

Mitose – Der Zellkernteilung auf die Finger geschaut

Vortrag und Praktikum von Henning Lammert und Bob Lammert

1. Auswahl der Untersuchungsobjekte

Man kann grundsätzlich unterschiedlichste Objekte mit gleichem Ergebnis untersuchen, daher wählt man Objekte, die es einem leicht machen. Intensive Zellteilung findet man bei Pflanzen dort, wo sie am schnellsten wachsen. Gut geeignet sind daher die Spitzen von Zwiebelwurzeln, es gehen aber auch Knoblauchwurzeln oder Bohnensprossen. In Frage kommen z.B. auch die Speicheldrüsen von Fruchtfliegen.

2. Vorbereitung Zwiebel

1. Es sollten ausschließlich Bio-Zwiebeln verwendet werden. Konventionell angebaute Zwiebeln sind in der Regel mit Keimhemmern gespritzt.



2. Die Wurzelscheibe von anhängenden Fasern befreien und etwa 5mm tief senkrecht einschneiden



3. Zwiebel auf ein Gefäß stellen, das Platz für die Wurzelentwicklung bietet, z.B. hohes Schnapsglas
4. Regenwasser einfüllen, so dass die Wurzelscheibe gerade im Wasser ist.
5. Wasser nach einem Tag erneuern, ggfs. auch später mal, es sollte immer klar sein. Wurzelscheibe ab jetzt eben oberhalb der Wasseroberfläche
6. Zwiebel hell stellen und Wasserspiegel konstant halten
7. Teilungsstadien sind besonders in schnell wachsenden Pflanzenteilen zu beobachten, also z.B. genau an der Spitze der Wurzel
8. Ernte und Präparierung bevorzugt am Morgen, es geht aber zu jeder Tageszeit
9. Die Wurzeln bilden sich nach einem Tag und bleiben für etliche Tage nutzbar.
10. Zugabe von Kokoswasser einige Stunden vorher soll die Mitose anregen.

3. Fixierung und Färbung

Es gibt eine Reihe von Fixier- und Färbemethoden, die für Chromosomen in Frage kommen. Viele davon beruhen jedoch auf der Verwendung gefährlicher Chemikalien, die man nur verwenden sollte, wenn man die nötigen Kenntnisse und Einrichtungen besitzt. Einfach und im Ergebnis gut sind die Färbung mit Karmin- oder Orcein-Essigsäure. Dabei färbt Orcein-Essigsäure etwas gezielter nur die Zellkerne und Chromosomen, weshalb sie hier zum Einsatz kommt. Es ist grundsätzlich möglich, die Mitosestadien direkt an in Orcein-Essigsäure vorliegenden Objekten zu betrachten. Die Präparate sind aber schnell vergänglich und die Dämpfe der Essigsäure greifen Mikroskop-Linsen und Stativ an. Daher wird hier ein einfacher Weg beschrieben, um direkt zu Dauerpräparaten zu kommen. Eingedeckt wird dabei in Euparal, einem Eindeckmittel, das relativ tolerant gegenüber Resten von Wasser ist, und schöne Präparate ergibt.

Die 45% Essigsäure stellt dabei gleichzeitig das Fixiermittel dar.

Orcein, in diesem Fall synthetisch hergestelltes, muss zum Ansetzen der Färbelösung in 45% Essigsäure oder in reiner Essigsäure (als länger haltbare Stammlösung) gelöst werden. Da es sich nur schlecht löst ist Erwärmen auf knapp 100 °C über mindestens eine Stunde erforderlich. Aufgrund der entstehenden Dämpfe sollte wenn möglich unter Laborabzug und Rückkühlung gearbeitet werden, was hier provisorisch draußen bei niedriger Außentemperatur erfolgte. Der Ansatz muss unbedingt nach dem Auflösen filtriert werden.



4. Sicherheitsinformationen

Zum Einsatz kommen diese Stoffe in kleinen Mengen:

Karmin

Ungefährlich

Orcein

Ungefährlich

Essigsäure 45 - 50%

- Verursacht starke Verätzung der Augen
- Verursacht starke Verätzung der Haut
- Dämpfe nicht einatmen
- Brennbar, Gasgemische explosionsfähig



Schutzmaßnahmen: Geeignete Schutzhandschuhe, Schutzbrille, höhere Raumluftkonzentrationen verhindern, Zündquellen fernhalten

Isopropanol

- entzündbar
- kann schwere Augenschäden/ Augenreizungen hervorrufen
- kann Schläfrigkeit hervorrufen

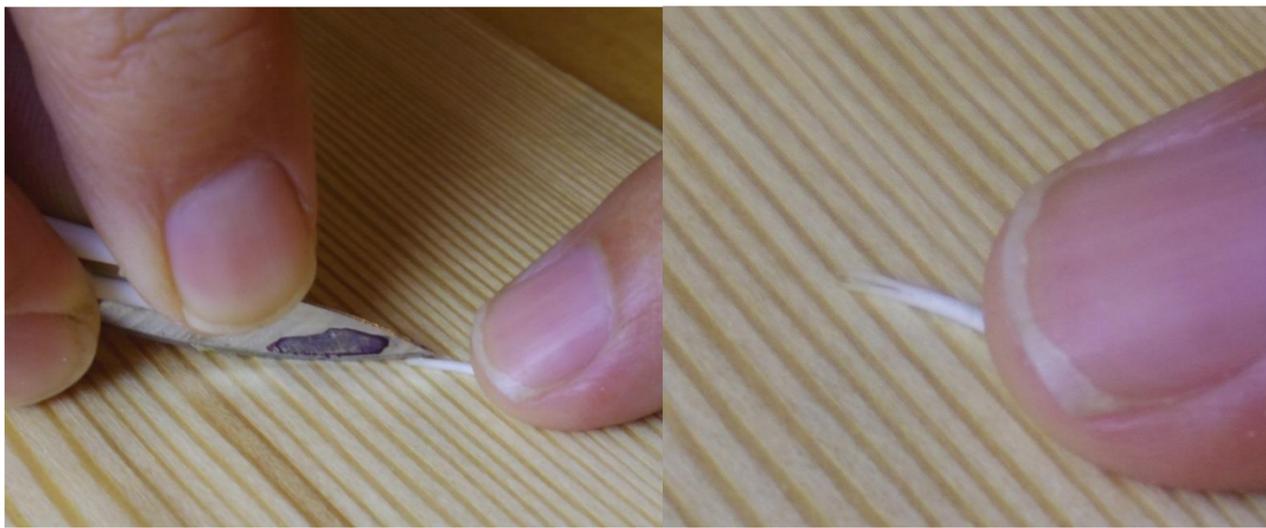


Schutzmaßnahmen: Geeignete Schutzhandschuhe, Schutzbrille, höhere Raumluftkonzentrationen verhindern, Zündquellen fernhalten

5. Durchführen der Präparation



1. Zwiebelwurzel dicht an der Zwiebel abschneiden

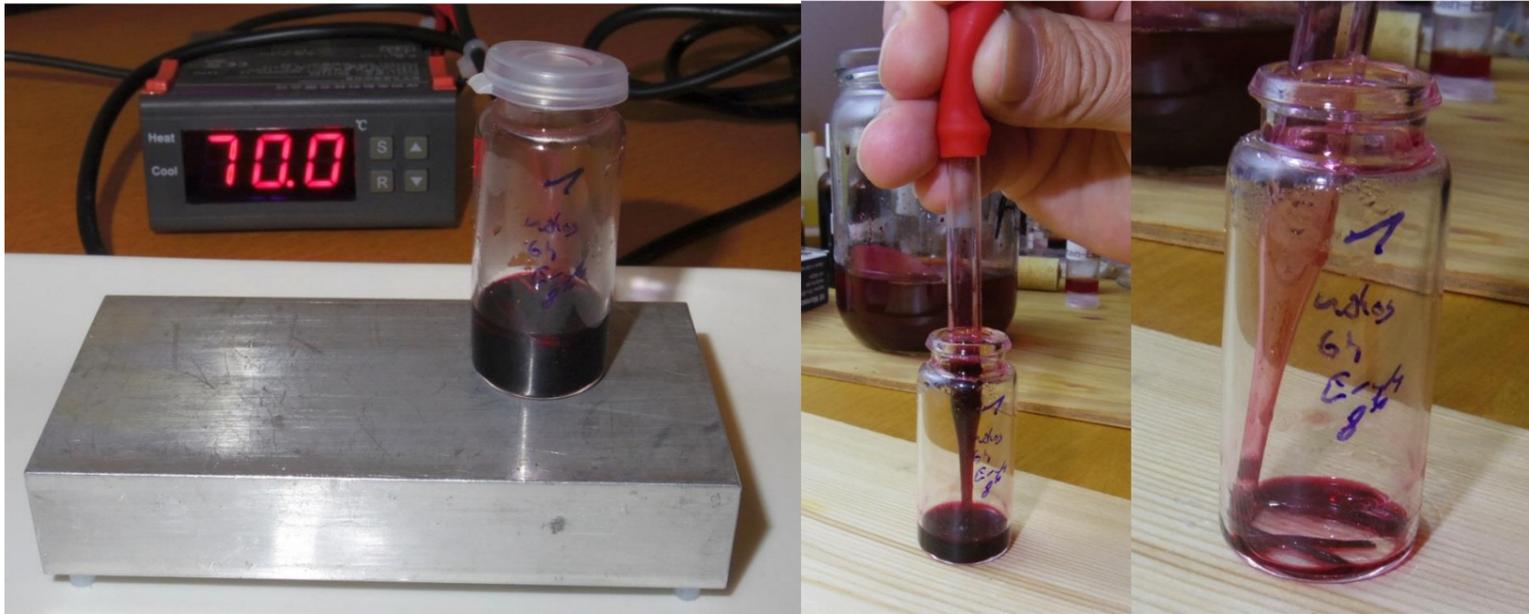


2. Zwiebelwurzelspitze (ZWS) längs spalten, ca. 4mm tief

3. ZWS abschneiden, 10-15mm lang



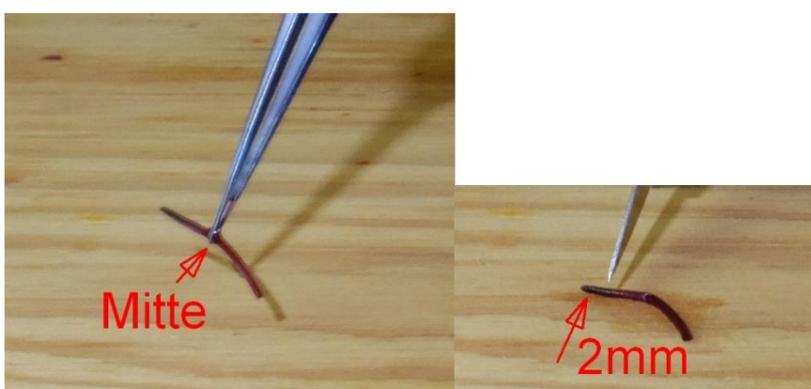
4. ZWS in kleines Glasgefäß mit Deckel geben, mit Orcein-Essigsäure reichlich überdecken



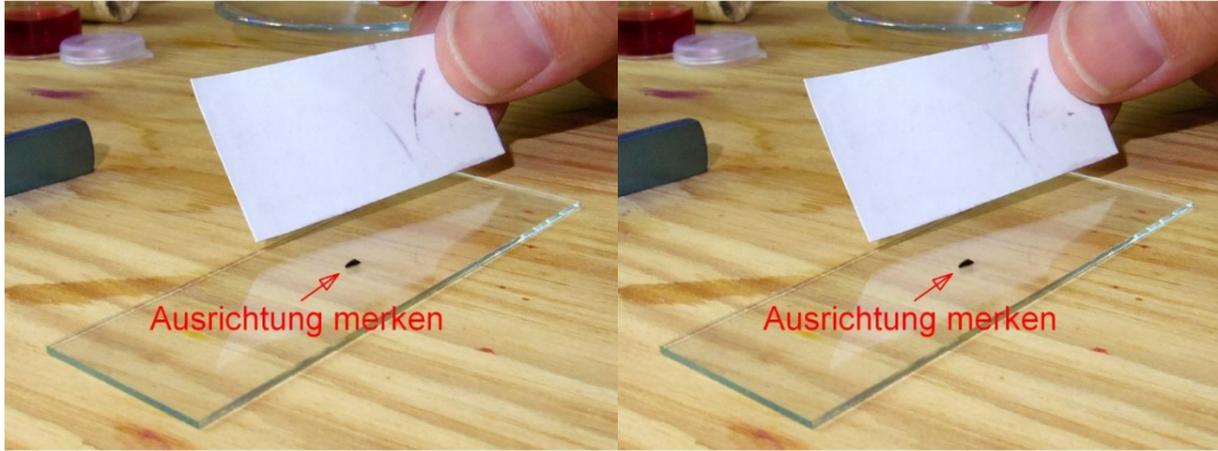
5. Gefäß auf Wärmeplatte stellen, trocken 70°C oder im Wasserbad 60°C für 1 Stunde färben
6. Gefäße von Wärmeplatte nehmen, Orcein-Essigsäure abpipettieren



7. 2x etwas 45% Essigsäure zugeben, mindestens 2 Minuten lang den überflüssigen Farbstoff ausziehen

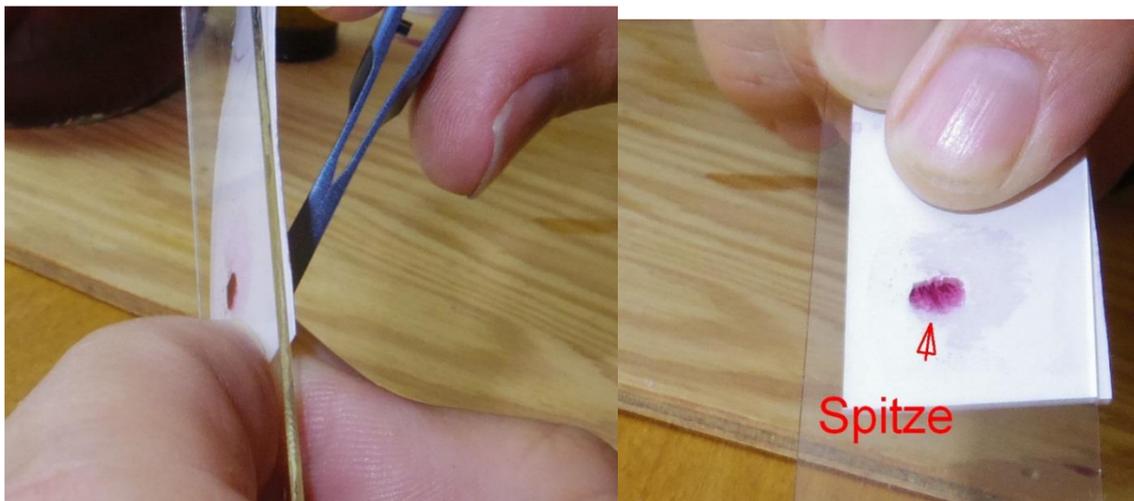
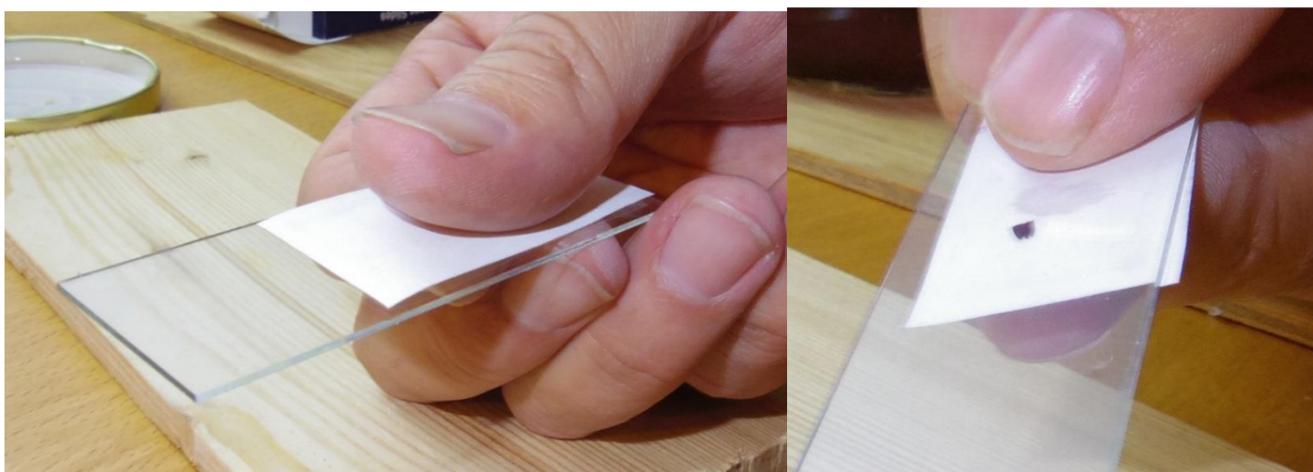


8. Eine ZWS in der Mitte mit einer Pinzette anfassen und aus dem Gefäß nehmen und die vorderen 2mm abschneiden



9. Gekürzte ZWS auf einen frisch gereinigten Objektträger legen

10. Wachspapier mit Daumen auf den Objektträger drücken, überkopf halten, ZWS auf Sicht durch den Objektträger plattdrücken



11. ZWS durch Druck mit Daumen oder Pinzettengriff gleichmäßig dünn ausstreichen, 1-2 Zellen dick



12. Wachspapier mit Daumen halten, Zwiebelmus durch Objektträger hindurch mit Kältespray vereisen

13. Wachspapier abheben, so dass Zwiebelmus vollständig auf dem Objektträger bleibt



14. Objektträger wieder umdrehen, 2 Tropfen Isopropanol zugeben zum Entwässern, danach wegwischen, einmal wiederholen



15. Mit Euparal eindecken, am besten ein rundes Deckglas nehmen



16. Deckglas andrücken, ohne es seitlich zu bewegen

17. Präparat bei 60° auf Wärmeplatte trocknen

18. FERTIG

6. Mitosestadien in der Zwiebelwurzelspitze

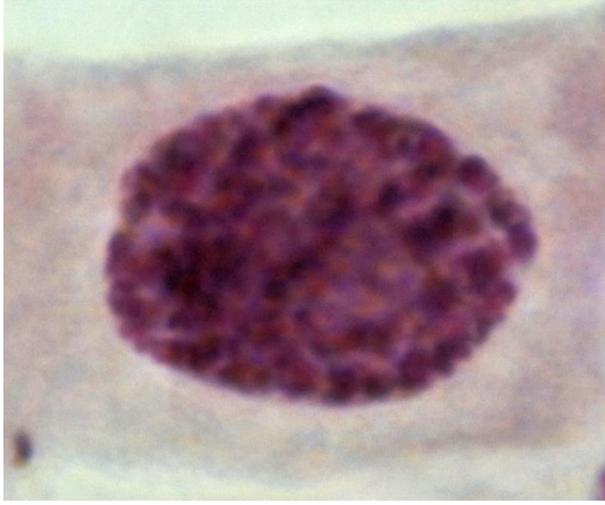


Foto 1: Interphase
Normalzustand zwischen Zellteilungen (90% Zeit)

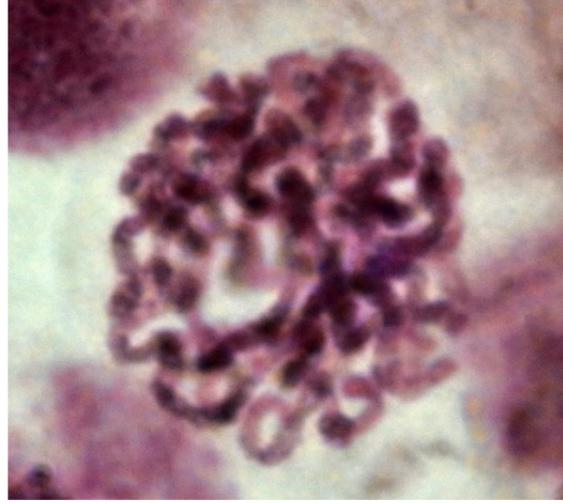


Foto 2: Prophase
Einzelne Chromosomen bilden sich,
Kernhülle und Kernkörperchen lösen sich auf
Centriolenpaar wandert an gegenüberliegende Pole
Spindelapparat bildet sich



Foto 3: Prometaphase
Chromosomen ordnen sich auf Äquatorialebene an



Foto 4: Metaphase
Fasern des Spindelapparate heften sich an Centromere der Chromosomen

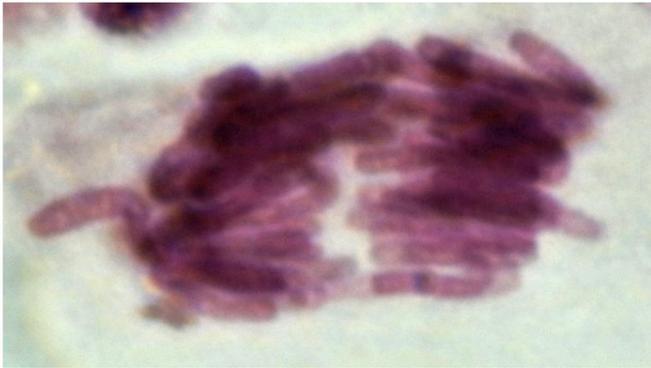


Foto 5: Anaphase
Chromosomenverdoppelung beginnt, Chromosomen werden am Centromer geteilt, identische Chromatiden wandern an entgegengesetzte Pole

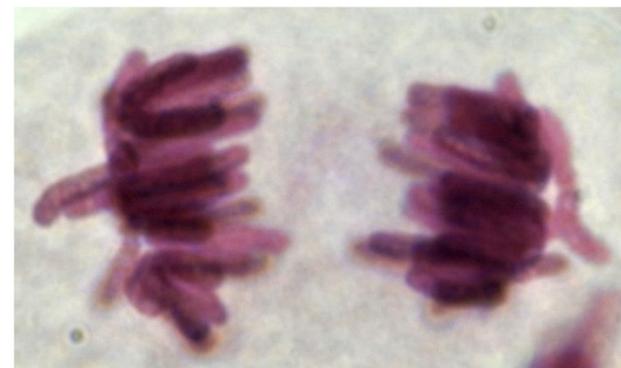


Foto 6: Telophase
Um die Chromatidstränge beginnt die Bildung einer Kernhülle, parallel beginnt die Teilung der zweikernigen Zelle
Zellbestandteile werden auf Tochterzellen aufgeteilt



Foto 7: Zwei neue Zellkerne vor der Interphase
Kernhüllen sind gebildet, Zellteilungsbausteine werden aufgelöst

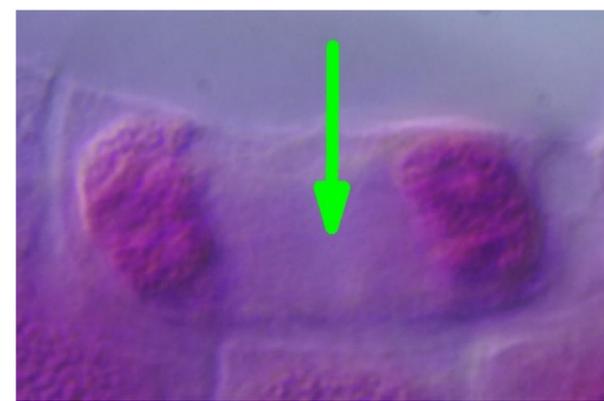


Foto 8: Interphase
Neue Zellwand bildet sich, Einchromatid-Chromosomen werden verdoppelt (Replikation)