

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΠΥΡΗΝΩΝ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Τάξη/τμήμα: _____

Ημερομηνία: ____/____/____

Όνομα ομάδας: _____

Μέλη ομάδας: _____

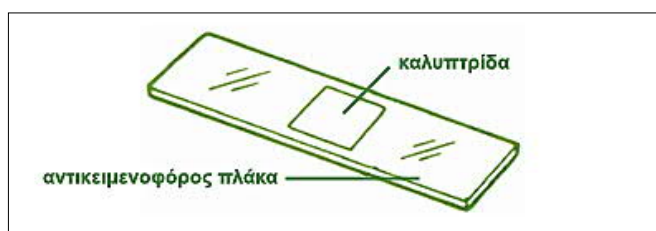
A. Γνώσεις

Τα επιθηλιακά κύτταρα του ανθρώπου είναι ευκαρυωτικά κύτταρα, περιέχουν σχηματοποιημένο πυρήνα. Για να μπορέσουμε να δούμε τα κύτταρα καθώς και τις βασικές κυτταρικές τους δομές, τα χρωματίζουμε με ειδικές χρωστικές. Δύο από αυτές είναι το Πράσινο του Μεθυλίου και το Lugol.

Το **Πράσινο του Μεθυλίου** μία είναι ειδική χρωστική η οποία έχει την ικανότητα να ενώνεται με το DNA του πυρήνα.

Το **Lugol** ανήκει σε ομάδα ουσιών χωρίς χρωμοφόρες ομάδες δηλαδή χωρίς να είναι χρώματα από χημική άποψη αν και χρησιμεύουν ως μικροχημικοί δείκτες γιατί εμφανίζουν χρωματικό αποτέλεσμα.

Στην εργαστηριακή άσκηση θα χρησιμοποιήσετε λεπτά «τζαμάκια», αντικειμενοφόρο πλάκα και καλυπτρίδα. Στην αντικειμενοφόρο θα τοποθετήσετε το δείγμα και με την καλυπτρίδα θα το καλύψετε. Προσοχή στη χρήση τους επειδή έχουν αιχμηρές άκρες και μπορεί να τραυματιστείτε.

**B. Σκοπός - Στόχοι**

Οι στόχοι που έχουμε για τη συγκεκριμένη εργαστηριακή άσκηση είναι:

- να φτιάξετε μόνοι τους νωπό παρασκεύασμα και να το παρατηρήσετε στο μικροσκόπιο
- να κατανοήσετε τη σπουδαιότητα χρήσης των χρωστικών για να μελετούμε τα κύτταρα
- να υπολογίσετε τη συνολική μεγέθυνση στην οποία παρατηρείτε τα κύτταρα και να διαπιστώσετε διαφορές στις λεπτομέρειες ανάλογα με τη μεγέθυνση
- να μάθετε να διατηρείτε ον εργαστηριακό πάγκο σε καλή κατάσταση και να έχετε την υπευθυνότητα να χρησιμοποιείτε ορθά τα εργαστηριακά όργανα

Γ. Βασικές λειτουργίες μικροσκοπίου

Υπενθυμίζω ορισμένες βασικές παρατηρήσεις ως προς τη λειτουργία του μικροσκοπίου:

1. Για να βάλουμε το παρασκεύασμα, κατεβάζουμε την τράπεζα όσο το δυνατόν περισσότερο.
2. Αφού ανάψουμε τη φωτεινή πηγή του μικροσκοπίου, ξεκινάμε την παρατήρηση από τη μικρότερη μεγέθυνση. Αποφεύγουμε να ανάβουμε πολύ το φως, καθώς θα μας στραβώνει και δεν θα μπορούμε να παρατηρήσουμε τίποτα.
3. Τοποθετούμε το παρασκεύασμα στην τράπεζα του μικροσκοπίου και με το μακρομετρικό κοχλία ανεβάζουμε την τράπεζα, έως ότου εστιάσουμε. Όσο προχωράμε σε μεγαλύτερη μεγέθυνση τόσο εντονότερος φωτισμός απαιτείται. Η τελική εστίαση γίνεται με τη βοήθεια του μικρομετρικού κοχλία και με προσεκτικές κινήσεις.
4. Όταν αλλιάζουμε μεγέθυνση και βάζουμε την αμέσως μεγαλύτερη, εστιάζουμε ξανά με τον μικρομετρικό κοχλία (τον μακρομετρικό δεν τον ξαναχρησιμοποιούμε).
5. Όταν αλλιάζουμε τους αντικειμενικούς φακούς θυμόμαστε πως **ΔΕΝ ΒΑΖΟΥΜΕ ΠΟΤΕ ΤΟΝ ΛΕΥΚΟ ΦΑΚΟ, ΜΕΓΕΘΥΝΣΗΣ 100X**. Ουσιαστικά θα χρησιμοποιήσετε μόνο τρεις μεγεθύνσεις.
6. Όταν τελειώνει η εργαστηριακή άσκηση, γυρίζεται τους αντικειμενικούς φακούς στον μικρότερο (4X) και κλείνετε το φως.
7. Η συνολική μεγέθυνση υπολογίζεται από το γινόμενο προσοφθάλμιου (που είναι πάντα 10X) επί αντικειμενικού (που εξαρτάται ποιόν έχετε επιλέξει, 4X ή 10X ή 40X).

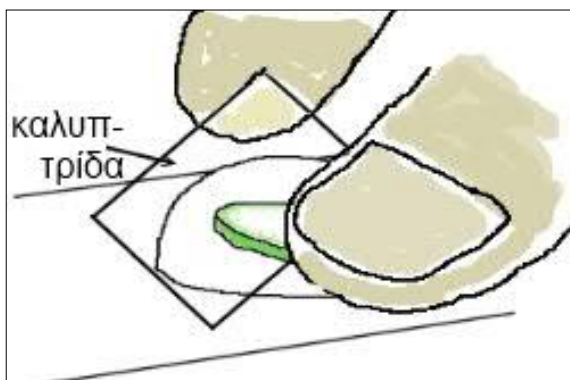
Ερευνητικό Ερώτημα: ποιες δομές σε ένα ζωικό κύτταρο είναι ορατές με ένα οπτικό μικροσκόπιο και πώς επιλέγεται η ανάλογη τεχνική χρώσης;

ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

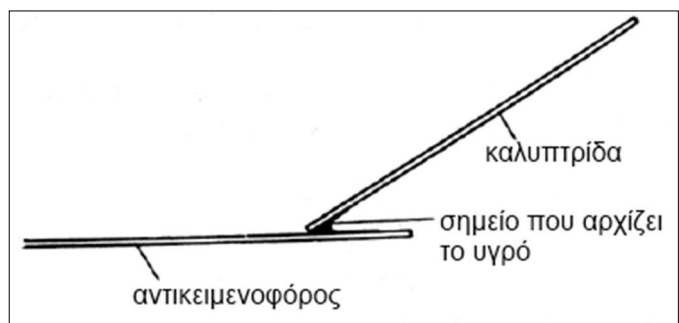
- διάλυμα Lugol, διάλυμα πράσινο του μεθυλίου, δύο αντικειμενοφόρες πλάκες, δύο καλυπτρίδες, διηθητικό χαρτί, υπογλώσσιο για συλλογή επιθηλιακών κυττάρων (ξύλινο ατομικό πίεστρο), χαρτί χαρτοπετσέτας

ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

1. Σε μία αντικειμενοφόρο πλάκα ρίξτε μία σταγόνα διαλύματος Lugol. Σε μία άλλη, ρίξτε μία σταγόνα διαλύματος Πράσινο του Μεθυλίου.
2. Σύρετε το ένα άκρο του πίεστρου (μην πιάνετε το άλλο άκρο, θα το χρησιμοποιήσετε) συλλογής επιθηλιακών κυττάρων επάνω στη γλώσσα σας ή στο εσωτερικό από τα μάγουλα σας (προσέχοντας να μην τραυματιστείτε). Πριν σύρετε το πίεστρο, απομακρύνετε τα σάλια που πιθανόν υπάρχουν στα μάγουλα ή τη γλώσσα για να μην έχει πολλή υγρή το δείγμα σας.
3. Το υλικό που έχετε συλλέξει τοποθετήστε το επάνω στη σταγόνα της αντικειμενοφόρου πλάκας που έχετε ετοιμάσει όπως αναφέραμε στο Βήμα 1 και περιέχει Lugol.
4. Κουνήστε καλά το πίεστρο, ώστε να μείνει στη σταγόνα όλο το υλικό που έχετε συλλέξει από το στόμα σας και να καταμεληθεί ομοιόμορφα.
5. Επαναλάβετε τα βήματα 1, 2, 3 και πάρτε δεύτερο δείγμα από το στόμα σας με το άλλο άκρο του πίεστρου και τοποθετήστε στο διάλυμα με το πράσινο του μεθυλίου.
6. Πετάξτε το πίεστρο στο κομμάτι χαρτοπετσέτας που έχετε
7. Αφήστε τα παρασκευάσματα για 2-3 λεπτά και στη συνέχεια, τοποθετείστε την καλυπτρίδα, υπό γωνία (Εικόνα 2) (την πιάνουμε από το πλάι με τα δύο δάχτυλά μας – αντίχειρας και δείκτης - και ακουμπάμε τη μια της πλευρά στην άκρη της σταγόνας του διαλύματος με το υπό παρατήρηση υλικό και την κατεβάζουμε προσεκτικά, ώστε να καλύψει το παρασκεύασμα, χωρίς να δημιουργηθούν φυσαλίδες αέρα. ΔΕΝ πιάνουμε την καλυπτρίδα από πάνω και από κάτω, γιατί θα θολώσει από υλικά που υπάρχουν στα δάχτυλά μας – Εικόνα 1).

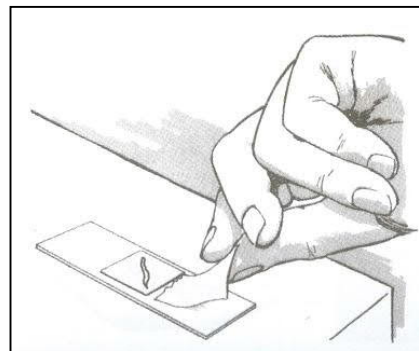


Εικόνα 1. Τοποθέτηση καλυπτρίδας με δάχτυλα



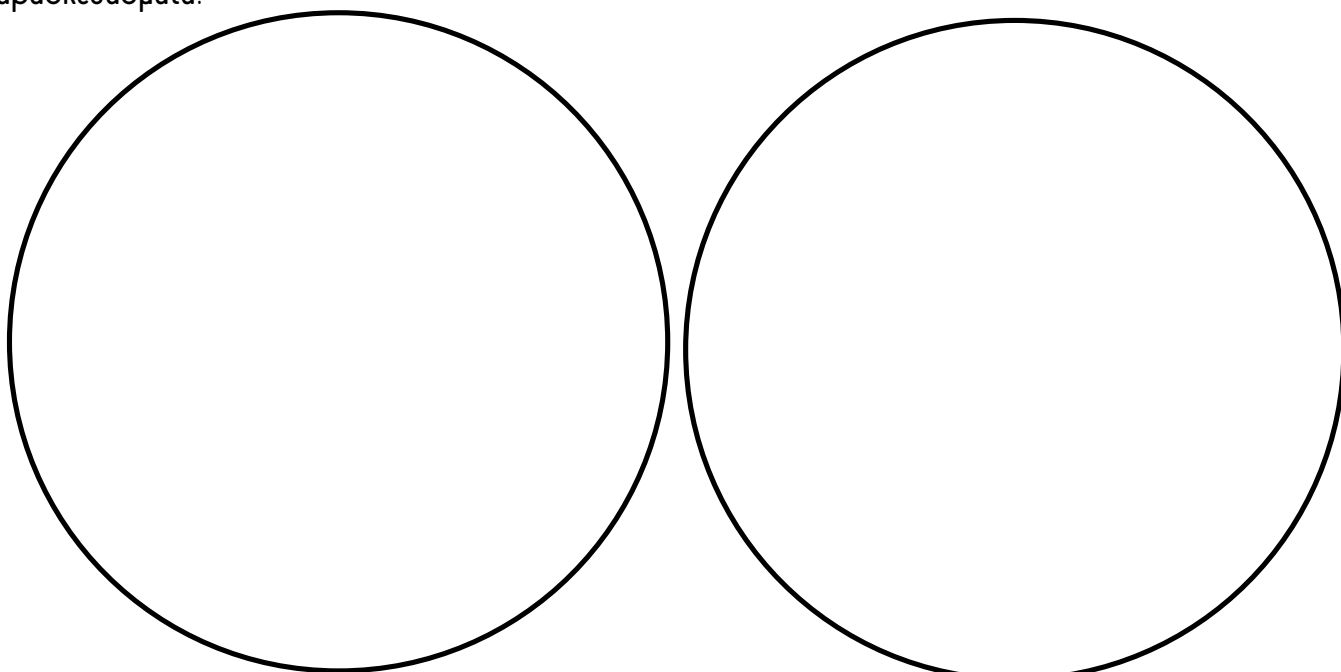
Εικόνα 2. Καλυπτρίδα υπό γωνία

8. Απορροφήστε με διηθητικό χαρτί (ή με χαρτί κουζίνας) το διάλυμα που βγαίνει έξω από την καλυπτρίδα (δείτε τη διπλανή εικόνα). Θα πρέπει να απομακρύνετε το πλεονάζον υγρό επειδή η επιπλέον χρωστική δεν θα σας επιτρέψει να βλέπετε ξακάθαρα το δείγμα
9. Αν δείτε την καλυπτρίδα να καλύπτει το δείγμα και να μην υπάρχουν φυσαλίδες με αέρα κάτω από αυτήν, σημαίνει ότι το δείγμα σας είναι έτοιμο και μπορείτε να το παρατηρήσετε.



ΦΥΛΛΟ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Α. Σχεδιάστε ό,τι βλέπετε στη μεγαλύτερη επιτρεπόμενη μεγέθυνση, για τα δύο διαφορετικά παρασκευάσματα.



Παρασκεύασμα με Lugol

Παρασκεύασμα με Πράσινο του Μεθυλίου

Β. Ποια είναι η συνοδική μέγιστη μεγέθυνση που παρατηρήσατε τα κύτταρά σας; Πώς την υπολογίζετε;

Γ. Τι χρώμα βάφονται τα κύτταρα με το Lugol και τι χρώμα βάφονται με το Πράσινο του Μεθυλίου;

Χρωστική	Χρώμα
<i>Lugol</i>	
<i>Πράσινο του Μεθυλίου</i>	

Δ. Αν ήσασταν ερευνητής, ποια από τις δύο χρωστικές θα επιλέγατε για να διαπιστώσετε αν ένα κύτταρο έχει πυρήνα; Εξηγήστε την απάντησή σας.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗ

Πράσινο του μεθυλίου: εντοπίζουμε την περιοχή του πυρήνα βάφοντάς την πράσινη

Τα κύτταρα με τη χρήση Lugol βάφονται καφέ.

Η χρωματική αντίδραση του ιωδίου σε τομές νωπού φυτικού υλικού παρουσιάζει μια ποικιλότητα ανάλογα με τη χημική σύσταση:

<i>Μηλε:</i>	<i>Καφέ:</i>	<i>Κίτρινο:</i>
<i>Άμυλο</i>	<i>Κυτταρίνη</i>	<i>Πηκτίνες</i>
	<i>Πρωτεΐνες</i>	<i>Υμενίνη</i>
	<i>Αλκαλοειδή</i>	<i>Καλόζη</i>

Εξαιτίας της χαρακτηριστικής δομής του μορίου του αμύλου με την προσθήκη ιωδίου, το ιώδιο τοποθετείται στις κοιλότητες του μορίου (το άμυλο έχει ελικοειδή μορφή), με αποτέλεσμα το χαρακτηριστικό βαθύ μπλε χρώμα (παρατήρηση αμυλοκόκκων).