

Laboratorijsko delo: Mitotska delitev v koreninskih vršičkih

Biologija, Gimnazija Bežigrad

Profesor: prof. Gregor Križ
Avtor: Anton Luka Šijanec, 1. a

13. junij 2020

Povzetek

Tule so rešitve učnega lista za laboratorijsko vajo *mitotska delitev v koreninskih vršičkih*.

Kazalo

1	Uvod	1
1.1	Namen vaje	1
1.2	Splošno o mitotski delitvi	1
1.3	Opisi posameznih faz	2
1.3.1	Interfaza (faza pred delitvijo celice)	2
1.3.2	Zgodnja profaza	2
1.3.3	Pozna profaza (prometafaza)	2
1.3.4	Metafaza	2
1.3.5	Anafaza	2
1.3.6	Telofaza	2
1.4	Mitotski indeks	3
2	Materiali	3
3	Metoda dela	3
4	Rezultati	3
5	Diskusija	3
6	Viri in literatura	5
7	Zaključek	6

1 Uvod

1.1 Namen vaje

Namen vaje je spoznavanje različnih faz delitve celice, poglobljanje znanja o celični delitvi in ugotavljanje razlik v mitotski delitvi med rastlinsko in živalsko celico, spoznavanje mitotskega indeksa in njegovega izračuna in raziskovanje celice med posameznimi fazami mitotske delitve.

1.2 Splošno o mitotski delitvi

Mitotska delitev je proces delitve evkariontske celice. Nastali hčerinski celici (celici, ki nastaneta po delitvi) imata enako število istovrstnih kromosomov kot njuna materinska celica (celica, ki se deli) — hčerinski celici sta zato genetsko enaki materinski in med seboj. Mnogoceličarjem mitotska delitev omogoča rast, obnavljanje organizma in tudi razmnoževanje. Pri enoceličarjih je mitotska delitev celice hkrati že razmnoževanje.

V interfazi pred mitotsko delitvijo pride do podvojitve dednega materiala. Mitotska delitev poteka v dveh delih:

1. delitev jedra (kariokineza) / mitoza, ki jo delimo na več zaporednih stopenj:

- 1 profaza
- 2 metafaza

- 3 anafaza
- 4 telofaza

2. delitev citoplazme (citokineza)

Slika 1: Različna stanja mitoze v rastlinski celici

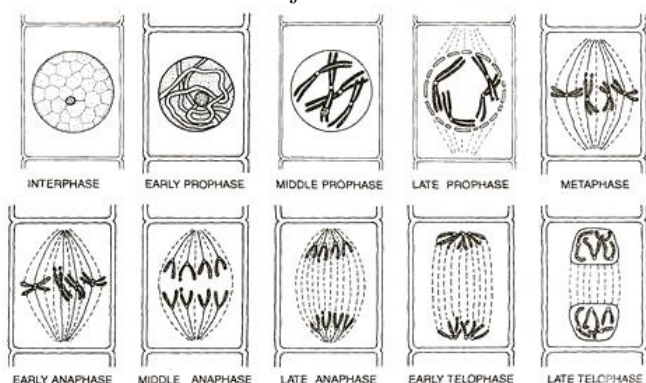
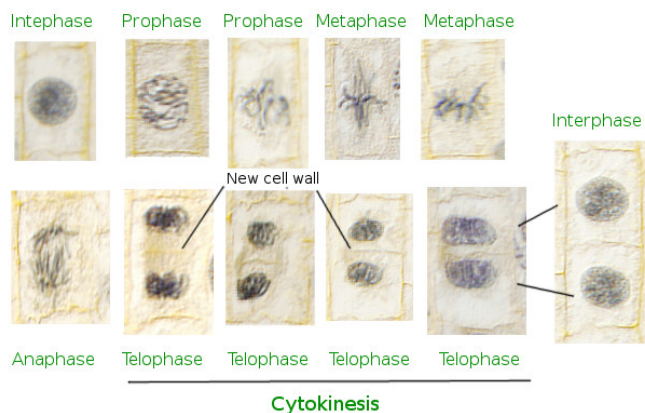


Fig. 10.7. Different stages of mitosis in a plant cell.

Slika 2: Različne faze mitoze v rastlinski celici



1.3 Opisi posameznih faz

1.3.1 Interfaza (faza pred delitvijo celice)

Pred začetkom jedrne delitve se v jedru podvoji dedni material (DNK). Dedni material tvori kromatin, ki je zgrajen iz kromatinskih niti (so molekule DNK, delno navite na histone).

1.3.2 Zgodnja profaza

Kromatinske niti se začnejo zvijati v kromosome, poteče proces spiralizacije kromosomov. Vsak kromosom je sestavljen iz dveh genetsko enakih kromatid (vsako tvori ena zvita molekula DNK). Kromatidi sta med seboj združeni s centromero.

1.3.3 Pozna profaza (prometafaza)

Jedrni ovoj razpade na membranske mešičke, centriola dosežeta pola. Niti delitvenega vretena se zato lahko podaljšajo in se na posameznem kromosomu pritrdijo na centromero.

1.3.4 Metafaza

Niti delitvenega vretena povlečejo kromosome v ekvatorialno ravnino celice. Delitveno vreteno je pritrjeno na centromero kromosoma. Ker so v tej fazi kromosomi najkrajši in najdebelejši, jih najlažje opazujemo (s pomočjo mikroskopa) in primerjamo med seboj.

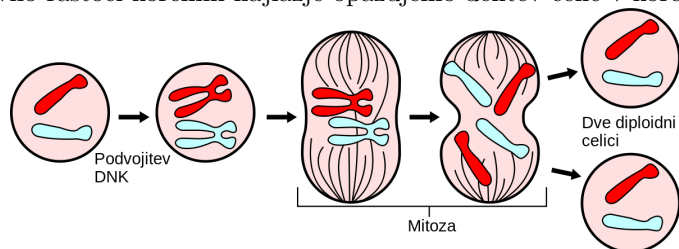
1.3.5 Anafaza

Kromatidi se ločita. Pri tem se vsak dvokromatidni kromosom vzdolžno razdeli na dva enokromatidna kromosoma in niti delitvenega vretena ju potegnejo proti nasprotnim polom celice. Anafaza preide v telofazo, ko kromosomi dosežejo pol.

1.3.6 Telofaza

Delitveno vreteno postopoma izgine in začne se oblikovati jedrni ovoj. Kromosomi se despiralizirajo in oblikujejo kromatin. Istočasno pa se znotraj jedra oblikuje jedrce. Praviloma sočasno teče delitev citoplazme — citokineza.

Slika 3: V aktivno rastoči korenini najlažje opazujemo delitev celic v koreninskem vršičku



1.4 Mitotski indeks

Pri tej vaji boste ugotavljali, koliko časa traja posamezna faza mitotske delitve, če celoten cikel traja 8 ur. Trajanje ugotovimo glede na delež celic, ki se nahajajo v določeni fazi delitve. Izberemo poljubno vidno polje, ga za lažje opazovanje razdelimo na štiri enake dele in razvrstimo celice glede na to, v kateri stopnji celične delitve se nahajajo. Štetje ponovimo še pri ostalih vidnih poljih. Ker od doma opazovanje s pomočjo mikroskopa ni mogoče, boste število celic ugotavljali na podlagi priloženih slik.

2 Materiali

- mikroskopske slike preparatov koreninskih vršičkov
- svinčnik
- papir
- kalkulator

3 Metoda dela

- a) Iz priloženih fotografij mikroskopskih preparatov določite, v kateri fazi mitoze se nahajajo prikazane rastlinske celice. Preštete celice vseh treh vidnih polj (ena slika prikazuje eno vidno polje). Seštevek vpišite v tabelo.
- b) Izračunajte delež celic v mitotski delitvi glede na število vseh opazovanih celic v treh pregledanih vidnih poljih. Izračunajte mitotski indeks (MI) in ga izrazite v %.

Mitotski indeks se izračuna po naslednji formuli:

$$\text{Mitotski indeks (MI)} = \frac{\text{število celic v delitvi}}{\text{število vseh celic}}$$

- c) Glede na rezultate, zbrane v tabeli, izračunajte trajanje posameznih faz, če cel celični cikel traja 8 ur. Rezultat izrazite v minutah.

4 Rezultati

Tabela 1: Trajanje celičnega cikla

Faza	Število celic	Število celic v %	Trajanje celičnega cikla (v minutah)
Interfaza	308+87+237 (362)	87%	420%
Celice v katerikoli fazi mitotske delitve	13+17+22 (52)	13%	60%
Skupaj	414	100%	480 minut

$$\text{MI} = \left(\frac{52}{414} \right) \cdot 100 = 13 \%$$

5 Diskusija

1. **Katero rastlinsko tkivo izberemo za opazovanje faz mitotske delitve? Utemelji svoj odgovor.**

V tej vaji smo izbrali tkivo koreninskih vršičkov rastline. Prav gotovo je to dobra izbira, saj se korenine stalno podaljšujejo, torej se v njih mitoza dogaja vedno z enako hitrostjo, ne glede na količino svetlobe. Prav tako v koreninskih celicah nimamo kloroplastov, ki bi morebiti lahko preprečili natančno opazovanje.

2. Kaj moramo storiti, da lahko opazujemo kromosome s pomočjo mikroskopa? Kako se postopek priprave preparata mitotske delitve razlikuje od priprave običajnega preparata?

Da opazimo jedra, moramo celice najprej prenesti v epruveto s karmin-očetno kislino in jih segrejemo. S tem se celice in jedra obarvajo s kislim očetinom. Nato moramo med objektno in krovno stekelce dovajati vibracije, da celice razpadejo in se razporedijo po površini. S tem zagotovimo možnost enake žariščne razdalje mikroskopa, torej oster pogled na vse celice.

3. Kaj se zgodi, če v celici propade jedro?

Celica bi propadla, ker ne bi bilo več navodil za izgradnjo aminokislin.

Zanimivo je dodati, da ima DNK zapis vgrajeno nekakšno zgoščeno kontrolno vrednost samega sebe, ki omogoča samouničenje celice (propad jedra), v kolikor se zgoščena kontrolna vrednost ne sklada z dejanskimi podatki. To se je verjetno razvilo z evolucijo, saj bi bilo drugače preveč mutacij.

4. Po pregledu celic koreninskega vršička z mikroskopom ugotovimo, da je največ celic v interfazi. Zakaj?

Te celice so bodisi propadle bodisi se pripravljajo na novo delitev. Sama delitev namreč poteka manjši delček obstoja celice, saj med delitvijo celica ne more delati ničesar drugega s tako aktivnostjo kot prej.

5. Uredite pravilno zaporedje naslednjih dogodkov, značilnih za celično delitev:

- | | |
|---------------------------------------------------|--------------------------|
| a) Podvajanje dednega materiala | d) Tvorba celične plošče |
| b) Razporeditev kromosomov v ekvatorialno ravnino | e) Spiralizacija |
| c) Razhajanje kromatid | |

6. V čem se razlikuje citokineza rastlinske in živalske celice? (Pomagaj si z literaturo.)

V živalskih celicah nastane cepilna brazda, ki vsebuje kontraktilni obroč, kjer je bila nekoč metafazna plošča, ki odseka ločena jedra. [1]

Tako v živalskih kot tudi v rastlinskih celicah celično delitev poganjajo tudi vezikli, pridobljeni iz Golgijevega aparata, ki se gibljejo po mikrotubulah do sredine celice. [2]

Pri rastlinah se ta struktura združi v celično ploščo v središču fragmoplasta in se razvije v celično steno, ki ločuje dve jedri.

7. V čem se bistveno razlikujeta delitev prokariotske in evkariotske celice?

Mitoza je del celične delitve, v katerem se replicirana DNK loči na dve polovici delitvene celice. Evkarioti so organizmi, ki vsebujejo celice, ki vsebujejo predele/odseke, vezane na membrano, imenovane organele, kot sta jedro in mitohondriji. Prokarioti na drugi strani nimajo takih predelkov. [3]

8. Kaj nam pove MI in kaj lahko sklepamo na osnovi njegove vrednosti?

Mitotski indeks je opredeljen kot razmerje med številom celic v populaciji, ki preidejo na mitozo, in skupnim številom celic v populaciji.

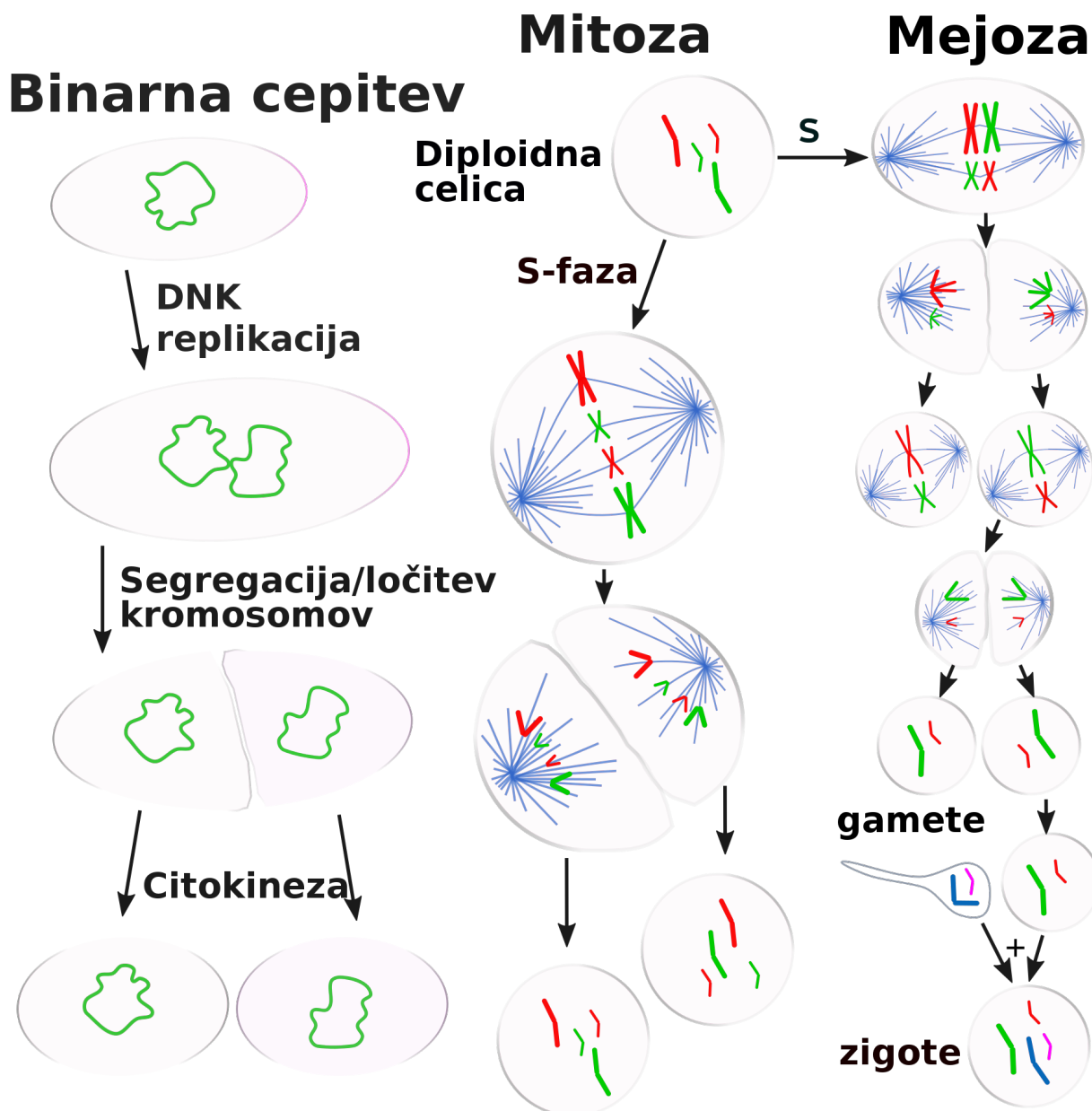
Mitotski indeks je merilo celične proliferacije/celične rasti. [4]

Povišan mitotični indeks pomeni, da se več celic deli. V rakavih celicah je lahko mitotični indeks povišan v primerjavi z normalno rastjo tkiv. [5]

Mitotski indeks je zato pomemben prognostični dejavnik, ki napoveduje celično preživetje kot odziv na kemoterapijo pri večini vrst raka. Pri starejših osebah lahko izgubi večino svoje napovedne vrednosti. Na primer, nizek mitotski indeks izgubi vsako prognostično vrednost pri ženskah, starejših od 70 let, z rakom dojke. [6]

9. Nariši skico živalske celice v različnih fazah delitve.

Slika 4: Trije tipi celične delitve [7]



6 Viri in literatura

- [1] Glotzer, M. *The molecular requirements for cytokinesis*. Marec 2005. *Science*. **307** (5716): 1735–9. Bibcode:2005Sci...307.1735G. doi:10.1126/science.1096896. PMID 15774750. Dostopno na naslovu <https://ž.ga/citokinez>
- [2] Albertson, R.; Riggs, B.; Sullivan, W. *Membrane traffic: a driving force in cytokinesis*. Februar 2005. *Trends in Cell Biology*. **15** (2): 92–101. doi:10.1016/j.tcb.2004.12.008. PMID 15695096. Dostopno na naslovu <https://ž.ga/albertson> (plačljiv članek)
- [3] Mullis, R. *Does Mitosis Occur in Prokaryotes, Eukaryotes, or Both?* [svetovni splet]. Dostopno na naslovu <https://ž.ga/mitoza> (v EU nedostopno)
- [4] Rudolph; idr. *Correlation between mitotic and Ki-67 labeling indices in paraffin-embedded carcinoma specimens*. 1998. *Human Pathology*. **29** (11): 1216–1222. doi:10.1016/s0046-8177(98)90248-9. PMID 9824098. Dostopno na naslovu ž.ga/mi (plačljiv članek)

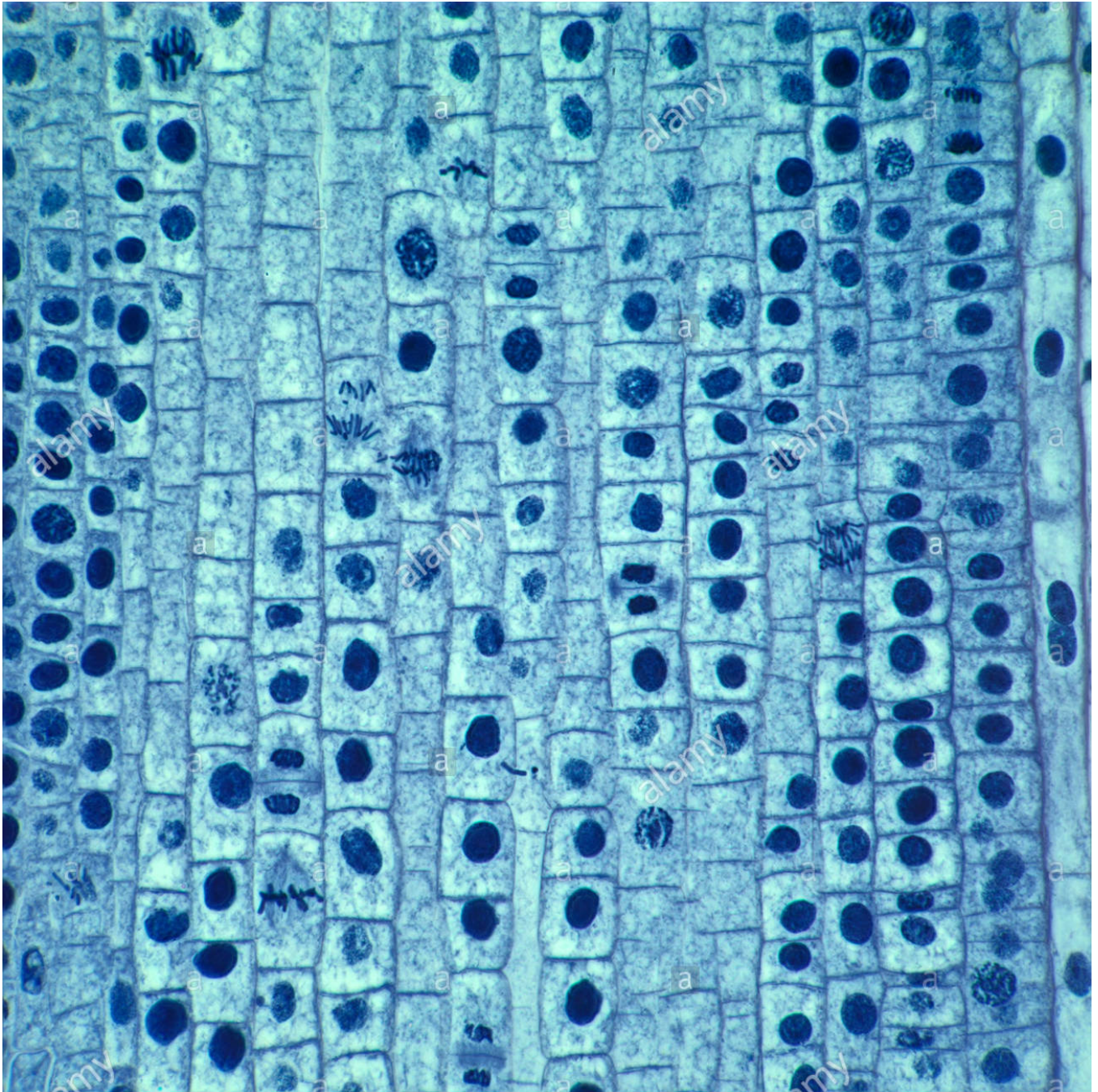
- [5] Urry; idr. *Campbell Biology in Focus*. 2014. Pearson.
- [6] Baak, J. P. A.; Gudlaugsson, E.; Skaland, I.; Guo, L. H. R.; Klos, J.; Lende, T. H.; Sjøiland, H. V.; Janssen, E. A. M.; Zur Hausen, A. *Proliferation is the strongest prognosticator in node-negative breast cancer: Significance, error sources, alternatives and comparison with molecular prognostic markers*. 2008. *Breast Cancer Research and Treatment*. **115** (2): 241–254. doi:10.1007/s10549-008-0126-y. hdl:1956/5701. PMID 18665447. Dostopno na naslovu: [ž.ga/cancer](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18665447)
- [7] domdomegg; Šijanec, A. *Trije tipi celične delitve*. 2020. [svetovni splet]. Dostopno na naslovu: <https://w.wiki/U2e>, CC 4.0 BY-SA

7 Zaključek

Ta dokument je informativne narave in se lahko še spreminja. Najnovejša različica, torej PDFji in L^AT_EX izvorna koda, zgodovina sprememb in prejšnje različice so na voljo mojem šolskem Git repozitoriju na <https://github.com/sijanec/sola-gimb-1-bio> v mapi /vaje/mitoza/. Povezava za ogled zadnje različice tega dokumenta v PDF obliki je <http://razor.arnes.si/~asija3/files/sola/gimb/1/bio/vaje/mitoza/dokument.pdf> in/ali <https://github.com/sijanec/sola-gimb-1-slo/raw/master/vaje/mitoza/dokument.pdf>.

8 Priloge

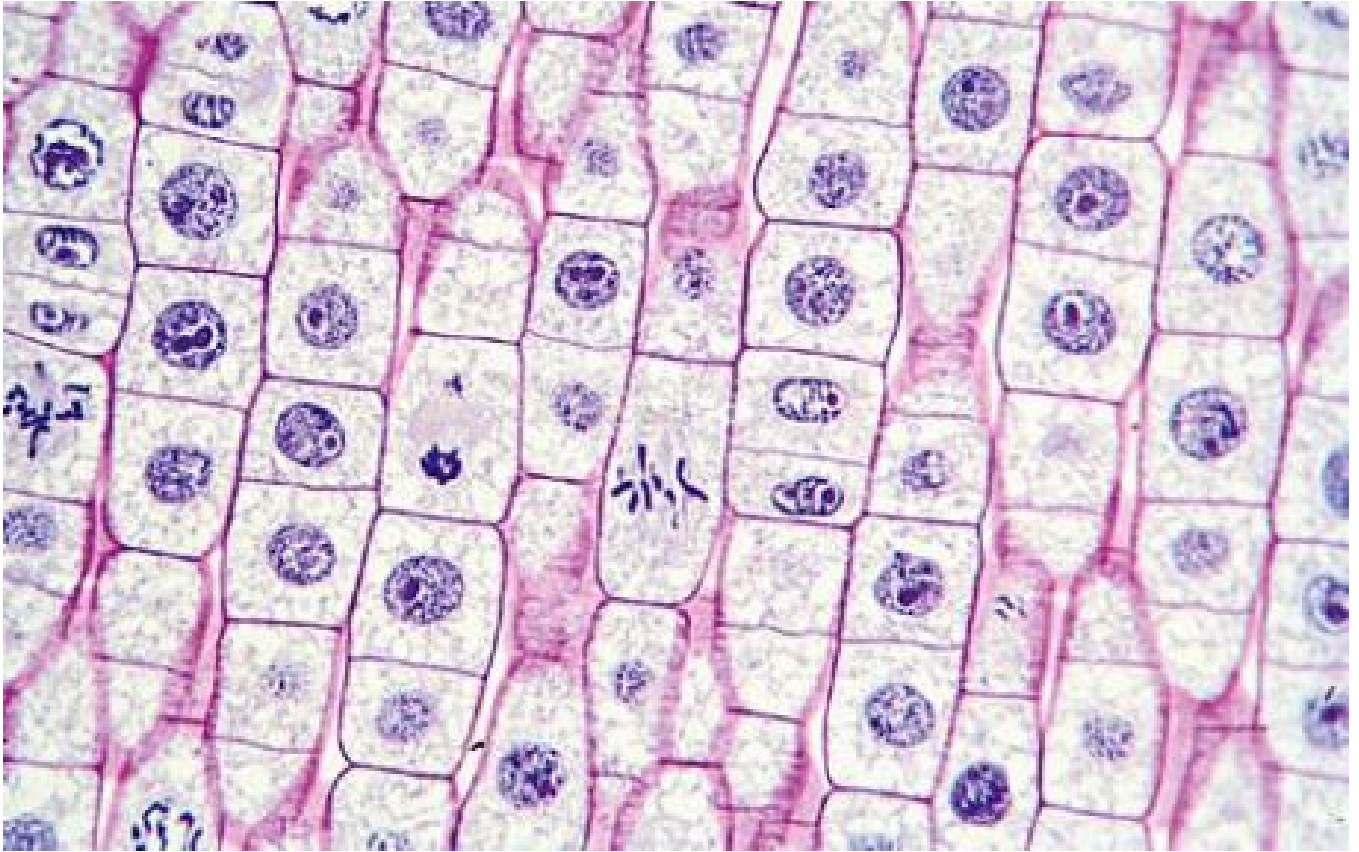
8.1 Mikroskopski preparat rastlinske celice (vidno polje 1)



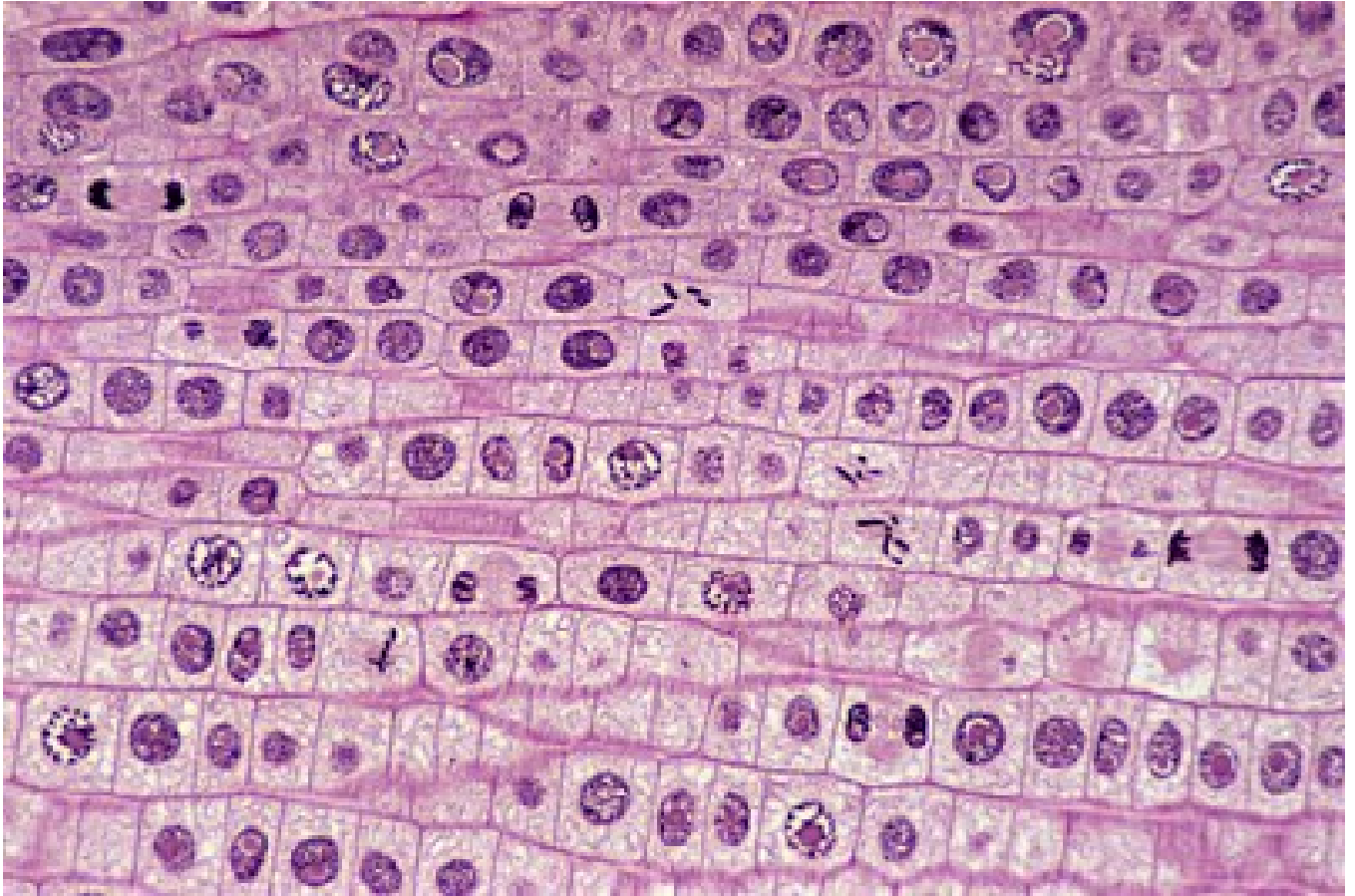
 alamy stock photo

ACYTGC
www.alamy.com

8.2 Mikroskopski preparat rastlinske celice (vidno polje 2)

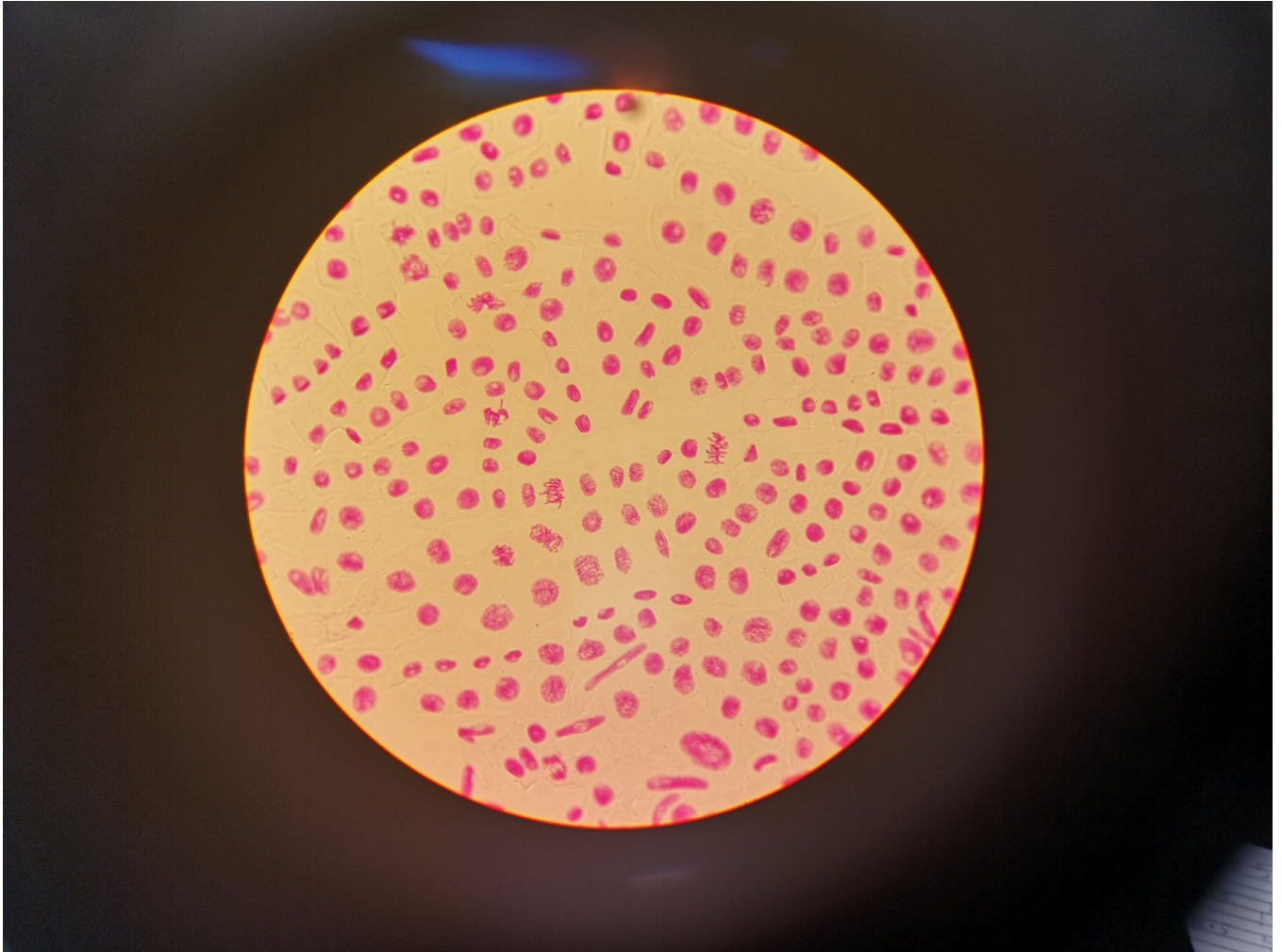


8.3 Mikroskopski preparat rastlinske celice (vidno polje 3)

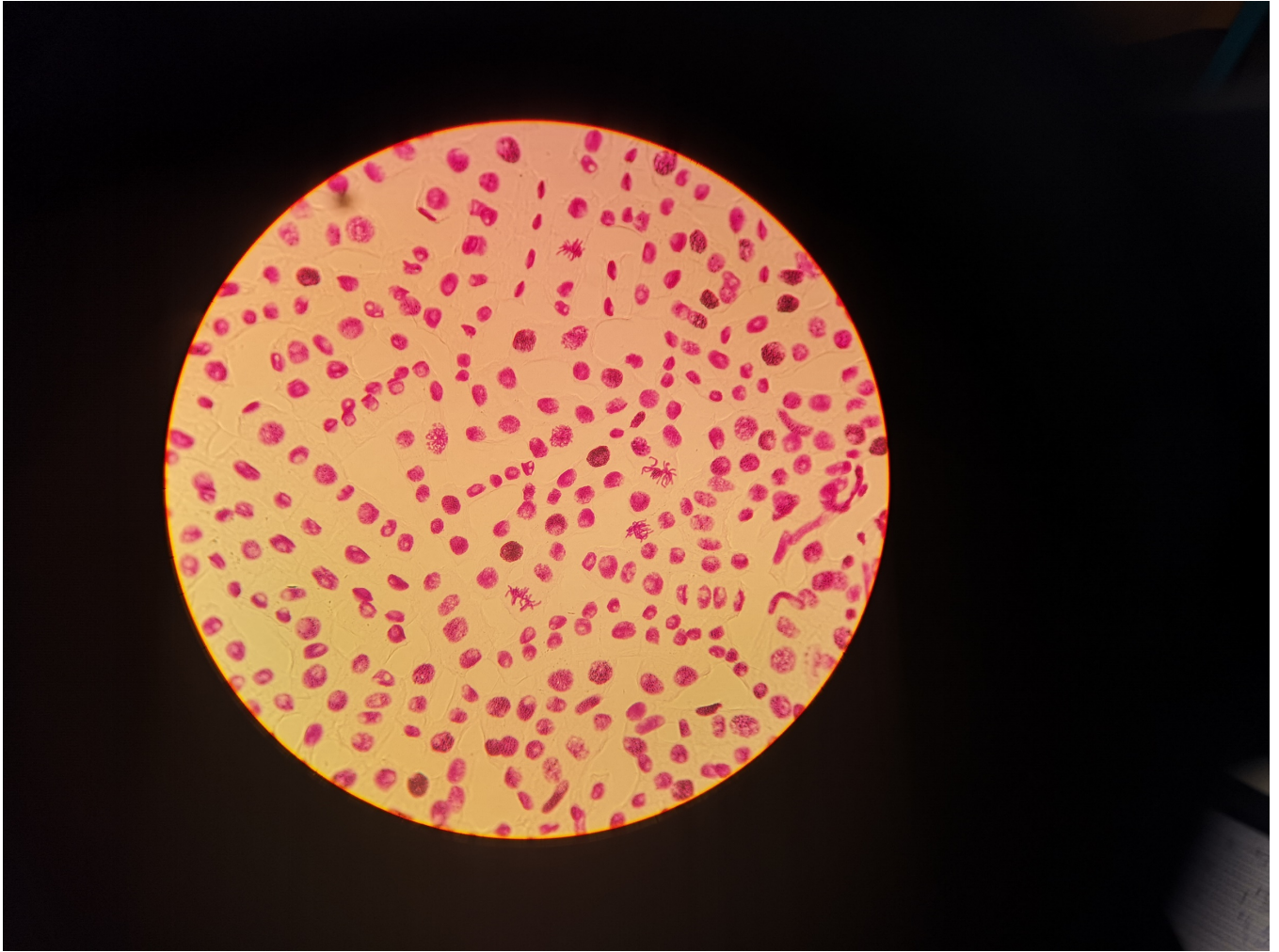


Naslednje štiri fotografije prikazujejo šolske preparate rastlinskih celic v mitotski delitvi. Poskusi prepoznati posamezne faze. Lahko tudi izračunaš mitotski indeks (priloga 4-7)

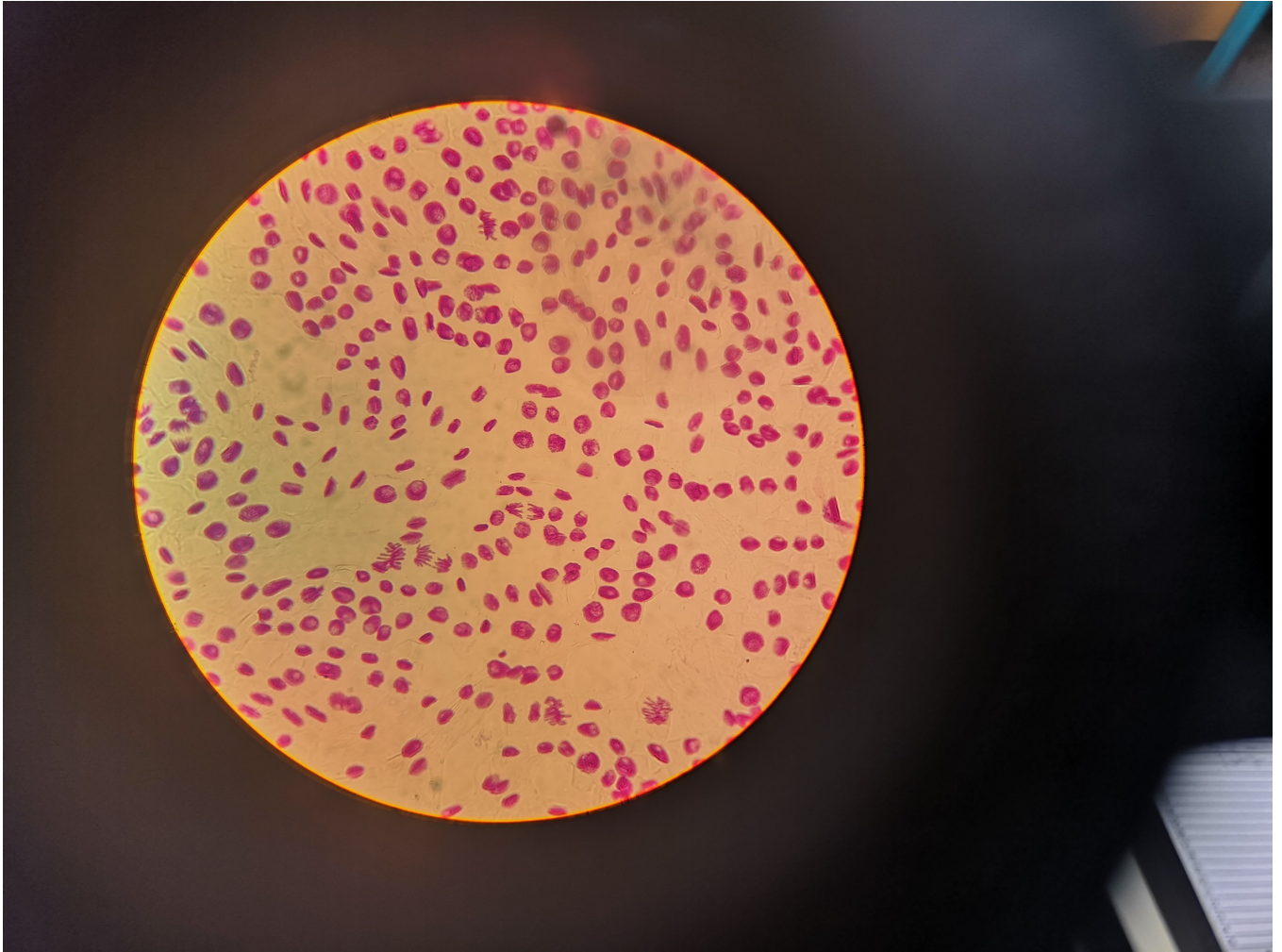
8.4 Mikroskopski preparat rastlinske celice (vidno polje 4) — neobvezno



8.5 Mikroskopski preparat rastlinske celice (vidno polje 5) — neobvezno



8.6 Mikroskopski preparat rastlinske celice (vidno polje 6) — neobvezno



8.7 Mikroskopski preparat rastlinske celice (vidno polje 7) — neobvezno

