المجهر Microscope

المِجهَر(الميكروسكوب): هو جهاز لتكبير الأجسام الصغيرة التي لا يمكن رؤيتها بالعين المجردة أو لإظهار التفاصيل الدقيقة للأشياء من أجل اكتشاف تكوينها و دراستها. ، و العلم المهتم باستكشاف الأجسام الصغيرة أو التفاصيل الدقيقة للأشياء بواسطة هذه الأجهزة يسمي علم المجهريات. و كلمة "مجهرية" أو "مجهري" تستخدم لوصف الشيء الذي لا يمكن رؤيته إلا بمساعدة المجهر. والمجهر أحد الأجهزة الأوسع استخداماً في علم الأحياء، يستخدمه علماء الأحياء لدراسة الكائنات الحية والخلايا وأجزائها الصغيرة التي لا يمكن رؤيتها بالعين المجردة.

1 _مجهر المجال المضيء(الضوئي) Bright field microscope

فى هذا النوع من المجاهر الحقل الميكروسكوبي مضيئًا إضاءة كاملة، وبقية الأجسام المفحوصة تبدو داكنة أو مصبوغة. ويصل أقصى تكبير إلى 1000مرة يعتبر المجهر الضوئي من أكثر الأدوات استخداما والتي لا غنى عنها في مختبرات الميكروبيولوجي، وتوجد عدة أنواع منه، لكل نوع منها خصائص تمكنه من الوصول لتكبيرات معينة، ولدراسة أجزاء خاصة أو أنواع خاصة فى الميكروبات، ومن هذه الأنواع فمجهر الحقل المضيء هو عبارة عن مجهر مركب Compound ويتكون من نوعين من العدسات: العدسة العينية Ocular Lens، والعدسة الشيئية Objective Lens ويستخدم أشعة الضوء المرئي كمصدر لإضاءة الجسم المفحوص، ويمكننا بواسطة هذا النوع من المجاهر دراسة كائنات متناهية الصغر إضافة إلى دراسة بعض تفاصيلها الدقيقة أحيانًا. ونحصل على هذه التكبيرات عندما تمر أشعة الضوء (من مصدر الإضاءة) خلال المكثف Condenser الذي يوجهها بدوره لكي تسقط على الجسم المفحوص. وتمر الأشعة من خلال الجسم المفحوص لكي تدخل إلى العدسة الشيئية والتي تكبر العينة ثم تعمل العدسة العينية مرة أخرى على مضاعفة هذا التكبير لكي نصل إلى التكبير النهائي. ويحسب التكبير النهائي للمجهر بضرب:

تكبير (قوة) العدسة العينية × تكبير (قوة) العدسة الشيئية. وتتكون أغلب المجاهر المستعملة في مختبرات الميكروبيولوجي من ثلاثة عدسات شيئيه هي 10، 40، 100.

أما العدسة العينية فتبلغ قوتها 10 مرات. لذلك فللحصول على التكبير النهائي نضرب 10 أو 40 أو 100 × 10 فيكون تكبير العدسة الصغرى 100 والكبرى 400 والزيتية 1000.

يتركب الميكروسكوب الضوئي من عدة أجزاء ميكانيكية وأخرى ضوئية كما يلي:

أولا: الأجزاء الميكانيكية:

- القاعدة Base: وهو الجزء الذي يرتكز عليه الجهاز ويأخذ أشكال مختلفة حسب الشركة المنتجة.
- الذراع Arm: هو الجزء الذي يحمل أنبوبة الميكروسكوب ويتصل بالمسرح, والضوابط.
- المسرح Stage: هو جزء قابل للحركة في أكثر من اتجاه عن طريق ضوابط جانبية, وتثبت عليه الشريحة الميكروسكوبية عن طريق الماسك Holder.
- الضوابط Adjustments وهى نوعين:
  - ضابط تقريبي Coarse Adjustment: يستعمل لإظهار الصورة.
  - ضابط تقريبي: Fine Adjustment : يستعمل لضبط البعد البؤري بدقة.

ثانيا: الأجزاء البصرية:

- الجزء العيني Eye piece للميكروسكوب, يتكون من:

1. العدسة العينية Ocular lens : وهى مثبتة في اعلي أنبوبة الميكروسكوب ،يتراوح تكبيرها من 6-10 مرات,

ويوجد ثلاثة أنواع من العدسات الشيئية:

- العدسة الصغرى Low power قوة تكبيرها 4-10x .
- العدسة الكبرى High power قوة تكبيرها 40x .
- العدسة الزيتية Oil lens: قوة تكبيرها 100x.(تستعمل لفحص البكتيريا) مع إضافة زيت يسمى السيدر Immersion oil , والغرض الأساسي من استعمال نقطة الزيت هو زيادة الإضاءة.

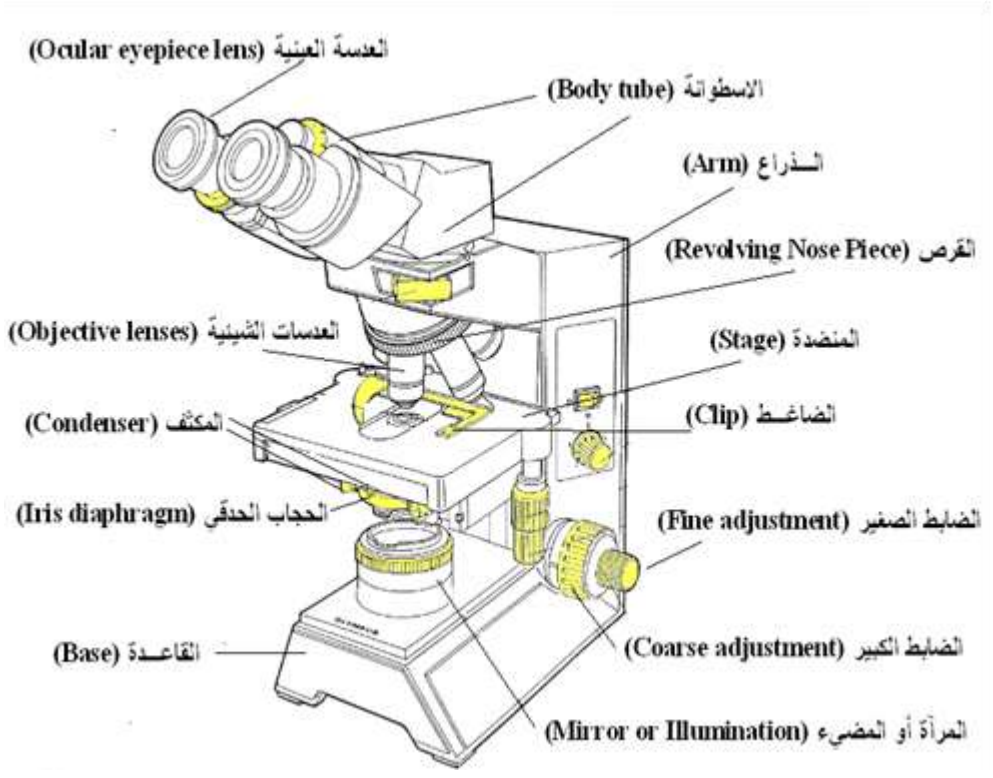
2. المكثف Condenser : يوجد المكثف أسفل المسرح.

يتركب من مجموعة من العدسات مرتبة بطريقة خاصة, تعمل على تجميع الأشعة الضوئية.

يمكن التحكم فيه بواسطة ضابط جانبي, لإدخال اكبر كمية من الإضاءة على العينة أو لتقليل كمية الإضاءة. فكلما زاد تكبير العدسة الشيئية, نحتاج كمية إضاءة اكبر فيضبط على أعلى أوضاعه.

3- المرآة Mirror: توجد أسفل المكثف, تعمل على توجيه الإضاءة إلى المكثف.

4- مصدر الإضاءة Light source : مصباح لإصدار الضوء, ويمكن التحكم في شدته.



2-المجهر المتالق Fluorescence microscope

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

3 – المجهر التشريحيStereo "Dissecting" microscope

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 -50 مرة

4 – المجهر المقلوب Inverted microscope

مجهر ضوئي يكون فيه العدسات الشيئية والعينية اسفل المسرح والمصدر الضوئي يكون الى الاعلى فوق المسرح , يستخدم لمراقبة الخلايا الحية، والأنسجة أو الكائنات في الجزء السفلي من حاوية كبيرة (مثل قارورة زراعة الأنسجةاو طبق نسيجي زرعي) ويستخدم لفحص الكائنات الحية غالبا . وهذا يسمح لك فحص العينة تحت الظروف الطبيعية أكثر مما على شريحة زجاجية

5-المجهر الإلكتروني Electron microscope

يستخدم للحصول على تفاصيل دقيقة ومفيدة 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 الضوئي حيث يمكن الوصول إلى تكبيرات تزيد عن مليون مرة. إذا قمنا بتكبير الصورة الفوتوغرافية الناتجة عن المجهر الإلكتروني.

1-المجهر الالكتروني النافذ Transmission Electron microscope(TEM)يستخدم لدراسة المحتويات الداخلية للخلية.

2- المجهر الالكتروني الماسح scanning electron microscope(SEM)

يستخدم لدراسة السطح الخارجي للخلية.

ان استعمال سيل او تيار من الالكترونات والتي لها طول موجة قصير جداً تمكن من الحصول على قدرة تمييز عالية جداً وبهذا فان المجهر الالكتروني له قدرة او قوة تمييز عالية تصل الى حوالي 10-20 انكستروم مع قوة تكبير عالية تصل الى 50 الف او اكثر. يستخدم تيار كهربائي بقوة الاف الفولتات عوضاً عن الضوء المستخدم في المجهر الضوئي ويكون طول موجة شعاع الالكترونات

قصيراً جداً لذلك يستطيع تحطيم اي شيء يوضع مقابل هذه الالكترونات ولهذا لا تستخدم عدسات زجاجية بل تستخدم ملفات كهربائية مغناطيسية Electromagnetic fields تقوم مقام العدسات الزجاجية.

الخلية Cell

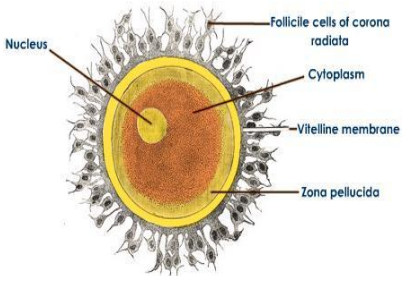
الخلية : الخلية هي الوحدة التركيبية والوظيفية للكائن العضوي الحي ، وهي تنتج من خلية أخرى موجودة من قبل، وترجع تسميتها بهذا الاسم إلى مشابهتها لشكل خلايا النحل وقد اشتق الاسم الأجنبي (Cell) من المصدر اللاتيني Cellula ومعناه المسكن الصغير.وتتكون من السايتوبلازم الذي يحوي عضيات اضافة الى النواة ومحاطة بالغشاء البلازمي.

*شكل و حجم الخلية Shape and size of cell:

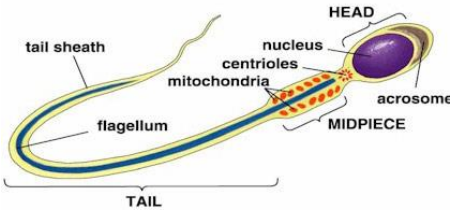
تمر جميع الخلايا بانقسامات متعددة قبل التخصص وتسمى هذه ب Proliferation ثم تبدا مرحلة التخصص Specialization حيث ان شكل الخلية وحجمها تتكيفان الى الوظائف المتخصصة ضمن الكائن التعدد الخلايا وتبعا الى تواجدها ووظيفتها.
يختلف حجم الخلايا اذ يتراوح من 0.2 ميكرون في البكتريا الى ٦ انج كبيضة النعامة.
يمكن ان تكون اشكالها مختلفة ومتغيرة ومتحوله، حيث تغير شكلها باستمرار كالاميبا وخلايا WBC وبعضها له شكل ثابت كالخلايا العصبية وخلايا البيض والخلايا العضلية وتكون اشكالها بيضوية ،مغزلية و مقعرة .

* امثلة عن الخلية Example of the cell:

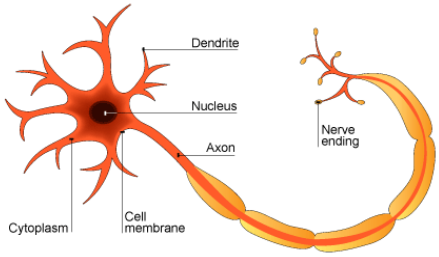
١-خلية البيضة Egg cell



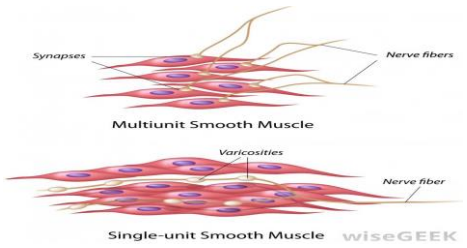
٢-خلية الحيمن Sperm cell



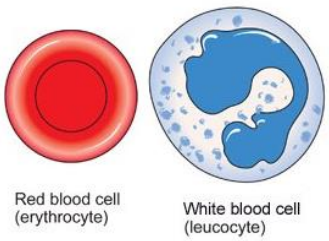
٣- الخلية العصبية Nerve cell



٤ ـ الخلية العضلية Muscle cell

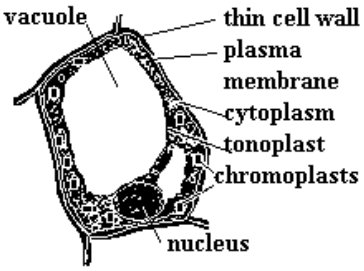


٥- WBC & RBC

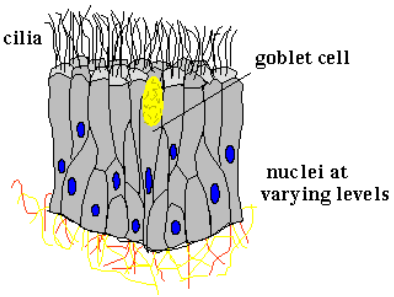


9.58 Parenchyma cell of tomato

٦ـالخلية البرنكيمة في النبات



٧ـالخلية الهدبية Ciliated cell



*علاقة علم الخلية بالعلوم الأخرى

يعد علم الخلية من أهم العلوم المستخدمة في كافة الدراسات البيولوجية حيث أن الخلية هي مركز معظم العمليات الحيوية في جسم الكائن الحي. لذا يتصل علم الخلية بكل فروع علم الحياة:

علم الخلية ، علم النبات، علم الحيوان ، علم التصنيف ، علم الأحياء الدقيقة، علم وظائف الأعضاء ، علم الأجنة ، علم التشريح ، علم الأمراض

كما انبثق من علم الخلية عدة علوم حديثة مثل
علم الخلية ، علم وظائف الخلية ، علم كيمياء الخلية ، علم فيزياء الخلية ، علم وراثة الخلية.

***وحدات الأبعاد المستخدمة في علم الخلية Units of dimensions used in cell :**

ميكرون (μ) = 10^{-6} متر

نانوميتر (nm) = 10^{-9} متر

أنجستروم(Å) = 10^{-10} متر
بيكومتر او ميكروميكرون (pm) 10^{-12} متر

***أنواع الخلايا حسب درجة تطورها وتعقيد تركيبها**

خلايا بدائية النواة
تشمل البكتيريا ، بكتيريا خضراء مزرقة

خلايا حقيقية النواة
تشمل الطلائعيات والفطريات توالي نباتية ، توالي حيوانية

مقارنة بين الخلايا البدائية النوى والخلايا الحقيقية النوى

أجزاء الخلية	خلايا بدائية النوى	خلايا حقيقية النوى
الحجم	يتراوح بين 10-0.02مايكرون	حجم الخلايا 10000-1000مايكرون
الجدار الخلوي	موجود (غير سيليلوزي)	موجود (سيلوزي في الخلايا النباتية)
كروموسومات	موجودة بشكل مفرد يتكاثر بلانقسام اللاجنسي البسيط	موجودة ومتعددة ينقسم الكروموسوم الواحد انقسام خيطي
DNA	غير مرتبطة	مرتبطة مع البروتينات
ميتوكندريا	غير موجودة	موجودة
بلاستيدات	غير موجودة	موجودة الخلية فقط في الخلية النباتية
رايبوسومات	صغيرة ومنتشرة في السيتوبلازم	أكثر انتشاراً
أجسام جولجي	غير موجودة	موجودة

***وظائف الخلية وخواصها Functions and properties of cell:**

١- الاستقلاب أو التطور الخلوي Cellular metabolism or development:
تتعرض الاغذية الداخلة إلى الخلية لسلسلة من التغيرات تحيلها إلى عناصر مماثلة لبناء البروتوبلازم فتندمج معها تماماً ، ثم تعمد الخلية إلى تخريب بعض عناصرها للحصول على القدرة وينتج عن ذلك فضلات تطرحها الخلية ، وهذه العمليات تدعى (التمثل و تضاد التمثل) ويطلق على التبدلات الكيماوية التي تحدث في عمليتي التمثل وتضاد التمثل اسم (الاستقلاب)

٢- التنفس و الاختمار Respiration and fermentation:
ويعني اكسدة المواد الغذائية داخل الخلية وينتج عن ذلك توليد قدرة حرارية وعندما يتعذر وصول الاوكسجين تلجأ الخلايا لتوليد القدرة عن طريق الاختمار للكربوهيدرات ، وينتج حامض اللبن و حامض الكربونيك و الكحول .

٣- الافراز و الافراغ Secretion and excretiong:

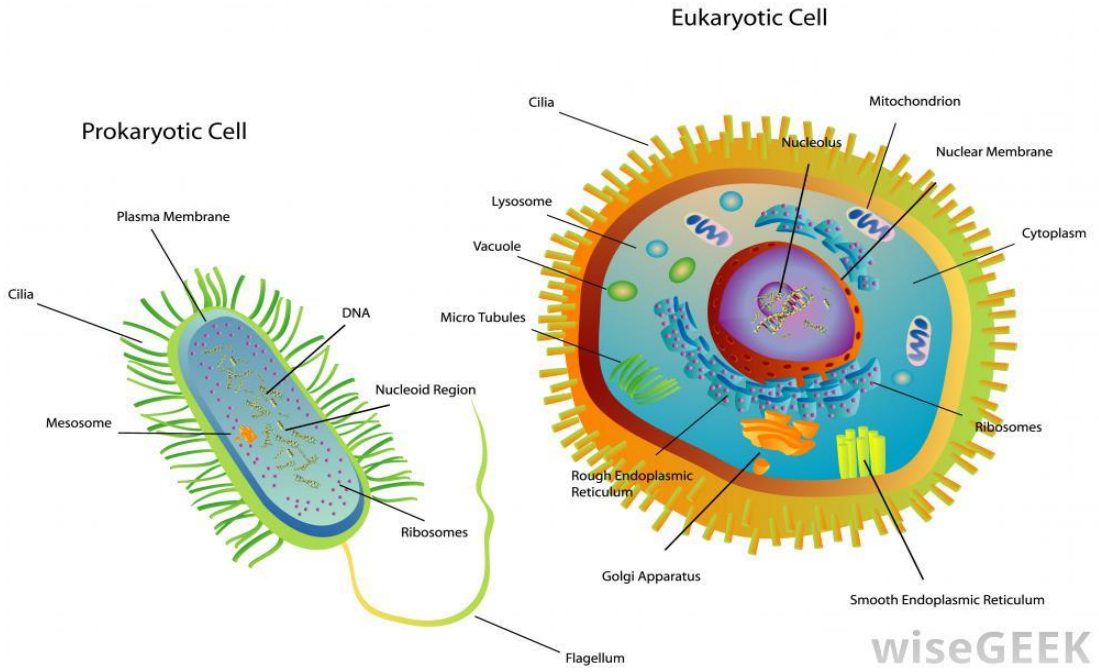
تفرز الخلايا مواد عضوية مثل الهرمونات و اللعاب و الخمائر أما الافراغ فهو طرح الفضلات مثل افراغ البول .

٤- الامتصاصAbsorption :
هو مقدرة الخلايا على ادخال عناصر أو مواد منحلة إلى باطنها

٥- قابلية الاثارةPortability of excitement :
وهي أهم خاصيات الخلية ، وهي عبارة عن إمكانية استجابة الخلايا عند تنبيهها بمنبه فيزيائي أو كيميائي ، وتتصف الإثارة بوحدة رد الفعل مهما اختلف المنبه ، مثال ذلك (انقباض الكريات البيض عند تعرضها للضوء أو الكهرباء أو الرض)

٦- النقل Transport:
هي قدرة الخليه على نقل التنبيه الحادث من مكان حدوثه إلى مكان آخر وتظهر هذه الخاصية بوضوح في الخلايا العصبية .

٧- الحركةMovement :
للخلية نوعان من الحركة : داخلية وهي حركات جزيئاتها الحية وغير الحية و النواة و النوية و التغصنات و الاهداب و السياط ، و حركة خارجية وهي تغير الخلية لمكانها مثل حركة النطف (الحيوانات المنوي) و البويضات .



الخلايا حقيقية النواة :

تختلف الخلايا حقيقية النواة اختلافاً كبيراً في أحجامها وأطوالها وبالرغم من هذه الاختلافات فإن الدراسات أظهرت وجود صفات تركيبية أساسية تشترك فيها معظم الخلايا حقيقة النواة .
تتكون الخلية حقيقية النواة من ثلاثة أجزاء رئيسة هي :

١- الغشاء البلازمي
٢- السيتوبلازم
٣- النواة

١_ الغشاء البلازمي (Plasma Membrane)

ـ نظراً لضآلة سمك هذا الغشاء والذي يتراوح بين (٧,٥ – ١٠ نانوميتر) لم يتمكن العلماء من مشاهدته فعلاً إلا بعد اختراع المجهر الإلكتروني .
ـ في عام ١٩٧٢ اقترح العالمان سنغر (Singer)النموذج الفسيفسائي السائل الذي استطاع تفسير الظواهر والوظائف المتعلقة بغشاء الخلية .

تركيبه :

يتركب الغشاء البلازمي وفقاً للنموذج الفسيفسائي من طبقتين من الليبيدات المفسفرة والبروتينات التي تتوزع توزيعاً غير منتظم فيها. وهذه البروتينات والليبيدات تتحرك باستمرار وتتغير مواضعها بالنسبة لبعضها ولهذا وصف الغشاء ـ وفق هذا النموذج ـ بأنه سائل .

الخصائص الحيوية للغشاء البلازمي :

١- ينمو مع نمو الخلية وازدياد حجمها .
٢- لديه المقدرة على التجدد في المناطق التي يتعرض فيها للتمزق عن طريق بناء جزيئات بروتينية وليبيدات مفسفرة وإضافتها .
٣- تلعب البروتينات المكونة للغشاء أدواراً مهمةً ، فبعضها يعمل عمل الانزيمات والنواقل ، كما أن لبعضها دوراً في استقبال المعلومات الكيميائية مثل الهرمونات .
٤-يعود الاختلاف بين خلية وأخرى إلى التنوع في أنواع الكربوهيدرات المرتبطة بجزيئات البروتينات مثل فصائل الدم . A,B,AB,O

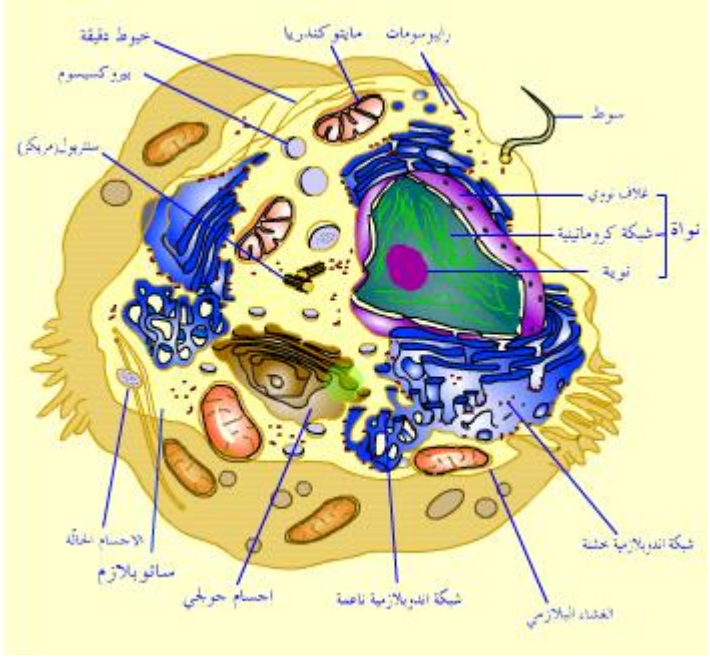
٢_ السيتوبلازم (Cytoplaxm)

السيتوبلازم هو المادة الحية جميعها في الخلية ما عدا الغشاء البلازمي والنواة ويتكون من مجموعة من العضيات معلقة في سائل أساسي يسمى السيتوسول ويتألف السيتوسول في معظمه من الماء الذي يحتوي على أملاح معدنية ومواد عضوية ذائبة . وتلعب الأغشية

الموجودة في السيتوبلازم على تقسيمه إلى وحدات وظيفية تسمى العضيات الخلوية حيث يختص كل منها بوظائف معينة ويسمح بحدوث تفاعلات كيميائية حدوثاً مستقلاً دون تداخل .
العضيات الخلوية :
أ- الشبكة الاندوبلازمية : تتكون من قنوات وأكياس وحويصلات مملوء بسائل ومحاطة بأغشية لها تركيب الغشاء البلازمي .
يتلاءم تركيب الشبكة الاندوبلازمية وموقعها مع وظائفها المختلفة إذ أن قنوات الشبكة المنتشرة في معظم أجزاء السيتوسول والمتصلة مع الغلاف النووي والغشاء البلازمي يجعلها قادرة على القيام بالوظائف التالية :
١- تعمل كجهاز نقل بين الاجزاء الخلوية في السيتوبلازم من جهة وبين الخلية والبيئة الخارجية من جهة اخرى .
٢- تعطي هذه الشبكة الدعامة للخلية.
٣- تعمل على تقسيم الحيز الداخلي الى مناطق متخصصة بوطائف معينة
٤- تزيد من مساحة السطح الداخلي للخلية وبالتالي زيادة التفاعلات الحيوية المختلفة
تتميز الشبكة الاندوبلازمية إلى نوعين يتصلات ببعضهما

وجه المقارنة	الشبكة الاندوبلازمية الخشنة	الشبكة الاندوبلازمية الملساء
التركيب	قنوات وأكياس وحويصلات مملوءة بسائل محاطة بأغشية لها نفس تركيب الغشاء البلازمي وتقع على هذه الأغشية رايبوسومات .	قنوات واكياس وحويصلات مملوءة بسائل محاطة بأغشية لها نفس تركيب الغشاء البلازمي .
الوظيفة	إفراز البروتينات .	١- بناء الليبيدات . ٢- أيض الكربوهيدرات . ٣- تخزين الكالسيوم اللازم لانقباض العضلات .

ب- الرايبوسومات (Ribosomes)
عضيات كروية تبنى داخل النوية وتنقل الى السيتوسول لتبقى حرة فيه أو ترتبط بأغشية الشبكة الاندوبلازمية أو بالغشاء النووي. وللريبوسومات دوراً مهماً في بناء البروتين .



ج- أجسام جولجي (Golgi Bodies)
- أجسام جولجي عبارة عن تراكيب غشائية تشمل حزمة من أكياس منبسطة مرتبة ترتيباً متوازياً ومن حويصلات كروية ذات أغشية رقيقة تقع بالقرب من حافة الأكياس .
- تعمل أجسام جولجي على تعديل تركيب البروتينات المصنعة في الرايبوسومات وتصنيفها وإعدادها بشكلها النهائي لتستخدم في داخل الخلية او لتفرز خارجها كما تعمل

على تصنيع بعض جزيئات الكربوهيدرات عديدة التسكر .

د- الأجسام الحالة (Lysosomes)

- عبارة عن تراكيب مختلف الأشكال محاطة بغشاء مفرد رقيق تنشأ عن حويصلات تنفصل من أجسام جولجي .
- تحتوي الأجسام الحالة على أنزيمات التحليل المائي التي تحلل المركبات العضوية المعقدة إلى مواد بسيطة بمعزل عن السيتوبلازم .
- آلية عمل الجسم الحال : يتحد الجسم الحال مع الفجوات الغذائية التي تدخل بعملية البلعمة وتقوم الأنزيمات الموجودة فيه على تحليل المواد المعقدة الى مواد بسيطة تخرج للسيتوبلازم ليستفاد منها .

هـ- الميتوكندريا

- توجد هذه العضيات في معظم الخلايا حقيقة النوى .
– تتنوع في أشكالها (كروية ، خيطية ، وغالباً أسطوانية) .
– عددها وحجمها وتوزيعها في الخلية يختلف باختلاف الحالة الفسيولوجية للخلية .
– تكثر هذه العضيات في الخلايا ذات النشاط الحيوي العالي .
– تقوم هذه العضيات بوظيفة مهمة إذ تعمل كمحطات لإنتاج الطاقة .

هـ- البلاستيدات (Plastids)

– توجد في الطحالب وبعض الخلايا النباتية .
– تصنف حسب وجود الصبغة إلى :
١- بلاستيدات خضراء : تحتوي على صبغة الكلوروفيل الخضراء وهي الأكثر انتشاراً .
٢- بلاستيدات ملونة : تحتوي على أصباغ ملونة بالإضافة إلى صبغة الكلوروفيل .
٣- بلاستيدات عديمة اللون : تخلو من الأصباغ ، وتعمل على تخزين المواد الغذائية كالنشا والدهون والبروتينات .

ز- الفجوات الخلوية (Vacuoles)

فجوات مملوءة بمحلول مائي وتوجد في معظم الخلايا وتصنف حسب وظائفها إلى :
١- فجوات منقبضة
٢- فجوات غذائية
٣- فجوات عصارية

ي- الأسواط والأهداب (Flagella & Cilia)

- عبارة عن زوائد شعرية تمثل امتدادات للغشاء البلازمي ولها دور في إحداث الحركة.
- التركيب - المقطع العرضي في الهدب او السوط يبين مجموعة من الأنيبيبات الدقيقة المحاطة بغمد غشائي وتترتب هذه الأنيبيبات الدقيقة على شكل محيط دائرة يحتوي على تسع مجموعات مزدوجة من الأنيبيبات وعلى أنيبيبين منفردين في المركز ، ويعرف هذا النمط التركيبي بالنمط (٩ + ٢) .
- يخرج من الأنيبيبات المزدوجة خيوط بروتينية تسمى أذرع داينين ولها دور في آلية حركة السوط والهدب .
- يتصل الهدب أو السوط في السيتوسول بالجسم القاعدي الذي يشبه في تركيبه المريكز .

تركيبة سطح الخلية :

- الغشاء البلازمي يمثل الحدود الخارجية للمادة الحية إذ أن معظم الخلايا تصنع وتفرز مواداً خارجية تحيط بالغشاء البلازمي ، وتشكل سطح الخلية ، ومن أمثلة هذه المكونات الجدار الخلوي في الخلايا النباتية والغلاف الخلوي في الخلايا الحيوانية .

أ- الجدار الخلوي : يحيط بالغشاء البلازمي لخلايا النبات والفطريات والطحالب والبكتيريا .

تركيبه : يتكون الجدار الخلوي في النبات من السيليلوز وهو مادة كربوهيدراتية عديدة السكر تأخذ شكل ألياف بينها فراغات تسمح بمرور الماء وبعض المواد الذائبة ، وتكون مغمورة داخل مادة خلالية تتكون من مزيج من مواد بروتينية ودهنية ومواد كربوهيدراتية عديدة التسكر تشمل الليغنين والهميسليلوز والبكتين .

ب- الغلاف الخلوي : تحاط الخلايا الحيوانية بغلاف خلوي يتكون من مواد عضوية تشمل مواد كربوهيدراتية لزجة وبروتينات سكرية وتعمل هذه المواد على التصاق الخلايا ببعضها وعلى تقوية سطوحها ، كما تسهم في تمييز الخلايا لبعضها .

آليات نقل المواد عبر غشاء الخلية :

الطرق التي يتم بها نقل المواد عبر غشاء الخلية

١- الانتشار البسيط : الحركة العشوائية لذرات وجزئيات المادة ذات االتركيز العالي إلى المنطقة ذات التركيز المنخفض .

ـ تلعب خاصية الانتشار دوراً مهماً في تبادل المواد بين الخلية والوسط المحيط بها ، ومن هذه المواد الأكسجين وثاني أكسيد الكربون والمواد التي تذوب في الليبيدات .

٢- الخاصية الأسموزية : عملية انتقال جزيئات الماء (المذيب) من المحلول ذي التركيز الأقل في المادة المذابة إلى المحلول الأكثر تركيزاً فيها عبر غشاء شبه منفذ .

خلايا موضوعة في محاليل مختلفة التركيز

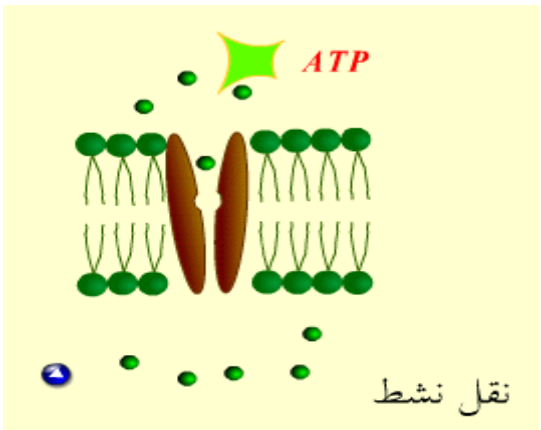
٣- الانتشار المسهل : عملية انتقال الجزيئات الذائبة في الماء من المحلول ذي التركيز العالي للمادة إلى التركيز المنخفض عبر الغشاء البلازمي للخلية (مع تدرج التركيز) .

علل / سرعة دخول بعض الجزيئات الذائبة في الماء خلال الاغشية الخلوية أكثر من سرعتها المتوقعة عن طريق خاصية الانتشار ؟

تلعب بعض بروتينات الغشاء البلازمي دوراً مهماً في دخول المواد الى الخلية وتسمى البروتينات الناقلة وهناك نوعان من هذه البروتينات هما :

١- النوع الاول يشكل قنوات يمكن لبعض أنواع الأيونات الدخول منها بخاصية الانتشار البسيط .

٢- النوع الثاني يرتبط مع الجزئ المراد نقله ، لينتقل عبر الغشاء البلازمي ثم ينفصل عنه بعد دخوله الخلية . ويرافق ذلك تغييرات مؤقتة في شكل البروتين ، وتتم عملية النقل مع اتجاه تدرج التركيز .



ومن الأمثلة على الانتشار المسهل : الحركلة السريعة لجزيئات جلوكوز وفركتوز عبر خلايا الأمعاء الدقيقة وخلايا الكبد والعضلات .

٤- النقل النشط : عملية انتقال بعض الايونات من منطقة التركيز المنخفض الى منطقة التركيز المرتفع بمساعدة البروتينات الناقلة ، وفي هذه الحالة يتم استهلاك جزيئات الطاقة ATP لتنشيط الناقل للقيام بعمله .

في الخلايا النباتية يكون تركيز (NO_3^- , K^{+1}) أعلى من تركيزها في محلول التربة ومع ذلك تحتاج النباتات إلى هذه الأيونات باستمرار لذا تدخل هذه الايونات ضد تدرج التركيز أي من منطقة التركيز المنخفض الى منطقة التركيز العالي .

٥- البلعمة (Phagocytosis):

البلعمة هي قدرة الغشاء البلازمي على الانثناء إلى الداخل في المنطقة التي يلامس بها الأجسام الكبيرة ، بحيث تصبح هذه الاجسام داخل الانغماد الذي يتحول إلى فجوة ضمن السيتوسول
أهمية البلعمة :
١- تغذية الكائنات وحيدة الخلية مثل الاميبا .
٢- إدخال الجزيئات الكبيرة والمواد الصلبة الى داخل الخلية .
٣- ابتلاع الاجسام الغريبة بوساطة خلايا الدم البيضاء .

أنواع البلعمة :
١- أكل خلوي : في حالة كون المواد التي ابتلعتها الخلية صلبة.
٢- **شرب خلوي** : في حالة المواد التي ابتلعتها الخلية سائلة.

وأخيرا: نذكر الفرق بين الانتشار البسيط ، الانتشار المسهل ، النقل النشط :
الانتشار البسيط : تنتقل الجزيئات مع تدرج التركيز من الأعلى تركيزاً إلى الأقل تركيزاً بدون نواقل وبدون طاقة .
الانتشار المسهل : تنتقل الجزيئات مع تدرج التركيز ولكن عن طريق نواقل ولا يحتاج الى طاقة .
النقل لنشط : يحتاج الى طاقة وتنقل الجزيئات ضد تدرج التركيز .

مكونات الخلية Cell components

تتكون الخلية من جزئين رئيسيين هما : 1- الغشاء الخلوي (البلازمي) 2- الكتلة البروتوبلازمية وهذا التقسيم يؤدي إلى كفاءة الخلية في أداء وظائفها ،

1-غشاء الخلية (البلازمي)Plasma cell membrane

2- الكتلة البروتوبلازمية او البروتوبلازم Protoplasm

تضم السيتوبلازم، عضيات الخلية والنواة بالاضافة الى المكونات العضوية والمكونات غير العضوية :

السيتوبلازمCytoplasm

عضيات الخلية Organelles تشمل التالي:

الشبكة الإندوبلازمية Endoplasmic reticulum وتتميز الشبكة الاندوبلازمية إلى نوعين هما **الشبكة الاندوبلازمية الخشنة Rough Endoplasmic Reticulum و الشبكة الاندوبلازمية الملساء Smooth Endoplasmic Reticulum**

الرايبوسومات Ribosomes

جهاز جولجي Golgi apparatus

البلاسيتدات Plastids (الخلية النباتية)

الحويصلات الإفرازية Secretory Vesicles

الليسوسومات Lysosomes

الميتوكندريا Mitochondria

الأجسام المركزيةCentrioles

الفجوات Vacuoles

الأهداب والأسواط Flagella & Cilia

النواة Nucleus: وتتكون من

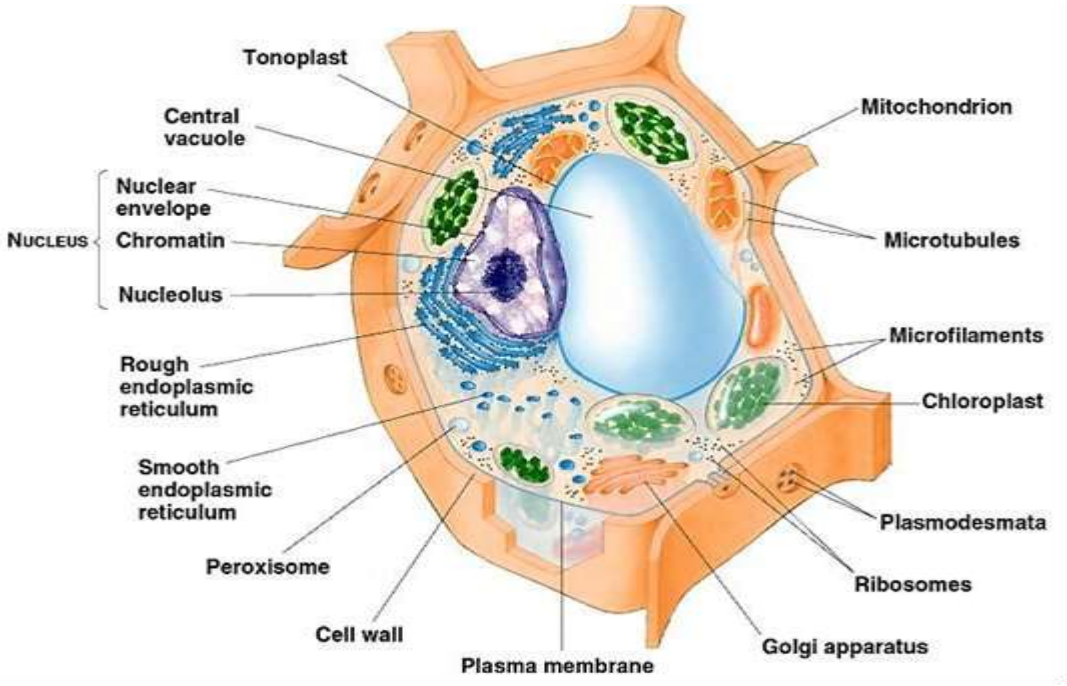
الغلاف النووي Nuclear envelope,السائل النووي Nuclear fluid , النوية, والحامض النووي DNA و RNA ةالريبوسوماتRibosomes ,العصير النووي Nuclear juice في خلية النبات

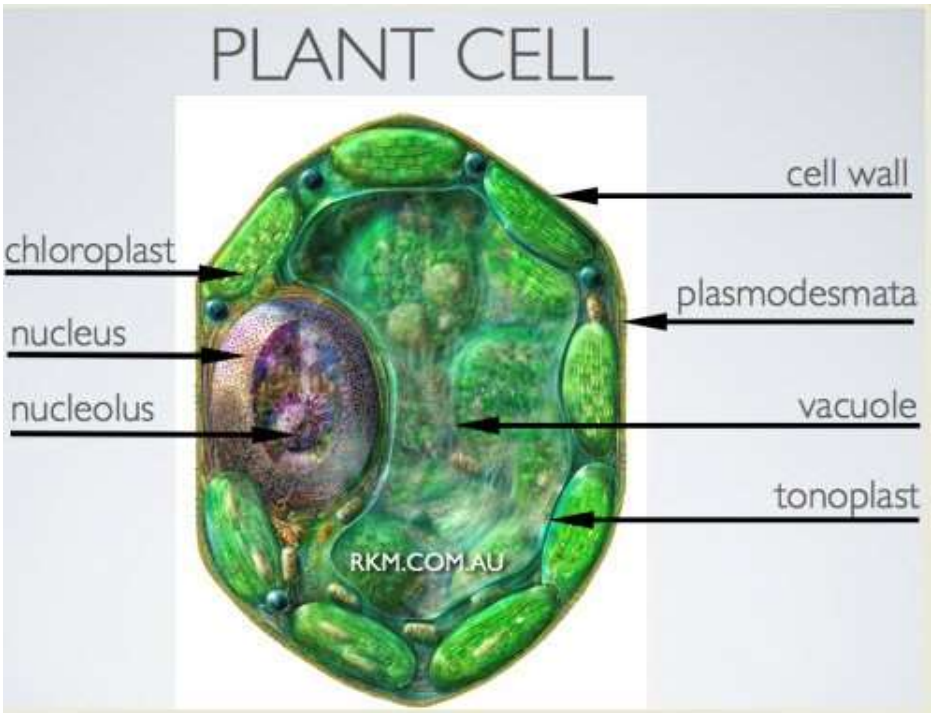
المكونات العضوية Organic Components

ان المكونات العضوية هي عبارة عن سلاسل طويلة مكونة من تكرار وحدات معينة متصلة مع بعضها بواسطة روابط كيميائية وتسمى هذه الوحدات البنائية مونومير (احادي الوحدة) Monomer بينما تدعى الجزيئة الكبيرة المكونة من تكرار المونوميرات بال بوليمير (متعدد الوحدات Polymer) ان اختلاف عدد المونوميرات المكونة لجزيئة كبيرة معينة يؤدي الى تكوين جزيئات ذات صفات مختلفة منها ومن المكونات العضوية للخلية **الكاربوهيدرات والبروتينات والليبيدات Lipids والاحماض النووية, حبيبات الاليرون Aleurone grains(الخلية النباتية).**

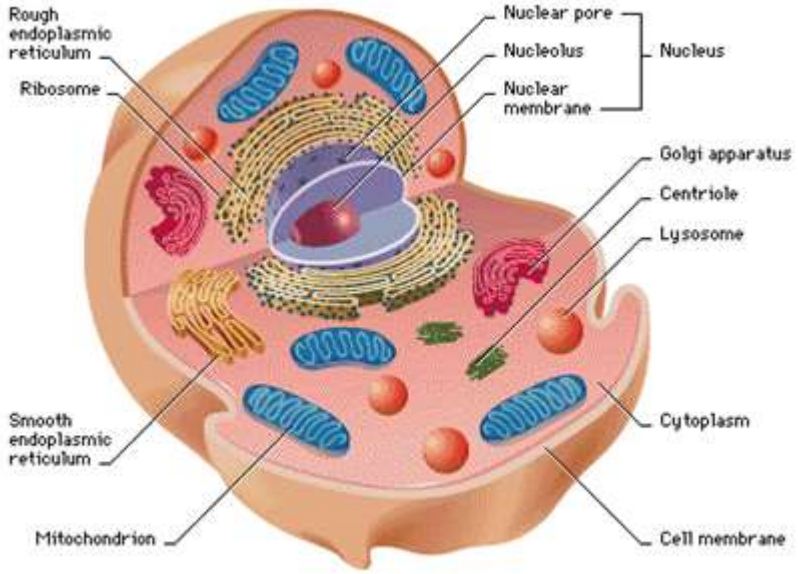
المكونات غير العضوية Inorganic components: وتشمل : ماء , املاح وايونات , غازات , المنظمات الحيوية Bio-Buffers, البلورات Crystals(الخلية النباتية)

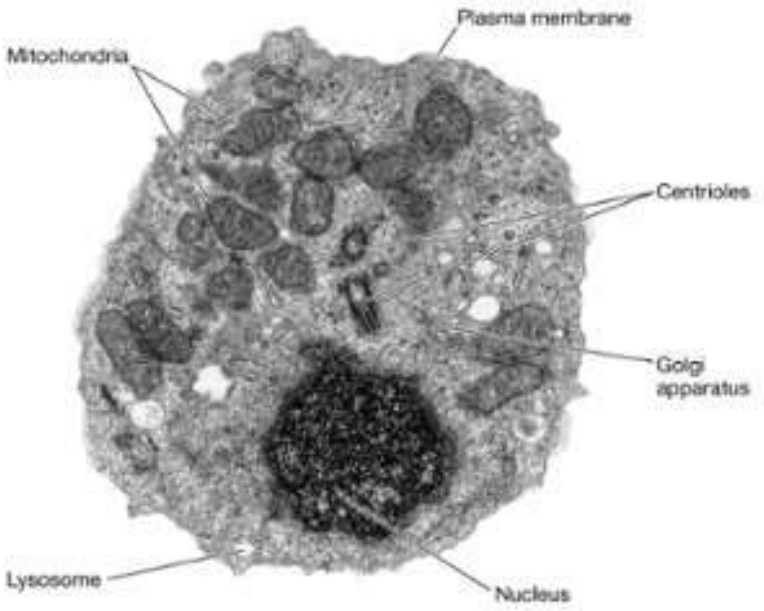
خلية نباتية


Tonoplast
Central vacuole
Nucleus
Nuclear envelope
Chromatin
Nucleolus
Rough endoplasmic reticulum
Smooth endoplasmic reticulum
Peroxisome
Cell wall
Plasma membrane
Golgi apparatus
Ribosomes
Plasmodesmata
Chloroplast
Microfilaments
Microtubules
Mitochondrion


PLANT CELL
cell wall
chloroplast
plasmodesmata
nucleus
nucleolus
vacuole
tonoplast
RKM.COM.AU

خلية حيوانية





*الاختلافات بين الخلية الحيوانية والخلية النباتية

ت	التركيب	الخلية الحيوانية	الخلية النباتية
1	**جدار الخلية**	**غير موجود**	**موجود ومتكون من السيليلوز**
2	**الشكل**	**دائري او غير منتظم الشكل**	**مستطيل منتظم الشكل**
3	**الحويصلات**	**واحدة او اكثر صغيره (اصغر من في النبات)**	**واحدة, كبيرة مركزية وتشكل 90% من حجم الخلية**
4	**الاجسام المركزية**	**موجودة في جميع الخلايا الحيوانية**	**توجد فقط في النباتات الواطئة**
5	**البلاستيدات**	**لاتوجد**	**موجودة**
6	**الغشاء البلازمي**	**فقط غشاء الخلية**	**عشاء الخلية اضافة الى جدار الخلية**
7	**لايسوسومات**	**موجودة في السايتوبلازم**	**موجودة وعادة غير واضحة**
8	**الاهداب**	**موجودة**	**اغلب النباتات لاتحتوي اهداب**

طرق العمل:

أولاً : دراسة الخلايا النباتية :

تهدف هذه التجربة دراسة الخلية النباتية للتعرف على بعض مميزاتها التركيبية والتعرف على شكل الخلايا وكمثال على ذلك سنقوم بدراسة وتحضير خلية البصل .

المواد والأدوات اللازمة :

بصلة -ملقط –مشرط –شرائح –أغطية شرائح –صبغة محلول اليود أو أزرق الميثيلين –مجهر ضوئي .

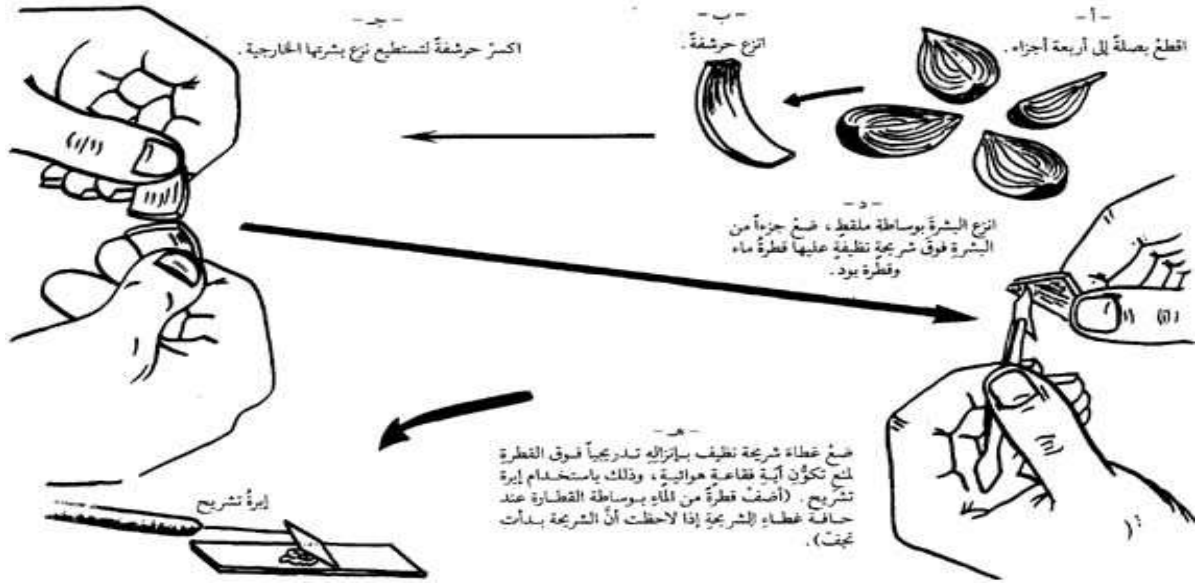
خطوات العمل :

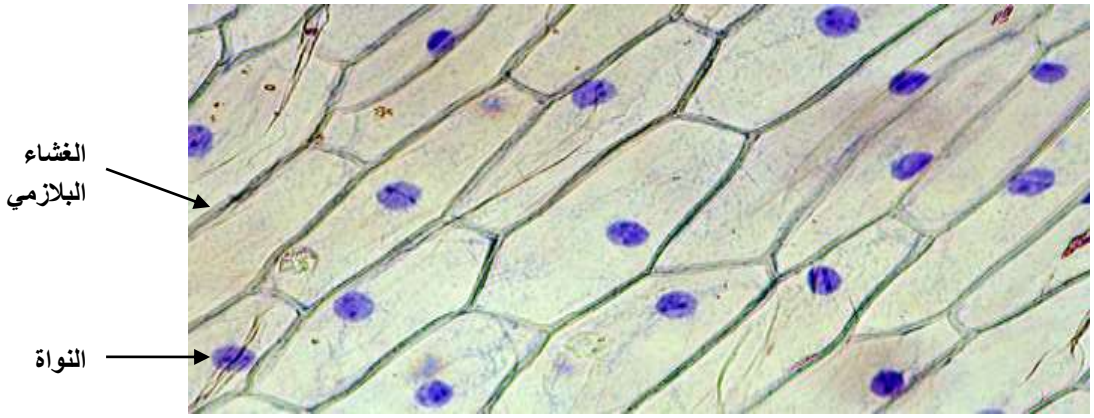
1- خذ بصلة واقطعها نصفين بواسطة سكين أو مشرط إلى قطع بمساحة 1 سم مربع (يمكن وضع القطع في كأس به ماء لتسهيل نزع الغشاء الرقيق من البصلة) .

2- انزع الطبقة الداخلية الرقيقة المغلفة للجزء اللحمي من البصل لإحدى القطع باستخدام ملقط عريض الحافة برفق لمنع تمزق الغشاء .

3- ضع هذا الغشاء في منتصف شريحة زجاجية نظيفة وضع عليها قطرة من صبغة اليود أو أزرق الميثيلين المخفف ثم غط الشريحة بغطاء الشريحة .

4- افحص الشريحة تحت المجهر باستخدام العدسة الماسحة (×4) ثم العدسة الصغرى (×10) ثم الكبرى (× 40) للتعرف على شكل خلايا البصل مع الرسم .





خلية بصل

ثانياً : دراسة الخلايا الحيوانية :

المواد والأدوات اللازمة :

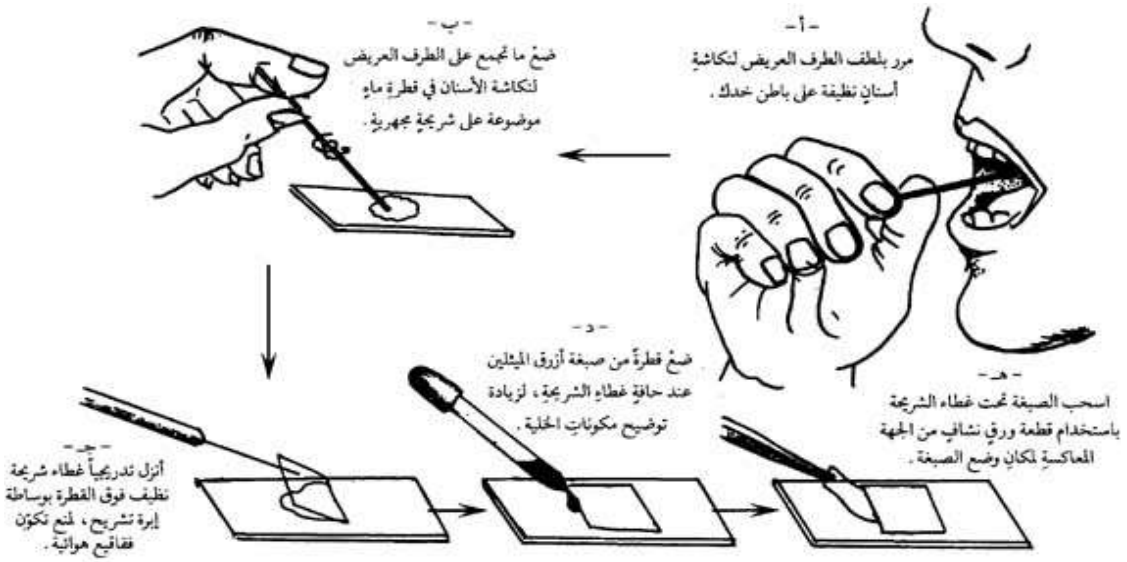
شرائح –أغطية شرائح –صبغة محلول اليود أو أزرق الميثيلين –مجهر ضوئي – نكاشة أسنان

خطوات العمل :

1- خذ بواسطة نكاشة أسنان مسحة من الطبقة الداخلية المبطنة لسطح الخد .

2- افردها على سطح شريحة نظيفة وضع نقطة من صبغة أزرق الميثيلين فوقها .

3- جفف الزائد من الصبغة بورق نشاف .



خلية خد

دورة حياة الخليه cell cycle

سلسلة من التغيرات التي تحدث قي الخلية ابتداءا من بداية تكوينها من الخليه الام وحتى اللحظه التي تنتهي فيها الانقسامات وتكوين خلية جديده اذ تخضع الخلية لدورة حياة تتضمن مراحل متعاقبة تمر بها خلال نموها وتضاعفها. ويمكن ايضا التعبير عن دورة حياة الخلية بأنها الفترة الزمنية من عمر الخلية الممتدة من انقسام خلوي إلى االنقسام الخلوي التالي الذي يعقبه.

تقسم دورة حياة الخليه الى :

- المرحلة البينية Interface

تاخد هذه المرحلة مايقارب ٩٠% من زمن دورة حياة الخلية وتنقسم الى ثلاث اطواروهي :

١-طور النمو الاولG1 (الفترة الفاصلة الاولى First gap phase)
يتم فيه تصنيع البروتينات وتزداد كمية السايتوبلازم وعدد العضيات بشكل سريع وتسمى الكروموسومات هنا بالكروماتين
٢-طور بناء الDNA(S)(Synthesis phase)
يتضاعف فيه الDNA وكل كروموسوم يتكزن من كروماتيدين متطابقين
٣-طور البناء الثاني (G2) (الفترة الفاصلة الثانية Second gap phase)
يحدث فية نمو سريع تحضيرا للانقسام

- **مرحلة انقسام الخلية cell division**

- تحدث عملية الانقسام الخلوي بشكل مستمر،اذ تنقسم الخليه لتحل محل خلية اخرى تالفه او ميته ،من اجل نمو التكاثر والاهم من ذلك ان تتوقف عن الانقسام في الوقت المناسب ، تمر الخلية بعملية انقسامها بعمليتين متتاليتين هما انقسام النواة وانقسام السايتوبلازم يتضمن انقسام نواة الخلية نوعين من الانقسامات

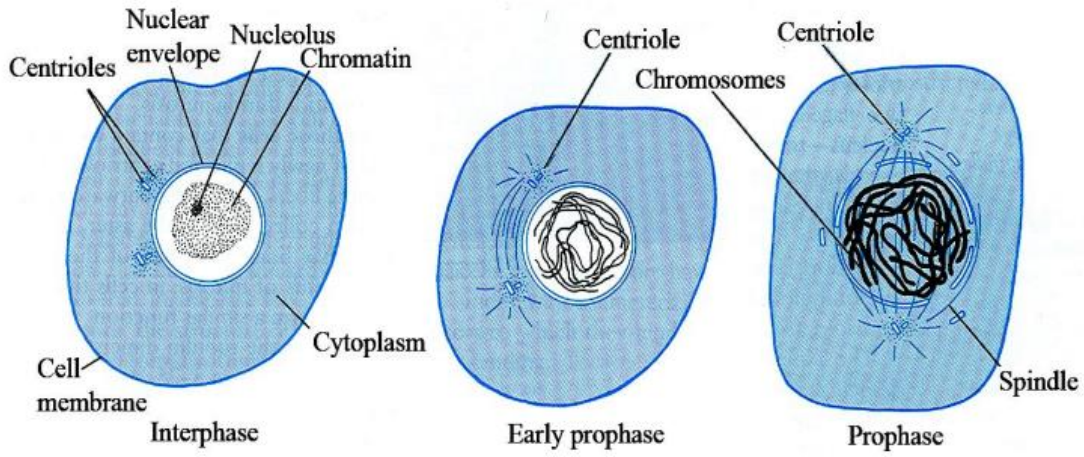
- Mitosisالانقسام المباشر
- Meiosisالانقسام غير المباشر

الانقسام الاعتيادي الميتوزي-غير المباشر MITOSIS .

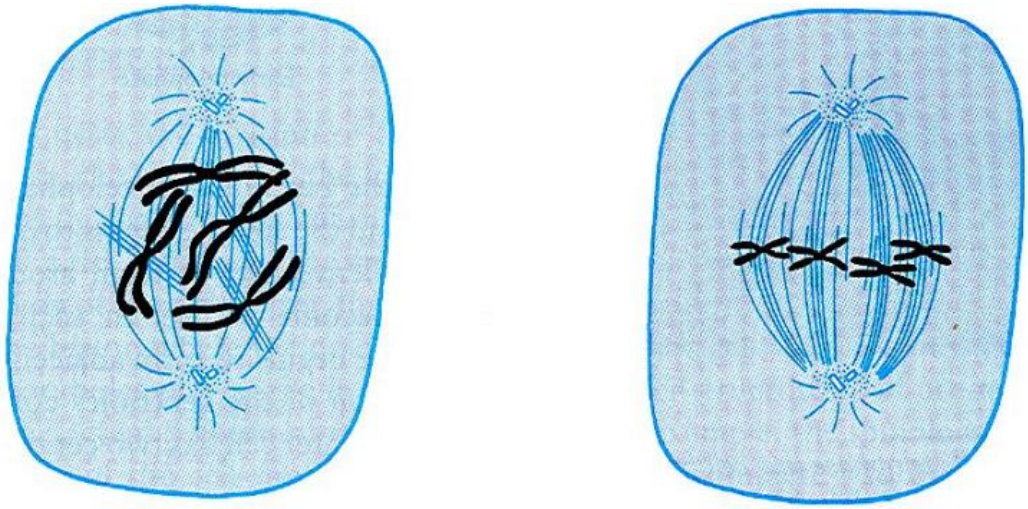
يسمى ايضا ب طور الانقسام النووي ويشكل حوالي ١٠ % فقط من دورة حياة الخلية، بينما يمثل القسم المتبقي ما يسمى بالطور البيني:interphase Mitosis ، يحدث في الخلايا الجسدية بحيث كل خلية تنقسم وتعطي خليتين بكل منها (٢) nمن الصبغيات و يحتوي علي نفس العدد والشكل من الكروموسومات التي كانت موجودة في الخلية الأم .أهميته : النمو – تعويض التالف من الانسجة – التكاثر اللاجنسى فى الكائنات الاولية(لا يحدث فى الخلايا العصبية وخلايا الدم الحمراء).

مراحل او اطوار الانقسام الميتوزي

١. الطور التمهيدي - : Prophase تزداد سماكة الكروموسومات ويقل طولهاوتتميز إلى الكروماتيدات -تحرك كل زوج من السنتريولات إلى أحد أقطاب الخلية. (يتكون من السنتريولات خيوط المغزل - (إختفاءالنوية والغشاء النووي



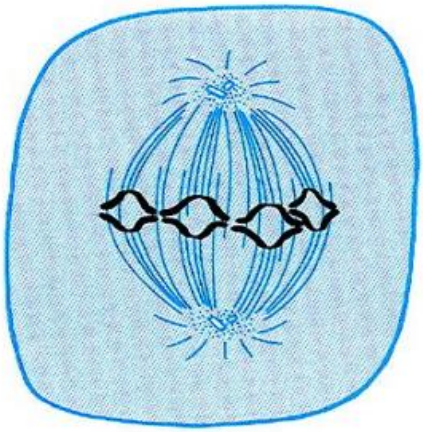
٢الطور الإستوائي - : Metaphase تنتظم الكروموسومات في صف واحد عند منتصف الخلية - .يكون الكروموسوم مرتبط بخيوط المغزل بواسطة السنترومير



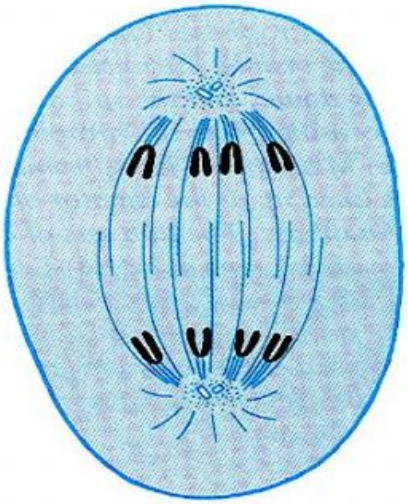
Early metaphase

Metaphase

٣الطور الإنفصالي - : Anaphase انقسام سنترومير كل كرموسوم بفعل تقلص خيوط المغزل - .تباعد كل كروماتيد عن قرينه إلى أحد أقطاب الخلية) . بمجرد أن ينفصل الكروماتيدين عن بعضهما يسمى كل واحد منهما كروموسوم

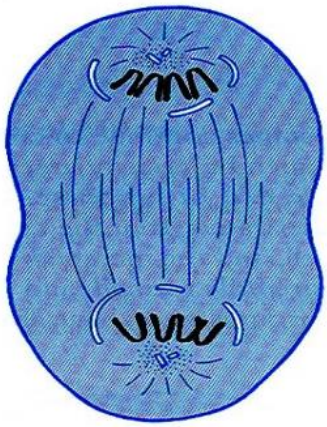


Early anaphase

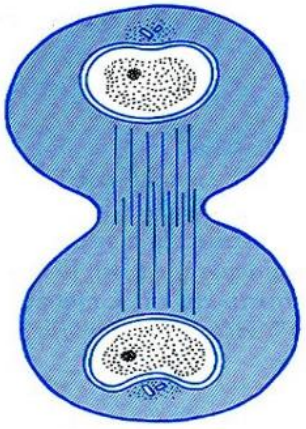


Late anaphase

(٤. الطور النهائي - : Telophase تختفي خيوط المغزل - . تتضاعف السنتريولات - . تكون غلاف نووي جديد - . استطالة الكروموسومات لتتحول إلى شبكة كروماتينية.



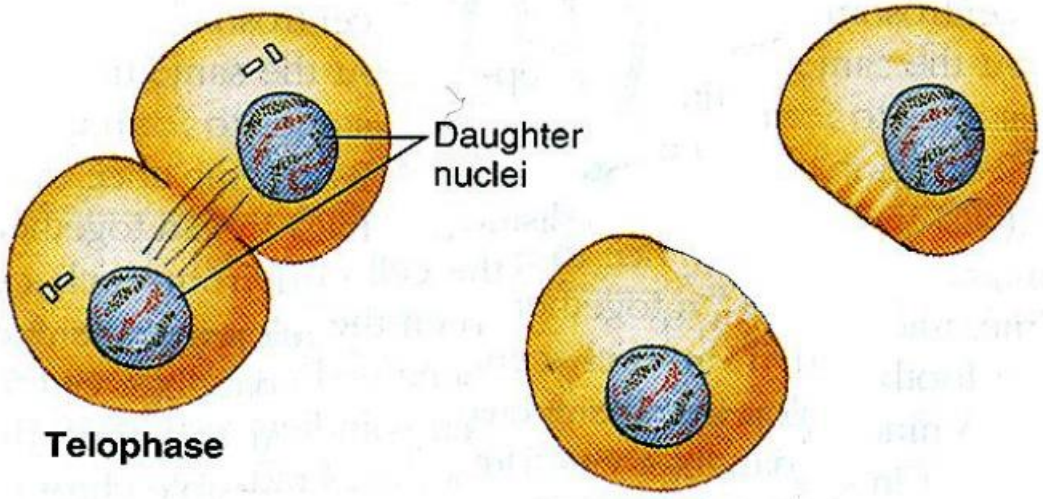
Early telophase



Late telophase

الإنقسام السيتوبلازمي - : Cytokinesis – إنقسام السيتوبلازم بالتخصر في منتصف الخلية، مكوناً خليتين متشابهتين -يحدث بعد الإنتهاء من الإنقسام الميتوزي أو قبل إنتهائه بحيث يحدث إنقباض السيتوبلازم في المنطقة الوسطية، ويستمر هذا

الإنقباض حتي تنفصل الخليتان عن بعضهما - .أما في (خلية نباتية): تكون الصفيحة الوسطى ثم الجدار الخلوي ودون أن يحدث التخصر.



الانقسام الميوزي Meiosisاو الاختزالي او المنصف

يحدث االنقسام االختزالي فقط أثناء تشكل الخلايا الجنسيه gametesفي الجهاز التناسلي وينتج عن هذا الانقسام خلايا احادية المجموعه الكروموسومية,وتكمن اهميته بانه ضروري في الحفاظ على الكائنات الحيه التي تتكاثر جنسيا ويحافظ على ثبات عدد الكروموسومات ويساعد فى تنوع صفات الكائنات الحيه لنفس السلاله (، وتكون نتيجته تشكل أربع خلايا بنويه ، تحتوي كل منها على نصف العدد من الكروموسومات في الخلية الام (١) n ومن ثم عندما تلتقي الامشاج الذكرية واألنثوية ويحدث اإلخصاب تساهم كل خلية تناسلية بنصف المجموعه كروموسومية في الخلية الجديدة المتكونة التي تدعى بالبيضة الملقحة Zygote ،التي تحتوي على نسختين أو مجموعتين من الكروموسومات .وبالتالي تكون هذه البيضة الملقحة ثنائية الكروموسومات ٢n

يختلف الانقسام الميوزي عن الميتوزي بنقطتين

١-ينتج عن الانقسام الميوزي خلايا تحوي نصف العدد من الكروموسومات

٢-ينتج عن الانفسام الميوزي خلايا مختلفة وراثيا عن بعضها البعض وعن الاصلية اي انه النسل الناتج من التكاثر الجنسي دائما يكون مختلف عن بعضه العض ماعدا التوائم المتماثله .

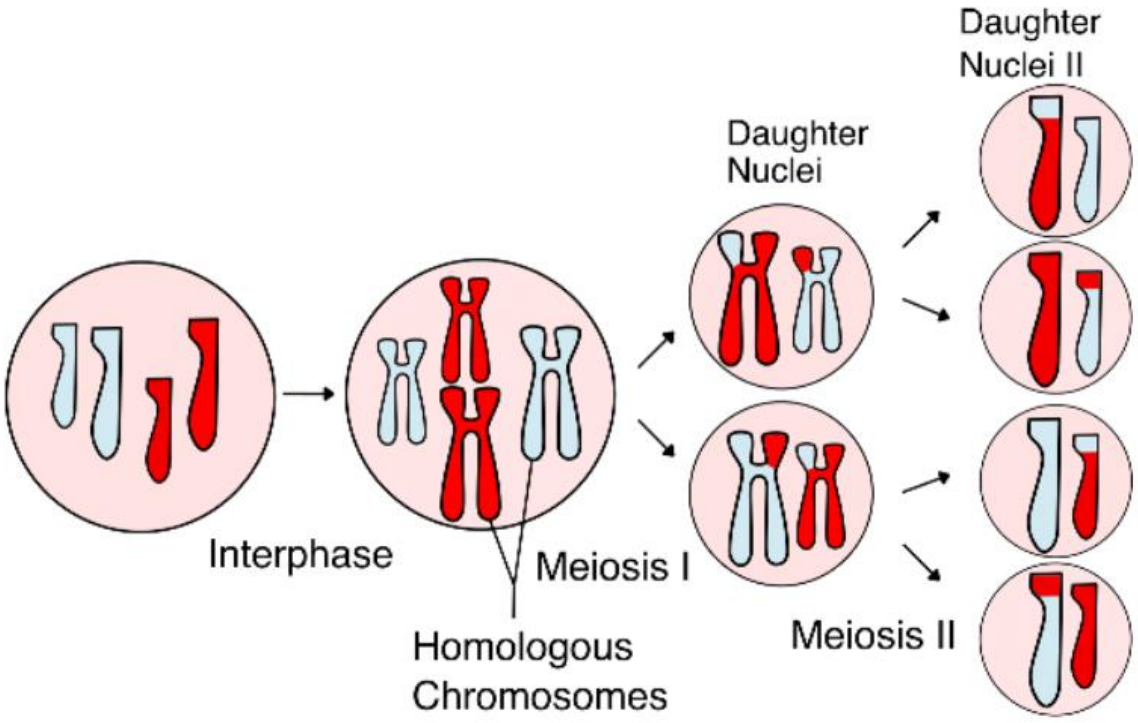
وتقوم الخلية (حيوانيه اونباتيه)عند انقسامها اختزاليا بانقسامين نوويين متعاقبين، يُشار لهما باسم

الانقسام الاختزالي الاول meiosis1

تنفصل الكروموسومات الشقيقه عن بعضها خلال هذا الانقسام

الانقسام الاختزالي الثانيmeiosis-II: تنفصل فيه الصبيغيات الكروماتيدات(ضمن الكروموسوم الواحد عن بعضها البعض.

يبدأ الانقسام السيتوبلازمي بعد نهاية االنقسام االختزالي. وهكذا يمكن القول أنه بانتهاء االنقسام االختزالي نكون قد حصلنا على ضعفي عدد الخلايا ألام اي اربع خلايا بنويه احادية المجموعه الكروموسوميه.



Meiosis division

الانقسام اللاميتوزي- المباشر - Amitosis : وهو أدنى أنواع إنقسام الخلية ويطلق عليه إسم الإنقسام الثنائي البسيط ويشيع حدوثه بين الكائنات الدقيقة في بعض الحيوانات الأولية أثناء التكاثر اللاجنسي والذي يتم عندما تصل الخلية إلى حد معين من النمو بأن تستطيل النوية وتنشطر ثم تستطيل النواة ثم تنشطر ويلي ذلك تخصر في سيبتوبلازم الخلية ثم في جدارها وبالتالي يحيط بكل نواة جديدة جزء من سيتوبلازم الخلية الأم وتتكون خليتان جديدتان تنمو كل منها إلى حد معين ثم تدخل في عملية الإنقسام مرة أخرى كما يحدث في الخميرة وبعض الكائنات الحية الأولية.

الدم Blood

سائل احمر اللون يحوي عن المكونات خلوية وسائل البلازما يحوى الجسم منه على ما يقارب ستة لتر, ويبلغ حجم الدم الكلي في الدورة الدموية 8% من وزن الجسم, يقوم بنقل الاوكسجين والمواد الغذائية الى الخلية , وينقل ثاني اوكسيد الكاربون ونواتج الفضلات الايضية من الخلية.

تحتوى الدورة الدموية على 50% من كمية الدم والباقي في الكبد 20 % والطحال 20 % والجلد (10%).الأس الهيدروجيني للدم : (pH) يتراوح بين(7.4- 7.35) .تغير الأس الهيدروجيني (pH) للدم يكون قليل لأنه يحتوى على محاليل منظمة للأس الهيدروجيني بالدم مثل حمض الكربونيك الضعيف (H_2CO_3), كما ان هيموقلوبين الدم وبروتينات بلازما الدم تساعد على حفظ (pH).

وظائف الدم:

1- يجهز الانسجة بالاوكسجين

2- يزود الجسم بالمواد الغذائية كالكلوكوز والاحماض الامينية والاحماض الدهنية والهرمونات.

3- يخلص الجسم من الفضلات كاليوريا وحامض اللاكتيك وثاني اوكسيد الكاربون

4- له وظيفة مناعية

5- يقو م بوظيفة التخثر حيث يكون سدادة تسد الجرح اثناء النزف

6- تنظيم الضغط الازموزي و PH للدم ودرجة حرارة الجسم

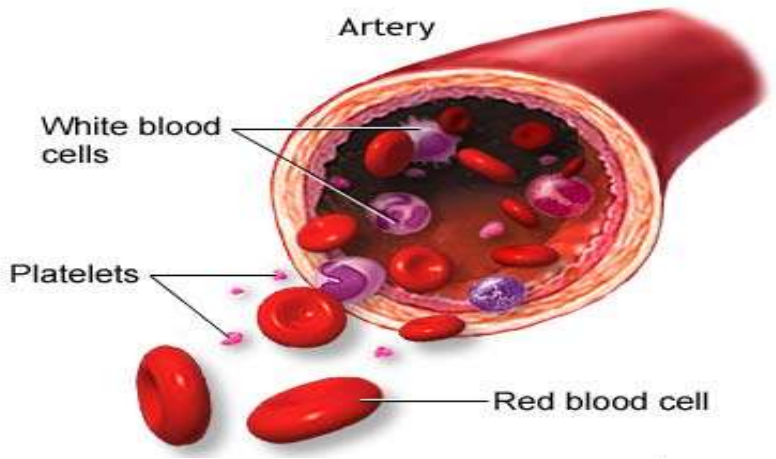
مكونات الدم

1- بلازما الدم Blood plasma

2- خلايا الدم الحمراء Red blood cell

3- خلايا الدم البيضاء White blood cell

4- الصفيحات الدموية Platelets



1- بلازما الدم

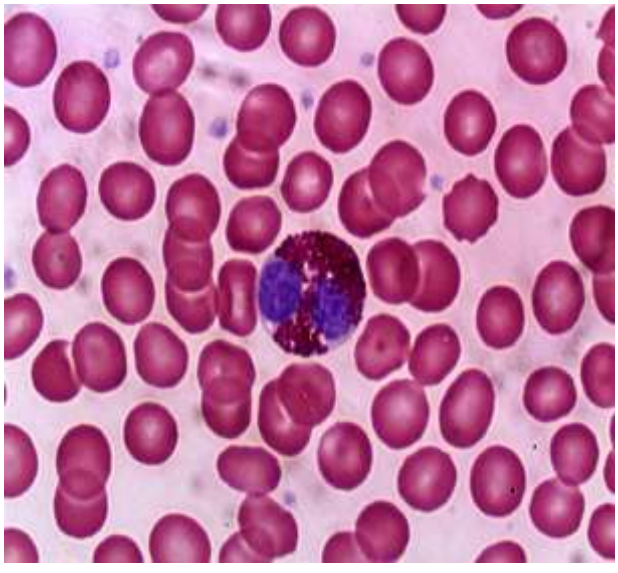
سائل اصفر شاحب يشكل نسبة 54% من سائل الدم , ويشكل الماء منه نسبة 95-90% و مواد صلبه اكثرها البروتينات وتمثل 8-6% من البلازما تشملserum albumins, globulins, fibrinogen , و الالكتروليتات (Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, HCO^{3-}, Cl^-), هرمونات وCO_2. الالبومين يعتبر من اهم بروتينات البلازما حيث ينظم الضغط الازموزي للدم.

يلعب بلازما الدم دورا حيويا في المحافظة على الضغط الازموزي للدم ويحمي الدم من الاصابة.

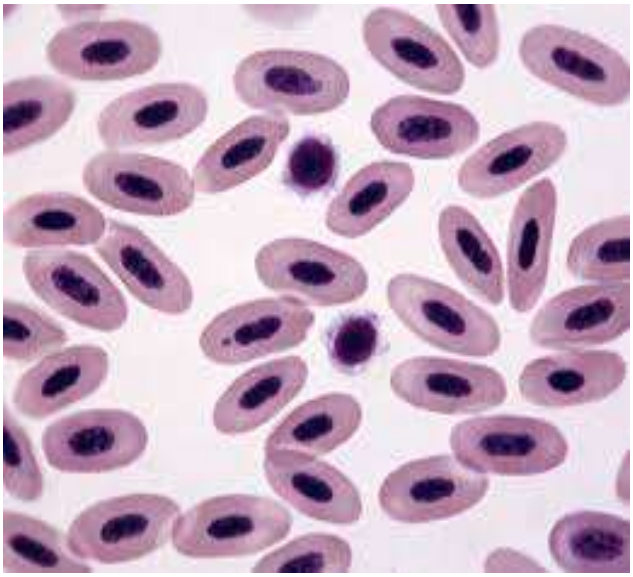
2- خلايا الدم الحمراء Red blood cell

تسمى اختصارا ب RBCs, وتسمى erythrocytes حمراء قرصية الشكل عديمة النواة عند النضج يبلغ قطرها 8.2–6.2 µm , يبلغ عددها في الذكور حوالي 6-5 مليون خلية او كرية /ملم3 من الدم , في حين نسبتها في الاناث حوالي5-4 مليون خلية او كرية /ملم3 من الدم, تنقل الاوكسجين وثاني اوكسد الكربون الى ومن الانسجة.السايتوبلازم فيها غني بالهيموغلوبين hemoglobin وهو مسؤل عن حمل الاوكسجين وثاني اوكسد الكاربون عن طريق الارتباط بهما وهو ايضا المسؤول عن اللون الاحمر للخلية.

تفتقر خلايا الدم الحمراء الى النواة عند نضج الخلايا نفسها في اللبائن , اما في الطيور والزواحف فان الخلايا تحوي على النواة . تنتج RBC في نخاع العظم Bone marrow وتنضج خلال 7 ايام . مدة حياتها هي 120-100 يوم في البالغين لانها تصبح هرمهsenescent حيث يتم التخلص منها بعملية موت الخلية المبرمج اوapoptosis, في حين تبلغ حياتها 80-90 يوم في الطفل الرضيع , وتنتج في الكبد في الجنين



خلايا دم حمراء في الانسان



خلايا دم حمراء في الطيور

3- خلايا الدم البيضاء White blood cell

تكتب اختصارا WBCs وتسمى ايضا leukocytes , عديمة اللون لعدم احتوائها على Hemoglobin وهي كروية الشكل تحتوي على نواة. واهم وظائفها حماية الجسم من الجراثيم والأجسام الغريبة حيث تقوم بإلتهامها (Phagocytosis), تتواجد في الدم والجهاز اللمفاوي lymphatic system ,كروية الى غير منتظمة الشكل او اميبي , حجمها 15 µm ,يبلغ عددها 4000-11000 خلية / ملم3 من الدم وتبلغ نسبتها 1% من حجم الدم. مدة حياتها قصيرة جداً إذا قورنت بخلايا الدم فعمرها حوالي بضع ساعات في حالة الخلايا الليمفاوية ومن يوم إلى يومين في باقي الخلايا البيضاء

انواع خلايا الدم البيضاء: تقسم حسب التركيب الى نوعين:

1- الخلايا الحبيبيـــــة Granulocytes

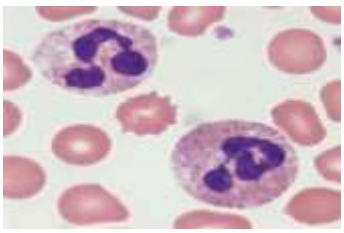
2- الخلايا غير الحبيبية A granulocytes

1- الخلايا الحبيبيـــــة Granulocytes :

كروية , نواتها مفصصة lobed متعددة الاشكال polymorphonuclear leukocytes (PMN, PML, PMNL) تحوي على حبيبات granules , تشكل نسبة 60-70% من حجم خلايا الدم البيضاء, تكون على 3 انواع حسب تصبغها :

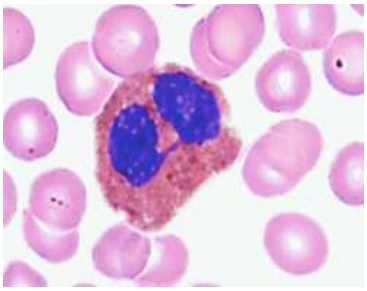
1 – العدلة او المتعادلة Neutrophils

اكثر الانواع نسبة اذ تتراوح نسبتها 50-60% من حجم خلايا الدم البيضاء, قطرها 12-15 مايكرون, نواتها مفصصة من 3-5 فصوص ترتبط مع بعضها بخيوط كروماتينية, وظيفتها مناعية والتهامية phagocytic, عند حصول اصابة في الانسجة , تترك المجرى الدموي الى الانسجة لتقوم بعملية التهام الجسم الغريب ولاترجع ثانية الى الدم اذ تتحول الى خلايا قيح Pus cell وتموت , الحبيبات تتلون باللون الوردي الخفيف عند تصبيغها بصبغة لشمن Leishman او كمزا Giemsa .



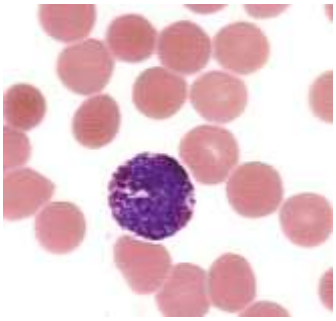
2 - الحمضة Acidophils او Eosinophils

واة الكرية ذات فصين بيضويين عادة يكونان متصلين بخيط كروماتيني دقيق . قد تتكون النواة من اكثر من فصين في حالات قليلة جداً . مادة النواة الكروماتينية اقل كثافة عما هو عليه في نواة الكرية البيضاء العدلة . يحتوي سايتوبلازم الكرية على حبيبات خشنة كروية الشكل متساوية في الحجم تتقبل هذه الحبيبات الصبغات الحامضية حيث تنصبغ بلون برتقالي او احمر براقة, نسبتها في دم الانسان الطبيعي 2-5 % من المجموع الكلي لكريات الدم البيض . يبلغ قطره 12-14 مايكرومتر, لها وظيفة مناعية ضد الطفيليات وخاصة الديدان الخيطية وفي الحساسية



3 - القعدة Basophilic

شكل النواة غير منتظم عادة ذو تخصرات عديدة او بشكل حرف S . المادة الكروماتينية في النواة مفككة ولهذا تظهر النواة فاتحة الصبغة . يحتوي السايتوبلازم على حبيبات حيث تظهر بلون ازرق غامق . ان هذه الحبيبات قد تخفي معالم نواة الكرية, نسبتها في دم الانسان تتراوح بين 0.5-1 % من المجموع الكلي لكريات الدم البيض, وظيفتها تكوين سيروتينين والهستامين histamine and serotonin في مجرى الدم تقلل من الالتهابات وتكون الهيبارين يمنع تخثر الدم داخل الجسم . لقد وجد ان عدد هذا النوع من الكريات يزداد في الحالات المرضية كالجدري.

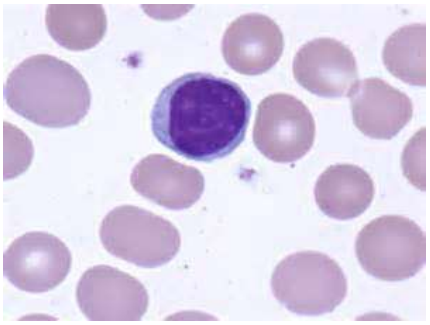


2- الخلايا غير الحبيبية A granulocytes

كروية الى اميبية الشكل , نوانها غير مفصصة احادية, لاتحوي حبيبات في السايتولازم , نسبتها حوالي 35% من حجم خلايا الدم البيضاء لها وظيفة مناعية , وتكون نوعين:

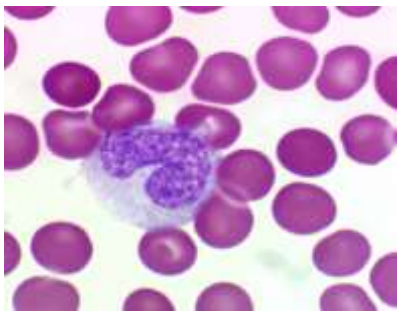
1 - الخلايا اللمفية Lymphocytes

كروية الشكل وتكون حوالي 20-25% من مجموع كريات الدم البيض في دم الانسان الطبيعي ، نواتها كبيرة نسبياً وكروية الشكل تقريباً ذات تخصر طفيف غير واضح ، غامقة الصبغة لكثافة المادة الكروماتينية ويبلغ حجمها ثلاث مرات حجم الخلية اللمفية الصغيرة وتوجد في عقيدات العقدة اللمفية .



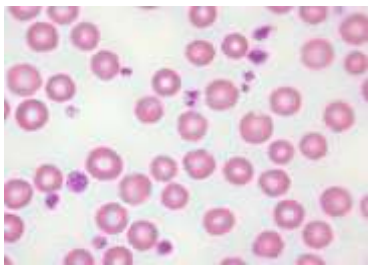
2 - خلايا الوحيدة Monocytes

اكبر خلايا الدم الى 20 مايكرومتر في المسحات الجافة ونسبتها في دم الانسان الطبيعي 3-8 % من مجموع خلايا الدم البيض ، يحتوي هذا النوع من الكريات على كمية كبيرة من السايتوبلازم . النواة بيضوية او كلوية الشكل



3- الصفيحـــات الدموية Blood platelets

أجسام صغيرة عديمة اللون وخالية من النواة مغزلية يتراوح قطر الصفيحات الدموية بين 2-4 مايكرومتر . عددها يكون من 200-400 ألف في المليمتر المكعب الواحد من الدم . ان مدة حياة الصفيحات الدموية في الانسان قد تصل الى 9 أيام. تنشأ الصفيحات الدموية كقطع بروتوبلازمية تنفصل عن خلايا عملاقة تدعى بالخلايا الكبيرة النوى megakaryocytes توجد في نقي العظم الأحمر . لها دور في تخثر الدم حيث, وتكون سدادة عند حدوث نزف, تحرر الصفيحات الدموية مادة السيروتونين التي تساعد في تقلص الاوعية الدموية الصغيرة .



النوع	شكل ترسيمي	تحت المجهر	النسبة في دم البالغ	القطر (ميكرومتر)	الأهداف الأساسية	النواة	لون الحبيبات	العمر
خلية متعادلة Neutrophil			40-75%	10-12	جراثيم وفطريات	عديدة التفصص	وردي شاحب	من 6 ساعات لعدة أيام حسب مكانها
خلية حمضية Eosinophil			1-6%	10-12	في حالات الحساسية والطفيليات	ثنائية التفصص	وردية	8-12 يوم
خلية قاعدية Basophil			1%>	9-10	في حالات الحساسية	ثنائية أو ثلاثية التفصص	زرقاء كبيرة	10-15
لمفاوية Lymphocyte			20-45%	7-8	• الخلايا البائية: العديد من العوامل الممرضة • الخلايا التائية: • المساعدة: الجراثيم داخل الخلوية • السامة: الخلايا المصابة بالفيروسات والخلايا الورمية • جاما/دلتا • القاتلة الطبيعية: الخلايا المصابة بالفيروسات والخلايا الورمية.	ملونة بشدة ومركزية	فقط الخلايا القاتلة	من أسابيع لسنوات
وحيدة Monocyte			2-6%	14-17	متعددة	على شكل كلية	لا حبيبات	من أشهر إلى سنوات

طريقة العمل:

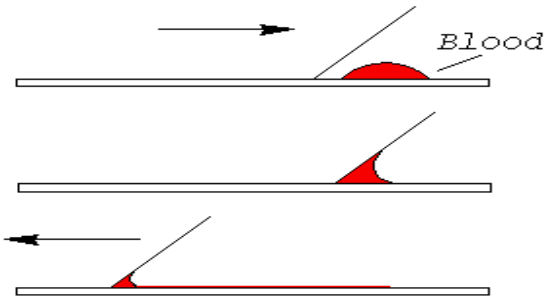
1 – فحص خلايا الدم الحمراء بطريقة thin blood film او Blood smear

المواد والاجهزة المستعملة :-

سلايدات زجاجية, ابر وخز معقمة Lancets , كحول للتعقيم، قطن., مجهر ضوئي مركب , عينات دم .

- خذ نقطة دم بوخزة معقمة من الإصبع وضعها على طرف شريحة نظيفة .

- خذ شريحة ثانية وضعها على النقطة بزاوية °45ثم اسحب النقطة في الإتجاه الآخر للشريحة فيتكون لدينا مسحة للدم خفيفة في نهاية الشريحة.اتركها لتجف ثم افحصها بالمجهر.



2 – فحص خلايا الدم البيضاء Differential white blood cell

المواد والاجهزة المستعملة :-

سلايدات زجاجية مع اغطيتها , ابر وخز معقمة Lancets , كحول للتعقيم، قطن, صبغة Leishman stain أو صبغة كمزا Geimsa stain أو صبغة رايت Wright stain, مجهر ضوئي مركب, زيت السدر , عينات دم .

- توضع الشريحة الحاوية على مسحة الدم على حامل خاص للتصبيغ فوق مغسلة المختبر.

- تعمل مسحة دم بطريقة blood smear كما ذكرت سابقا

- توضع عدة نقاط من صبغة لشمان Leishman stain أو صبغة كمزا Geimsa stain أو صبغة رايت Wright stainعلى مسحة الدم واتركها 2-3 دقائق ثم أضف قطرات من الماء المقطر7 قطرات الى الصبغة ويترك خليط الماء والصبغة لمدة 10 دقائق .

- اغسل الشريحة بماء مقطر حتى تظهر المناطق الرقيقة من المسحة بلون أحمر –وردي وتترك لتجف في الهواء .

- افحص تحت المجهر الضوئي المركب باستعمال القوى X40 و X100 .باستخدام العدسة الزيتية بوضع الزيت على المسحة .

تلاحظ:

A- خلايا الدم البيضاء المحببة granulocyte تحتوي حبيبات سايتوبلازمية وتشمل :

1- خلايا الدم البيضاء الحامضية Eosinophil or Acidophil :تظهر بنوى ارجوانية ثنائية الفصوص وحبيبات سايتوبلازمية برتقالية الى حمراء .

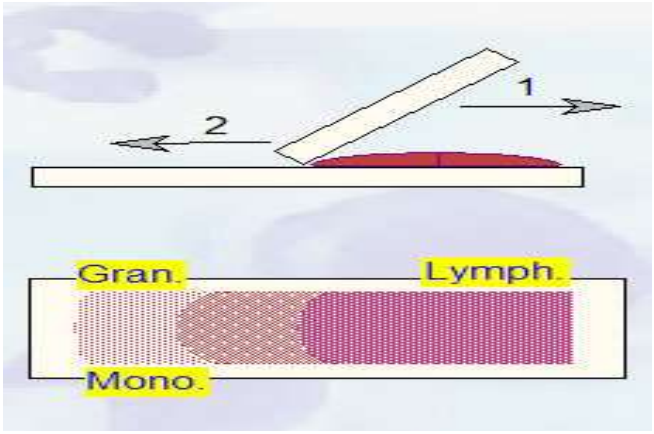
2- خلايا الدم البيضاء القاعدية Basophil : تظهر بنوى ارجوانية غير منتظمة الشكل او بشكل حرف S وحبيبات سايتوبلازمية زرقاء داكنة .

3- خلايا الدم البيضاء المتعادلة Neutrophil : تظهر بنوى ارجوانية داكنة متعددة الفصوص (3-5) فصوص وحبيبات سايتوبلازمية بلون ارجواني شاحب .

B- خلايا الدم البيضاء غير المحببة Agranulocyte لا تحتوي حبيبات سايتوبلازمية وتشمل :

1- **الخلايا وحيدة النواة Monocyte** : تظهر حاوية على نوى على شكل حدوة الحصان (U-Shape) وسايتوبلازم قليل .

2- الخلايا اللمفاوية Lymphocyte : تظهر حاوية على نوى كروية ارجوانية وسايتوبلازم ازرق باهت.



التقنية المجهرية لدراسة الخلايا

طريقة التقطيع Sectioning Method

وهي الأهم لدراسة العينات على مستواها النسجي والخلوي والغرض منها الحصول على مقطع نسيجي رقيق جدا,ويعرف المقطع Section بأنه شريحة رقيقة تقطع من جزء مأخوذ من كائن حي لغرض دراسة تركيب او ترتيب الخلايا المكونة لها.

يستخدم جهاز المشراح او المقطاع Microtome لقطع النماذج حيث توجد عدة انواع من اجهزة المشراح منها :-

1- جهاز التقطيع اليدوي Hand microtome .
2- جهاز التقطيع الهزاز Rocking microtome.
3- جهاز التقطيع الدوار Rotary microtome .
4- جهاز التقطيع الدقيق او المستدق Ultramicrotome .
يستخدم لعمل مقاطع فائقة السمك للفحص بالمجهر الالكتروني .
5- جهاز التقطيع الجليدي(Cryostat) Freezing microtome .

و فيما يلي الخطوات المتبعة لعمل مقاطع نسجية محملة على شرائح زجاجية :

1- الحصول على العينة(Obtaining the specimen)Sampling
2- تثبيت العينةFixation
3- غسل العينةWashing
4- نزع الماء من العينة Dehydration
5- ترويق العينة Clearing
6- تخليل أو تشرب العينة Infiltration
7- طمر العينةEmbedding
8- القطعSectioning
9 - صبغ المقاطع Staining
10- تغطية الشرائح Mounting لعمل شريحة مستديمةPermanent slide.
11- تنظيف وتعليم الشرائح Cleaning &Labelling

1- الحصول على العينات Obtaining the specimen:

نحصل على العينة اما بشكل خزعة Biopsy من الإنسان المريض خلال العملية الجراحية ومن الحيوان بعد قتله مباشرة .يعرف القتل بأنه إيقاف دائم وسريع لجميع العمليات الحيوية . و تتم عملية القتل بعدة وسائل منها –التنخيع – ضرب مؤخرة الرأس– التخدير.

التنخيع Spinal dislocation: ويقصد بها شل الحيوان شلا كاملا وذلك بفصل الحبل الشوكي عن الجهاز العصبي المركزي أو المخ وبذلك لا يحس الحيوان بالألم أثناء عملية التشريح وكثيرا ما يطبق على الضفادع.
ضرب مؤخرة الرأس : وتهدف إلى ارتجاج مخي مفاجئ بحيث يصبح الحيوان بعدها في حالة غيبوبة.
التخدير :هو إيقاف مؤقت لجميع العمليات الحيوية بإستخدام مادة مخدرة مثل :الكلورفورم

2 - التثبيت Fixation:

الخطوة الأولى في تحضير الأنسجة من أجل إخضاعها للفحوصات النسجية والكيميانسجية وتهدف هذه الخطوة إلى المحافظة على النسيج ومحتوياته على الحالة التي كان عليها في جسم الكائن الحي أو قريبة من ذلك وتتم عملية التثبيت من خلال التفاعلات الكيميائية والتداخلات الفيزيائية بين المجاميع الفعالة للمثبت والمجاميع الفعالة للمواد الكيميائية الموجودة في النسيج (كربوهيدرات – بروتين – دهون – إنزيمات - أملاح معدنية-صبغات) و تقوم عملية التثبيت الناتجة بإيقاف عملية التفتت والتفسخ Disintegration والتعفن Putrefaction الناتجة عن نشاط البكتيريا والفطريات وكذلك إيقاف عملية التحلل الذاتي للنسيج بفعل الإنزيمات. هذا بالاضافة الى فوائد اخرى ابرزها :-

1- تقسية الانسجة لتصمد امام العمليات التالية وخاصة القطع بأقل قدر من التشوه .
2- حفظ خلايا النسيج من الانتفاخ او الانكماش عند تعرضها لعمليات تالية مثل مثل ازالة الماء والتشرب بالشمع .
3- تحسين قدرة اجزاء النسيج على تقبل الصبغ بشكل أفضل .
4- تعديل معامل الانكسار لبعض مكونات النسيج بحيث يسهل التمييز بينها .
5- جعل النسيج اكثر مقاومة للحرارة اثناء تعرضه للشمع الساخن .

المثبت Fixative

هو عبارة عن وسط سائل يحتوي على مواد كيميائية بعضها يعمل على تثبيت المحتوى الكيميائي للخلايا والمواد بين الخلوية عن طريق التخثير والترسيب والمحافظة على خلايا النسيج من التشوه. من المثبتات الشائعة للفحص بالمجهر الضوئي : الفورمالين 10% Formalin ، محلول زنكر Zinker Solution ، محلول بوان او بوين Bouin Solution

، محلول كارنوي Carnoy ، ومن المثبتات الشائعة للفحص بالمجهرالالكتروني : محلول الكلوترالديهايد Gluteraldehyde ورابع اوكسيد الازميوم Osmium tetraoxide .

شروط المثبت الجيد:

1- يتخلل الأنسجة بسهولة وبسرعة.
2- يعمل في درجة الحرارة العادية.
3- لا يحدث ضرر بالنسيج.
4- يعمل على تيبس النسيج نوعا ما بحيث يصبح قوامه سهل التقطيع.
5- لا يتعارض مع الصبغات المختلفة عند صبغ العينة.
6- يستمر مفعولة لمدة طويلة.
7- أن يكون سعره مناسبا ومتوفرا باستمرار.
8- اختيار المثبت المناسب للعمل حسب الغرض من الدراسة.
9- وضع العينة في المثبت مباشرة بعد أخذها من الجسم لمنع عملية التحلل والتفسخ.
10- إن يكون حجم العينة صغير بحيث يسمح للمثبت بالنفاذ خلال العينة في وقت قصير (سمك -العينة لا يزيد على2 -5 ملم)
11- إن يكون حجم المثبت عدة أضعاف حجم العينة (10-20 ضعف).
12- ضرورة التقيد بالفترة الزمنية اللازمة للتثبيت حسب المثبت المستخدم

3- الغسل Washing

العينات المثبتة في الفورمالين تغسل بماء الحنفية الجاري لمدة 24 ساعة.

4- عملية نزع الماء(الانكاز)Dehydration:

وهي الطريقة التي يتم بواسطتها إحلال مادة محل الماء الموجود في النسيج هذه المادة تذوب فيها المحاليل والمواد المستعملة في الخطوات القادمة مع عدم تشويه النسيج وتتم هذه العملية بتمرير العينة في سلسلة متدرجة الارتفاع في التركيز من الكحول الإثيلي ethanol(ethyl alchohol) لمنع انكماش الأنسجة في حالة لو وضعت في كحول مطلق مباشرة ويفضل الكحول لأنه يمتزج بسهوله مع الماء ومع مادة الزايلين xylene المروقة والتي بدورها تمتزج جيدا مع مادة الطمر البرافينية.

لا يمتزج الماء مع شمع البرافين لذلك يجب التخلص من الماء الموجود في النسيج الخلوي حتى تسهل عملية نفاذ البرافين المصهور إلى داخل الأنسجة وتتم عملية نزع الماء بتمرير العينة على سلسلة متدرجة الارتفاع في التركيز من محاليل الكحول الايثيلي(50% ،70%، 90% ، 100%) وتترواح المدة اللازمة لترك العينة في كل خطوة من خطوات نزع الماء في محاليل الكحول المختلفة التركيز من 30 دقيقة إلى ثلاث ساعات .

5- عملية الترويقClearing:

هي العملية التي بواسطتها يتم إحلال ماده محل مادة نزع الماء حيث تقوم هذه العملية بالسماح لمادة شمع البرافين بالدخول إلى الأنسجة في الخطوة اللاحقة لأن الكحول المستخدم في نزع الماء لا يمتزج مع شمع البرافين لذا تستخدم ماده مروقه تذوب في الكحول وشمع البرافين وكذلك تجعل النسيج شفافا. من أمثلة المواد المروقه (الزايلين - الكلورفورم – تولوين –بنزين –زيت خشب الأرز) وعند استخدام الزايلين والتولوين يحدث أحيانا أن يتعكر لون محلول مادة الترويق وهذا دليل على عدم اكتمال نزع الماء من نسيج العينة في هذه الحالة يجب إرجاع العينة إلى سلسلة الكحولات للتأكد من عملية نزع الماء بشكل تام أما المدة الكافية لترك العينة في المحلول المروق فهذا يعتمد على نوع وحجم العينة فكلما زاد حجم العينة كلما زادت مدة الترويق.

6- عملية التشرب أو التخلل Impregnation or Infiltration .

عبارة عن إحلال كامل للمادة المستخدمة في الطمر مكان المادة المروقة، ويعتبر شمع البرافين من أشهر المواد المستخدمة في تشريب النسيج حيث أنه يتخلل العينة بسرعة دون إحداث ضرر بتركيبها النسيجي، كما أنه يكسبها دعامة قوية لتهيئتها للقطع بالميكروتوم، ويساعد على حفظها في الظروف العادية لفترة طويلة دون أي أذى. وتتم العملية بتمرير العينة في مزيج متساوي من الشمع والمادة المروقة (1:1) ثم تنقل العينة إلى شمع البرافين المطلق المنصهر داخل الفرن وتكرر هذه العملية لعدة مرات(2-3 مرات) وكل مرة لمدة ساعتين ثم توضع في البارافين لمدة 24 ساعة. كما تعتمد عدد مرات تغيير الشمع حسب نوع العينة بحيث تقل كلما كانت العينة رخوة وتزداد كلما كانت العينة صلبة. من الامثلة على اوساط التشرب شمع البرافين Paraffin wax .

7- عملية الطمر Embedding:

وهي عملية الغرض منها عمل قالب من العينة بحيث تحيط بها المادة الطامرة وتدعمها لتتكوّن طبقة متماسكة من كليهما لتكون جاهزة للتقطيع بثبات اثناء مرورها على سكينة التقطيع وفي الغالب تكون المواد المستخدمة للطمر هي نفس المادة المستخدمة في عملية التشرب . توضع العينة باستخدام ملقط و توضع العينة بالاتجاه المرغوب به، بعدها يترك القالب فترة قصيرة ليبرد سطحه استعداداً للتقطيع .

8- تقطيع العينة Sectioning

تثبت العينة على حامل العينة specimen holder في الميكروتوم كما يجب أن يزود جهاز القطع بسكين حادة جدا ويحدد سمك القطاع المرغوب فيه(3-7 ميكرون) للبارافين وبسمك (10-15 ميكرون) للسللويدين. المقاطع الجيدة عادة تكون على شكل أشرطة Ribbons أو سلسله من المقاطع.

Rotary microtome

Cryostat

9- عملية الصبغ Staining

عملية التصبيغ مرحلة حاسمة جدا في التحضير المجهري ذلك لانه بدون صبغ مناسب للانسجة فانه يصعب تمييز مكوناتها وبالتالي تفقد عملية التحضير اهميتها لان عملية التصبيغ تزيد من الفروق في معامل انكسار مكونات النسيج والخلية مما يؤدي الى تمايزها ويحدث هذا نتيجة الفرق في ميل بعض مكونات الخلية او النسيج لمعظم الصبغات

تصنيف الصبغات Classification of stains

أ- تقسيم الصبغات تبعا لتركيز الاس الهايدروجيني للصبغة :

1- الصبغات القاعدية basic stains وذلك عندما تكون الصبغة حاوية على قاعدة عضوية ملونة تتحد مع الجزء الحامضي غير الملون للانسجة ,ومن امثلتها صبغة السفرانين Safranin والهيماتوكسلين Haematoxylin .

2- الصبغات الحامضية acidic stains هي تلك الصبغات التي تكون حاوية على جزء حامضي عضوي ملون يتحد مع قاعة معدنية metallic base غيرملونة للانسجة مثل صبغة الخضراء الباهتة Light green وصبغة الايوسين Eosin.

3- الصبغات المتعادلة neutral stains وتكون مركبة من صبغات حامضية وقاعدية مثل الاحمر المتعادل neutral red .

ب-تقسيم الصبغات حسب ميل اجزاء البروتوبلازم للاصطباغ بها :

1- الصبغات النووية nuclear stains هي تلك الصبغات التي تميل لصبغ النواة وبما ان النواة غنية بالحوامض النووية لذا تميل للاصطباغ بالصبغات القاعدية لذا فان جميع الصبغات النووية هي صبغات قاعدية.

2- الصبغات السايتوبلازمية cytoplasmic stains هي تلك الصبغات التي تميل لصبغ السايتوبلازم ونظرا لكون السايتوبلازم ذو طبيعة اكثر قاعدية لذا فانه يميل يميل للاصطباغ بالصبغات الحامضية أي ان الصبغات السايتوبلازمية هي صبغات حامضية .

ان عملية التصبيغ تمر بعدة مراحل هي:-

ا-إزالة الشمع من المقاطع بالزايلين لمدة 10 دقائق.

ب- تمرير الشرائح بسلسلة تنازلية من الكحول الاثيلي (100%, 90%, 70%,50%) ولمدة 5 دقائق لكل تركيز ثم تغسل بالماءRehydration.
ج- توضع الشرائح في صبغة الهيماتوكسلين لمدة 10 دقائق , ثم تمرر بالكحول الحامضي لمدة 15 ثانية , ثم تغسل بالماء لمدة 5 دقائق.
د-توضع الشرائح بصبغة الايوسين لمدة 5 دقائق.
ه- سلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (70%,90%,100%) لفترة 5 دقائق لكل تركيز.
و- زايلين لمدة 5 دقائق.

10- تحميل المقاطع Mounting:

يقصد بها وضع المقطع النسيجي على الشريحة الزجاجية، و تم هذه العملية بعد الانتهاء من عملية الصبغ اذ تبدأ عملية إعداد الشريحة المجهرية للحـفظ المستـديم باستخدام مادة شمعية أو مادة بلاستيكية حافظه مثل مادة بلسم كندا Canada balsam أو مادة(D.P.X) ثم يوضع غطاء الشريحة(Cover slip) بزاوية حادة 45 درجة وبحذر شديد حتى لا تتكون فقاعات هوائيةAir bubbles وهكذا يتم عمل ما يعرف بالشريحة المستديمة permanent slide . بعد أن تترك لتجف على hot plate يمكن فحص القطاعات تحت المجهر. ان الغرض من تغطية الشرائح لتسهيل دراستها تحت المجهر لأن التحضيرات المصبوغة وغير المغطاة لاتظهر الاقليلا من التفاصيل لكون معامل انكسار كل من زجاج الشريحة ومكونات النسيج مختلفة تماماً وتتحسن امكانية رؤية مكونات النسيج اذا غطيت بمادة شفافة يكون معامل انكسارها قريبا من معامل انكسار الزجاج . كما ان الغطاء يحمي التحضير وخاصة المقاطع من التهتك والازالة من على الشريحة كما يقلل الغطاء من اكسدة الصبغة وبالتالي يمنع فسادها. ويكمن ان تكون وسائط التغطية دائمية مثل مادة بلسم كندا او مؤقتة مثل الجليسرول glycerol.

11- تنظيف وتعليم الشرائح Cleaning &Labelling

تنظف الشرائح ويزال وسط التحميل الزائد من حول جوانب الغطاء وبالنسبة لتعليم الشريحة توضع ورقة مناسبة على طرف الشريحة يكتب عليها معلومات عن نوع النسيج والمثبت والصبغة وتاريخ التحضير .

- تقنية التجميدfreezing method

في هذه الطريقة النسيج الطري أو المثبت يجمد ويصلب ويعمل منه قطاعات بالميكروتوم الثلجي أو ما يسمى بالكريوستات (cryostat). مميزاتها:

1- طريقة سريعة وبسيطة تستخدم عادة خلال العمليات الجراحية التي تطلب تشخيص سريعا للسرطانات.
2- المواد الكيميائية الموجودة في النسيج لا تتغير بسبب عدم استخدام الحرارة.
3- تستخدم في كيمياء الأنسجة لدراسة فعالية الأنزيمات الخلوية والكشف عن الدهون التي تذوب في الكحول والزايلين وتفاعل الأجسام المضادة مع الأنتيجينات.

عيوبها:

1- لا تعطي سلسله من المقاطع .
2- تعطي قطاعات سميك بسب صعوبة القطع و التصبيغ .

نفاذية الغشاء البلازمي

مرور المواد عبر الغشاء البلازمي وبالتالى فإن درجة نفاذ أي مادة تختلف عن الأخرى ويقوم الغشاء البلازمي وكذلك أغشية جسيمات الخلية المختلفة بتنظيم مرور الذائبات.

من المعروف أن الأيونات تعانى من ضعف فى حركتها وإنتقالها عبر الأغشية الخلوية وذلك لكبر حجم الغلاف المائى المحيط بها ولعدم ذوبانها فى الدهون ولوجود شحنات كهربائية عليها مما يجعلها تتأثر بالشحنات الأخرى الموزعة فى الأغشية وكذلك شحنات الأيونات الأخرى الموجودة.

الانتشار

يعني أنه عندما يكون تركيز المواد المذابة خارج الخلية أكبر من تركيزها داخل الخلية فإن ذلك يعمل على انتقال جزيئات المذاب من خارج الخلية إلى داخلها عبر غشاء الخلية.

تتأثر النفاذية بعدة عوامل أهمها:

-درجة الحرارة.

-المواد والمذيبات العضوية.

-الأملاح.

- درجة الحموضة الـ PH .

دراسة تأثير المحاليل ذات التركيزات المختلفة على خلايا الدم الحمراء

تحلل الدم يطلق هذا التعبير عندما يترك الهيموجلوبين كريات الدم الحمراء لأي سبب ويخرج إلى البلازما، وهذا يحدث إما نتيجة تمزق غشاء الكرية أو اختفاؤه كلياً.

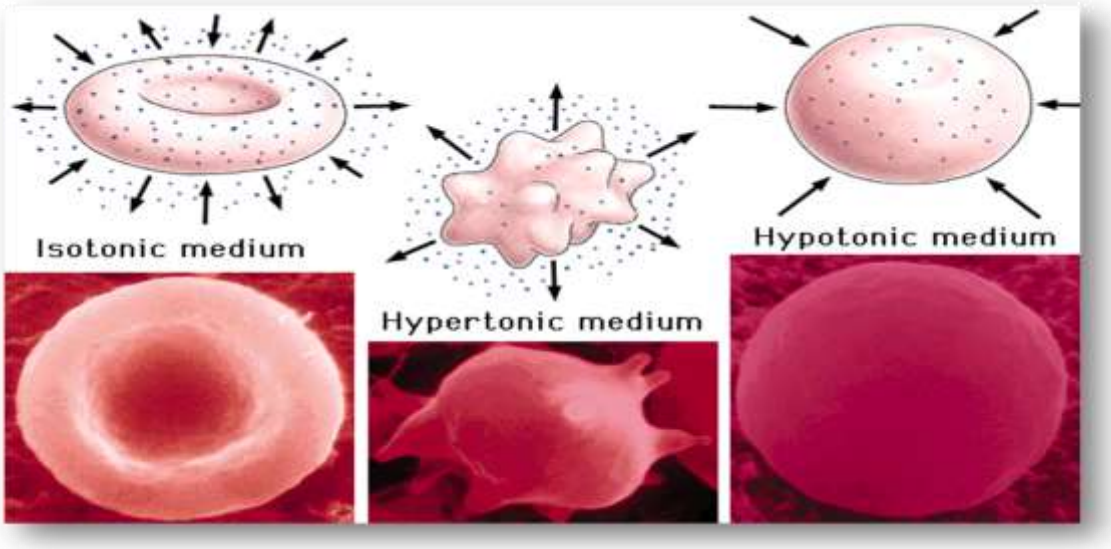
من المواد التي تسبب تحلل كريات الدم الحمراء هي :

تأثير بعض المواد الكيميائية ، مثل مذيبات الدهون (الكلوروفورم– الإيثر– البنزين– الكحول)، وهي تعمل على إذابة الجزء الدهني من غشاء كرية الدم الحمراء، فيذوب الغشاء ويختفي كلياً.

أيضا من الممكن أن تتحلل كريات الدم الحمراء بفعل بعض أنواع السموم ، مثل : سموم الأفاعي

ويطلق على المواد التي تسبب تحلل كريات الدم الحمراء بالمواد المحللة للدم .

يتغير سلوك خلايا الدم الحمراء في المحاليل المختلفة تبعا لخروج أو دخول الماء من والى هذه الخلايا:



1- إذا وضعت كريات الدم الحمراء في محلول ملحي ضغطه الازموزي يعادل تماما الضغط الازموزي للبلازما (وهو 0.85%من كلوريد الصوديوم NaCl وهو ما يسمى بالمحلول الملحي الفسيولوجي): نجد أن معدل دخول الماء للكرية وخروجه منها متساويان، لذلك تحتفظ الكريات بحجمها وشكلها فلا يحدث انتفاخ أو انكماش ويسمى هذا المحلول المتعادل أو المتساوي التوتر Isotonic Solution.

2- إذا وضعت كريات الدم الحمراء في محلول ملحي ضغطه الازموزي أقل من الضغط الازموزي للبلازما (أي زاد الماء بالمحلول فنقص تركيز المذاب): نجد أن الماء يدخل إلى الكرية فتبدأ في الانتفاخ. ويزداد انتفاخ الخلايا كلما زاد ماء المحلول وقل تركيز المذاب حتى يصل إلى حجم معين تكون فيها وصلت لدرجة يزيد فيها الضغط الهيدروستاتيكي على جدران الخلايا.

ولما كانت هذه الجدران غير مرنة فإنها تنفجر ويتمزق غشاء الكريات الحمراء وتتحلل وينطلق محتواها من الهيموجلوبين . ويعرف ذلك بالتحلل الدموي Hemolysis , ويحدث عند وضع كريات الدم الحمراء في محلول مخفف جدا أو في ماء مقطر, ولا يتبقى من كريات الدم الحمراء سوى كيس منتفخ شفاف عديم اللون يسمى شبح كرية الدم الحمراء . ويسمى المحلول الذي يسبب هذا التحلل بالمحلول منخفض التوترHypotonic solution.

3- إذا وضعت خلايا الدم الحمراء في محلول ملحي مرتفع التركيز (أي ضغطه الأزموزي أعلى من الضغط الأزموزي للبلازما) فإن الماء يترك الكريات ويخرج إلى البلازما فتبدأ الكريات بالإنكماش والتجعد ويتشوه شكلها الخارجي(عند وضعها في 5% Nacl)،

ويسمى المحلول الذي يحدث هذا التأثير بالمحلول عال التوتر Hypertonic Solutin . لاختبار السلوك الازموزي لخلايا الدم الحمراء يلزم استخدام محلول مادة تكون أغشية الخلايا غير منفذة لها مثل كلوريد الصوديوم أو الجلوكوز لأن أيونات الصوديوم والكلور وجزيئات الجلوكوز لا تنفذ من أغشية الخلايا بسهولة.

طريقة العمل:

تجهيزات التجربة :

أنابيب زجاجية – شرائح زجاجية – أغطية شرائح زجاجية - قطارة – أعواد خشبية – لانسيت- معقم - مجهر ضوئي - ماء مقطر - محلول كلوريد الصوديوم ذي التركيز 0.85 % - محلول كلوريد الصوديوم ذي التركيز 5 %

الخطوات :

1. ضع **في ثلاثة أنابيب اختبار نظيفة كما يلي:**
2. **الأنبوبة (ا) 2 مل من ماء مقطر (تمثل المحلول تحت الملحي).**
3. **الأنبوبة (ب) 2 مل من محلول كلوريد الصوديوم ذي التركيز 0.85 % (تمثل المحلول الملحي المتعادل)**
4. **الأنبوبة (ج) 2 مل من محلول كلوريد الصوديوم ذي التركيز 5 % (تمثل المحلول فوق الملحي)**
5. **قوم بعمل وخز في إصبع إبهامك بعد تعقيمه بإبرة وخز معقمة**
6. **أضف قطرة من دم إلى 3 شرائح زجاجية نظيفة ، ثم بواسطة قطارة ضعي قطرة من كل محلول بالتوالي على شريحة زجاجية كل على حدة**
4. امزج الخليط من الدم والمحلول على كل شريحة بأعواد خشبية لعدة ثواني
5. قوم بتغطية الشرائح بواسطة أغطية الشرائح الزجاجية ، ثم افحصها تحت المجهر ودون ملاحظاتك.

الملاحظة :

في الحالة الأولي (أ) تتكسر خلايا الدم الحمراء حيث ينتشر الماء من الخارج إلى داخل الخلايا فتنتفخ و تنفجر

في الحالة الثانية (ب) لا يحدث تغيير في خلايا الدم الحمراء نتيجة تساوي الضغط الازموزي لأن التركيز داخل خلايا الدم مساو لتركيز المحلول الملحي المتعادل

أما في الحالة الثالثة (ج) نلاحظ ان خلايا الدم الحمراء انكمشت و ذلك لخروج محتواها (بسبب الخاصية الازموزية) من التركيز الأقل و هو خلايا الدم إلى التركيز الأعلى و هو المحلول الملحي عالي التركيز.

Animal Cell culture

زراعة الخلايا Tissue culture واحده من اهم التقنيات المستخدمه في علوم الحياة في الوقت الحاضر وهي مصطلح يشير الى عملية ازالة اوفصل الخلايا ،الانسجة ،الاعضاء او اي جزء من الحيوان بطريقه ميكانيكيه او انزيميه لغرض تفكيكها وزراعته في اوساط زرعية اصطناعيه وتحفيزه على النمو بداخل اوعية تحوي على جميع المواد الغذائية و الظروف البيئيه اللازمه لنمو بحيث تبقى قادره على القيام بوظائفها الحيويه خارج الجسم الحي .

زراعة الاعضاء كاملة تسمى Organ culture وعندما تزال الخلايا من اجزاء من هذي الاعضاء وتزرع بشكل منفصل فتسمى هنا ب cell culture

بدء علم زراعة الخلايا الحيوانيه في القرن التاسع عشر عام ١٩٠٧ على يد العالم Ross Harrison وتطور عن طريق تطوير اساليب وتقنيات علم الاجنة وقد كان الدافع الاساسي هو دراسة طبيعة الخلايا ومتابعة انشطتها تحت المجهر

وتطور بشكل كبير واصبح واسع الانتشار في الوقت الحالي في المختبرات العلميه

كيفية الحصول cell culture : عندما يتم الحصول عليها من كائن حي بشكل مباشر وانماؤها في وسط ملائم تسمى حينها ب primary cell culture

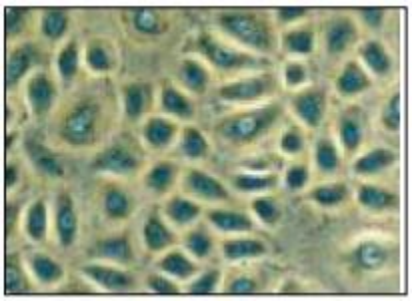
Cell culture systems

هناك نوعين من الانظمه التي تستخدم في انماء الخلايا الحيوانيه ،وعادة يعتمد هذا التصنيف على قابلية الخلايا على الالتصاق الاوعية المستخدمه في زراعتها وهنا تسمى Monolayer culture system (Adherent)او غير قابله للالتصاق على سطح الاوعيه وتكون طافيه Floating وتسمى ب Suspension culture system

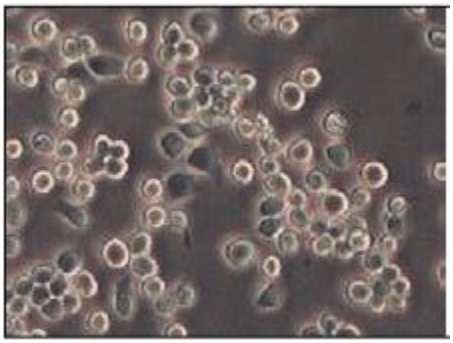
الصفات المظهرية للخاليا فى المزرعة الخلويةculture in Morphology Cells

الخلايا المزروعه Cell culture عادة تصنف تبعا المظهر الخارجي (shap &appearance) يمكن تقسيمها الى ثلاث اقسام :

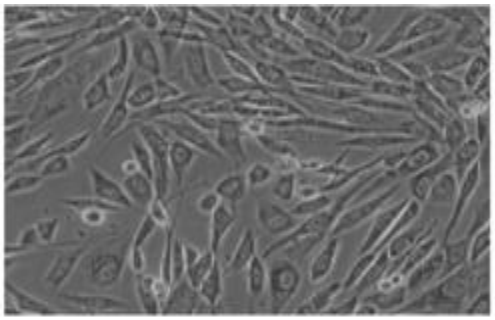
١- Epithelial_ liked cells :لها القابلية على الالتصاق على اوعية الزرع الخلوي وتتميز بشكلها المسطح flattenedاو المضلع polygonal



٢- Lymphoplast – like cells :هي خلايا ليس لها قابلية الالتصاق على سطح اوعية الزرع الخلوي فتبقى طافيه floating اومعلقهsuspension في الوسط وعادة تكون ذات شكل كروي .



٣- Fibroplast _ like cells : هي خلايا لها قابلية الالتصاق على سطح اوعية الزرع الخلوي وتكون بشكل طولي elongated او بشكل ثنائي القطب bipolar وعاده يكون نموها بشكل swirles في الزرع الكثيف ,



الصفات الوظيفيه للخلايا الزرعيه Functional characteristics

عادة مواصفات Cultured cells تعتمد على منشا تلك الخلايا (مثلا خلايا كبديه اوقلبيه ..الخ) ولكن عندما تنمو في الاوساط الزرعيه يتم عمل عدة فحوصات بايوكيميائية لمعرفة هل هذه الخلايا تحمل نفس الصفات الوظيفية لخلايا المنشأ اوداخل جسم الكائن الحي In vivo مثلا قابلية الخلايا الكبديه على افراز الالبومين

life spin of cell culture

هناك تقسيم اخر يعتمد على عدد مرات الانقسام للخلايا المزروعه

Primary cell culture

هي الخلايا التي تؤخذ بشكل مباشر الانسجة الحيوانيه ، ومعضمها لها قابليه للانقسام ٥-١٠ مره وتبعا للتكاليف وصعوبة الحصول على الانسجة بشكل مباشر من الكائن الحي ،ومن الممكن ان يكون الكائن نفسه حاوي على فايروس اواي ملوث لذا فهذي الطريقه غير مناسبة للعمل المختبري ولكنها تفيد في عملية عزل بعض الفايروسات

Secondary cell culture:

عندما يعمل Passage اواعادة زرع لل Primary cell في اوساط زرعيه جديده

: Deploid cell strains

هناك انواع من الخلايا لها القابليه على الانقسام في المزراع الخلويه لعدة انقسامات بين ١٠-٥٠ مره اعتمادا على life span لكل خلية حسب مصدرها مثلا ٥٠ انقسام للخلايا المشتقه من جنين الانسان human fetal و١٠ انقسامات لخلايا جنين الحصان والبقر ،وهذا النوع مفيد يستخدم قي الكشف عن الفيروسات وانتاج اللقاحات

Continous cell line

تمثل الخلايا التي لها القابلية على الانقسام والتكاثر بشكل سريع وغير محدد في الاوساط الزرعيه الاصطناعيه لذا يطلق عليها Immortal cell line وعادة يتم عزلها من الخلايا السرطانيه او خلايا diploid cell اذ تستحث على الانقسام بشكل متكرر ويحدث هذا اما تلقائيا اوبفعل فايروس،اشعاع اوويعمل لها Transformation ويمكن ان يخزن هذا النوع من الخلايا لعدة سنوات وذلك بدرجة حراره واطئه جدا باستخدام النايتروجين السائل ويستفاد منه في الكثير من التجارب

Cell strain السلاله خلوية

هو الخط الخلوي الناتج من انتقاء خاليا من مزرعة خط خلوي ابوي بواسطة االستنساخ أو بطريقة اخرى و هنا نجد أن صفات و مميزات معينة تظهر في هذه الخاليا ويمكن لهذه الخاليا أن تنمو كطبقة واحدة أو كمعلقات.

اهمية زراعة الخلايا الحيوانية

Model systems

تعتبر كنموذج حي في دراسة Molecular biology &Biochemistry ،دراسة الامراض ومسبباتها ،تاثير الادويه على الخلايا الحيه ،التجارب الغذائية

Toxicity Testing

تستخدم بكثره في دراسة تاثير العقارات والادويه المختلفه الجديده ،مستحضرات التجميل على نمو ومقاومه الخلايا الحيه لهذة المواد

Cancer Research

لها دور في دراسة الخلايا السرطانيه ومقارنتها بالخلايا الطبيعيه وملاحظة كيفية تحول الخلايا الطبيعيه الى الخلايا السرطانيه بفعل الفايروسات الاشعاع او مواد كيميائية ،دراسة مدى استجابه الخلايا السرطانيه للعلاجات المختلفه التى تعمل تحطيمها

Virology

واحده من اهم استخدامات cell culture هي تكثير الفيروسات لانتاج اللقاحات ومعرفة دورة حياتها وكيف تصيب الكائن الحي

Geneting counseling

وهي تقنية تشخيصية لمعرفة التشوهات الجنينيه بشكل مبكر اثناء الحمل وذلك باخذ عينات او خلايا جنينيه ودراسة تركيبها الجيني

Gene therapy

وذلك باستخدام تطبيقات الهندسه الوراثيه واجراء تعديلات جينيه بادخال فايروسات وانماءها في المزارع الخلويه ومن ثم اعادته للكائن

Drug development

لها اهميه واسعه في الصناعات الدوائيه .

انتاج انسجة صناعيه مثل الجلد الصناعي لعلاج الحروق

تصنيع المركبات البيولوجيه الثمينه بكميات كبيره مثل البروتينات