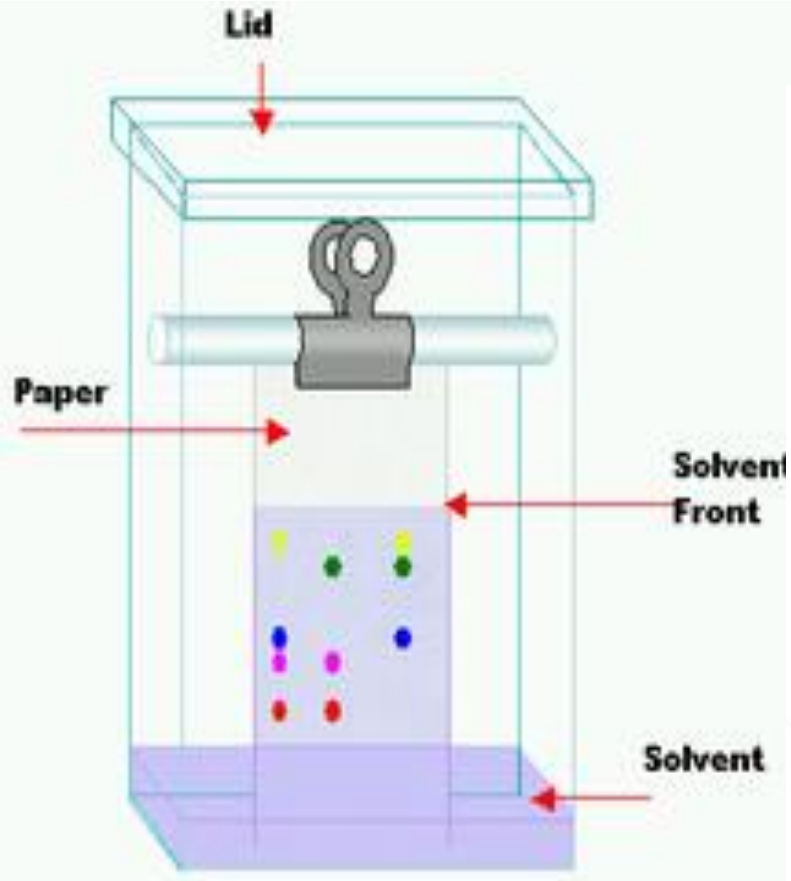
Image From: Lodish, Molecular Cell Biology 7e. 2013

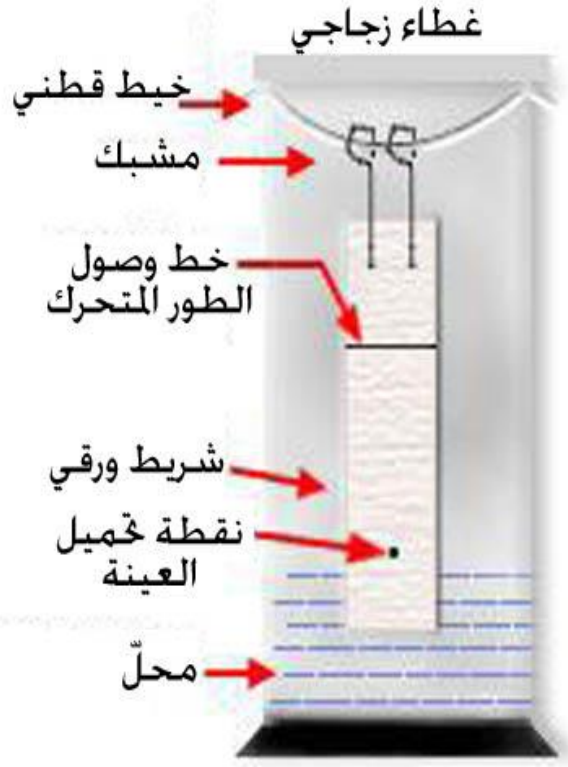
9. الهجرة الكهربائية

هي تقنية تستخدم لفصل الاحماض النووية RNA & DNA أو جزيئات البروتين .وذلك بإستخدام تيار كهربائي .ويعتمد الجهاز على القوة الكهرو حركية التي تستخدم لتحريك الجزيئات(العينة)

Image From: Lodish, Molecular Cell Biology 7e. 2013

10. الكروماتوغرافيا





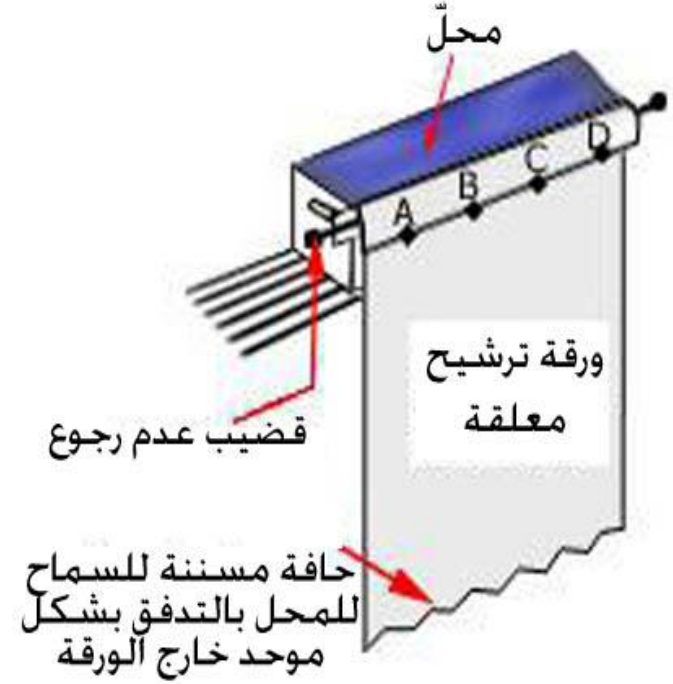
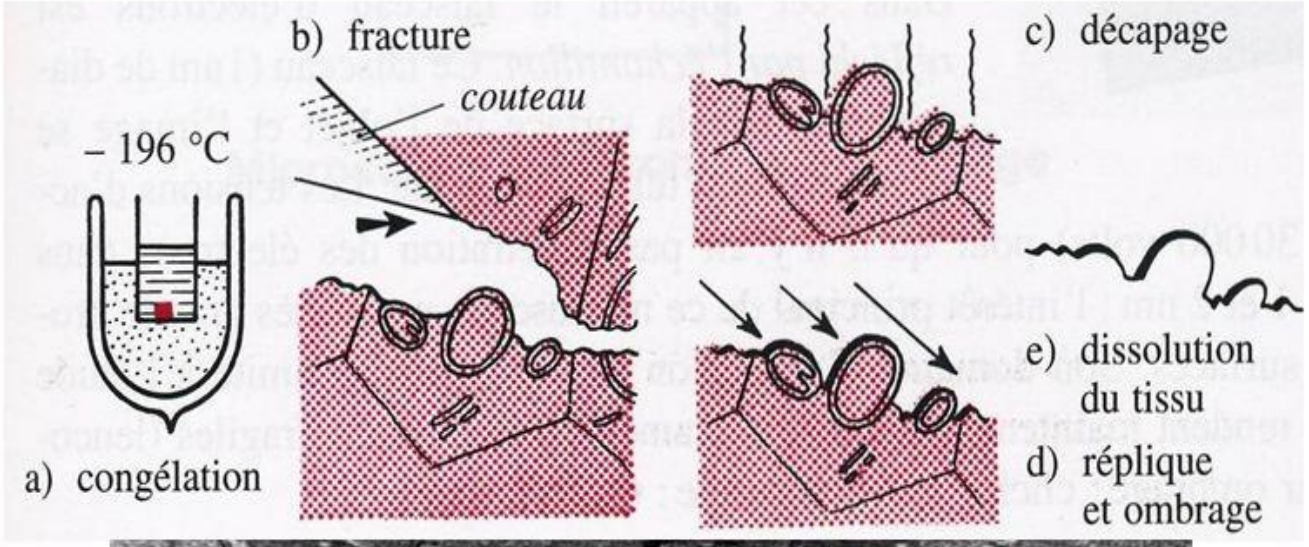


Image From: Lodish, Molecular Cell Biology 7e. 2013

10. الكروماتوغرافيا

تعرف الطرق الكروماتوغرافيا بأنها عبارة عن عمليات فصل للمواد الممتزجة والتي تتوزع بين طورين أحدهما ثابت والآخر متحرك يمر خلال الطور الثابت، فعند تحميل مزيج من المركبات على سطح الطور الثابت(الذي هو عبارة عن مادة دامصة) ثم جرف هذه المركبات بواسطة تيار من غاز أو سائل ، فإن مكونات المزيج ستنجرف بسرعات مختلفة وتتو زع على طول الطور الثابت بشكل يعتمد على قوة ادمصاصها . وهذه العملية ستؤدي إلى تشكل مناطق منفصلة لكل مكون من مكونات المزيج .

Image From: Lodish, Molecular Cell Biology 7e. 2013



Cryofracture

القطع بعد التجميد

Une portion de cellule observée au MET après cryofracture

3. Visualisation des protéines par technique de

Cryofracture

microscopie électronique

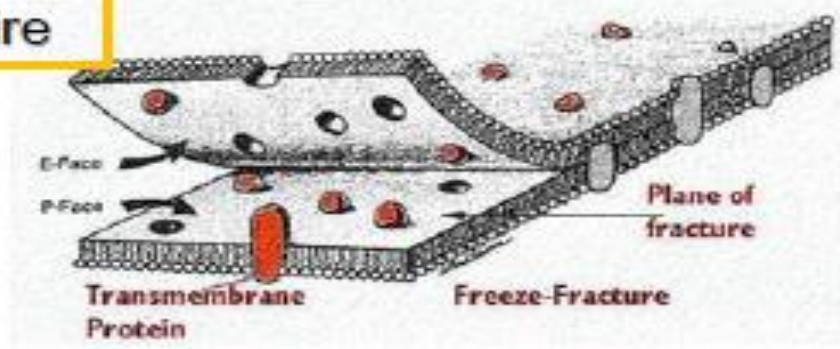
1- Congélation des cellules (hélium, fréon liquide)

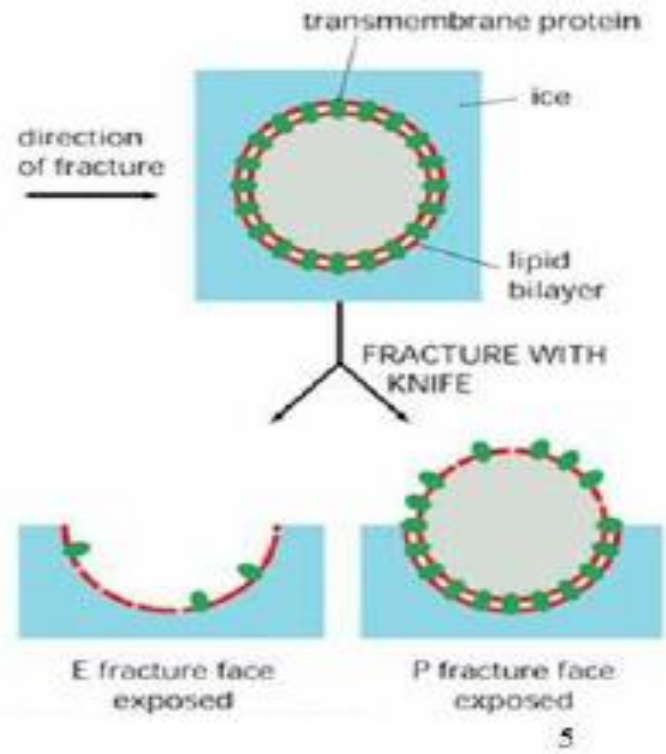
2- Fracture brutale / plan

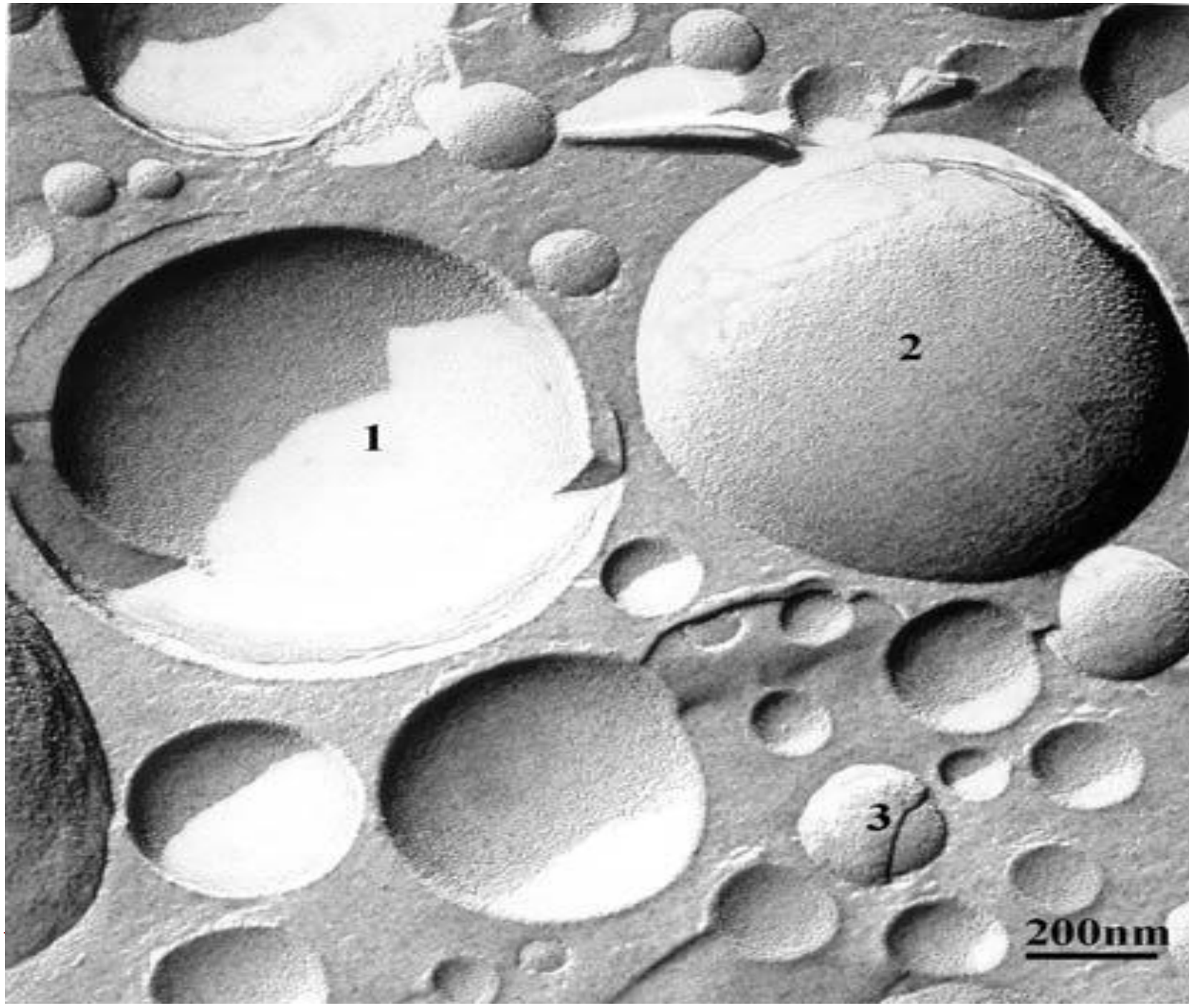
3- Image membranaire:

* surface lisse: **matrice lipidique**
* particules: **protéines**

Plan de fracture membranaire






1
2
3
200nm

طريقة الكسر بعد التجميد

- تعتمد هذه الطريقة على مبدأ التجميد السريع للمحضر في سائل نتروجيني 196°c
- يتم كسر العينة في المناطق الضعيفة منها في وسط مفرغ من الهواء
- إبراز تضاريس سطح الكسر بتظليله بمعاملته بالمعادن مثل البلاتين و الفضة و الكربون
- الحصول على قالب يفحص بالمجهر الإلكتروني.

تهدف هذه التقنية إلى تحسين ملاحظة المكونات الصغيرة الأبعاد و بشكل خاص التضاريس و السطوح الخلوية.