كلية العلوم

القسم : علم الحياة

السنة : الثالثة

المادة : كيمياء النسج الحيوانية

المحاضرة : السابعة/نظري/

{{ مكتبة A to Z }}

Facebook Group : مكتبة A to Z

2025

يمكنكم طلب المحاضرات برسالة نصية (SMS) أو عبر (What's app-Telegram) على الرقم 0931497960

البروتينات في الانسجة الحيوانية

يتوقف تطور الكائنات الحية على الخصائص الكيميائية الحيوية للمواد الموجودة في الخلية و في مقدمتها الحموض النووية التي تلعب دورا أساسيا من خلال البروتينات في تكوين أعضاء الجسم الحي. تشكل البروتينات الجزء الأساسي من المادة الحية و تتواجد بشكلين في الجسم فإما أن تكون بروتينات تركيبية تدخل في تركيب الخلايا و الأنسجة أو إنها بروتينات وظيفية و عندها تكون ذات نشاط وظيفي و تدخل في تركيب الأنزيمات التي تعتبر أداة عمل الخلية كما أنها تدخل في بناء بعض الهرمونات .

إضافة إلى ما ذكر سابقا فان البروتينات تشكل مصدرا للطاقة في جسم الكائن الحي عندما تختفي مصادر الطاقة الأساسية .توجد البروتينات بشكل جزيئات كبيرة منتظمة بدقة عالية مشكلة من عشرين حمض أميني ترتبط هذه الحموض ببعضها بروابط ببتيدية لتشكل في الخلايا والأنسجة بروتينات بسيطة وبروتينات مرتبطة.

تعتبر البروتينات أكثر الجزيئات الخلوية انتشارا وتكون حوالي 50 % أو أكثر من وزن الخلية الجافة .

البروتينات مواد عضوية معقدة التركيب يدخل في تركيبها عناصر الكربون والهيدروجين والأكسجين والنيتروجين والكبريت. بعضها يحتوي على عناصر أخرى مثل :-

-الحديد كما في الهيموجلوبين Haemoglobin في الدم الفقاريات

-الفسفور كما في الكازينcasein في اللبن

-النحاس كما في الهيموسيانينhaemocyanins في دم اللافقاريات

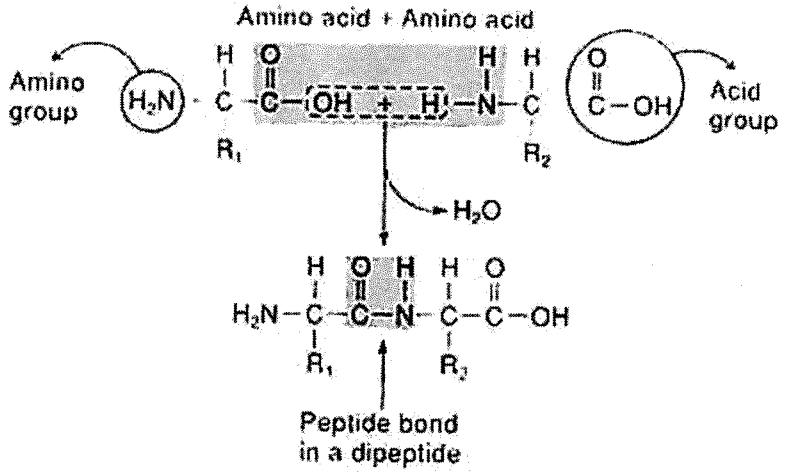
تتكون البروتينات من واحدة أو أكثر من السلاسل غير المتفرعة، وكل سلسلة تتألف من <u>الحموض الأمينية</u>

يوجد 21 حمض امينى حجم وشكل ووظيفة البروتين يحددها نوع وعدد الحموض الامينية المكونة لجزئ البروتين.

<u>الرابطة الببتيدية Peptide bond</u>

ارتباط عدد من الحموض الأمينية مع بعضها البعض ينتج عنه جزيئا كبيرا يسمى متعدد الببتيدات (Polypeptide) .

تتحد الحموض الامينية لأي بروتين مع بعضها البعض بروابط خاصة يعرف كل منه بالرابطة الببتيدية (Peptide bond). ويلاحظ أن عدد الروابط الببتيدية يكون أقل بواحد من عدد الحموض الأمينية. مجموعة الكاربوكسيل في أحد الحموض الأمينية ترتبط مع مجموعة الأمين في الحامض الأميني الذي يليه مع فقدان جزيء واحد من الماء نتيجة لهذا التفاعل. وحدة التركيب الأساسية للبروتين هي الحموض الأمينية Amino acids .



تعتبر البروتينات من أنشط المواد لأنها تحتوي على أكثر من مجموعة فعالة Active group مثل :

- **الأمينية (NH2) Amine**
- **الهيدروكسيلية(OH) Hydroxyl**
- **الكربوكسيلية (COOH) Carboxyl**
- **الألدهيدية(CHO) Aldehyde**
- **السلفوهيدريلية(SH) Sulphohydral**
- **الكبريتية (SS) Sulphur**

- **تقسيم البروتينات حسب وظائفها:**

1- تلعب دورا أساسيا في حياة الخلية من حيت التركيب والوظيفة. حيث تستخدم البروتينات في بناء الأنسجة. فتتكون الغضاريف من الكولاجين المركب من (Proteoglycan) بروتينات سكرية معقدة. كما أن الالياف الكولاجينية تساعد على ربط مجموعة من الخلايا لتشكل الأنسجة. الكيراتين يدخل في تركيب الطبقة الخارجية لبشرة الإنسان و يدخل في تركيب الشعر و الأظافر.

2- يكفي أن تكون الأنزيمات بروتينات والتي تتحكم في عمليات الأيض الخلوي Metabolism بنوعية البنائي والهدمي. 3هناك عدد كبير من الأنزيمات المعروفة والتي يزيد عددها على 1500انزيم كل منها يعمل كعامل مساعد

3- بعض البروتينات لها وظيفة النقل أي لها القابلية على الاتحاد ونقل أنواع خاصة من الجزيئات الحيوية عن طريق الدم إلى أنسجة الجسم المختلفة.

يتحد الألبومين الموجود في مصل الدم بشدة مع الأحماض الدهنية الحرة، والتي يقوم بنقلها (أي جزيئات الأحماض الدهنية) بين الأنسجة والأعضاء الأخرى في الفقاريات

البروتين المقترن المتمثل بالبروتين الدهني بيتا الموجود في مصل الدم يتكون من 21% بروتين ، 74 % دهون ويقوم بنقل الدهون عن طريق الدم .

ينقل الهيموجلوبين الموجود في كريات الدم الحمراء للفقاريات الاكسجين من الرئتين إلى الأنسجة و ذلك عن طريق ارتباط ذرات الاكسجين بذرات الحديد الموجودة في مجاميع الهيم الأربعة الموجودة في جزيء الهيموغلوبين (Hb).

4- تكون بعض البروتينات العناصر الأساسية للأعضاء المتقلصة والمتحركة عبارة عن بروتينات Myosinوالميوسين Actinالأكتين (شريطين طويلين من الأحماض الأمينية) و هذه الجزيئات البروتينية تستخدم كعناصر أساسية في الجهاز الحركي والعضلي

5- بعض البروتينات تستخدم كوظائف دفاعية و تتحد الأجسام المضادة في دم الفقاريات مع الأجسام الغريبة غير الفعالة التي تدخل مجرى الدم

6- كثير من البكتريا تفرز سموما وهي عبارة عن بروتينات سامة للكائنات الحية الأخرى وسم الثعابين الذي يحتوي على أنزيمات تسبب التسمم. والبروتينات النباتية السامة بالنسبة للحيوانات

7- بعض البروتينات الوظيفية هي عبارة عن هرمونات تملك فاعلية حيوية شديدة من خلال تاثيرها في الاعضاء المخصصة.

أنواع البروتينات حسب تركيبها:

اولا- البروتينات البسيطة :

هي البروتينات التي تعطي عند تحللها الحموض الامينية فقط وتضم قسمين:

1--البروتينات الليفية: تترتب سلاسل عديد الببتيد بشكل حلزوني وهي تشمل الكولاجين والكيراتين والفيبرين وهذه مواد صلبة لا تذوب في الماء او المحاليل الملحية. الكولاجين بروتين ليفي وهو بروتين واسع الانتشار في الجسم يتميز باليافه غير المطاطة وتحملها الكبير للشد. تساهم الياف الكولاجين في تشكيل محافظ العديد من الاعضاء كالكلى والعقد اللمفاوية والخصى واوتار العضلات.

2-البروتينات الكروية: وهي بناء ثلاثي او رباعي ذات اشكال كروية او بيضوية وتشمل بروتينات تذوب في الماء و في محاليل أملاح مخففة مثل الألبومينات(Albumins) في الدم. و بروتينات لا تذوب في الماء و إنما تذوب في محاليل أملاح مخففة مثل الغلوبولينات(Globulins) في الدم. اضافة الى بروتينات قاعدية تذوب في الماء و تدخل في تركيب الخلية مثل الهستونات. جميع الانزيمات عبارة عن بروتينات كروية.

ثانيا- البروتينات المرتبطة (المقترنة):

و هي مواد بروتينية مرتبطة مع مواد مخاطية حمضية أو متعادلة وتتألف من الأحماض الأمينيه التي ترتبط بمواد أخرى بروابط تساهمية (covalent) مثل :

البروتينات النووية (Nucleoproteins) وتتكون من اتحاد بروتين بسيط (الهستون أو البروتامين) مع حمض نووي.

والبروتينات الدهنية (lipoproteins) كالدهون الفسفورية -البروتينات الملونة Chromoproteins في الهيموغلوبين والميلانين في الشعر والبروتينات المخاطية (mucoproteins) -البروتينات الفوسفاتية Phosphoproteins في صفار البيض- البروتينات السكرية Glycoproteins في الغشاء الخلوي.

ثالثا- بروتينات مشتقة Derived proteins

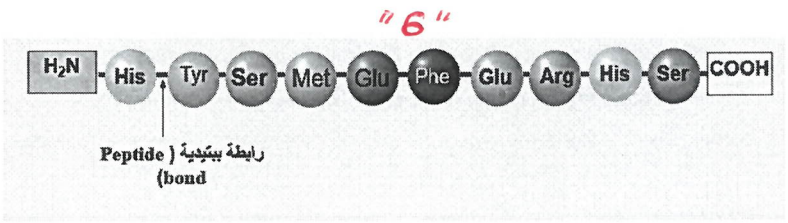
وهي بروتينات تتشكل من بروتينات بسيطة نتيجة تعرضها لبعض العوامل الطبيعية أو الكيميائية أو الحيوية بشرط أن تحافظ على خواص البروتين مثل زلال البيض الذي يتخثر بالحرارة.

مستويات التركيب في البروتينات

للبروتينات مستويات بنائية تنظم أشكالها وتحدد صفاتها وهي:

1- التركيب الأولي Primary structure

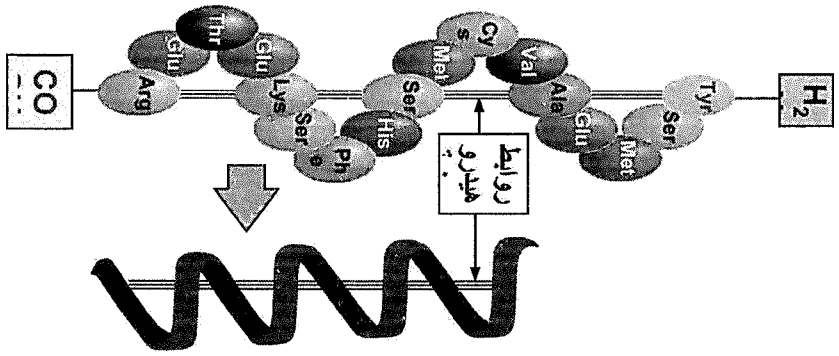
هو التتابع المحدد للحموض الأمينية في سلسلة عديد الببتيد لبروتين معين. يحدد هذا المستوى البنائي بنوع وعدد الحموض الأمينية فمثلا الشخص المصاب بالأنيميا يكون الفالين الحمض الأميني رقم " 6"في تتابع الحموض الأمينية بينما في السليم يكون حمض الغلوتاميك الحمض الأميني رقم "6" في تتابع الحموض الأمينية.



2- التركيب الثانوي Secondary structure

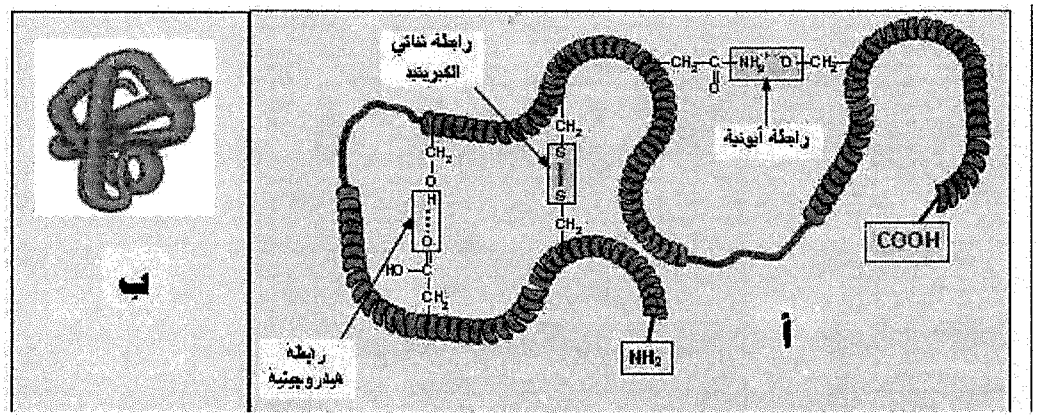
يتعلق بوضع البروتين التركيبي و البنائي في السلاسل الببتيدية أي يمثل التفاف هذه السلاسل مع بعضها بشكل حلزوني حيث تتصل سلسلة عديد الببتيد فيما بينها في أماكن

محددة معطية شكلا خاصا للبروتين يكون أكثر ثباتا ومن أمثلتها البروتين الموجود في الشعر والصوف والحرير. يبعد عن الأول بثلاث وحدات أمينية. تكرار هذه الروابط بهذه الطريقة يعطى للجزيء شكلا حلزونيا (Spiral configuration). يتخذ الشكل الحلزوني المظهر الليفي (Fibrous) مثل بروتين الكولاجين المكون للألياف البيضاء في الأنسجة الضامة الليفية. هذا النوع من البروتينات غير قابلة للذوبان في الماء.



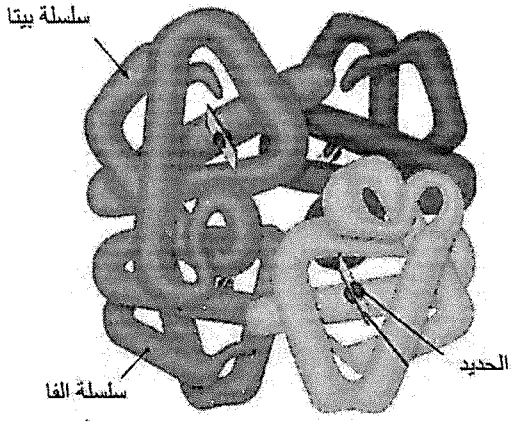
3- التركيب الثالثي tertiary structure

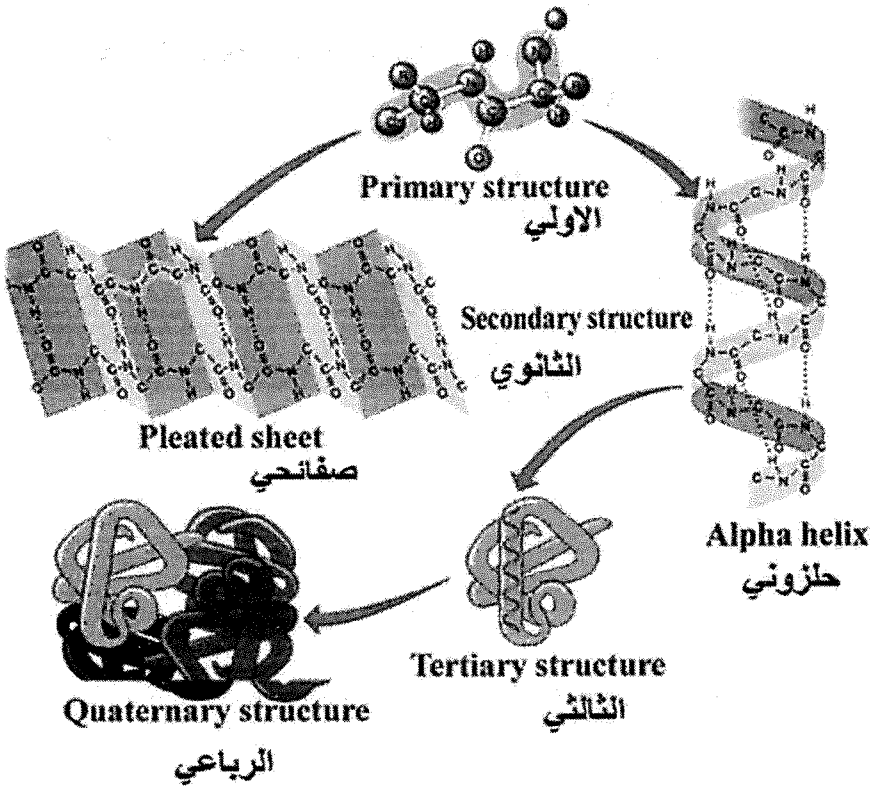
يوجد البروتين في الطبيعة بشكل مجسم أي له ثلاثة أبعاد، وذلك بسبب الانثناء والالتفاف الإضافي غير الموجود في البناء الثانوي وهذا التركيب أكثر استقرارا ومن أمثلته الميوغلوبين. يحدث للحلزون متعدد الببتيدات التفاف حول نفسه عدة مرات في جميع الاتجاهات منتجا بذلك جزيئا بروتينيا ذو شكل حبيبي (Globular).قابل للذوبان في الماء مثل بروتينات الإنزيمات. يشبه جزيء البروتين في هذه الحالة خيطا طويلا ملفوفا على هيئة كرة.



4-التركيب الرباعي Quaternary structure

ينتج هذا التركيب من تجمع جزيئات البروتين مع بعضها البعض عن طريق بعض الروابط الكبريتية ومثال هذا النوع الهيموغلوبين.



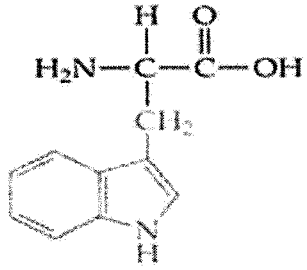


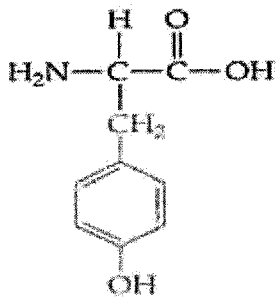
البروتينات في كيمياء النسج الحيوانية

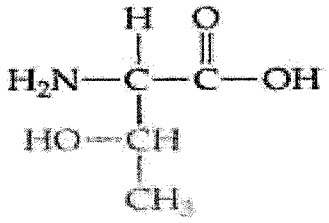
تعتمد طرق الكشف بالكيمياء النسيجية عن البروتين على الزمر الوظيفية في الحموض الأمينية أو على التقنيات التي تحدث زمر وظيفية على هذه السلاسل و التي تتفاعل مع كواشف محددة لتعطي تفاعل مولد للون فمثلا تكشف طريقة ننهيدرين-شيف الزمر الأمينية المرتبطة ببروتين بواسطة تفاعل ننهيدرين مع الزمرة الأمينية لتنتج الدهيدات والتي تصبح مرئية بتفاعل شيف .ولكن قد لا يكون تفاعل مولد اللون مع الزمرة الوظيفية لحمض أميني نوعيا وعندها يجب أن تستخدم تقنيات الكبح التي تعدل كيميائيا الزمرة الوظيفية.
تجدر الإشارة إلى انه للكشف عن البروتينات بطرق كيمياء النسج لا بد من الأخذ بعين الاعتبار نوع المثبت المستخدم و غالبا يفضل المثبتات الكحولية حيث أنها تعمل على تخثير البروتينات دون حدوث تغيير كيميائي بها و كذلك من المثبتات المفضلة مثبت كارنوي و الفورمالين.

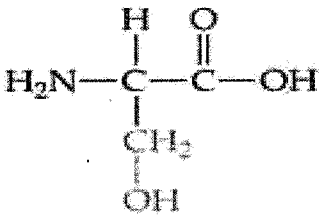
تأتي أهمية تعيين البروتين بطرق كيمياء النسج من أجل الدراسات البحثية في مختبرات الأنسجة و يشكل التثبيت الدور الأساسي من اجل الكشف عن البروتينات، لذلك يجب الانتباه لوجود أحيانا ارتباطات تقاطعية تغير من طبيعة البروتين الأصل و بالتالي تغيير في البنية الجزيئية للبروتين .

تصنف الزمر في الحموض الامينية كما يلي:
زمرة الأمين NH2 – و هي الطرف النيتروجيني
زمرة الكربوكسيل COOH– و هي الطرف الكربوني
زمرة الاندول و هي توجد في التريبتوفان


Tryptophan (Trp)


Tyrosine (Tyr)


Threonine (Thr)


Serine (Ser)

زمرة الفينول(تيروزين) **زمرة الهيدروكسيل(تيريونين والسيرين)**

الكشف عن الزمرة الأمينية المرتبطة بالبروتين:

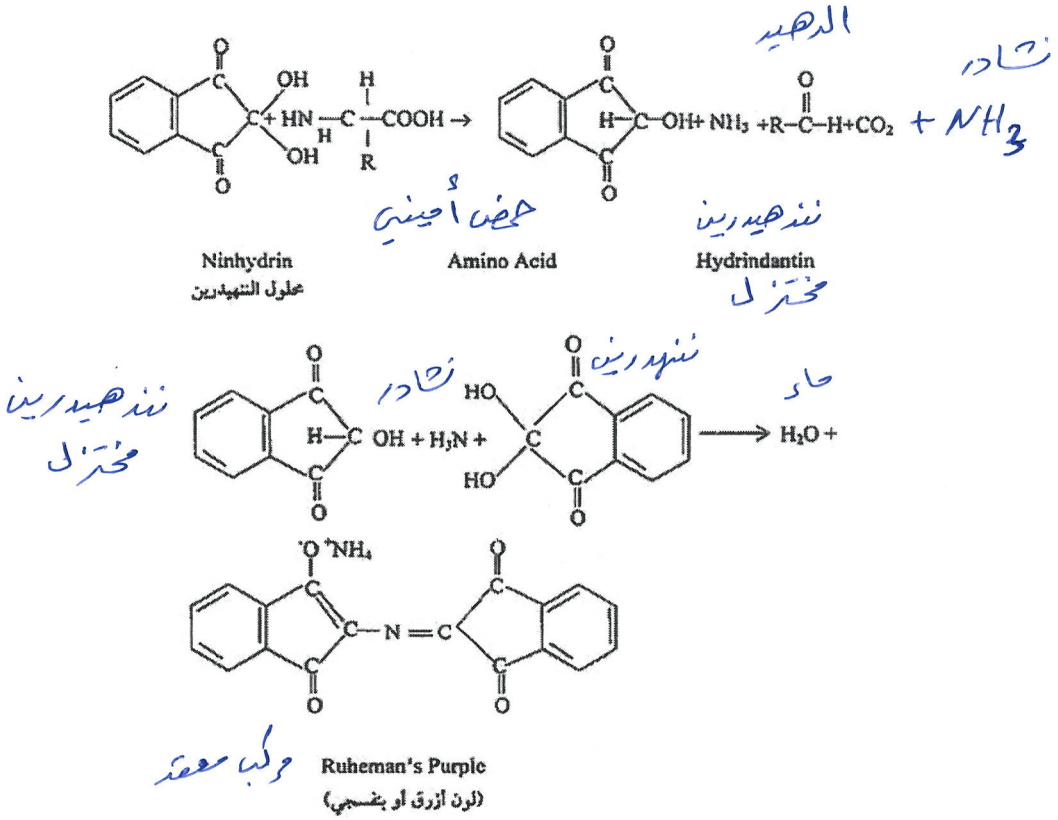
يتم الكشف عن الزمرة الامينية بتفاعل ننهيدرين-شيف الذي يتحقق عند درجة PH معتدلة والحرارة 37م° . يسمى تفاعل النهيدرين مع زمر(ألفا أمين -α) وينتج مركب الدهيدي يكشف عنه باستخدام كاشف شيف.

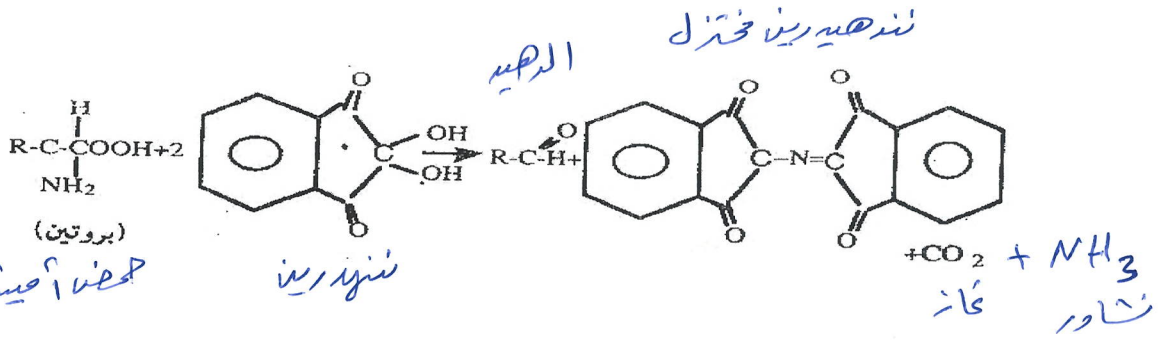
- **طريقة ننهيدرين-شيف:**

تعتبر هذه الطريقة من أفضل الطرق المستخدمة من اجل الكشف عن البروتينات التي تحمل الزمر الأمينية الموجودة في الأنسجة الحيوانية وتتلخص بما يلي:

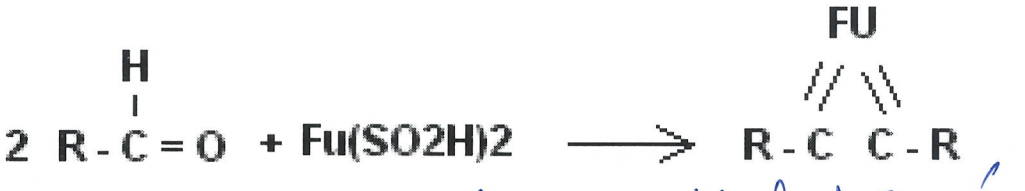
1- يتفاعل مركب النهيدرين مع الزمر الأمينية الحرة في البروتينات مطلقة النشادر وغاز ثاني أكسيد الكربون ويتشكل مركب معقد (جزيئالننهيدرين المختزل)ومركب آخر الدهيدي حسب التالي:

2- يتفاعل جزيء آخر من النهيدرين بوجود النشادر مع جزيء النهيدرين المختزل فيتكون مركب معقد يستدل على تكوينه في النسيج من خلال ظهور لون أزرق.





3- يسهل التعرف على مجموعات الألدهيد من خلال تفاعلها مع كاشف شيف مكونة مركبا معقدا بلون أرجواني



- المحاليل:

- محلول ننهيدرين :
- يتألف من 0.5 غ ننهيدرين في 100 ملل من الكحول الايتيلي المطلق
- محلول كاشف شيف :
- يتألف من:

فوكسين القاعدي 1 غرام
ماء مقطر 85 ملل
ميتا ثاني كبريتات الصوديوم 1.9 غرام
حمض كلور الماء العياري 15 ملل

- محلول التبييض يتألف من:

حمض كلور الماء العياري 5 ملل
ثاني كبريتات الصوديوم 5-10 ملل
ماء مقطر 100 ملل

مراحل العمل :

1- ينزع البارافين بالكزايلين فالكحول المطلق إلى تركيز 70%.
2- توضع المقاطع في محلول ننهيدرن بحرارة 37درجة مئوية لمدة5 - 24 ساعة.
3- تغسل بالماء الجاري وتلون المقاطع في كاشف شيف لمدة 1-2 ساعة في مكان معتم.
4- تجفف الشرائح و تغمر بمحلول التبييض لمدة دقيقتين
5- تغسل بالماء الجاري لمدة 10-15 دقيقة ثم بالماء المقطر
6- تصبغ المقاطع بصبغ هيماتوكسيلين الشب لمدة 15 ثانية
7- تغسل المقاطع بالماء الجاري وينزع الماء بسلسلة كحول وترويق وتغطية .

النتيجة

تظهر أجزاء النسيج المحتوية على البروتينات ذات الزمر الأمينية بلون أرجواني (احمر وردي) . .

الكشف عن زمرة الفينول:(phenyl groups)

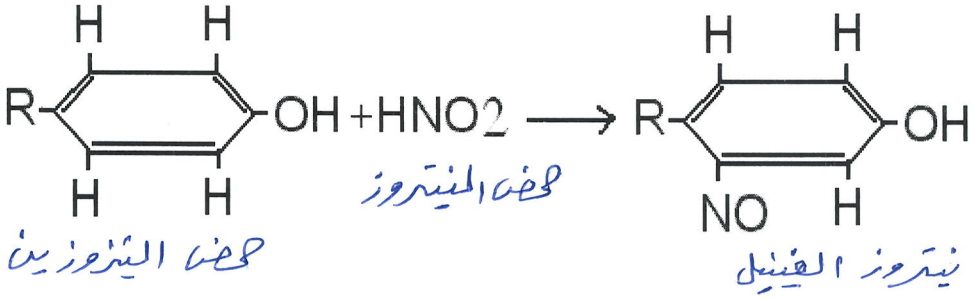
تكشف هذه الزمرة بتفاعل ميللون.(Millon reaction) ويظهر اللون الأحمر أو القرنفلي في النسيج الذي يحتوي حمض التيروزين . تعتبر الطريقة نوعية من أجل التيروزين الذي يحتوي زمرة هيدروكسي فينول (hydroxyphenyl)خاصة و أن التيروزين هو تقريبا من الحموض الامينية المتواجدة في جميع بروتينات النسج .

- **تفاعل ميللون:(Millon reaction)**

يظهر هذا التفاعل البروتينات التي تحتوي على التيروزين (Tyrosine)بلون وردي أو أحمر في النسيج .عندما يعالج المقطع النسيجي بمزيج ساخن مكون من كبريتات الزئبق حمض النيتروز نترات الصوديوم تتفاعل زمر هيدروكسي فينول

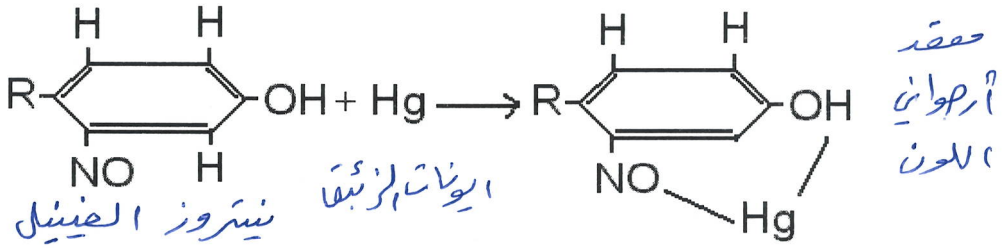
1-التفاعل مع حامض النيتروز :

يتفاعل حمض النيتروز وهو أحد مكونات كاشف ميللون مع حمض التيروزين ليتم استبدال أحد ذرات الهيدروجين في حلقة الفينول ويتكون مركب النيتروزو فينول Nitrosophenol ويتم التفاعل حسب المعادلة التالية:



2-الاتحاد مع أيونات الزئبق:

يتم إتحاد المركب الناتج مع أيونات الزئبق الموجودة في كاشف ميلون ويتكون مركب معقد أرجواني اللون حسب المعادلة التالية :-



التثبيت:

يتم تثبيت النسيج بواسطة محلول الفورمالين المتعادل المنظم أو بتعريضها لغاز فورم الدهايد(النسج المجففة بالتجميد). يمكن لجميع أنواع المقاطع النسيجية أن تدرس بهذه الطريقة.

- المحاليل :

1- محلول A يتألف من:

- كبريتات الزئبق 10غ تمزج مع 90ملل ماء مقطر
- حمض النيتروز 10 ملل يحل بالتسخين و بعد التبريد يضاف 100ملل من الماء المقطر.

2- محلول B يتألف من :

- نترات الصوديوم 250ملغ تحل في 10ملل من الماء المقطر .
- محلول التفاعل :يضاف 5ملل محلول Bإلى 50ملل محلول A.
- الطريقة :

يزال البارافين بالكزايلين والكحول المطلق والمقاطع المجمدة تجفف بالهواء.
تغمر المقاطع النسيجية بمحلول التفاعل .

- تغسل المقاطع النسيجية في ثلاث حمامات ماء مقطر 2دقيقة في كل مرة.
- ينزع الماء من المقاطع النسيجية ثم تطلى بالوسط الطامر وتغطى بساترة زجاجية.
- النتيجة :تتلون البروتينات التي تحتوي على التيروزين باللون الأحمر أو المخملي.

النتيجة :تتلون البروتينات التي تحتوي على التيروزين باللون الأرجواني.

-SH S-S

الكشف عن روابط ثنائية الكبريت وسلفو هيدريل:

توجد هذه الروابط في الحمضين الأمينيين سيستئين (cysteine)ميثيونين (methionine) وتوجد الرابطة ثنائية الكبريت مابين ذرتي كبريت-S-, (disulphide -Sكما توجد رابطة السلفوهيدريل (sulphydryl,-S-H) بين ذرة الكبريت وذرة الهيدروجين .يمكن أن يكشف عن الزمرتين بكيمياء النسج بطريقة أزرق ألشيان – بيرفورميك أسيد.(performic acid-alcian blue)

- **طريقة أزرق ألشيان:(performic acid-alcian blue)**

بيرفورميك أسيد

- المحاليل :

1- محلول A (performic acid)يتألف من:

- حمض الفورميك)مركز 40 ملل
- فوق أوكسيد الهيدروجين (H_2O_2) 4 ملل
- حمض الكبريت المركز 0.5 ملل

2- محلول Bأزرق الشيان (Alcian blue)يتألف من:

- أزرق الشيان 1 غرام
- حمض الكبريت 2.7 ملل
- ماء مقطر 47.2 ملل
- طريقة العمل :
- يزال البارافين و تجفف بعد ذلك لإزالة الزائد من الماء
- توضع المقاطع في محلول Aلمدة5 دقائق وتغسل في الماء بشكل جيد لمدة 10 دقائق
- تجفف المقاطع بشكل جيد تحت درجة حرارة 60 مْ وتغسل بالماء الجاري
- توضع المقاطع في محلول التفاعل Bمدة 60دقيقة وتغسل في الماء الجاري

- تلوين بأحمر معتدل إذا تطلب الأمر وتغسل في الماء بشكل جيد
- ينزع الماء من المقاطع النسيجية ثم تطلى بالوسط الطامر وتغطى بساترة زجاجية.

النتيجة :تتعلق درجة اللون الأزرق بكمية ثنائي الكبريت الموجودة في جزيئات البروتين

الكشف عن زمر الأندول :(indole groups):

توجد زمر الأندول في الأحماض الأمينية التربتوفان (Tryptphan) والتريبتامين (Tryptamine)والطريقة المستخدمةهي طريقة الـ DMAB-nitriteويتم الحصول على أفضل النتائج (يعني تلون كثيف وتمركز دقيق جدا بالمقاطع المجففة بالتجميد).
مبدأ الطريقة هو تفاعل التريبتوفان مع (dimethylaminobenzaldehyde-) لينتج مادة
تدعى بيتا-كاربولين (ß –carboline)والتي تؤكسد لاحقا بواسطة محلول النتريت لتظهر منطقة زرقاء داكنة .

- المحاليل :
- محلول (DMAB) Aيتألف من:
- ρ -ثنائي ميتيل أمينو بنز الدهيد 5 غرام
- حمض كلور الماء المركز 100 ملل
-

محلول :(nitrite)Bيتألف من:

- نتريت الصوديوم 1 غرام
- حمض كلور الماء المركز 100 ملل
- مراحل العمل :
- توضع المقاطع في الكحول المطلق
- توضع في 0.5% سللويدين
- توضع المقاطع في محلول (DMAB)Aمدة دقيقة واحدة
- تغمر المقاطع في محلول (nitrite) Bلفترة من 1 - 2دقيقة
- تغسل في الماء الجاري مدة 30 ثانية
- تغسل في الكحول الحمضي لمدة 15ثانية
- تغسل في الماء وتصبغ بأحمر معتدل مائي 1%مدة 5دقائق
- ينزع الماء بسلسلة الكحول وتروق بالزايلين وتغطى .
- النتيجة :يتلون التريبتوفان باللون الأزرق الداكن والنواة باللون الأحمر

الكشف عن زمر الغواندول(Guanidyl groups)

تكشف زمر الغواندول في الحمض الأميني الأرجينين (Arginine)بتفاعل ساكاكوشي (Sakaguchi)وفي هذه الطريقة يظهر لون أحمر برتقالي عندما يتفاعل حمض الأرجينين مع ألفا نافتول ومحلول هيبوكلوريد الصوديوم و لكن يجب أن يفحص المقطع مباشرة بعد إجراء الصبغ بسبب تاثير الضوء السلبي .

- **طريقة ساكاكوشي(Sakaguchi reaction)لـ**

- محلول التفاعل يتألف من :
- محلول 1% هيدروكسيد الصوديوم 2 ملل
- محلول 1% ά- نافتول في 70% كحول 2 قطرة
- محلول 1% هيبوكلوريد الصوديوم 4 قطرات في ماء مقطر
- محلول (pyridine-chloroform) و يتألف من :
- بيريدين 30ملل وكلوروفورم 10 ملل

- طريقة العمل :
- مقاطع سللويدين)نموذجية (توضع المقاطع بالماء
- تغسل في الكحول70%
- تغمر المقاطع بمحلول التفاعل لمدة 15 دقيقة وتغسل وتجفف من الماء
- تغمر في محلول بيريدين -كلوروفورم لمدة 2 دقيقة
- توضع على محلول بيريدين -كلوروفورم طازج و بساترة دائرية بالكزايلين تصقل بالختام.
- النتيجة :يتلون الأرجينين بالأحمر البرتقالي
- ملاحظات هامة :
- يفضل ان تكون سماكة المقاطع حوالي من 12 - 15 µm
- استعمال شرائح مطلية بالسيلان(silane)
- تحتوي الخصية على حمض أرجينين وافر وملائمة كضابط إيجابي

طريقة اخضر سريع للكشف عن البروتينات القاعدية كالهستونات

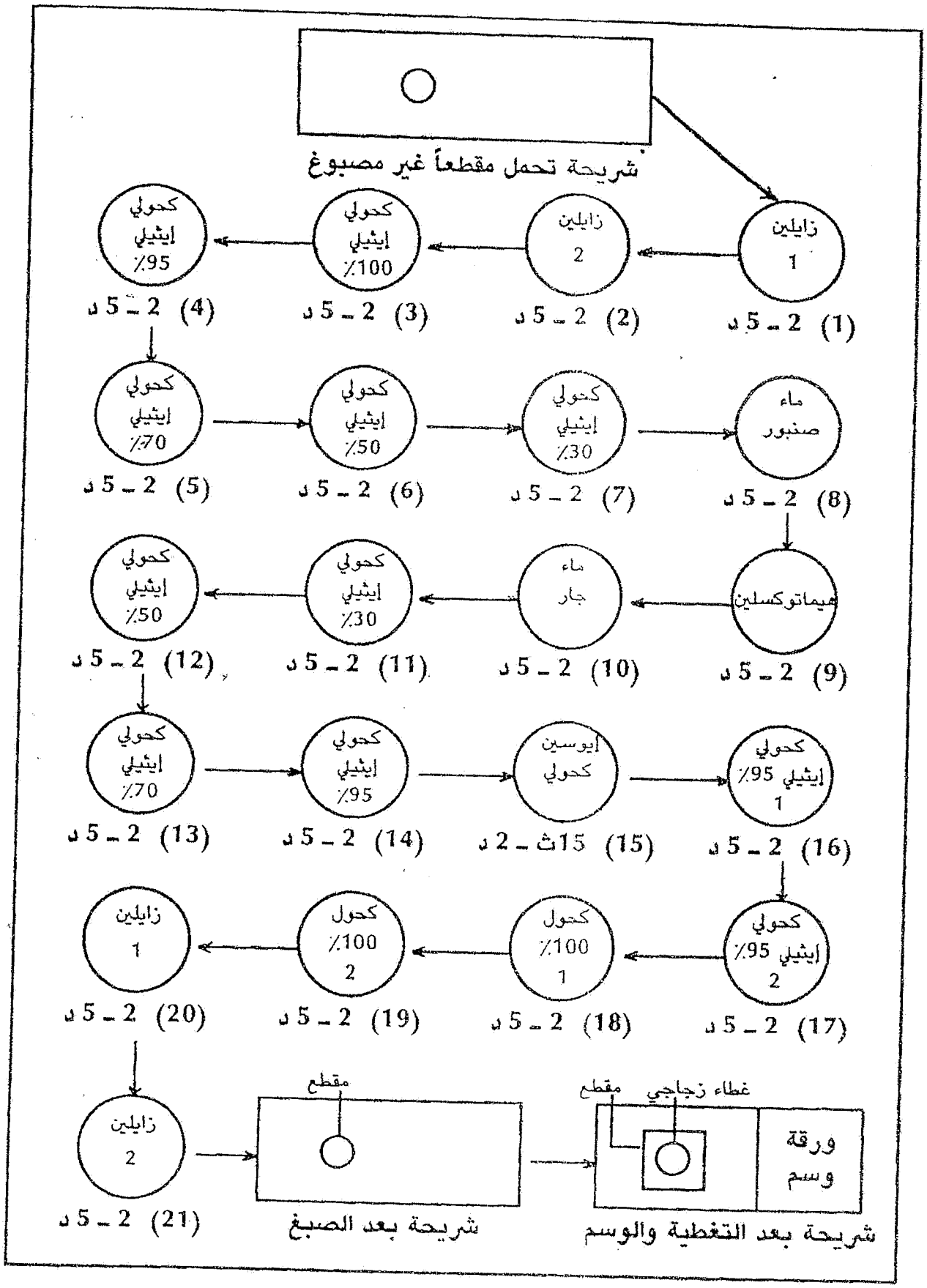
تستخدم طريقة اخضر سريع للكشف عن البروتينات القاعدية كالهستونات و تتلخص آلية هذه العملية بما يلي:

يتم التخلص من بعض الزمر الفعالة في الحموض الامينية التي يمكن أن تتشرد عند الأس الهيدروجيني=8 و هي بالذات زمر الغواندين في الحمض الاميني الارجنين و زمرة الأمين في الحمض الاميني اللا يسين.و يتم ذلك بمعالجة المقاطع بحمض ثلاثي كلور حمض الخليك الساخن حيث يعمل على إزالة الزمر التي ترتبط مع الزمر الحمضية للحموض النووية في النسيج. يتم ربط الزمر القاعدية مع المواد البروتينية بالزمر الحمضية لاخضر سريع في وسط منظم السترات عند الأس =8

طريقة التلوين
يزال الشمع عن المقاطع و تمرر على الكحول تنازليا
وضع المقاطع في محلول ثلاثي كلور حمض الخليك لمدة 15 دقيقة عند درجة 95 مئوية
تغسل المقاطع في كحول اتيلي 70% ثلاث مرات
توضع المقاطع في محلول اخضر سريع لمدة نصف ساعة
تنقل المقاطع إلى الماء المقطر ثم إلى الكحول 95 % ثم المطلق و تروق بالزالين و تغطى
النتيجة: تظهر أماكن وجود البروتينات القاعدية باللون الأخضر

ملاحظات عامه حول كيمياء النسج للأحماض الأمينية:

نلاحظ أن أفضل النتائج بطريقة الكيمياء النسيجية للأحماض الأمينية تكون باستخدام المقاطع المجففة بالتجميد ويكون التلوين واضحا خاصة و أن غاز فورم الدهيد الساخن يؤثر بدقة عند تثبيت الأنسجة المجففة بالتجميد ويلاحظ التخريب النسيجي في الزمر المتفاعلة تزداد باستعمال محاليل فورم الدهيد .
يمكن أن توفر تقنيات حديثة تستخدم كيمياء النسج المناعية تمركز أفضل بكثير للبروتينات وبشكل خاص الأنواع البيتيدية الثانوية .هناك تحديد للبروتينات بتطور تحديد وتعيين البروتينات و البيتيدات في الأنسجة من صبغ غير نوعي إلى نوعية أكثر دقة تحت اسم تحاليل البروتين (protein assay) . كما توفر كيمياء النسج المناعية تحديد وتمركز نوعي للبروتينات مثل الغلوبولينات المناعية والأنزيمات والهرمونات .



د = دقيقة ث = ثانية

شكل 1 . تسلسل خطوات الصبغ بطريقة هيماتوكسلين ـ إيوسين