المعمل الثالث

الانقسام الخلوي

الإنقسام الميتوزي Mitosis أو الجسمي Somatic division أو العادي Ordinary أو غير المباشر Indirect. و هذا الإنقسام هو المسئول عن تضاعف وزيادة عدد الخلايا في جسم الكائن الحي مع تعويض الخلايا التالفة.

الانقسام الميتوزي Mitotic Division

تنقسم النواة الى نواتين متماثلتين تماما ومتطابقتين مع النواة الامية من حيث عدد وشكل الكروموسومات.

يسبق مراحل الانقسام طور بيني Interphase or Metabolic Stage مقسم الى ثلاث مراحل:

مرحلة النمو الاولى **G1** First Growth Stage وفيها تتضاعف محتويات الخلية.

مرحلة البناء **S** DNA Synthesis Stage وفيها يتضاعف ال DNA.

مرحلة النمو الثانية **G2** Second Growth Stage وفيه يتم تكوين الانزيمات اللازمة لعملية الانقسام.

<u>اطوار الانقسام الميتوزي Mitotic Division Stages</u>

١- الطور التمهيدي Prophase Stage

تبدأ الكروموسومات في التحلزن – يتحلل الغشاء النووي - تتحلل النوية – تبدأ خيوط المغزل في الظهور.

٢- الطور الاستوائي Metaphase Stage

اكتمال تكوين خيوط المغزل – اتصال السنترومير بخيوط المغزل - انتظام الكروموسومات فى خط استواء الخلية.

٣- الطور الانفصالي Anaphase Stage

انشقاق السنترومير – انكماش خيوط المغزل – تحرك كل مجموعة من الكروموسومات الى احد قطبي الخلية.

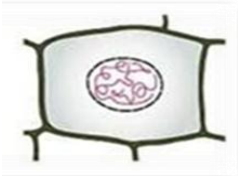
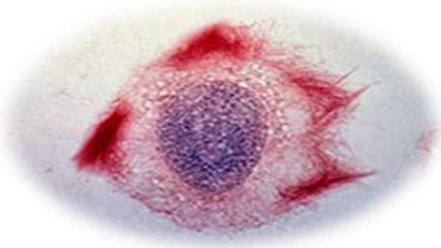
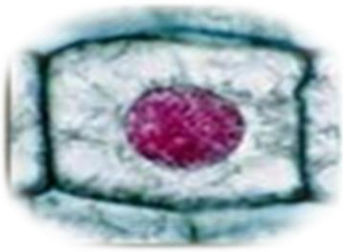
٤- الطور النهائي Telophase Stage

اختفاء تمايز الكروموسومات – تكوين النوية – ظهور الغشاء النووي.

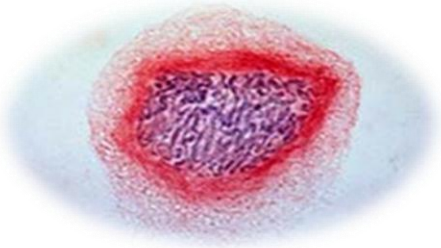
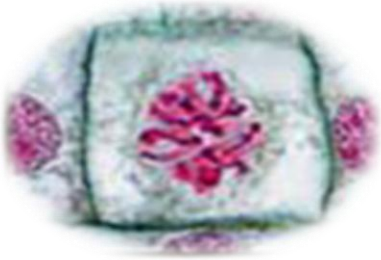
تعقب هذه المراحل انقسام السيتوبلازم Cytokinesis وحدوث تخثر في الغشاء البلازمى في الخلايا الحيوانية او تكوين الصفيحة الوسطى في الخلايا النباتية حتى يتم انقسام الخلية الى خليتين متطابقتين تماما ومتماثلتين مع الخلية الأمية.

Mitotic Division Stages

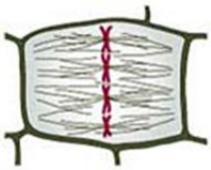
Interphase stage

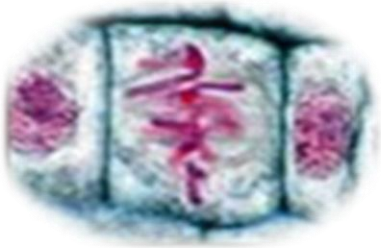




Prophase stage

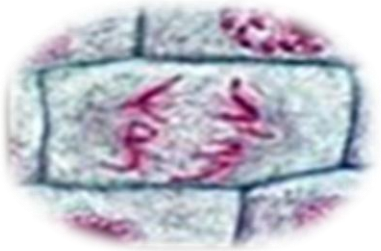



Metaphase stage

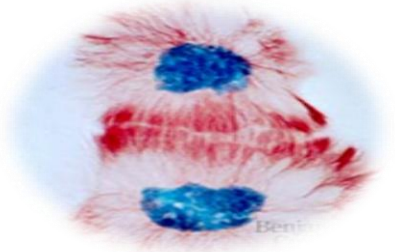
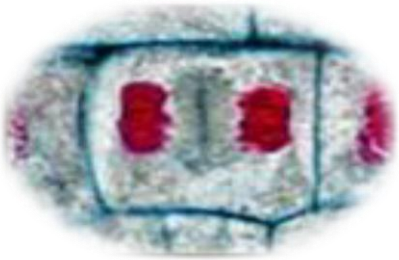


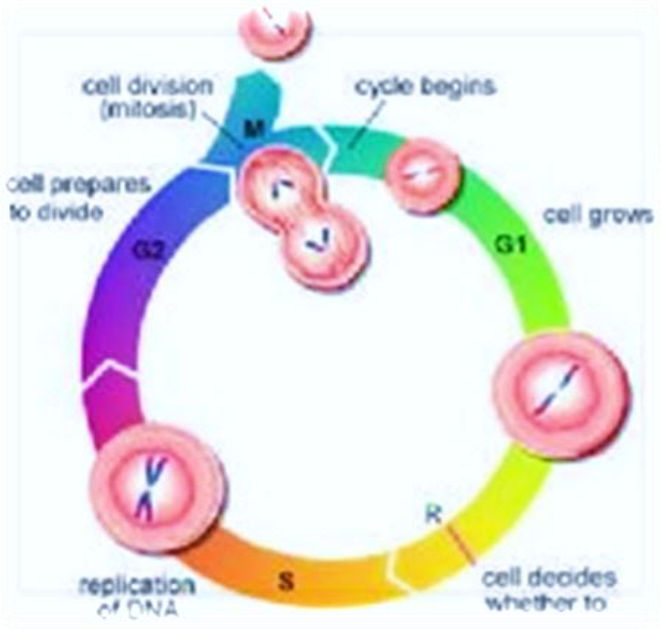


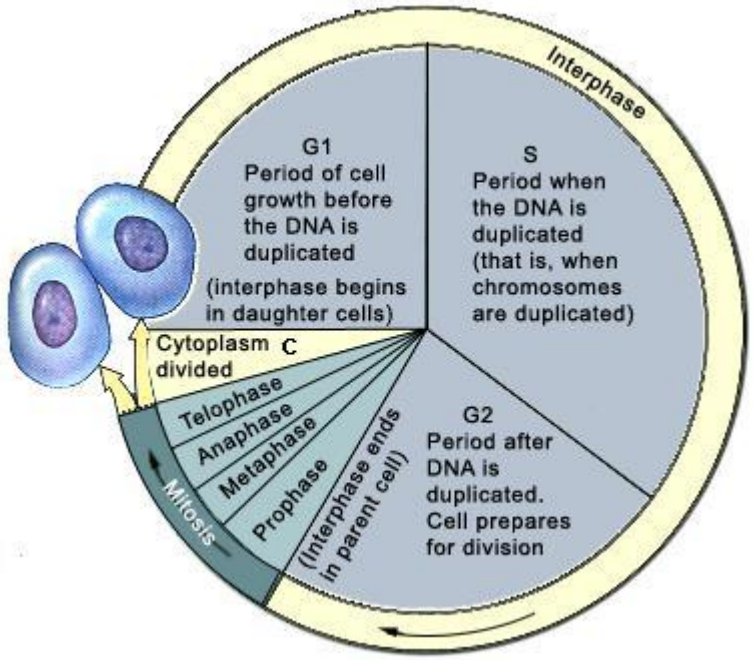
Anaphase stage



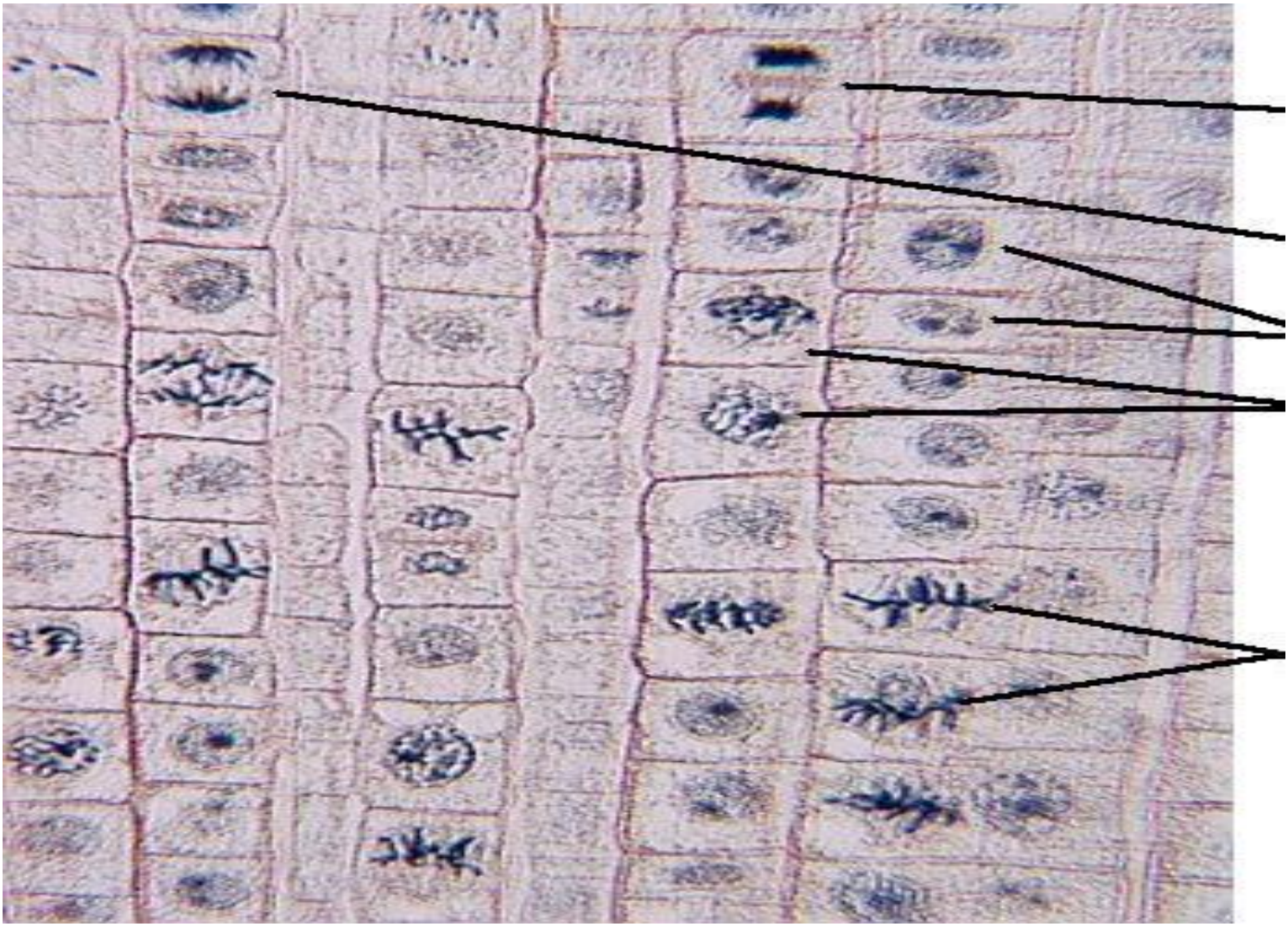
Telophase stage





The Cell Cycle



تعرق على اطوار الانقسام في هذه الشريحة

تحضير شرائح لدراسة مراحل الإنقسام الميتوزي (غير المباشر)

يفضل استخدام الأنسجة المريستيمية في القمم النامية للجذور وبراعم الأوراق لدراسة الإنقسام الميتوزي.

الادوات والمواد المستخدمة

اطباق بتري – ورق ترشيح – شرائح ميكروسكوبية – غطاء شرائح – ميكروسكوب – ابرة – مشرط – ملقاط.

كحول ايثيلي – حامض خليك ثلجي – كلوروفورم - حامض هيدروكلوريك – صبغة للكروموسومات – بوتاسيوم ميتابايسلفيت – فحم.

طريق تحضير المحاليل

١- محلول كارنوي: ٣ كحول ايثيلي ٩٥% : ١ حامض خليك ثلجي. يحضر مباشرة قبل عملية القتل.
٢- محلول فارمر: ٦ كحول ايثيلي ٩٥% : ٣ حامض خليك ثلجي : ١ كلوروفورم. يحضر مباشرة قبل عملية القتل.
٣- صبغة فولجين: ١ جم فوكسين + ١٠٠ ملل ماء مقطر مغلي مع الرج للاذابة - ترشح في زجاجة بنية – يضاف ٣٠ ملل من محلول ١ N من حامض الهيدروكلوريك – يضاف ٣ جم من بوتاسيوم ميتابايسلفيت – توضع في مكان مظلم عند درجة حرارة الغر فة لمدة ٢٤ ساعة – يضاف ١ جم فحم – ترج جيدا – ترشح في زجاجة بنية – تخزن عند درجة ٢ درجة مئوية و تكون الصبغة عديمة اللون.
٤- صبغة الاسيتوكارمن: ٢ جم من صبغة الكارمن + ١٠٠ ملل من حامض خليك ثلجي ٤٥% - تغلى لمدة دقيقتين – تبرد وترشح في زجاجة بنية.
٥- صبغة الاوراسين: ٢.٢ جم من مسحوق الاورسين + ١٠٠ ملل حامض خليك ثلجي – تغلى ببطء – تبرد وتحفظ في زجاجة بنية. و عند الاستعمال تخفف الي تركيز ٤٥% ثم ترشح.

طريقة العمل

١- مرحلة الزراعة cultivation: ينمي البصل في الماء في درجة حرارة الغرفة حتى يصل طول الجذور حوالي ٣ – ٤ سم. و يمكن تنمية حبوب الفول حتى ظهور الجذور الثانوية واستخدامها في الدراسة.
٢- مرحلة القتل والتثبيت killing and fixation: تقطع المناطق الطرفية (المريستيمية) من الجذور النامية (٠.٥ – ١ سم) . و توضع في محلول كارنوي او محلول فارمر لمدة ٢٤ ساعة - تغسل العينات بالماء من ٢ – ٣ مرات - يمكن حفظ العينات في الثلاجة بعد وضعها في كحول ٧٠% لحين الإستعمال.
عملية التثبيت هي قتل مفاجئ للنسيج لوقف كل العمليات والأنشطة الحيوية بداخل الخلية بدون احداث تشوه لمكونات الخلية.
٣- مرحلة التحلل المائي hydrolysis : تعامل الجذور بـ ١ ع حامض الهيدروكلوريك عند درجة حرارة ٦٠ درجة مئوية لمدة حوالي ٥ دقائق - يزال حامض الهيدروكلوريك بحرص باستخدام ورق ترشيح.
تساعد هذه العملية علي تفكيك الروابط البروتوبلازمية وتليين الجدر الخلوية وبالتالي يسهل هرس هذه الجذور وفرد النسيج النباتي، وظهوره في صورة صفوف من الخلايا غير متراكبة فوق بعضها البعض.
٤- مرحلة الصباغة staining: توضع الجذور في صبغة خاصة بصبغ الكروموسومات فقط أي مادة ال DNA لمدة ٤ ساعات.
الاصباغ المستخدمة في صباغة ال DNA هي : صبغة فولجن feulgen – صبغة الاسيتوكارمين acetocarmine – صبغة الاوراسين orasin.
٥- مرحلة الهرس squashing: تقطع القمة النامية المرستيمية المصبوغة من الجذر (حوالي ٢ مم) علي شريحة زجاجية نظيفة جافة في قطرة من ٤٥ % حامض خليك ثلجي - يتم هرس الجزء المريستيمي بإستخدام الإبرة للحصول علي مجموعة من الخلايا - يوضع غطاء الشريحة علي العينة النباتية ويضغط برفق بين طيات ورق الترشيح لإنتشار الخلايا وطرد فقاعات الهواء.
٦- مرحلة الفحص Examination : تفحص العينة بواسطة الميكروسكوب بالقوة الصغرى ثم القوة الكبرى.

لعمل شريحة دائمة تمرر العينات في محاليل من الكحول الاثيلي بتركيزات ٣٠% - ٥٠% - ٧٠% - ٩٥% - ثم محلول من كحول ايثيلي مطلق و زيلول بنسبة ١:١

تجفف الشريحة ويوضع عليها نقطة من كندا بلسم وتترك في الفرن عند ٢٥ درجة مئوية لتجف.