

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АЦЕТОКАРМИНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ГИГАНТСКИХ ХРОМОСОМ ИЗ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ ЛИЧИНОК ДРОЗОФИЛЫ И ХИРОНОМУСА

Для изучения строения хромосом целесообразно использовать препараты гигантских хромосом из слюнных желез двукрылых; их можно изготовить из слюнных желез личинок дрозофилы, хирономуса (мотыля). Слюнные железы личинок дрозофилы или мотыля представляют собой парное мешковидное образование с общим выводным протоком. Характерной особенностью клеток слюнных желез является то, что в них происходит эндомитоз, т. е. деление клетки завершается на стадии умножения хромосомных нитей, а деления ядра (кариокинез) и цитоплазмы (цитокинез) – образования двух дочерних клеток, как при обычном митозе, – не происходит. В результате неоднократно повторяющихся эндомитозов в процессе развития личинки рост слюнных желез обеспечивается только за счет увеличения размеров ядер и самих клеток, число же их не меняется. Таким образом, возникают так называемые гигантские – политенные (многонитчатые) хромосомы.

Материалы и оборудование: живой материал – культивируемые личинки дрозофилы или мотыля (личинка комара *chironomus*), постоянные препараты политенных хромосом личинки дрозофилы; физиологический раствор, 45 % уксусная кислота, краситель (ацетокармин или ацетоорсеин); микроскоп, предметные стекла, покровные стекла, препаровальные иглы, бинокулярная лупа (может быть заменена микроскопом с малым увеличением), фильтровальная бумага.

Задание. Рассмотреть на препарате (под микроскопом) строение гигантских хромосом слюнных желез мотыля, зарисовать набор гигантских хромосом.

Для того чтобы приготовить препарат гигантских хромосом, прежде всего следует извлечь сами слюнные железы.

1. На чистое предметное стекло в капельку физиологического раствора поместить самую крупную личинку. По движению определить её головной отдел (личинка движется головой вперед).

2. Одну препаровальную иглу наложить на переднюю часть личинки, а другую – на середину ее (рис. 1, *а*).

3. Придерживая второй иглой личинку, первую иглу потянуть вперед и разорвать личинку. Вместе с оторванной головной частью личинки вытягивается пара прозрачных мешковидных образований (рис. 1, *б*).

Это и есть ее слюнные железы. Если с оторванной головной частью личинки мешки не вытягиваются, то приходится вынимать все органы передней части её и в этой «кашице» искать слюнные железы.

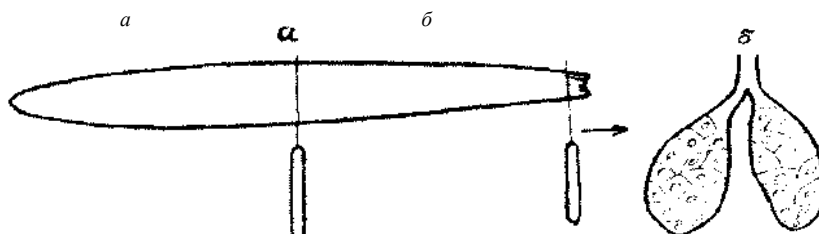


Рис. 1. Слюнные железы и их извлечение:

а – извлечение слюнных желез из личинки дрозофилы; *б* – выделенные слюнные железы

4. Под предметное стекло подложить однотонную темную пластинку для того, чтобы прозрачные мешки слюнных желез были видны более отчетливо. От других структур железы можно отличить по наличию в них клеток с крупными ядрами, контуры которых хорошо заметны без всякой окраски.

5. Выделенные слюнные железы освободить от посторонней ткани и капнуть каплю красителя. Прикрыть чашкой Петри и оставить на 15–20 мин при температуре 37 °С (если работа проводится при комнатной температуре, то время окраски придется увеличить до 30 мин).

6. Окрашенные слюнные железы препаровальной иглой перенести на чистое обезжиренное предметное стекло в капельку 45 % уксусной кислоты, фильтровальной бумагой отсосать кислоту, затем капнуть несколько капель свежей уксусной кислоты (удалить лишнюю окраску).

7. Объект осторожно накрыть покровным стеклом. Фильтровальной бумагой осушить жидкость, выступающую за края покровного стекла. Затем накрыть препарат новой полоской фильтровальной бумаги, зафиксировать положение покровного стекла и тупым концом препаровальной иглы надавить на слюнные железы. Давить нужно довольно сильно, но так, чтобы не разбить стекло.

8. Изучить препарат под микроскопом. Должны быть видны длинные, окрашенные в розовый цвет клубки нитей гигантской хромосомы (рис. 2).

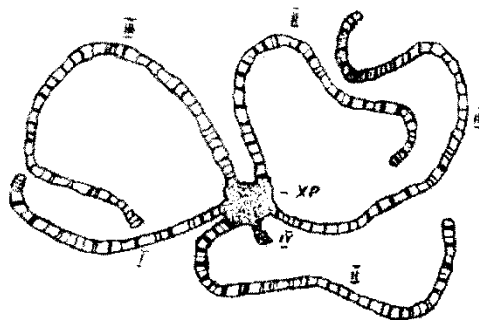


Рис. 2. Гигантские хромосомы слюнных желез дрозофилы:
ХР – хромоцентр; I, II, III, IV – соответствующие пары хромосом

На рисунке видно, что центромерные (гетерохроматические) области всех хромосом объединены и образуют общий хромоцентр. От хромоцентра отходят четыре длинные нити (приблизительно равной длины). Это вторая и третья пары хромосом дрозофилы. От хромоцентра отходит также одна непарная хромосома (X-хромосома). Четвертую пару мелких, так называемых микрохромосом обычно не видно. Отчетливо прослеживается, что по всей своей длине хромосомы не однородны. Они состоят из светлоокрашенных и темноокрашенных дисков. Диски представляют собой эухроматические и гетерохроматические области гигантских политенных хромосом.

Пользуясь фотографиями цитологических карт, можно идентифицировать все три пары хромосом. Следует отметить, что вместо восьми (четырёх пар) хромосом мы видим только четыре. Это является результатом того, что в слюнных железах гомологичные хромосомы находятся на стадии сильной конъюгации, поэтому вместо пары гомологичных хромосом мы видим только одну хромосому.

Приготовленный препарат рассматривают при малом увеличении микроскопа (7×8).

В центре клетки, где хромосомы расправлены, легче обнаружить центромеру (хромоцентр) в виде более ярко окрашенного узла. От него отходят хромосомы. Следует рассмотреть детали строения при больших увеличениях (рис. 3).



Рис. 3. Часть гигантской политенной хромосомы слюнной железы мотыля
(пуф отмечен стрелкой)