

طرق دراسة الخلية

مقدمة

الخلية هي الوحدة الأساسية في الحياة. وتعد أصغر وأبسط وحدة حية قادرة على البقاء تقوم بشتى الوظائف الحيوية من تكاثر وحركة وتغذية واستقلاب وطرح للفضلات. هناك كائنات حية صغيرة تقتصر على خلية واحدة تعرف هذه الكائنات بوحيدات الخلية UNICELLULAR، مثالها الجراثيم والمتحول الأميبي وغيرهما، وهناك كائنات راقية تتركب من عدد متفاوت من الخلايا تبعاً لنوع الكائن، وتعرف هذه الكائنات عموماً بكثيرات أو متعددات الخلايا MULTICELLULAR.

وقد يقتصر تركيب الكائن متعدد الخلايا على عدد محدود منها (كما في الباندورينا التابعة للطحالب الخضراء والمكونة من ١٦ خلية فقط)، وقد يرتفع عدد هذه الخلايا في كائنات أخرى حتى يصعب حصره بدقة. فعلى سبيل المثال، يصل عدد الخلايا في طفل الإنسان عند ولادته إلى ترليون (ألف مليار) خلية، ويزداد هذا العدد ليصل إلى نحو ٤٠ ترليون خلية في الإنسان البالغ.

وقد صنفت هذه الخلايا عند الإنسان إلى أكثر من ٢٠٠ نمط لها صفات بنيوية ووظيفية متباينة، وتشكل أربعة أنسجة رئيسية هي: النسيج الظهاري EPITHELIAL والنسيج الضام CONNECTIVE والنسيج العضلي MUSCLES والنسيج العصبي NEURONS، التي تشكّل كل أعضاء الجسم المختلفة.

خلايا بدائيات النوى PROKARYOTES:

تعد من أبسط أشكال الخلايا، وبالرغم من بساطة بنيتها فهي تستطيع العيش في أقسى الظروف البيئية على وجه الأرض نتيجةً لدرجة تكيفها العالية. وتعدّ الجراثيم (البكتيريا) مثلاً نموذجياً على هذا النوع من الخلايا ومن صفاتها:

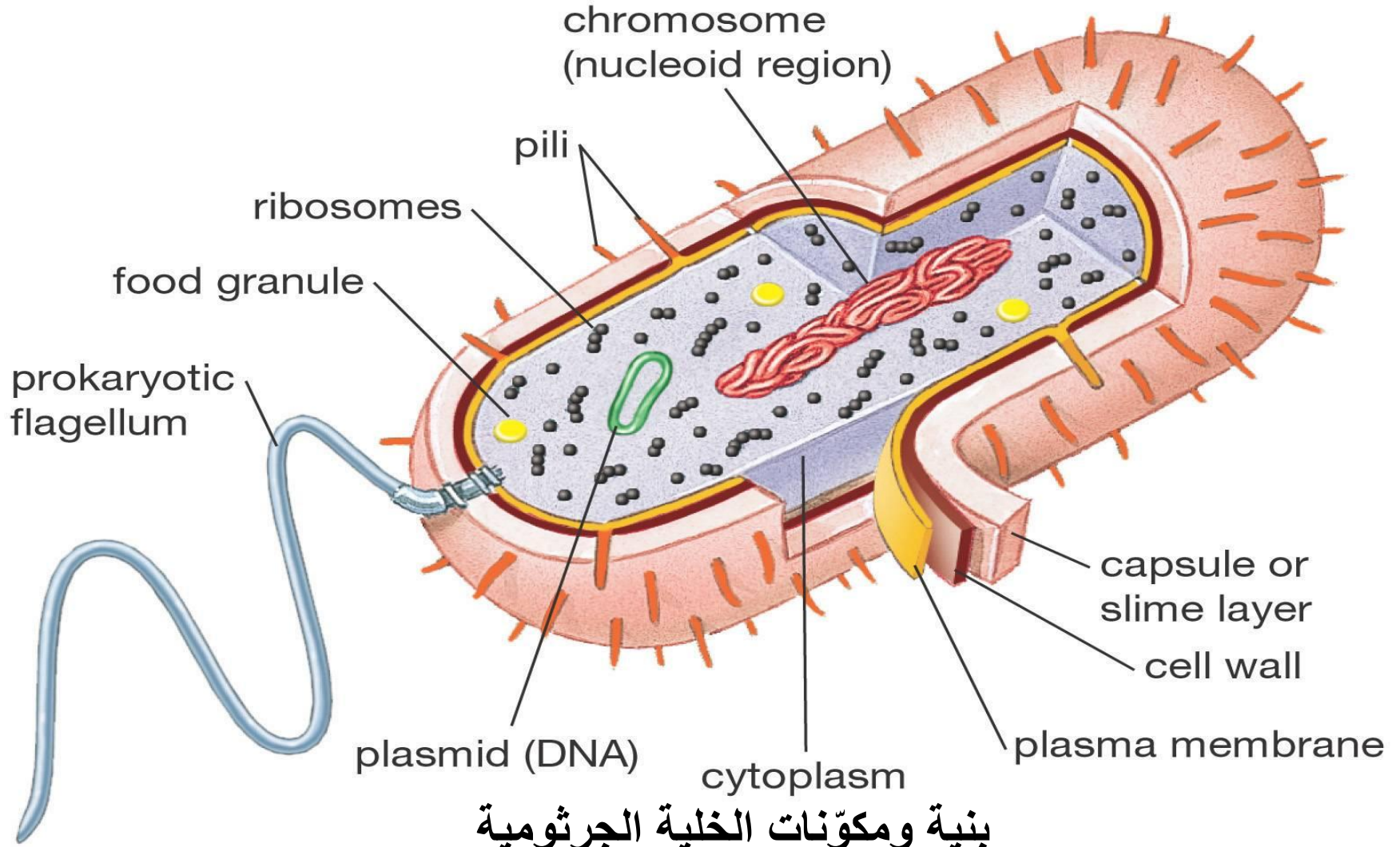
-امتلاكها لعدة أغشية خلوية:-

تحدث جميع التفاعلات الكيميائية داخل الخلية في العصارة الخلوية لخلوها من عُضَيَات غشائية متخصصة. وتبدو السيتوبلازما (الهيولى) عند فحصها بالمجهر الإلكتروني غير متجانسة وفيها ريبوزومات ومادة وراثية (أو شبيهه النواة). وتحتوي خلايا بدائيات النوى طبقة حماية إضافية خارج غشاء الخلية، تدعى جدار الخلية CELL WALL، وغالباً ما تحتوي أيضاً على طبقة ثالثة خارجية سكرية تشكّل بنية شبيهة بالمحفظة CAPSULE. ويتكون جدار الخلية في غالبيته من جزيئات سكرية يرتبط بعضها مع بعض مشكلة شبكة تؤمّن الحماية ضد الرضوض الفيزيائية، وتساعد في المحافظة على رطوبة الخلية.

- جميعها وحيدات خلوية:-

لا تتجمع وتشكّل كائنات حية متعددة الخلايا إلا أنه قد تتجمع على شكل عناقيد بعضها مع بعض وتشكّل طبقة رقيقة تدعى BIOFILM.

خلايا بدائيات النوى **Prokaryotes**: تعد من أبسط أشكال الخلايا، وبالرغم من بساطة بنيتها إلا أنها تستطيع العيش في أقسى الظروف البيئية على وجه الأرض نتيجةً لدرجة تكيفها العالية مع هذه الظروف. وتعدّ الجراثيم (البكتيريا) مثالاً نموذجياً على هذا النوع من الخلايا



سمات وخواص الخلية:

• **المحافظة على وسط داخلي** ثابت يختلف عن ظروف الوسط الخارجي.

• **استشعار الوسط الخارجي** كالتغيرات في الحرارة والحموضة ومستويات المواد الغذائية والضغط التناضحي .. الخ.

• **تنظيم عبور** الجزيئات من وإلى الخلية من خلال عملية النقل الإنتقائي للجزيئات.

• **تحفيز التفاعلات الكيميائية** من خلال تنظيم التفاعلات الكيميائية التي تحصل بداخلها.

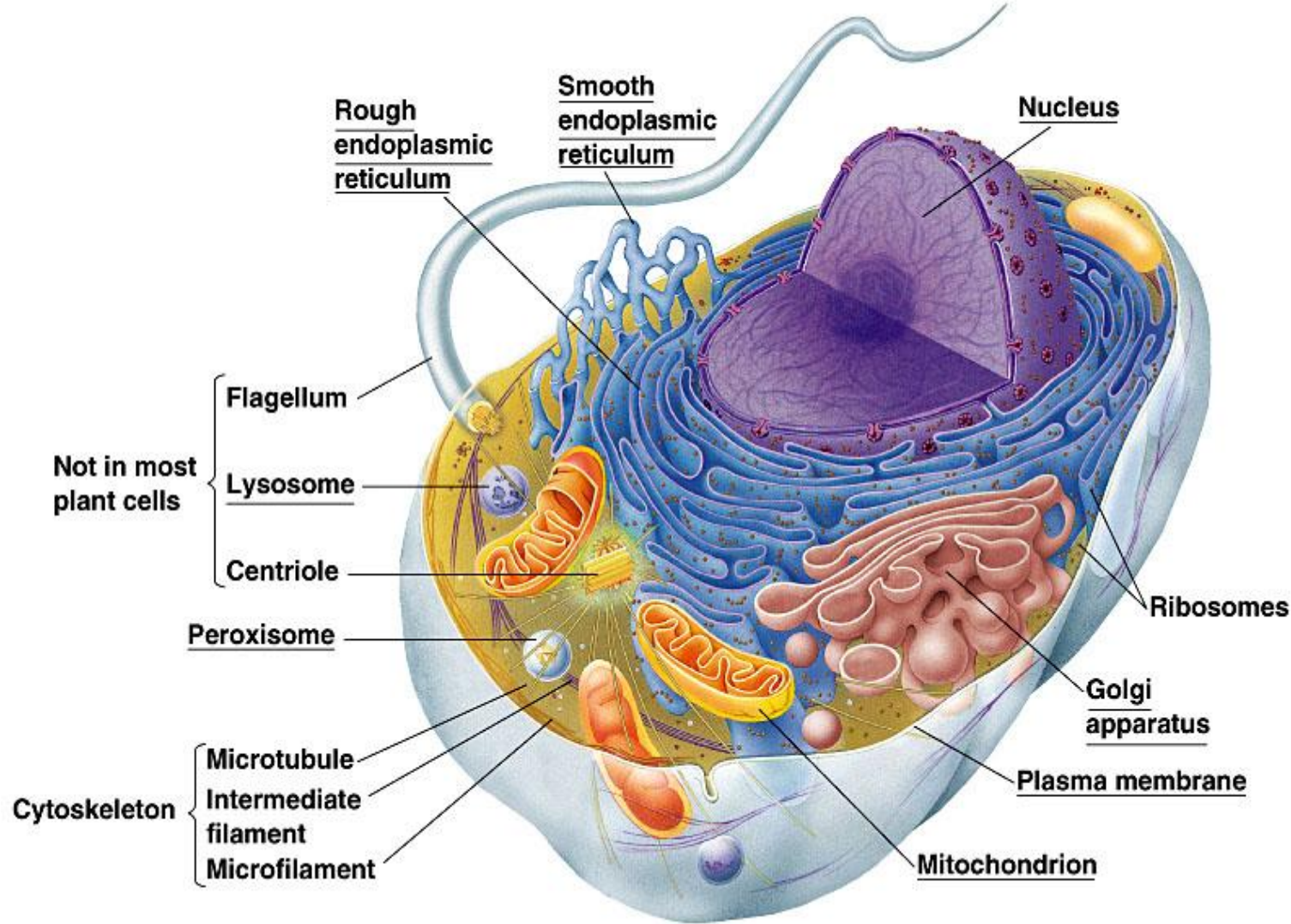
• **توليد الطاقة** من خلال التقاطها من خارج الخلية (على سبيل المثال أشعة الشمس والغذاء) وتحويلها إلى شكل جاهز للاستخدام هو الـ ATP.

• **امتلاك مادة وراثية** يتم وفقا لها اصطناع البروتينات.

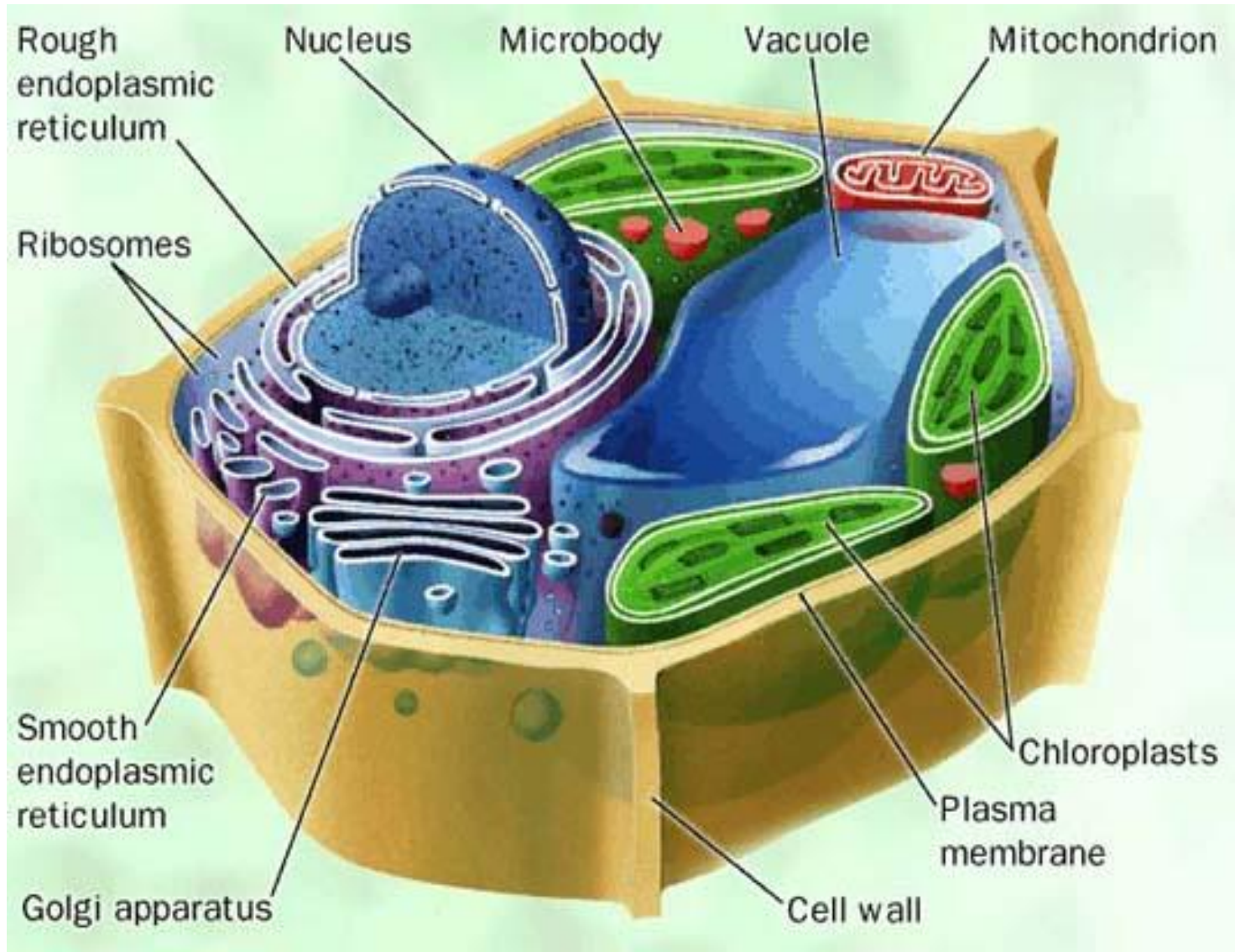
• **استبدال وتجديد الجزيئات** المتضررة أو توليد نسخ كافية من الجزيئات كي تتضاعف الخلية.

• **تنظيم نقل المعلومات** كي تتواصل الخلايا مع بعضها البعض.

خلايا حقيقيات النوى Eukaryotes: تشكل خلايا حقيقيات النوى (كخلايا الحيوانية والنباتية والفطور) الثالوث الأكثر حداثة وتطورا في مجموعات الكائنات البيولوجية، وهي خلايا معقدة قادرة على تشكيل كائنات حية متعددة الخلايا.



الشكل ٢-٣: يوضح بنية خلايا حقيقيات النوى الحيوانية



شكل يوضح بنية خلايا حقيقيات النوى النباتية

مقارنة بين خلايا بدائيات النوى وحقيقيات النوى النباتية والحيوانية

حقيقيات النوى النباتية	حقيقيات النوى الحيوانية	طلائعيات النوى	الكائنات
النباتات	الحيوانات	الجراثيم والعتائق	الحجم
يتراوح بين ١٠-٥٠ ميكرون	يتراوح بين ١٠-٥٠ ميكرون	يتراوح بين ١-١٠ ميكرون	طريقة انقسام الخلايا
انقسام فتيلي وقد يتواجد المنصّف في بعض الأنواع	انقسام فتيلي ومنصّف	انشطار ثنائي	تصنيع الرنا والبروتين
الرنا في النواة والبروتين في السيتوبلازما	الرنا في النواة والبروتين في السيتوبلازما	في السيتوبلازما	جدار الخلية
موجود	غير موجود	موجود	الغشاء السيتوبلازمي
موجود	موجود	موجود	السوط والأهداب
لا تتواجد	قد تتواجد	سلسلة واحدة	الشبكة السيتوبلازمية
موجودة	موجودة	غير موجودة	الهيكل الخلوي
متطور	متطور	بدائي وغير متطور	المريكزات Centriols
غير موجودة	موجودة	غير موجودة	جهاز غولجي
موجود	موجود	غير موجود	المتقدّرات
موجودة	موجودة	غير موجودة	صانعات اليخضور
موجودة	غير موجودة	غير موجودة	الصبغيات
عدد من الصبغيات كبيرة الحجم	عدد من الصبغيات كبيرة الحجم	صبغي دائري واحد صغير نسبياً	الجسيمات الداخلية والحالة
تقوم الفجوات عادة بوظائفها	عادةً موجودة	غير موجودة	الفجوات
موجودة وكبيرة الحجم	غير موجودة أو صغيرة الحجم	غير موجودة	

حجم وشكل الخلايا CELL SIZE & SHAPE

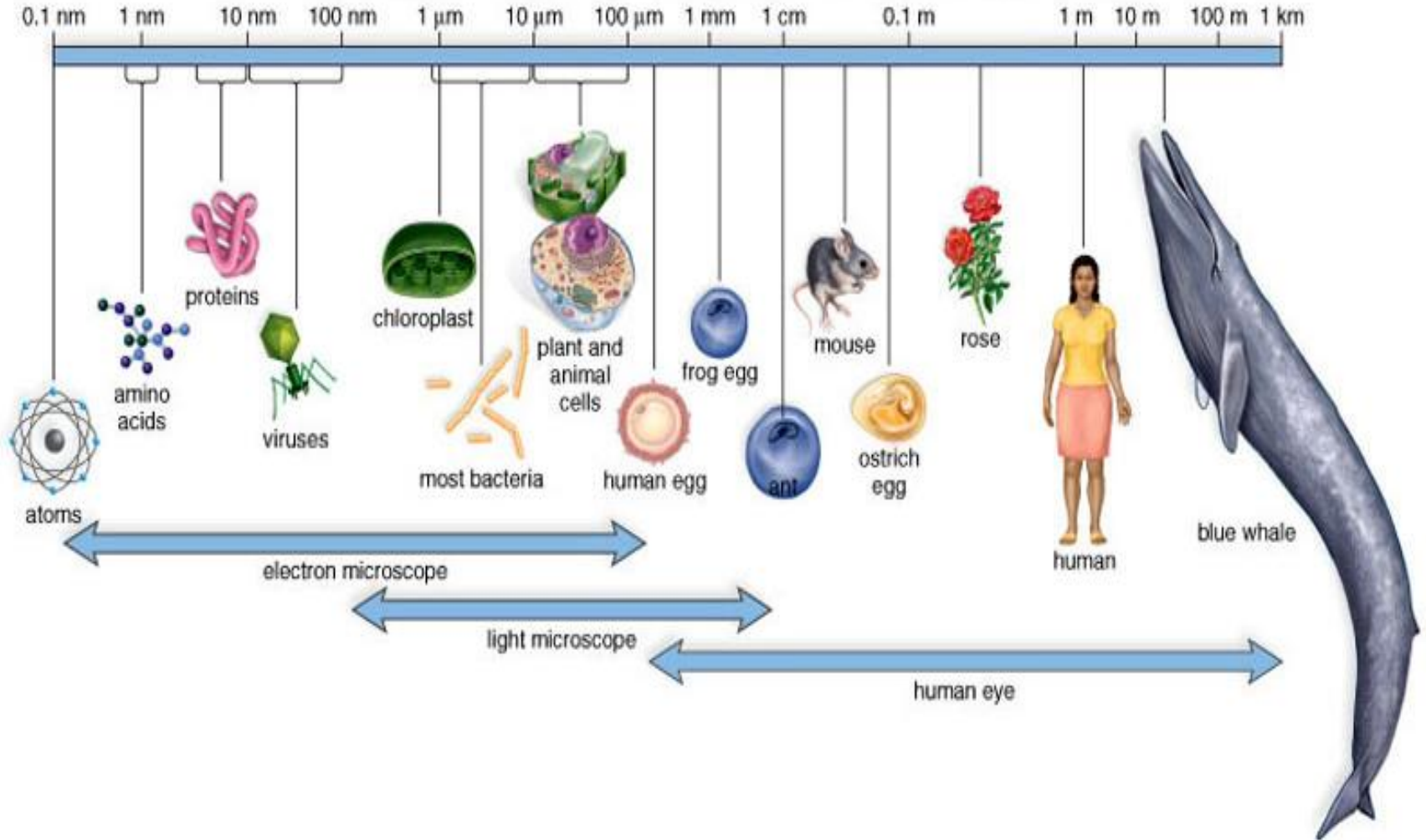
لا بد من مدخل بسيط في البداية نذكر به بوحدات القياس المتري الأساسية، ومن ثم تحديد المقياس الذي نعمل على مستواه. ولهذا الغرض يمكن تلخيص ذلك في معادلة واحدة تجمع أهم الوحدات المستخدمة ابتداءً من المتر كوحدة أساسية M ، سنتيمتر CM ، ملليمتر MM ، ميكرومتر أو ميكرون M ، نانومتر NM ، أنغستروم °A وأخيراً البيكومتر PM:

$$(1 \text{ M} = 10^2 \text{ CM} = 10^3 \text{ MM} = 10^6 \text{ M} = 10^9 \text{ NM} = 10^{10} \text{ A}^\circ = 10^{12} \text{ PM})$$

وتتمتاز الخلايا الحيوانية عموماً بصغر حجمها، إذ لا تمكن رؤيتها إلا بمساعدة المجهر وتتراوح أبعادها بين ١٠-٥٠ ميكرونًا. مع ذلك، لا بد من التنويه إلى أن بعض أنواع الخلايا قد يتجاوز في الحجم تلك القياسات المجهرية. فمثلاً، قد يصل طول قطر بويضة الثدييات إلى ١٠٠ ميكرونًا، بينما يصل طول قطر البويضة في الطيور والزواحف بما تحويه من ومواد غذائية أخرى إلى عدة سنتيمترات، وكذلك قد يصل طول الخلية العصبية عند الإنسان إلى عشرات السنتيمترات وإلى أمتار في الزرافة والحيتان. وبالمقابل، توجد خلايا صغيرة الحجم جداً كالجراثيم لا يتجاوز قطرها بعضة ميكرومترات، والخلايا الحبيبية في المخيخ عند الإنسان إذ لا يتجاوز قطر الخلية ٤-٥ ميكرون وتعد أصغر خلايا الجسم عند الإنسان.

وقد ينجم الحجم الكبير للخلايا في بعض الحالات عن تعدد النوى فيها، كما هو حال الخلايا الكبيرة المسماة بالخلايا العرطلة أو النواء MEGAKARYOCYTES، التي تعطي لاحقاً الصفيحات PLATELETS. وقد يكون ناجماً عن تراكم كميات كبيرة من قطيرات الدسم كما في الخلايا الشحمية أو ناتج عن التحام مئات أو آلاف الخلايا بعضها مع بعض كما هو الحال في التحام أورمات الخلايا العضلية الهيكلية بعضها مع بعض لتشكل خلية عضلية ناضجة. ولا يتعلق حجم الخلايا بحجم الحيوان، فخلايا الضفدع مثلاً لها حجم قد يفوق حجم خلايا الثدييات الكبيرة، ويعتقد أن كبر حجم هذه الخلايا قد يعود إلى ضعف النشاط الاستقلابي.

Cell Size & Shape حجم وشكل الخلايا



شكل يوضح وحدات القياس المتري الأساسية في بيولوجيا الخلية على مستوى الذرات والجزيئات الصغيرة والكبيرة والبنى المعقدة والعُضَيَات والخلايا

حجم الخلايا الحيوانية

- الخلايا الحيوانية عموماً صغيرة (١٠-٥٠ ميكرون)
- استثناءات:
 - بويضة الثدييات (١٠٠ ميكرون)
 - أم النواءات (تعدد النوى)
 - الخلايا العضلية (التحام الخلايا)
 - الخلايا الشحمية (تخزين الدسم)
 - الخلايا العصبية (أمتار في الزرافة والحيتان!)

العلاقة بين الشكل والوظيفة للخلية :

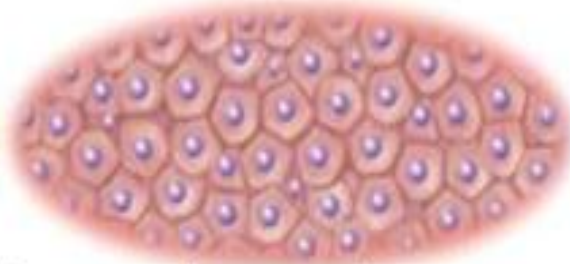
من الواضح أن الأنواع المختلفة من الخلايا الحيوانية تحافظ على شكل وحجم ثابت حتى تستطيع القيام بالوظيفة المنوطة بها. تمتلك الخلايا الحيوانية أشكالاً متعددة، فإما أن تكون **كروية** كما في الخلايا الدموية وإما تكون **اسطوانية** وإما **مكعبة** وإما مسطحة كما في خلايا النسيج الظهاري وإما **مغزلية** كما في الخلايا العضلية، وقد تكون **شجيرية** كما في الخلايا العصبية (الشكل ٦-٣).

وتعزى هذه الاختلافات في الشكل بين أنواع الخلايا لعاملين أساسيين هما: **خلو** الخلايا الحيوانية من **الغلاف الخلوي القاسي** الذي يوجد عند الخلايا النباتية، و**التمايز الخلوي الوظيفي** الذي يطرأ على الخلايا الحيوانية. وتستند العلاقة الجوهرية بين البنية والشكل والوظيفة إلى أن وظيفة أي كيان بيولوجي (يتراوح بين جزيئات وبنى وعضيات وخلايا وأنسجة وأعضاء وكامل جسم الكائن الحي حتى المنظومة البيئية) يمكن تحديدها عن طريق بنيته أو شكله. ومن هذا المنطلق هناك مقولة في علم البيولوجيا تفيد أنّ "**الشكل يتبع الوظيفة، والوظيفة تفرض الشكل**".

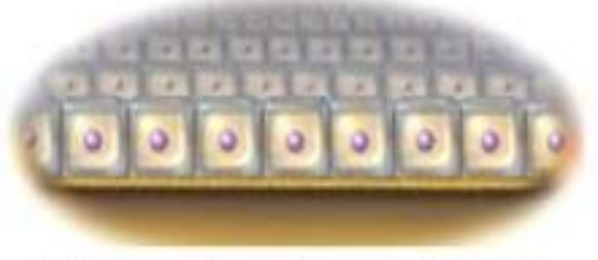
العلاقة بين الشكل والوظيفة



خلايا حُرشفية: مسطحة و رقيقة



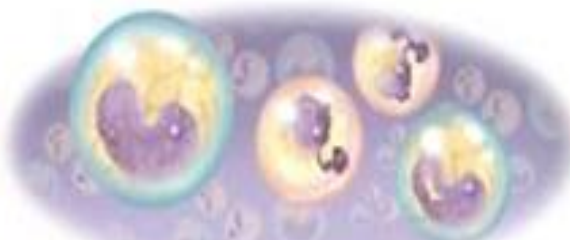
خلايا مضلعة : متعددة الأوجه



خلايا مكعبة: طولها يساوي عرضها



خلايا إسطوانية: طولها أكبر من عرضها



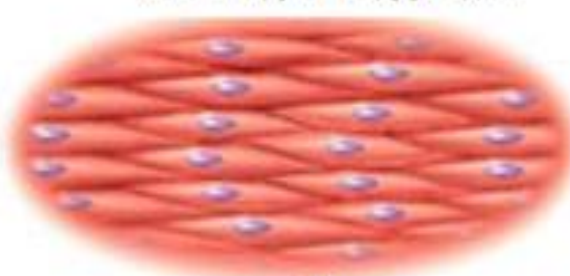
خلايا كروية: دائرية الشكل



قرصية: لها شكل القرص



خلايا نجمية: لها شكل النجوم



خلايا مغزلية: لها شكل المغزل



خلايا ليفية: لها شكل شكل الليف

بعض أشكال خلايا حقيقات النوى

ويمكننا أن نتساءل عن العلاقة بين بنية أو شكل (بروتين أو عضية أو خلية) والوظائف التي تقوم بها؟ ومن العوامل المؤثرة في ذلك **الجينات** والاصطفاء الطبيعي أثناء التطور. فعلى سبيل المثال، تقوم الخلايا بتصنيع **بروتينات** بأشكال وهيئات مختلفة، فمنها بروتينات كروية أو خطية/ليفية الشكل أو على شكل حرف Y، هذه الأشكال المختلفة مصممة للقيام بوظائف نوعية.

فعلى سبيل المثال، بنية وشكل بروتين **الهيموغلوبين** الموضحة في الشكل المرفق هي بنية فراغية رباعية تستطيع حمل ٤ جزيئات أوكسجين، بينما يبدو الهيموغلوبين في الخلايا المنجلية خطي بعد تحريره للأوكسجين، وهذا يؤثر في شكل الخلية ودورها الوظيفي، مما يؤدي الى فقر دم المنجلي. مثال آخر؛ تتمثل **وظيفة النواة** في حقيقيات النوى **بحماية وتخزين الدنا** بشكل آمن بعيداً عن بقية عضيات الخلية، لذا تشير بنيتها المحاطة بغلاف نووي (مكوّن من **غشاء مضاعف**) إلى الدور الوظيفي الذي تؤديه ويتوافق شكلها عادة مع شكل الخلية والوظيفة المنوطة بها، وهذا ينطبق على الأشكال التي تتخذها الخلايا للقيام بدورها ..



Normal Cell

كروية حمراء طبيعية

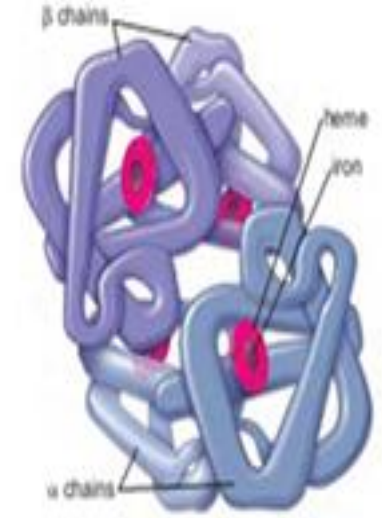


Sickle Cell

كروية حمراء منجلية



شكل الهيموغلوبين في
الخلية المنجلية



شكل الهيموغلوبين
الطبيعي

شكل يوضح كيفية ارتباط شكل بروتين الهيموغلوبين بوظيفة الخلية

Diversity of cell types



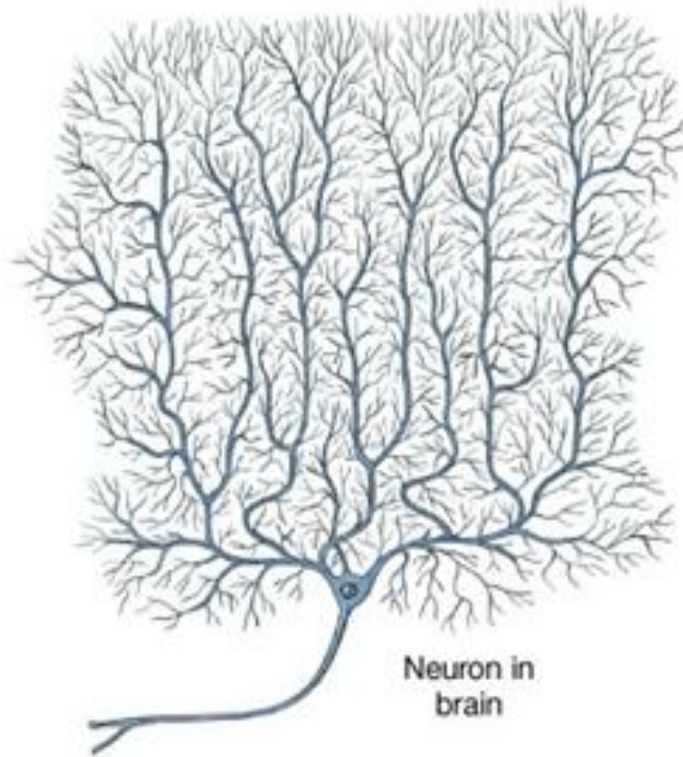
Smooth muscle cell



Blood cells



Bone cell



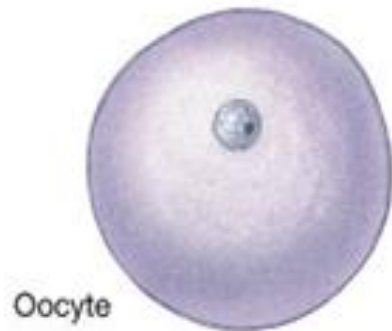
Neuron in brain



Cells lining intestinal tract



Fat cell



Oocyte



Sperm

طرائق دراسة الخلية

دراسة الخلية الحية

دراسة الخلية بعد التثبيت

طرائق خلوية فيزيائية

• مقدمة :

- كان لاكتشاف **المجهر** الضوئي أكثر الأثر في وجود هذا العلم وتطوره ذلك أن أغلب الخلايا عناصر لا يمكن مشاهدتها بالعين المجردة. وقد تم باستعمال المجهر التعرف على أشكال الخلايا وعلى العضيات المركبة لهذه الخلايا وترتبط بداية علم الخلية باكتشاف المجهر الضوئي من قبل العالم روبرت هوك عام ١٦٦٥ حيث بين وجود حبات صغيرة أثناء فحصه لمقاطع من الفلين، أطلق عليها اسم الخلايا cells .
- وضعت **النظرية الخلوية** قبل منتصف القرن الثامن عشر ١٨٣٨ .
- تم تعريف الخلية منذ ذلك الحين على أنها **الوحدة الأساسية** المركبة لسائر أجسام الكائنات الحية. وقد تم التأكيد على أن كل خلية تأتي من **خلية سابقة لها . وان هنالك علاقة متبادلة بين مختلف مكونات الخلية.**
- وقد ساهم في تطور هذا العلم وضع أنماط من المجاهر ذات القدرة العالية على التكبير وكان من أهمها **المجهر الإلكتروني** .
- تم في مرحلة تالية دراسة **التركيب الكيميائي** للخلية والعضيات المختلفة المكونة لها، إضافة إلى البدء بالدراسة التجريبية عن طريق زراعة الخلايا، واستخدام في ذلك النظائر المشعة والملونات النوعية اللازمة لمثل هذه الدراسات والتي قادت إلى المعرفة الدقيقة للخلية والعمليات الحيوية التي تتم فيها

أنواع المجاهر

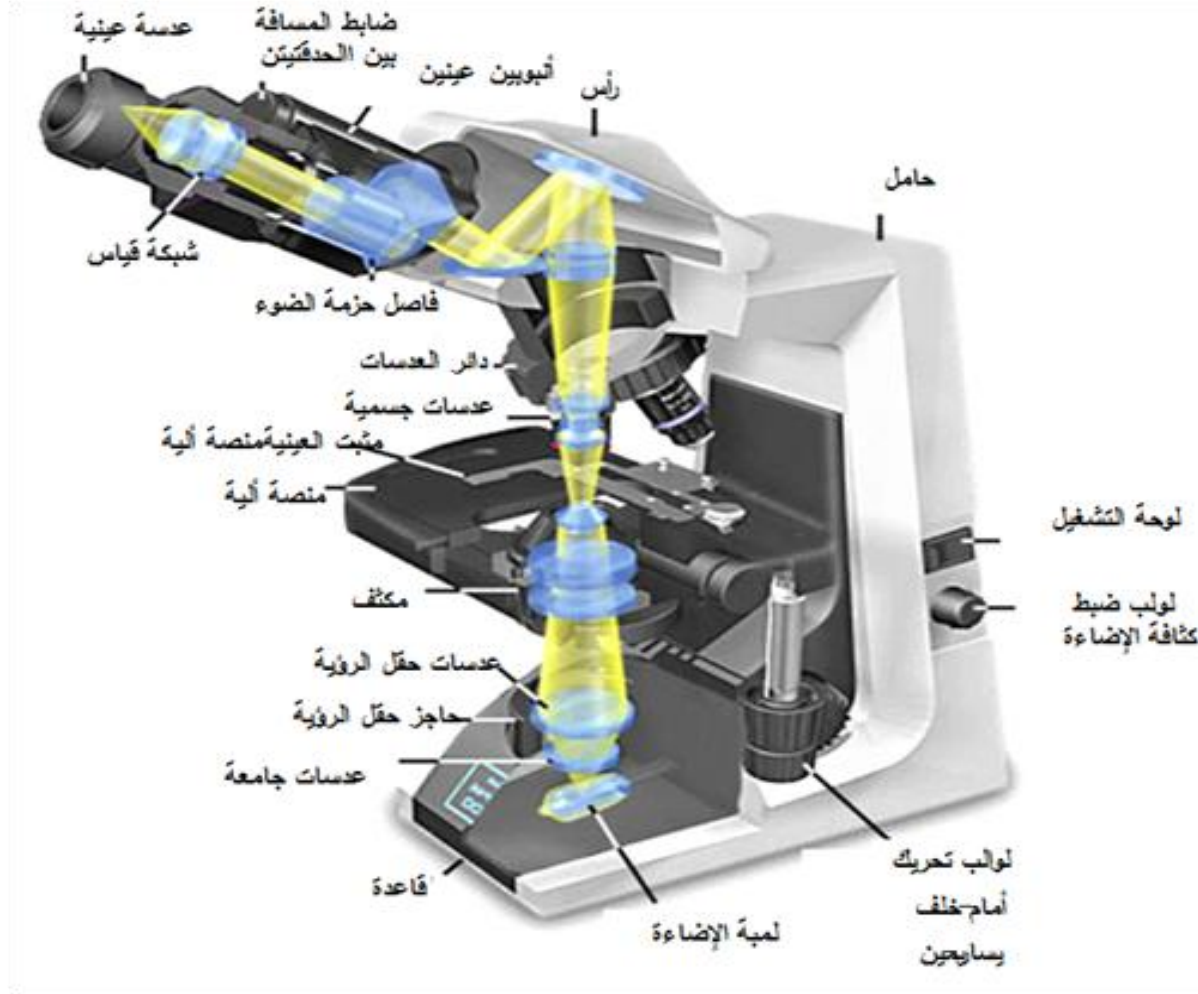
١ - المجهر الضوئي LIGHT MICROSCOPE:

يعتمد المجهر الضوئي على تركيز الضوء على الشيء المراد فحصه **وتفاعل حزمة الضوء مع المكونات الخلوية في العينة**، فيسهل بذلك الكشف عن العينة المراد فحصها. هذا بالإضافة إلى كونه أداة تكبير تعمل على مرحلتين؛ تقوم **العدسة الجسمية** بالتكبير الأولي، ثم تقوم **العدسة العينية** بتكبير الصورة الأولية مرة ثانية. ويستخدم المجهر الضوئي لفحص اللطخات **والشرائح الملونة بالملونات التقليدية والشرائح الملونة بتقنيات الكيمياء الخلوية والكيمياء المناعية الخلوية ومحضرات التصوير الإشعاعي الذاتي** من أجل معرفة أنواع الخلايا والأنسجة في العينة بأبعادها الثنائية. ويتألف المجهر الضوئي من جزأين :

١- **جزء ميكانيكي**: مكوّن من قاعدة، حامل، ضوابط صغيرة وكبيرة، لوحة متحركة، مخروط حامل للعدسات، وأنبوبيّ العدسات العينية.

٢- **جزء بصري**: يحتوي على ثلاث مجموعات من العدسات، وهي **المكثف والعدسة الجسمية والعدسة العينية**. يجمع المكثف الضوء ويركّزه بحيث ينتج عنه مخروط من الضوء يضيء الشيء المراد فحصه. وتقوم العدسات الجسمية بتكبير وإظهار الصورة المضيئة للشيء باتجاه العدسة العينية. تكبر العدسة العينية أيضاً هذه الصورة وتبرزها إلى شبكية الشخص الفاحص أو على صفيحة تصويرية أو (للحصول على صورة رقمية) على الكشاف. ويمكن حساب التكبير الإجمالي من خلال حاصل ضرب القوة التكبيرية للعدسة الجسمية مع العدسة العينية.

المجهر الضوئي :Light Microscope



شكل يوضح مكونات ومسار الضوء في المجهر الضوئي العادي

- القوة التمييزية RESOLVING POWER

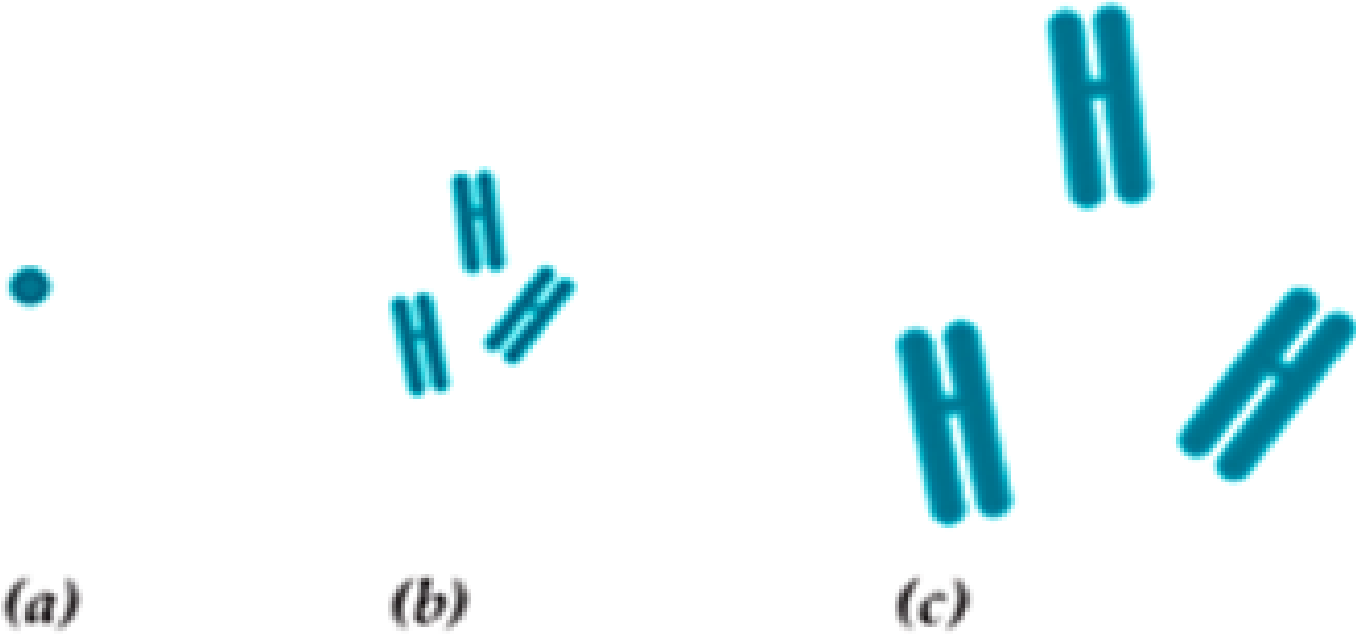
للحصول على صورة مفصلة وواضحة بالمجهر يُعتمد على عامل حاسم يدعى **القوة التمييزية** يمكن تعريفها كأصغر مسافة بين جسيمين يمكن رؤيتهما كشيئين منفصلين.

تبلغ القوة التمييزية في المجهر الضوئي ٠,٢ ميكرون إذ تسمح هذه القوة بأخذ صورة جيدة مكبرة من ١٠٠٠-١٥٠٠ مرة. بعبارة أخرى لا يمكن تمييز الأشياء الأصغر من ٠,٢ ميكرون (مثل غشاء الخلية) بالمجهر الضوئي. كما تُمكن رؤية شيئين مثل جسيمين على أنهما شيء واحد إذا كانا مفصولين بعضهما عن بعض بمسافة تقل عن ٠,٢ ميكرون.

وتعتمد جودة الصورة ووضوحها وغناها بالتفاصيل على القوة التمييزية للمجهر. لذا يكون للتكبير المجهرى قيمة فقط إذا ترافق مع قوة تمييزية عالية.

تعتمد القوة التمييزية للمجهر على **ثلاثة عوامل**؛ الأول هو **البعد البؤري للعدسة**، الثاني هو **طول موجة الضوء**، والثالث هو **خاصية انحراف الضوء**. وبناءً على ذلك، يوجد فرق بين التكبير وبين القوة التمييزية، ويوضح الشكل التالي الفرق بينهما.

القوة التمييزية Resolving Power



- الفرق بين التكبير والقوة التمييزية: عند فحص العينة (a) بالتكبير ١٠٠ فإنها تبدو على شكل قرص دائري أزرق اللون، إلا أنه عند استخدام تكبير ٤٠٠ يتبين أن القرص الدائري الأزرق ما هو إلا عبارة عن ثلاثة أشكال على شكل حرف H، وهذا يعني أن القوة التمييزية والتكبير زادت في (b). وعند استخدام العدسة الزيتية ذات التكبير ١٠٠٠ لوحظ زيادة في تكبير الشكل (b) فقط ولم يترافق ذلك بزيادة في القوة التمييزية كما هو مبين في (c).

٢- المجهر متباين الطور PHASE-CONTRAST MICROSCOPE

يعتمد المجهر متباين الطور على **تغير سرعة حزم الضوء أثناء مرورها في التراكيب البنيوية الخلوية وخارج الخلوية بمعاملات انكسار مختلفة**، إذ تظهر التراكيب البنيوية بشكل داكن أو أكثر شحوباً. يُستخدم في المجهر متباين الطور مجموعة من العدسات تنتج صوراً مرئية من أشياء شفافة كالعينات البيولوجية غير الملونة. لذا يستخدم لمشاهدة **الخلايا الحية والمزارع الخلوية**، وهو من الأدوات المهمة في جميع مخابر المزارع الخلوية والنسجية.

٣- المجهر المستقطب POLARIZING MICROSCOPE:

يسمح المجهر المستقطب **بتمييز البنى المكوّنة من جزيئات منتظمة للغاية**. يستخدم لفحص العينات الحاوية على **جزيئات عالية التوجه** (كالسيليلوز والكولاج: POLARIZING) يستخدم هذا المجهر من قبل **الجيولوجيين** لدراسة خاصة الانكسار المضاعف للبلورات وقد مكن هذا المجهر من خاصة الانكسار المضاعف في **المادة الصبغية والمصورات الحيوية والعضيات الخلوية الداخلة في تركيب البنى الحركية في الخلايا كالأهداب والسياط**.

4- المجهر المتألق FLUORESCENCE MICROSCOPE:

عند تعرض مواد معينة للإشعاعات من ضوء ذي موجات محدد الطول يصدر عنها ضوء ذو موجات أطول تدعى هذه الظاهرة **بالتألق FLUORESCENCE**. يُستخدم في المجهر المتألق إما ضوء فوق البنفسجي وإما ليزري، لذا تظهر المواد متألقة بشكل متوهج أو ملون في أرضية داكنة. وتستخدم عادةً مركبات متألقة (كالصبغات المتألقة) تتحد مع الجزيئات الكبيرة في الخلية. فمثلاً تتحد مادة **الأكردين البرتقالي** مع DNA و RNA وعند مشاهدتها بالمجهر المتألق يظهر **معقد DNA-أكردين البرتقالي** على شكل ضوء أصفر مخضر بينما يُصدر **معقد RNA والأكردين البرتقالي** ضوءاً أحمرأ برتقالياً، وبذلك يمكن معرفة مكان توضع الحموض النووية في الخلية. كما يستخدم المجهر المتألق عند ربط المواد المتألقة (مثل الفلوروسين إيزوثيوسينات **FLUORESCCEINISOTHIOCYANETE FITC**) مع جزيئات (كالأضداد) ترتبط بشكل نوعي مع مكونات الأنسجة، ومن ثمّ تسمح بمعرفة وتحديد موضع هذه المكونات تحت المجهر المتألق.

-.المجهر الإلكتروني ELECTRON MICROSCOPE

يعتمد المجهر الإلكتروني النافذ والماسح على **تفاعلات الإلكترونات مع مكونات النسيج**، إذ إن طول الموجة في **الحزمة الإلكترونية أقصر** من الحزم الضوئية، لذا تسمح **بزيادة القدرة التمييزية** بألف ضعف لتصل إلى ٠,٠٠٠٢ ميكرون .

وهناك نوعان للمجهر الإلكتروني؛ النافذ والماسح.

1.- المجهر الإلكتروني النافذ TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPE أو (TEM):

يسمح نظرياً بقوة تمييز عالية جداً تقدر بـ **0.05 نانومتر**. ومن الناحية العملية يمكن رؤية جميع التفاصيل الدقيقة جداً للعينة **بأبعاد ثنائية** كالعضيات والمعقدات البنيوية في الخلية بقوة تمييزية تقدر بـ ١٠-١ نانومتر. **تتفاعل بعض الإلكترونات مع المكونات الخلوية**، وتكمل مسارها بينما تعبر الإلكترونات الأخرى العينة الخلوية بدون تفاعل إذ تصل معظم الإلكترونات إلى العدسات الجسمية مشكلة صورة مكبرة، ومن ثم تعبر إلى عدسات مكبرة أخرى.

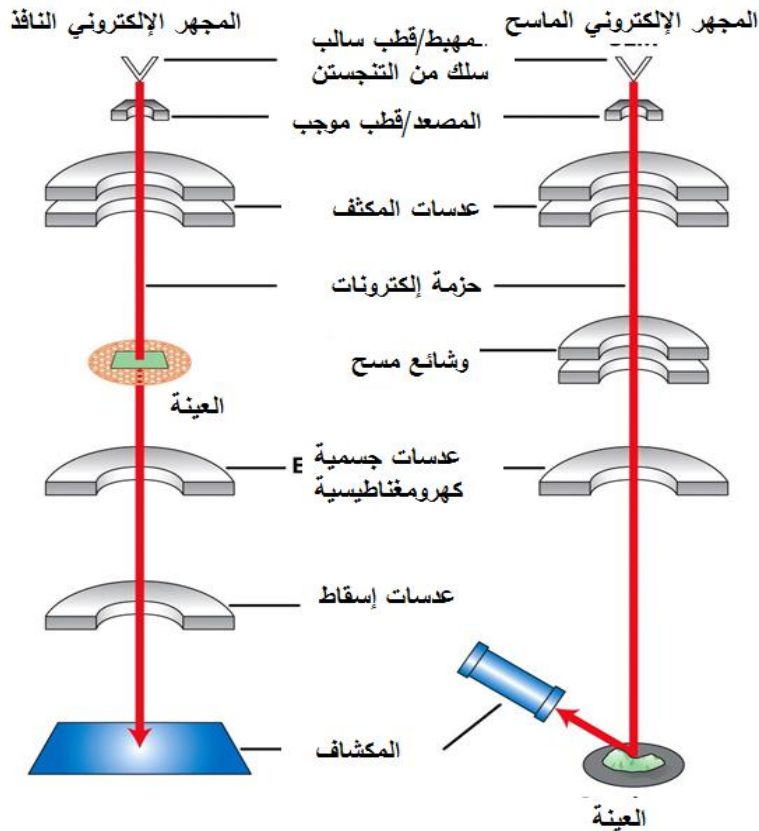
لا تستطيع عين الإنسان رؤية الإلكترونات لذا تعرض الصورة على شاشة متألقة، بحيث تبدو الصور رمادية اللون أي بيضاء وداكنة.

2.--المجهر الإلكتروني الماسح SCANNING ELECTRON MICROSCOPE (SEM)

يسمح المجهر الإلكتروني الماسح **برؤية ثلاثية أبعاد كاذبة** لأسطح الخلايا والأنسجة والأعضاء ولا تعبر حزمة الإلكترونات من خلال العينة في هذا النوع من المجاهر إذ **تُغلف العينة بطبقة رقيقة من ذرات معدنية** يصعب على الإلكترونات اختراقها، ومن ثم تتبعثر الإلكترونات وتنعكس لتظهر على الشاشة كصورة بيضاء وداكنة (رمادية).

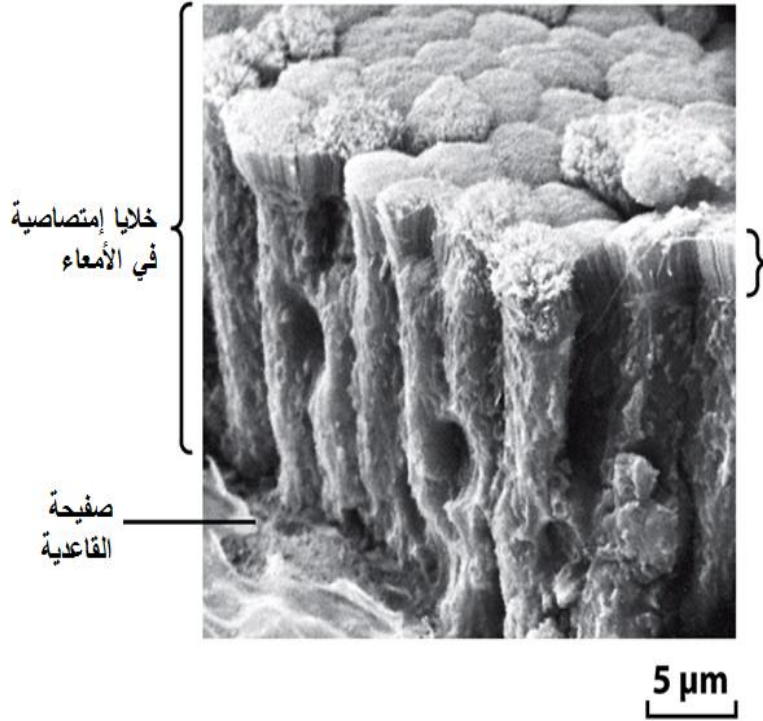
المجهر الإلكتروني المجهر الإلكتروني

المجهر الإلكتروني النافذ (TEM)

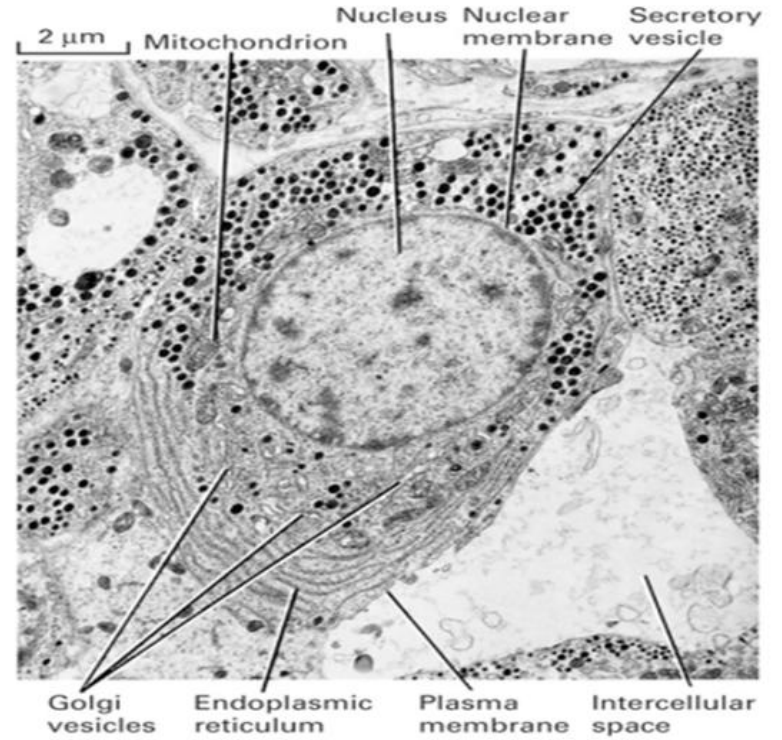


المجهر الإلكتروني (يمين)، ومكونات ومسار الضوء في المجهر الإلكتروني الماسح والنافذ (يسار).

المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) Scanning Electron Microscope



زغيبات



خلية واحدة تبدو ثنائية الأبعاد بالمجهر الإلكتروني النافذ TEM (يمين). خلايا اسطوانية في ظهارة الأمعاء تبدو ثلاثية الأبعاد بالمجهر الإلكتروني الماسح SEM (يسار).

طرائق وتقانات مستخدمة في دراسة الخلية

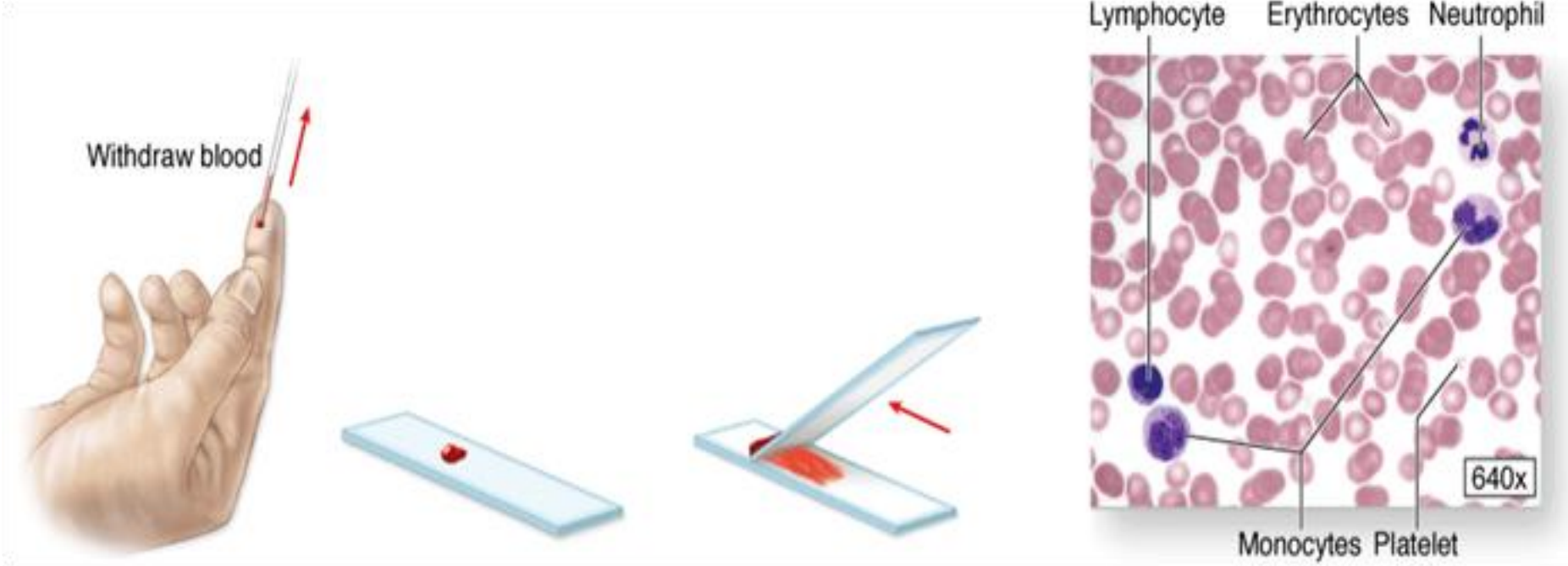
١ - اللطخات أو المسحات SMEARS

يمكن دراسة الخلايا الحية والمثبتة من خلال وضع العينة بين شريحة وساترة زجاجيتين، في وسطها الطبيعي أو في وسط قريب منه (مثل السائل الفيزيولوجي)، وذلك لتقويم بعض وظائفها مثل حركة الحيوانات المنوية أو قياس ضربات الأهداب الخلوية أو دراسة الانجذاب الكيميائي في الخلايا المختلفة. وتستخدم في هذه الدراسات **ملونات حيوية** تسمح بتقويم حيوية الخلايا مثل أزرق التريبيان أو لإظهار بعض المكونات مثل الأحمر المعتدل الذي يظهر الفجوات البلعمية.

الملونات الحيوية المستخدمة يجب ان تكون **قليلة السمية** ويجب ان تستخدم بتركيز منخفضة بحيث لا تؤدي الى موت الخلايا ولكن في نفس الوقت تؤدي الى **زيادة تباين قرائن الانكسار** وبالتالي توضيح مكونات الخلايا المدروسة.

وتستخدم هذه الطريقة أيضاً لفحص المكونات الخلوية للدم ونقي العظم وسائل الحبل الشوكي واللطخات المهبلية ولطخات عنق الرحم بعد تجفيفها وتثبيتها وتلوينها.

اللطخات أو المسحات Smears



طريقة تحضير اللطاخة الدموية

٢- المزارع الخلوية CELL CULTURE

يعتمد مبدؤها على المحافظة على حياة الخلايا والأنسجة ودراستها خارج الجسم من خلال استزراع الخلايا والأنسجة في **اوساط مغذية** معقدة معروفة التركيب (أملاح حموض الأمينية، فيتامينات)، ويضاف إليها مكونات المصل أو عوامل نمو نوعية. وتعدّ بديلاً عن إجراء التجارب على الحيوانات، وذلك عن طريق تحضير مزارع خلوية في أنابيب الاختبار *IN VITRO*.

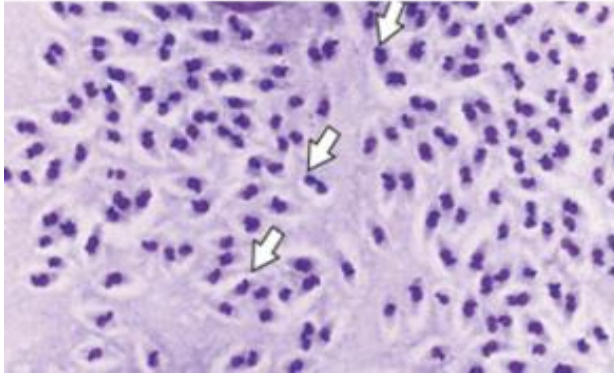
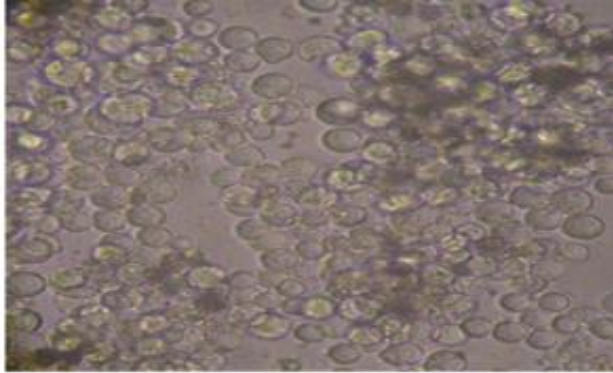
وعند تحضير مزارع خلوية من الأنسجة والأعضاء يجب **فصل** الخلايا في البداية بعضها عن بعض إما بطريقة ميكانيكية وإما عن طريق المعالجة بالإنزيمات، وخاصة البروتيازات **PROTEASES** التي تخرب البروتينات المسؤولة عن التصاق الخلايا بعضها مع بعض أو التصاقها على سطوح غرف الزرع. تزرع الخلايا بعد عزلها بشكل معلق أو يتم نشرها على طبق بتري أو شريحة زجاجية إذ تلتصق الخلايا.

وتدعى المزارع الخلوية المعزولة بهذه الطريقة **بالمزارع الخلوية الأولية PRIMARY CELL CULTURE**. من جهة أخرى، وعند عزل الخلايا من نسيج سرطانية وزرعها بهذه الطريقة عندئذ يمكن للخلايا أن تبقى في المزارع لفترات طويلة وتشكل **خطاً خلوياً دائماً PERMANENT CELL LINE**.

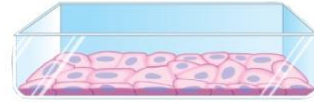
- ١- دراسة تأثير جزيئات مفردة في نوع معين من الخلايا،
- ٢- مراقبة سلوك الخلايا الحية (انقسام الخيطي، موت مبرمج، تمايز، تعديل وراثي)،
- ٣- دراسة تأثير الأدوية والفيروسات والطفيليات على خلايا معينة،
- ٤- دراسة الخلايا الجذعية والحصول على خلايا متميزة من الخلايا الجذعية،
- ٥- إجراء تقنيات البيولوجيا الجزيئية.

المزارع الخلوية Cell Culture

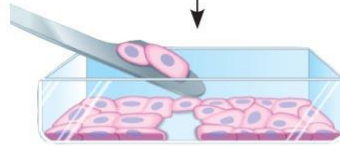
خلايا أولية وخطوط خلوية



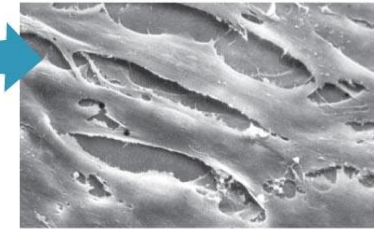
Cells anchor to dish surface and divide (anchorage dependence).



When cells have formed a complete single layer, they stop dividing (density-dependent inhibition).



If some cells are scraped away, the remaining cells divide to fill the gap and then stop (density-dependent inhibition).



25 μm

(a) Normal mammalian cells

الشكل يبين كيفية نمو الخلايا في المزارع الخلوية (ضمن زجاجات أو على شرائح خاصة).

٣ - تجزئة الخلية بالتثفيل التفاضلي CELL FRACTIONATION BY DIFFERENTIAL CENTRIFUGATION

يمكن عزل مكونات الخلايا والأنسجة بواسطة **تقنية التثفيل** او الطرد المركزي، وهي عملية فيزيائية يتم فيها استخدام قوة نابذة لعزل العُضَيَّات والمكونات الأخرى للخلية وفقاً لمعامل التثفيل لكل عضية.

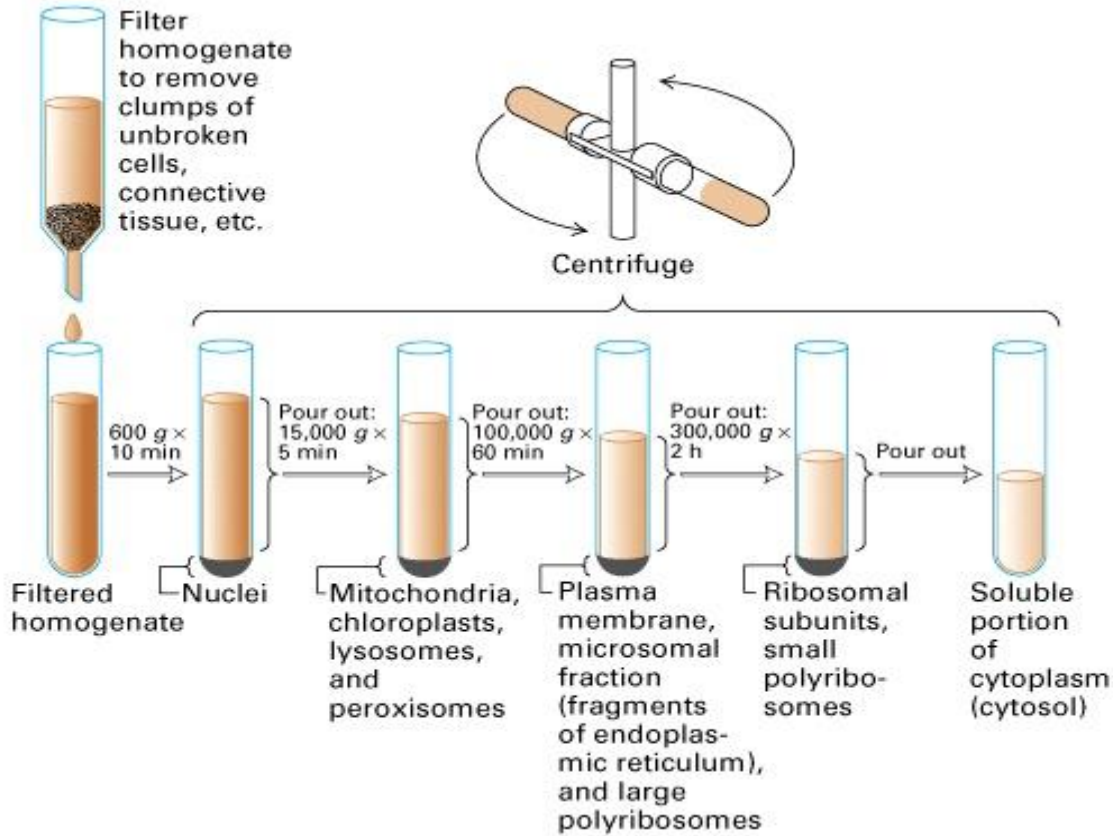
إذ يعتمد معامل التثفيل لجزيئة ما على **حجمها وشكلها** وعلى **كثافة ولزوجة الوسط** الموجودة فيه.

ويمكن فحص وتحليل نقاوة العُضَيَّات الناتجة بالمجهر الإلكتروني ودراسة تركيبها الكيميائي ووظائفها.

ويمكن لتقانة التثفيل ان تستعمل لفصل **وعزل الجزيئات** عن بعضها وفقاً لوزنها الجزيئي كم يحدث للDNA .

وتزداد امكانية الفصل بزيادة الزمن وعدد الدورات في الدقيقة الواحدة وبزيادة هذين الأمرين نصل الى **التثفيل الفائق**.

Cell Fractionation by **تجزئة الخلية بالتثقيف التفاضلي** Differential Centrifugation



الشكل يبين مراحل فصل العُضَيَات الخلية بطريقة بالتثقيف التفاضلي باستخدام سرعات دوران مختلفة للحصول على رواسب فيها عضيات متبانية الوزن والحجم بناء على معامل التثقيف الخاص بكل من العُضَيَات. أول ما يترسب من العُضَيَات بالسرعات الضعيفة هو النواة على اعتبارها أكبر حجماً وأكثر كثافة، تليها المتوكونديري والصانعات ومن ثم الأغشية الخلية ثم الريبوزومات لتبقى في السائل الطافي بعد التثقيف بسرعة السيتوبلازما الخلية مع ما تحويه من عناصر منحلّة فيها.

Cell Fractionation, and Differential Centrifugation

**Grind
cells**



**Centrifuge
@ 600 g**



**Then
centrifuge
longer
@ 15,000 g**



**Then
centrifuge
even longer
@ 100,000 g**



**Sediment
contains
nuclei**



**Sediment
contains
mitochondria,
lysosomes**



**Sediment
contains
ribosomes,
ER**



**Soluble
portion of
cytoplasm.
No
sediment**



التحليل اللوني Chromatography :

- ويتم اعتمادا على التباين في الشحنة الكهربائية للمواد أو اختلاف حجمها أو اختلاف استطاعتها التثبيت على مجموعات كيميائية خاصة ومن هذه الطرائق التحليل اللوني على الورق والتي تعتمد على قابلية انحلال المواد في مذيب وبالتالي هجرتها على ورق النشاف فتتفصل المواد على شكل بقع وتم عن طريقها الكشف عن مواقع العديد من الأحماض الأمينية .
- يمكن أن تتم عملية الفصل على صفيحة من البلاستيك المطلية بطبقة رقيقة من السلولوز .
- أما طريق الفصل الأكثر إستعمالا فهو تمرير السائل الذي يحوي المادة التي نود فصلها في عامود مليء بمادة تستطيع جزيئاتها أن ترتبط بالمادة المراد فصلها دون غيرها من المواد يتم بعد ذلك فصل المادة عن جزيئات مادة الارتباط .

• الرحلان الكهربائي Electrophoreses :

وتعتمد هذه الطريقة على انتقال المواد على الهلام من الاغار أو من متعدد الأكريلاميد أو الأميدون أو على الورق وفقا لشحنتها الكهربائية في حقل كهربائي حيث تهاجر الجزيئات الموجبة إلى القطب السالب والشحنات السالبة إلى القطب الموجب بما يتناسب مع الشحنة الكلية لها .

كما يمكن إجراء الرحلان الكهربائي للجزيئات وفقا للوزن الجزيئي وتستخدم هذه التقنية للفصل بين جزيئات الـ DNA وكذلك لتفريد البروتينات عن بعضها وعزلها وتنقيتها .

-الترميز المجهرى *Microincincration* :

- وهي تسمح بالكشف عن **المواد المعدنية** وتوزعها داخل الخلية عن طريق حرق المقاطع النسيجية بدرجة ٥٠٠-٦٠٠ مئوية التي تحرق المواد العضوية. يتم بعدها دراسة المخطط الرمادي الحاصل تحت المجهر ومقارنة ذلك مع الشاهد مع إجراء تفاعلات كيميائية للكشف عن العناصر الموجودة .

-التحليل الطيفى *Spectrophotometry* :

وتعتمد هذه الطريقة على امتصاص المواد الخلووية **لطول موجة أشعة** معينة. تتناسب كمية الأشعة الممتصة طردا مع تركيز المادة. والأشعة المستعملة لهذا الغرض هي **الفوق بنفسجية (U.V)** في حالة البروتينات تستخدم الموجة بطول 280 nm وفي حالة الحموض النووية 260 nm .

. تقنية تحضير المقاطع الخلوية والنسجية

١. التثبيت (كيميائي أو فيزيائي)
٢. التجفيف والترويق (مزيج من الإيثانول والماء)
٣. الإدماج في البرافين المذاب
٤. التقطيع بالـ microtome أو بالـ cryostate
٥. التلوين (قاعدية basophilic أو حمضية التلون acidophilic)

- تقنية تحضير المقاطع الخلوية والنسيجية

تقتضي هذه الطرائق قطع العينة إلى مقاطع رقيقة جداً، وتشمل عدة خطوات موضحة في الشكل هي:

١- التثبيت FIXATION:

ويهدف لتجنب هضم أنسجة العينة بإنزيمات التحلل الذاتي أو بواسطة الجراثيم والمحافظة على التركيب الجزيئي والبنوي للخلايا. ويتم ذلك تجري التثبيت الكيميائي إذ توضع العينات في مثبتات (فورمول أو كحول أو حمض الخل) وهي محاليل ذات ارتباط مع المكونات الكيميائية في الخلية. أما عند استخدام المجهر الإلكتروني فتثبت العينات بمحلول الغلوتر أدهيد وبرابع أوكسيد الأوزميوم.

٢- التجفيف DEHYDRATION والترويق (جعلها شفافة):

ويستخدم لاستخراج الماء من العينات النسيجية وذلك من خلال التمرير المتتالي للعينات في سلسلة متدرجة من خليط الإيثانول والماء (عادة تبدأ من ٧٠% إلى ١٠٠% إيثانول). يستبدل بعدها الإيثانول بمذيب قابل للامتزاج مع وسط الإدماج. وتصبح العينات النسيجية شفافة (رائقة) حالما يتم وضعها في المذيب.

٣- الإدماج EMBEDDING:

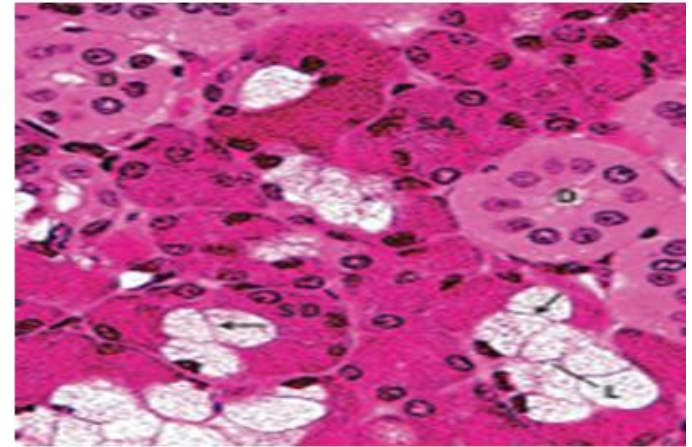
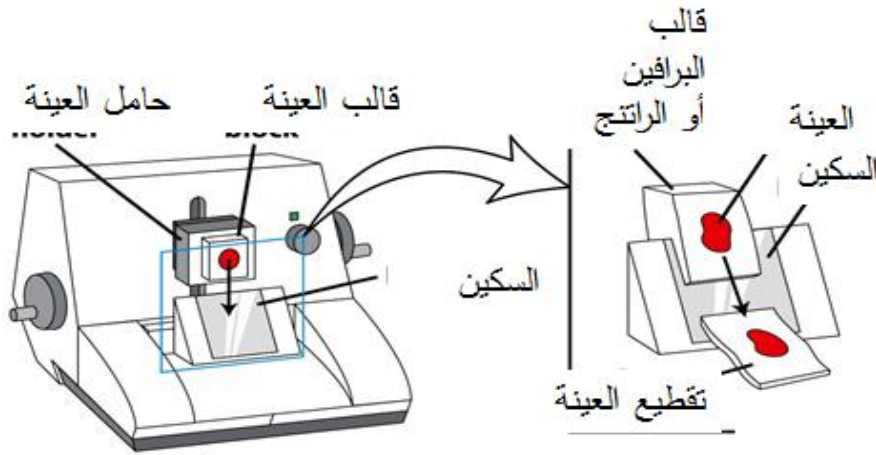
بعد تشرب العينة للمذيب توضع في البرافين المذاب في فرن درجة حرارته ٥٢ - ٦٠ م. تؤدي حرارة الفرن دوراً في تبخر المذيب، وبذلك تمتلئ الفراغات النسيجية بالبرافين، ثم تُخرج العينات من الفرن ليتصلب البرافين. أما عينات المجهر الإلكتروني فإنها تُدمج بالراتنج البلاستيكي الذي يعطي نتائج أفضل بكثير من الإدماج بالبرافين ولا يسبب تشوهات في الخلايا.

٤- **التقطيع SECTIONING**: تُقطع القوالب البرافينية المحتوية على العينة بواسطة مقطع مجهري **MICROTOME** يحتوي على شفرة فولاذية للقوالب البرافينية بسماكة ٥ ميكرون أو شفرة زجاجية أو ألماسية للحصول على مقاطع بسماكة ١٠٠ نانومتر لقوالب الراتنج الخاصة بالمجهر الإلكتروني.

٥- **التلوين STAINING**: إن معظم الصبغات هي مركبات **حمضية أو أساسية تميل لتشكيل روابط كهربائية ساكنة (أملاح) مع الجذور الكيميائية القابلة للتشرد في الخلايا**. تدعى المكونات الخلوية التي تتلون بسهولة بالصبغات الأساسية بالمكونات المحبة للأساس (قاعدية التلون) **BASOPHILIC** بينما تدعى المكونات النسيجية التي تتلون بالصبغات الحمضية بالمكونات المحبة للحمض **ACIDOPHILIC** (حامضية التلون). ويعد ملون الهيماتوكسلين والأيوزين **HEMATOXYLIN AND EOSIN** (H&E) من أكثر الصبغات شيوعاً. **يلون الهيماتوكسلين نواة الخلية والبنى الحمضية (الأجزاء الغنية بـ RNA) باللون الأزرق بالمقابل يلون الإيوزين سيتوبلازما الخلية والكولاجين باللون الوردي).**

وهناك طرائق تثبيت فيزيائية تعتمد على **التجميد في الثلجة أو السائل الآزوتي**، إذ نحصل على عينة صلبة (مجمدة) **جاهزة للتقطيع** بواسطة مقطع جليدي يدعى **كريوستات CRYOSTAT** مصمم لتقطيع الأنسجة المجمدة. وعادة ما تُستخدم طريقة تجميد العينات النسيجية في المستشفيات لدراسة العينات أثناء العمليات الجراحية لكونها تسمح **بتحضير سريع للمقاطع النسيجية** دون المرور بعملية الإدماج التي ذكرت سابقاً. يعدّ تجميد العينات **طريقة فعالة في الدراسات الكيميائية الخلوية للإنزيمات الحساسة أو للجزيئات الصغيرة لكون التجميد لا يبطل فعالية معظم الإنزيمات بخلاف التثبيت**، ونظراً لذوبان الشحوم في المذيبات كالزايلين **XYLENE** في المقاطع البرافينية، فإن استخدام المقاطع المجمدة أفضل في دراسة الأنسجة الحاوية على الشحوم.

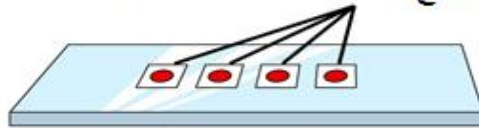
تقنية تحضير المقاطع الخلوية والنسجية



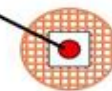
تلوين العينة باستخدام صبغة H&e

المشراح الدقيق - ميكروتوم

المقاطع



شريحة مجهرية للفحص
بالمجهر الضوئي



شبكة نحاسية للفحص
بالمجهر الإلكتروني

الشكل يبين كيفية تحضير مقاطع خلوية ونسجية وتلوينها بغية فحصها بالمجهر الضوئي

تقنية الكيمياء الخلوية CYTOCHEMISTRY:

يستخدم مصطلح الكيمياء الخلوية للإشارة إلى طرائق تحديد أو معرفة مكان توضع المواد في الخلايا من خلال تفاعلات كيميائية معينة أو نتيجة تفاعلات الانجذاب الشديدة بين الجزيئات، إذ ينتج عن ذلك مركبات ملونة غير منحلة أو مركبات كثيفة تساعد في تحديد موضع مواد معينة بالمجهر الإلكتروني أو حتى المجهر الضوئي وفيما يأتي أمثلة توضح الكشف عن مكونات خلوية مختلفة:

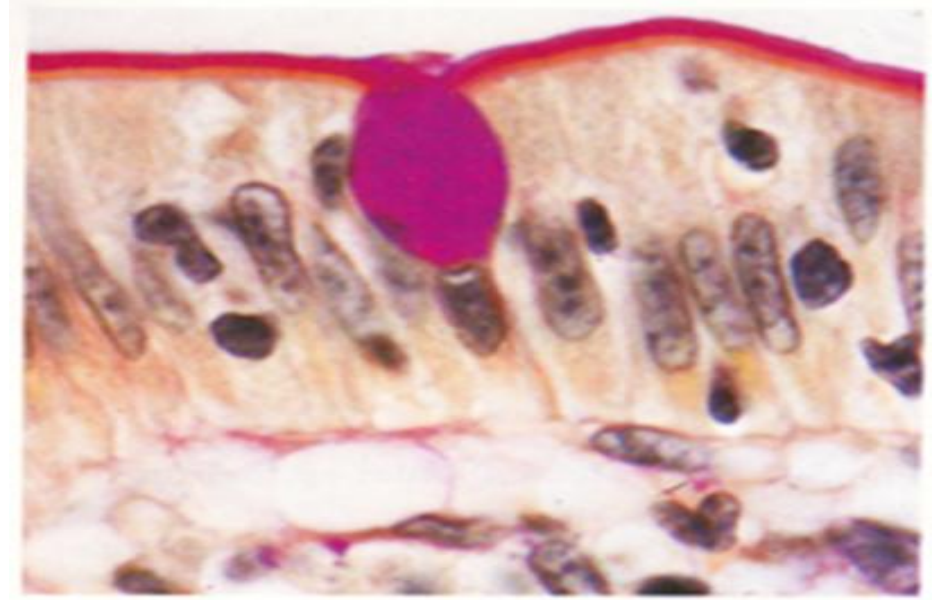
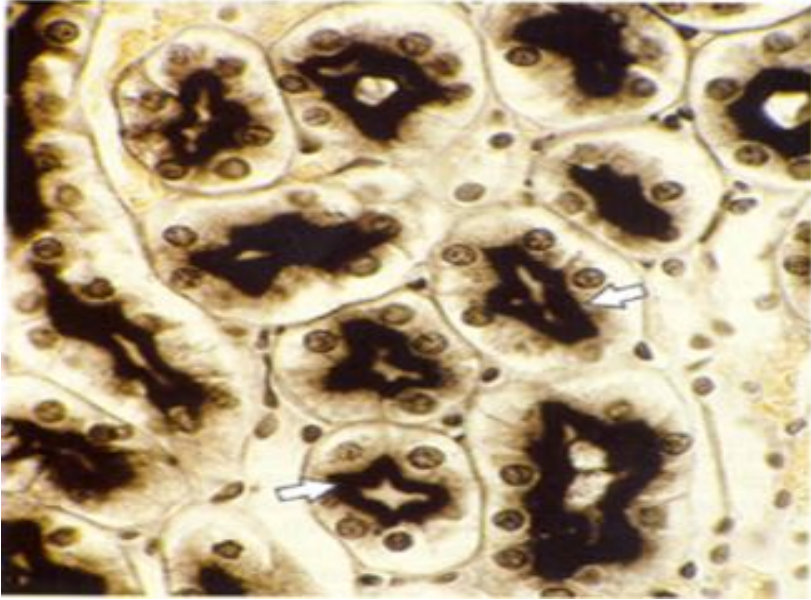
- **الأيونات IONS** (الأيونات): يمكن الكشف أو معرفة توضع العديد من الأيونات (مثل الكالسيوم والحديد والفوسفات) باستخدام تفاعلات كيميائية تؤدي إلى ظهور مركب داكن غير منحل في الأنسجة.

- **الحموض النووية**: يتم تحديد موضع وكمية الدنا من خلال استخدام تفاعل فيولجين FEULGEN REACTION إذ يظهر ال-DNA بلون أحمر.

- **الإنزيمات**: تعتمد هذه الطريقة على قدرة الإنزيمات على التفاعل مع المادة الخاضعة لها، وينتج عن ذلك مركب غير منحل يترسب فوق الأماكن التي تحتوي على الإنزيم في العُضَيَات، وتمكن رؤية ذلك بالمجهر الضوئي أو الإلكتروني. فمثلاً، يمكن الكشف عن إنزيم الفوسفاتاز PHOSPHATASE باستخدام فوسفات الرصاص أو كبريتات الرصاص كمادة تتفاعل مع الفوسفاتاز الحمضي في الجسيمات الحالة.

- **قليل السكريد وديد السكريد**: يستخدم تفاعل حمض البيروديك شيف (PAS) للكشف عن الغليكوجين والبروتينات السكرية كالمخاط في الخلايا.

- **الشحوم**: تستخدم محاليل كحولية مشبعة بالملونات، كالسودان الأسود والسودان IV، إذ تنحل هذه الصبغات في قطرات الشحم الخلوية وتصبح ملونة بالأحمر أو الأسود. وتمكن معرفة تموضع الكوليسترول والإستيريات واللبيدات الفوسفورية واللبيدات البروتينية في الخلايا لتشخيص الأمراض الاستقلابية إذ تتراكم أنواع مختلفة من الشحوم داخل الخلايا.



الشكل يبين تلوون المخاط بصبغة PAS في خلية كأسية (يمين)، وتلون إنزيم الفوسفاتاز في خلايا نبيبات الكلية (يسار).

تقنية الكيمياء المناعية الخلوية IMMUNOCYTOCHEMISTRY

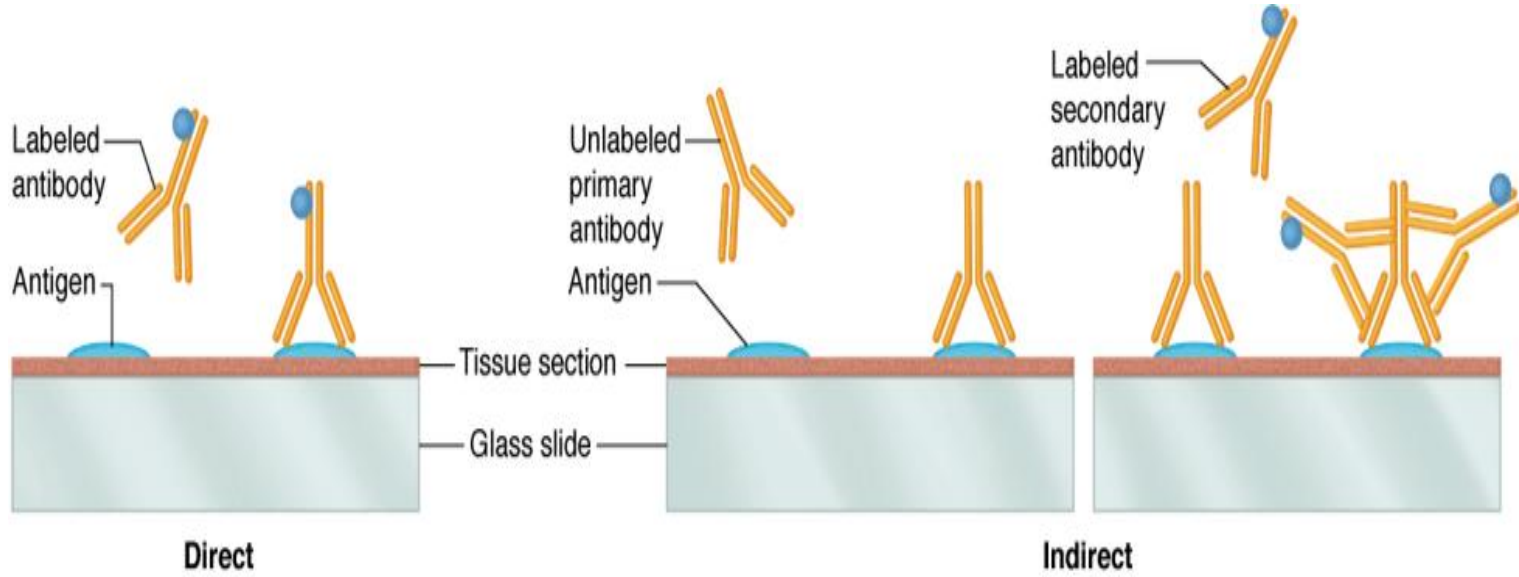
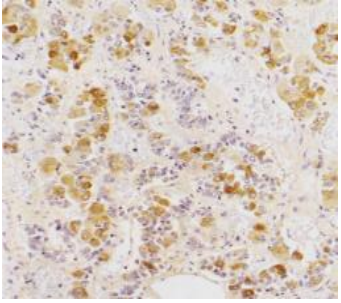
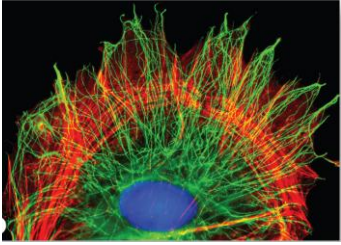
أو (IHC):

تعتمد هذه التقنية على التفاعل بين المستضد **ANTIGENS** والضد **ANTIBODY**، وتعدّ من أكثر التفاعلات النوعية بين الجزيئات، ولهذا السبب أصبحت تقنيات الأضداد الموسومة ذات أهمية بالغة في معرفة أماكن توضع العديد من البروتينات. يجب توفر ضد للبروتين المراد الكشف عنه لإجراء الكيمياء المناعية الخلوية، ولتحقيق ذلك يجب عزل البروتين وتنقيته بتقنيات بيوكيميائية قبل إنتاج الأضداد. وتجرى هذه التقنية بطريقتين:

الكيمياء المناعية الخلوية المباشرة: يوسم الضد بواسطة بواصم مناسب، ويُحصّن المقطع النسيجي بالضد الموسوم لبعض الوقت ليتفاعل ويرتبط الضد الموسوم مع بروتين X. يفحص المقطع مجهرياً لمعرفة مكان توضع بروتين X وخواصه.

الكيمياء المناعية الخلوية غير المباشرة: أكثر حساسية، وتتطلب استخدام ضدين وخطوات أخرى. فبدلاً من وسم الضد (الأولي) النوعي لبروتين X يوسم ضد ثانوي منتج من حيوان مختلف ضد صنف الغلوبولين المناعي الذي ينتمي إليه الضد الأولي (الشكل). وتستخدم تقنية IHC في المزارع الخلوية أو الشرائح الخلوية وتُدْرَس بالمجهر الضوئي أو المجهر الإلكتروني النافذ.

تقنية الكيمياء الخلوية المناعية Immunocytochemistry



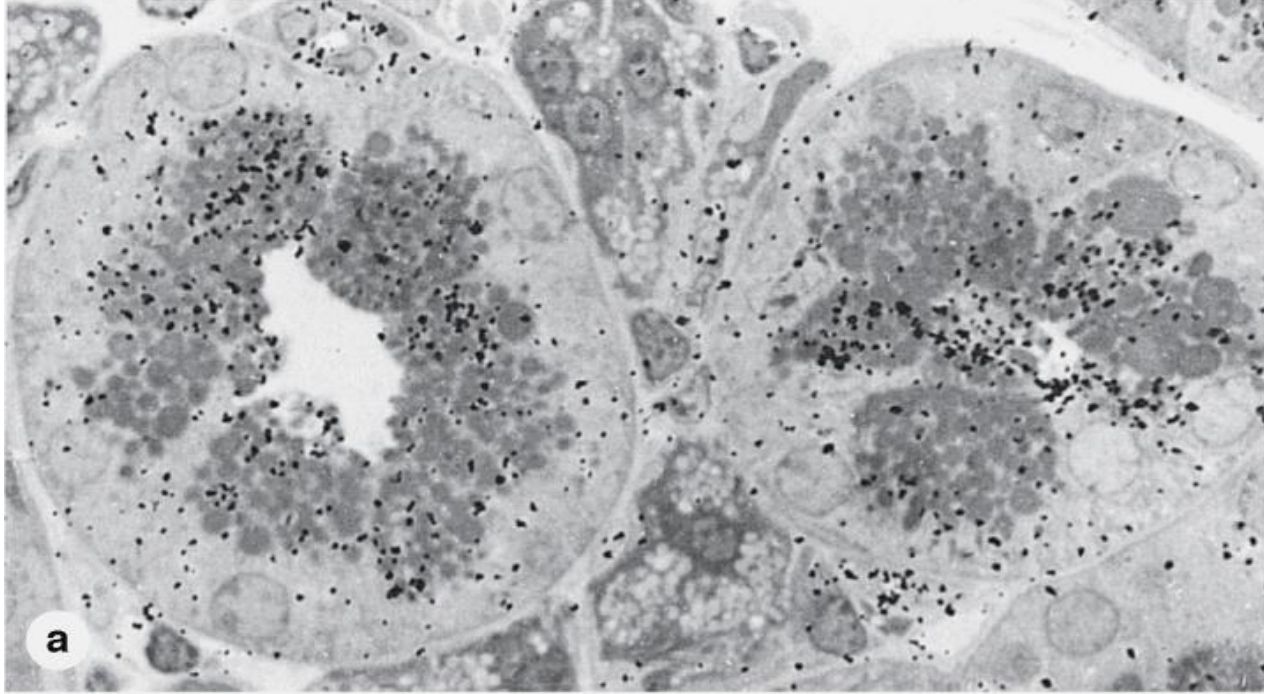
تقوم الكيمياء الخلوية المناعية المباشرة **Direct** بارتباط ضد موسوم بالمستضد على سطح أو داخل الخلايا، بينما تقوم **غير المباشرة Indirect** بارتباط ضد أولي غير موسوم بالمستضد يليه ارتباط ضد ثانوي موسوم بالضد الأولي (يمين). تلوّن الأكتين باللون الأحمر بتقنية المناعة الكيميائية بضد موسوم بمادة متألقة والنيبيبات الدقيقة باللون الأخضر بأضداد موسومة بمادة متألقة (يسار أعلى). غدة نخامية تظهر فيها الخلايا المفرزة لهرمون الإباضة LH باستخدام أضداد موسومة لهرمون الإباضة (يسار أسفل).

تقنية التصوير الإشعاعي الذاتي :AUTORADIOGRAPHY:

تجمع هذه الطريقة بين الكيمياء النسيجية وبين استخدام العناصر المشعة إذ يمكن كشفها وتحديدّها حتى على مستوى العُضَيّات الخلوية. **وتستخدم لتحديد أماكن تموضع الجزيئات الكبيرة المخلّقة حديثاً مثل الدنا والرنا والبروتينات وعدادات السكريدات.**

فمثلاً، تحقن عدة حيوانات **بحموض أمينية موسومة** بنظائر مشعة ثم تؤخذ عينات بفترات زمنية مختلفة بعد الحقن. يكشف عن النظير المشع بمستحلب حاوٍ على **بللورات الفضة البروميدية التي تعمل ككواشف** مجهرية للعنصر المشع. تُختزل بللورات الفضة البروميدية بواسطة المشع إلى **حببيات سوداء صغيرة** من الفضة المعدنية في مكان وجود النظير المشع

تقنية التصوير الإشعاعي الذاتي Autoradiography



الشكل يوضح تقنية التصوير الشعاعي الذاتي: غدة لعابية من فأرة محقونة بسكر الفوكوز المشع ^3H -fucose قبل تثبيت النسيج بـ ٨ ساعات. يقترن الفوكوز المشع مع قليل السكر ويدكشف عنه بمستحلب حاوي على أملاح الفضة. تشير ذرات الفضة السوداء فوق الحبيبات الإفرازية واللمعة إلى أماكن البروتينات السكرية

تقنية التدفق (الجريان) الخلوي FLOW CYTOMETRY:

تتطلب هذه التقنية تسليط أشعة ليزر على مجموعة معينة معزولة من الخلايا. إذ يمر الليزر عبر المجموعة، ويقاس نفوذه أو ارتداده بواسطة مكشاف DETECTOR. وعادة ما تستخدم خلايا موجودة في معلق خلوي (الدم المحيطي، نقي العظم، سوائل الجسم أو معلق لخلايا الأنسجة)، إذ تمر الخلايا في رتل واحد حتى الوصول إلى نقطة القياس في الجهاز، ويتم تسليط الضوء الليزري عليها مما ينتج عنه تشتت وتألق الضوء حسب صفات الخلية. ويمكن من خلال هذه التقنية:

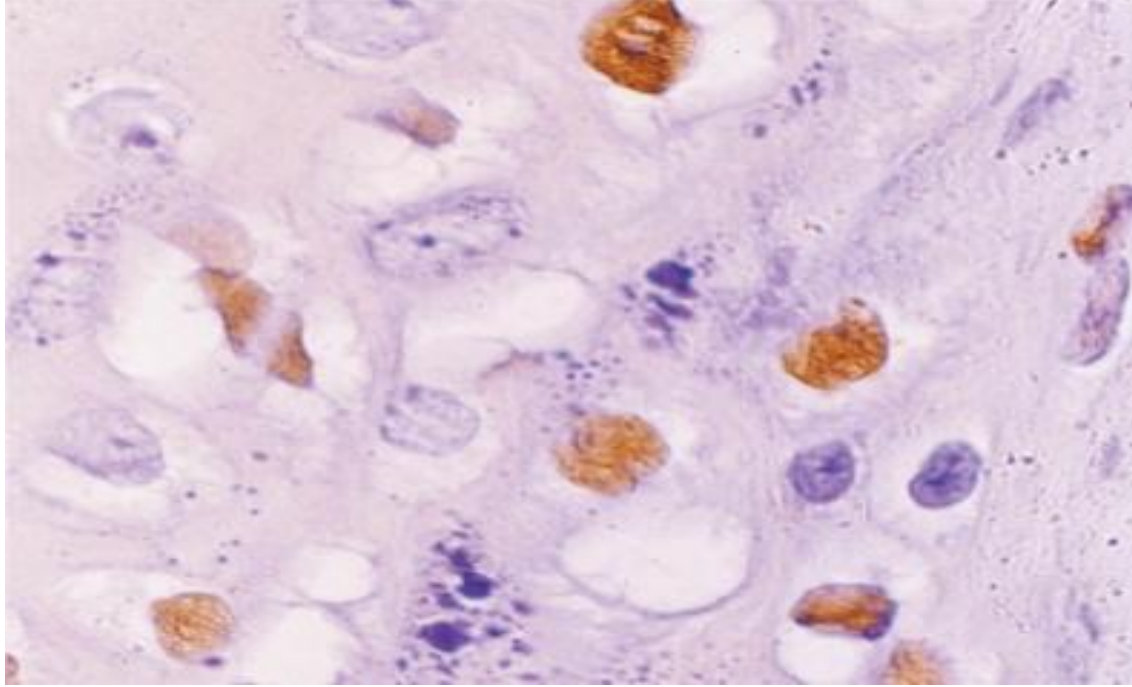
- ١- تحديد خصائص الخلايا وحجمها ودرجة تحببها وأنواعها باستخدام أعداد نوعية وفصل وفرز الخلايا بعضها عن بعض مثل الخلايا اللمفاوية بأنواعها المختلفة وقياس النشاط الإنزيمي داخلها.
- ٢- قياس التبدل في خصائص الخلية من خلال قياس محتوى الخلية من الـ DNA وتحديد طور الدورة الخلوية.

تقنيات التهجين HYBRIDIZATION TECHNIQUES

التهجين هو عبارة عن ارتباط بين سلسلتين مفردتين من الحموض النووية (DNA مع DNA أو RNA مع RNA أو DNA مع RNA) من مصادر مختلفة، التي يتعرف بعضها بعضاً في حال كونها سلاسل متممة من إذ التتاليات النكليوتيدية. وتستخدم هذه التقنيات للكشف عن أماكن تموضع تسلسلات معينة من نيكلووتيدات الرنا الرسول والدنا من خلال استخدام مسابر من نكليوتيدات موسومة للكشف عن التسلسلات المتممة لها في الخلايا أو في الأنسجة لدراسة التعبير الجيني من خلال معرفة الخلايا المحتوية على RNA الرسول (التي تم فيها انتساخ الجين المطابق له) وتحديد مكان جين ما في صبغي معين وتحديد فيما إذا كانت الخلية تحتوي على تسلسل نوعي لـ DNA (جين أو جزء من جين).

يمكن إجراء التقنية في محلول من الحموض النووية (لطخة نورثن وسورثن) أو مباشرة على الخلايا والمقاطع الخلوية، وعندئذ يدعى بالتهجين في الموقع *IN SITU HYBRIDIZATION (FISH)*.

تقنيات التهجين Hybridization techniques



الشكل يظهر خلايا ملونة بالتهجين المكا **FISH**. مقطع نسيجي في تألول تناسلي فيه العديد من الخلايا الظهارية الحاوية على الفيروس الورمي الحليمي البشري (HPV). تم تحضين المقطع النسيجي بمحلول يحتوي مسبار DNA موسوم ويشير اللون البني إلى الخلايا الحاوية على الفيروس الورمي الحليمي.