

مبدأ أهم التقنيات

***تقنية الوسم المناعي:** تسمح بتحديد تموضع المستضد على سطح أو داخل الخلايا بوضع خلايا مع أجسام مضادة نوعية لمحدد مستضدي حاملة لجزيئات تستخدم كمؤشرات (مواد متفلورة أجسام مشعة) يمكن رؤيتها بالمجهر الإلكتروني.

***تقنية الانتشار المناعي:** تعتمد على إنتشار الجزيئات في مادة الجيلوز (مشكلة راسب أبيض عند توافقها) حيث توضع أجسام مضادة في الحفرة المركزية و أنماط مختلفة من مولدات الضد في الحفر المحيطية.

***تقنية الهجرة الكهربائية:** تعتمد على فصل البروتينات و الأحماض الأمينية في حقل كهربائي حسب الشحنة الكهربائية المكتسبة في PH معين. حيث توضع العينات في منتصف شريط الفصل.

***تقنية الكروماتوغرافيا:** تعتمد على فصل مكونات خليط ما مثل البروتينات باستعمال ورق كروماتوغرافي و مذيب حيث تفصل المكونات على الورق الكروماتوغرافي حسب درجة الذوبان و الوزن الجزيئي.

***تقنية التصوير الإشعاعي الذاتي:** تستعمل هذه التقنية للكشف عن مواقع وجود الإشعاع في الخلية أو جزء من خلية أو عضو كامل يمكن تتبع مسار المركبات المتكونة ،تسمح بالحصول على صور للعينات الموسومة بعنصر مشع و التي تظهر على شكل بقع سوداء تزداد شدتها بزيادة مقدار الإشعاع في العينة، تنتج البقع السوداء عن إصدام الأشعة الصادرة عنها بالمستحلب (ترسب شوارد الفضة).

***تقنية الطرد المركزي:** تعتمد على جهاز مكون من محرك متصل بمحور يدور بسرعات مختلفة و بحمل عددا من الأنابيب بداخلها المحاليل المراد فصل مكوناتها حسب الكثافة (الثقل) حيث تتجه الأجزاء الأكثر كثافة بسرعة أكثر نحو قاع الأنبوب (مثل فصل أنواع من البروتينات، الأحماض النووية....) يستعمل معامل الترسيب S للدلالة على الثقل(علاقة طردية مع الكثافة).

***تقنية Patch clamp:** (حصر قطعة) تعتمد على عزل جزء من الغشاء يحتوي على قناة واحدة أو أكثر و دراسة التيارات الكهربائية الناتجة عن عملها.

***تقنية Western Blot:** هي تقنية خاصة تسمح بالكشف عن الأجسام المضادة للبروتينات الفيروسية في المصل

***اختبار ELISA:** يكشف عن وجود الأضداد ضد فيروس VIH

برامج المحاكاة.

***برنامج راستوب Rastop:** يستعمل لعرض البنية الفراغية للجزيئات و خاصة البروتينات و دراستها معرفة عدد و تتابع الأحماض الأمينية ، تحديد الموقع الفعال.....).

***برنامج Anagene L:** يستعمل لعرض و مقارنة تتابع النيكليوتيدات في ADN و ARN و تتابع الأحماض الأمينية في البروتين، نسخ ADN إلى ARN و ترجمة ARNm إلى سلسلة ببتيدية

التفاعلات اللونية للبروتينات:

***تفاعل بيوري:** - يكشف عن الرابطة الببتيدية (2 على الأقل)

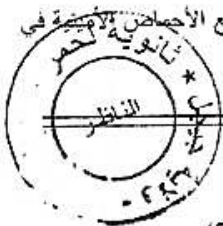
-المحلول + كبريتات النحاس + $CuSO_4$ + الصودا $NaOH$ التفاعل الإيجابي لون بنفسجي

نتيجة تشكل معقد بين ايون النحاس و الروابط الببتيدية.

- الأحماض الأمينية تظهر نتيجة سلبية مع تفاعل بيوري بينما تظهر الببتيدات (التي تحتوي على رابطتين على الأقل) والبروتينات نتيجة ايجابية مع تفاعل بيوري.

***تفاعل اصفر أحييني:** (تفاعل كسانتوبروتينيك): يكشف عن الأحماض الامينية العطرية باستعمال حمض الأزوت المركز مع التسخين الذي يتفاعل مع الاتوية العطرية مشكلا لونا اصفر

- يكشف عن الببتيدات و البروتينات التي تحتوي على هذه الأحماض الأمينية



التقنيات التجريبية المعنية بمنهاج السنة 3 ع ت

1 التقنيات التجريبية

1.1 . استعمال الواسمات المشعة

● الهدف و المبدأ

لمتابعة مصير بعض الجزيئات في العضوية، في نسيج أو داخل خلية، يمكن استعمال جزيئات تحتوي على نظير مشع *isotope radioactif* استعمالا حيويا *in vivo* أو مخبريا *in vitro*.

هذه الجزيئات التي تحوي نظيرا مشعا (الأكثر شيوعا هي ^{15}N ، ^3H ، ^{14}C ، ^{32}P ، ^{35}S ، ^{18}O) تحتفظ بنفس خصائص الجزيئات غير الموسومة. فهي إذن تُستعمل بنفس الطريقة من طرف العضوية الحية و تُمثل في مكونات الخلية.

النظائر غير مستقرة، فهي تتفكك مرسلّة إشعاعا و الجزيئات التي تحتوي عليها يمكن كشفها بفضل عدّادات إشعاع أو بفضل الآثار التي تتركها على فلم فوتوغرافي (أنظر النقطة 1 . 2).

● التنفيذ

1. يمكن إما حقن الجزيئة المحتوية على العنصر المشع في العضوية الحيوانية أو النباتية، أو إضافتها إلى وسط زرع الخلايا أو العضوية.
2. توجّه الجزيئة نحو مقر استعمالها، أو تمثيلها إن كانت جزيئة طليعة * *precursor* لتكوين جزيئة كبيرة * *macromolécule*.
3. بعض الأنسجة * تبدي إذن إشعاعا يمكن :

- كشفه بفضل آلة تصوير ذات إيماض *scintillation* حسّاس للإشعاع المنبعث من العناصر المشعة؛
- تحديد موضعه بدقة بالتصوير الإشعاعي الذاتي *autoradiographie* (انظر الوثيقة في صفحة الموالية)؛
- معايرته و بالتالي تقييمه كيميا (أنظر المعايرة ، النقطة 1 . 9، الجزء III).
- 4. بعض النظائر توصف بالثقيلة (^{15}N مثلا). كتلتها أكبر من الكتلة العادية للذرة، و بهذا إذا مثلت في جزيئة، تصبح بدورها ثقيلة. يمكن إذن فصل الجزيئات الثقيلة عن الجزيئات العادية بالطرد المركزي متدرج الكثافة *centrifugation en gradient de densité* (انظر النقطة 1 . 5).

① ملاحظة

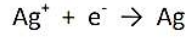
لمعرفة مقر إدماج الجزيئة، يُدخّل الواسم *le marqueur* لفترة قصيرة جدا، ثم يتم إيقاف التفاعلات الخلوية. و بالعكس، إذا أُريد متابعة مصير هذه الجزيئات، مثلا داخل خلية، يجب بعد إضافة النظير مواصلة توفير هذه الذرة بصورة غير مشعة. تؤخذ بعد فترات زمنية منتظمة عينات و تحدد إشعاعيتها. إذا تحرك الإشعاع، فإنه يحدد أماكن مرور الجزيئات المشعة.

1 . 2 التصوير الإشعاعي الذاتي L'autoradiographie

● الهدف و المبدأ

لتحديد موضع العلامات المشعة المستعملة من طرف خلية أو نسيج، تستعمل خاصيتها المتمثلة في إرسال إشعاعات التي تنطبع على الأفلام الفوتوغرافية.

في الواقع، الإشعاعات المنبعثة من ^3H مثلا أو من ^{14}C تتكون من إلكترونات متحررة بسرعة كبيرة جدا ، تُرجع حبيبات برومير الفضة (الموجود في المستحلب) إلى حبيبات الفضة المعدنية (Ag) حسب التفاعل التالي :



هذا التفاعل يحدث فوق التراكم التي أدمجت الذرات المشعة.

● التنفيذ

1. تُدمج طليعة مشعة في وسط زرع خلايا أو تُحقن مادة تحتوي على جزيئة موسومة في عضوية حية.
2. بعد خزع * *biopsie* عضو و تثبيته *، تُنجز مقاطع رقيقة (إذا كان الهدف هو الملاحظة على المستوى الخلوي).
3. تُغسل آثار المادة المشعة التي يمكن أن تنطبع على المستحلب التصويري بطريقة طفيلية.
4. يُلصق المقطع على شريحة زجاجية و يُسكب على المجموع مستحلب تصويري *une émulsion photographique*، أي معلق الجيلاتين و برومير الفضة (أنظر الرسم).
5. يُوضع المجموع في الظلام، من بضعة أيام إلى الكثير من الأسابيع حسب نوع النظير و المادة الحية المستعملة. المستحلب التصويري يُطبع بدقة فوق العناصر المشعة التي تتحلل.
6. يُظهر الفلم. تظهر بقع سوداء صغيرة تمثل حبيبات الفضة في الأماكن التي تحتوي على الجزيئات المشعة. تكفي إذن مقارنة تموضع هذه البقع مع صورة النسيج أو الخلية المدروسة لتحديد التوضع الدقيق للمواد التي تحتوي على الذرات المشعة.

● بعض مجالات استخدام الواسمات المشعة *marqueurs radioactifs*

- إظهار تركيب أو تجديد الجزيئات.
- أليات التضاعف و استنساخ *transcription* الـ *ADN*.
- تحديد مواضع و مراحل تركيب البروتينات.
- تحديد مواضع تخزين الجزيئات عند العضويات الحية.
- تحديد مواضع مستقبلات بعض الهرمونات و الوسائط العصبية.

1 . 3 . التسجيل اللوني *La chromatographie*

● الهدف و المبدأ

في البداية، استخدم التسجيل اللوني لفصل مختلف الأصبغة التي تكوّن اليخضور الخام *la chlorophylle brute*. هذه الأصبغة ملونة، من هنا جاء المصطلح « التسجيل اللوني *chromatographie* » (*chromos* = اللون بالإغريقية).

فالمقصود إذن هو فصل مختلف مكونات مزيج حسب عدة معايير فيزيائية – كيميائية مثل قابلية الذوبان *solubilité* أو أي خاصية كيميائية أخرى.

عند المزج مع مذيب ماء، تنتقل بعض المكونات بالخاصية الشعرية *capillarité* مُتَبعة جبهة هجرة المذيب (مقدمة المذيب أثناء صعوده)، فتصبح أقرب أو أبعد عن نقطة الانطلاق حسب ألفتها للمذيب (أنظر رسم التركيب التجريبي).

● التنفيذ

1. توضع قطرات من المزيج المراد اختباره على دعامة. قد تكون قطعة ورقة ماصة أو عمود من مسحوق أو هلام gel نفوذ permeable.
2. تُغمس الدعامة في المذيب، إن كانت الدعامة ورقية (انظر التركيب التجريبي)، أو يُسكب المذيب على العمود. لتتم هجرة مختلف مكونات المزيج، يستعمل عموماً مذيبات ذات خواص مختلفة (مثلاً ماء + كحول، أسيتون + ماء + إيثر البترول).
3. تُسحب المكونات مع المذيب بسرعات مختلفة فتهاجر لمسافات مختلفة على الدعامة حسب ألفتها للمذيبات.
4. لما تتوقف الهجرة، يحصل غالباً على بقع مختلفة تقابل مختلف الجزيئات التي تكون المزيج الابتدائي. الدعامة المحصل عليها تشكل السجل اللوني * chromatogramme و الذي يمكن أن نتعرف على البقع عليه :
 - إما مباشرة، إذا كانت ملونة طبيعياً، بالمقارنة مع تسجيل مرجعي (مثال. الأصبغة اليخضورية).
 - و إما بعد كشف تموضع المواد بفعل مواد ملوثة إذا كانت المواد المدروسة غير ملوثة (مثال. الأحماض الأمينية).

📌 ملاحظة

● من أجل فصل أكثر دقة، يمكن اختيار إنجاز التسجيل اللوني ثنائي الأبعاد chromatographie bidimensionnelle على الورق. فيتم إنجاز عمليتي تسجيل لوني متتابعتين بإدارة الدعامة الورقية 90° بين المرحلتين مع تغيير المذيب (انظر الرسم).

● يمكن أيضاً دمج هذه التقنية مع استعمال الواسمات المشعة لتحديد مادة من بين عدة مواد، فيتم إنجاز تسجيل لوني بالإشعاع الذاتي autoradiographie du chromatogramme.

● بعض مجالات الإستعمال

- فصل و التعرف على الأصبغة اليخضورية.
- التعرف على الأحماض الأمينية في ناتج إمهة hydrolysat البروتينات.
- التعرف على الأجسام المضادة.
- التعرف على المركبات العضوية الناتجة عن التركيب الضوئي.

1. 4 . الهجرة الكهربائية L'électrophorèse

● الهدف و المبدأ

الهجرة الكهربائية (الرحلان الكهربائي) تتضمن فصل بعض الجزيئات المشحونة إيجاباً أو سلباً، أي متشردة ionisées، حسب أهمية شحنتها الكهربائية و pH الوسط الذي توجد فيه.

مثلاً، في وسط قاعدي، تحمل البروتينات شحنة سالبة، فتسلك سلوك شوارد سالبة anions و تهاجر نحو المصعد l'anode.

عند وضعها في مجال كهربائي، تتحرك هذه الجزيئات بسرعة تتعلق بشحنتها و كتلتها.

● التنفيذ

1. يوضع مزيج الجزيئات المتشردة على دعامة مبللة بمحلول موصل قد تكون ورقاً أو صفيحة هلام تركيبي حسب نوع الجزيئات المدروسة.
2. يعرض المجموع لحقل كهربائي ينشأ عن فرق في الكون مطبق بين مسريين électrodes مغموسين في حوضين مملوئين بمحلول موقفي * tampon.
3. تتحرك الجزيئات إذن بدلالة شحنتها و كتلتها الجزيئية. عند شحنة كهربائية متماثلة، الجزيئات الأخف تهاجر أبعد، و الجزيئات الأثقل تبقى أقرب إلى نقطة الإنطلاق.
4. لما تكتمل الهجرة، يمكن تحديد موضع مختلف الجزيئات بتلوينها أو بملاحظتها تحت أضواء مختلفة. و يتم التعرف عليها بمقارنة النتائج المحصل عليها مع نتائج بنك البيانات للجزيئات الشاهدة.

📌 ملاحظة

في حالة التعرف على قطعة ADN، تصحب هذه الطريقة بالنقل على ورق ترشيح للتهجين hybridation مع مجس sonde مشع ذو تتابع معروف (الطريقة تعرف بـ « Southerne blot » و هو اسم العالم البيولوجي الذي اكتشفها عام 1975). يحصل على سجل إشعاع ذاتي autoradiogramme يمكن مقارنته مع بنك بيانات الـ ADN.

● بعض مجالات الإستعمال

- فصل بروتينات أو بيبتيديات مختلفة الشحنة.
- فصل سلاسل الأحماض النووية.
- تحديد تتابع séquençage الـ ADN.
- انجاز البصمة الوراثية empreinte génétique.

1. 5. الإستخلاص و التجزئة *Extraction et fractionnement*

● المبدأ و الهدف

هذه التقنيات تسمح بفصل مختلف مكونات الخلايا و / أو تحديد طبيعة العناصر الكيميائية التي تكونها.

و بهذا فهي تسمح بالحصول على قطع *fractions* متجانسة *homogènes* من العضيات، قطع عضيات أو الجزيئات التي يمكن دراسة وظيفتها مخبريا.

يمكن فصلها بدلالة أبعادها أو كثافتها، لكن لمختلف مكونات الكائنات الحية كثافات متقاربة جدا، و هذا يتطلب تعريضها للطرد المركزي أي خلق قوة جاذبية اصطناعية لزيادة سرعة ترسيب *sédimentation* (توضع) العناصر.

● التنفيذ

1. تسحق الخلايا بواسطة خلاط *mixeur* أو بواسطة هاون *mortier* و مدقة *pilon* في وسط موقفي * *tamponné* (غالبا السكروز - فوسفات) و بارد لحفظ العضيات و / أو الجزيئات سليمة قدر الإمكان. يحصل على مزيج متجانس من العضيات، قطع الأغشية الخلوية، و الجزيئات في معلق.
2. يوضع المزيج في أنبوب طرد مركزي يحتوي على محلول سكروز مركز.
3. يعرض الأنبوب للطرد المركزي لمدة تتعلق بكثافة العضيات المراد عزلها. العضيات الأكثر كثافة من السكروز تقع في قعر الأنبوب، الأخف تبقى معلقة في السائل الطافي * *le surnageant* (انظر الرسم).
4. تكرر العملية عدة مرات و في كل مرة يؤخذ السائل الطافي، و يتم زيادة تركيز السكروز و سرعة الطرد المركزي *centrifugation*.
5. بهذا يمكننا عزل قطع متتابعة من العضيات و التي نتأكد بالمجهر من نقاوتها، أي تجانسها.

📌 ملاحظة

يمكن أيضا اختيار فصل مختلف العضيات أو الجزيئات بدلالة كثافتها باستعمال تدرج * *gradient* كثافة محلول سكروز. العضيات أو الجزيئات تتجمع أثناء الطرد المركزي في الموضع الذي يوافق كثافتها.

● بعض مجالات الإستعمال

- دراسة عمل الصانعات الخضراء (تفاعل Hill).
- دراسة عمل الميتوكوندريا (التنفس الخلوي).
- فصل و عزل الأحماض النووية أو البروتينات (تجربة Meselson & Stahl، مثلا).

1. 6. الزرع الخلوي و أوساط الزرع

● الهدف و المبدأ

- بهدف المعرفة الأفضل لحاجات الخلايا، مختلف آليات الحياة الخلوية، أو أيضا تأثير العوامل الخارجية أو المواد الكيميائية على النشاطات الخلوية، يمكن زراعة الخلايا مخبريا * *in vitro*.
- الزراعة المخبرية للخلايا لا تسمح للخلايا بالبقاء فقط لكن أيضا بالتكاثر السريع.
- بعض الخلايا، مثل الخميرة، الأسنيات وحيدة الخلية أو البكتريا تتحمل جيدا هذه الطريقة و هي سهلة « التربوية »، لأنها تتكاثر بسرعة.
- تنجز الآن كذلك مزارع لخلايا حيوانية : و تستعمل بشكل شائع مزارع لخلايا الجلد، الخلايا الجنينية، الخلايا المناعية بهدف البحث عن تطبيقات علاجية.

● التنفيذ

1. يستعمل غالبا وسط زراعي سائل أو نصف صلب *semi-solide* (الهلام / الجيلوز * *gélose*).
و الذي يحتوي على كل المواد الضرورية للتغذية لكن أيضا مواد منبّهة لإنقسام الخلايا (بعض الهرمونات مثلا). طبيعتها تختلف حسب نوع الخلايا المزروعة.
2. تضبط مختلف العوامل الخارجية بحيث تزيد تطور الخلايا، مثلا الحرارة و الأوكسجين، لكن أيضا الضوء للخلايا النباتية الخضراء.
3. يزرع في الوسط لئمة / نسيئة *clone* من بضعة خلايا أو عشرات الخلايا في ظروف صارمة من التعقيم * *asepsie*. في الواقع، قد تتلوث المزرعة بسهولة بعضويات مجهرية مثل الفطريات، البكتريا أو الفيروسات.
4. غالبا ما تتم مزامنة المزرعة الخلوية بصدمة حرارية أو كيميائية لتتقسم في نفس الوقت.
5. في بعض الحالات، يمكن إضافة عنصر مشع لوسط إذا كان المراد هو إظهار إدماجه في الخلايا المزروعة.

📌 ملاحظة

في البروتوكولات التجريبية تستعمل عادة بعض الدعائم الزراعية، أوساط مغذية، محاليل فسيولوجية لا يستغنى عنها و التي نحدد خواصها فيما يلي :

- محلول *KNOP* : نيترات الكالسيوم (1g)، نيترات البوتاسيوم (0.25g)، كبريتات المغنيزيوم (0.25g)، فوسفات أحادي البوتاس (0.001g). في لتر ماء مقطر.

الإستعمال : هذا السائل هو السائل المغذي المستعمل للزراعة خارج التربة، و هو يوفر العناصر المعدنية الضرورية للنباتات ذاتية التغذية (N, Ca, K, Mg, S, P) على شكل شوارد.

عند إضافة السكر، مضاد حيوي و مضاد فطريات *antifongique* (لمنع تطور البكتريا و العفنيات *moisissures* على الترتيب) و هرمونات النمو النباتية، نحصل على وسط زراعي مناسب للإقتسال المجهري *microbouturage* (الزراعة في أنبوب الإختبار *cultures in vitro*).

● محلول *RINGER*: كلوريد الصوديوم (6.5g)، كلوريد البوتاسيوم (0.25g)، هيدروجينوكاربونات الصوديوم (0.2g)، كلوريد الكالسيوم (0.3g). في لتر من الماء المقطر.

الإستعمال : هذا المحلول، و مشتقاته التي يمكن تغيير تركيز شواردها هي أوساط قريبة من الوسط الفسيولوجي الذي تسبح فيه الخلايا الحيوانية. لهذا يستعمل للحفاظ على بقاء بعض العناصر الحيوانية (قلب الرخويات، العصب ...).

● الجيلوز *Gélose* : مصطلح جيلوز يشير إلى دعامة نصف سائلة يحصل عليها بإذابة مواد تستخلص غالبا من اشنيات (الأغار *agar* مثلا) في الماء المقطر أو في وسط مغذ. ليس لهذه الدعامة أية قيمة غذائية.

الإستعمال : الجيلوز هو وسط انجاز العديد من الزراعات (البكتريا، سورداريا *Sordaria* ...) و التجارب (انجاز سجل المضادات الحيوية *antibiogramme*، اختبار مناعي ...).

● بعض مجالات الإستعمال :

- زراعة خلايا الجلد (قبل التطعيم الذاتي *autogreffe* بالجلد مثلا) خلايا الدم أو الخلايا الأصلية للدم؛
- زراعة الخلايا الجنينية للتشخيص قبل وادي (قبل وادي) *dépistage prénatal*؛
- زراعة البكتريا في حالات التحويل الوراثي *transgénèse*، الاستنساخ *clonage* قبل تحديد تتابعات الـ *ADN*؛
- الحصول على الأجسام المضادة وحيدة النسيلة *anticorps monoclonaux* بزرع الخلايا للمفاوية؛
- انجاز الطوابع النووية *caryotypes*؛
- الإقتسال الدقيق *microbouturage* للنباتات انطلاقا من خلايا مؤدة *méristème*؛
- الإنتاج الصناعي للهرمونات و الأجسام المضادة.

1 . 8 . استئصال و تخريب، قطع و ربط، الطعوم و حقنها

● الهدف و المبدأ

لتحديد العلاقات بين الأعضاء، دور أو طريقة تأثير عضو أو نسيج * *tissu*، يلجأ غالبا إلى تجارب الإستئصال *ablation*، التخريب، القطع أو الربط. كما يمكن أيضا إنجاز طعوم *greffes* الأعضاء أو حقن الخلايا أو الجزئيات.

و هي تقنيات تستعمل أساسا لدراسة طرق الإتصال بين الأعضاء، الفسيولوجيا *physiologie* العصبية و الهرمونية بصورة خاصة، أو عمل الجهاز المناعي.

● التنفيذ

- الإستئصال *ablation* يتضمن سحب عضو (غدة *glande* مثلا) أو نسيج بهدف تحديد تأثير غيابه على العضوية أو على بعض المقادير البيولوجية.
- التخريب يتضمن إلحاق الضرر بمنطقة محددة من عضو. عواقب مثل هذه العملية تسمح بإيضاح الدور المحدد للمنطقة المخربة.

- **القطع section** يتضمن أن تلغى جراحيا الرابطة بين عضوين. أثره يسمح بتحديد طريقة الإتصال بين تراكيب تشريحية محددة، مثلا العلاقات العصبية، القنوات، الأوعية الدموية.
- **الربط ligature** يتضمن أيضا أن تلغى بصورة مؤقتة أو دائمة الرابطة التشريحية (الأوعية الدموية أو القنوات غالبا) بين بنيتين، للتأكد من أن هذا الطريق يسمح بتفريغ الخلايا أو الجزيئات المفردة (إفراز خارجي exocrine). مثلا، بربط القنوات الدافقة يمكن تعقيم *stériliser* حيوان ذكر.
- **التطعيم greffe** هو العملية العكسية للإستئصال لأنه يتضمن إعادة زرع البنية في العضوية.

⦿ تنبيه

في حالة الطعم، في الظروف التجريبية، لا تُسترجع إلا الإتصالات الدموية. أما العصبية فلا تُسترجع. هذا الدليل يسمح بفهم لماذا تستعمل تجارب التطعيم لإظهار الإتصال من النوع الهرموني داخل العضوية.

- **الحقن injection** يتضمن أن يُدخل في العضوية، غالبا عن طريق الدم، مادة كيميائية أو بيولوجية. قد تكون خلاصة عضوية لا تحتوي على خلايا (خلاصة نسيجية، مصل الدم، هرمونات) أو خلاصة خلوية (خلايا الصعترية، نخاع العظم، بعض خلايا الدم المنقاة سابقا).

● بعض مجالات الإستعمال

- إظهار طرق الإتصال بين الأعضاء؛
- إظهار الدور المنظم لبعض الأعضاء؛
- آليات الإستجابة المناعية؛
- آليات عمل الجهاز العصبي.