الفصل الثالث

الاصباغ البيولوجية وكيفية عملها

- **هناك طرق متعددة لتلوين الانسجة**

١) صباغة الانسجة الحية
٢) الصبغ بالذوبان
٣) الصبع بتكوين مواد ملونة في النسيج
٤) الصبغ بالتخلل والترسيب المعدني

١- صباغة الانسجة الحية

ويمكن صباغة الانسجة الحيه بطريقتين :

A. الصباغة داخل النسيج الحي

ويتم حقن احد الاصباغ مثل تريبا بلو والحبر الهندي داخل احد الاوردة الكبيرة لحيوان حي ، مما يؤدي الى إظهار هذه الخلايا ملونة عند الفحص .

B. الصباغة بغمر الخلايا في الصبغ

يتم تفكيك الخلايا وغمرها في محلول الصبغ ، وفي هذه الحالة تلتقط الخلايا الأصباغ الى داخلها مما يؤدي الى ظهور محتويات الخلايا ملونة بألوان مختلف حسب نوع الصبغ .

- ✓ **بما تفسر / انويه الخلايا لا يمكن صباغتها في الانسجة الحيه ؟**

لأن الغشاء النووي غير منفذ لمثل هذه الاصباغ .

٢- الصبغ بالذوبان :

تعرف المواد التي تذوب في الانسجة باسم (**الملونات المحللة**) ومعظم هذه المواد تذوب في الدهون ، فإنها تستخدم لإظهار الدهون في قطاعات الانسجة

سؤال / قارن بين الصبغ بتكوين مواد ملونة في النسيج و الصبغ بالتخلل والترسيب المعدني

الصبغ بتكوين مواد ملونة	• **تستخدم محاليل باهته او عديمة اللون تتفاعل مع المكونات النسيجية لتنتج مواد ملونة ، وقد يكون المركب الملون الناتج عبارة عن صبغة حقيقية او منتج كيمياوي ملون .** • **مثل : محلول شيف عديم اللون او ذو اللون الاصفر الباهت ، فيظهر صبغ ذو لون قرمزي في وجود مجموعة الالدهيدات**
الصبغ بالتخلل والترسيب المعدني	• **تتكون مادة ملونة داخل النسيج في اماكن معينه ، ولكن هذا اللون الناتج لا يعتبر صبغة بالمعنى الحقيقي .** • **يوضع النسيج في المحلول الملحي وعندئذ يترسب المعدن غير المختزل (الفضة) في صورة غروية على بعض التراكيب التي لها قابلية لهذا المعدن ، ثم ينقل النسيج الى محلول مختزل (الفور مالين) وبذلك يختزل المعدن الى حالته العنصرية في صورة راسب اسود بني غامق .** • **ويلاحظ ان النسيج لم يختزل المعدن ولكن تم الاختزال عن طريق استخدام محلول خارجي ويطلق على هذه الطريقة ب(قابلية الفضة)**

وتستخدم طريقة فولجن الخاصة بصباغة DNA.

سؤال / قارن بين الصبغات المتعادلة والحامضية والقاعدية

الصبغات المتعادلة	• **ينتج من تفاعل صبغ حامضي مع اخر قاعدي** • **جزئ الصبغة يحتوي على شقين كلاهما لصبغة ملونة**
الصبغات القاعدية	• **الذي يكون فيه الشق القاعدي ملونا .** • **متحدا مع شق حامضي عديم اللون مثل الكلور او الكبريت.** • **ومن امثلته الفوكسين القاعدي**
الصبغات الحامضية	• **هو الذي يكون فيه الشق الحامضي ملونا .** • **متحدا مع شق قاعدي عديم اللون مثل الصوديوم.** • **ومن امثلته الفوكسين الحامضي**

سؤال / قارن بين الصبغات المركبة متعددة الالوان ومخالفة التلوين

الصبغات المركبة المتعددة	الصبغات مخالة اللون
هي الاصباغ التي تحتوي على مكونات ذات الوان مختلفة	هي صبغة نقية تعطي النسيج المصبوغ بها ألوانا متعددة .
صبغة الجمسا : وهي عبارة عن صبغة مركبة من صبغين هما **الثيازين الزرقاء والايوسين الحمراء .**	هناك تراكيب مميزة في النسيج تتحد مع الصبغ لتعطي لونا يختلف عن لون الصبغ نفسه
عند صباغة قطاع في الحبل الشوكي فإن اجسام نسل الخلايا العصبية ستصبغ باللون الازرق و ستأخذ الالياف العصبية اللون الاحمر	**مثل :** عند صباغة نسيج ضام بالتلويدين بلو فإن الخلايا الصارية ستصبغ باللون الاحمر البنفسجي (**صباغة مخالفة**). بينما ستصبغ مكونات النسيج باللون الازرق (**صباغة متوافقة**)

الصباغة باستخدام اصباغ طبيعية او تخليقيه

❖ **وتقسم الاصباغ المستخدمة في علم الانسجة الى نوعين رئيسين (مهم)**

١- **الاصباغ الطبيعية** : مثل الكارمين و الهيماتوكسيلين والاورسين

الكارمين : وجد ان الخلايا الدهنية في انثى حشرة **Dectylopius cacti**

تحتوي على مادة صبغية وأنه يمكن استخلاص مادة الكارمين او حمض الكارمنك من اجسام الإناث المجففة .

عرف / تكلم عن : الهيماتوكسيلين : اكثر الصبغات استخداما في مجال علم الانسجة بهدف صباغة انويه الخلايا غالبا ، ويستخلص من خشب شجرة صغيره اسمها **الهيماتوكسيلين campechianum** تكتسب قدرتها على الصباغة بعد اكسدتها الى هيماتين ، اما طبيعيا بتعريضها الى الهواء لمدة بين ثلاثة و ستة اسابيع ، او اكسدتها صناعيا باستخدام بعض الكيماويات

ويمكن الصباغة بالهيماتوكسيلين مباشرة او ان يستخدم مرشح (**Mordant**) .

❖ **هناك بعض الاختبارات لإيضاح مدى صلاحية الصبغ الذي يستخدم في هذه المرسخات للاستعمال : (مهم)**

١. رائحة الصبغة الجيدة تكون مثل رائحة الخل ولونها بنفسجي غامق .
٢. اذا اضفت قطرات من الصبغ في كوب مليء بالماء **فإن :**
   a. اصبح **ازرقا داكنا** فهو **جيد**
   b. واذا اصبح لونة مثل **لون الحمرة** فإنه **قديم** او **غير جيد** .
٣. عند وضع قطرات من الهيماتوكسيلين على قطعة ورق الترشيح فإن اللون الناتج عن انتشار الصبغة سيكون كستنائيا ذا حافة بنفسجية قاتمة
٤.

٢- الاصباغ التخليقيه

يشمل عدد كبير من المركبات العضوية المشتقة من البنزين ومن الناحية الكيماوية .

❖ **وتتكون الاصباغ التخليقيه من ثلاث مكونات**

A- مسببات او حاملات اللون : وتعرف بثلاثة طرز من حاملات اللون : هيا

١. **مركبات مشتقه من حلقة الكينون**: مثل : الفوكسين القاعدي والفوكسين الحامضي
٢. **الازدواجات النيتروجينية** : مثل : اصباغ الاورانج
٣. **مجموعات النيترو** :مثل : حمض البكريك

B- مولدات اللون

وهي المركبات التي تحتوي على حاملات اللون ضمن مكوناتها مثل اتصال حاملات اللون بحلقة البنزين .

C- مقويات اللون : مثل مجموعة OH أو مجموعة NH_2 وهي مجاميع معطية الالكترون حتى تزيد من تبادل الروابط المزدوجة الاحادية في حاملات الالوان حتى ينتج اللون .

❖ تسمية الاصباغ

اذا وجد حرف او رقم بعد اسم الصبغ فهذا يعني تمييز الصبغ عن صبغ شبيه به .

واذا ميز اسم الصبغ بحرف **B** فهذا يعني انه يميل الى **اللون الازرق** اما الحروف **GوY** تعني انه يميل الى **الاصفر** اما حرف **WS** يعني انه **يذوب في الماء**