ΠΕΙΡΑΜΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΚΑΡΥΟΤΥΠΟΥ ΑΠΟ ΑΚΡΑ ΡΙΖΙΔΙΩΝ ΤΟΥΛΙΠΑΣ
ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΖΥΜΟΜΥΚΗΤΑ
ΠΕΙΡΑΜΑ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ ΓΙΑ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΟΜΑΔΩΝ ΑΙΜΑΤΟΣ

Επιμέλεια: Ελένη Ι. Κριεμάδη, Βιολόγος (MsC, Υποψήφια διδάκτορας)

ΕΚΦΕ Ανατολ. Αττικής (22-2-24)

Παρασκευή καρυοτύπου Τουλιπών και παρατήρηση στο μικροσκόπιο.

Απαιτούμενα όργανα	Απαιτούμενα υλικά – αντιδραστήρια
Ογκομετρικό σωλήνα των 50ml	Τουλίπα σε καλλιέργεια σε πήλινο γλαστράκι
Γυάλινα μπουκαλάκια που κλείνουν των 20 ml	Διάλυμα κολχικίνης 0,01-0,1 % κ.β.
Ύαλο ωρολογίου	Απιονισμένο νερό
Λαβίδα	Παγόμορφου οξικού οξέως
Σταγονόμετρο	Απόλυτη αιθανόλη
Ξυραφάκι πλάκα που χρησιμοποιούνταν στις παλιές ξυριστικές μηχανές	Διάλυμα οξικού οξέος 45% κ.ο.
Βελόνα	Αντιδραστήριο Feulgen
Υδατόλουτρο	Διάλυμα υδροξυκινολίνης (προαιρετικά)
Αντικειμενοφόρες πλάκες	Διάλυμα HCl 1N
Καλυπτρίδες	Μόνιμα παρασκευάσματα με μιτώσεις ανθρώπου

Παρασκευή καρυοτύπου Τουλιπών και παρατήρηση στο μικροσκόπιο.

Σκοπός του πειράματος

Η μικροσκοπική παρατήρηση φάσεων της μίτωσης και ειδικότερα μιτωτικών μεταφάσεων από άκρα ριζιδίων τουλίπας

Ημέρα 1η

Νωρίς το πρωί κόβουμε τα άκρα των ριζιδίων με λαβίδα

Τα τοποθετούμε δε διάλυμα κολχικίνης/υδροξυκινολίνης 1:1

Τοποθετούμε το διάλυμα με τα άκρα των ριζιδίων στο ψυγείο για 5-6 ώρες

Τοποθετούμε τα άκρα των ριζιδίων σε διάλυμα απόλυτη αλκοόλη/οξικό οξύ 3:1 (Carnoy)

Στη συνέχεια τα βάζουμε στο ψυγείο για 24 ώρες

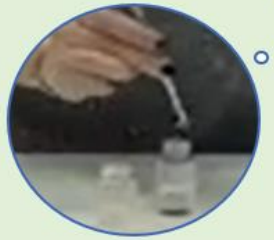
Παρασκευή καρυοτύπου Τουλιπών και παρατήρηση στο μικροσκόπιο.

Αφού απορροφήσουμε την περίσσεια του οξικού οξέος χτυπάμε κάθετα με μολύβι τα παρασκευάσματα με προσοχή να μην γλιστρήσει η καλυπτρίδα προκειμένου να απλωθούν τα χρωμοσώματα και πιέζουμε με τον αντίχειρα για να έλθουν όλα σε ένα επίπεδο

Τοποθετούμε τα άκρα των ριζιδίων σε διάλυμα 45% οξικό οξύ και φτιάχνουμε παρασκευάσματα με μία σταγόνα 45% οξικό οξύ κόβοντας το ακραίο τμήμα του ριζιδίου (βαμμένο φούξια)

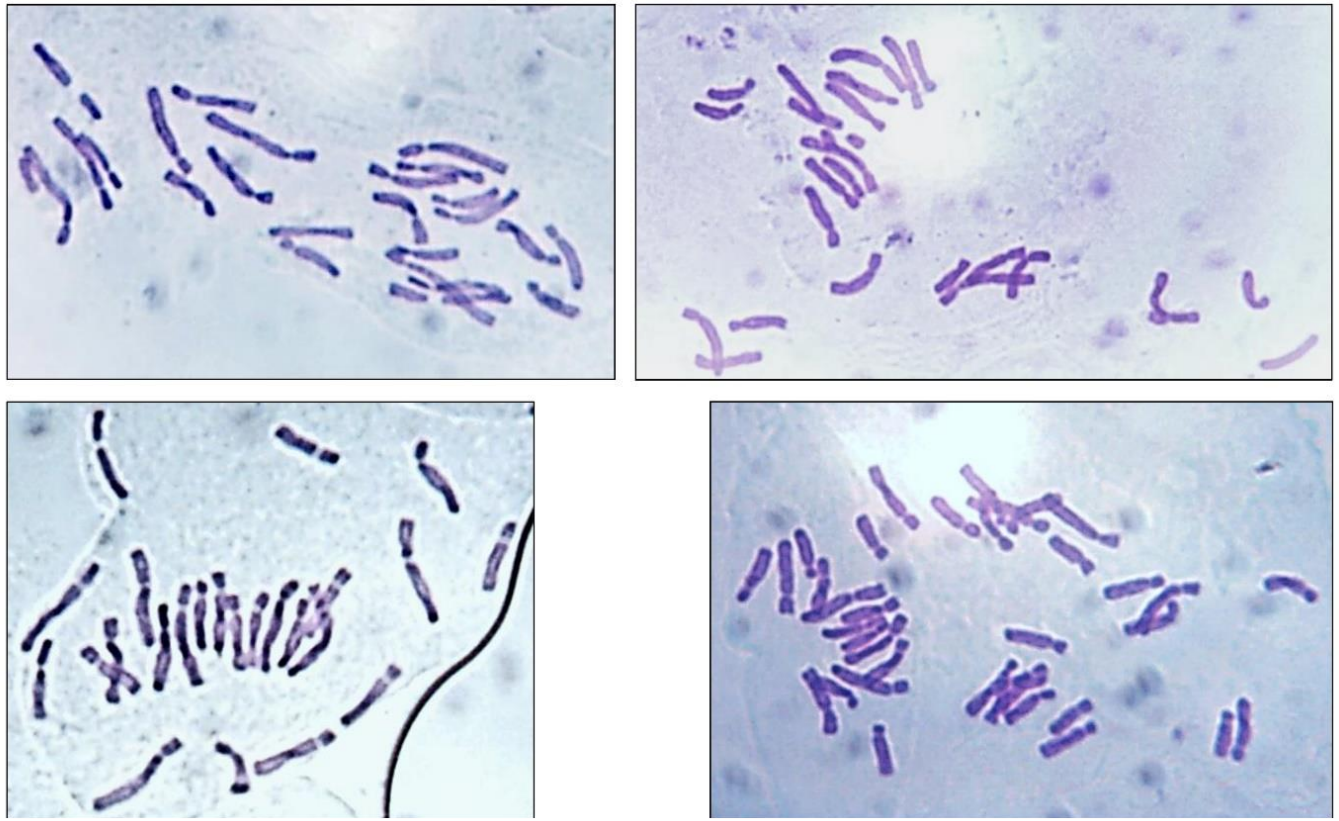
Αφήνουμε τα ριζίδια σε κλειστό ντουλάπι για 45 min

Ημέρα 2η



Χρώση με αντιδραστήριο Feulgen για 45 min

Τοποθετούμε τα άκρα των ριζιδίων σε προθερμασμένο διάλυμα HCl 1 N στο υδατόλουτρο, στους 60°C, για 11:30 min

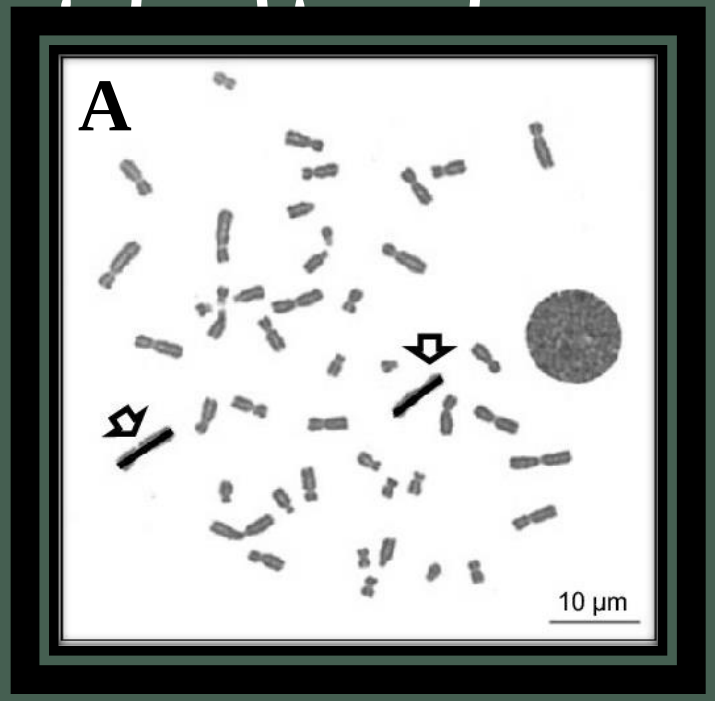


Μιτωτικοί Καρυότυποι σε Τουλίπα που έφτιαξαν οι μαθητές!

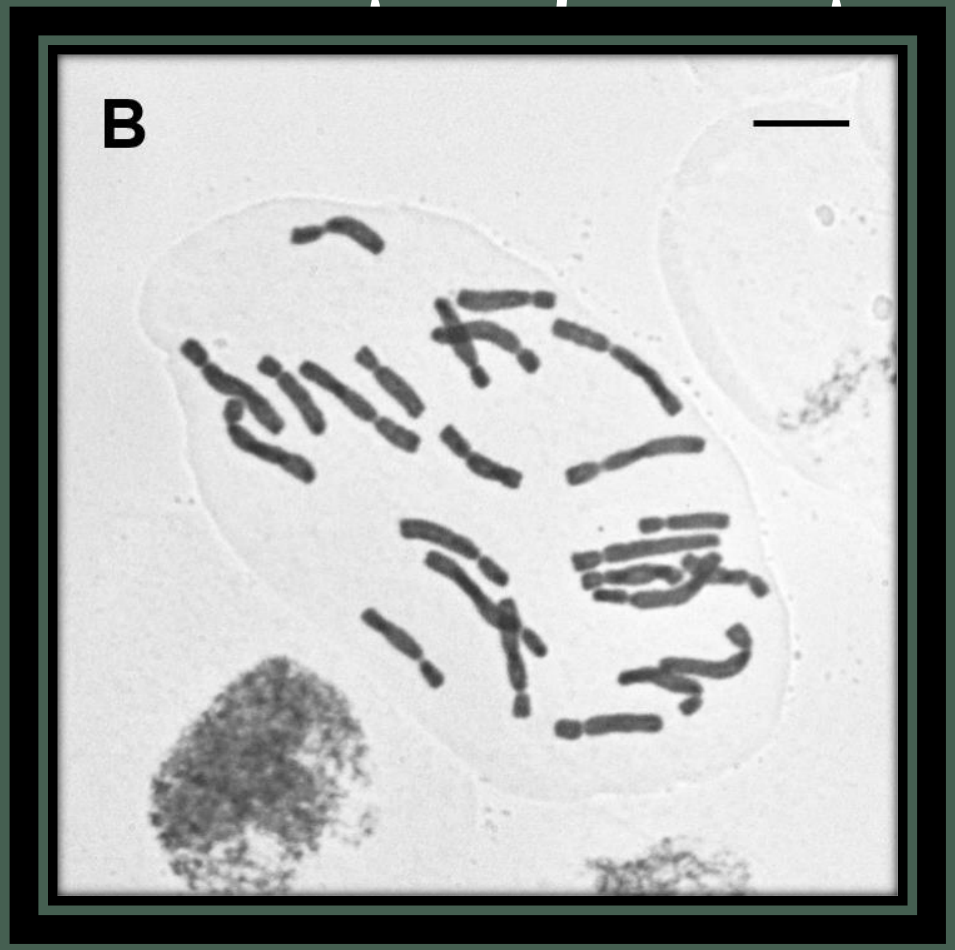
Συμπεράσματα:

- Παρατήρηση μιτωτικών καρυοτύπων με: διπλοειδή $2n = 24$ και με τριπλοειδή και $2n = 3x = 36$ χρωμοσωματικό αριθμό (βασικός χρωμοσωματικός αριθμός $x = 12$).
- Επισήμανση της συμμετρίας του καρυοτύπου στις τουλίπες.
- Σύγκριση των καρυοτύπων της Τουλίπας, με εκείνο του ανθρώπου.

❑ Σύγκριση με καρυότυπο ανθρώπου από έτοιμα παρακευάσματα

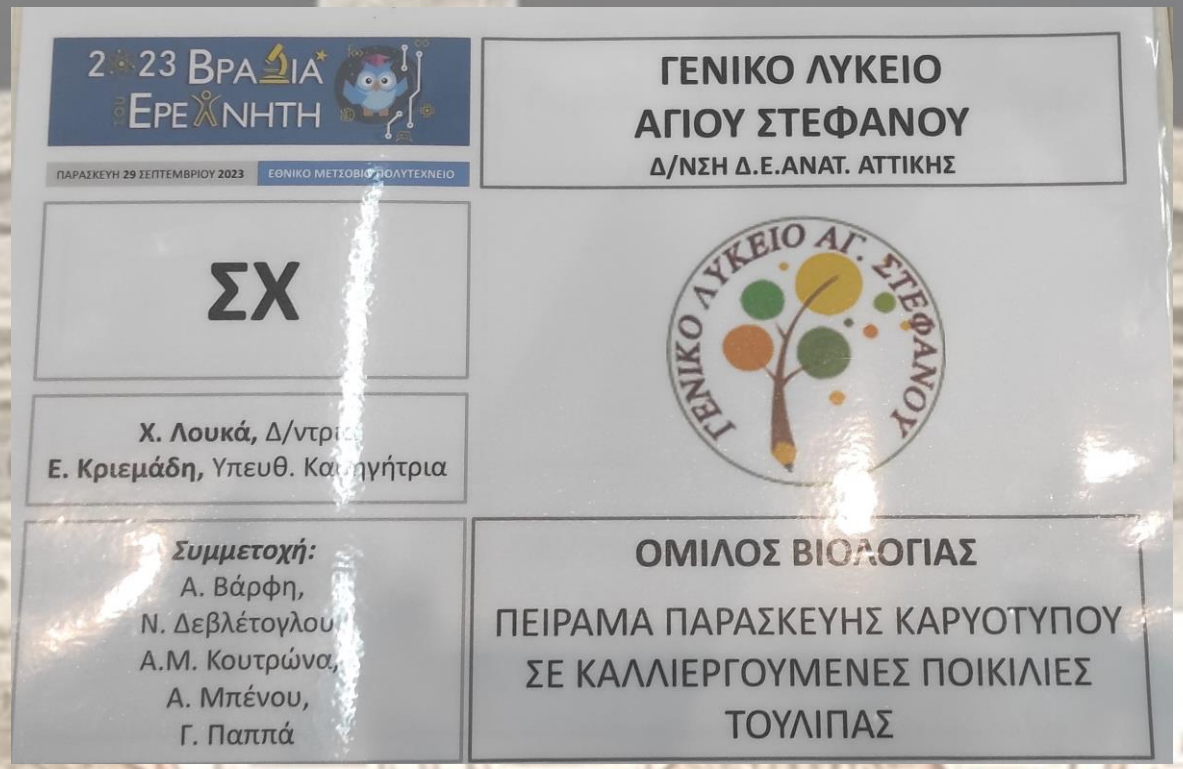


Μιτωτικός καρυότυπος Ανθρώπου



Μιτωτικός καρυότυπος Τουλίπας

Το γονιδίωμα της Τουλίπας ($34,0 \times 10^9$) είναι 10 φορές μεγαλύτερο από το γονιδίωμα του Ανθρώπου ($3,2 \times 10^9$)!!

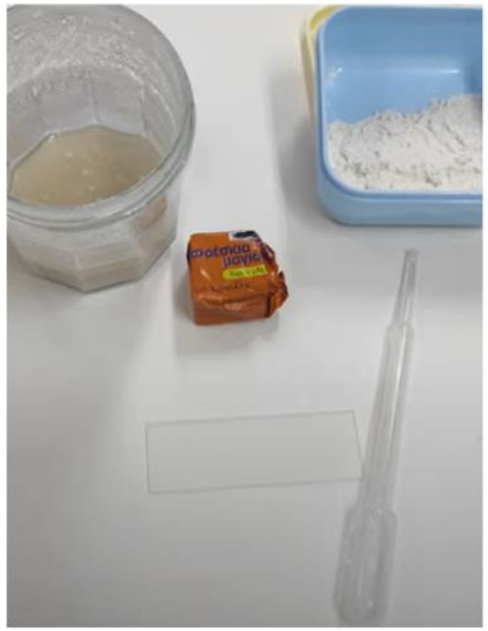


Μια ομάδα πέντε μαθητριών του ΓΕΛ ΑΓΙΟΥ ΣΤΕΦΑΝΟΥ συνοδευόμενα από τη Διευθύντρια του Σχολείου κα Χρυσούλα Λουκά και την εκπαιδευτικό κα Ελένη Κριεμάδη, παραβρέθηκε εθελοντικά στην 10η Ευρωπαϊκή Βραδιά του Ερευνητή, η οποία διεξήχθη στις 29-9-2023 στο ιστορικό κτήριο του Πολυτεχνείου, όπου και παρουσίασε το πείραμα της τάξης φτιάχνοντας επί τόπου παρασκευάσματα για την μελέτη των μιτωτικών καρυοτύπων σε Τουλίπες με μεγάλη επιτυχία.

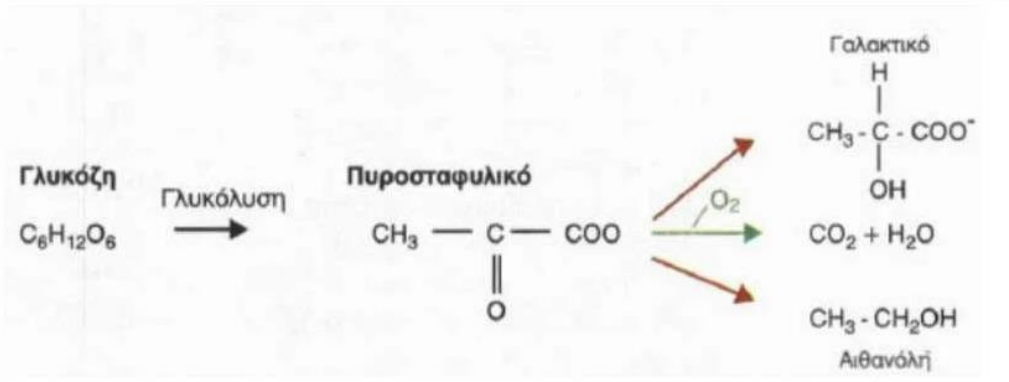
Αλκοολική Ζύμωση – Μικροσκοπική Παρατήρηση Ζυμομύκητα

Σκοπός του πειράματος

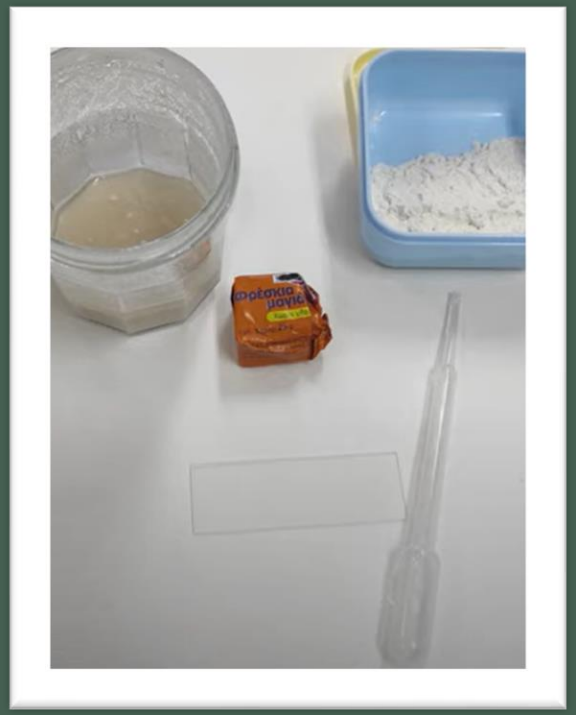
Η μικροσκοπική παρατήρηση ζυμομυκήτων

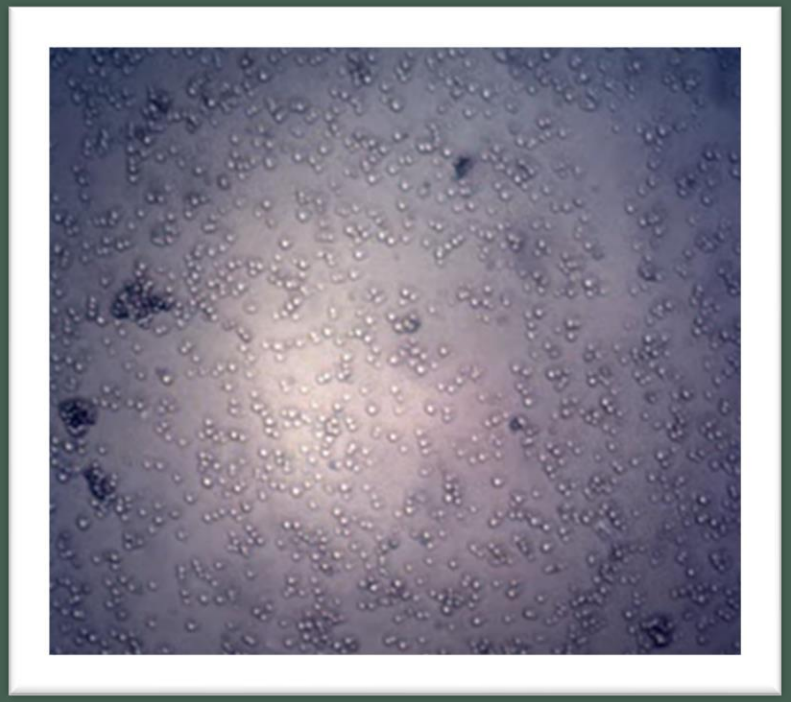


Απαιτούμενα όργανα και υλικά
10 γρ. μαγιά μπύρας
Περίπου 2-3 κουτ. σούπας αλεύρι
100ml εμφιαλωμένο χλιαρό νερό
Γκαζάκι και πλέγμα θέρμανσης
1 ποτήρι ζέσεως
Προαιρετικά μπλε του μεθυλενίου
Προαιρετικά λίχνο
Προαιρετικά λαβή (μανταλάκι) για να περάσω την αντικειμενοφόρο από τη λίχνο



Αλκοολική Ζύμωση – Μικροσκοπική Παρατήρηση Ζυμομύκητα

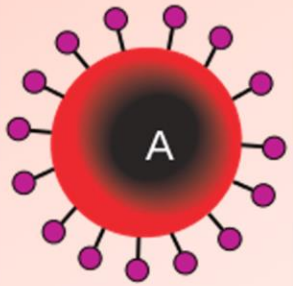
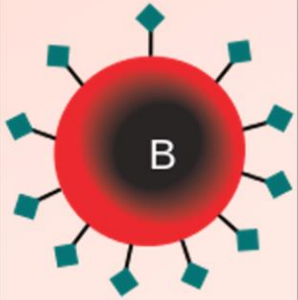
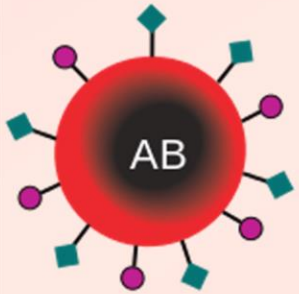
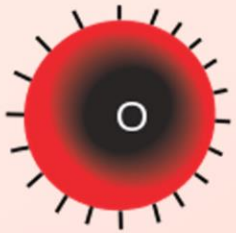
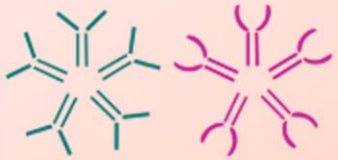




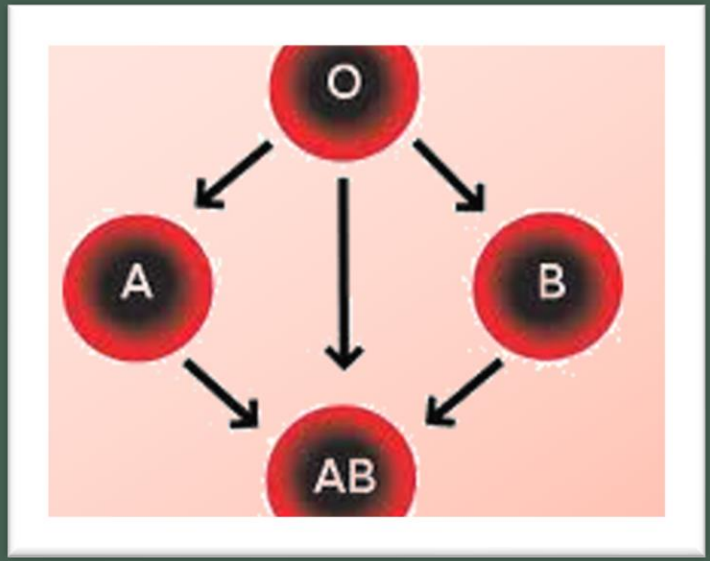
Σκοπός του πειράματος

Ταυτοποίηση ομάδων αίματος με πείραμα προσομοίωσης

Ομάδες Αίματος ΑΒΟ

	Ομάδα Α	Ομάδα Β	Ομάδα ΑΒ	Ομάδα Ο
Τύπος Ερυθρού Κυττάρου				
Αντισώματα στο Πλάσμα	Αντι-Β	Αντι-Α	Κανένα	 Αντι-Α και Αντι-Β
Αντιγόνα στο Ερυθρό Κύτταρο	Α αντιγόνο	Β αντιγόνο	Α και Β αντιγόνα	Κανένα

Συμβατές Ομάδες Αίματος



Ομάδα αίματος Ο → Πανδότης
Ομάδα αίματος ΑΒ → Πανδέκτης

Η ομάδα αίματός σας:

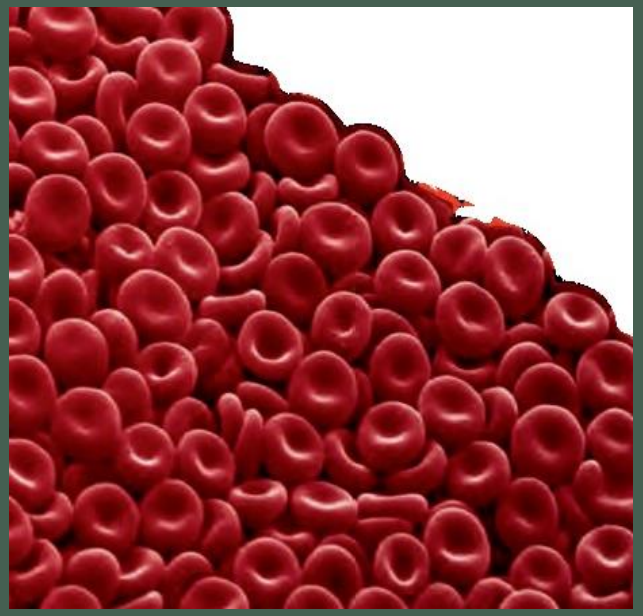
Μπορείτε να δεχθείτε από:

	O+	O-	A+	A-	B+	B-	AB+	AB-
O+	♥		♥		♥		♥	
O-	♥	♥	♥	♥	♥	♥	♥	♥
A+			♥				♥	
A-			♥	♥			♥	♥
B+					♥		♥	
B-					♥	♥	♥	♥
AB+							♥	
AB-							♥	♥

Ταυτοποίηση Ομάδων Αίματος

Η αιμοσυγκόλληση χρησιμοποιείται για την τυποποίηση των ομάδων αίματος και την αναζήτηση αντιστοιχίας συμβατών δοτών και δεκτών για να επιτραπεί η μετάγγιση. Πριν από τη μετάγγιση ο ορός του δέκτη ελέγχεται για αντισώματα που συγκολλούν τα ερυθρά αιμοσφαίρια του δότη και τ΄ ανάπαλην, μια διαδικασία που λέγεται διασταύρωση. Τα αντιγόνα των ομάδων Α, Β και Ο είναι υδατάνθρακες.

Πείραμα ταυτοποίησης Ομάδων Αίματος



$NaCl$ έναντι του αντιγόνου A

Na_2SO_4 έναντι του αντιγόνου B

Οξικό οξύ έναντι του αντιγόνου Rhesus

$AgNO_3$ έναντι του αντιδραστηρίου ελέγχου που περιέχει ορό αντισωμάτων anti-A

$Ba(NO_3)_2$ έναντι του αντιδραστηρίου ελέγχου που περιέχει ορό αντισωμάτων anti-B

Γάλα συμπυκνωμένο (περιέχει καζεΐνη) έναντι του αντιδραστηρίου ελέγχου που περιέχει ορό αντισωμάτων anti-Rh

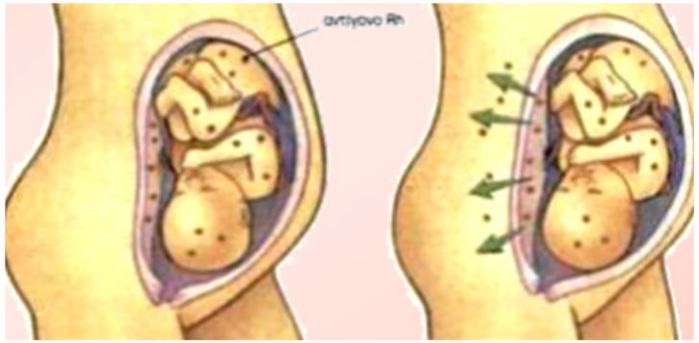
	Ag^+	Ba^{2+}
Cl^-	AgCl λευκό	
SO_4^{2-}		$BaSO_4$ λευκό

$NaCl(aq)$	+	$AgNO_3(aq)$	→	$AgCl\ (s)$	+	$NaNO_3(aq)$
Αντιγόνο A	+	anti-A		Ίζημα/Κροκίδωση		
$Na_2SO_4(aq)$	+	$Ba(NO_3)_2(aq)$	→	$BaSO_4\ (s)$	+	$2NaNO_3(aq)$
Αντιγόνο B	+	anti-B		Ίζημα/Κροκίδωση		
Οξικό οξύ	+	Γάλα (καζεΐνη)	→	Μετουσίωση πρωτεΐνης		
Αντιγόνο Rh	+	anti-Rh		Κροκίδωση		

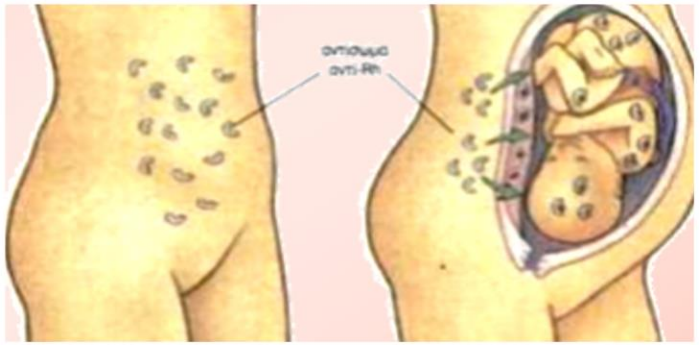
Ίζημα - Κροκίδωση

	Anti- A	Anti- B	Anti-Rh
A+	✓		✓
A-	✓		
B+		✓	✓
B-		✓	
AB+	✓	✓	✓
AB-	✓	✓	
O+			✓
O-			

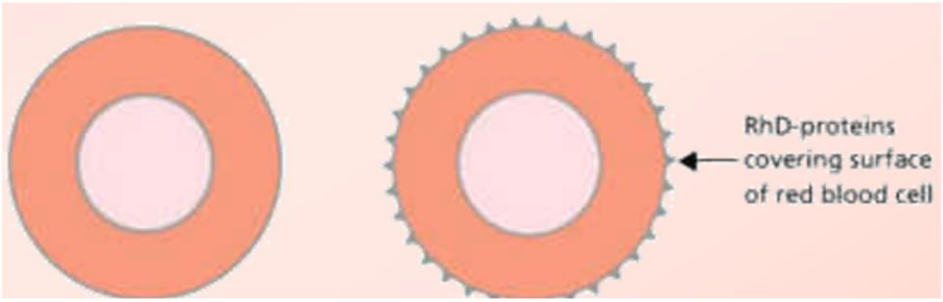
Παράγοντας Rhesus

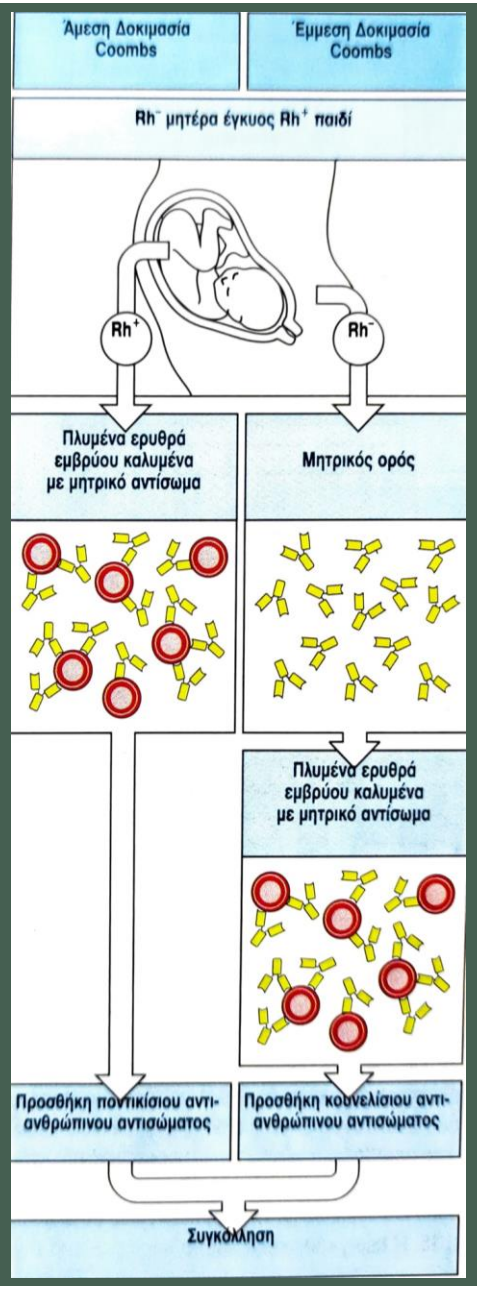


1η εγκυμοσύνη μητέρας Rh-



2η ή επόμενη εγκυμοσύνη μητέρας Rh-





Η αιμολυτική νόσος του νεογνού εκδηλώνεται όταν μία μητέρα εμφανίσει αντισώματα IgG ειδικά για τα αντιγόνα της ομάδας αίματος Rhesus ή Rh, τα οποία εκφράζονται στα ερυθρά αιμοσφαίρια του εμβρύου της. Οι μητέρες, που έχουν ομάδα αίματος Rh-αρνητικό, εμφανίζουν αυτά τα αντισώματα όταν εκτίθενται στα ερυθρά αιμοσφαίρια που είναι Rh-θετικά, του εμβρύου, το οποίο φέρει το κληρονομούμενο εκ του πατρός του αντιγόνο Rh. Τα μητρικά αντισώματα IgG διασχίζουν τον πλακούντα και φθάνουν στο έμβρυο, το οποίο έτσι φυσιολογικά προμηθεύεται με μητρικά αντισώματα για να καταπολεμήσει τις λοιμώξεις. Εν τούτοις, στην προκειμένη περίπτωση τα IgG αντι-Rh αντισώματα επιτίθενται στα ερυθρά αιμοσφαίρια του εμβρύου, προκαλώντας αιμολυτική αναιμία στο έμβρυο και στο νεογέννητο.

Για λόγους οι οποίοι δεν είναι πλήρως κατανοητοί, τα αντισώματα για τα αντιγόνα της ομάδας αίματος Rh δεν συγκολλούν τα ερυθρά αιμοσφαίρια, όπως κάνουν τα αντισώματα για τα αντιγόνα της ομάδας αίματος ΑΒΟ, καθιστώντας τον εντοπισμό τους δύσκολο. Παρά ταύτα, τα μητρικά αντισώματα IgG, που συνδέονται με τα ερυθρά αιμοσφαίρια του εμβρύου μπορούν να εντοπιστούν με πλύση κυττάρων για να αφαιρεθεί από τον ορό η ελεύθερη ανοσοσφαιρίνη και κατόπιν με πρόσθεση αντισωμάτων κατά ανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης, τα οποία συγκολλούν τα ερυθρά αιμοσφαίρια, που έχουν καλυφθεί με αντισώματα. Αυτό είναι η άμεση δοκιμασία **Coombs** και ονομάζεται άμεση διότι εντοπίζει τα αντισώματα που είναι προσκολλημένα στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων του ασθενούς. Η έμμεση δοκιμασία Coombs χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό μη συγκολλούμενων αντι-Rh αντισωμάτων σε ορό. Κατ’ αρχήν, ο ορός επωάζει σε ερυθρά αιμοσφαίρια Rh θετικά, τα οποία δεσμεύουν τα αντι-Rh αντισώματα, οπότε στη συνέχεια ακολουθεί η προηγούμενη διαδικασία.

Σας ευχαριστώ πολύ
για την προσοχή σας!