

TD N°4 : تطبيقات على طرق دراسة الخلية

تمرين رقم 1: QROC أسئلة ذات إجابات مختصرة

- 1) لماذا يتم التثبيت بسرعة مباشرة بعد أخذ العينة؟
- 2) ما الهدف من تقنية القطع بعد التجميد " أي تحضير القوالب المعدنية ؟
- 3) في تقنية القطع بعد التجميد، لماذا يتم تجميد الخلايا بسرعة فائقة بغمرها في سائل الأروت؟
- 4) في حالة المجهر الضوئي، لماذا نقوم بإعادة الماء للعينة قبل تلوينها؟
- 5) تحضير العينة للفحص بالمجهر الإلكتروني الماسح، لا يتطلب عملية التضمين (أي الطمر في مادة كارهة للماء). مع ذلك فهي تخضع الى عملية نزع الماء (dehydration).
 - a. أشرح لماذا تم نزع الماء؟
 - b. يؤدي نزع الماء إلى انكماش العينة. كيف نقوم باستعادة حجمها الأولي؟

تمرين رقم 2:

- أخذ باحثون قطعة من كبد فأر و تم طحنها (سحقها) في وسط متساوي التوتر. أجريت على مستخلص الطحن (homogenate)، عملية طرد مركزي أولى بسرعة 1000g. بعد عزل الأنوية الموجودة في الراسب، أخضع السائل الطافي (supernatant) لعملية طرد مركزي بسرعة 10.000g (انظر الشكل 2، TD رقم 3).
- كررت عملية الطرد المركزي أربع مرات من أجل عزل المكونات الخلوية المختلفة.
1. لماذا تم الطحن (السحق) في وسط متساوي التوتر؟
 2. كيف يسمى هذا النوع من الطرد المركزي؟
 3. لماذا لم يتم العثور على جميع المكونات الخلوية في الراسب الأولي؟
 4. يحتوي الراسب الناتج عن عملية الطرد المركزي عند سرعة 10.000g، على ميتوكوندريات ، ليزوزومات و بيروكسيزومات. كيف نفسر وجود المكونات الخلوية الثلاثة في نفس الراسب؟
 5. ما نوع الطرد المركزي الذي يستخدم في فصل العضيات الموجودة في نفس الراسب؟

تمرين رقم 3: QCM أسئلة متعددة الاختيارات

- 1) في تقنية التفلور المناعي (immunofluorescence)، يجب أن يكون الجسم المضاد الثاني المستعمل:
 - a. منتج من قبل نفس نوع الحيوان الذي أنتج الجسم المضاد الأولي.
 - b. معلم (موسوم) بواسطة ملون مفلور (fluorochrome) بحيث يمكن اكتشافه.
 - c. موجه ضد المكون الخلوي المراد دراسته.
 - d. موجه بشكل خاص ضد الجسم المضاد الأولي.

2) فيما يتعلق بتقنية تحضير القوالب:

- a. يتم إجراء التسامي (sublimation) بعد الـ cryofracture.
- b. تتم عملية التسامي بعد التظليل المعدني.
- c. تسمح بدراسة الأسطح الداخلية.
- d. تكون مقاطع العينات ذات سمك رقيق.

3) فيما يتعلق بالتظليل المعدني:

- a. يتم تبخير (رش) المعدن الثقيل عموديا على سطح العينة.
- b. يتم تبخير المعدن الثقيل بشكل مائل على سطح العينة.
- c. يسمح برفع تباين تضاريس العينة.
- d. يسمح بالحصول على قالب لسطح الكسر.

4) فيما يخص التلوين السلبي:

- a. يستخدم بشكل خاص لملاحظة الأشياء الصغيرة جداً.
- b. تظهر البنيات داكنة على خلفية فاتحة.
- c. تظهر البنيات فاتحة على خلفية داكنة.
- d. تسمح برفع تباين حدود الأشياء الصغيرة جداً.

تمرين رقم 4: واجب منزلي

Name :	First name :	Group ;
--------	--------------	---------

تم زراعة خلايا في المختبر في وسط يحتوي على تيميدين موسوم بعنصر التريتيوم (مادة سابقة مشعة). أخذت بعد ذلك مجموعات خلوية تمت معالجتها بواسطة تقنية التصوير الإشعاعي الذاتي، في الزمن T1 و T2 على التوالي:

- في الزمن T1، لوحظ وجود حبيبات داكنة على مستوى المستحلب الفوتوغرافي فوق السيتوبلازم و النواة.
- في الزمن T2، لوحظ وجود جميع الحبيبات الداكنة فوق النواة.

a- أذكر المراحل الرئيسية الثلاثة التي تمت فيها معالجة المقاطع الخلوية بواسطة تقنية التصوير الشعاعي الذاتي.

- مرحلة 1.....
- مرحلة 2.....
- مرحلة 3.....

b- ما هي الطبيعة الكيميائية للتيميدين؟

c- في الزمن T1، كيف نفسر ظهور الحبيبات الداكنة فوق السيتوبلازم والنواة؟

d- في الزمن T2، كيف نفسر تراكم التيميدين المشع في النواة؟

e- في هذه التجربة، ما الهدف من استعمال التيميدين المشع؟

بالتوفيق

ملاحظة: يسلم الواجب المنزلي للأستاذة المكلفين بالأعمال التوجيهية.