

المحاضرة السادسة

(تغطية المقاطع clip coverage)

المرحلة الثالثة

م.د. هبة الله عادل الحمداني

2020-2019

تغطية المقاطع

بعد صبغ المقاطع لابد من تغطيتها بوسط مناسب وغطاء زجاجي رقيق وبعد تجفيف الشرائح لابد من تنظيفها جيدا.

اهمية تغطية الشرائح

تغطي الشرائح التي تحمل المقاطع او المسحات او التحضيرات الكاملة باغطية زجاجية رقيقة وذلك لتسهيل دراستها تحت المجهر لان التحضيرات الغير مغطاة لاتظهر الا قليلا من التفاصيل . وتتحسن امكانية رؤية مكونات التحضير اذا غطيت بمادة شفافة يكون معامل الانكسارها قريبا من معامل انكسار الزجاج ، كما ان الغطاء يحمي التحضير من التهتك والازاله خاصه المقاطع الشديدة الرهافة نتيجة الاحتكاك بالاشياء المختلفه وكذلك يقلل الغطاء من اكسده الصبغه وبالتالي يمنع فسادها .

موصفات وسط التغطية

يكون الوسط اما من النوع الذي يمتزج بالماء وفي هذه الحالة لاتكون ازاله الماء من المقاطع بعد صبغها ضرورية ، او من النوع الذي لا يختلط بالماء وهنا يجب ازالة المقاطع وترويقها ثم تغطيتها والنوع الثاني هو المستخدم بشكل عام ويجب ان تتوفر فيه المواصفات التاليه :

- 1- الامتزاج الكلي مع وسط الترويق
- 2- اقتراب معامل الانكسار من معامل انكسار الزجاج
- 3- عدم التفاعل مع الصبغه او مكونات النسيج
- 4- عدم تشويه التراكيب المصبوغة
- 5- عدم تشقق او تحبيب عند الجفاف

6- عدم تلاشي الصبغه مع مرور الوقت نتيجة لأكسدته.

أنواع وسائط التغطية

اما ان تكون دائمية او مؤقتة .تتوفر النوع الاول وسائط مثل بلسم كندا وكلا رايت ومن النوع الثاني يمكن استعمال الماء والجليسرول وهلام الجلسترين .

وسائط التغطية الدائمة

1- بلسم كندا Canada Balsam

هذه المادة تفرز من بثور سيقان البلسم ويمكن الحصول عليها كمادة طبيعية لزجة تستخدم في التحضيرات الكامل هاو تكون جافه تذاب في الزايلين لتغطية المقاطع .

لهذا الوسط عدة فوائد منها :

- 1- معامل انكساره قريب جدا من معامل انكسار الزجاج
- 2- شفاف ولالون له عند تجفيفه
- 3- يجفف بدون تحبب
- 4- يذوب بسهولة في الزايلين.

سلبيات هذا الوسط :

- 1- زياده دكائه بمرور الزمن
- 2- يصبح حامضيا نظرا لأكسدته لوسط الزايلين
- 3- يسبب شحوب تدريجي لعدة صبغات

2-كلارايت Clarite

اصبح هذا الوسط شائع الاستعمال ويستعمل كمحلول في الزايلين بنسبة 60 %.

وسائط التغطية المؤقتة

لا يكون التحضير الدائم في بعض التحضيرات المجهرية ضروري اما لان التحضير هو للاستعمال المؤقت ا وان وسائط التغطية تذيب بعض مكونات الخلايا كالدھون ومن وهذه الوسائط :

الماء

يستعمل لعمل التحضيرات المبتله لكونه شفاف ويتيح الرؤية جيدة ولكنه سريع الجفاف ولا يتيح استعمال العدسه الزيتية .

جليسرول

وسط جيد للتحضيرات المؤقتة واذا احكم اغلاق حواف غطاء الشريحة جيدا فانه يعتبر وسط شبه دائم وتخفيفه بقليل من الماء يحسن الرؤيا.

هلام الجليسرول

يجف هذا الوسط سريعا ولكنه قد يحفظ المواد المصبوغة لعدة سنوات اذا احكم اغلاق حواف غطاء الشريحة جيدا ومن عيوب استعماله شحوب الصبغات بمرور الزمن.

أسس التغطية السليمة

- 1- ان تكون الشرائح واغطيتها نظيفة قبل بدء العملية
- 2- ان تكون كمية وسط التغطية مناسبة
- 3- ان يسبق عملية التغطية ازالة كامله للماء
- 4- ان يكون قوام وسط التغطية مناسباً اي لا يكون كثيف فيسبب فقاعات هوائية ولابالغ الرقع فيسحب من تحت اطراف الغطاء
- 5- ان تتم التغطية باسرع وقت وعدم ترك الشريحة معرضه للهواء
- 6- تجفيف التحضير على صفيحة دافئة.

بعض الأدوات والزجاجيات والأجهزة اللازمة في التحضيرات

المجهرية

تتطلب العمليات المختلفة في التحضيرات المجهرية الضوية عدة ادوات واجهزة ومحاليل ووسائط قبل تحضير شرائح جاهزه منها :

1- أدوات التشريح Dissecting Tools

أ- مقص تشريح عريض

ب- مقص تشريح رفيع

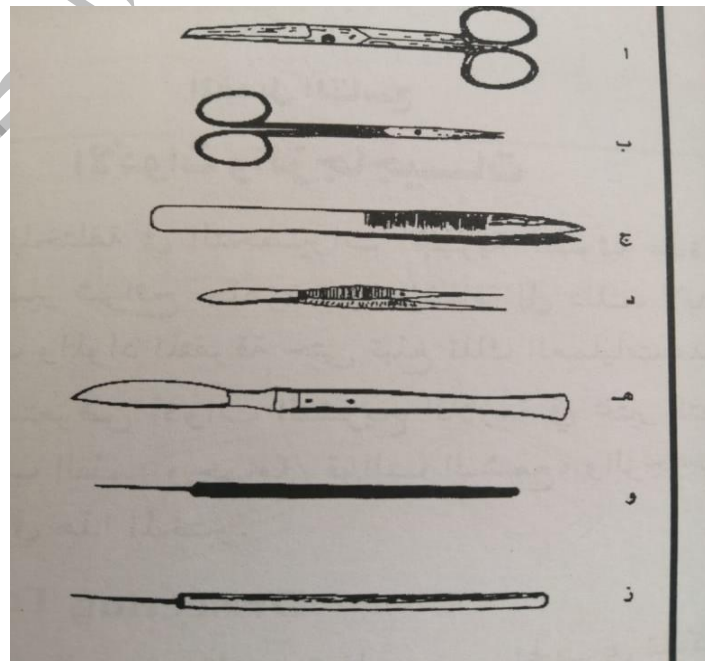
ج- ملقط الطرف الكبير

د- ملقط رفيع الطرف

هـ- مشرط

و- مسبار

ز- ابره تشريح



2- قوالب الطمر Embedding Moulds

هنالك عدة انواع من هذه القوالب ومنها:

- 1- قوالب معدنية على شكل حرف L
- 2- قوالب بلاستيكية
- 3- قوالب ورقية

3-حوامل قوالب الشمع

هذه الادوات تحمل او تثبت عليها قوالب الشمع لاغراض التقطيع وهنالك عدة انواع منها :

- 1- حوامل معدنيه
- 2- حوامل خشبية

4-الزجاجيات

اضافة الى ماسبق ذكره في مجال التحضير المجهري سوف نحتاج الى ادوات بسيطة لها دور كبير في تحضير المحاليل او تنفيذ بعض الخطوات اثناء التحضير للشرائح المجهرية ومنها :

1- الزجاجيات العامه : اهم هذه الزجاجيات هي :

أ – كاس

ب-دورق

ت- قمع

ث-قنينة عينات

ج- قنينة قطاره

ح- زجاجية محاليل

خ- مخبار مدرج

- د- صحن اجنة
- ذ- صحن بتري
- ر- زجاجة ساعه

2- الشرائح المجهرية Microscope slides

تستعمل لتحميل المقاطع والتحضيرات الكاملة وتصنع من الزجاج ولها ابعاد مختلفة

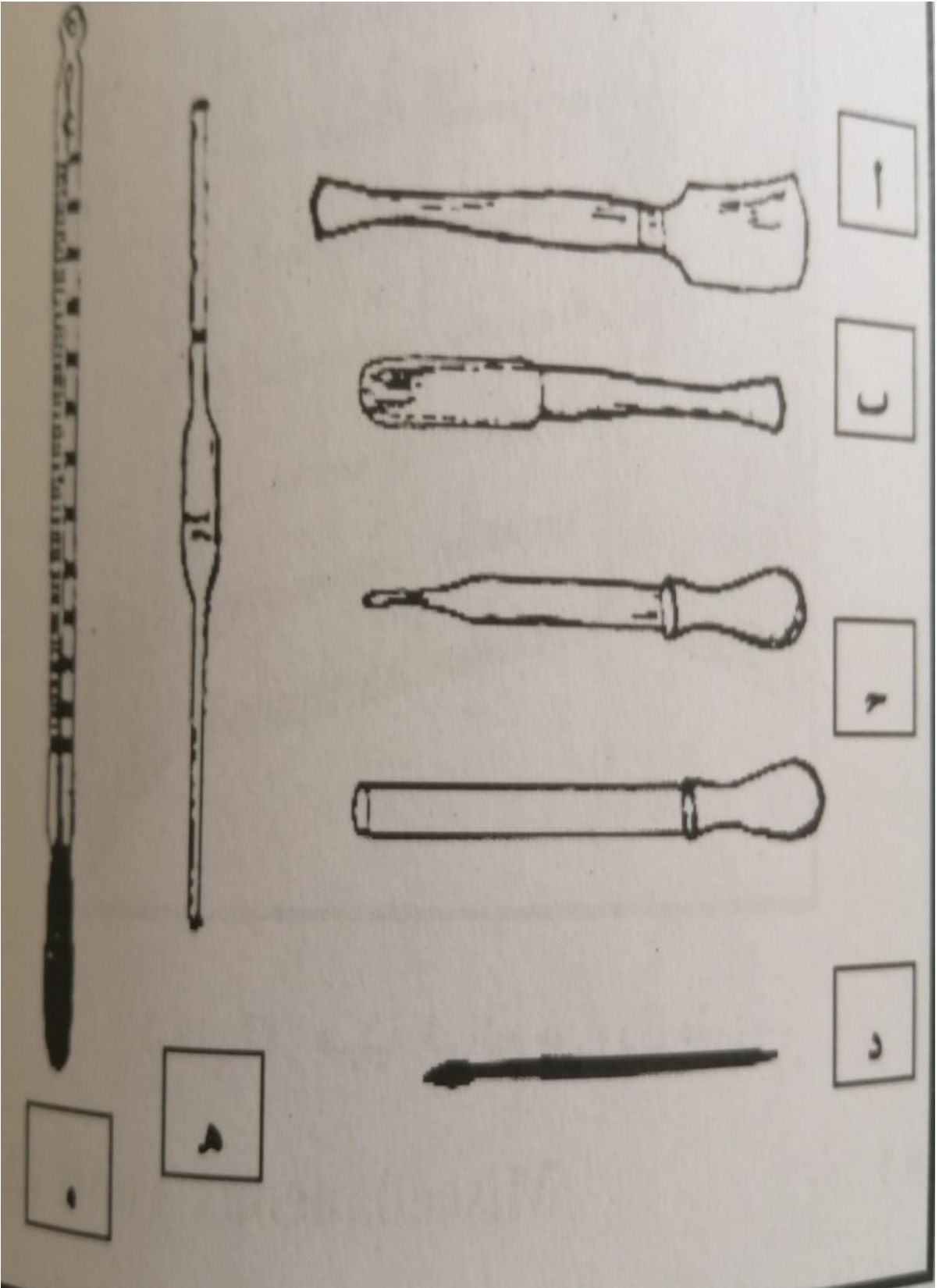
3- اغطية الشرائح Cover slide

وتصنع من الزجاج باحجام وسمك مختلف اضافة الى اشكال مختلفة فمنها المستدير والمربعه والمستطيله ، ويحدد سعر الاغطية بالوزن حيث تباع في علب صغيرة.

4- ادوات متفرقة Miscellaneous tools

تساعد هذه الادوات في اتمام العمل في المختبرات للتحضير المجهرى ولايستغنى عنها واهمها :

- أ- رافع مقاطع
- ب- مبسط
- ج- قطاره طبية
- د- فرشاه شعر الجمل
- ه- ماصه
- و- ميزان حراره



5- اجهزة التقطيع Microtomes

تشكل اجزة التقطيع عماد مختبر التحضير المجهرى الضوئى ومختبر الامراض النسيجية وتشارك جميع اجهزة التقطيع بثلاث اليات وهى الية ضبط سمك المقاطع والية حمل وتثبيت السكين والية تثبيت القالب الحامل للعينة ومن اجهزة التقطيع هى الدوار والدقيق والتلجى .

6- سكاكين اجهزة التقطيع Microtome knives

يعتمد انتاج مقاطع جيدة على عدة عوامل لعل اهمها السكين فبغض النظر عن تعقيد جهاز التقطيع او بساطته او عمليات تحضير النسيج فالنتاج سيكون مقاطع رديئة اذا لم يكن حد السكين حادا .

تصنع سكاكين التقطيع من فولاذ ذى درجة عالية من الجودة من الليونه ومن انواع سكاكين اجهزة التقطيع سكاكين اما ذات حافة مستوي هاو مقعره الوجهين او مقعره ومستويه .

7- افران صهر الشمع Paraffin ovens

وهى عباره عن خزانات تسخن كهربائيا ويمكن ضبط درجة حرارتها عند مدى يتراوح بين 37 و 100 س وذلك بواسطه ضابط يتحكم فى قوة التيار الكهربائى الواصل اليها ويجب ضبط درجة حرارة الفرن الى الدرجة المطلوبة حتى لا ترتفع الى مستوى يؤدى الى طبخ العينة التى يجرى تشريبها بالشمع المنصهر . هنالك افران من الشمع يمكن افراغها من الهواء بايصالها بمضخة تفريغ وهى مفيدة جدا فى حالة تشريب لانسجة محتويه على الهواء كالرنتين مثلا اذ يسهل تفريغ هواء هذه الانسجة ليحل محلها الشمع .

المصادر :

1- د. عمر عبد القادر (2012) التحضيرات المجهرية

2- شبكة الانترنت

ح. د. هبة الله عادل الحمداني