جامعة مُحَمَّد خضر بسكرة –كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

قسم علوم الطبيعة والحياة

Cell Biology **مادة: بيولوجيا الخلية**

TP N°1

Cell Study Techniques تقنيات دراسة الخلايا

Part I

المدة 1 :ساعة إلى 1 ساعة و30 دقيقة

Duration: 1 hour and 30 minutes

1. Microscopes **المجاهر**
2. ~~Histological and~~ Cytological Techniques **التقنيات النسيجية والخلوية**
3. ~~Techniques for Observing Shapes and Surfaces~~ **~~تقنيات ملاحظة الأشكال والأسطح~~**

2.2 Cytological Technique

The characteristics of the transmission electron microscope impose severe restrictions on the nature and preparation of samples. Since electrons are easily absorbed by solid matter, only ultrathin sections (30 to 50 nm thick) can be examined. Additionally, since the major atoms of living matter (C, H, O, N) are transparent to electrons, it is also necessary to enhance the contrast of structures using heavy atoms that are opaque to electrons, which selectively bind to certain areas.

Steps of the protocol :

- **Fixation** : Traditional fixatives are not sufficient as they tend to destroy fine structures. Other chemicals, such as osmium tetroxide (OsO_4), glutaraldehyde, or potassium permanganate, must be used.

- **Dehydration** : The principle is the same as in classical histology, except that dehydration must end in a resin solvent used for embedding.

- **Embedding** : Embedding media are often resins of the araldite family. Solid and very hard blocks are obtained, including and impregnating the sample for analysis. The hardness of this material allows for extremely thin and regular sections.

- **Sectioning** : Ultrathin sections are produced using an ultramicrotome, which allows sections of 30 to 50 nm thick. These sections are collected on metal grids that allow electron passage.

- **Positive Contrast** : To enhance the contrast of electron-transparent samples, the ultrathin sections are impregnated with contrasting agents, usually heavy metal salts opaque to electrons, such as uranyl acetate or lead citrate, which preferentially bind to specific areas of the cell.

2.2 التقنية الخلوية

تفرض خصائص المجهر الإلكتروني النافذ قيودًا شديدة على طبيعة العينة وكيفية تحضيرها. نظرًا لأن الإلكترونات تُمتص بسهولة بواسطة المادة الصلبة، لا يمكن فحص سوى الشرائح فائقة الرقة (بسمك 30 إلى 50 نانومتر). وبالإضافة إلى ذلك، نظرًا لأن الذرات الرئيسية في المادة الحية (C, H, O, N) شفافة للإلكترونات، فمن الضروري أيضًا زيادة تباين الهياكل باستخدام الذرات الثقيلة التي تكون معتمة للإلكترونات، والتي ترتبط بشكل انتقائي بمناطق معينة.

خطوات البروتوكول :

- **التثبيت** : المثبتات التقليدية ليست كافية لأنها تميل إلى تدمير الهياكل الدقيقة. يجب استخدام مواد كيميائية أخرى مثل رباعي أكسيد الأوزميوم(OsO_4) ، الجلوتارالدهيد، أو برمنجنات البوتاسيوم.

- **التجفيف** : المبدأ هو نفسه كما في علم الأنسجة الكلاسيكي، باستثناء أن عملية التجفيف يجب أن تنتهي في مذيب الراتنج المستخدم للتضمين.

- **التضمين** : غالبًا ما تكون وسائط التضمين المستخدمة من الراتنجات من عائلة الأرالديت. يتم الحصول على كتل صلبة جدًا تشمل وتتشبع العينة المراد تحليلها. تسمح صلابة هذا المادة بالحصول على شرائح فائقة الرقة ومنتظمة.

- **القطع** : يتم الحصول على الشرائح فائقة الرقة باستخدام جهاز قطع فائق الدقة، والذي يتيح الحصول على شرائح بسماكة تتراوح بين 30 إلى 50 نانومتر. يتم جمع الشرائح على شبكات معدنية تسمح بمرور الإلكترونات.

- **التباين الإيجابي** : لتعزيز تباين العينات الشفافة للإلكترونات، يتم تشبيع الشرائح فائقة الرقة بمثبتات التباين. في الغالب، يتم استخدام أملاح المعادن الثقيلة التي تكون معتمة للإلكترونات (بسبب كتلتها الذرية العالية) والتي ترتبط تفضيليًا بمناطق محددة من الخلية، مثل أسيتات اليورانيل أو سترات الرصاص.

Part. II

الحصة التطبيقية رقم (1): تقنيات دراسة الخلايا باستعمال المجهر الضوئي

Practical Session No. 1: Cell Study Techniques Using the Light Microscope

 المدة: 1 ساعة إلى 1 ساعة و30 دقيقة
 Duration: 1 hour and 30 minutes

الأهداف التعليمية: / Learning Objectives:

- التعرف على الخطوات الأساسية لتحضير شريحة مجهرية مؤقتة.
- استعمال المجهر الضوئي بطريقة صحيحة لملاحظة الخلايا.
- التمييز بين الخلايا النباتية والخلايا الحيوانية من خلال الشكل والمكونات.

- Identify the basic steps for preparing a temporary microscope slide.
- Use the light microscope properly to observe cells.
- Distinguish between plant and animal cells based on shape and components.

المواد والأدوات المستعملة: / Materials and Equipment:

مجهر ضوئي – شرائح زجاجية – أغطية زجاجية – ملقط – إبرة تشريح – محلول يود – قطعة بصل – ماء مقطر – ورق ماص أو منديل.

Light microscope – glass slides – cover slips – forceps – dissecting needle – iodine solution – piece of onion – distilled water – absorbent paper or tissue.

مراحل النشاط التطبيقي: / Steps of the Practical Activity:

1. تذكير نظري سريع (10 دقائق): / Quick Theoretical Review (10 min):

- تذكير بمفهوم الخلية كوحدة بنائية ووظيفية للكائن الحي.
- عرض صورة أو مجسم توضيحي لخلية نباتية وخلية حيوانية.
- شرح أهمية استعمال المجهر في دراسة الخلايا.

- Recall the concept of the cell as the structural and functional unit of living organisms.
- Show an image or model of a plant and an animal cell.
- Explain the importance of using the microscope to study cells.

2. تحضير شريحة بشرة البصل (15 دقيقة): / Preparation of an Onion Epidermis Slide (15 min):

1. خذ قطعة صغيرة من البصل.
2. بواسطة الملقط، افصل طبقة رقيقة شفافة من البشرة الداخلية.
3. ضعها على شريحة زجاجية نظيفة.

4. أضف قطرة من محلول اليود (لتلوين النواة والجدار الخلوي.(
5. ضع الغطاء الزجاجي برفق لتجنب فقاعات الهواء.
6. امسح الفائض من المحلول بورق ماص.

7. Take a small piece of onion.
8. Using forceps, separate a thin transparent layer from the inner epidermis.
9. Place it on a clean glass slide.
10. Add a drop of iodine solution (to stain the nucleus and cell wall).
11. Carefully place the cover slip to avoid air bubbles.
12. Wipe off the excess stain with absorbent paper.

3. الملاحظة بالمجهر (20 دقيقة):(20 min) Observation Under the Microscope /

1. ضع الشريحة على منضدة المجهر.
2. استعمل العدسة الشيئية الصغرى أولًا.
3. اضبط الصورة باستعمال الضابط الكبير، ثم الضابط الصغير.
4. لاحظ شكل الخلايا وحدد الجدار الخلوي والنواة والسيتوبلازم.
5. بدّل إلى العدسة ذات التكبير الأعلى لتفاصيل أوضح.

6. Place the slide on the microscope stage.
7. Start with the low-power objective lens.
8. Adjust the image using the coarse focus, then the fine focus.
9. Observe the cell shape and identify the cell wall, nucleus, and cytoplasm.
10. Switch to the higher objective lens for more detailed observation.

4. بعد الانتهاء (10 دقائق):(10 min) After Finishing /

•نظّف الشريحة والغطاء الزجاجي.
•أوقف تشغيل المجهر.
•غطِّ المجهر بغطائه البلاستيكي.
•تأكد من أن الطاولة نظيفة وجافة.

• Clean the slide and the cover slip.
• Turn off the microscope.
• Cover the microscope with its protective cover.
• Make sure the table is clean and dry.

جدول الملاحظات:Observation Table /

العينة(Sample)	المكونات المرئية (Visible Structures)	ملاحظات إضافية(Additional Notes)
بشرة البصلOnion Epidermis /		

ارسم ما تلاحظه تحت المجهر:Draw What You Observe Under the Microscope /

.....

أسئلة ختامية:Final Questions /

1. ما الفرق بين الخلية النباتية والخلية الحيوانية؟
2. ما فائدة استعمال محلول اليود؟
3. لماذا نبدأ الملاحظة بالعدسة الشيئية الصغرى؟
4. What is the difference between a plant cell and an animal cell?
5. What is the purpose of using iodine solution?
6. Why do we always start the observation with the low-power objective lens?