تحضير الشرائح الدائمية .. الخلية المثبتة Fixed cell

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

- خطوات تحضير الشرائح الدائمية للعينات:

١. التشريح Dissection

يقصد به قتل و تشريح الحيوان او النبات للحصول على الاجزاء المراد دراستها.

٢. التثبيت Fixation

وهو قتل الخلايا مع الحفاظ على المكونات التركيبية بحالة مشابهة للطبيعية قدر الامكان بأستعمال محاليل خاصة منها:

١. Formalin Acetic acid Alcohol
٢. Tanning agents
٣. Oxidation agents

٣. 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 ١٠٠% و من انواعه الشائعة:

أ. Ethyl alcohol
ب. Methyl alcohol

ملاحظة: خلال عملية Dehydration لا تضع العينة مباشرة في المحلول المركز لكي لا تنكمش الخلايا و تتلف.

٤. التروين 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

٥- الطمر Embedding يتم بوضع العينة في قوالب تحتوي شمع البرافين النقي ومن ثم تبريدها ليتصلب البرافين.

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

٧- التصبيغ Staining

بعد وضع المقاطع على الشريحة الزجاجية تلصق بمادة شفافة مثل زلال البيض و يزال الشمع بواسطة الزايلول ثم تمرر الشريحة بسلسلة من الكحولات متناقصة التراكيز تنتهي بالماء ثم تصبغ بصبغات معينة مثل Eosin لصبغ السايتوبلازم و Hematoxylen لصبغ النواة.

٨- التحميل Mounting

يتم باستخدام بعض المواد مثل:

أ- Distrene Plastezir Xylene (DPX)

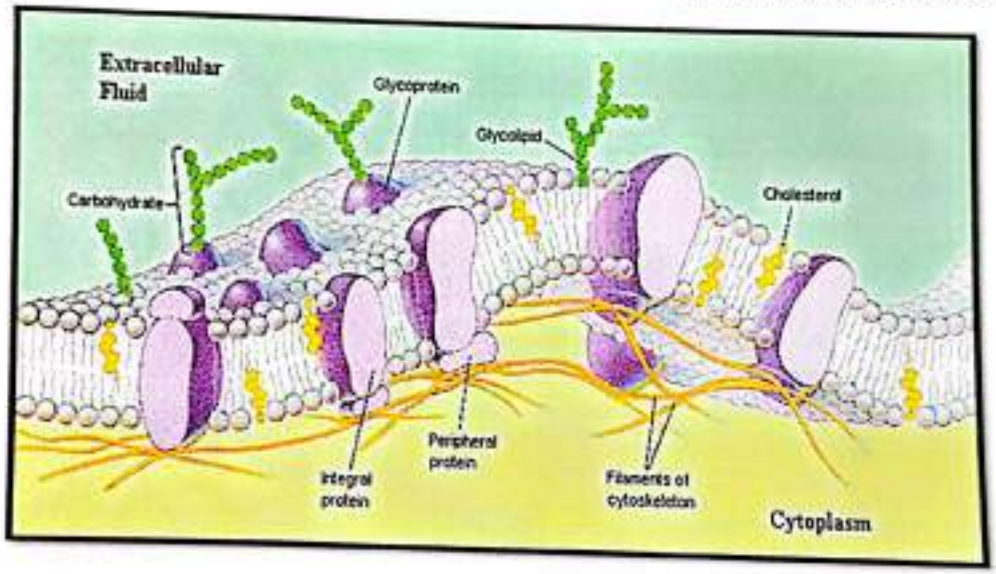
ب- Canada balsm

ثم يغطى النموذج بغطاء الشريحة حيث يمكن استخدام هذه الشريحة لعدة سنوات.

الغشاء البلازمي Plasma membrane

وهو غشاء رقيق يحيط ببروتوبلاست الخلية الحية و لايمكن رؤيته بالمجهر الضوئي و يبدو بالمجهر الالكتروني تركيبا ثلاثي الطبقات Trilaminar structure مكون من طبقتين خارجيتين متوازيتين تقريبا داكنتي الصبغة و من طبقة مركزية فاتحة الصبغة ، و يتراوح سمك الغشاء البلازمي للخلايا بين 80-150 A .

لقد صمم نموذج افتراضي للغشاء البلازمي يوضح التداخلات بين المكونات الكيميائية للغشاء البلازمي(البروتينات و الدهون) و هو ما يعرف بالنموذج الموزائيكي السائل Fluid mosaic model و استنادا الى هذا النموذج تتمثل الدهون بطبقتان تشكلان الهيكل الرابط للغشاء اما البروتينات فتنغمر بين طبقتا الدهون و يتم حفظ تماسك الغشاء البلازمي نتيجة تفاعلات بين بروتين و بروتين و لبيد و لبيد .



شكل تخطيطي لنموذج الموزائيكي السائل Fluid mosaic model

يعمل الغشاء البلازمي كحاجز ديناميكي ينظم حركة الذائبات solutes و المذيبات solvent من الخلية و اليها ، و يكون الغشاء البلازمي اختياري النفاذية selectively permeable يسمح لبعض المواد ان تمر خلاله ويعيق مرور مواد اخرى .

يمكن عزل الغشاء البلازمي عن باقي المكونات الخلوية بالطرد المركزي التفاضلي differential centrifugation او الطرد المركزي المتدرج الكثافة density gradient centrifugation ، لدراسة الغشاء البلازمي المعزول يمكن تصبيغه بصبغة انتقائية لصبغ الغشاء البلازمي ، و يمكن دراسة الغشاء المصبغ بواسطة المجهر الالكتروني

تخصصات الغشاء اللبلازمي

قد يتخصص أو يتحور جزء من الغشاء البلازمي في بعض الخلايا لاداء وظيفة معينة ومن تلك التخصصات:

١- **الزغابات الدقيقة Microvilli**

وهي انطواءات خارجية متعددة تشبه الاصابع توجد في السطوح الحرة لبعض الخلايا كالخلايا المبطنة للأمعاء وظيفتها زيادة المساحة السطحية المعرضة للامتصاص مسهلة بذلك نقل المواد الى داخل الخلية و بالعكس.

٢- **التجاعيد السطحية Surface Ruffles**

تعرف ايضا بالاقدام الصفيحية Lamellipodia وهي تجاعيد خفيفة متموجة توجد في الغشاء البلازمي للخلايا التي تحصل على موادها الغذائية من الوسط المحيط بعملية الادخال الخلوي Endocytosis كالاميبا.

٣- **الاهداب و الاسواط Cilia and Flagella**

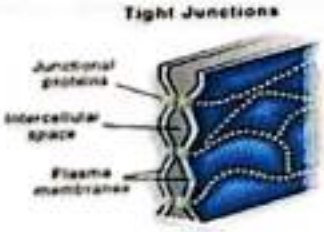
وهي امتدادات رفيعة من سطح الخلية ذات طول و قطر معين و لها تركيب داخلي متميز.

روابط اواتصالات الاغشية البلازمية للخلايا المتجاورة

تؤدي الى ارتباط الخلايا و تماسكها ضمن النسيج الواحد و منها الروابط الموجودة في الانسجة الحيوانية :

أ- **الاتصالات المحكمة Tight Junctions**

وهي المنطقة الواقعة تحت السطح الحر مباشرة و فيها يتحد نصف الغشاء الخارجي للخلية بنصف الغشاء الخارجي للخلية المجاورة بنقطة واحدة او اكثر و ينتج عن ذلك الاتحاد صفيحة مشتركة وبذلك تختفي الفسحة مابين الخلايا



ب- **الاتصالات المتوسطة Intermediate Junctions**

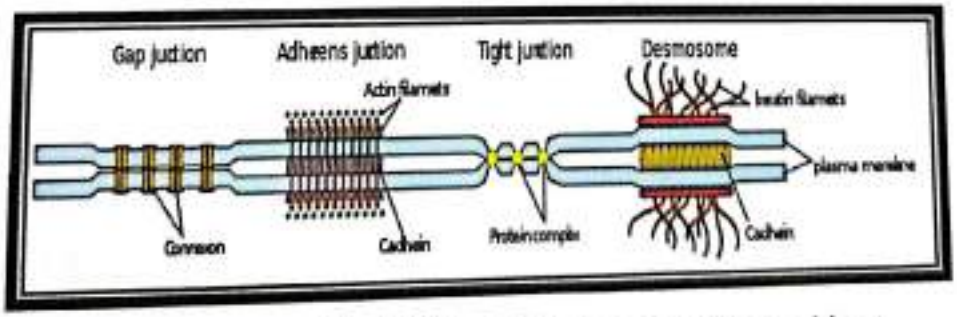
وهي احزمة مكونة من خيوط الاكتين ذات القابلية التقلصية تكون هذه الخيوط منضغطة على الاسطح للاغشية المتجاورة ، وتعد مواقع لتثبيت التراكيب الخيطية في الخلية.

ت- الدسموسومات البقعية Spot Desmosomes

وهي نقاط اتصال متميزة تشبه الازرار تنتشر على الاسطح الغشائية للخلايا المتجاورة ، يحتوي الفراغ بين الخليتين في تلك المناطق على حزم كثيفة مركزية تعرف بالصفيحة المركزية Central lamella كما توجد خيوط دقيقة تعرف بالخيوط التوترية Tonofilaments و تكون اتصالات مع دسموسومات بقعية اخرى ، و يعد هذا النوع من الاتصالات الخلوية من اقوى انواع الاتصالات الخلوية و تعد مواقع لتثبيت التراكيب الخيطية.

ث- الاتصالات الممرية Gap Junction

تعد اعقد الاتصالات الخلوية وفيها يخترق الغشاء البلازمي للخلايا المتجاورة تراكيب شبيهة بالاسطوانات تعرف بالكونيكسون Connexon ويتكون كل كونيكسون من ست وحدات ثانوية تلعب دورا في فتح القنوات و غلقها بين الخلايا المتجاورة.



مخطط يوضح انواع تخصصات الاغشية البلازمية للخلايا المتجاورة

اما الخلايا النباتية فتكون الروابط البلازمية فقط موجودة بين الخلايا تعمل على نقل المواد بين الخلايا