**الفصل II : طرق دراسة الخلية**

**الحصة التوجيهية 1: تقنيات المجهر الضوئي والإلكتروني**

تتطلب مشاهدة الخلايا استعمال الفحص المجهري لصغر أحجامها (µm à 100 10)، حيث يستعمل لدراسة بنيتها المجهر الضوئي (الفوتوني) والمجهر الإلكتروني.

**1. المجاهر البصرية Les microscopes optiques (MO)**

**1.1. المجهر البصري بحقل مضيء Le microscope optique à fond clair**

**• مبدأ عمله**

يستعمل المجهر الضوئي ذو الحقل المضيء الضوء المرئي كمصدر ضوئي. وهو مزود بثلاثة أنظمة من العدسات الزجاجية الشفافة (الشكل 1) :

* عدسة شيئية (l’objectif) تعطي تكبيرا أوليا فتقدم صورة حقيقية.
* عدسة عينية (l’oculaire) تمنح تكبيرا ثانويا وتسمح بتكوين صورة خيالية مكبَّرة للصورة الحقيقية التي قدمتها العدسة الشيئية.
* المكثف (le condenseur) يكثف الضوء على العينة (يتحكم فيه بالحجاب الحاجز).

وعليه، نعرِّف القدرة الفاصلةle pouvoir séparateur (حد الفصلla limite de résolution ) بأنها أصغر مسافة تفصل بين نقطتين متجاورتين يمكننا تمييزها بالمجهر. حيث تقدر القدرة الفاصلة للمجهر الضوئي الكلاسيكي بحوالي µm0,2 والتكبير يمكن أن يصل إلى 2000.

**2.1. أنواع المجاهر الضوئية**

توجد أنواع مختلفة للمجاهر الضوئية (الجدول 1) لكل منها تركيبة بصرية خاصة، وضعت لكي تسمح بملاحظة الخلايا في ظروف معينة.

**الجدول 1 :** المجاهر الضوئية الأكثر استعمالا.

|  |  |
| --- | --- |
| **النوع** | **يستعمل في** |
| المجهر الضوئي بحقل مضيء  (MO à fond clair) | مشاهدة البنيات الداخل الخلوية بعد التلوين. |
| المجهر الضوئي بحقل مظلم  (MO à fond noir) | ملاحظة عينات غير ملونة والخلايا الحية والمتحركة منها. |
| المجهر الضوئي متباين الأطوار  (MO à contraste de phase) | إبراز الفروق في معامل الانكسار والتباين. يعني تسهيل رؤية حركة الخلايا وتراكيبها بزيادة الفرق في معاملات الانكسار(للأشعة الضوئية أي الفتونات) والتباين لهذه التراكيب. |
| المجهر الضوئي الاستشعاعي  (MO à fluorescence) | مشاهدة العينة بعد الوسم بالمواد المفلورة le marquage fluorescent لبنيات ومكونات الجزيئات عملاقة. |
| المجهر الضوئي المقلوب  (MO inversé) | رؤية الخلايا في أوساط الزرع الخلوي la culture cellulaire. |

ملاحظة :

**2. المجاهر الإلكترونية Les microscopes électroniques (ME)**

**مبدأ عملها**

يشبه قليلا مبدأ عمل المجهر الضوئي إلا أن :

* الفوتونات استبدلت بالإلكترونات.
* العدسات الإلكترومغناطيسية بدل الزجاجية.
* القدرة الفاصلة للمجهر الإلكتروني أعلى من القدرة الفاصلة للمجهر الضوئي وتقدر بـ 0,2 nm (يعني 1000 مرة أعلى من MO).

فالتكبير في ME يمكن أن يصل إلى 000 500 مقابل 2000 في MO.

* 1. **المجهر الإلكتروني النافذ Le microscope électronique à transmission (MET)**

في هذا النوع، تخترق الإلكترونات العينة المعالٙجة بالمعادن الثقيلة. فتظهر على شاشته صورة واضحة ومكبرة ناتجة عن الإمتصاص التفاضلي (المتباين) للإلكترونات من طرف مختلف مكونات العينة.

يتكون هذا المجهر (الشكل 2) أساسا من :

- مصدر للإلكترونات )سلك معدني مسخَّن حتى التوهج عند درجة جد مرتفعة في أنبوب مفرغ من الهواء). تسرّع الإلكترونات في هذا الفراغ بتطبيق كمون مختلف من 10 إلىkV 100.

- مسار أنبوبي الشكل مفرغ من الهواء.

- عدسات إلكترومغنايسية (على شكل لفّات des bobines) تسمح بتوجيه مسار الإلكترونات.

**2.2. المجهر الإلكتروني الماسح Le microscope électronique à balayage (MEB)**

يسمح برؤية العينة في صورة ثلاثية الأبعاد (شبه 3D) للسطح الخارجي. لذا يستعمل في دراسة أسطح العينات الكبيرة الحجم بعد معالجتها بمواد معدنية عاكسة أو تبعث إلكترونات مثل: البلاتين، الفضة والذهب.

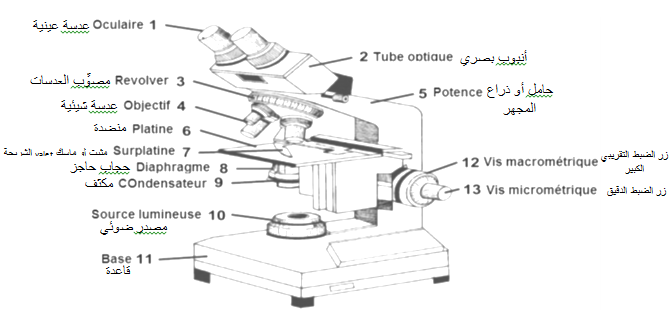
يمسح تدفق الإلكترونات سطح العينة، وبالتالي الإلكترونات الثانوية المنبعثة أو المنعكسة من سطح العينة هي التي تشكل صورة العينة على شاشة الـ MEB.

**3. مقارنة بين المجاهر الضوئية والإلكترونية**

تم تلخيص أهم الفروق في الجدول التالي :

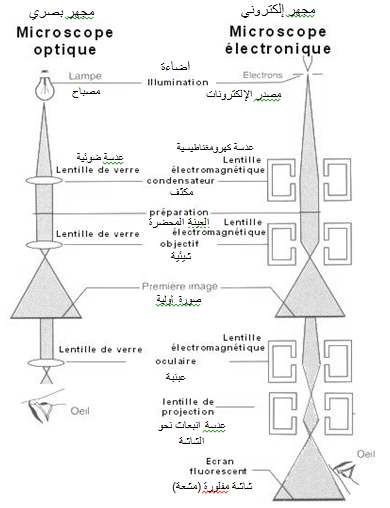
**الجدول 2:** أهم الإختلافات بين المجهر الضوئي والمجهر الإلكتروني

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **MO** | **ME** |
| **مصدر الطاقة** | مصباح كهربائي | سلك التنغستان مسخن حتى التوهج |
| **الإشعاع** | الفوتونات | إلكترونات حرة مسرّعة في أنبوب مفرغ من الهواء لتخترق بعد ذلك العينة |
| **النظام الضوئي** | عدسات زجاجية | عدسات إلكترومغناطيسية |
| **القدرة الفاصلة** | 0,2 µm | 0,2 nm (2 Ä) |
| **سمك العينة** | 2 à 10 µm | 300 à 800 Ä |
| **التكبير** | 40 à 2000 | 500.000 (MET) |



**Figure 1 :** Schéma du microscope optique à fond clair (binoculaire) et ses constituants

**الشكل 1 :** رسم تخطيطيللمجهر البصري بحقل مضيء (ثنائي العدسة العينية) ومكوناته



**Figure 2** : Principe de fonctionnement du microscope optique et électronique à transmission

**الشكل 2 :** مبدأ عمل المجهر البصري والمجهر الإلكتروني النافذ