الأدوات والمستلزمات والأجهزة المختبرية

الأدوات والمستلزمات:

الادوات

الادوات الزجاجية (Glass Wares)

اواني زجاجية (Glass Wares) مثل الدوارق (Conical Flasks) والكؤوس الزجاجية(Beakers) والدوارق الزجاجية الحجمية (Volumetric Flasks) واسطوانات مدرجة (Measuring Cylinders) وسحاحات (Burettes) ونواقيس زجاجية (Bel jars) وانابيب اختبار(Test tubes) وماصات مختلفة الاحجام (Pipetts). اطباق بتري (Petri dishes) وشرائح زجاجية (Slides) واغطية شرائح (Cover Slips).

الأدوات المعدنية

ابرة تلقيح (Inoculation needles) وابرة تلقيح ذات عقد(Inoculation loop needles وملاقط (Forceps) مختلفة الاحجام ومقصات (Scissors). ادوات تشريح (Dissection tools).

المستلزمات

المستلزمات الكيميائية:

- مواد معقمة ومطهر ومنظفات ، أوساط زرعية صلبة وسائلة ، أقراص المضادات الحيوية ، اصباغ ، انزيمات

المستلزمات الصلبة:

أوراق ترشيح، أوراق تجفيف، مرشحات مايكروية

الأجهزة

- اجهزة قياس درجات الحرارة (Thermometers).، مجفف (Desiccator).، جهاز تقطير الماء (Water distillation). ، جهاز قياس الحموضة (pH meter) الموصدة (Autoclave)، كابينة التلقيح (Laminar air flow cabinet)، الحاضنة (incubator)، حمام مائي water bath، ميزان حساس sensitive balance، المجاهر
-

المجهر The Microscope

أن الغالبية العظمى من الخلايا الحية تكون صغيرة الحجم بحيث لا يمكن تميزها بالعين المجردة لذلك كان من الضروري اكتشاف اجهزة ووسائل متطورة من اجل الحصول على معلومات عن الخلايا وتركيبها الداخلي .
أن المجهر الضوئي Light Microscope الذي يستخدم انكسار الاشعاعات الضوئية بواسطة نظام العدسات لتحقيق تكبير العينة المفحوصة حيث يجعل صورة العينة اكبر بكثير من العينة نفسها.

توجد مبادئ اساسية لعمل المجهر الضوئي منها ما يلي:

1- التباين Contrast .
2- قوة التكبير Magnification power .
3- قوة أو قدرة التمييز Resolution power .

*التباين أو درجة التضاد Contrast

من اجل ملاحظة الخلايا بواسطة المجهر يجب ان تحدث ظاهرة تدعى التباين أو الاختلاف في شدة الضوء

- اذا كان contrast يساوي صفر فلا يمكن رؤية الجسم.
- اذا كان contrast يساوي كمية موجبة يمكن رؤية الجسم.
- اذا كان contrast يساوي كمية سالبة فلا نستطيع رؤية الجسم لأنه معتم.

*قوة التكبير magnification power

هي خاصية زيادة سطح الجسم او تكبير الجسم وتختلف حسب نوعية المجهر وتتراوح من 10-1000 مرة للمجهر الضوئي و 10-50 الف وأكثر للمجهر الالكتروني . تقاس قوة تكبير المجهر الضوئي حسب المعادلة :

قوة التكبير = قوة تكبير العدسة العينية X قوة تكبير العدسة الشيئية

* قدرة التمييز Resolution power

أي القدرة على تمييز نقطتين او جسمين تفصلهما مسافة صغيرة جدا فاذا كانت المسافة اقل من ذلك تبدو هاتان النقطتان وكأنهما نقطة واحدة وكلما ازدادت القدرة التميزية للمجهر أمكن تميزهما على أنهما نقطتان منفصلتان حيث تحسب قوة التمييز حسب المعادلة:

يتم حساب قدرة التمييز من خلال معادلة تسمى **معادلة آبي Abbe's relationship**

$$d = 0.6\lambda / n \sin \propto$$

d= أقصر مسافة بين نقطتين

λ= طول الموجة

n= معامل أنكسار الهواء اوالسائل المحصور بين النموذج والعدسة

∝= زاوية الفتحة

n sin ∝ يعرف ب Numerical Aperture ← N.A

لذا بالإمكان كتابة المعادلة كآلاتي :-

d= 0.6λ / N.A

اما معامل الانكسار (n) refraction index فهو نسبة بين سرعة الضوء في الفراغ وسرعة الضوء في اي وسط اخر (العينة).

ان قيمة(n sinα) للمجهر الضوئي تعادل 1.4 (وحدة مجردة) وبما أن عين الإنسان لا تكتشف الضوء الذي طول موجته أقل من 400 μ لذا تحسب قيمة R حسب المعادلة:

$$R = \frac{0.61\,\lambda}{n \sin\alpha} = \frac{1.6 \times 400}{1.4} = 171 \text{ milimicrom(mμ)}$$

$$0.2\ \mu \approx = 0.17\mu$$

ملاحظة : 1 m = 1000 mm

1mm = 1000 micron (μ)

1 μ = 1000 mμ = 1000 nanometer (nm) = 10^{-9}

1 mμ(nm) =10 Angstrom (A˚)

1 A˚= 10^{-8} cm = 10^{-10} m

المجهر الضوئي Light Microscope

تم اختراع سلسلة من المجاهر التي تقوم على أساس المجاهر الضوئية ولكن أدخلت بعض التحسينات لتجعل الرؤية والإيضاح أكبر من المجهر الضوئي العادي ومن أهم هذه المجاهر:

1 – **مجهر الحقل المظلم *Dark Field microscope* .**

2– مجهر الأطوار المتباينة *Phase contrast microscope*

3 – المجهر التألق الفلورسنتي *Fluorescent microscope*

4– مجهر تداخل الطور *Interference Microscope*

5– مجهر الاستقطاب *Polarization Microscope*

وهناك العديد من التقنيات الحديثة التي يمكن إدخالها على هذه المجاهر السابقة بما فيها المجهر الضوئي العادي ، وهذه الوسائل هي الاستعانة بالوسائل الإلكترونية والحاسب الآلي.

حيث أن الكاميرا الإلكترونية تكون أكثر حساسية واقدر من العين المجردة على تسجيل الفروق والدقائق الخلوية ، حيث أن العين الإنسانية لا ترى في العتمة كما أنها لا تدرك الفروق الصغيرة في خلفية لامعة ، وعندما يكون الأمر كذلك فإنه يمكن الإستعاضة عن العين بكاميرا الكترونية تستطيع رصد مجال واسع من الضوء كماً وكيفاً لتفادي هذا المعوق الإنساني .

إلى جانب أن الكاميرا الإلكترونية بإمكانها اتخاذ صوراً رقمية متسلسلة Digitzible image والتي بدورها تدخل في الحاسب الآلي ليقوم بترتيبها مع بعضها البعض وإعطاء صورة عن الشيء ككل بتوليف هذه الصورة من أجزاء الشيء الواحد الذي ادخل بالتدريج في نظام الحاسب الآلي بناءً على لقطات متتالية لفحص العينة المجهرية .

1- مجهر تباين الطور Phase Contrast Microscope :

يستخدم هذا المجهر في دراسة الخلايا الحية غير المصبوغة وهو مبني على أساس الاختلاف في سمك المكونات الخلوية، فالضوء المار في هذه المكونات يخرج منها بشدة مختلفة تنعكس هذه الشدة بدرجات مختلفة من البريق ما بين الاسود والمضيء وبذلك يمكن ملاحظة مكونات الخلية بعضها بشكل معتم والبعض الاخر بشكل فاتح أو مضيء . ومن أمثلة الخلايا المدروسة بهذا النوع من المجاهر هي الخلايا النباتية.

2- مجهر تداخل الطور Interference Microscope :

يستخدم لدراسة الخلايا الحية غير المصبوغة وهو مبني على أساس مشابه لتلك العائد لمجهر تباين الطور غير انه مزود ببعض الاجهزة التي تعطي معلومات كمية عن النموذج مثل المحتوى المائي ، الوزن ، الكثافة .... ومن الامثلة على الخلايا المدروسة بهذا النوع من المجاهر هي خلايا الانقسام.

3- مجهر الحقل المظلم Dark Field Microscope :

وهو مجهر ضوئي محوَر تظهر فيه الارضية معتمه والنموذج مضيْ ، إذ أن المكثَّف في هذه الحالة تم أستبداله بمكثَّف مائل لذلك سوف تمر الحزمة الضوئية خلال النموذج بصورة مائلة، عندها تظهر أرضية النموذج معتمة في حين يكون

النموذج مضيْ وهذا ما يزيد درجة وضوح الخلايا ، من الخلايا المدروسة بهذا النوع من المجاهر هي خلايا الدم ومكورات مرض السفلس .

4- مجهر الاستقطاب *Polarization Microscope :*

يستخدم هذا المجهر لدراسة التراكيب ثنائية الانكسار مثل (مغزل الانقسام ، خيوط المايوسين ، البلاستيدة الخضراء). يعتمد عمل هذا المجهر على كون أجزاء الخلية تختلف في درجة أمتصاصها أو عكسها لأشعة الضوء المستقطب. يختلف هذا المجهر عن المجهر الاعتيادي بكونه مزود بمستقطب Polarizer يوضح أسفل المكثف ومحلل Analyzer يوضح أعلى العدسة الشيئية.

5- مجهر التألق *Fluorescence Microscope :*

يستخدم لدراسة المكونات الخلوية التي تظهر متألقة عند إضاءتها بالأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet (UV Light) مثل جزيئات الكلوروفيل والحوامض النووية إذ يستبدل الضوء في هذا النوع من المجاهر بمصدر لأشعة فوق البنفسجية والذي يمتلك أطوالاً موجية قصيرة جداً قد تتفاعل مع المكونات التي لا تملك القدرة على التألق فيتم معاملتها بأصباغ متألقة أو تألقية قبل فحصها بمجهر التألق . نوع العدسات المصنوعة بهذا النوع من المجاهر من مادة الكوارتيز بدلاً من الزجاج وذلك لان الزجاج لا يسمح بمرور الأشعة فوق البنفسجية.

المجهر الإلكتروني Electron Microscope

حقق ابتكار المجهر الالكتروني زيادة كبيرة في قوة التكبير ويعتبر هذا النوع من المجاهر الوسيلة الوحيدة لفحص التراكيب الخلوية الدقيقة بصورة مباشرة وتكمن اهمية المجهر الالكتروني في قوة التكبير ودقة التمييز العالية واللتين تعتمدان على نفس التغيرات التي يعتمد عليها قوة التكبير في المجهر الضوئي وهذه المتغيرات هي (الطول الموجي والفتحة العددية) ويعتبر الطول الموجي من العوامل الرئيسة المؤثرة على قوة التكبير بدليل ان قوة التكبير العالية للمجهر الالكتروني تعزى إلى امتلاك الالكترونات طول موجي اقصر بكثير من طول موجة الضوء .

الإلكترونات هي جسيمات كهربائية سالبة الشحنة تعتبر أساس من أسس تركيب الذرة في الكائنات الحية ، إلا أنه يمكن إطلاقها من الذرة على هيئة حزمة شعاعية سالبة الشحنة الكهربية تسير بسرعة معينة ، وأن طول موجة الإلكترونات تتناقص بزيادة ســـرعتها . حيث من المعروف أن طول موجة الإلكترونات أقصـــر من طول موجة الضوء إلا انه يمكن التحكم في طول موجة الإلكترونات عن طريق التحكم في كمية السرعة .

مكونات المجهر الالكتروني Electron Microscope

1- قاذفة ألكترونات Electron gun (خيط التنكستن Tungsten filament) مربوط بفولتية عالية.
2- عدسات كهرومغناطيسية Electromagnatic Lenses وتشمل :

A. العدسة المكثفة Condenser Lenses
B. العدسة الشيئية Objective Lenses
C. عدسة العرض Projector Lenses

3- شاشة متألقة
4- ألة تصوير
5- جهاز تفريغ الهواء
6- جهاز تحجيم الفولتية

عقبات استخدام المجهر الالكتروني

1- يجب ان تمر الالكترونات خلال جهاز مفرغ من الهواء الامر الذي يستدعي ان تكون المقاطع المحضرة تامة الجفاف
2- أن قوة نفاذية الالكترونات ضعيفة مما يتطلب ان تكون المقاطع رقيقة للغاية بحيث يتراوح سمكها بين (A 300-400) انكستروم ، لذلك ابتكرت اجهزة تقطيع حديثة تسمى المشارح فوق الدقيقة Utramicrotomes.
3- استعمال مثبتات Fixatives ومواد اندغام (مواد طمر) Embedding materials خاصة بحيث تكون مستقرة ، اي لا تتأثر تحت سيل الالكترونات هي كلوتر الدهايد Gluteraldehyde ورابع اوكسيد الاوزميوم Osmium Tetroxide ، اما مواد الاندغام المستعملة فهي مواد بلاستكية بدلا من البارفين المستخدم للمجهر الضوئي ومثال لهذا المواد البلاستيكية هي سبار Sparr , ار لدايد Arldyde ، بيبان Pipan .....الخ.
4- صعوبة استعمال المجهر الالكتروني بالمقارنة مع المجاهر الاعتيادية.
5- الكلفة العالية للاستعمال والإدامة.

(أنواع المجاهر الالكترونية)

1- المجهر الالكتروني النافذ (النفاذ) Transmission Electron Microscope :

يستخدم هذا النوع من المجاهر في دراسة التراكيب الداخلية للخلية إذ ان الالكترونات في هذه الحالة تنفذ من خلال النموذج فتعطي بذلك صورة واضحة عن هذه التراكيب ومن أمثلة المكونات الخلوية المدروسة بهذا النوع من المجاهر هي الاغشية الخلوية .

2- المجهر الالكتروني الماسح Scannig Electron Microscope :

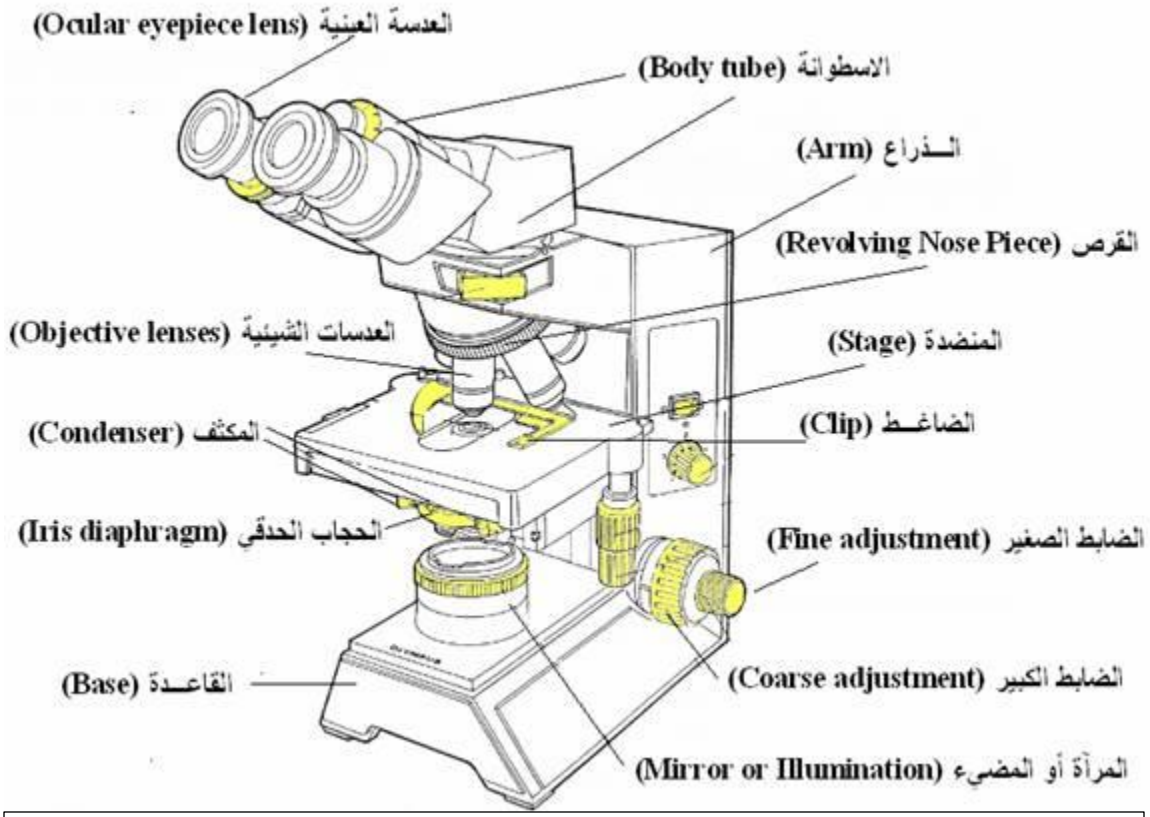
يستخدم لدراسة السطوح والتضاريس الخارجية للخلية إذ ان الالكترونات في هذه الحالة لا تنفذ من خلال النموذج وانما في حالة تماس مع السطوح الخارجية للخلايا فالصورة المتكونة في هذا النوع من المجاهر تكون ثلاثية الابعاد .

3- المجهر الالكتروني ذو الفولتية العالية High Voltage Electron Microscope :

في هذا النوع من المجاهر يتم أستخدام فولتية عالية جداً تصل الى 20000 كيلو فولت مما يمكن الالكترونات في هذه الحالة من أختراق اي شي يقف أمامها من المكونات الخلوية بغض النظر عن السمك . ولهذا السبب يتم دراسة الخلايا التامة او الكاملة بمثل هذا النوع من المجاهر .

4- مجهر الاشعة السينية X-ray Microscope :

صمم هذا المجهر بنفس الاساس الذي أعتمد عليه في تصميم المجاهر الالكترونية الاخرى إلا انه تم استبدال مصدر الالكترونات بمصدر للأشعة السينية التي تمتاز بطولها الموجي القصير جداً والذي يمكنها من أختراق أي شيْ يقف أمامها مما يمكن الباحث من الحصول على صورة واضحة اكثر من الصور المأخوذة بأنواع المجاهر الالكترونية الاخرى .



أجزاء المجهر الضوئي