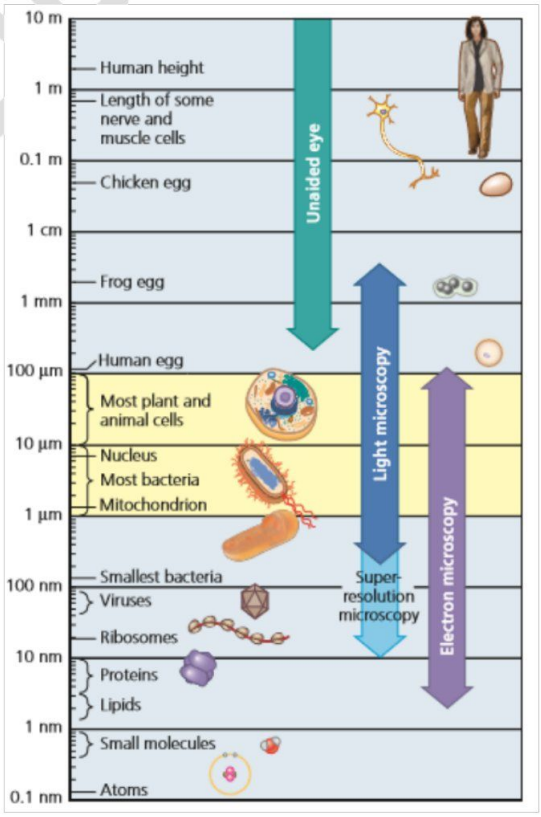
➢ Assignment: different types of microscope

1. Light microscope

- Types of light microscope:
  1. Brightfield (unstained specimen).
  2. Brightfield (stained specimen).
  3. Differential-interference-contrast.
  4. Fluorescence.
  5. Confocal.
  6. Deconvolution.
  7. Super-resolution.

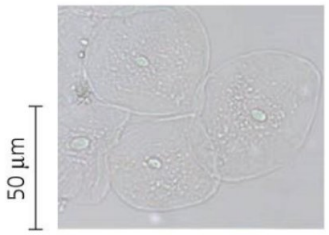


The figure shows the vision limits of the naked eye and some types of microscopes.

يوضح الشكل حدود الرئية للعين المجردة وبعض أنواع الميكروسكوبات.

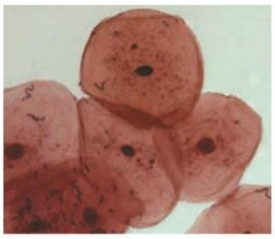
CamScanner

Brightfield (unstained specimen). Light passes directly through the specimen. Unless the cell is naturally pigmented or artificially stained, the image has little contrast. (The first four light micrographs show human cheek epithelial cells; the scale bar pertains to all four micrographs.)



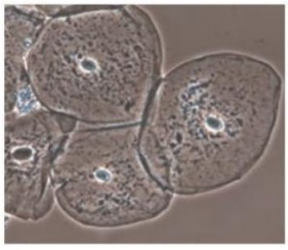
- Brightfield دون صبغ العينة: الضوء يمر مباشرة من خلال العينة. تمتلك الصورة تباين قليل إلا إذا تم صبغها.

Brightfield (stained specimen). Staining with various dyes enhances contrast. Most staining procedures require that cells be fixed (preserved), thereby killing them.



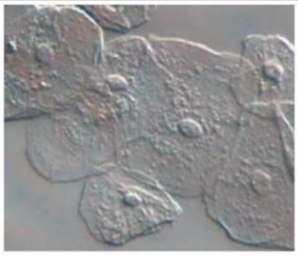
- Brightfield مع صبغ العينة: الصبغ باستخدام أصباغ مختلفة يحسن التباين. عملية الصبغ تتطلب المحافظة على الخلايا، مما يؤدي إلى قتل الخلايا.

Phase-contrast. Variations in density within the specimen are amplified to enhance contrast in unstained cells; this is especially useful for examining living, unpigmented cells.



- يتم تضخيم الاختلافات في الكثافة داخل العينة لتعزيز التباين في الخلايا غير المصبوغة ؛ هذا مفيد بشكل خاص لفحص الخلايا الحية غير المصبوغة.

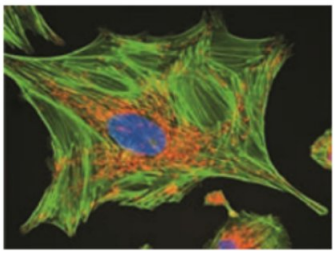
Differential interference contrast (Nomarski). As in phase-contrast microscopy, optical modifications are used to exaggerate differences in density; the image appears almost 3-D.



- كما هو الحال في المجهر السابق ، تستخدم التعديلات البصرية للمبالغة (تضخيم) في الاختلافات في الكثافة ؛ تظهر الصورة تقريبًا ثلاثية الأبعاد.

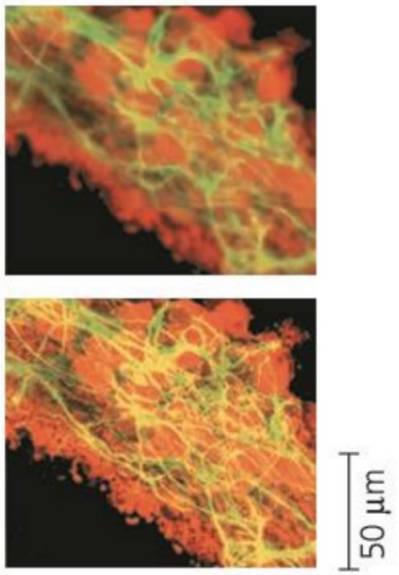
CamScanner

Fluorescence. The locations of specific molecules in the cell can be revealed by labeling the molecules with fluorescent dyes or antibodies; some cells have molecules that fluoresce on their own. Fluorescent substances absorb ultraviolet radiation and emit visible light. In this fluorescently labeled uterine cell, nuclear material is blue, organelles called mitochondria are orange, and the cell's "skeleton" is green.

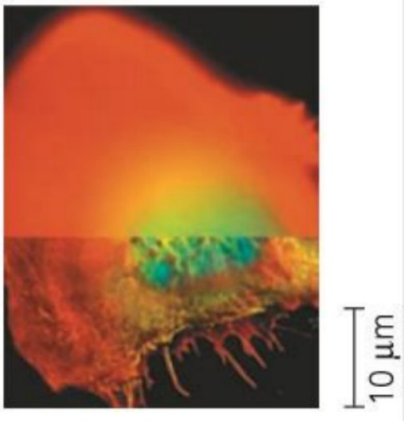


- يمكن من خلال هذا النوع الكشف عن مواقع الجزيئات المختلفة في الخلية ، من خلال وضع ليبل على هذا الجزيئات باستخدام صبغات مشعة أو اجسام مضادة ، تمتلك بعض الخلايا جزيئات تشع بذاتها. تستطيع المواد المشعة امتصاص الأشعة فوق البنفسجية وإشعاع الضوء المرئي حيث توضح الصورة في الأعلى أحد خلايا الرحم التي يمكن تحديد الميتوكندريا والنواة و الهيكل الخلوي فيها.

Confocal. The top image is a standard fluorescence micrograph of fluorescently labeled nervous tissue (nerve cells are green, support cells are orange, and regions of overlap are yellow); below it is a confocal image of the same tissue. Using a laser, this "optical sectioning" technique eliminates out-of-focus light from a thick sample, creating a single plane of fluorescence in the image. By capturing sharp images at many different planes, a 3-D reconstruction can be created. The standard image is blurry because out-of-focus light is not excluded.

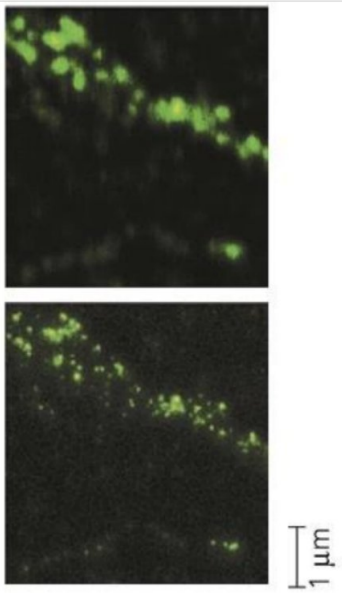


Deconvolution. The top of this split image is a compilation of standard fluorescence micrographs through the depth of a white blood cell. Below is an image of the same cell reconstructed from many blurry images at different planes, each of which was processed using deconvolution software. This process digitally removes out-of-focus light and reassigns it to its source, creating a much sharper 3-D image.



CamScanner

Super-resolution. On the top is a confocal image of part of a nerve cell, using a fluorescent label that binds to a molecule clustered in small sacs in the cell (vesicles) that are 40 nm in diameter. The greenish-yellow spots are blurry because 40 nm is below the 200-nm limit of resolution for standard light microscopy. Below is an image of the same part of the cell, seen using a new super-resolution technique. Sophisticated equipment is used to light up individual fluorescent molecules and record their position. Combining information from many molecules in different places "breaks" the limit of resolution, resulting in the sharp greenish-yellow dots seen here. (Each dot is a 40-nm vesicle.)

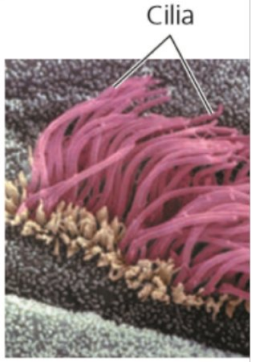


2. Electron microscope

- Types of electron microscope:

1. Scanning electron microscope (SEM).
2. Transmission electron microscope (TEM).

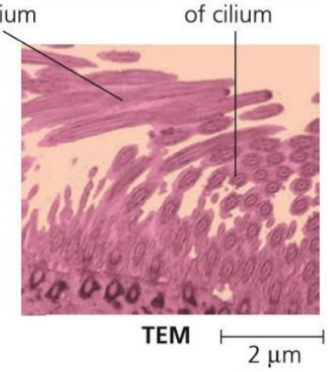
Scanning electron microscopy (SEM). Micrographs taken with a scanning electron microscope show a 3-D image of the surface of a specimen. This SEM shows the surface of a cell from a trachea (windpipe) covered with cell projections called cilia. Electron micrographs are black and white but are often artificially colorized to highlight particular structures, as has been done with both electron micrographs shown here.



يستطيع هذا المجهر التقاط صورة ثلاثية الأبعاد لسطح العينة، حيث توضح الصورة المجاورة مقطع لسطح القصبة الهوائية مغطاة بزوائد خلوية تسمى الأهداب ، غالباً تظهر صورة العينة باللون الأبيض والأسود لكن يتم تلوينها لتحديد بعض المكونات الخلوية.

يحتاج هذا النوع من المجاهر إلى أن تكون العينة رقيقة، حيث توضح الصورة المجاور مقطع من خلية من خلايا القصبة الهوائية بحيث يظهر تركيبها الداخلي.

أثناء تحضير العينة ، قد تقطع الأهداب على طولها فينتج مقطع طولي للعينة أو قطع بشكل عرضي فينتج مقطع عرض منها.



Transmission electron microscopy (TEM). A transmission electron microscope profiles a thin section of a specimen. This TEM shows a section through a tracheal cell, revealing its internal structure. In preparing the specimen, some cilia were cut along their lengths, creating longitudinal sections, while other cilia were cut straight across, creating cross sections.

CamScanner

SEM	TEM
1. Detailed study of the topography of specimen يستخدم للدراسة التفصيلية لتضاريس العينة.	1. Used to study the internal structure of cells يستخدم لدراسة التركيب الداخلي للخلية .
2. 2.Specimen is coated by thin layer of gold. تُغطى العينة بطبقة رقيقة من الذهب.	2. It needs very thin section of the specimen. يحتاج إلى مقطع رقيق من العينة لدراستها.
3. Give 3D image. يُعطي صورة ثلاثية الأبعاد للعينة.	3. The specimen has been stained with atoms of heavy metals, which attach to certain cellular structures, thus enhancing the electron density. تُصبغ العينة بذرات معادن ثقيلة ، حيث تتصل هذه الذرات ببعض التراكيب الخلوية و بالتالي تزيد الكثافة الإلكترونية لها.
Both use electromagnets as lenses to bend the paths of the electrons. يستخدم كلا النوعين من المجاهر الالكترونية الكهرومغناطيس كعدسات الانحناء مسار الالكترونات.	

- Organelles can't be seen with standard light microscopy because of the resolution barrier of it, so to see them the electron microscope was introduced to biology.

لا يمكننا مشاهدة العضيات باستخدام المجهر الضوئي العادي ، وبالتالي لنتمكن من رؤيتها تم إدخال المجهر الإلكتروني لعلم الأحياء.

- The electron microscope (EM) focuses a beam of electrons through the specimen or onto its surface.

يعمل المجهر الإلكتروني على تسليط (تركيز) شعاع من الالكترونات عبر العينة أو على سطحها.

- Resolution is inversely related to the wavelength of the light (or electrons) a microscope uses for imaging, and electron beams have much shorter wavelengths than visible light.

تتناسب الدقة عكسياً مع الطول الموجي لكل من الالكترونات أو الضوء ، حيث تمتلك الالكترونات طولا موجية أقصر من الضوء المرئي وبالتالي تكون دقتها أعلى.

CamScanner

- Modern electron microscopes can theoretically achieve a resolution of about 0.002 nm, though in practice they usually cannot resolve structures smaller than about 2 nm across, still, this is a 100-fold improvement over the standard light microscope.

يمكن للمجاهر الإلكترونية الحديثة أن تحقق نظريًا دقة تبلغ حوالي 0.002 نانومتر ، على الرغم من أنها في الواقع لا يمكنها في العادة حل الأجزاء الأصغر من 2 نانومتر ، ومع ذلك ، فإن دقته أفضل ب 100 ضعفًا من دقة المجهر الضوئي.

- The light microscope offers advantages, especially in studying living cells.

يوفر المجهر الضوئي العديد من الإيجابيات خصوصاً في دراسة الخلايا الحية.

- A disadvantage of electron microscopy is that the methods used to prepare the specimen kill the cells .

من سلبيات المجهر الإلكتروني أن طريقة تحضير العينة تؤدي إلى قتل الخلايا.

- Specimen preparation for any type of microscopy can introduce artifacts, structural features seen in micrographs that do not exist in the living cell.

قد يظهر أثناء تحضير العينات لرؤيتها عبر الميكروسكوب ما يسمى ب Artifacts وهي عبارة عن سمات هيلكلية تظهر في صورة العينة ولكنها ليست موجودة في الخلية أصلاً.

- Labeling individual cellular molecules or structures with fluorescent markers has made it possible to see such structures with increasing detail.

أدت فكرة وضع ليبل على الجزيئات والتراكيب في الخلية باستخدام علامات مشعة إلى إمكانية رؤية هذه الجزيئات بتفاصيل أوضح.

- In addition, both confocal and deconvolution microscopy have produced sharper images of three-dimensional tissues and cells.

استطاع كل من المجهرين الآتيين Confocal and Deconvolution انتاج صور ثلاثية الأبعاد أكثر وضوحا للأنسجة والخلايا.

RAMA ABADI

CamScanner

- A group of new techniques and labeling molecules developed in recent years has allowed researchers to “break” the resolution barrier and distinguish subcellular structures even as small as 10–20 nm across. This super-resolution microscopy is becoming more widespread.

سمحت مجموعة من التقنيات والجزيئات المستخدمة لتعليم (labeling) الجديدة التي تم تطويرها في السنوات الأخيرة للباحثين "بكسر" حاجز الدقة وتمييز الهياكل الفرعية الأصغر من 10-20 نانومتر.

- Microscopes are the most important tools of cytology, the study of cell structure.

- يعد الميكروسكوب أهم أداة مستخدمة في علم الخلية وهو العلم الذي يدرس تركيب الخلية.

- Understanding the function of each structure required the integration of cytology and biochemistry, the study of the chemical processes (metabolism)of cells.

- عملية فهم الوظيفة التي يؤديها كل تركيب من التراكيب الخلوية تحتاج إلى تكامل بين علم الخلية وعلم الكيمياء الحيوية ، حيث أن الكيمياء الحيوية هي العلم الذي يدرس العمليات الكيميائية التي تحدث في الخلايا (عمليات الأيض).

• Cell fractioning

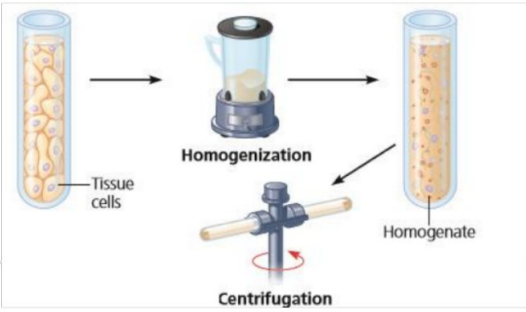
- Cell fractionation: A useful technique for studying cell structure and function, which takes cells apart and separates major organelles and other subcellular structures from one another.

أحد التقنيات المفيدة لدراسة تركيب ووظيفة الخلية حيث تعمل على تجزئة الخلية لفصل العضيات الأساسية وبعض التراكيب الخلوية الأخرى عن بعضها البعض.

- Technique:

✓ Cells are homogenized in a blender to break them up. The resulting mixture (homogenate) is centrifuged using a centrifuge which spins test tubes holding mixtures of disrupted cells at a series of increasing speeds.

وضع النسيج المراد دراسته داخل خلاط للحصول على مزيج متجانس من الخلايا ثم وضعها داخل أنابيب في جهاز الطرد المركزي على سرعات مختلفة.

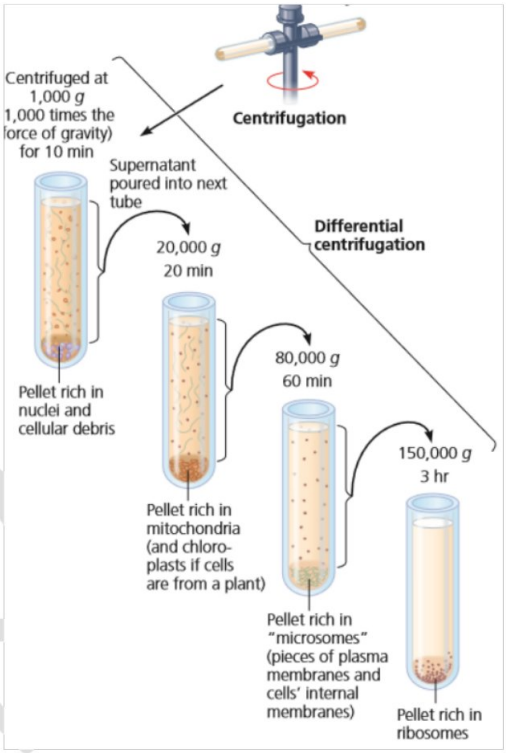


RAMA ABADI

CamScanner

✓ At each speed, the resulting force causes a subset of the cell components to settle to the bottom of the tube, forming a pellet. The other components of the tube are called supernatant.

عند كل سرعة تعمل القوة الناتجة عن الطرد المركزي على ترسيب مكون معين من الخلية على شكل راسب Pellet في حين تبقى باقي المكونات في الأنبوب حيث تسمى Supernatant.



✓ The supernatant (the liquid above the pellet) is poured into another tube and centrifuged at a higher speed for a longer period.

يتم أخذ ال Supernatant وإعادته إلى جهاز الطرد المركزي على سرعة أعلى ولمدة أطول وذلك لفصل مكونات خلوية أصغر.

- At lower speeds, the pellet consists of larger components, and higher speeds result in a pellet with smaller components.

عند السرعات المرتفعة يتم فصل المكونات الخلوية الكبيرة ، بينما عند السرعات المنخفضة يتم فصل المكونات الخلوية الأصغر.

- Cell fractionation enables researchers to prepare specific cell components in bulk and identify their functions, a task not usually possible with intact cells. For example, on one of the cell fractions, biochemical tests showed the presence of enzymes involved in cellular respiration, while electron microscopy revealed large numbers of the organelles called mitochondria. Together, these data helped biologists determine that mitochondria are the sites of cellular respiration. Biochemistry and cytology thus complement each other in correlating cell function with structure.

أتاحت تجزئة الخلايا للباحثين إعداد مكونات محددة للخلايا بكميات كبيرة وتحديد وظائفهم ، وهي مهمة غير ممكنة عادة مع الخلايا السليمة .على سبيل المثال، عند إجراء لتجزئة خلية، أظهرت الاختبارات الكيميائية الحيوية وجود إنزيمات تدخل في عملية التنفس الخلوي ، بينما كشف المجهر الإلكتروني عن وجود أعداد كبيرة من العضيات تسمى الميتوكوندريا ساعدت هذه البيانات علماء الأحياء على تحديد أن الميتوكوندريا هي مواقع حدوث التنفس الخلوي .وهكذا تكمل الكيمياء الحيوية وعلم الخلايا بعضها البعض في ربط وظيفة الخلية بالهيكل.

CamScanner