

TD N°4 : تطبيقات على طرق دراسة الخلية

تمرين رقم 1:

أجب باختصار و بدقة على الأسئلة التالية.
1) ما هو دور كل مرحلة من المراحل الموضحة في الجدول التالي:

المرحلة	الدور
التضمين (Inclusion)	
التثبيت (Fixation)	
نزع الماء (Déshydratation)	
التلوين (Coloration)	
إعادة الماء (Réhydratation)	

- 2) لماذا يتم التثبيت بسرعة مباشرة بعد أخذ العينة؟
3) لماذا يتم نزع الماء من العينات في حالة فحصها بالمجهر الإلكتروني النافذ (MET) ؟
4) هل يتم نزع الماء من العينات المحضرة للفحص بالمجهر الإلكتروني الماسح (MEB)؟ علل إجابتك.
5) رتب حسب تسلسلها الزمني مراحل تقنية cryodécapage (تحضير القوالب)
-a Cryofracture -B عزل القالب -c تجميد -d تظليل معدني -e Décapage

تمرين رقم 2:

- 6) أخذ باحثون قطعة من كبد فأر و تم طحنها (سحقها) في وسط متساوي التوتر. أجريت على مستخلص الطحن (homogénat) المحصل عليه، عملية طرد مركزي أولى بسرعة 1000g. تم استرداد (récupération) الأنوية الموجودة في الراسب و أخضع السائل الطافي لعملية طرد مركزي بسرعة 10.000g (انظر الشكل 2، TD رقم 3). كررت عملية الطرد المركزي أربع مرات من أجل عزل المكونات الخلوية المختلفة.
a- لماذا تم الطحن (السحق) في وسط متساوي التوتر؟
b- كيف يسمى هذا النوع من الطرد المركزي؟
c- لماذا لم يتم العثور على جميع المكونات الخلوية في الراسب الأول؟
d- يحتوي الراسب الناتج عن عملية الطرد المركزي الثانية عند سرعة 10.000g على ميتوكوندريا ، ليزوزومات و بيروكسيزومات. كيف نفسر وجود المكونات الخلوية الثلاثة في نفس الراسب؟
e- ما هو نوع الطرد المركزي الذي يمكن استخدامه لفصل العضيات الموجودة في نفس الراسب؟

تمرين رقم 3:

- 7) تم إجراء زراعة الخلايا في المختبر في وسط يحتوي على تيميدين موسوم بعنصر التريتيوم (مادة سابقة مشعة). تم أخذ مجموعات خلوية ثم معالجتها بواسطة تقنية التصوير الشعاعي الذاتي ، على التوالي في الزمن T1 و T2. في الزمن T1 ، لوحظ وجود حبيبات كثيفة على مستوى المستحلب الفوتوغرافي فوق السيتوبلازم والنواة. في الزمن T2 ، تتركز جميع الحبيبات الكثيفة فوق النواة.
a- أذكر المراحل الرئيسية الثلاثة التي تمت فيها معالجة المقاطع الخلوية بواسطة تقنية التصوير الشعاعي الذاتي.
b- ما هي الطبيعة الكيميائية للتيميدين؟
c- كيف نفسر ظهور الحبيبات الكثيفة فوق السيتوبلازم والنواة في الزمن T1؟
d- كيف نفسر تراكم التيميدين المشع في النواة في الزمن T2؟
e- في هذه التجربة ، ما هو الهدف من استعمال التيميدين المشع؟

تمرين رقم 4: أكمل العبارات التالية

- (8) يسمح المجهر الإلكتروني الماسح بملاحظة الأشياء بـ ، لذلك ، تحضير العينات لا يتطلب مرحلة و لا مرحلة
- (9) يسمح المجهر الإلكتروني النافذ (MET) بملاحظة
- (10) تطبيق تقنية الـ cryodécapage بشكل عام مع المجهر و هي تستخدم لإبراز و
- (11) تعتمد تقنية التفلور المناعي (immunofluorescence) على تفاعلات
- (12) تتمثل طريقة التظليل المعدني في رش طبقة رقيقة من و

تمرين رقم 5: ضع علامة أمام الإجابة (أو الإجابات) الصحيحة

(13) تتطلب ملاحظة عينة بالمجهر الضوئي: a. بالترتيب: أخذ العينة (prélèvement)، نزع الماء ، التثبيت ثم التضمين (inclusion). b. التضمين (inclusion) في مادة الـ résine. c. رش طبقة رقيقة من البلاتين على سطح العينة. d. التضمين في مادة البارافين بعد نزع الماء.	(15) فيما يتعلق بتقنية تحضير القوالب: a. يتم إجراء التسامي (La sublimation) بعد الـ cryofracture . b. تتم عملية التسامي بعد التظليل المعدني. c. تسمح بدراسة الأسطح الداخلية. d. يجب أن تكون مقاطع العينات رقيقة جدًا.
(14) في ما يسمى بتقنية التفلور المناعي ، يجب أن يكون الجسم المضاد الثاني المستخدم: a. منتج من قبل نفس النوع الذي أنتج الجسم المضاد الأولي . b. معلم بواسطة ملون مفلور (fluorochrome) بحيث يمكن اكتشافه. c. موجه ضد المكون الخلوي المراد دراسته. d. موجه بشكل خاص ضد الجسم المضاد الأولي.	(16) أي من المواد التالية تستعمل كمثبتات للأنسجة؟ a. L'acétate d'uranyle b. L'araldite c. Le formol d. Le glutaraldéhyde e. Le xylène

إنتهى