



University of Isfahan
Biological Science and Technology
Department of Cell and Molecular
Biology
Cellular and Molecular Laboratory
Farzaneh Forouharfar

آزمایشگاه سلولی و مولکولی - فرزانه فروهرفر

محاسبه زمان لازم برای هر یک از مراحل تقسیم سلولی میتوز در موجودات مختلف

مقدمه

در آزمایش قبل با مراحل تهیه لام میکروسکوپی از نوک ریشه پیاز به منظور مشاهده مراحل مختلف تقسیم سلولی میتوz مورد بررسی قرار گرفت. سوالی که مطرح میشود این است که زمان مراحل مختلف تقسیم سلولی میتوz چه مدت است؟ این پرسش میتواند با شمارش تعداد سلولها در هر کدام از مراحل میتوz و مرحله ایترفاز پاسخ داده شود. تعداد زیاد سلولها در یک مرحله خاص از میتوz بیانگر این است که آن مرحله از میتوz نیاز به مدت زمان بیشتری برای کامل شدن دارد و برعکس، تعداد اندک سلولها در یک مرحله خاص از میتوz بیانگر کوتاه بودن آن مرحله از نظر زمانی است.

مثالاً اگر تعداد سلولهای موجود در مرحله پروفاز در ریشه پیاز ۸۰ عدد و تعداد سلولهای موجود در مرحله متافاز ریشه پیاز ۴۰ عدد بود و تعداد سلولهای مشاهده شده در مرحله آنافاز، ۴ عدد و تعداد سلولها در مرحله تلوفاز ۱۲ عدد بود، بیانگر این موضوع است که مرحله پروفاز نسبت به سایر مراحل طولانی ترین و مرحله آنافاز کوتاه‌ترین مرحله میباشد. میتوz یکی از پدیدههای جالب و قابل مشاهده به وسیله میکروسکوپ نوری در سلولهای زنده است و یک پدیده ممتد میباشد اما به دلیل سهولت در مطالعه در مراحل تفکیک شده میتواند مورد بررسی قرار گیرد و عوامل مؤثر و مدت زمان انجام هر مرحله شناسایی گردد.

برای مثال سیکل سلولی در مگس سرکه ۸ دقیقه طول می کشد که ۳ دقیقه آن به تقسیم سلولی میتوز اختصاص دارد و در انسان معمولاً سکل سلولی ۲۶-۱۶ ساعت می باشد که تقسیم سلولی حدود ۳۰ دقیقه تا یک ساعت را شامل می شود. زمانبندی مراحل مختلف تقسیم سلولی میتوز در سلول های مختلف با هم فرق دارند و با توجه به شرایط عملکردی سلول متفاوت است.

گاهی روند طبیعی چرخه سلولی از لحاظ زمان تقسیم از کنترل خارج می شود و سلول ها بدون وقفه تقسیم شده و سلول های دختری به زودی وارد چرخه سلولی بعدی می شوند. این حالات در سلول های جنینی و سلول های توموری دیده می شود که در حالت تومور سرطانی بافت های اطراف را مورد تهاجم قرار می دهند در مقابل در برخی از سلول ها تقسیم به کندی صورت می گیرد و یا اصلاً تقسیم نمی شوند.

این نوع سلول ها از فاز G_0 خارج شده و وارد فاز G_1 می شوند. در این مرحله سلول برای تقسیم آماده نمی شود و فقط وظائف عملکردی خود را انجام می دهد. مثلا نورون ها پیام عصبی تولید می کنند و سلول های کبدی کربوهیدارت ذخیره می نمایند. این مرحله برای برخی از سلول ها داخلی بوده و برخی دیگر در صورت دریافت پیام یا سیگнал تحریکی، تقسیم می شوند.

در سلول های طبیعی رشد و تقسیم سلولی تحت کنترل است و تعداد سلول های جدید نزدیک به تعداد سلول هایی است که از بین می روند.



مواد و وسایل مورد نیاز

مواد و وسائل مورد نیاز

۱. پیاز
۲. کارمن استیکی
۳. بشر، پلیت، شیشه ساعت
۴. شعله
۵. لام و لامل
۶. پنس
۷. میکروسکوپ

روش کار

مانند آزمایش قبل تعدادی لام لازم از نوک ریشه پیاز های جوان و تازه در منطقه تقسیم سلولی آماده کنید. یک لام را انتخاب کرده و در زیر میکروسکوپ قرار دهید . ابتدا با بزرگنمایی کمتر مناطقی از لام که جهت مشاهده سلول های در حال میتوуз و اینترفاز مناسب هستند انتخاب نمایید سپس با بزرگنمایی بیشتر شروع به شمارش سلول های موجود در هر مرحله از چرخه سلولی بنمایید. بعد از شمارش سلول های موجود در یک میدان دید میکروسکوپی لام را جهت شمارش سلول ها در میدان های دید جدید حرکت دهید.

و تعداد سلول ها برای هر کدام از مراحل میتوуз و مرحله اینترفاز را شمارش و در جدول ثبت نمایید. و این عمل را برای میدان های دید بعدی تکرار نمایید . سپس تعداد کل سلول های شمارش شده هر مرحله از میتوуз و اینترفاز برای کل فیلد های میکروسکوپی شمارش شده را مطابق جدول زیر یادداشت نمایید

نتایج شمارش سلول‌های هر یک از مراحل مختلف تقسیم سلولی میتوz و اینترفاز:

زمان بر حسب دقیقه	تعداد کل سلول‌های موجود در هر مرحله	لام اول	لام دوم	لام سوم	لام اول	نام مرحله
اینترفاز						
پروفاز						
متافاز						
آنافاز						
تلوفاز						
تعداد کل سلول‌های شمارش شده						

اگر تعداد سلول های موجود در هر مرحله ،معرف زمان لازم جهت تکمیل آن مرحله در طی چرخه سلولی باشد، با استفاده از فرمول زیر می توان زمان مورد نیاز برای انجام و تکمیل هر مرحله را محاسبه نمود.

مدت زمان انجام یک مرحله از چرخه سلولی(برحسب دقیقه)=

$$\frac{\text{تعداد سلول های موجود در آن مرحله}}{\text{تعداد کل سلول های شمارش شده}} \times$$

به این ترتیب چون مدت زمان انجام و تکمیل چرخه سلولی در پیاز ۱۲ ساعت یا ۷۲۰ دقیقه طول می کشد، اگر تعداد سلول های موجود در مرحله متافاز ۱۰۹ عدد و تعداد کل سلول های شمارش شده ۹۸۰ عدد شمارش شده باشد زمان لازم برای مرحله متافاز طبق محاسبه‌ی زیر ۸۰ دقیقه می باشد:

$$720 \times \frac{109}{980} = 80$$

بنابراین با توجه به داده‌های حاصل از آزمایش زمان لازم برای هر مرحله از میتوуз را محاسبه و در جدول فوق بنویسید و طولانی‌ترین مرحله و کوتاهترین مرحله میتوуз از نظر زمانی را گزارش نمایید و با توجه به داده‌های آزمایش نمودار دایره‌ای زمان لازم برای هر کدام از مراحل میتوуз را رسم نمایید.

از موجودات مختلف که شرایط مناسب تهیه لام را داشته باشند، لام کروموزومی تهیه و مدت زمان کلیه مراحل فوق را در آنها با هم مقایسه کنید.