



المادة: حياتية خلية عملي

المحاضرة: الثانية

"التحضيرات المختبرية"

المرحلة: الاولى

م.م ايه جميل رشيد

التحضيرات المختبرية:

أولاً: تحضير شرائح مؤقتة للخلايا الطلائية لبطانة الفم (cell epithelial Squamous) خلايا حيوانية:

- 1- خذ مسحة من البطانة الداخلية للفم وقم بفرشها على سطح الشريحة الزجاجية النظيفة.
- 2- أصبغ هذه المسحة بمحلول صبغة أزرق المثلين Blue Methylen
- 3- أفحص بواسطة Microscope Light على القوة X10 ثم X40 ، أرسم ال cell epithelial Squamous مع التأشير على أجزائه

. ثانياً: تحضير شرائح مؤقتة لخاليا لبشرة البصل (cepa Allium خلايا نباتية):

- 1- ضع قطرة من صبغة الاحمر المتعادل Red Neutral على شريحة زجاجية نظيفة .
- 2- ضع قطعة صغيرة من بشرة ورقة البصل والبشرة الداخلية او الخارجية .
- 3- قم بتغطية الشريحة بغطاء زجاجي ثم قم بفحصها ال Microscope Light على القوة X10 ثم X40 ، أفحص وارسم خاليا البشرة مع التأشير .

الصبغات الحيوية Stain Vital وهي أصباغ خاصة لصبغ بعض مكونات الخلية ومن مميزات الاصباغ الحيوية انها تؤثر تأثيرا مباشرا في الخلية الحية ، فالخلايا الحية يمكن ان تتعرض لتلك الاصباغ لمدة طويلة لذلك يكون هناك وقت كاف لدراسة الخلية الحية .

ومن هذه الصبغات:

- 1- Red Neutral الاحمر المتعادل ← لصبغ الساييتوبلازم
- 2- Blue Methylen أزرق المثلين ← لصبغ معقد كولجي
- 3- B Green Jonus أخضر جانوس ← لصبغ المايتوكوندريا

تحضير الشرائح الدائمة :

الخلية المثبتة cell Fixed : هي الخلية التي يتم قتلها بطرائق فيزيائية او كيميائية مع مراعاة حفظ مكوناتها التركيبية بحالة مشابهة قدر الامكان للحالة الطبيعية.

• خطوات تحضير الشرائح الدائمة للعينات :

1- **التشريح Dissection** يقصد به قتل و تشريح الحيوان او النبات للحصول على الاجزاء المراد دراستها .
2- **التثبيت Fixation** وهو قتل الخاليا مع الحفاظ على المكونات التركيبية بحالة مشابهة للطبيعية قدر الامكان بأستعمال محاليل خاصة منها، Oxidation Tanning agents Formalin Acetic acid Alcohol .agents

3- **سحب الماء او الانكاز Dehydration** هو ازالة جميع المحتوى المائي من النسيج لان وجوده يعيق تداخل البرافين مع الخلايا بصورة جيدة يتم باستخدام محاليل كحولية متزايدة التراكيز تنتهي بالكحول المطلق 100% و من انواعه الشائعة Ethyl alcohol - Methyl alcohol.

ملاحظة/ خلال عملية **Dehydration** ال نضع العينة مباشرة في المحلول المركز لكي ال تنكمش الخلايا و تتلف- .

4- **الترويق Clearing** هو عملية ازالة محلول الانكاز من النسيج و استبداله بمحلول يمتزج مع الشمع و جعله رائقا و شفافا خاليا من الشوائب بأستخدام محاليل مثل الزايلين Xylen او البنزين Benzen

5- **الطمر Embedding** يتم بوضع العينة في قوالب تحتوي شمع البرافين النقي و من ثم تبريدها ليتصلب البرافين.

6- **التقطيع Microtoming** يتم بأستخدام جهاز المايكروتوم Microtome حيث يقطع النموذج الى شرائح رقيقة جدا

7-التصبغ Staining :

عند وضع المقاطع على الشريحة الزجاجية تلتصق بمادة شفافة مثل زال البيض و يزال الشمع بواسطة الزايلول ثم تمرر الشريحة بسلسلة من الكحولات متناقصة التركيز تنتهي بالماء ثم تصبغ بصبغات معينة مثل Eosin لصبغ الساييتوبلازم و Hematoxylen لصبغ النواة. .

8- التحميل Mounting يتم باستخدام بعض المواد مثل- (DPX) Distrene Plastezir Xylene ،
- Canada balsm ثم يغطى النموذج بغطاء الشريحة حيث يمكن استخدام هذه الشريحة لعدة سنوات.

جدول (2) يوضح الفروق بين الخلية النباتية الحقيقية النواة والخلية الحيوانية الحقيقية

النواة

ت	الخلية النباتية	الخلية الحيوانية
1	تحتوي على جدار سليلوزي (على الرغم من ان بعض الخلايا النباتية لا تمتلك جدار سليلوزي مثل الكميات)	لا تحتوي على جدار سليلوزي
2	تحتوي البلاستيدات الخضراء	لا تحتوي على البلاستيدات
3	تمتلك فجوة عسارية كبيرة لغرض انتفاخ الخلية	قد تحتوي على فجوات صغيرة
4	لها القدرة على التجديد وتكوين نبات جديد اذا ما توفرت الظروف الملائمة من المغذيات والهرمونات النباتية وتسمى هذه الخاصية Totipotency	لم تثبت خاصية Totipotency فيها

جدول (3) : الفروق بين الخلية البدائية النواة والخلية الحقيقية النواة

ت	الخلية البدائية النواة	الخلية الحقيقية النواة
1	لا تمتلك غشاء نووي Nuclear envelope	تمتلك غشاء نووي
2	الكروموسوم منفرد	الكروموسومات متعددة
3	الحامض النووي DNA حلقي الشكل	الحامض النووي DNA مرتبط مع البروتينات ومزدوج الخيطين Double strands
4	انقسام الخلية غير خيطي Amitosis بل يوجد التبرعم Budding او الانشطار Fission	انقسام الخلية خيطي Mitosis واختزالي Meiosis
5	لا توجد نواة Nucleus	توجد نواة
6	لا توجد نوية nucleous	توجد نوية
7	الرايبوسومات Ribosomes ذات الحجم 70S	الرايبوسومات ذات الحجم 80S
8	جدار الخلية غير سليلوزي	جدار الخلية سليلوزي فقط في النباتات
9	الاعشبية الخلوية معدومة	الاعشبية الخلوية موجودة
10	لا توجد عضيات خلوية مثل جهاز كولجي والشبكة الاندوبلازمية والفجوات و اللاسيومات وغيرها.	توجد العضيات الخلوية المحاطة باغشية خلوية
11	الحركة بوساطة سوط منفرد Fibril flagellum و عدة اسواط.	الحركة بوساطة عدة اسواط Flagella او اهداب Cilia او الاقدام الكاذبة
12	انزيمات التركيب الضوئي في غشاء البلازما.	التركيب الضوئي يحدث في الكلوروبلاست.
13	موقع الانزيمات التنفسية في غشاء البلازما	التنفس الهوائي يحدث في المايكوندريا

14	تتم التغذية بواسطة الامتصاص او التركيب الضوئي	تتم التغذية بواسطة الهضم ، الامتصاص ، التركيب الضوئي
15	نظام الادخال الخلوي endocytosis والايخراج الخلوي Exocytosis غير موجود	موجود