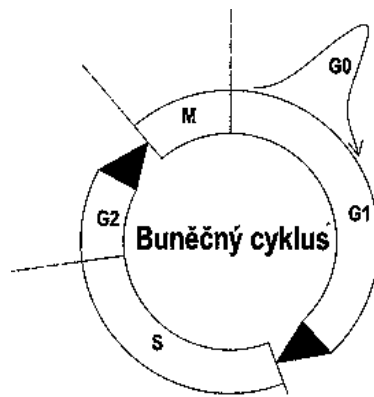


Mitóza a barvení chromozomů

Mitóza – složitý mechanismus dělení jádra, probíhají při ní charakteristické a vzájemně koordinované změny na chromozomech, jaderném obalu i v mikrotubulárním aparátu buňky. Mitóza je součástí **buněčného cyklu**.

Buněčný cyklus – zahrnuje posloupnost všech dějů v buňce od jedné mitózy ke druhé a začíná vznikem buňky mitotickým dělením. Po něm buňka vstupuje do **G1 fáze** (G–gap = mezera), v této fázi buňka roste a syntetizuje proteiny; zpravidla je to nejdelší fáze cyklu a končí, když buňka dosáhne určité velikosti. Po té buňka vstupuje do další fáze, **fáze S** (syntetická fáze). V ní probíhá replikace jaderné DNA, to znamená, že dochází ke zdvojení chromozomů. Pak následuje **fáze G2** a po ní mitóza, neboli **fáze M**. Buňky mohou také reverzibilně přecházet do klidové fáze **G₀**, ve které se nedělí.



Eukaryontní buňka vstupuje do mitózy se zdvojenou jadernou DNA a **chromozomy** jsou na počátku mitózy viditelné jako dvojice paralelních **chromatid**, spojených v místě viditelného zaškrčení, nazývaném **centromera**. Každá z chromatid obsahuje identickou kopii původního chromozómu.

Jednotlivé fáze mitózy:

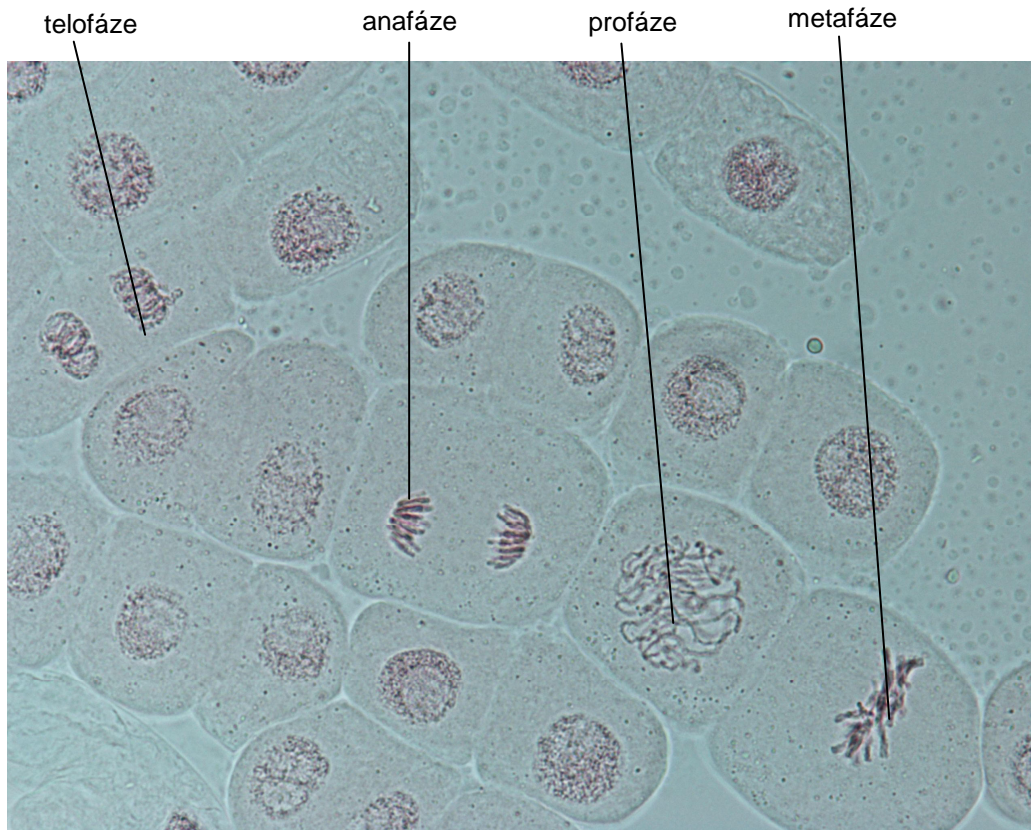
Profáze – dochází ke zkracování a ztlušťování chromozómů, které se stávají rozeznatelnými v optickém mikroskopu, rozpadá se jadérko. **Centrozomy** (mikrotubulární organizační centra) se začínají rozestupovat. Na konci profáze dosáhnou chromozomy maximální tloušťky.

Metafáze – začíná rozpadem jaderného obalu. Centrozomy se postaví proti sobě na obou pólech rozpadlého jádra a mikrotubuly z nich vycházející začnou vytvářet tzv. **dělicí vřeténko**, které se napojuje na chromozomy v oblasti centromery. Chromozomy se řadí do ekvatoriální roviny. V tomto stavu může být buňka až několik hodin.

Anafáze – výrazný a krátký děj. Sesterské chromatidy se od sebe oddělí a putují k pólům dělicího vřeténka. Celý děj trvá zpravidla několik minut.

Telofáze – chromozomy dekondují, prodlužují se a přestávají být viditelné. Obnovuje se jaderný obal a znovu se vytváří i jadérko.

Dělení buňky (cytokineze) – je proces rozdělovací mateřskou buňku na dvě buňky dceřinné a zpravidla následuje po mitóze. Mechanismus cytokineze je jiný v buňkách živočichů a v buňkách rostlinných. U **živočišných buněk** se v průběhu telofáze po obvodu buňky vytvoří kontraktilní prstenec, který buňku zcela přeškrtní na dvě dceřinné. **Rostlinné buňky** naopak vytváří novou buněčnou přepážku od středu k obvodu buňky. V místě ekvatoriální roviny zůstávají svazky mikrotubulů dělicího vřeténka, kolem kterých splývají váčky odškrčené z diktyozomů, obsahující polysacharidové složky primární buněčné stěny a vytvářejí tak diskovitý základ přepážky – **fragmoplast**.



Barvení chromozómů v buňkách cibule

Pro pozorování chromozómů je nutné mít dělicí se buňky. Velmi snadno lze získat tyto buňky z kořenové špičky cibule, kde jsou dělivá pletiva – meristémy.

Asi týden před pozorováním dáme naklíčit cibuli. Cibuli položíme na skleněnou nádobku naplněnou vodou tak, aby svým objemem uzavírala a současně svým podpučím byla ponořená do vody.

Pomůcky:

Cibule, filtrační papír, kádinky, nůžky, pinzetu, žiletku, kahan, potřeby k mikroskopování, destilovanou vodu.

Fixační roztok (3 díly 96% ethanolu a 1 díl ledové kyseliny octové).

Macerační roztok (1 díl 96% ethanolu a 1 díl koncentrované kyseliny chlorovodíkové).

Acetokarmín (do 100 ml 45% kyseliny octové dáme 0,5 g karmínu, vaříme asi 1hodinu a zfiltrujeme).

Postup:

Z kořínek cibule odřízneme špičky dlouhé asi 5 mm a pomocí pinzety je přeneseme do roztoků v Petriho miskách. Fixujeme 10 minut, macerujeme také asi 10 minut, propíráme stejně dlouho v destilované vodě. Z kořínku odřízneme přebytečnou část tak, aby na podložním sklíčku zbyla jen asi 2 mm koncová část s meristémy. Na tuto část nakápneme kapku acetokarmínu a přikryjeme krycím sklíčkem. Jemným tlakem palce, či zátky kořínek rozmačkáme, až se buňky rozprostřou do plochy. Velmi mírně zahřejeme nad plamenem kahanu (teplota nesmí přestoupit 60°C). Není-li preparát dostatečně probarven, přikápneme na hranu krycího sklíčka kapku barviva, k opačné straně přiložíme proužek filtračního papíru, barvivo přesajeme přes preparát a opět mírně zahřejeme.

Pozorování:

Najděte a zakreslete všechny čtyři fáze mitózy.