

Histochemistry

ا.د. /عبدالباسط عارف محمد

أستاذ بيولوجيا الخلية وكيمياء الأنسجة



الرؤية و الرسالة

الرؤية

يسعى القسم جاهدا ليكون واحد من المؤسسات العلمية والبحثية المتخصصة. ويسعى القسم ليكون رائدا في تقديم تعليم متميز وخدمة مجتمعية عالية واكتساب سمعة دولية متميزة وان يصل الى العالمية خلال الفترة القادمة

الرسالة

تزويد الطلاب بالأسس عالية الجودة في مجال العلوم التطبيقية. يحرص القسم على إعداد نوعية متميزة من الخريجين ذات مستوى رفيع و يتمتعون بخلفية أكاديمية ممتازة . وايضا إعداد طلاب الدراسات العليا كي يكونو كوادر علمية متخصصة . كما يسعى القسم الى ان يسهم بدور فعال في خدمة المجتمع المدني وذلك بتقديم الإستشارات في مجالات العلمية .



Histochemistry

Relation between the chemistry and cell & tissue

**** The structure and functions of cells and Tissues are chemicals material and chemical reactions.**

****The structure and functions of organism are chemicals material and chemical reactions.**

The protoplasm

Cytoplasm
(cytosome)

Nucleus
(Karyoplasm)

Table 4-1 Components of the Cell Cytoplasm

I

Cytoplasmic Organelles

A. Membranous organelles

Cell membrane or plasmalemma (including the cell coat and microvilli)

Mitochondria

Rough-surfaced endoplasmic reticulum (rER)

Golgi apparatus

Secretory vesicles (granules)

Lysosomes

Coated vesicles

Endosomes

Peroxisomes

Smooth-surfaced endoplasmic reticulum (sER)

B. Nonmembranous organelles

Ribosomes (free ribosomes and polysomes)

Microtubules

Centrioles

Cilia and flagella

Filaments

} assembled
from
microtubules

II

Cytoplasmic Inclusions

A. Stored foods

Glycogen

Fat (lipid)

B. Pigments (occasionally present)

1. Exogenous

Carotene

Carbon particles

2. Endogenous

Hemoglobin

Hemosiderin

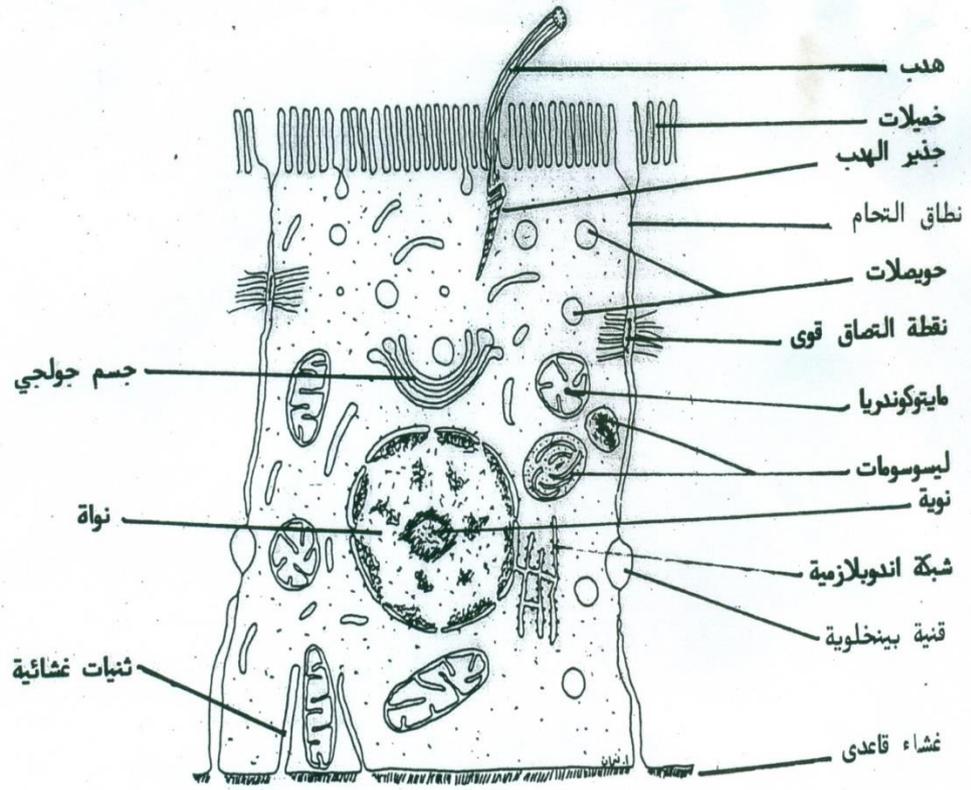
Bilirubin

Melanin

Lipofuscin (lipochrome pigment)

Other

Cytoplasmic matrix (cytosol)



الشكل العام للخلية الحيوانية كما يظهر بالمجهر الالكتروني

Fig. (4)

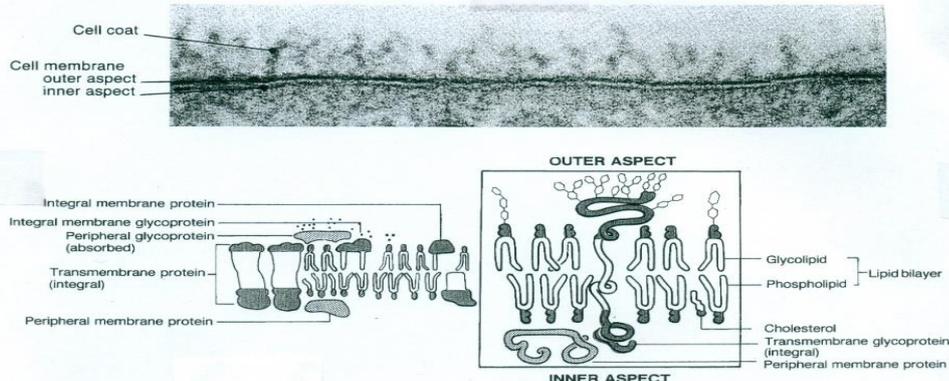


Fig. (6) Electron micrograph of the cell membrane (*top*) with a schematic diagram of its molecular organization (*bottom*). (Micrograph, courtesy of M. Weinstock)

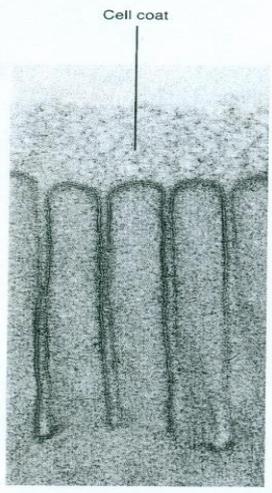
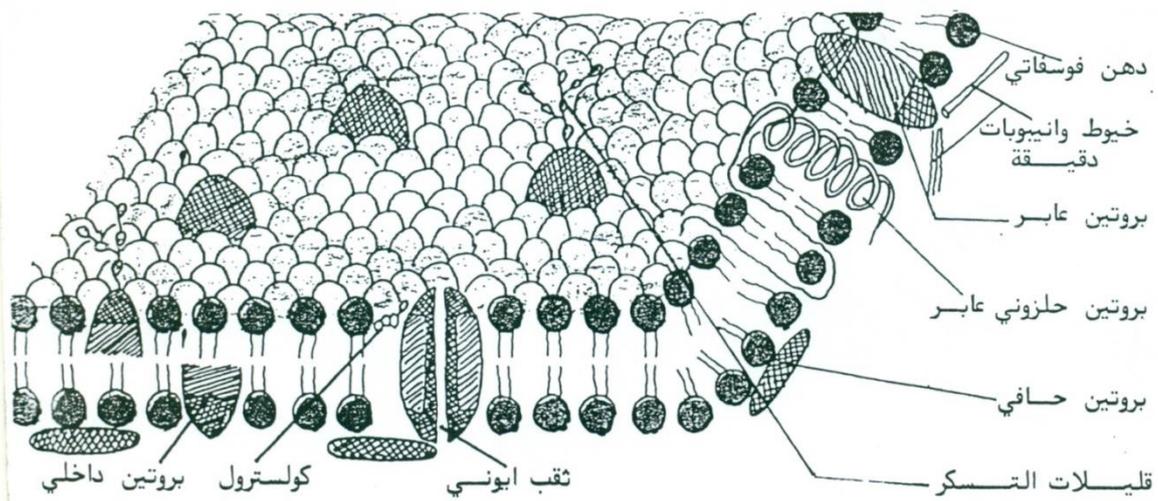


Fig. (7) Electron micrograph ($\times 75,000$) of the cell coat of an absorptive epithelial cell of the small intestine (cat). The cell surface projections seen below the cell coat are microvilli. (Courtesy of S. Ito)

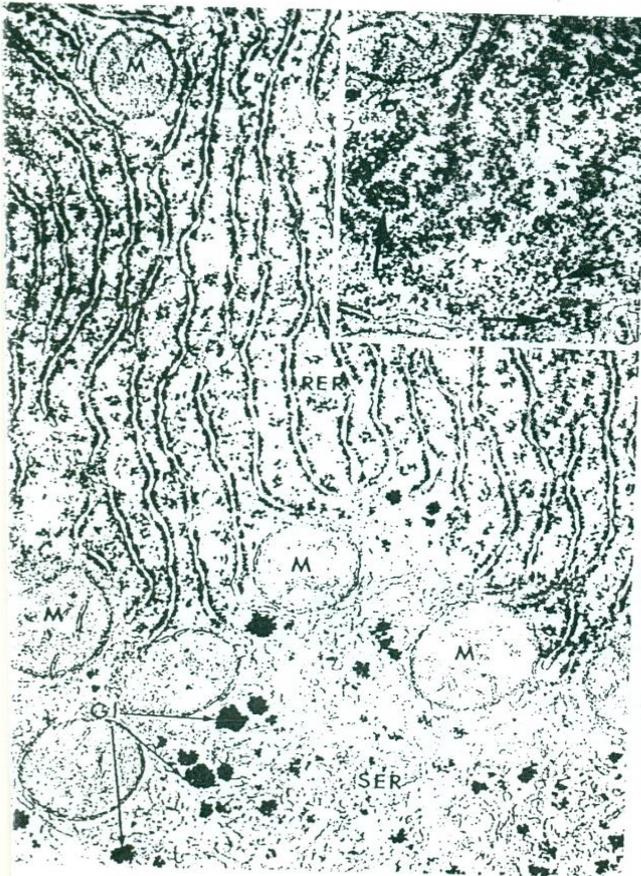
C. K. S.



د. عارف

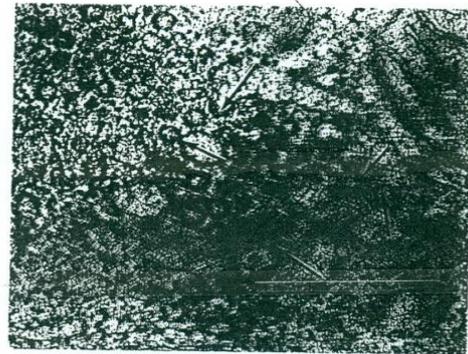
البناء الكيميائي للغشاء الخلوي

Fig. (5) 3



Electron micrographs showing the rough-surfaced endoplasmic reticulum in the cytoplasm of a liver cell (from a rat treated with cortisone). In the large micrograph ($\times 38,000$), note the parallel cisternae of rough-surfaced endoplasmic reticulum (RER), the outer surface of which is studded with ribosomes. The lumen of each cisterna contains recently synthesized protein, eventually to be secreted. Note also the smooth-surfaced endoplasmic reticulum (SER) in the bottom of the micrograph. Mitochondria (M) and glycogen (Gl) may also be seen. (Inset) A grazing section ($\times 37,000$) through the cisternae of rER shows a face view of the ribosomes studding the rER. Arrows indicate polysomes (see also Fig. 5-23). (Cardell, R.; *Anat. Rec.* 180:309, 1974)

Fig. (10)



Electron micrograph ($\times 70,000$) showing the region in a secretory cell where cisternae of rER abut on the periphery of the Golgi apparatus. In several sites (arrows), smooth-surfaced transfer vesicles are budding from rER. They transport protein from the rER to the Golgi apparatus. (Palade, G. F.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 52:613, 1964)

Fig. (11)

Chapter 5

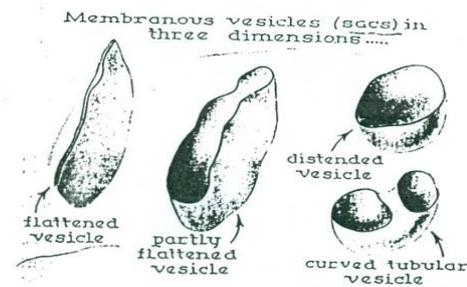


Diagram illustrating in three dimensions the various shapes of cytoplasmic membranous vesicles. The cut surface of each vesicle shows what it would appear like in a section. The large flattened vesicles (as at left) are termed cisternae.

6

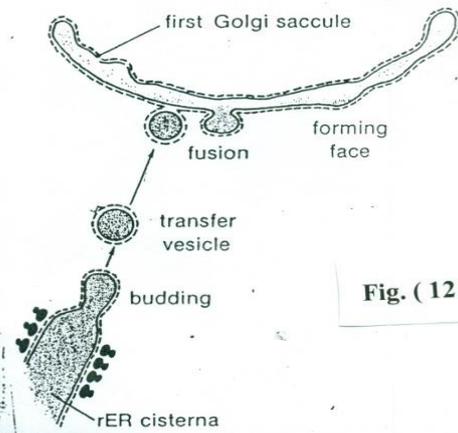
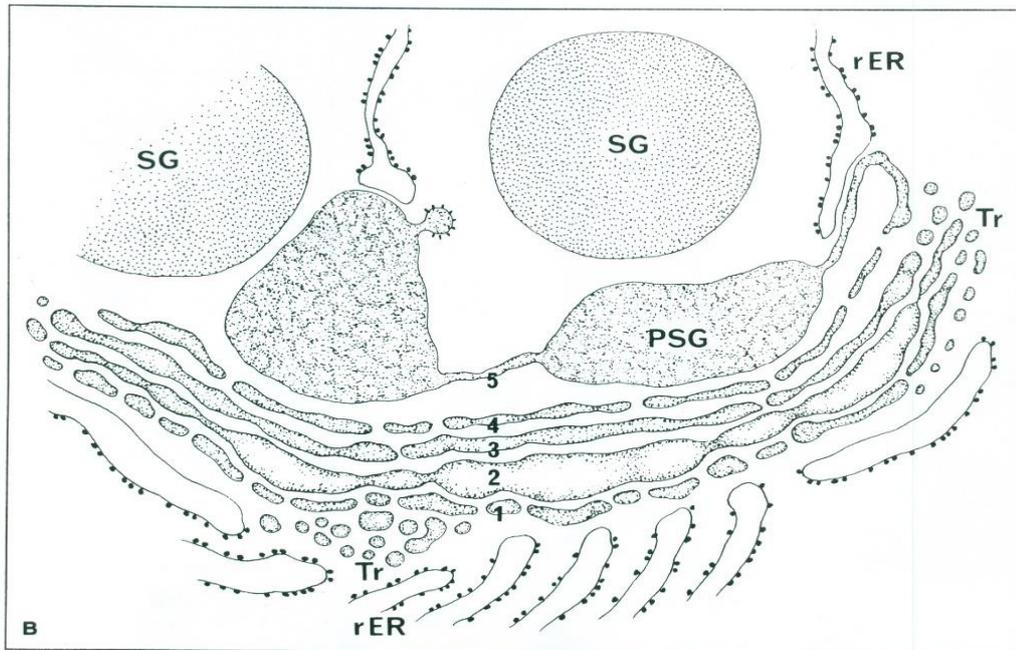
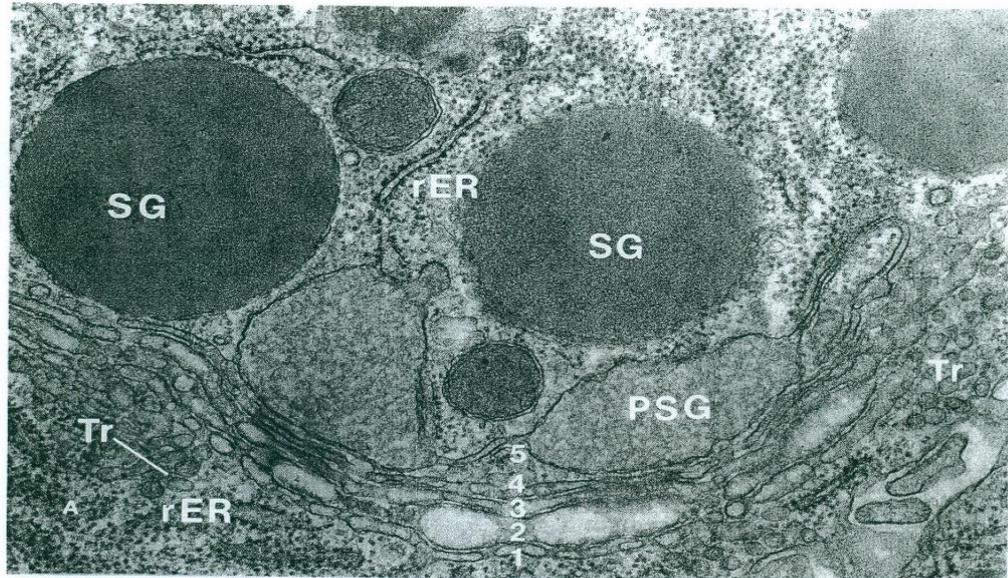


Fig. (12)

Diagram illustrating the formation of transfer vesicles from the rER and their subsequent fusion with the forming face of the Golgi apparatus.

75
—



Handwritten signature

Fig. (16)

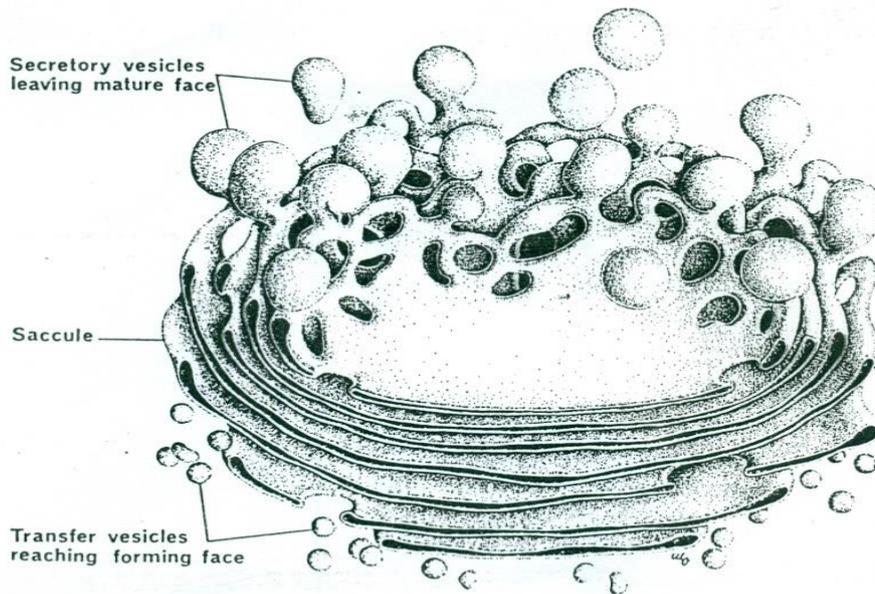


Fig (13)

Drawing of the Golgi apparatus of a secretory cell in three dimensions. The transfer vesicles bud off from the rER, which would be below. The secretory vesicles that bud off from saccules on the mature face become, in the instance of acinar cells, the so-called zymogen granules. (Drawn from a model by J. Kephart; illustration courtesy of C. P. Leblond)

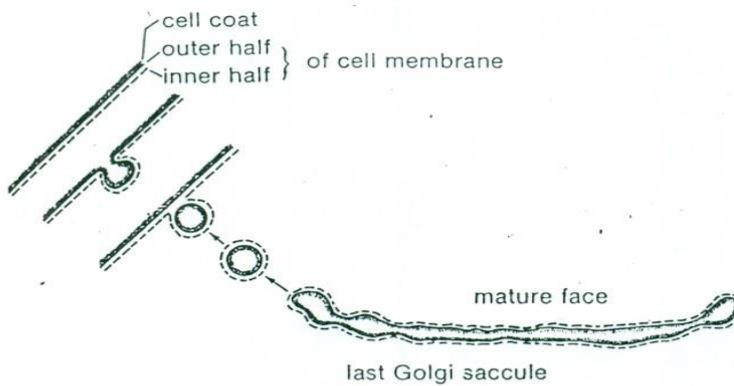


Fig. 5-32. Diagram illustrating how vesicles budding from the Golgi saccules can contribute cell membrane and cell coat to the cell surface by fusing with it. Note that the outer half of the vesicle membrane becomes the inner half of the cell membrane.

Fig. (14)

علاج

Histochemistry

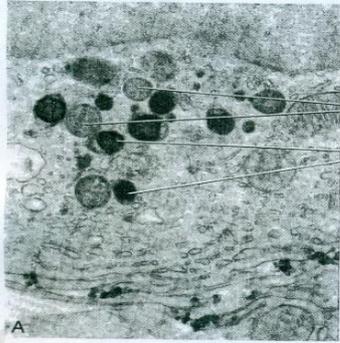
**Continues of Relation between the
chemistry and cell & tissue**

**** The structure and functions of cells and
Tissues are chemicals material and chemical
reactions.**

****The structure and functions of organism are
chemicals material and chemical reactions.**

**How to prove the chemistry of the cell and tissue in
terms of structure and function?.**

**How can you explain that an organism is structurally and functionally
composed of chemicals and chemical reactions?**



Primary lysosomes
Secondary lysosomes

(A) Electron micrograph ($\times 18,000$) of primary and secondary lysosomes in a rat macrophage. The pale area seen at the top of the illustration is part of the nucleus. (B) Electron micrograph of a primary lysosome from a follicular cell of the thyroid. (C) Electron micrograph ($\times 90,000$) of a multivesicular body (the limiting membrane of which is indicated by the arrow). (A, courtesy of C. Nopajaroonsri and G. Simon; B, courtesy of C. P. Leblond; C, Friend DS, Farquhar MG: J Cell Biol 35:357, 1967)

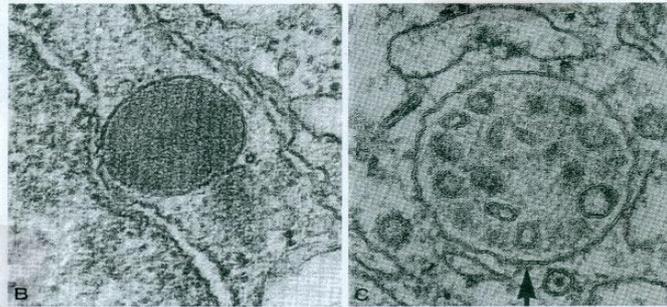


Fig. (17)

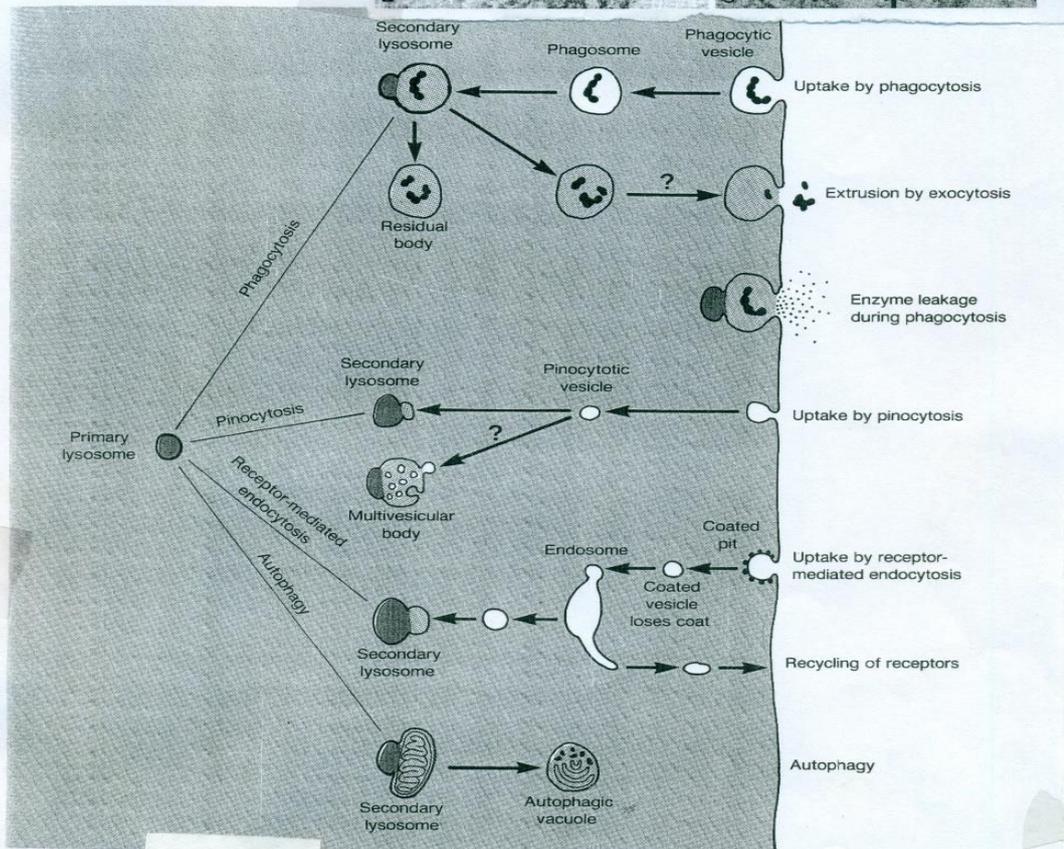


Fig. (18)

Schematic representation of the various forms of participation of primary lysosomes in the intracellular disposal of ingested materials and obsolete organelles. For details, see text.

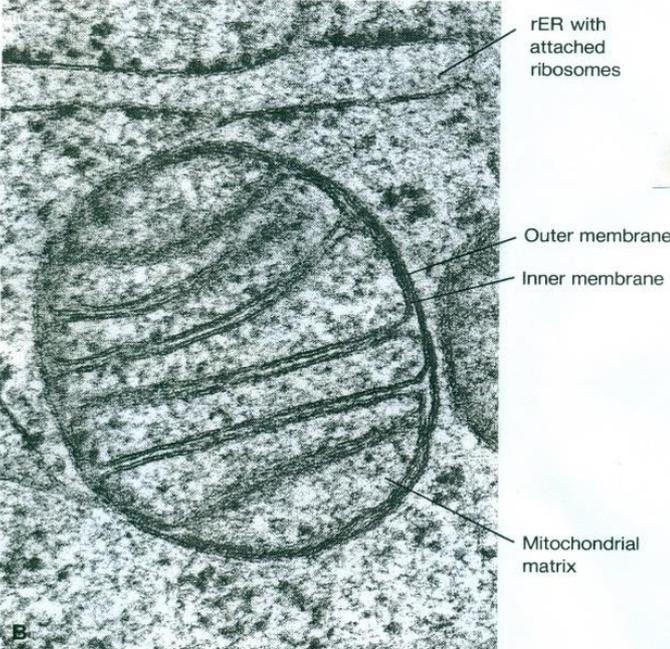
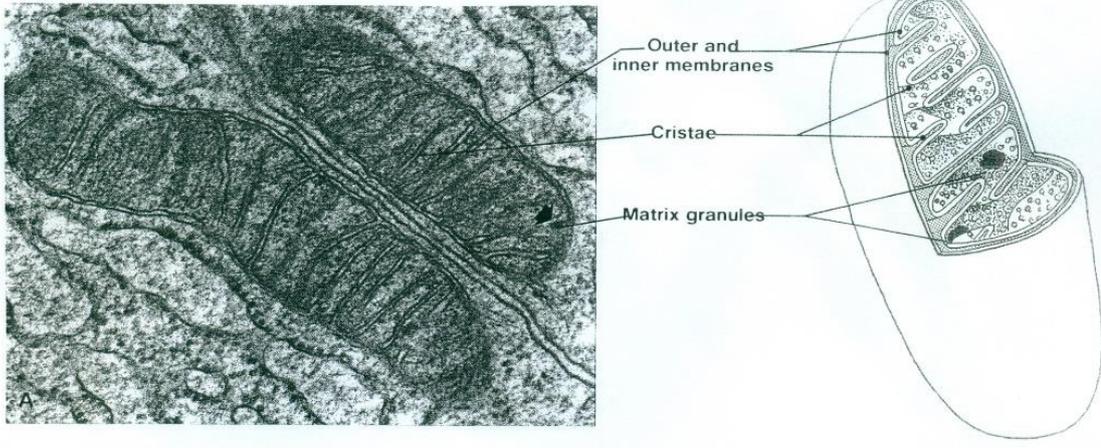


Fig. (20) (A) Electron micrograph ($\times 86,000$) and interpretive drawing of mitochondria in the tracheal epithelium of a rat. The arrow in the micrograph indicates a matrix granule in the mitochondrial matrix. The two parallel lines seen between the mitochondria represent the cell membranes of two contiguous cells separated by an intercellular gap. (B) Higher magnification electron micrograph of a mitochondrion in a Chinese hamster ovary cell prepared by freeze-substitution. This method preserves the unit-membrane appearance of the inner and outer mitochondrial membranes and also that of the rough-surfaced endoplasmic reticulum, a cisterna of which is seen at the top of the micrograph. (A, courtesy of M. Weinstock; B, courtesy of L. Arsenault)



Fig. (21) Electron micrograph ($\times 15,000$) of adjacent cells containing mitochondria, two of which (arrows) have an appearance consistent with the process of division. The one on the right has a barely discernible, narrow, clear transverse band extending across its central constriction, lessening the likelihood of alternative interpretations. (Courtesy of L. Arsenault)

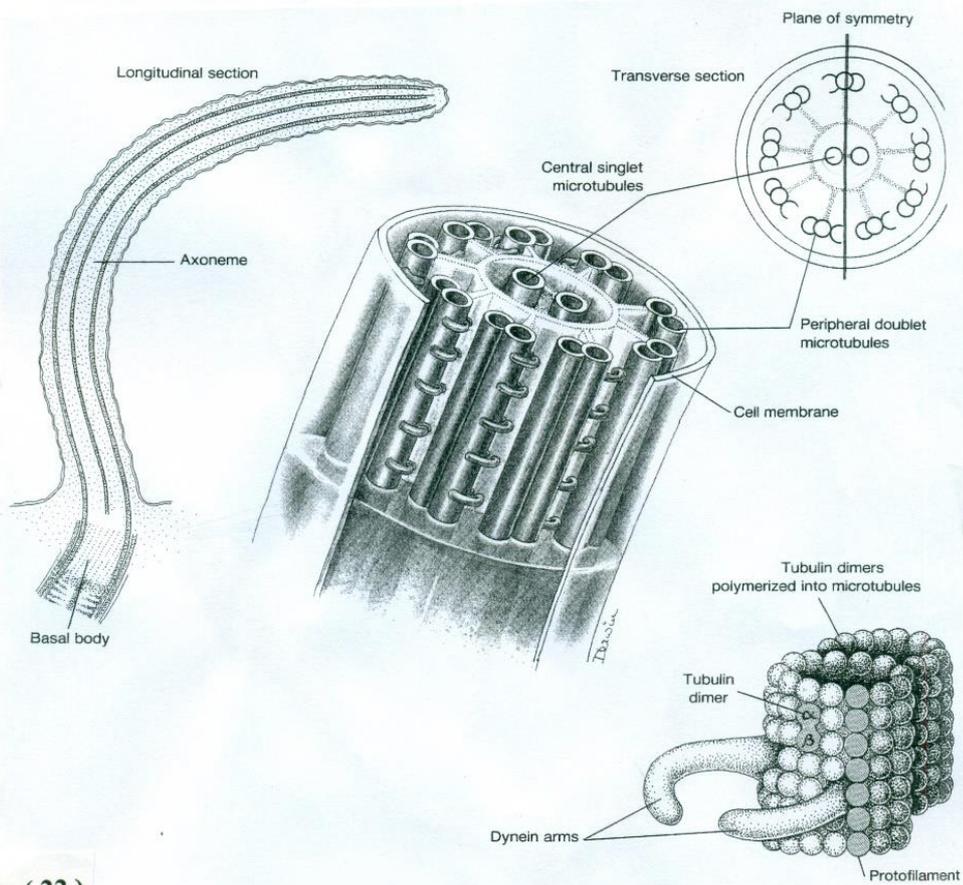


Fig. (22)

Diagrammatic representation of the structure of a cilium (for details, see text). In the peripheral doublet microtubules, the microtubule that is provided with dynein arms is made up of 13 rod-shaped protofilaments, each consisting of tubulin dimers arranged end to end, that extend the entire length of the microtubule (*bottom right*). Its companion microtubule has only 10 or 11 protofilaments of its own and has to share the remainder with the other microtubule (*bottom right*). A rigid radial spoke connects each doublet to an inner sheath that surrounds the two central singlet microtubules (*center and top right*). There are also flexible nexin linkages between adjacent doublets, but for simplicity these have been omitted. (Courtesy of J. Sturgess and T. A. P. Turner)

15.2

د. عا. ع

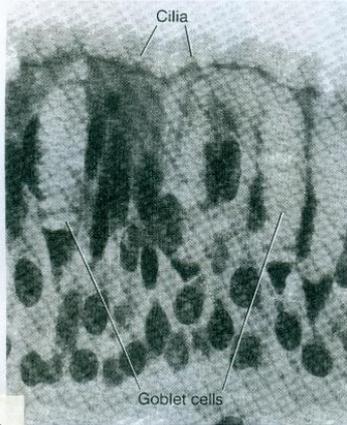


Fig. (23)

Photomicrograph of the pseudostratified ciliated columnar epithelium with goblet cells that lines the trachea. Individual cilia can just be discerned on the luminal border of the ciliated cells. The goblet cells are producing mucus.

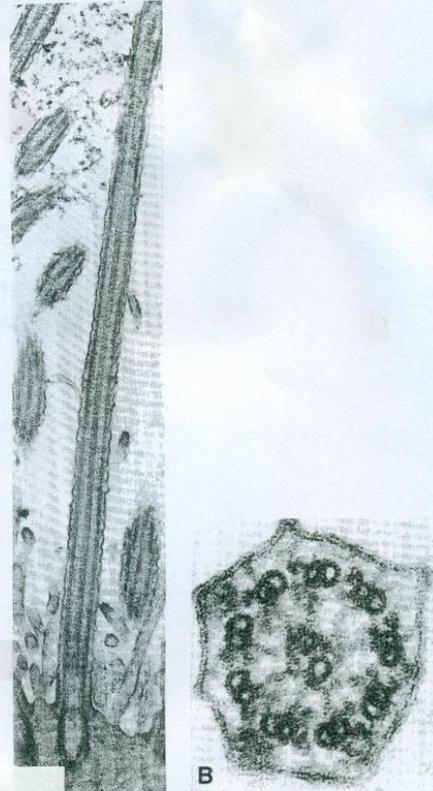


Fig. (24)

Electron micrographs of a cilium cut in (A) longitudinal section and (B) transverse section, obtained from ciliated epithelial lining cells of a bronchus. This figure may be compared with Figure 4-34, which illustrates some of the details that can be seen. (A, courtesy of J. Sturgess; B, Sturgess J, Turner TAP: In Chernick V, Kendig E [eds]: Respiratory Diseases in Childhood. Philadelphia, WB Saunders, 1982)



Fig. (25)

Electron micrograph of a ciliated cell in the epithelial lining of a bronchus, showing cilia and microvilli on its luminal border. (Sturgess J: In Quinton P, Martinez R [eds]: Fluid and Electrolyte Transport in Exocrine Glands in Cystic Fibrosis. San Francisco, San Francisco Press, 1982)

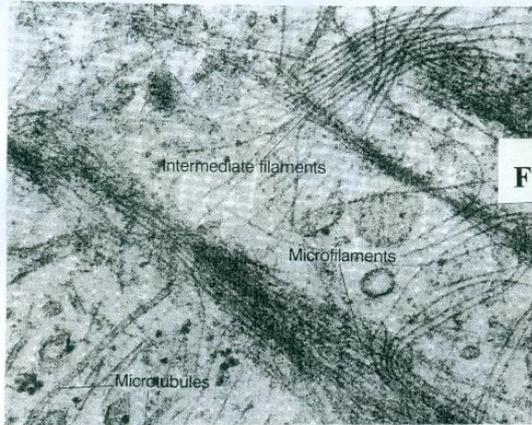


Fig. (26)

Electron micrograph of a region of the cytoplasm of an endothelial cell from pig aorta growing in tissue culture, showing microfilaments, intermediate filaments, and microtubules. (Courtesy of V. I. Kalnins)

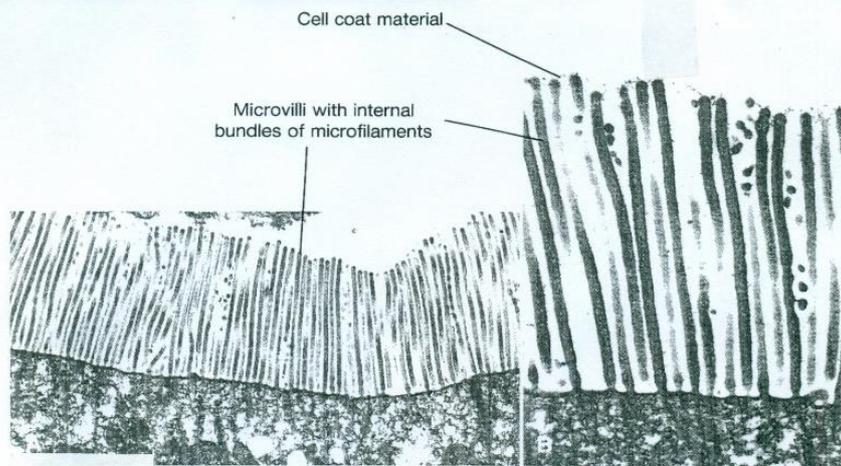


Fig. (27)

(A) Electron micrograph ($\times 7000$) of the striated border of an absorptive epithelial cell. (B) Higher magnification shows its microvilli and its superficial covering of cell coat material. At the bottom of the micrograph, bundles of microfilaments can just be discerned extending down from each microvillus toward the terminal web. (Courtesy of L. Arsenault)

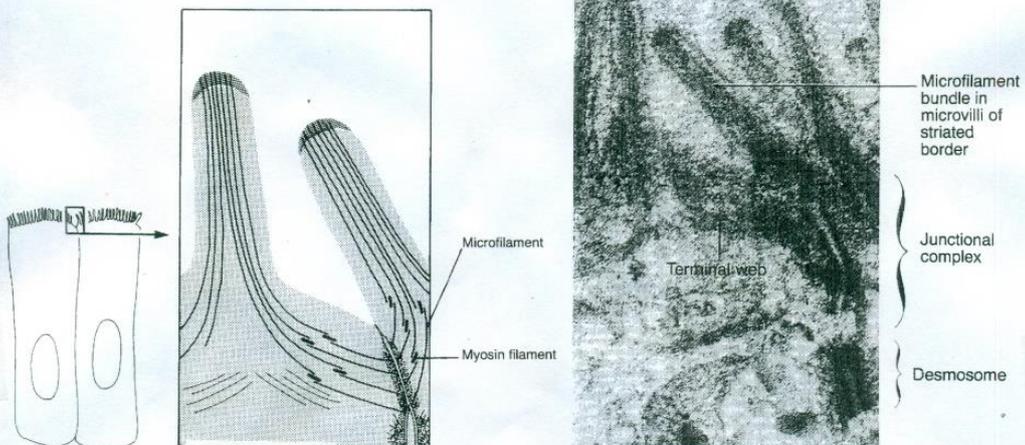


Fig. (28)

Diagrammatic representation and electron micrograph of the striated border of intestinal absorptive epithelial cells, showing a tentative interpretation of the manner in which the microfilament bundles, which are present in their apical microvilli, are arranged with respect to their terminal web. Sliding of these microfilaments past myosin, depicted here as short filaments, is believed to affect the height of the microvilli. (Micrograph, courtesy of D. Murray and A. Pittaway)

Histochemistry

**Continues of Relation between the
chemistry and cell & tissue**

**** The structure and functions of cells and
Tissues are chemicals material and chemical
reactions.**

****The structure and functions of organism are
chemicals material and chemical reactions.**

****Cytoplasmic inclusion,
cytoplasmic matrix**

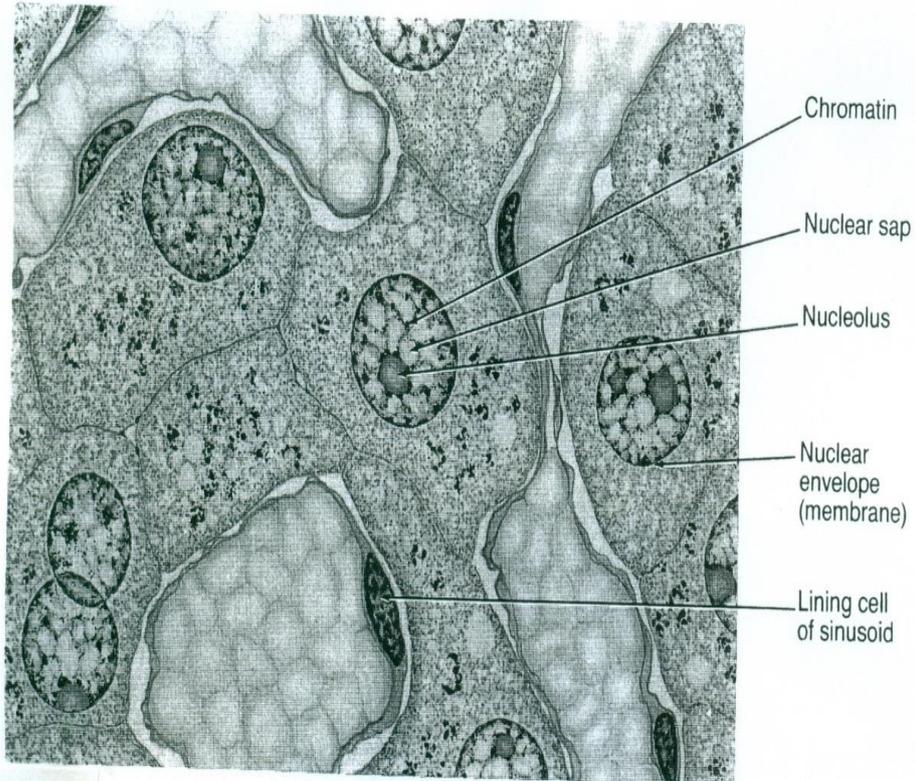
**How to prove the chemistry of the cell
and tissue in terms of structure and
function?.**

**How can you explain that an organism is
structurally and functionally composed of
chemicals and chemical
reactions?.**

Nucleus

How to prove the chemistry of the cell and tissue in terms of structure and function?.

How can you explain that an organism is structurally and functionally composed of chemicals and chemical reactions?.



شكل (22)

Fig. (29) The appearance of the interphase nucleus in a liver section stained with H & E. The nucleus in hepatocytes contains extended chromatin and chromatin granules, whereas that in the lining cells of sinusoids contains tightly packed condensed chromatin.

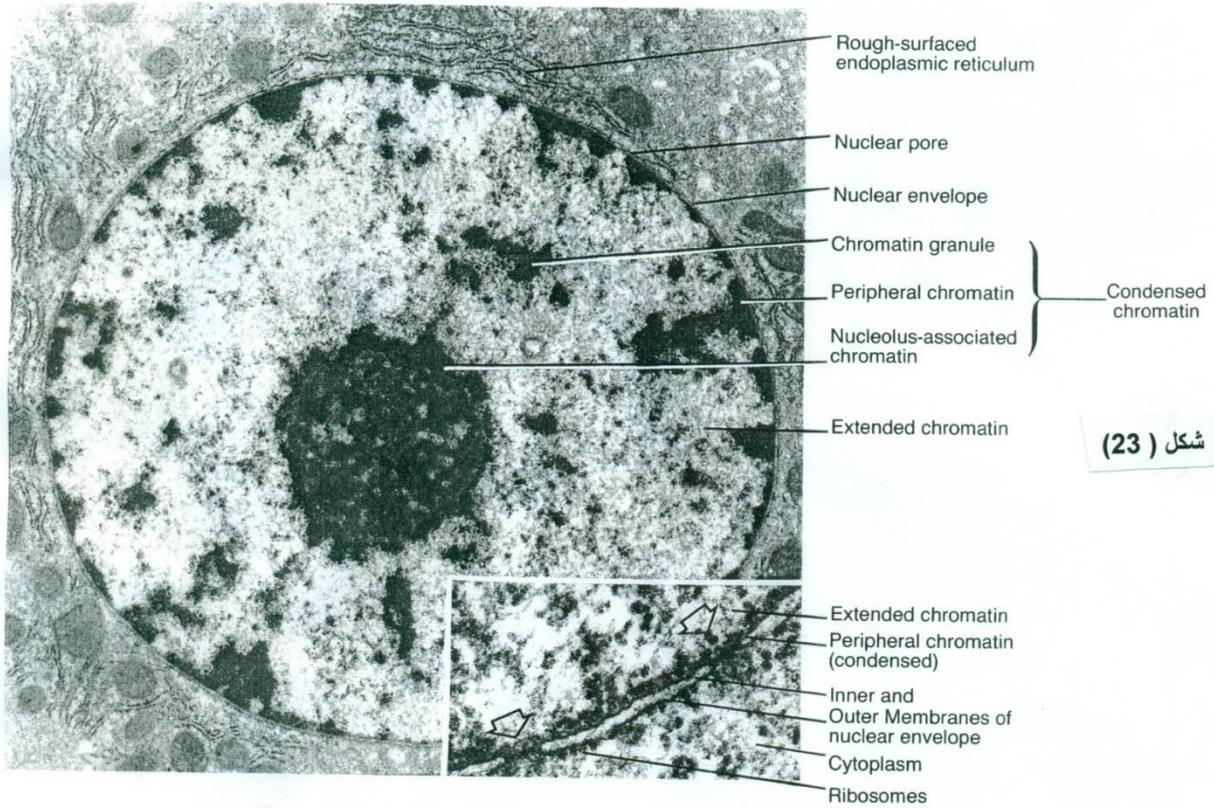


Fig. (30) Electron micrograph ($\times 14,000$) of the nucleus of a rat hepatocyte in interphase. (*Inset*) Higher magnification micrograph of the nuclear envelope. The *arrows* indicate nuclear pores. (*Large micrograph*, Miyai K, Steiner JW: *Exp Mol Pathol* 4:525, 1965; *inset*, courtesy of V.I. Kalnins)

30 THE INTERPHASE NUCLEUS

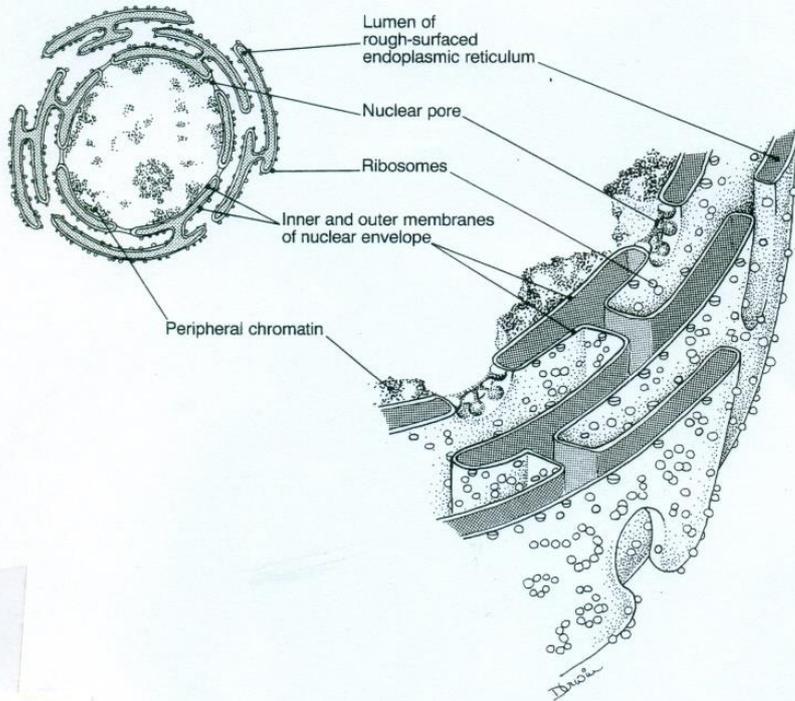


Fig. (31) Schematic diagram of the interconnections between the nuclear envelope and cisternae of the rough-surfaced endoplasmic reticulum. The inner and outer membranes of the nuclear envelope are continuous with each other at the periphery of the nuclear pores.

15.2

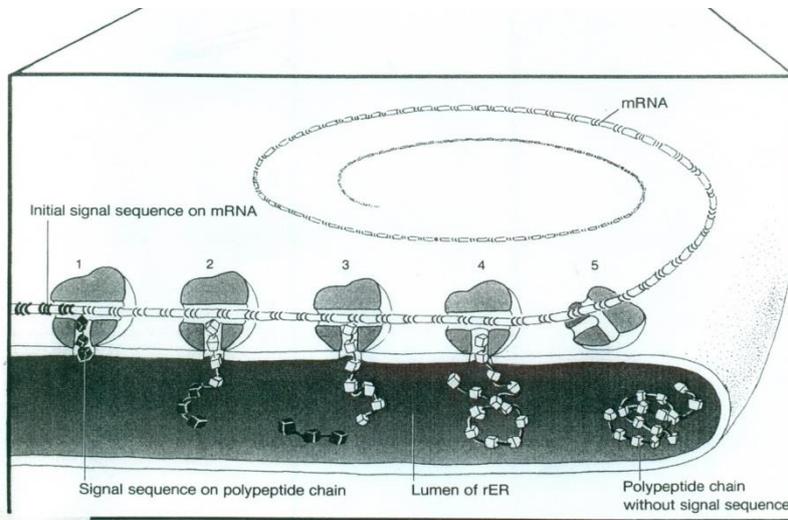
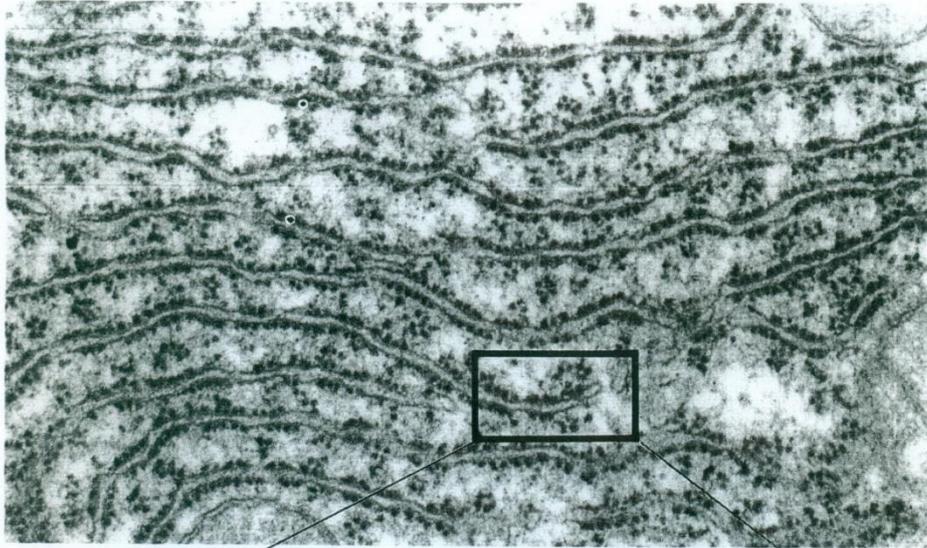


Fig. (32) Schematic representation of the process of protein synthesis being carried out by ribosomes bound to the rER, according to the signal hypothesis of Blobel and Sabatini. This series of diagrams depicts the main events that are taking place in the cisterna of rER indicated in the electron micrograph above. Five stages are shown in the binding of a ribosome, the synthesis of a polypeptide chain, and the segregation of this chain as a secretory product. See text for details. (*Micrograph*, Cardell R: Anat Rec 180:309, 1974)

16.3

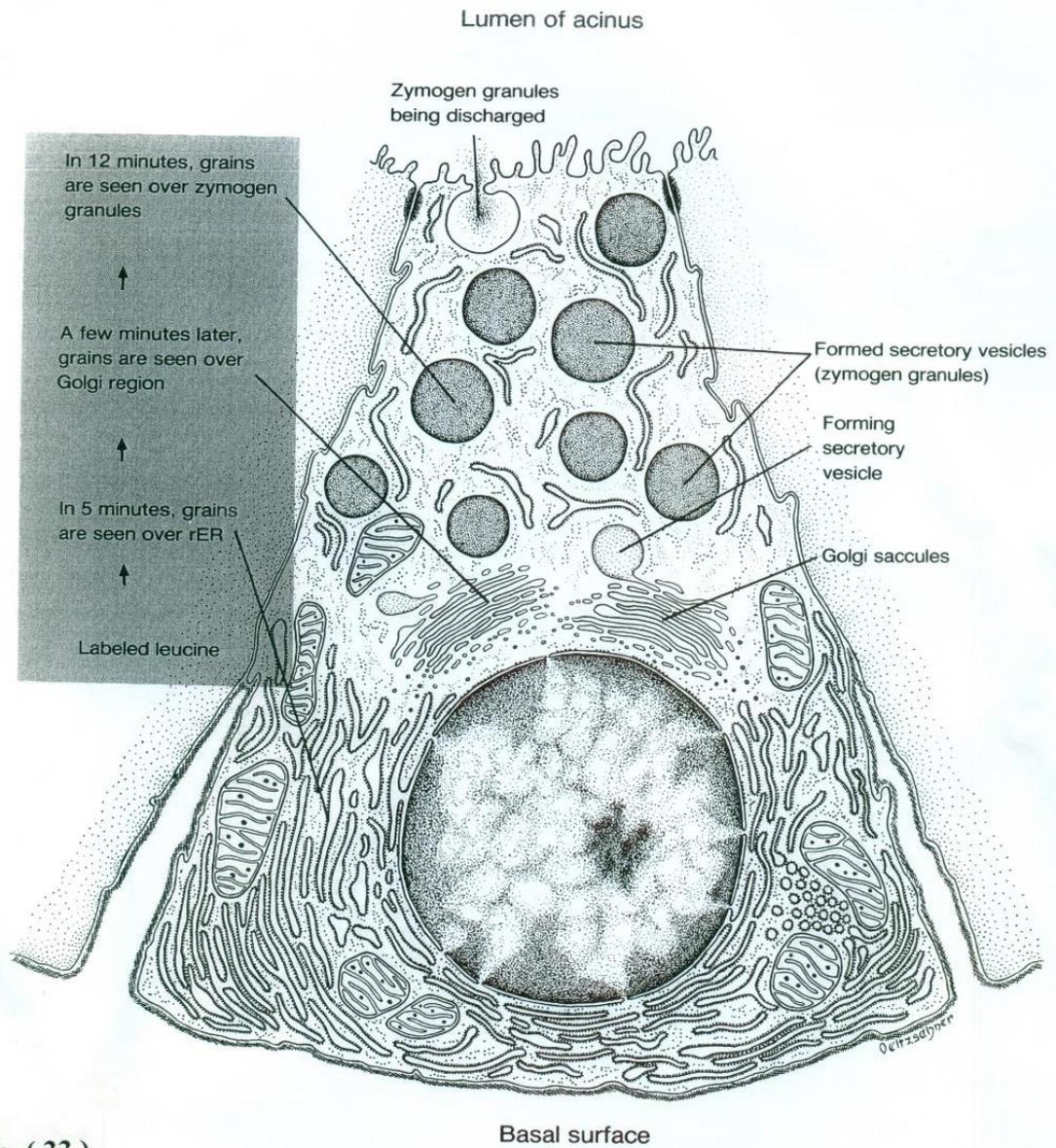


Fig. (33)

Diagram of an acinar cell of the pancreas, showing the sites where grains are seen in EM radioautographs prepared from samples of tissue taken at different times after injecting an animal with tritiated leucine. (Courtesy of C. P. Leblond)

26.9

علم كيمياء الأنسجة:

هو ذلك العلم الذى يهتم بدراسة الأنماط والأشكال المختلفة للمكونات الكيميائية داخل الخلايا والأنسجة الطبيعية فى أماكنها الطبيعية وكذلك الربط بين هذه المكونات الكيميائية والوظائف البيولوجية للخلايا والأنسجة.

ويهدف ذلك العلم إلى :

1. إظهار وتوضيح وتقدير المكونات الكيميائية داخل الخلايا والأنسجة الطبيعية فى أماكنها الطبيعية بواسطة الميكروسكوب.
 2. الربط بين هذه المكونات الكيميائية والوظائف البيولوجية للخلايا والأنسجة.
 3. تتبع التغيرات التى تحدث فى هذه المكونات الكيميائية فى أماكنها الطبيعية فى الخلايا والأنسجة وذلك تحت الظروف الغير طبيعية سواء كانت مرضية او تجريبية حيث أن كل تغير فيها غالبا ينعكس فى صورة تغيرات فى تركيب ونشاط الخلايا والأنسجة.
- المكونات الكيميائية داخل الخلايا والأنسجة تتكون أساسا من المواد الكيميائية الرئيسية:

Carbohydrates, Proteins, Lipids, Nucleic acid, Pigments, Vitamins, Water, Anions and so.

دراسة المكونات الكيميائية والطرق الهستوكيميائية للكشف عليها

طرق تجهيز العينات للفحص الميكروسكوبي:

- * تجهيز العينات النسيجية الحية .Life Spasments
- * تجهيز العينات النسيجية المثبتة . Fixed spasments
- * تجهيز العينات النسيجية المجمدة Frozing Spasments

مرحلة التثبيت والمثبتات الكيميائية

Nucleic acids

الاحماض النووية

الاحماض النووية هي جزيئات كبيرة توجد في خلايا جميع الكائنات الحية وهي نوعان DNA, RNA، حيث يمثل DNA المادة الوراثية التي تختزن فيها المعلومات الوراثية ويتحكم RNA في تخليق البروتين.

DNA → RNA → منتج بروتيني → وظيفي أو تركيبى
هرمون أو انزيم

- تم فصل DNA ووجد ان كميته ثابتة في الانسجة المختلفة لحيوان ما فيما عدا (خلايا انسجه المناسل Germinal Cells)

- تم فصل RNA ووجد ان كميته تختلف في الانسجة المختلفة، وكذلك في النسيج الواحد من وقت لآخر طبقا لحالة الخلية من حيث تخليقها للبروتين

التركيب العام للأحماض النووية:

تمثل النيوكلويدة Nucleotids الوحدات البنائية والوظيفية للاحماض النووية ، وتتركب كل نيوكلييدة من سكر خماسي (ريبوزي او دي اوكسي ريبوزي)، يرتبط من ناحيه ذرة الكربون رقم 5 بمجموعة فوسفات ،ومن ناحيه ذرة الكربون رقم 1 بقاعدة نيتروجينية ، والقواعد النيتروجينية نوعان :

1- **بيورينات purines** : وهي مركبات ثنائية الحلقات وتشمل على:

Adenine , Guanine

2- **بيريميدينات Pyrimidines** : وهي مركبات احادية الحلقات وتشمل على:

Thymine, Cytosine, Uracile

إذا تم نزع مجموعة فوسفات من النيوكليوتيد اطلق على المركب الناتج اسم
نيكلوسيد

Adenosine, Guanosine, Cytidine, Uridine, Thymidine

Molecular Structural of Nucleic acids Components:

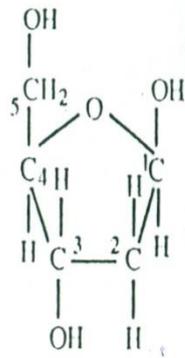
Pentose Sugar

Phosphate Group

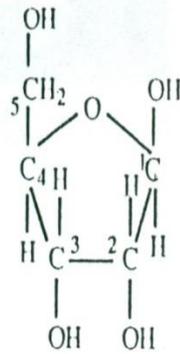
Purines bases

Pyrimidines bases

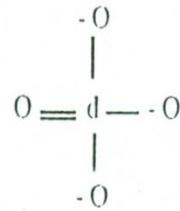
Nucleotides



السكر الخماسي «دى أكسى ريبوز»
Pentose sugar
(deoxyribose)



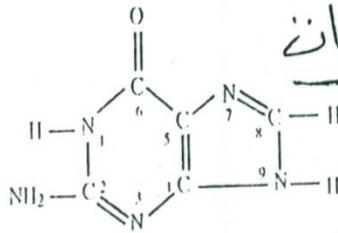
السكر الخماسي «ريبوز»
Pentose sugar
(ribose)



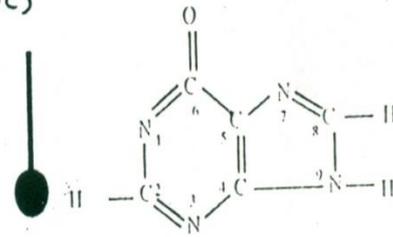
مجموعة الفوسفات
Phosphate group

Purine bases

اليورينان

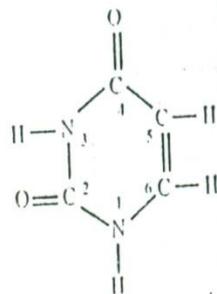


جوانين
Guanine

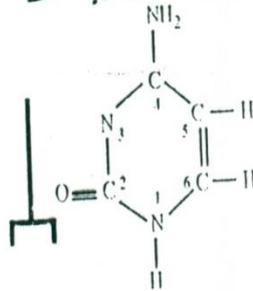


أدينين
Adenine

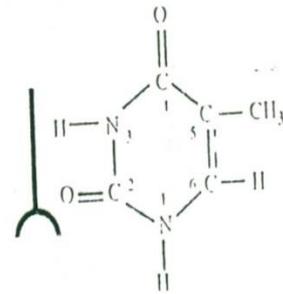
Pyrimidine bases
بيريميدينات



يوراسيل
Uracil

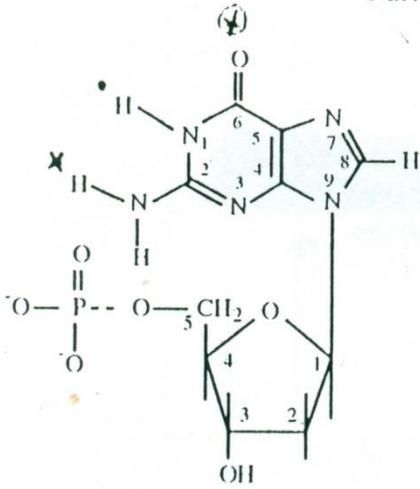


سيتوسين
Cytosine

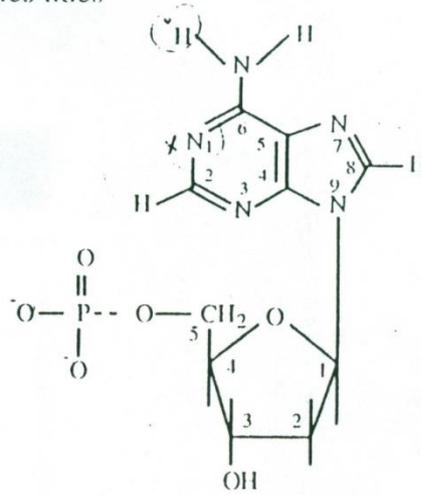


ثيمين
Thymine

نيوكليوتيدات البيورينات Purine nucleotides

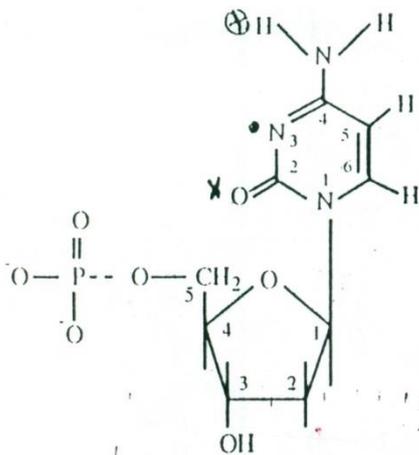


نيوكليوتيدة جوانين
Guanine nucleotide

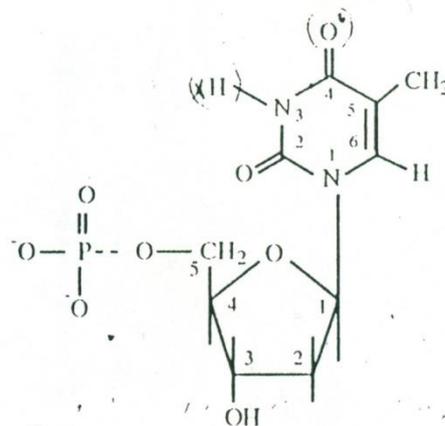


نيوكليوتيدة أدنين
Adenine nucleotide

نيوكليوتيدات البريميدينات Pyrimidine nucleotides



نيوكليوتيدة سيتوسين
Cytosine nucleotide



نيوكليوتيدة ثيمين
Thymine nucleotide

1- DNA

Molecular organization of DNA

البناء الجزيئي لحمض دي اوكسي ريبونيوكلينك

لتوضيح ذلك البناء قدمت عدة مقترحات او نظريات :

- سنة 1950: قدم العالم ليفين نظرية (رباعية النيوكليوتيدات) وهي ان جزئ DNA

يتكون من

من وحدات متتابعة من القواعد النيتروجينية A-G-C-T بأعداد او كميات

متساوية .

- سنة 1952 : عارض العالم دافيدسون النظرية الرباعية حيث اعلن ان كمية

القواعد

النيتروجينية ليست متساوية ، ولكن $A=T(1=1)$, $C=G (1=1)$ ،

غير ان مجموع كمية A,T قد يكون اكثر او اقل من مجموع كمية C,G

وقد استدل من ذلك على وجود ترابط معين بين القواعد النيتروجينية

المختلفة .

Model of Watson & crick (Double Helix)

نموذج واطسون وكريك سنة 1954 (اللولب او الحلزون المزدوج)

- جزئ DNA عبارة عن سلسلتان او شريطان يلتفتان حول بعضهما التفافا

حلزونيا مزدوجا

- كل شريط يتكون من نيوكليوتيدات متتالية ، كل نيوكليوتيدة تتكون من سكر

خماسي دي اوكسي ريبوز يرتبط بمجموعة فوسفات من ناحية ، ومن الناحية

الاخري بقاعدة نيتروجينية (بيورين،بيريميدين)، وترتبط النيوكليوتيدات ببعضها في

الشريط الواحد بواسطة رباط فوسفاتي

- يكون السكر والفوسفات الهيكل الاساسي لشريطي جزئ DNA، حيث توجد

مسافة محددة بين الشريطين تنظم فيها القواعد النيتروجينية .

- ترتبط القواعد النيتروجينية لاحد الشريطين بمثيلاتها على الشريط الاخر بروابط

هيدروجينية ، بحيث الأدينين في شريط يرتبط برابطة ثنائية مع الثيمين في الشريط

الآخر ، والجوانين برابطة ثلاثية مع السيتوسي C \equiv G و A=T

- وجد ان سمك الحلزون المزدوج 20 A وهو سمك منتظم ، وهذا يعضد طريقة

انتظام القواعد النيتروجينية في جزئ DNA بحيث A مع T ، C مع G حيث ان :

* فلو حدث ارتباط بين قواعد البيورينات (A مع G) ثنائية الحلقات يحدث انبعاج

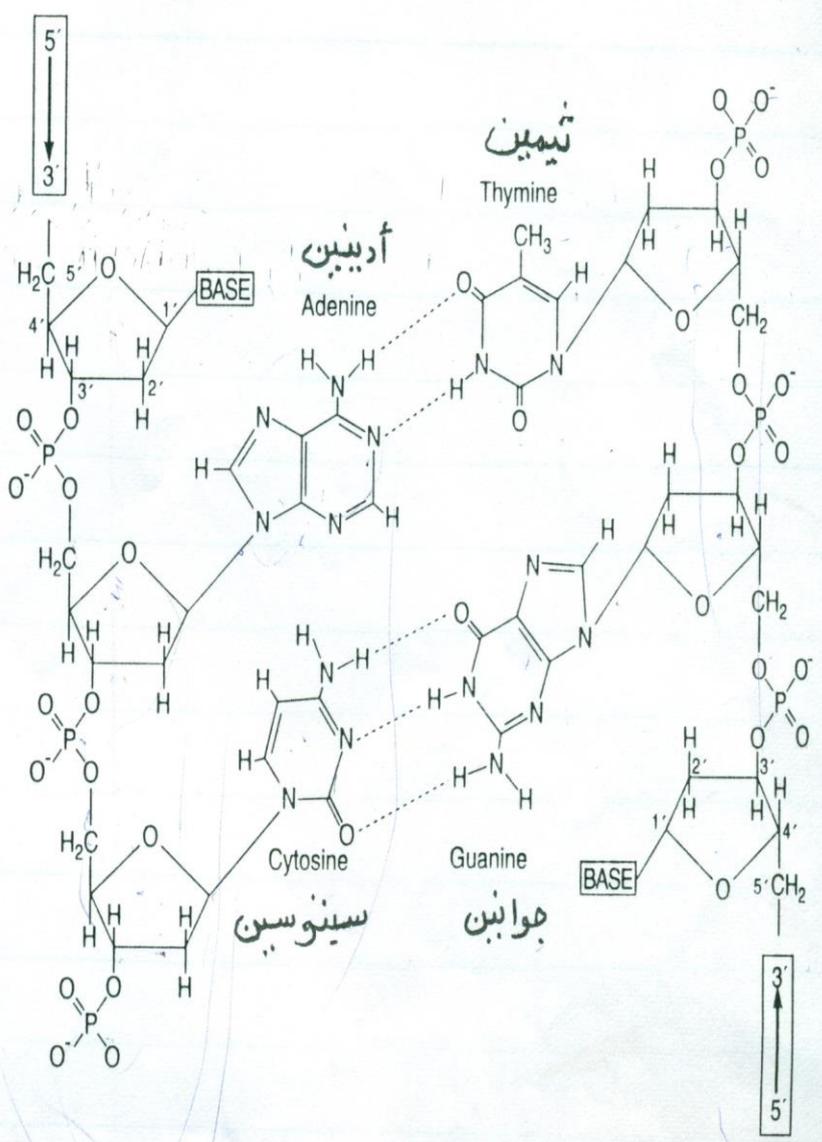
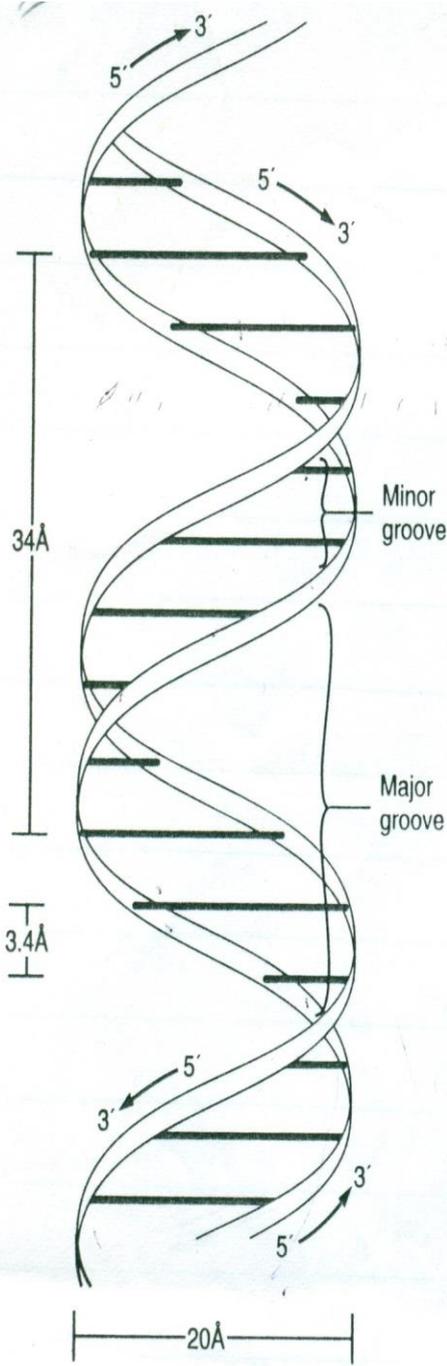
الهيكل .

* ولو حدث ارتباط بين قواعد البيرميدينات (T مع C) احادية الحلقات يحدث

تخصرفي الهيكل

-وجد انه يبلغ طول اللفة الواحدة في الحلزون حوالي 34 A وجزئ الحامض

يتكون من الاف اللفات



A The DNA double helix. *A*, Diagrammatic model of the helical structure, showing its dimensions, the major and minor grooves, the periodicity of the bases, and the antiparallel orientation of the backbone chains (represented by ribbons). The base pairs (represented by rods) are perpendicular to the axis and lie stacked one on another. *B*, The chemical structure of the backbone and bases of DNA, showing the sugar phosphate linkages of the backbone and the hydrogen bonding between the base pairs. There are two hydrogen bonds between adenine and thymine, and three between cytosine and guanine.

- اعتمادا على ان الروابط بين القواعد النيتروجينية بين شريطي DNA ضعيفة ،
فأنه يمكن فك شريطي جزئ DNA بعملية تعرف Melting of Denaturation ،
ايضا يمكن اعادة ربط او التحام شريطي DNA بعملية تعرف ب
.Renaturation –annealing

العلاقة بين DNA , chromatin , Chromosomes

- يتصل حمض DNA في Eukaryotes بالبروتينات الهيستونية والغير
هيستونية لتكوين الكروماتين.

- يتكون الكروموسوم بصورة رئيسية من جزئ DNA مفرد (خيوط كروماتيني

مفرد Single chromatin thread) ويسمى Single threaded

chromosome

- أو يتكون من اكثر من جزئ DNA (Two chromatin threads) ويسمى

Double –threaded chromosome

Chromatin granules:

It seen in interphase cells represent a massed condensed regions of S-chromosomes in G1 and they are distinct from D-chromosomes in G2.

Replication of DNA

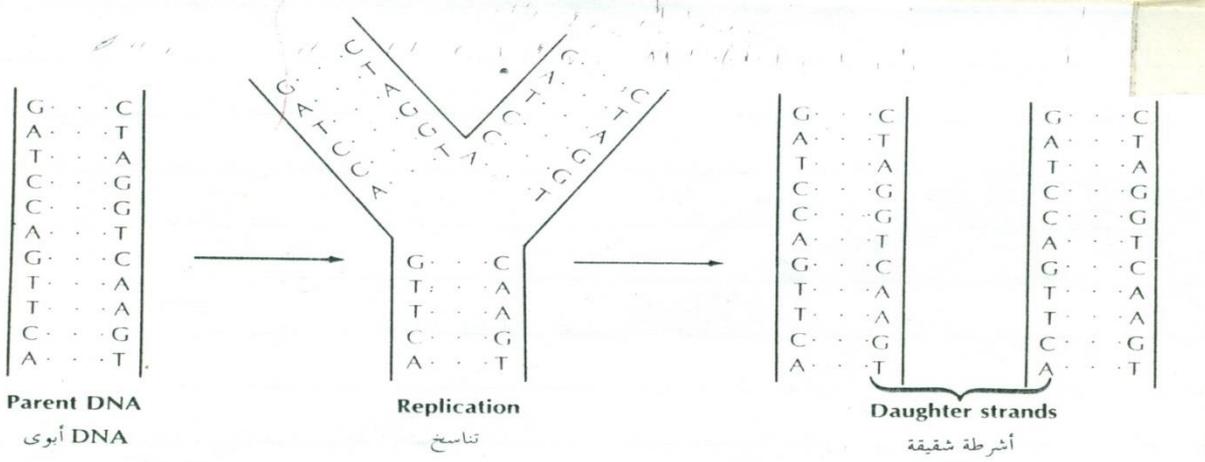
هي عملية مضاعفة جزئ DNA في كل S.chromosome لينتج d.chromosome حيث ينقسم في مرحلة M- Phase الى 2 S.Chromosome ،وبذلك تحتوي كل خلية بنوية على كروموسوم مشابه لكروموسوم الخلية الاصلية . تحدث هذه العملية في مرحلة S-Phase تحت تأثير العديد من الانزيمات الهامة والضرورية .

Mechanism of DNA Replication: ميكانيكية تناسخ DNA حمض

- يبدأ خيطي او شريطي جزئ DNA في ازالة التفافهما حول بعضهما ،ويبدأ ذلك في منطقة معينة في الجزئ ولكنه يستمر حتى يصبح الشريطان منفصلان تماما تحت تأثير انزيمات معينة.

- يبدأ كل شريط بمساعدة انزيمات اخرى في تخليق نسخة مكملة له تماما بنفس نظام التكامل المعروف ، بحيث يأتي كل ادينين مقابل ثيمين والعكس بالعكس ، كما يأتي كل جوانين مقابل سيتوسين والعكس بالعكس ، ثم ترتبط كل قاعدتين

متجاورتين مع بعضهما بالروابط الهيدروجينية ، حيث ترتبط القواعد في الشريط القديم بالقواعد في الشريط المكمل (الجديد). وبذلك يتكون 2 جزئ DNA ، كل جزئ يتكون من شريطين غير ملتفان احدهما اصلي والاخر مكمل له ، ثم يلتفان حول بعضهما بمساعدة الانزيمات ويكونا جزئ DNA لولب حلزوني ، وفي النهاية يتكون 2 جزئ DNA لولب حلزوني.



شكل (١٠ - ١٢) : تضاعف DNA . يفصل شريطا DNA الأبوين ويخلق إنزيم DNA بوليميريز أشربة شقيقة مستخدماً تتابع القواعد في الأشربة الأبوية كقالب .

RNA and its different types

حامض RNA وانواعه

- يتواجد بصورة اساسية في النويات والسيتوبلازم للخلية .

- ينشأ RNA من جزئ DNA بنفس طريقة نسخ DNA ،اي ان جزئ DNA مسئول عن تكوين شريط DNA وايضا يعمل على تكوين شريط RNA ويحدث ذلك في النواة

يختلف RNA عن DNA في عدة نقاط هي:

**** السكر الموجود في RNA هو السكر Ribose بينما الموجود في DNA هو Deoxyribose.**

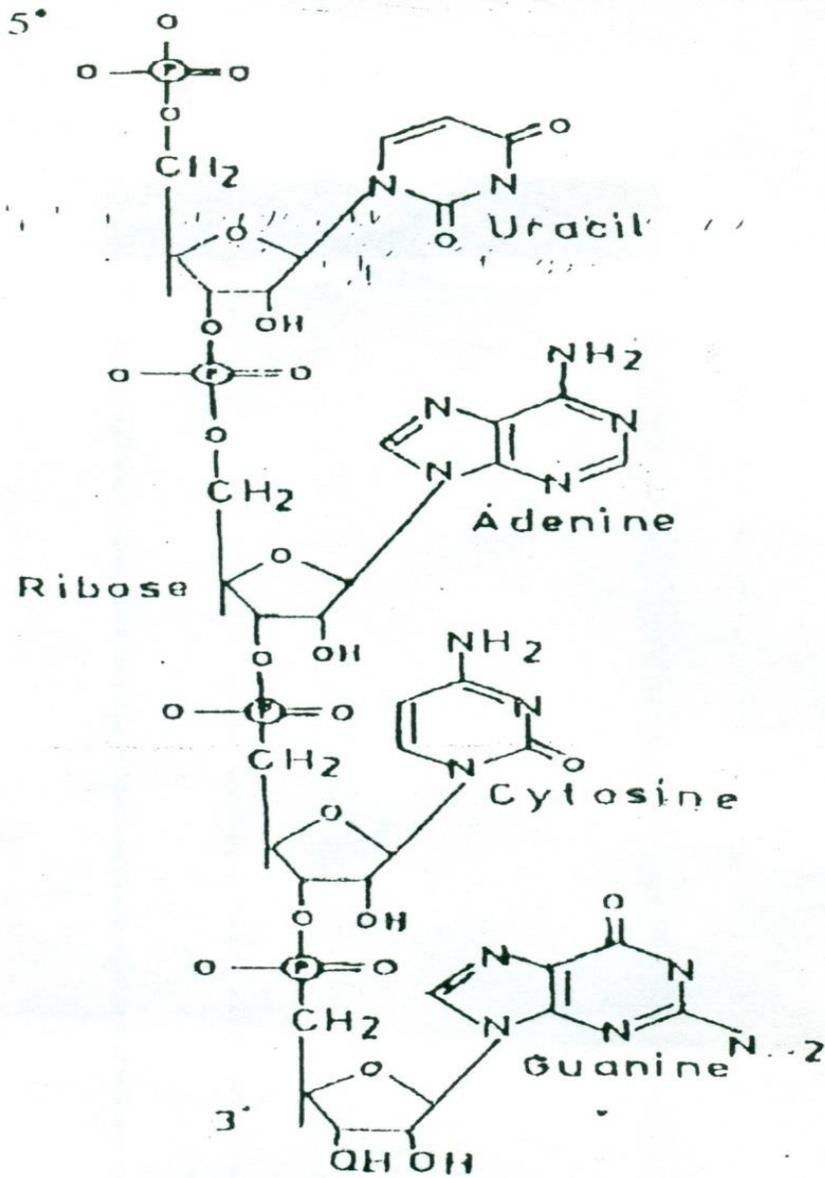
**** القواعد النيتروجينية في RNA هي adenine , guanine , urasil , cytosine**

اما في جزئ DNA هي adenine , guanine , thymine , cytosine

**** جزئ RNA يتكون من شريط مفرد وقد يلتف على بعضه في بعض المواقع على بعضه ، اما جزئ DNA من شريطين متكاملان يكونا لولب .**

**** DNA يكون المادة الوراثية ويوجد في الانوية ، الميتوكوندريا ، البلاستيدات**

اما RNA ينشأ في النوية ويكون الريبوسومات في السيتوبلازم ويوجد في الميتوكوندريا



جزيء RNA
RNA molecule

Types of RNA

Messenger RNA (mRNA)

Ribosomal RNA (rRNA)

Transfer RNA (tRNA)

Histochemistry

Histochemical identification of nucleic acids

General reactions of nucleic acids

تفاعلات عامة للاحماض النووية

*تفاعل خاص بمجموعة الفوسفات: Reaction for organic phosphate:

العضوية

-يمكن الكشف عن مجموعة الفوسفات في الاحماض النووية عن طريق التحلل

المائي للاحماض النووية ثم معالجة مجموعات الفوسفات الناتجة بواسطة

مولبيدات الامونيوم حيث ينتج مركب فوسفو مولبيدات الامونيوم الذي يمكن

الكشف عنه بواسطة البنزادين حيث ينتج في النهاية مركب ازرق

-عملية التحلل المائي تنتج بواسطة الانزيمات المحللة او N-Hcl

- هذه الطريقة تستخدم للكشف عن الفوسفات في الكروموسومات ، ولا تستخدم

بشكل عام في التفاعلات الهيستوكيميائية.

***Reaction for deoxyribose and ribose: تفاعل خاص بالسكر الديوكسي**

ريبوز والسكر الريبوزي

- هذه الطريقة او التفاعل تعتمد على استخدام التحلل المائي البسيط

لجزيئات الاحماض النووية DNA,RNA ثم التفاعل مع methyl

phenyl trihydroxyfluorone و hydroxyfluorone حيث

يصطبغ DNA بالبنفسجي او الازرق المسود , وجزيئات RNA بالاصفر

او الاحمر .

***Reaction for purines and pyrimidines:**

هذا التفاعل يعتمد على اجراء عملية 'acetylation or benzoylation

لجزيئات الاحماض النووية ثم معالجة الناتج (purines and pyrimidines)

بالتفاعل مع tetrazoniumR.

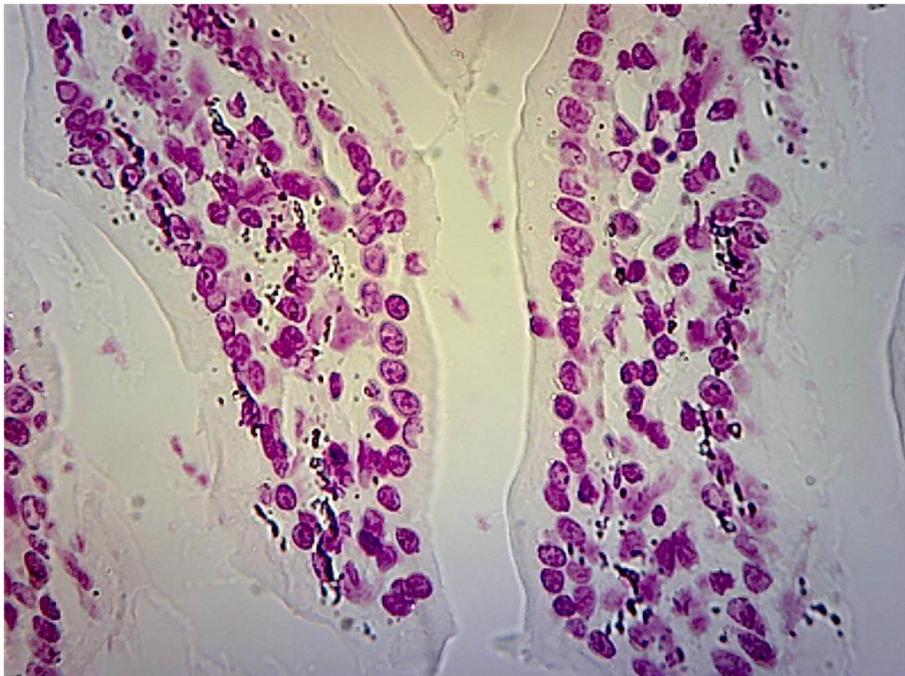
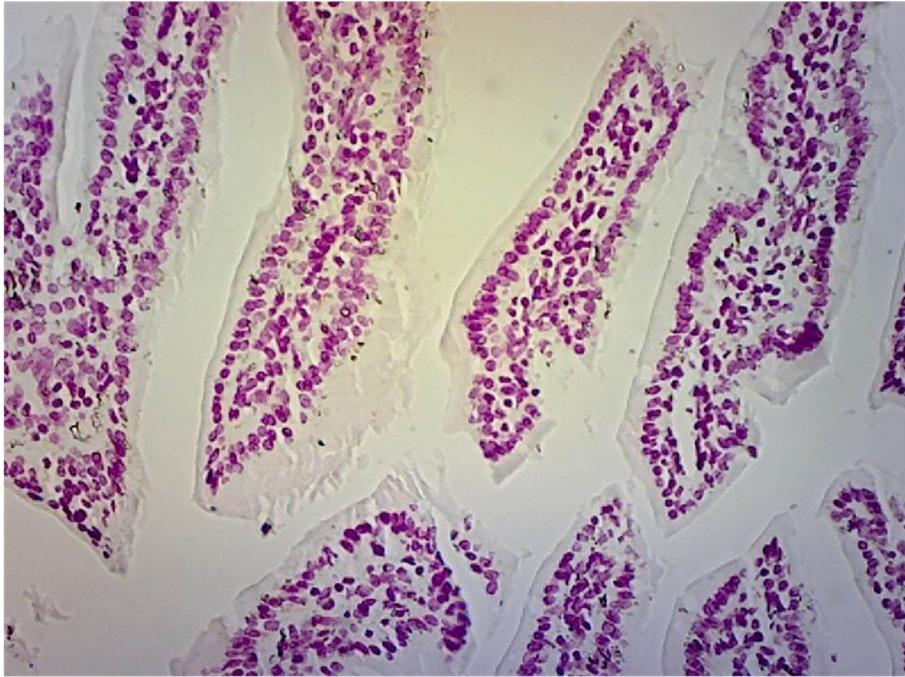
Reactions specific for DNA, RNA

1- Feulgen (Feulgen-schiff) reaction for DNA: فولجن (فولجن - شف)

- هذا التفاعل يعتمد على معالجة قطاعات الانسجة المثبتة بحامض N- Hcl عند درجة حرارة 60 (تحلل مائي هين) حيث يتم ازالة مجموعات (purines) من DNA وتكوين مجموعات الدهيد في السكر الديوكسي ريبوزي الخاص ب DNA. - يلي عملية التحلل المائي صباغة القطاعات بمحلول شف حيث يتفاعل مع مجموعات الالدهيد ويعطي لون او صبغة Purple احمر وردي في المواد الكروماتينية النووية .

Result: DNA  Purple dye

- هذه التفاعل خاص ب DNA نظرا لان قابلية N-Hcl لكسر الرابطة بين C1- C2 في جزئ Deoxyribose تكون كبيرة ولا تحدث في جزئ ribose، ولهذا فإن مجموعات الالدهيد تتكون فقط في جزيئات DNA .



2- Methyl green- Pyronine method for DNA & RNA:

طريق الميثيل جرين-بيرونين للكشف عن DNA , RNA

-في هذه الطريقة يتم استخدام خليط من صبغى **Methyl green , Pyronine**

في صباغة DNA , RNA على اساس ان DNA له قابلية الصباغة بالميثيل

جرين و RNA له قابلية الصباغة بالبيرونين

-يستخدم في هذا الطريقة قطاعان (او شريحتان) ، حيث يتم معاملة احدهم بأنزيم

ريبونيوكليز(الذي يحلل RNA) ثم يتم صباغة القطاعات بخليط الصبغتين.

- يفترض ان القطاع الذي تمت معاملته بانزيم ريبونيوكليز سوف يتم فيه صباغة

DNA فقط اما القطاع الاخر فسوف يتم فيه صباغة كلا من DNA , RNA .

-يتم تفسير آلية الصباغة على اساس ان صبغ البيرونين يصبغ الحامض الاقل في

درجة البلمرة (RNA) ، حيث وجد ان DNA اذا قل في درجة بلمرته يتم صباغته

بالبيرونين .

- قابلية DNA للصبغة بالميثيل جرين على اساس وجود DNA في صورة

شريط مزدوج وهذا القابلية تفقد اذا أختلت هذه الحالة .

DNA  GREEN

RNA  RED

Carbohydrates

المواد الكربوهيدراتية

هي مواد عضوية تتكون من C, H, O ، وتتكون المواد الكربوهيدراتية داخل
الانسجه النباتية من مصادرها الطبيعية وهي $C_6H_{12}O_6$ ، عن طريق عملية البناء الضوئي
.photosynthesis



-يحصل الحيوان على المواد الكربوهيدراتية من خلال اغتذائه على النباتات، حيث يتم هضم
وتحويل تلك المواد الى مواد بسيطة وسهلة الامتصاص.

-تعتبر هذه المواد المصدر الرئيسي للحصول على الطاقة



-تعتبر هذه المواد مكونا اساسيا لكثير من المواد البيوكيميائية

Ribose \longrightarrow **Nucleic acid**

Galactose \longrightarrow **Fats**

Lactose \longrightarrow **Milk**

neutral mucopolysaccharides \longrightarrow **Chitin**

complex acid mucopolysaccharides \longrightarrow **Heparin**

Classification of carbohydrates

تصنيف المواد الكربوهيدراتية

يمكن تصنيفها الى :

1-وحيدة السكر Monosaccharides :

تذوب في الماء والكحولات مكونة محاليل تنفذ خلال الاغشية الخلوية

لها طعم حلو ← sugars

2-ثنائية السكر Disaccharides :

مثل السكريات وحيدة السكر

3-عديدة السكر Polysaccharides :

لا تذوب في الماء او الكحولات مكونة مواد غروية لا تنفذ من الاغشية الخلوية

1-Monosaccharides وحيدة السكر

هي ابسط انواع المواد الكربوهيدراتية، الصيغة التركيبية العامة $C_n (H_2O)_n$ ،

يمكن تصنيفها على اساس عدد ذرات الكربون الى :

السكريات الاحادية الثلاثية Trioses $C_3H_6O_3$

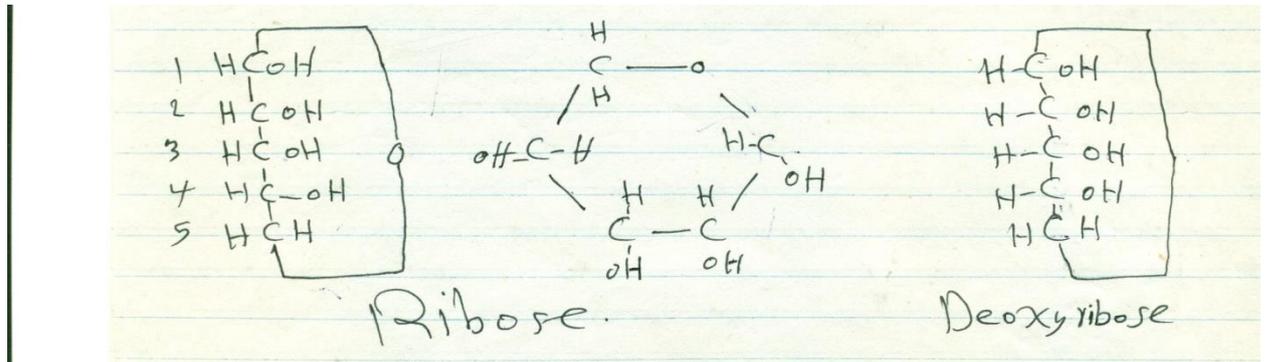
السكريات الاحادية الخماسية Pentoses $C_5H_{10}O_5$

السكريات الاحادية السداسية Hexoses $C_6H_{12}O_6$

تعتبر السكريات الاحادية الخماسية والسداسية اكثر الانواع تواجدا في الخلايا والانسجة

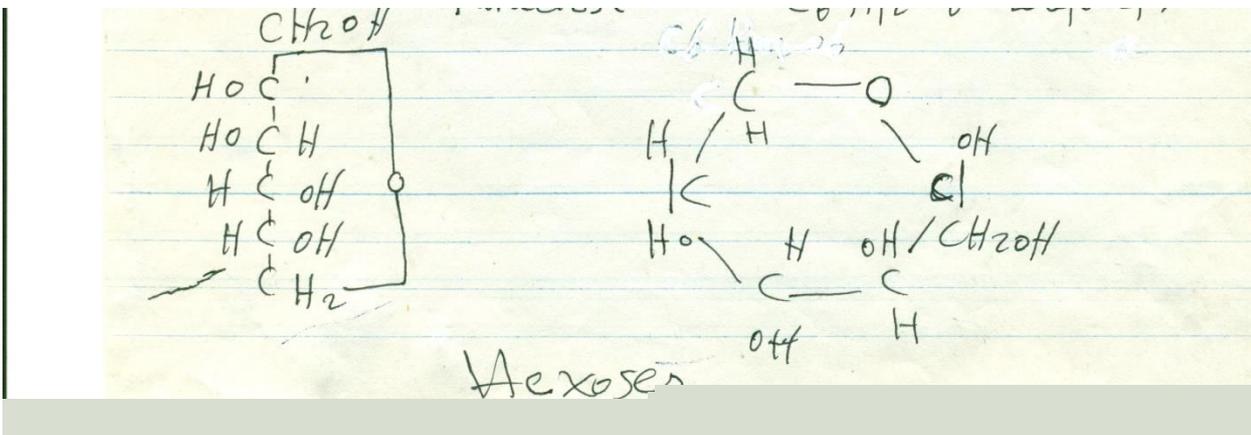
الحيوانية

-السكريات الخماسية : توجد ضمن المكونات الاساسية للاحماض النووية



-السكريات السداسية : الصيغة العامة $C_6H_{12}O_6$ من امثلتها :

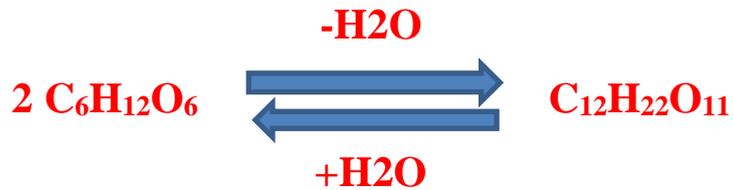
Glucose, Galactose, faractose



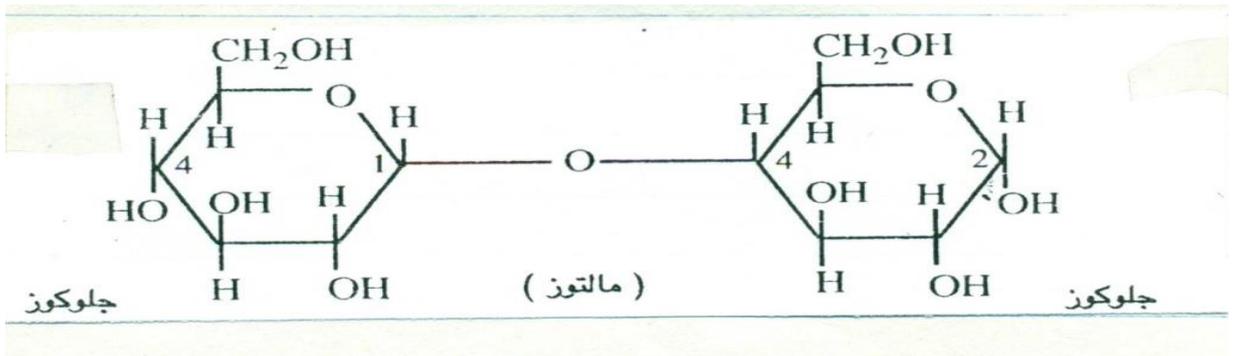
ثنائية السكر 2-Disaccharides

تتكون نتيجة اتحاد جزيئين من السكريات احادية السكر مع فقدان جزئ ماء وعند

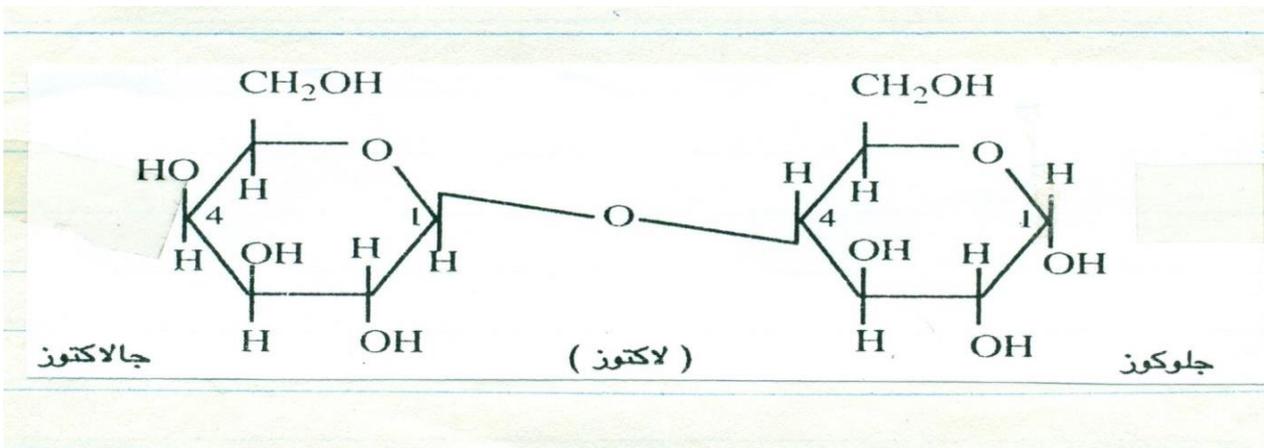
هضمها او تحليلها بواسطة الماء تعطي جزيئين من السكريات الاحادية



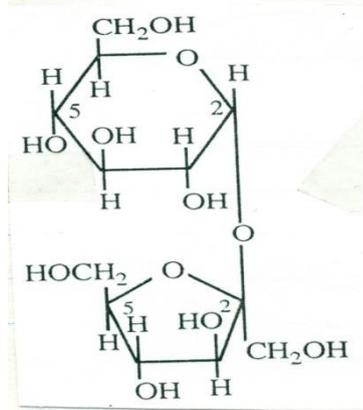
Glucose + Glucose \longrightarrow Maltose : سكر الشعير



Glucose + Galactose \longrightarrow Lactose : سكر اللبن



Glucose + fructose \longrightarrow sucrose : سكر القصب :



عديدة التسكر 3-Polysaccharides

تتكون هذه المواد من تكديس اعداد من الجزيئات وحيدة التسكر مع فقدان اعداد مساوية

لها من جزيئات الماء



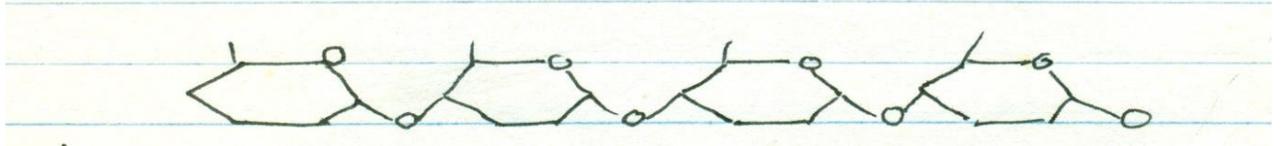
اهم هذه المركبات النشا في النباتات والجليكوجين في الحيوان

-النشا: الصورة المختزنة للمواد الكربوهيدراتية في الانسجة النباتية

Photosynthesis



يتحلل بالماء مكونا جلوكوزان يتم الكشف عنه باليود حيث يعطي لون ازرق



-**الانيولين Inulin** : نوع من النشا يكون مخزن في درنات وجذور بعض النباتات – يتحلل

الى فركتوز-لا يعطي لون مع اليود – يستخدم لتحديد معدل الرشح في الكلى

-**الدكسترين Dextrin** : صورة من التحلل المائي للنشا (هضم النشا)

-**السليولوز Cellulose** : يتكون من جليكوسيدات – وهو احدى المكونات الرئيسية في جدار

الخلايا النباتية-لا تذوب في الماء – لا تعطي اي لون مع اليود

انواع المواد عديدة التسكر

في الأنسجة الجسمية

توجد هذه المواد في الانسجة الجسمية في صور واشكال متعددة حيث تختلف فيما بينها في الطبيعة والنشاط الفسيولوجي ، ولكن تتشابه في احتوائها على المجموعات السكرية والكربوهيدراتية التي يتم عن طريقها احداث تفاعلات تستخدم في الكشف عن هذه المواد وتوضيح انماط وجودها.

وجودها :

1- في صورة سكريات فقط 2- متحدة مع البروتينات او الليبيدات

يمكن تقسيمها الى الاتي:

1-Simplepolysaccharides

2-Mucoid substance

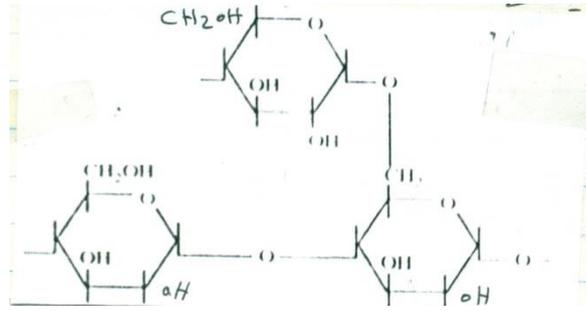
3-Glycolipids

4-Ascorbic acid

1-Simple polysaccharides

اولا عديدة التسكر البسيطة

اهمها واكثرها وجودا مادة الجليكوجين، وهو الصورة التخزينية للجلوكوز في خلايا الكبد والخلايا العضلية، حيث يتكون نتيجة بلمرة جزيئات السكريات الاحادية تحت تأثير انزيمات خاصة مكونا مركب متفرع من جزيئات الجليكوز، ويحدث التفرع عند ذرة الكربون رقم 6 من جزيء الجلوكوز، يظهر في صورة حبيبات مرتبطة بالبروتينات، لذلك مثبتات البروتين تثبت الجليكوجين.



-توضيح الجليكوجين في الخلايا الحيه :

جليكوجين + ايودين ← لون بني محمر

-توضيح الجليكوجين في الخلايا والانسجه المثبتة:

جليكوجين ← بست كارمين لون احمر داكن

جليكوجين ← تفاعل شف لون بنفسجي

-اثبات الجليكوجين من خلال اثبات عدم وجود الجليكوجين :

جليكوجين ← diastase amylase ← تفاعل مظهر للجليكوجين
نتيجة سالبه

-يوجد الجليكوجين في الخلايا العضلية:

مصدره السكريات البسيطة monosaccharaide الواردة من الامعاء ، ويعرف

باسم

Muscle glycogen

-يوجد الجليكوجين في الخلايا الكبدية **Liver glycogen** :

وهو نوعان :

1- جليكوجين سهل التحلل **Lyoglycogen** : يتحلل بسرعة بعد

الموت

2- جليكوجين ثابت **Desmoglycogen** : يبقى لفترة

-له مصدران :

1-الماد السكرية البسيطة او الاحادية التي تمثل نواتج هضم النشويات

والسكريات .

2-حامض اللاكتيك الذي يتولد في الخلايا العضليةنتيجة تحلل الجليكوجين فيها

، ويمر مع الدم الى جميع الخلايا الجسمية ، حيث ينفذ فقط الى الخلايا الكبدية.

Distribution and mode of occurrence of glycogen in liver cells

توزيع ونمط تواجد الجليكوجين في الخلايا الكبدية

في الخلايا الكبدية الحية:

يوجد منتشرا في السيتوبلازم ولا يوجد في الانوية في الحالات السوية العادية

في الخلايا الكبدية المثبتة :

لا يوجد بصورة منتشرة ولكن يوجد مكثرا في جزء معين من الخلية متخذا شكلا هلاليا وذلك نتيجة ان المثبتات -وان كانت لا تذيب الجليكوجين- الا انها تعمل على تحريكه امامها اثناء انتشارها داخل الخلايا مما يؤدي الى تكديسه في الجهة المقابلة لدخول المثبت ،قريبة من غشاء الخلية، وهذه الصورة تعتبر غير حقيقية لصورة تواجد الجليكوجين في الخلايا الحية ،ولكن اصبح معترف بها وتسمى بظاهرة هروب الجليكوجين.

التغلب على ظاهرة هروب الجليكوجين:

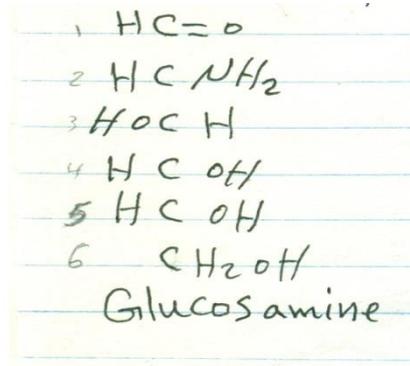
1-استخدام قطاعات ثلجية

2-وضع عينات صغيرة الحجم من الكبد في 1% من حامض الاوزميك لمدة دقيقة قبل استخدام المثبتات العادية مما يؤدي الى صعوبة ازاحه حبيبات الجليك

2-Muroid substances

ثانياً المواد المخاطية

هي مواد كربوهيدراتية تتكون من جزيئات وحيدة التسكر مثل الجليكوز ، ولكنها تحتوى على وحدات امينية (NH₂) بدلا من مجموعة هيدروكسيل في الجليكوز، ولذا تسمى هذه الوحدات بوحدات جليكوزامين (Glucosamine) . وهذه المواد تلعب دور هام في عملية امتصاص الماء وتنشيط حركة الامعاء وتفرغ المواد البرازية.



ويمكن تقسيمها الى الاتي :

1- عديدة التسكر المخاطية Mucopolysaccharides

2- المخاطية البروتينية Mucoprotiens

3- السكريات البروتينية Glycoprotiens

1-Mucopolysaccharides

عديدة التسكر المخاطية

تتكون هذه المواد من وحدات سكرية امينية فقط ، او متحدة مع بعض الاحماض العضوية مثل حامض الجليكورونيك او غير العضوية مثل حمض الكبريتيك المركز ، لذلك تنقسم الى نوعين :

1- عديدة التسكر المخاطية المتعادلة Nutral mucopolysaccharides:

تحتوي على وحدات سكرية امينية فقط مثل الكيتين .

2- عديدة التسكر المخاطية الحامضية: Acid mucopolysaccharides:

تحتوي على وحدات سكرية امينية متحدة مع احماض عضوية وغير عضوية ،
يوجد منها نوعين:

A-السكريات المخاطية الحامضية البسيطة Simple acid

:mucopolysaccharides

تحتوي على وحدات سكرية امينية واحماض عضوية مثل حامض

الجليكورونيك

من اشهر انواعها حامض هيالورينيك .

B- السكريات المخاطية الحامضية المركبة Complex acid

:mucopolysaccharides

تحتوي على وحدات سكرية امينية واحماض عضوية واخرى غير عضوية، مثل الهيبارين .

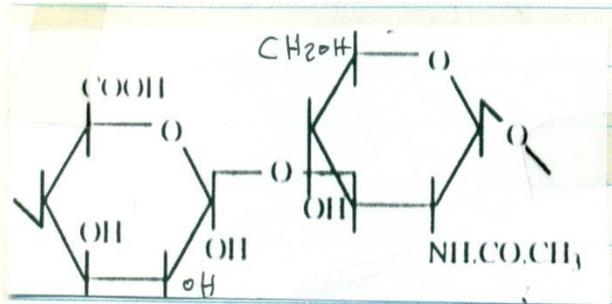
الكيتين Chitin : مثال للمواد عديدة التسكر المخاطية المتعادلة

-يوجد في الهيكل الخارجي للحشرات والمفصليات

-يتكون من وحدات تركيبية من السكريات الامينية **Glucosamine**

-يمكن الكشف عنه بتفاعل شف ← لون بنفسجي مائل للاحمرار

حامض الهياليورنيك Hyaluraic acid : مثال للمواد السكرية المخاطية



الحامضية البسيطة

-يتكون من وحدات سكرية امينية +حامض

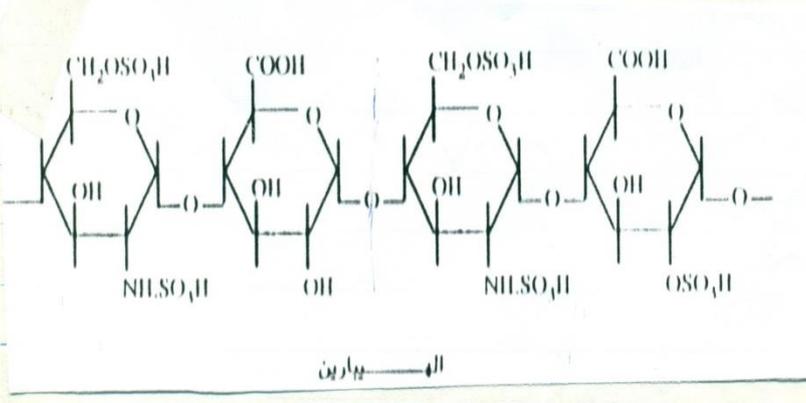
الجليكورونيك

-يوجد في صورة بلمرة عالية حيث يشكل غلاف الجلد، وغلاف للبيضات

-قابل للذوبان بواسطة انزيم **Hyalouronidase**

الهيبارين Heparin: مثال للمواد السكرية المخاطية الحامضية المركبة

-يتكون من وحدات سكرية امينية + حامض الجلوكيورونيك+حامض الكبريتيك او



الفوسفوريك

-يوجد اساسا في الخلايا

الصارية

Mast cells

-يعمل على منع تجلط الدم Anticoagulant

-يظهر على هيئة حبيبات داكنه

2-Mucoprotiens

المخاطية البروتينية

-تتكون من وحدات سكرية امينية متحدة مع بروتينات (ثنائية الببتيدات)، وتشكل

السكريات الامينية 4 % من هذه المواد

-تعطي تفاعلات ايجابية مع محلول شف ، كما تصبغ Bromophenol blue

الخاص بتمييز البروتينات

- توجد بكثرة في افراز الغدد اللعابية والهرمونات الجنسية

3-Glycoprotein

السكريات البروتينية

-مثل المواد المخاطية البروتينية السابقة ، الا ان نسبة السكريات الامينية تكون اقل

، اي اقل من 4%

-توجد بكثرة في مصل الدم وبياض البيض

3-Glycolipids

ثالثا الليبيدات السكرية

-تتكون من سكريات وليبيدات

-هذه المواد توجد بكثرة في الانسجة العصبية ، وهي مثل Phrenosin ،

Kerasin

-الليبيدات السكرية ← تحلل مائي احماض امينية + مادة سكرية

Sphingosine +

-تعطي تفاعل موجب مع شيف ، وتصبغ بالصبغات الخاصة بالدهون والليبيدات

4-Ascorbic acid or vitamin C

رابعاً حامض الاسكوربيك او فيتامين ج

- احد مشتقات المواد الكربوهيدراتية ،يعمل كإنزيم مساعد في عمليات الاكسدة

والاختزال،يوجد بكثرة في الانسجة النباتية

-نادرة الوجود في الانسجة الحيوانية وتوجد في adrenal cortex

- حامض الاسكوربيك + نترات الفضة الحامضية ← حبيبات داكنه

Histochemical Identification of Carbohydrates

توضيح المواد الكربوهيدراتية هيستوكيميائيا

يمكن توضيح المواد الكربوهيدراتية هيستوكيميائيا بعده طرق كما يلي:

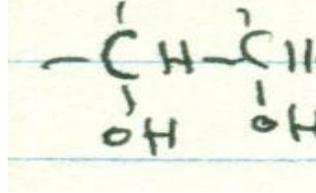
1-periodic acid-schiff reaction (PAS):

-تعتبر هذه الطريقة افضل الطرق لتوضيح المواد الكربوهيدراتية بصورة عامه في الخلايا والانسجة الجسمية.

-هذا التفاعل PAS يتضمن عمليتان : اكسده ثم صباغة

-يستخدم حامض البيرايدوك ، وهو عامل مؤكسد قوي في اكسدة المواد الكربوهيدراتية وبعض

بكسر الرابطة الموجودة بين ذرتي



وذلك

الموجودة على هيئة 2:1 مجموعات

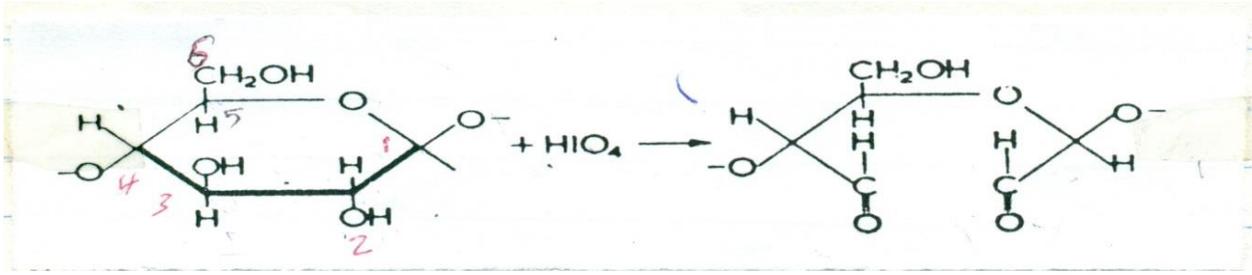
الكربون C2-C3



جليكول

الموجودة في جزيئات الجلوكوز ، وبذلك تحول هذه المجموعات الى مجموعات الدهيد

علما بأن الحامض لا يؤكسد مجموعات الألاهيد الناتجة .

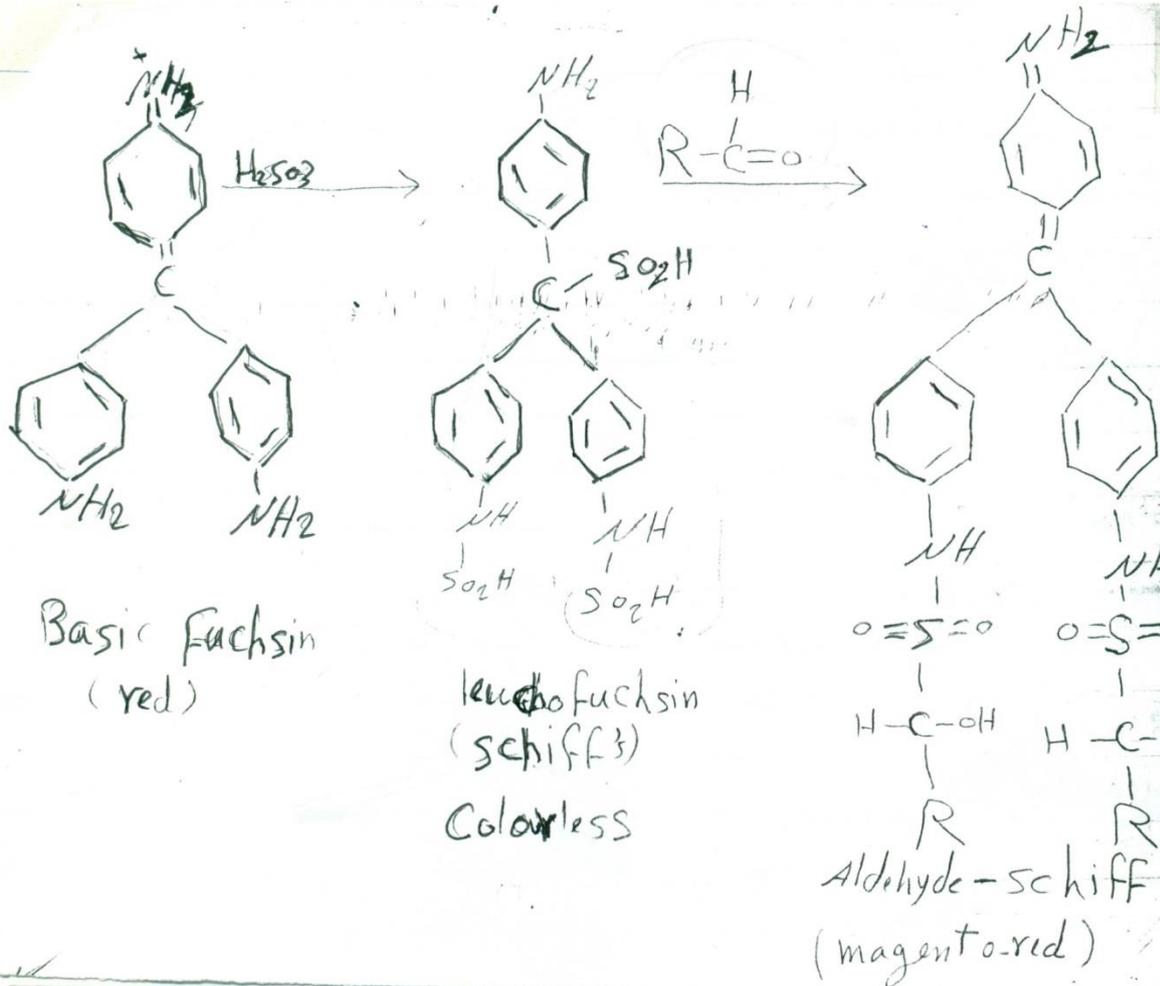


-مجموعات الالدهيد المتكونة يمكن الكشف عنها عن طريق اتحادهما مع محلول الفوكسين
عديم اللون LEUCOFUCHSIN ،المتكون في محلول شف ،حيث يكون مركبات داكنه الصبغ
البنفسجي .

-كمية اللون المتكون يعتمد على كمية مجموعات الجليكول الفعالة في النسيج .

- يستخدم تفاعل PAS في توضيح المواد الكربوهيدراتية عامه والبروتينات المخاطية وعديدة
التسكر المخاطية المتعادلة وذلك باللون البنفسجي الداكن ،البروتينات السكرية
احمر باهت نسبيا

طريقة تحضير الفوكسين عديم اللون LEUCOFUCHSIN (محلول شف) و تفاعلة :-



طرق اثبات صباغة المواد الكربوهيدراتية :

-طرق انزيمية

1-انزيم الاميليز amylase ←

جليكوجين

2-انزيم الدياستيز diastase

3-انزيم هيالورينديز Hyaluronidase ← حامض الهيالورينك

-طرق التوقف او المحاصرة

Acetyl anhydride → يوقف effective of glycole

Protein

- Proteins are huge biomolecules consisting of one or more amino acids. Proteins perform many and many functions within the bodies of organisms, including: stimulating metabolic reactions, replicating DNA, responding to stimuli, providing structure to cells and organisms, and transporting molecules from one place to another.
-
- Proteins differ from each other mainly according to the sequence of their amino acids determined by the sequence of nucleotides of the genes coded for them.
- This sequence of amino acids determines the folding of the protein into a special three-dimensional structure that determines the activity of this protein.
-

- Individual amino acids are bound together by peptide bonds to form a linear chain of amino acids called polypeptides, the protein contains at least one long polypeptide molecule.
- Short polypeptides containing less than 20-30 amino acids are rarely considered proteins and are often called peptides and sometimes as peptides.
-
- The genetic code identifies 20 protein generators, but the genetic code for some organisms may include Selenocysteine, and in some arteries it can contain Pyrrolycin.
- During the biosynthesis of the protein or shortly after it, the chemically-formed amino acids are modified via post-translation adjustments, which change the physical and chemical properties, fold, stability, activity, and finally the function of these proteins.
- Proteins sometimes have non-peptide groups bound to them, which can be called enclosures or associated factors.

- Several protein molecules can work together to achieve a specific function, often bonding together to form stable protein compounds.
-
- Proteins can only survive after being synthesized for a specified period and then analyzed and recycled by the cell mechanism through a process known as the protein cycle .
- The age of proteins is measured according to their half-life and includes a wide range, where they can exist for only minutes or for many years. The average age of proteins is 1-2 days in mammalian cells.
- Disrupted or folded proteins break down incorrectly faster because they are intended to destroy or are unstable.
-
- The genetic code identifies 20 protein generators, but the genetic code for some organisms may include Selenocysteine, and in some arteries it can contain Pyrrolycin.
- During the biosynthesis of the protein or shortly after it, the chemically-formed amino acids are modified via post-translation

adjustments, which change the physical and chemical properties, fold, stability, activity, and finally the function of these proteins.

- Proteins sometimes have non-peptide groups bound to them, which can be called enclosures or associated factors.
- Several protein molecules can work together to achieve a specific function, often bonding together to form stable protein compounds.
-
- Some other proteins are important in transporting and receiving cell signals, immune responses, cell adhesion, and cell cycle. Proteins are needed in animal and human food to provide essential amino acids that cannot be synthesized. Digestion breaks down proteins for use in metabolism if needed.
-
- Proteins can be purified from other cellular components using various techniques such as: contrast centrifugation, sedimentation, electrophoresis, and chromatography.
- Genetic engineering advances made protein purification easier by using related methods. Common methods used to study protein structure include immunohistochemistry, specific site

mutagenesis, X-ray crystallography, nuclear magnetic resonance, and mass spectroscopy.



➤ Proteins are not solid molecules, because in addition to these types of structures that they take, they can switch between several related structures while doing their jobs.

➤ These changes in structures due to the performance of the function, whether triple or quadruple, are called "formation", and the transformation between them is called "formation changes". These changes are most likely caused by the binding of a substrate molecule to the active site of an enzyme, or to a region of protein that contributes to chemical stimulation.



➤ In solutions, proteins undergo structural transformations as well due to thermal vibrations and collisions with other molecules.

➤ Proteins that are related to standard triple structures can be divided – informally – into three main sections: spherical proteins, solid proteins and membranous proteins. Almost all

spherical proteins are soluble in solutions and many are enzymes.

- Solid proteins are often structural, such as collagen, which is one of the main components of connective tissue and keratin, which is the protein that combines hair and nails. Membrane proteins act as receptors or provide channels for the passage of polar or charged molecules through the cell membrane.
-
- There are special states of hydrogen bonds inside the molecule in proteins, and they are weakly protected from water and this means that they are subject to self-dehydration called dehydrons.
-
- Proteins are the main functional molecules within a cell, they perform specific processes by the information encoded in genes.
- With the exception of some types of RNA, most other biological molecules are inactive elements compared to the action of proteins, proteins make up half the dry weight of the Escherichia coli cell, while other lipid molecules such as DNA and RNA make up only 3% and 20%, respectively.
- A group of proteins expressed in a specific cell or cell type is known as protium.