التدريب المعملي الثاني
الإنقسام الميوزي Meiosis

تعتبر البرمائيات Amphibians والزواحف Reptilians الحيوانات المفضلة لدراسة الانقسام الميوزى في الحيوان.

الاحتياجات: ذكور من السحالي – شرائح مجهرية – أغطية للشرائح – لهب كحولي – محلول فارمر – صبغة – كحول إثيلي .

الطريقة الأولى:

١- يجمع الذكور أثناء موسم التناسل وتستخرج الخصى (يمكن استخدام خصي من سحلية ، ضب ، ملجة، ضفدعة ... الخ) .
٢- تقطع الخصي إلى قطع صغيرة وتوضع في محلول فارمر للقتل والتثبيت لمدة ٢-٣ أيام عند درجة حرارة الغرفة.
٣- تؤخذ قطعة صغيرة من الخصية ١-٢ مم وتوضع على شريحة بها قطرة من صبغة الكارمن أو الأورسين وتترك لمدة ٢-٣ دقائق أو حتى يصبح لون القطعة داكناً . ثم تقطع القطعة المصبوغة إلى أجزاء صغيرة بواسطة شفرة أو إبرة تشريح .
٤- يوضع غطاء الشريحة ويضغط عليه برفق لفصل الخلايا عن طريق الهرس squashing.
٥- تسخ الشريحة فوق لهب كحولي لإزالة الصبغة من السيتوبلازم وإظهار الكروموسومات .
٦- تستعمل طريقة التجميد Freezing حيث توضع الشريحة في قالب من الثلج الجاف لمدة ٦٠ ثانية أو أكثر (ويمكن وضع الشريحة في فريزر) . ينزع غطاء الشريحة في كحول اثيلي مطلق Absolute ethanol لمدة ٥ دقائق ثم يغير الكحول مرتين لمدة ٢ دقيقة في كل مرة . تزاح الشريحة من الكحول وتحمل باليوباارول Euparol أو كندا بلسم أو DPX. (وهذه الطريقة تستخدم في كل التحضيرات الكروموسومية).

الطريقة الثانية:

١- يوزن الحيوان ثم يحقن بالكولجسين Colchecine لمدة ساعتين إلى ثلاث ساعات.
٢- يشرح الحيوان وتستخرج الأجزاء التي يراد تحضير الكروموسومات منها (كبد-بنكرياس-مناسل الخ) .
٣- توضع العينات في 3 مل من 01. % سترات الصوديوم وتهرس وتترك لمدة ١٠-١٢ دقيقة .
٤- تخض العينات في جهاز الطرد المركزي لمدة ٤ دقائق عند ٣ ألف دورة في الدقيقة .
٥- تزال الطبقة العلوية من السائل بعد إخراج العينات من الجهاز .
٦- يضاف للعينة ٣ مل من الكارنوي ثم يرج الخليط جيداً ثم يترك لمدة ١٠-١٥ دقيقة .
٧- توضع العينات مرة أخرى في جهاز الطرد المركزي لمدة ٤ دقائق ثم تزال الطبقة العلوية .
٨- يضاف للراسب ١ مل من الكارنوي ثم يرج الخليط ويوضع في الجهاز لمدة ٤ دقائق ثم يزال الجزء العلوي من السائل ويترك الراسب وتكرر هذه الخطوة ثلاث مرات .
٩- تخرج العينات من الجهاز ويزال السائل العلوي ثم يضاف ١ مل من الكارنوي ثم يرج ولتوضع نقاط من العينة علي الشرائح الموجودة على Hot plate .
١٠- صبغ العينات بالجيمزا (١:٩) ثم تترك الشرائح حتى تجف تماماً ثم توضع في زايلين.
١١- تجفف الشرائح من الزايلين ثم يوضع عليها المثبت وتغطي ثم تفحص تحت عدسة ١٠٠ .

التمرين :

١- افحص الشريحة التي حضرتها تحت المجهر .
٢- سجل مراحل الانقسام الميوزى في الحيوان .
٣- أرسم خلية ممثلة لكل مرحلة من مراحل الانقسام الميوزى .
٤- بين الاختلاف بين الخلايا في الشريحة التي حضرتها وشرائح الانقسام الميوزى في الحيوان التي وفرها لك الأستاذ .

محلول فارمر للقتل والتثبيت Farmer's solution

٣ أجزاء كحول إيثيلى مطلق Absolute Ethanol

١ جزء حامض خليك ثلجي glacial acetic acid أو حامض بروبيونيك propionic acid .

يخلط الكحول مع الحمض قبل الاستخدام مباشرة . وظيفة محلول فارمر هي القتل الفجائي للعمليات الحيوية في الخلايا وتصلب أجزاء الخلية المختلفة لتحافظ على شكلها ومكانها الطبيعي بحيث لا يتغير تركيب المكونات في الخلية بالتثبيت .