

υπολογισμός της διάρκειας των σταδίων της μίτωσης

Γενικά

Στη δραστηριότητα αυτή θα παρατηρήσουμε τις φάσεις του κυτταρικού κύκλου σε κύτταρα ακρόριζου κρεμμυδιού με κατάλληλη χρώση για την παρατήρηση των χρωμοσωμάτων.

Η δραστηριότητα περιλαμβάνει τρία μέρη

Θεωρητικό υπόβαθρο

Μίτωση λέγεται η διαδικασία του πολλαπλασιασμού των ευκαρυωτικών κυττάρων, φυτικών και ζωικών, από ένα αρχικό κύτταρο σε δύο θυγατρικά. Η διαδικασία αυτή γίνεται με τέτοιο τρόπο, ώστε τα δύο κύτταρα που θα προκύψουν να έχουν ποιοτικά και ποσοτικά το ίδιο γενετικό υλικό, τόσο μεταξύ τους, όσο και με το αρχικό κύτταρο. Παρόλο που η μίτωση αποτελεί ένα συνεχές φαινόμενο, για πρακτικούς λόγους τη χωρίζουμε σε δύο επί μέρους διαδοχικές διαδικασίες: την πυρηνική και την κυτταροπλασματική διαίρεση. Την πυρηνική διαίρεση την χωρίζουμε σε τέσσερα βασικά στάδια, που δεν είναι πάντα σαφώς διαχωρισμένα μεταξύ τους. Η κυτταροπλασματική διαίρεση σηματοδοτεί και το τέλος του κυτταρικού κύκλου.

Στόχοι

Μετά από αυτή τη δραστηριότητα οι μαθητές θα είναι σε θέση:

- να χειρίζονται εργαστηριακό εξοπλισμό και υλικά
- να κατασκευάζουν νωπά εργαστηριακά παρασκευάσματα
- να αναγνωρίζουν τα στάδια του κυτταρικού κύκλου

1 μέρος

Υλικά - Εξοπλισμός

Ακρόριζα κρεμμυδιού
Χρωστική (οξικό καρμίνιο ή πράσινο του μεθυλίου)
Αντικειμενοφόροι & καλυπτρίδες
ξυραφάκι Bic Astor stainless
ύαλος ωρολογίου
Υδροβολέας με H_2O
Οπτικό μικροσκόπιο

Το οξικό καρμίνιο είναι διάλυμα σκόνης καρμινίου, που την προμηθευόμαστε από το εμπόριο σε 45% CH_3COOH . Είναι χρωστική με βασικές ιδιότητες κατάλληλη για τη χρώση πυρήνων.

Παρασκευή: 0,5 g οξικού καρμινίου, 45 ml αιθανόλης, 55 ml αποσταγμένο νερό. Θερμαίνουμε σε κωνική φιάλη μέχρι βρασμού για 4-5 ώρες. Στη συνέχεια, ψύξη και διήθηση.

Διαδικασία

Προετοιμασία υλικού

Πλένουμε καλά τα ξηρά κρεμμύδια και τα τοποθετούμε σε πλαστικά ποτήρια, με το κάτω άκρο να βυθίζεται σε νερό, ώστε να αναπτυχθούν τα ακρόριζα.

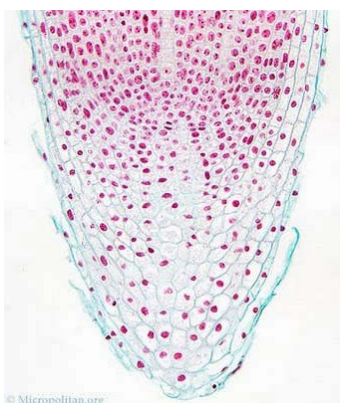
Η ανάπτυξη των ακρόριζων απαιτεί τουλάχιστον 2-3 μέρες.

Επειδή η μίτωση γίνεται το βράδυ, κόβουμε βράδυ τις ρίζες του κρεμμυδιού και τις βάζουμε σε λίγο ξύδι, για να τις παρατηρήσουμε την άλλη μέρα.

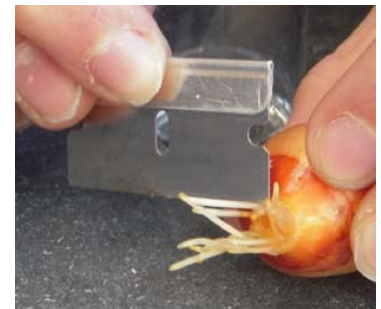


Πορεία του πειράματος

Αφαιρούμε τα ακρόριζα με ξυραφάκι. Κρατάμε το κατώτερο τμήμα το οποίο τοποθετούμε σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Ξεπλένουμε με νερό.



Τα κύτταρα που εμφανίζουν έντονη μιτωτική δραστηριότητα εντοπίζονται στο μερίστωμα της ρίζας.

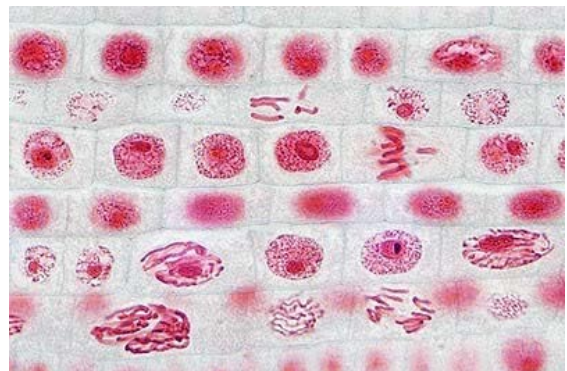


Το παρασκεύασμα

Κόβουμε από το άκρο της ρίζας ένα κομμάτι μήκους 0,5 cm. Αφαιρούμε μικρό τμήμα (1mm) από το άκρο του, διότι στα κύτταρα αυτής της περιοχής δε γίνονται συνήθως κυτταρικές διαιρέσεις (μιώσεις). Τα υπόλοιπα 4 mm της ρίζας τα τοποθετούμε πάνω σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Ρίχνουμε μια σταγόνα χρωστικής και ξεπλένουμε.

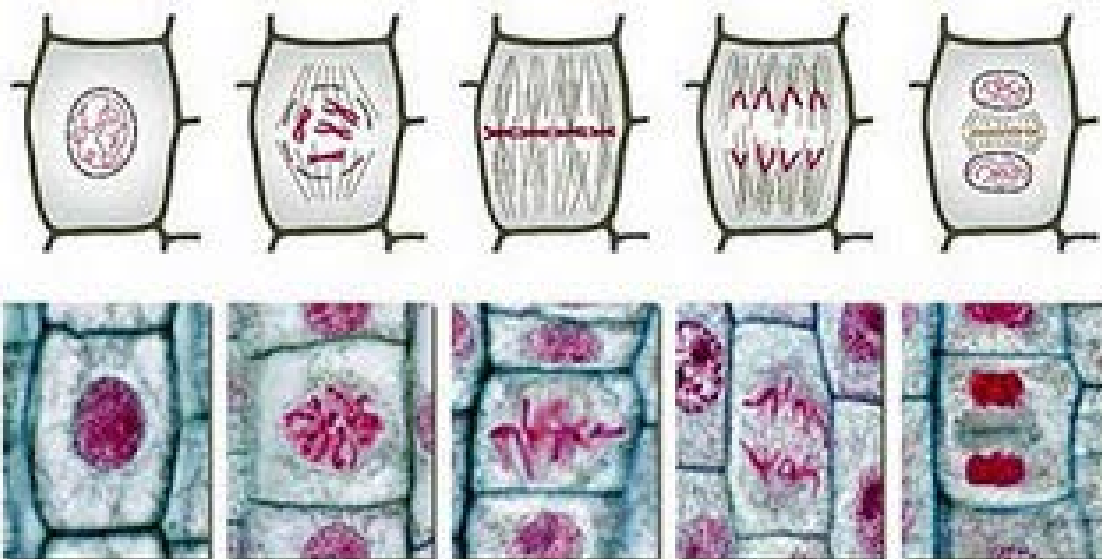
1. Πάνω στην μία αντικειμενοφόρο πλάκα τοποθετήστε το τμήμα του ακρόριζου κρεμμυδιού μήκους 5 mm, που έχετε κόψει από το κρεμμύδι που βρίσκεται στον πάγκο του καθηγητή, χρησιμοποιώντας το ξυραφάκι.
2. Στη συνέχεια, κόβετε με το ξυραφάκι και απομακρύνετε από το νωπό παρασκεύασμα το τμήμα της ακραίας περιοχής (1 mm) του ακρόριζου.
3. Προσθέστε πάνω στο νωπό παρασκεύασμα 1 σταγόνα χρωστικής (οξικό καρμίνιο ή πράσινο του μεθυλίου). Αφήστε να βάψει το νωπό παρασκεύασμα για 1-2 λεπτά.
4. Πολύ προσεκτικά, ξεπλένετε με νερό την πλεονάζουσα χρωστική, χρησιμοποιώντας τον υδροβολέα, εντός της υάλου ωρολογίου, ώστε ακόμη και αν μετακινηθεί το ακρόριζο από την αντικειμενοφόρο πλάκα, στην χειρότερη των περιπτώσεων να πέσει εντός της υάλου ωρολογίου που είναι εύκολο να ανακτηθεί.
5. Τοποθετήστε την καλυπτρίδα πάνω στην αντικειμενοφόρο πλάκα.
6. Πάνω από αυτήν τοποθετήστε μια δεύτερη αντικειμενοφόρο πλάκα, την οποία και πιέζουμε προσεκτικά, ώστε να διαλυθεί το ακρόριζο.
7. Απομακρύνετε την δεύτερη αντικειμενοφόρο πλάκα. Τώρα, το νωπό παρασκεύασμά σας είναι έτοιμο για παρατήρηση στο μικροσκόπιο.

Αναγνωρίζουμε τα κύτταρα από το τετραγωνικό σχήμα τους και από την παρουσία μεγάλων σχετικά πυρήνων. Φέρνουμε στο κέντρο του οπτικού πεδίου, διαδοχικά, κύτταρα των οποίων ο πυρήνας βρίσκεται σε κάποιο στάδιο της μίτωσης, και τα παρατηρούμε με μεγέθυνση Χ40.



Μετράμε τα κύτταρα ανάλογα με την φάση του κυτταρικού κύκλου στην οποία βρίσκεται το καθένα.

ΜΕΣΟΦΑΣΗ ΠΡΟΦΑΣΗ ΜΕΤΑΦΑΣΗ ΑΝΑΦΑΣΗ ΤΕΛΟΦΑΣΗ



2 μέρος

Προσδιορισμός της χρονικής διάρκειας των φάσεων του κυτταρικού κύκλου

Ας υποθέσουμε ότι ο αριθμός των κυττάρων σε μια φάση αποτελεί ένδειξη του χρόνου που διαρκεί αυτή η φάση κατά την πορεία της μίτωσης. Ο χρόνος παραμονής σε μια φάση μίτωσης και στη μεσόφαση μπορεί να υπολογιστεί εάν είναι γνωστός ο συνολικός χρόνος για την μίτωση. Τα κύτταρα του κρεμμυδιού χρειάζονται 24 ώρες (1440 λεπτά) να συμπληρώσουν ένα κυτταρικό κύκλο. Ο χρόνος που απαιτείται για μια φάση μπορεί να υπολογιστεί χρησιμοποιώντας τον ακόλουθο τύπο:

$$\text{χρόνος διάρκειας μιας φάσης} = \frac{\text{αριθμός των κυττάρων στη φάση}}{\text{συνολικός αριθμός καταμετρηθέντων κυττάρων}} \times 1440 \text{ min}$$

Παράδειγμα: Αν μετρήθηκαν 109 κύτταρα στη μετάφαση, σε σύνολο 980 κυττάρων, τότε η διάρκεια της μετάφασης είναι:

$$\frac{109}{980} \times 1440 = 160 \text{ min}$$

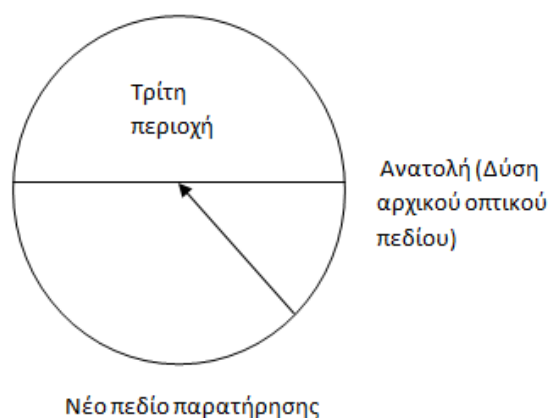
Οδηγίες μικροσκοπικής παρατήρησης και καταμέτρησης κυττάρων στις φάσεις του κυτταρικού κύκλου.

1. Τοποθετήστε κατάλληλα το παρασκεύασμα Νο6 πάνω στην τράπεζα εργασίας και σταθεροποιήστε το με το δεξί πείστρο του φωτονικού μικροσκοπίου.

2. Ξεκινώντας από τη μικρότερη μεγέθυνση (4x), εστιάστε σταδιακά και προσεκτικά στη μεγέθυνση 40x (τελική μεγέθυνση: 400 φορές).
3. Χρησιμοποιώντας τους κοχλίες τράπεζας, φροντίστε ώστε το κυκλικό οπτικό σας πεδίο να είναι γεμάτο κύτταρα (δηλαδή να μην υπάρχουν κενά). Φροντίστε να μην περιλαμβάνονται σε αυτό κύτταρα της ακραίας περιοχής.
4. Θεωρώντας ότι το βέλος παρατήρησης λειτουργεί ως ακτίνα στο κυκλικό οπτικό πεδίο, η αιχμή του βέλους δείχνει ακριβώς στο κέντρο του πεδίου. Σε αυτήν την περίπτωση, η οριζόντια διάμετρος του κυκλικού πεδίου, που ορίζεται από την κυτταρική σειρά του παρασκευάσματος, το χωρίζει σε δύο ημικύκλια, το επάνω ημικύκλιο, στο οποίο δεν περιλαμβάνεται το βέλος (**πρώτη περιοχή**), και το κάτω ημικύκλιο, το οποίο περιέχει το βέλος (**δεύτερη περιοχή**), ή αντίστροφα (ανάλογα με το που βρίσκεται το βέλος παρατήρησης) (**Σχήμα 1**).
5. Κάντε καταμέτρηση των κυττάρων των δύο περιοχών σύμφωνα με τις φάσεις του κυτταρικού κύκλου όπου ανήκουν, και συμπληρώστε τις πρώτες 2 στήλες του πίνακα του φύλλου εργασίας που σας έχει δοθεί.
6. Αφού έχετε ολοκληρώσει με τις δύο περιοχές, χρησιμοποιώντας τους κοχλίες εργασίας, μετατοπίστε προς τα δεξιά την τράπεζα εργασίας κατά μήκος ίσο με μία διάμετρο οπτικού πεδίου, ώστε το σημείο της “Δύσης” να έρθει να ακουμπήσει πάνω στο σημείο της “Ανατολής” του αρχικού οπτικού πεδίου. Φροντίστε ώστε πάνω στο σημείο της “Ανατολής” να βρίσκεται κύτταρο γνωστής φάσης του κυτταρικού κύκλου, ως σημείο αναφοράς, για να βεβαιωθείτε ότι έχετε κάνει μετατόπιση της τράπεζας κατά μία διάμετρο ακριβώς (**Σχήμα 2**).
7. Τώρα, έχετε μπροστά σας ένα νέο οπτικό πεδίο, που ορίζει δύο νέα ημικύκλια (**Σχήμα 2**). Επιλέγετε, σύμφωνα με το **βήμα 4**, ένα από αυτά (το επάνω ή το κάτω) και κάνετε καταμέτρηση των κυττάρων σύμφωνα με τις φάσεις του κυτταρικού κύκλου όπου ανήκουν. Καταγράφετε τα αποτελέσματά σας στην τρίτη στήλη (**τρίτη περιοχή**) του πίνακα του φύλλου εργασίας.



Σχήμα 1



Σχήμα 2

8. Υπολογίστε τον συνολικό αριθμό κυττάρων της κάθε φάσης του κυτταρικού κύκλου, καθώς και τον συνολικό αριθμό κυττάρων και καταγράψτε τα αποτελέσματά σας στην τέταρτη στήλη του πίνακα.
9. Χρησιμοποιώντας τον τύπο, υπολογίστε τον χρόνο (σε min) κάθε φάσης και καταγράψτε τα αποτελέσματά σας στην πέμπτη στήλη του πίνακα.

ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ

Καταμετρήστε συνολικά τα κύτταρα σε τρεις περιοχές του παρασκευάσματος και καταγράψτε τα αποτελέσματα στον παρακάτω πίνακα. Καλό θα είναι να καταμετρηθούν τουλάχιστον 20 κύτταρα σε κάθε περιοχή.

ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ					
φάση	πρώτη περιοχή	δεύτερη περιοχή	τρίτη περιοχή	συνολικός αριθμός κυττάρων στη φάση	χρόνος σε min
Μεσόφαση					
Πρόφαση					
Μετάφαση					
Ανάφαση					
Τελόφαση					
συνολικός αριθμός					

Μετά το τέλος της πειραματικής διαδικασίας αφήνουμε τους μαθητές να απαντήσουν στις ερωτήσεις του Φύλλου Εργασίας δίνοντας τον κατάλληλο χρόνο.