الباب الأول

بيولوجية الخلية
CELL BIOLOGY

1

الفصل الأول
طرق الدراسة وأساسيات البناء الخلوي
METHODOLOGY AND BASES OF CELL CONSTRUCTION

مقدمة Introduction

يتناول علم بيولوجية الخلية Cell Biology دراسة الخلية من ناحيتي التركيب والوظيفة. وترتبط هذه الدراسة إرتباطا وثيقا بالعديد من العلوم البيولوجية الأخرى مثل علم الحيوان وعلم النبات وعلم الأنسجة وعلم الوراثة وعلم الأمراض وعلم وظائف الأعضاء وعلم الكيمياء الحيوية. وفي العقود الثلاثة الأخيرة من القرن العشرين نشطت الدراسات في مجال البيولوجية الجزيئية molecular biology – وهي تتناول الأحماض النووية والبروتينات بصفة خاصة – وسرعان ما تعاظم شأن الدراسات في هذا المجال بشكل كبير – كما تعاظم ارتباط الدراسات في بيولوجية الخلية مع تلك الخاصة بالتكنولوجيا الحيوية biotechnology وعلم المناعة immunology ودراسة أخطر أمراض العصر مثل السرطان cancer والإيدز AIDS، وكذلك مع دراسات الإستنساخ cloning والعلاج بالجينات gene therapy والحصول على كائنات محولة جينيا transgenic creatures.

ولقد أصبح من المحتم على المشتغلين بعلم بيولوجية الخلية – في ظل التطورات المتلاحقة وعالية التعقد لهذا العلم أن يكونوا على دراية كاملة بمختلف التقنيات المستحدثة وما يتعلق بها من معطيات. وفيما يلي موجز لبعض الطرق الأساسية والمجاهر المستعملة في دراسات بيولوجية الخلية .

طرق الدراسة : Methodology

يعتبر عمل قطاعات في الأنسجة بسمك حوالي 5 ميكرومتر تم صبغها وفحصها بالمجهر الضوئي هو أكثر الطرق شيوعا لفحص الخلايا والأنسجة. ويتطلب الأمر في البداية معاملة العضو موضوع الدراسة بمواد كيميائية خاصة للمحافظة على حالة الأنسجة بصورتها الطبيعية قدر الإمكان وتسمى هذه الخطوة "التثبيت" fixation، ويلي ذلك نزع الماء dehydration من النسيج بإستخدام كيماويات معينة مثل الكحول ، ثم ترويق clearing النسيج بإستخدام سوائل كيميائية خاصة مثل الزيلول ثم وضع العضو في شمع منصهر (غالبا عند 60° م) لإعطاء فرصة لتخلل infiltration الشمع المنصهر للعضو قبل طمره embedding في الشمع المنصهر الذي يترك ليتجمد حول النسيج.

وللحصول على القطاعات تستخدم آلة للتقطيع sectioning تسمى "ميكروتوم" microtome، ثم يتم صبغ staining القطاعات التي يحصل عليها إما بالأصباغ العامة مثل الهيماتوكسيلين والإيوسين، أو بأصباغ خاصة تصبغ تراكيب أو مواد معينة بالخلايا والأنسجة .

ويستدعي الكشف عن بعض الإنزيمات والمركبات الدهنية بإستخدام المجهر الضوئي الحصول على قطاعات في الأنسجة دون تعريضها للشمع المنصهر في درجة حرارة عالية ، وكذلك دون تعريضها للمواد الكيميائية المذيبة للدهون مثل الكحولات والزيلول. وقد أستعين لهذا الغرض بالميكروتوم الثلجي freezing microtome أو الكريوستات cryostat حيث يتم تجميد النسيج الطازج بإستخدام التبريد قبل إجراء عملية التقطيع للحصول على ما يسمى بالقطاعات المجمدة fro-zen sections التي يجرى صبغها بعد ذلك .

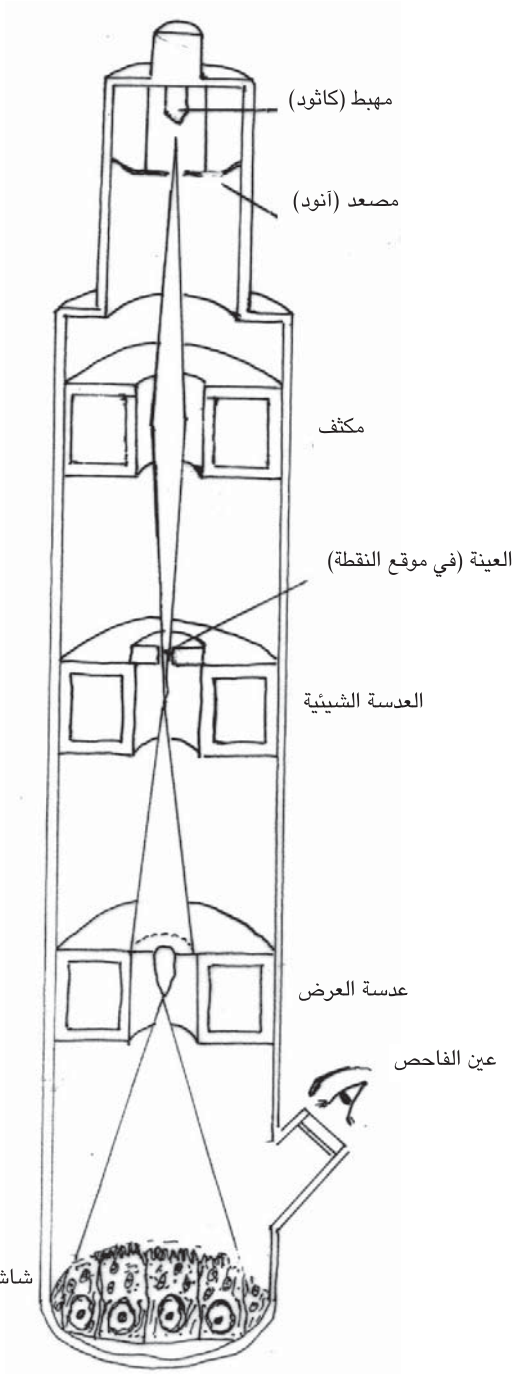
وفي بعض التحضيرات لايستدعي الأمر عمل قطاعات في الخلايا، ومثال ذلك إستخدام السحق Squashing لفحص الكروموسومات ، وإستخدام السحبات smears لفحص خلايا الدم وما قد يوجد بالدم من طفيليات.

ويستخدم المجهر الضوئي العادي في فحص جميع العينات المعدة بالطرق السابقة ، وفيه يستعان بضوء الشمس أو الضوء الكهربائي العادي، والعدسات الشيئية فيه تصل قوة تكبيرها من 3 - 60 مرة بالإضافة إلى عدسة الغمر في الزيت التي تصل قوة تكبيرها من 90 - 100 مرة ، كذلك تستخدم في المجهر عدسات عينية تتراوح قوة تكبيرها من 3 - 16مرة. وتقدر أقصى قوة تكبير للمجهر الضوئي بحوالي 1200 مرة – إذ أننا لو حاولنا زيادته عن ذلك لقلّت درجة إيضاح تفاصيل العينة. ولا تقتصر مواصفات العدسة الجيدة على قدرتها على التكبير magnification، ذلك أن قدرة العدسة على الإيضاح resolution لها درجة أهمية قصوى. ويلاحظ أن قوة المجهر على الإيضاح تعتمد على العدسة الشيئية ، ذلك أن العدسة العينية يقتصر دورها على تكبير الصورة القادمة من العدسة الشيئية دون أن تحسن درجة إيضاحها. وفي أفضل الحالات فإن أحسن الميكروسكوبات الضوئية لايمكن أن يميز بين نقطتين المسافة بينهما تقل عن 0.17 ميكرومتر* .

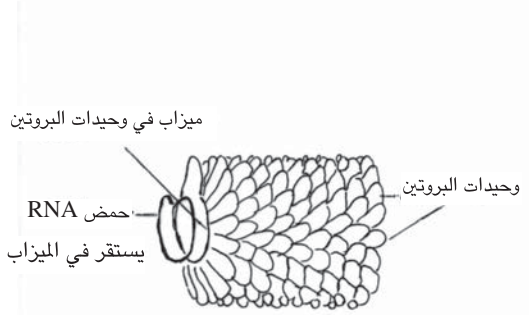
ويمكن بإستخدام عدسة مقياس مدرج توضع داخل إطار العدسة العينية أن نقوم بقياس أبعاد تركيب ما بإستخدام المجهر.

وقد بدأ إستخدام المجهر الإلكتروني –الذي صنع عام 1930– في فحص العينات البيولوجية مع

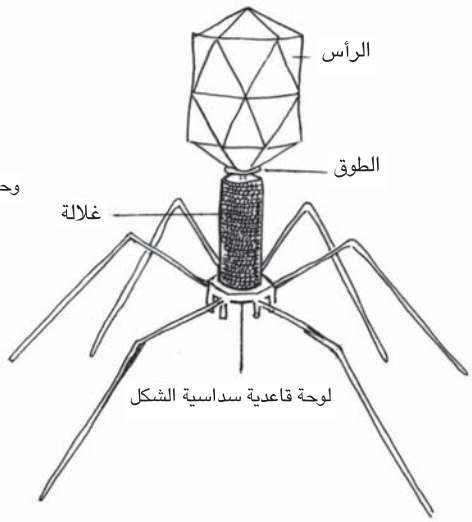
* الميكرومتر micromere = 10^{-6} من المتر



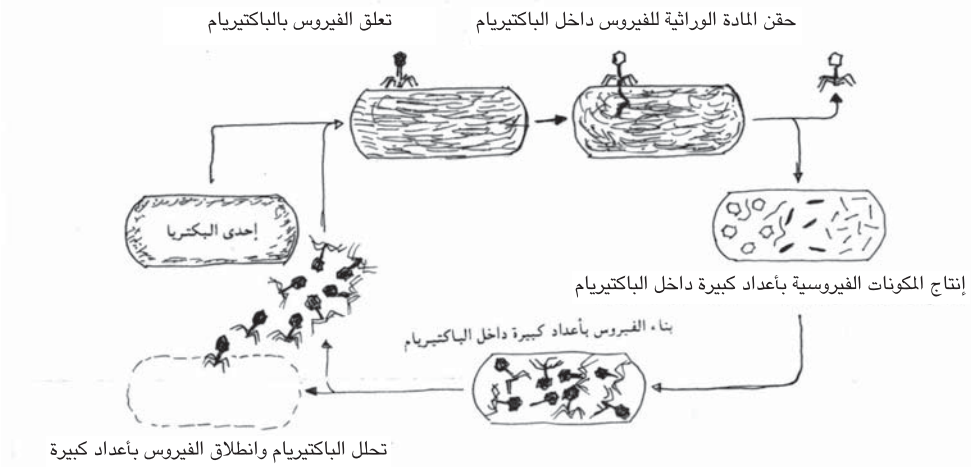
مقطع بالأنبوبة الإسطوانية للمجهر الإلكتروني



تركيب فيروس برقشة الدخان



تركيب فيروس بكتيري (باكتيريوفاج)



دورة تزايد أعداد البكتيريوفاج

بداية النصف الثاني من القرن العشرين. وفي هذا المجهر يُستخدم شعاع من الإلكترونات بدلا من شعاع الضوء. وبفضل قوة تكبيره العالية (عادة يتم تصوير عيناته في حدود تكبير بقدرة 200 ألف مرة)، ولقدرته الأفضل على الإيضاح –يمكن أن يوضح نقطتين، المسافة بينهما 1 - 1.5 نانومتر*– من الممكن رؤية تراكيب خلوية لم تكن معروفة من قبل ، كما كشف عن تفاصيل جديدة لتراكيب سبق أن عرفت بالمجهر الضوئي. وجملة القول أن المجهر الإلكتروني أضاف إلى معلوماتنا الكثير في مجال بيولوجية الخلية . ويستخدم الميكروسكوب الإلكتروني النفاذ transmission electron microscope لفحص قطاعات في الأنسجة تجهز بسمك يصل إلى حوالي 600 أنجستروم** وبصفة عامة يستخدم رابع أكسيد الأزميوم osmium tetroxide في معاملة العينات قبل إجراء عملية التقطيع التي تجري بآلة تسمى «ألتراتوم» ultratome.

كما يستخدم الميكروسكوب الإلكتروني الماسح scanning electron microscope في فحص أسطح العينات مثل السطح الداخلي للأمعاء وأسطح أعين الحشرات وخياشيم الأسماك وسطح اللسان.

ومن ناحية أخرى فإن تقنية التصوير بالإشعاع الذاتي autoradiography تساعد على تتبع مسار مركبات معينة داخل الخلايا والأنسجة مما يساعد على تفهم الآليات الوظيفية للعضيات والتراكيب الخلوية والنسيجية .

وهناك تقنيات أخرى ساعدت على تقدم علم بيولوجية الخلية مثل استخدام الميكروسكوب الفلورسنتي fluorescent microscope والطرد المركزي التمييزي differential centrifugation والتجزؤ الخلوي cell fractionation وتقنيات الفيزياء الحيوية biophysics وتقنيات علم المناعة immunology والفصل الكهربي electrophoresis وزراعة الأنسجة tissue culture والتحليل بإستخدام حيود أشعة إكس X-ray diffraction وتقنيات البيولوجية الجزيئية molecular biology وغير ذلك .

أساسيات البناء الخلوي : Basis of Cell Construction

يجدر بنا قبل أن نتناول أساسيات البناء الخلوي أن نشير بإيجاز إلى الفيروسات .

الفيروسات : – تعتبر الفيروسات كائنات بين عالم الجماد وعالم الأحياء ، وقد إكتشفها عالم النبات الروسي إيفانوفسكي Ivanovsky في عام 1852. وتلقى الفيروسات إهتماما عظيما في

* النانومتر Nanometre = 10^{-9} من المتر

** الانجستروم (A°) = $\frac{1}{10}$ نانومتر. وهذه الوحدة لا يفضل استخدامها الآن