الفصل الثاني: طرق دراسة الخلية

TD N ° 1: طرق الدراسة بالمجهر الضوئي و المجهر الإلكتروني

1- تعاريف:

- الدراسة بالمجهر (La microscopie): هي مجموعة من التقنيات التي تسمح بالحصول على خيال للبنيات على مستوى المجهر.
- المجهر (Le microscope): هو جهاز يعطي خيال مكبر لجسم صغير (تكبير) بحيث يسمح بإظهار تفاصيله على الخيال (دقة الوضوح) ويجعل التفاصيل مرئية بالعين المجردة.

نظرًا لأحجامها الصغيرة جدًا (من 10 إلى 100 ميكرومتر) ، يتطلب فحص الخلايا استعمال المجاهر. الطرق المستخدمة لدراسة بنية الخلية هي: الفحص بالمجهر الضوئي (أو الفوتوني) و الفحص بالمجهر الإلكتروني.

2- المجاهر الضوئية (Microscopes optiques)

2-1- المجهر الضوئي ذو الخلفية الفاتحة (Microscope optique à fond clair)

يستعمل هذا المجهر بشكل روتيني في مختبرات علم الأحياء، حيث يمكن استخدامه لتحليل العينات المعالجة بالملونات. سمي هذا المجهر بذلك لأنه يشكل ، في الواقع ، خيال مظلم على خلفية فاتحة. فهو يسمح بإستقبال الضوء على مستوى العدسات الشيئية بعد عبورها للعينة.

➢ **المبدأ**

يستخدم المجهر الضوئي ذو الخلفية الفاتحة (شكل 1) الضوء المرئي كمصدر للضوء (مصباح أو مرآة). مزود بثلاثة أنظمة عدسات زجاجية شفافة:

- العدسة الشيئية (Objectif): تقوم بالتكبير الأولي وتعطي خيال حقيقي.
- العدسة العينية(Oculaire): تقوم بالتكبير الثانوي للخيال الذي توفره العدسة الشيئية.
- مكثف: يستخدم لتركيز الضوء على العينية. له دور أساسي في جودة الخيال ،لا سيما التباين والدقة.

➢ **القدرة الفاصلة (Le pouvoir séparateur ou de résolution)**

هي أصغر مسافة تفصل بين نقطتين متجاورتين يمكن تمييزها باستخدام المجهر. تبلغ القدرة الفاصلة للمجهر الضوئي العادي حوالي 0.2 ميكرومتر ويمكن أن يصل التكبير إلى 2000.

2-2- أنواع المجاهر الضوئية

هناك عدة أنواع من المجاهر الضوئية ، لكل منها تركيب بصري خاص ، يسمح بفحص الخلايا في ظل ظروف معينة. يوضح الجدول (1) المجاهر الأكثر إستعمالا.

الجدول 1: الأنواع المختلفة للمجاهر الضوئية

النوع	يستعمل لـ:
1. مجهر ضوئي ذو خلفية فاتحة (MO à fond clair)	ملاحظة البنيات الخلوية الداخلية بعد تلوينها
2. مجهر ضوئي ذو خلفية مظلمة (MO à fond noir)	ملاحظة العينات غير الملونة والخلايا الحية والمتحركة.
3. مجهر ضوئي متفلور (MO à fluorescence)	إظهار البنيات و المركبات ذات الوزن الجزيئي الضخم بعد تعليمها بمادة مفلورة
4. مجهر متباين الطور (MO à contraste de phase)	إظهار الفروق في مؤشرات الانكسار والتباين.
5. المجهر الضوئي المعكوس (MO inversé)	ملاحظة الخلايا المستنبتة (المزروعة)

UFMC - SNV - TC 1ère LMD 2022-2023

3- المجاهر الإلكترونية

➢ المبدأ

يشبه مبدأ عمل المجهر الإلكتروني إلى حد ما مبدأ المجهر الضوئي باستثناء ما يلي:

- يتم استبدال الفوتونات بالإلكترونات.
- يتم استبدال العدسات الزجاجية بعدسات كهرومغناطيسية.
- القدرة الفاصلة للمجهر الإلكتروني (ME) أعلى من القدرة الفاصلة للمجهر الضوئي (MO). فهي تساوي 2 نانومتر (أي 1000 مرة أعلى من MO).

يمكن أن يصل تكبير ME إلى 500000 مقابل 2000 لـ MO.

3-1-المجهر الإلكتروني النافذ (MET)

في المجهر الإلكتروني النافذ (MET) ، تمر الإلكترونات عبر العينة المعالجة بالمعادن الثقيلة. يظهر على شاشة MET خيال واضح ومكبر. يعود هذا الخيال إلى الامتصاص التفاضلي للإلكترونات بواسطة البنيات المختلفة للعينة.

يتكون MET بشكل أساسي من:

- مصدر للإلكترونات (سلك معدني مسخن لدرجة عالية جدا في حيز مفرغ من الهواء). في الحيز المفرغ من الهواء، سيتم تسريع الإلكترونات من خلال تطبيق فرق جهد يتراوح من 10 إلى 100 كيلو فولت.
- حيز انبوبي مفرغ من الهواء (Espace tubulaire sous vide).
- عدسات إلكهرومغناطيسية (لفائف) تسمح بانحراف مسار الإلكترونات.

3-2-المجهر الإلكتروني الماسح (MEB)

يسمح الـ MEB بملاحظة الشيئ بثلاثة أبعاد. يستخدم في دراسة أسطح الأجسام بعد معالجتها بالمواد المعدنية العاكسة مثل البلاتين ،الفضة والذهب.

يمسح تدفق الإلكترونات سطح الشيئ (العينة). إن الإلكترونات الثانوية المرسلة من السطح المعدني، هي التي تؤدي إلى تشكيل الخيال.

4-الفرق بين المجاهر الضوئية والالكترونية

يلخص الجدول رقم (2) الفروق الرئيسية بين المجاهر الضوئية والإلكترونية.

جدول 2: الاختلافات الرئيسية بين MO و ME

	MO	ME
مصدر الطاقة (Source d'énergie)	مصباح كهربائي	خيط تنغستن متوهج
إشعاع (Rayonnement)	فوتونات	إلكترونات حرة متسارعة في حيز مفرغ من الهواء لعبورها بعد ذلك العينة.
النظام البصري (Système optique)	عدسة زجاجية	عدسة كهرومغناطيسية
القدرة الفاصلة (Résolution)	0.2µm	0.2nm (2Ä)
سمك العينة	2 à 10µm	300-800Ä
تكبير (Grossissement)	40 à 2000	500.000(MET)

UFMC - SNV - TC - 1ère LMD - 2022-2023

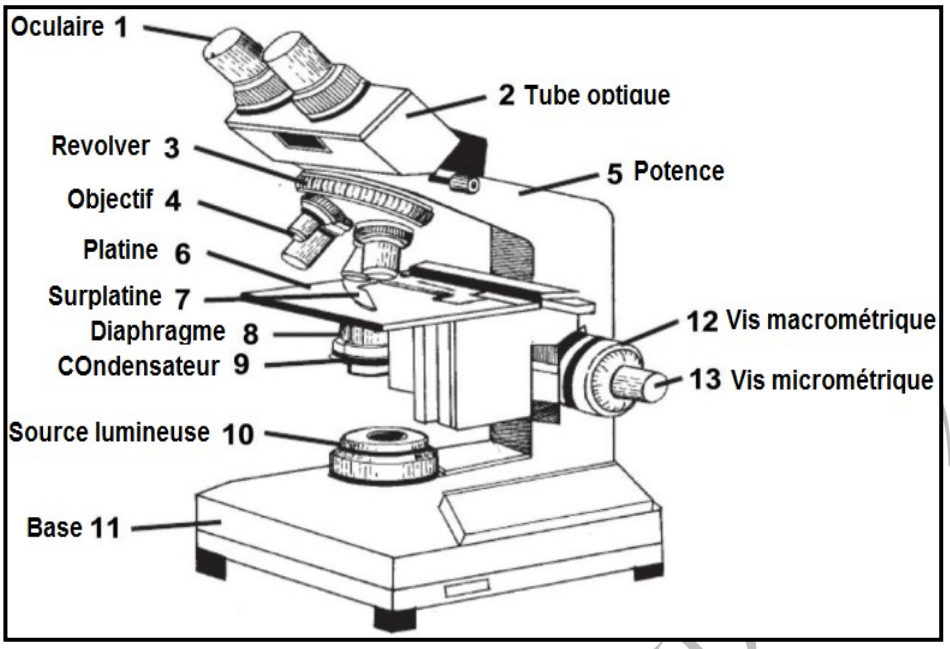

Figure 1 : les principaux constituants du microscope optique à fond clair

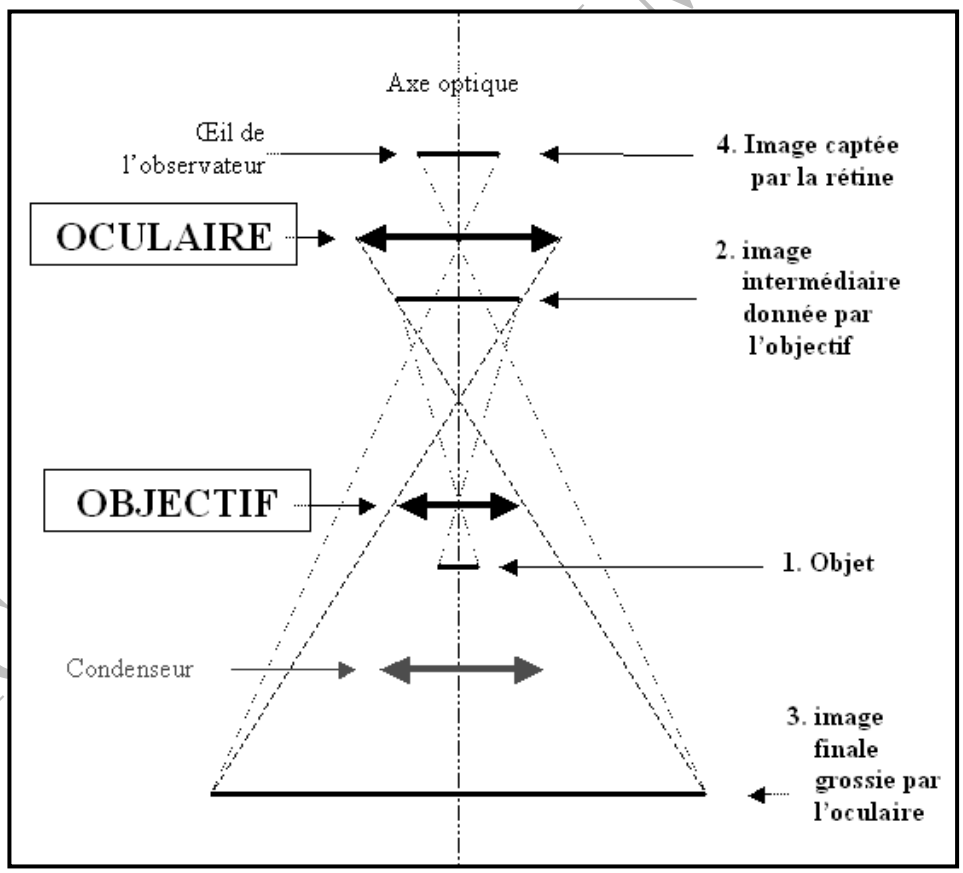

Figure 2 : Principe de fonctionnement du microscope optique
(L'image intermédiaire formée par l'objectif est grossie par l'oculaire)

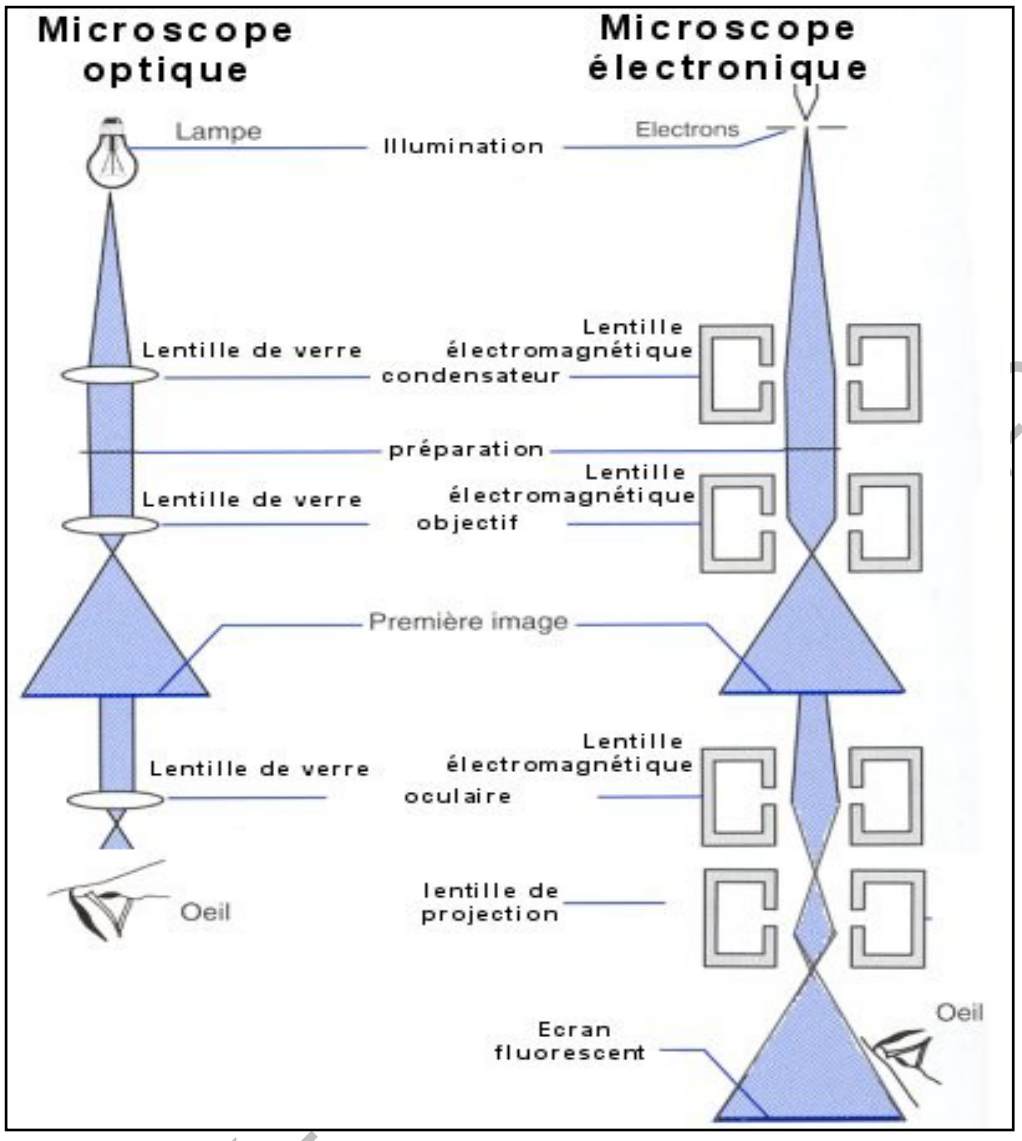

Figure 3: Comparaison entre le principe de fonctionnement du microscope optique et le microscope électronique à transmission

UFMC - SNV - 2023