الفصل الثاني : طرق دراسة الخلية
TD N°1: طرق الدراسة بالمجهر الضوئي و المجهر الإلكتروني

1- تعاريف:

- **الدراسة بالمجهر (Microscopy):** هي مجموعة من التقنيات التي تسمح بالحصول على خيال للبنيات على مستوى المجهر.
- **المجهر (The 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 و الفحص بالمجهر الإلكتروني.

2- المجاهر الضوئية (Optical Microscopes)

2-1- المجهر الضوئي ذو الخلفية الفاتحة (Bright field optical microscope)

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

➢ القدرة الفاصلة (The power of separation or resolution)

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 (Types of optical microscopes)

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

الجدول 1: الأنواع المختلفة للمجاهر الضوئية

النوع	يستعمل لـ:
1- مجهر ضوئي ذو خلفية فاتحة (Bright field OM)	ملاحظة البنيات الخلوية الداخلية بعد تلوينها
2- مجهر ضوئي ذو خلفية مظلمة(Dark field OM)	ملاحظة العينات غير الملونة والخلايا الحية والمتحركة.
3- مجهر ضوئي متفلور(Fluorescence OM)	إظهار البنيات و المركبات ذات الوزن الجزيئي الضخم بعد تعليمها بمادة مفلورة
4- مجهر متباين الطور (Phase contrast OM)	إظهار الفروق في مؤشرات الانكسار والتباين.
5- مجهر ضوئي معكوس (Inverted OM)	ملاحظة الخلايا المستنبتة (المزروعة)

UFMC - SNV - TC - Tire LMD - 2024-2025

3- المجاهر الإلكترونية (Electron microscopes)

➢ 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 (EM) أعلى من القدرة الفاصلة للمجهر الضوئي (OM). فهي تساوي 2 نانومتر (أي 1000 مرة أعلى من OM).**

يمكن أن يصل تكبير EM إلى 500000 مقابل 2000 لـ OM.

3-1-المجهر الإلكتروني النافذ (Transmission Electron Microscope)

في المجهر الإلكتروني النافذ (TEM) ، 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 TEM 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 (Vacuum tubular space).**
- **عدسات كهرومغناطيسية (لفائف) تسمح بانحراف مسار الإلكترونات.**

3-2-المجهر الإلكتروني الماسح (Scanning Electron Microscope)

يسمح الـ SEM 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 OM و EM

	OM	EM
مصدر الطاقة (Energy source)	مصباح كهربائي	خيط تنغستن متوهج
إشعاع (Radiation)	فوتونات	إلكترونات حرة متسارعة في حيز مفرغ من الهواء لعبورها بعد ذلك العينة.
النظام البصري (Optical system)	عدسة زجاجية	عدسة كهرومغناطيسية
القدرة الفاصلة (Resolution)	0.2µm	0.2nm (2Ä)
سمك العينة	2 à 10µm	300-800Ä
تكبير (Magnification)	40 à 2000	500.000(MET)

UFMC - SNV - TC - ISTA - LMD - 2024/2025

Fine adjustment ضابط صغير

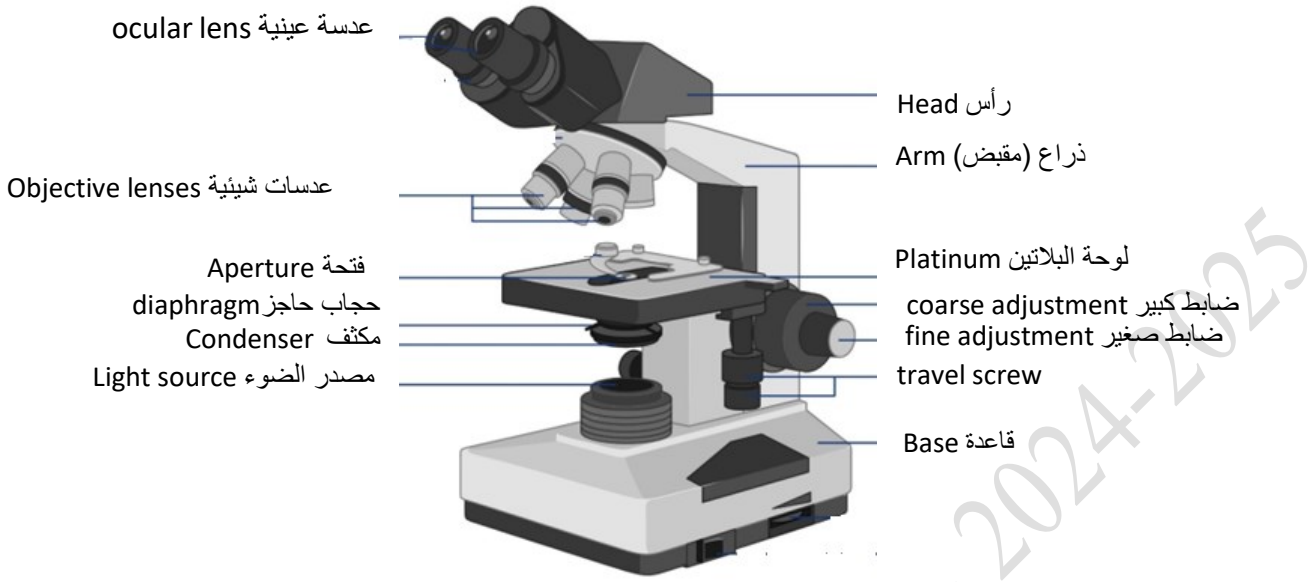

Figure 1: المكونات الأساسية للمجهر الضوئي ذو الخلفية الفاتحة
(The main constituents of the bright field optical microscope)

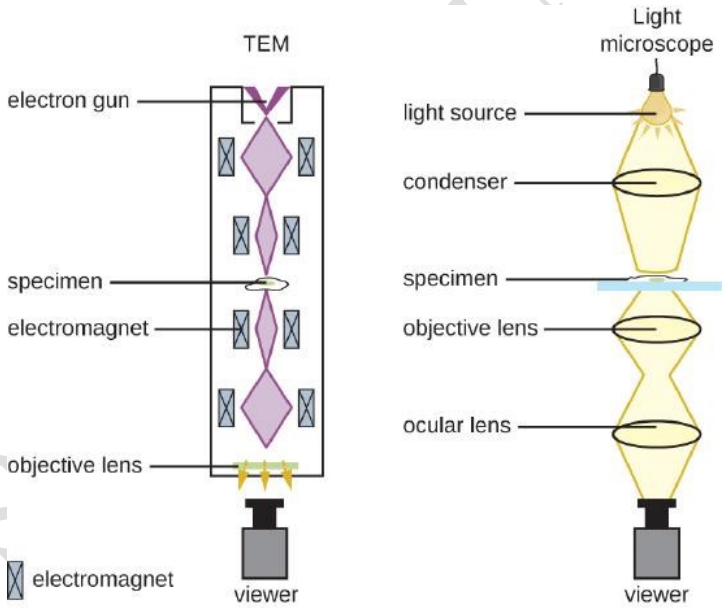

Figure 2: مقارنة بين مبدأ عمل المجهر الضوئي والمجهر الإلكتروني النافذ
Comparison between the working principle of the optical microscope and the transmission electron microscope

UFMC - S... MD - 2024-2025