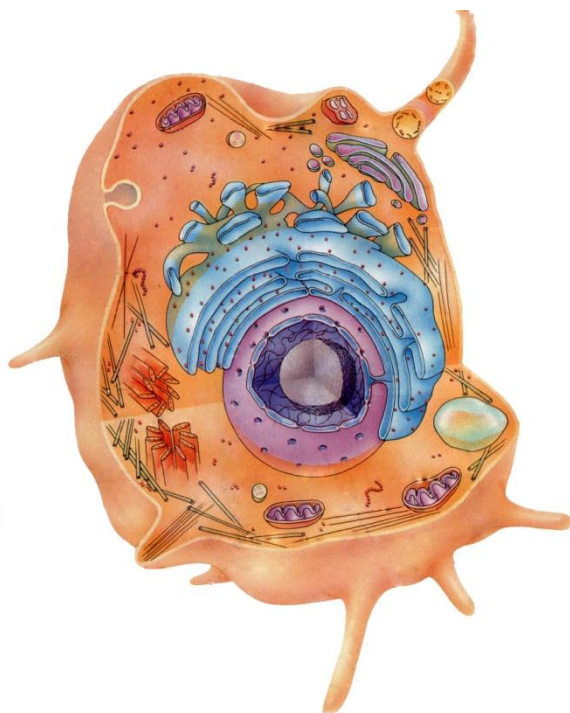


**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIIY VA O'RTA MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI**

**Z.M.BOBUR NOMIDAGI
ANDIJON DAVLAT UNIVERSITETI**

I. BADALXO'JAYEV

SITOLOGIYADAN AMALIY MASHG'ULOTLAR



ANDIJON – 2005

HUJAYRANI TEKSHIRISH USULLARI

1. Optik usullar

1.1. Yorug'lik mikroskoplaridan foydalanish

Zamonaviy yorug'lik mikroskoplari juda takomillashgan optik asbob bo'lib, hujayra yadrosi va organoidlarini o'rganishda katta ahamiyatga ega. Bu mikroskop yordamida ob'yektni 2-3 ming marta kattalashtirib ko'rish va o'rganish mumkin.

Biologik mikroskoplarning quyidagi xillaridan: MBR-1, 2, 3, MBI-1, 2, 3, 12, MBS-1, 2, 4, 9 kabilardan foydalanilmoqda.

Hozirgi davrda oddiy yorug'lik mikroskoplaridan tashqari quyidagi mikroskoplar va ulardan foydalanish usullari mavjud: 1.Qorong'i maydonli mikroskop; 2.Ultrabinafsha nurlil mikroskop; 3.Lyuminestsent yoki flyuorestsent mikroskop; 4.Fazokontrastik mikroskop; 5.Interfraksion mikroskop; 6.Polyarizatsion mikroskop va boshqalar.

Qorong'i maydonli mikroskopda ko'rish. Bu mikroskop oddiy mikroskop bo'lib ko'rish maydoni markaziga nur tushirmaydigan maxsus qorong'i kondensor bilan ta'minlangan. Ob'yekt qiya tushayotgan nurlar bilan yoritiladi. Bu mikroskop tirik hujayra tuzilmalarini, bo'yalmagan tirik hujayralarni, bakteriyalarni kuzatishga imkon beradi.

Ultrabinafsha nurlil mikroskop bilan ko'rish. Bu mikroskop linzalari kvarsdan yasalgan bo'lib, u faqat ultrabinafsha nurlariga o'tkazadi. Bunday mikroskopda ko'rish uchun tayyorlangan preparatlar kvarsdan qilingan buyum oynalariga olinadi va kvarsdan tayyorlangan yopqich oyna bilan yopiladi. Bu mikroskop hujayra tuzilmalarini yanada chuqurroq o'rganishga imkon beradi.

Lyuminestsent yoki flyuorestsent mikroskopiya. Ob'yektning nurlanishiga lyuminestsentsiya deyiladi. Yorug'lik manbai bo'lib ultrabinafsha nurlar yoki to'lqin uzunligi 0.27 – 0.4 mkm bo'lgan spektrning ko'k qismi hisoblanadi. Bu nurning ta'siri vaqtida nurlar energiyasi hisobiga preparat nurlanadi – flyuorestsentsiya qilinadi. Birlamchi va ikkilamchi flyuorestsentsiya farq qilinadi. Birlamchi flyuorestsentsiya deb; ba'zi bir moddalarning nur ta'sirida nurlanishiga aytiladi. Bu moddalarga vitamin A va B₂, pigmentlar, lipidlar kiradi. Ikkilamchi flyuorestsentsiya preparatlar maxsus nurlanuvchi moddalar (flyuoroxrom) bilan ishlanganda hosil bo'ladi. Bu moddalarga to'q sariq akridin, flyuorestin, rodaminlar kiradi. Preparatlarni to'q sariq akridin bilan ishlanganda hujayradagi DNK yashil rangda, RNK esa qizil rangda nurlanadi.

Fazokontrastik mikroskopiya – ob'ektlarning oq - qoraligini (kontrastligini) keskin oshirishga va bo'yalmagan oqish rangli preparatlarni o'rganishga imkon beradi.

Interfraksion mikroskopiya. Bunday mikroskop bilan ko'rganda hujayralarning turli qismlari zichligi bo'yicha turli ranglarda bo'yalgan holda . Optikaviy qism linzalar sistemasidan iborat bo'lib, ob'yektni kattalashtirib beradi. Yoritqich qismga ko'zgu, kondensor va diafragma kiradi. Ko'zgu ikki qavatli bo'ladi. Bir tomondagisi tekis, ikkinchi tomondagisi esa biroz botiq bo'ladi. Keyingisi ko'zguga tushayotgan yorug'likni to'plab, kondensorga yo'naltiradi. Ko'zgu shtativga harakatchan biriktirilgan bo'lib, yorug'lik qaysi tomondan tushishiga qarab, uni to'g'rilanadi.

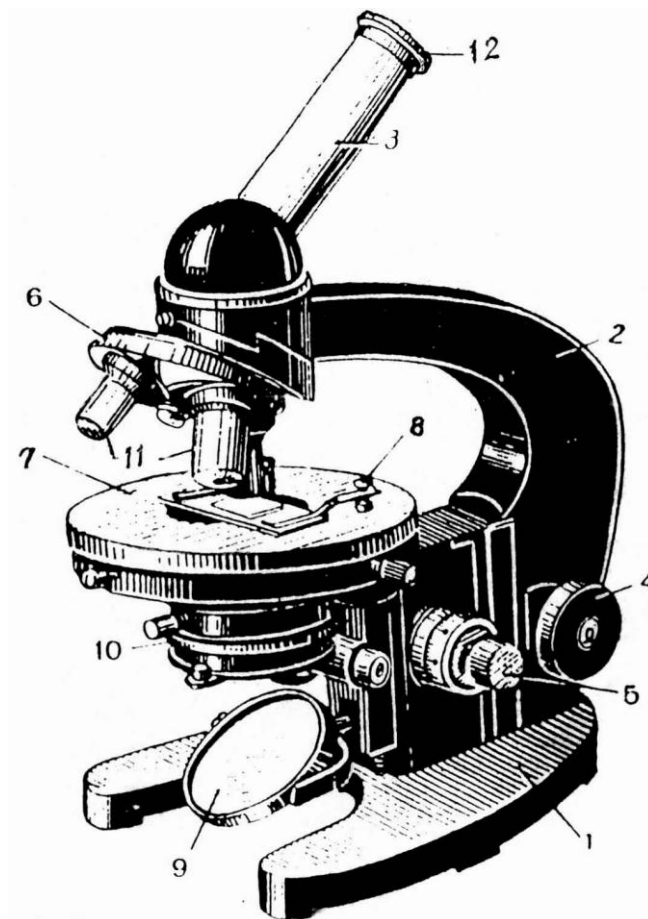
Mikroskopning mexanikaviy qismiga shtativ (2), buyum stolchasi (7), tubus (3), revolver (6), kremaleramikro (5) va makrometrik vintlar (4), shuningdek, kondensorni harakatlantiruvchi vint kiradi.

MBI-1 mikroskopining shtativi ikki xil tubus o'rnatishga mo'ljallangan. Tubusning biri egilgan bo'lib, rasmga olish va rasm chizish asboblari o'rnatishga moslashgan. Shtativ (2)ga buyum stolchasi mahkamlangan bo'lib, unga preparat qo'yiladi. Stolchani markazida teshikcha bo'lib, u ko'zgu (9)ga tushayotgan yorug'likni stolcha ostiga o'rnatilgan kondensor (10) orqali ob'yektga yonaltiradi. Stolchani ikki yonidagi vintchalar yordamida o'rganilayotgan ob'yektni turli tomonlarga siljilishi mumkin.

Ko'rish nayi (tubus) (3) ning yuqorigi uchiga okulyar, ostki uchiga yumaloq plastinka (revolver) (6) ga katta va kichik ob'ektivlar o'rnatiladi.

Makrometrik vint (4) orqali shtativni yuqoriga yoki pastga asta-sekin harakatlantirib, o'rganilayotgan ob'yekt topiladi, so'ng mikrovint (5)ni burab, ob'yekt fokusga aniq tushiriladi.

Mikroskop bilan ishlovchi har bir talaba quyidagi qoidaga amal qilishi kerak: 1. Mikroskopda ish boshlashdan avval kondensor yuqoriga ko'tariladi, diafragma ochiladi va kichik ob'yektivni ob'yekt ustiga keltiriladi. 2.Quruq sistemali ob'yektivlar bilan ishlaganda ko'zguning botiq, yog'li ob'yektivlar bilan ishlaganda esa tekis tomonidan foydalaniladi. 3.Dastlab kichik ob'yektiv bilan ish boshlash kerak, zaruriyat bo'lganda, ya'ni o'rganilayotgan ob'yektning ayrim qismini ko'rishda katta ob'yektivga ko'chirish kerak. 4.Tubusni tushurishda albatta buyum stolchasiga yonidan qarab turish kerak, aks holda ob'yektiv va o'rganilayotgan preparat sinishi mumkin. 5.Chap ko'z bilan ob'yektivga, o'ng ko'z bilan esa rasm daftariga qarab, chap qo'l bilan mikrovint buraladi, o'ng qo'l bilan esa rasm chiziladi.



1-rasm. Mikroskopning tuzilishi.
 1-oyog'i, 2-kolonkasi, 3-tubusi, 4-makrometrik vinti, 5-mikrometrik vinti
 6-revolveri, 7-buyum stolchasi, 8-preparat qisqichlari, 9-ko'zgusi,
 10-kondensori, 11-ob'yektivlari, 12-okulyari.

1-topshiriq. Mikroskopning tuzilishi.

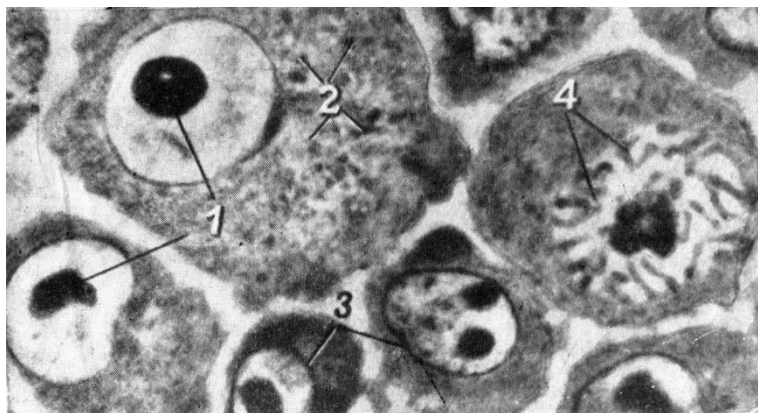
Ishni bajarish tartibi

1. Okulyarga qarab turib, ko'zguni yorug'lik yaxshi tushadigan tomonga yonaltiring. Buni okulyarda yorug'lik tekis aks etguncha davom ettiring.
2. Toza buyum oynasiga tomizgich bilan bir tomchi suv tomizing va unga tekshirilayotgan ob'yekt masalan, tufelkani joylashtiring, uning ustidan qoplagich oyna yoping.
3. Tayyorlangan preparatni buyum stolchasiga shunday qo'ying-ki, ob'yektingiz stolchasidagi teshikchaga to'g'ri kelsin.
4. Fokus kichik ob'yektiv yordamida to'g'rilanadi. Buning uchun avval buyum stolchasiga yonidan qarab turib, tubusni qoplagich oynaga tegmaydigan qilib tushiriladi. So'ng okulyarga qarab turib, asta-sekin makrometrik vintni o'zingiz tomonga burab, tubusni mikroskopda ob'yekt ko'ringuncha ko'tariladi. Keyin mikrometrik vint bilan fokusni yana ham ravshanlashtiriladi. Zaruriyat bo'lsa, fokusni buzmaganda katta ob'yektivga o'tkazing. Mikrovint yordamida fokusni yana ravshanlashtiring. Mikroskopda ko'ringan holatning rasmini daftaringizga chizing.

2-topshiriq. Fazo-kontrastik mikroskopiya.

1. Bu mikroskopda birorta tirik ob`yekt, masalan tufelkani kuzating, uni oddiy mikroskopda ko`rinishi bilan solishtiring. Fazo-kontrastli mikroskopda hujayraning yadrosi, organoidlari va turli kiritmalari oddiy mikroskopdagiga nisbatan aniq ko`ringaniga e`tiborni qarating.

2. Shish hosil qiluvchi tirik hujayralarning fazo-kontrastli mikrosuratini o`rganing. Unda yadrochalar (1), mitoxondriyalar (2), yadro qobig`i (3), xromosomalar (4) aniq ko`rinadi. Shu suratdagi narsalarning rasmini chizib oling (rasm 2).



2-rasm. Shish hosil qiluvchi tirik hujayralarning fazakontrastli mikroskopda ko`rinishi.
1-yadrochalar, 2-mitoxondriyalar, 3-yadro qobig`i, 4-xromosomalar.

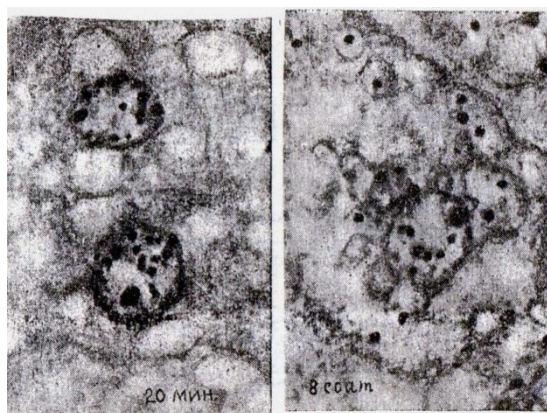
2. Sitofizikaviy usullar

2.1. Radioavtografiya usullari

Bu usul radioaktiv izotoplarning qo`llanilishiga asoslangan. Uning yordamida oqsillar, nuklein kislatalari biosintezi, hujayra qobig`ining o`tkazuvchanligi, hujayrada moddalar to`planishi kabilar o`rganiladi. Sitologik tadqiqotlarda sun`iy radioaktiv izotoplar (tritiy H^3 , uglerod C^{14} , fosfor P^{32} , oltingugurt S^{35} , yod I^{131}) dan foydalaniladi. Organizmga yuborilgan radioaktiv izotoplar moddalar almashinuvida faol qatnashadi va tajriba asosida miqdori aniqlanadi. Bu usul bilan tayyorlangan preparatlar hujayraning izotoplar tutgan joylarida qora dog`lar paydo bo`ladi. O`shanga qarab, u yoki bu moddaning tarqalishi o`rganiladi.

Topshiriq. Avtoradiografiya usuli bilan 3-rasm orqali A – rasmda tasvirlangan kalamushning jigar hujayralarida RNK ning hosil bo`lishi bosqichlari radioavtografini o`rganing. Ob`yektga nishonlangan modda (H-sitidin) kiritilgandan keyin turli muddatlarda 20 minut, 1 soat, 8 soat va 48 soatdan so`ng preparatlar tayyorlangan. Shunga e`tibor beringki, birinchisida RNK faqat yadro va yadrochada, ikkinchisida qisman sitoplazmada ham, uchinchisida yadro va sitoplazmada, bir xil miqdorda, 4-sida yadroda oz, sitoplazmada esa ko`p miqdorda tarqaladi. Bu RNK ning yadroda sintezlanib, keyin sitoplazmaga o`tishini aniq isbotlaydi. B – rasmda avtoradiografiya metodining sxemasi berilgan. Unda nishonlangan vodorod – H, timidinning (1) kiritilishi, uning yadro DNK siga birikishi (2), hujayraning qoplangan fotoemulsiya (3), nishonlangan atomning qora dog`lar holida yonidan (4) va ustidan (5) ko`rinishi berilgan.

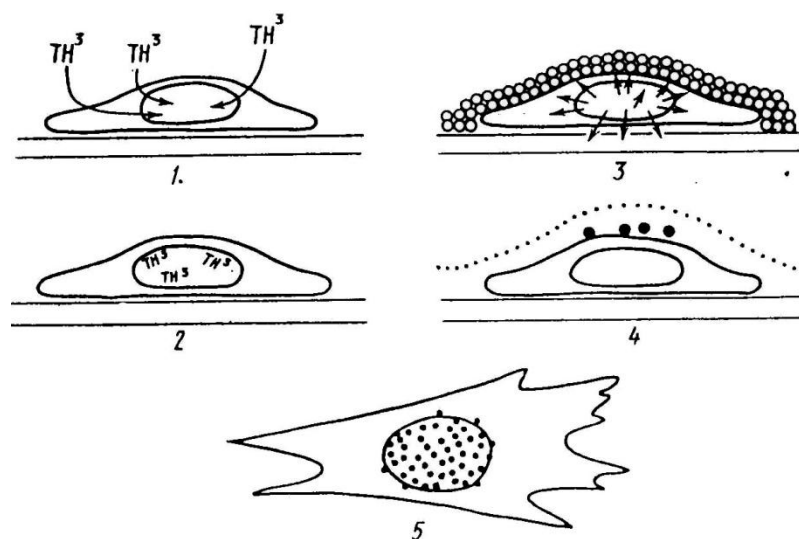
Kuzatganlaringizning rasmini chizing va izohlang.



A

3-rasm. Avtoradiografiya metodi.

A – kalamushning jigar hujayralarida RNK ning hosil bo`lish bosqichlari avtoradiografi.



B

B – avtoradiograflar hosil qilish sxemasi.

1-nishonlangan timidinning hujayraga kiritilishi, 2-uning yadro DNKsiga birikishi, 3-fofoemulsiya bilan qoplangan hujayra,

4-hujayrada nishonlangan moddaning qora dog'lar shaklida yonidan va 5-ustidan ko'rinishi.

3. Ultrastrukturalarni o'rganish usullari

3.1. Elektron mikroskoplar

Elektron mikroskop 1931- yilda kashf qilindi. Hozirgi vaqtda hujayraning strukturasini o'rganishda bunga to'g'ri keladigan asbob yo'q. Elektron mikroskop (rasm 4) ning boshqa mikroskoplardan farqi shundaki, bunda yorug'lik o'rniga elektron nurlar, linzalar o'rniga elektromagnit maydonidan foydalaniladi. Elektron mikroskopda ob'yekt 500 000, mikrosuratlarda esa 1 mln. va undan ham kattalashtirib ko'rinishi mumkin. Elektron mikroskopda hujayra strukturalarini o'rganish uchun o'ta yupqa kesmalardan foydalaniladi. Bunday kesmalar ultratomlar yordamida tayyorlanadi. Dastlabki Elektron mikroskoplarda faqat fiksatsiya qilingan ob'ektlargina o'rganilgan edi, chunki elektronlarning kuchli oqimi tirik hujayralarni nobud qiladi. Bundan tashqari, yorug'lik va elektron mikroskoplarning yana bir kamchiligi shundaki, ular ob'yektni faqat bir tekislikda o'rganishga imkon beradi. Hujayraning tuzilishini bir butun holda o'rganishga ko'plab kesmalar tekshirilishi kerak.

Keyingi yillarda ishlab chiqilgan skanerlangan elektron mikroskoplar bu kamchiliklardan xolidir. Uning yordamida 3 o'lchamli tasvir hosil qilinadi. U 15 martadan 2000 martagacha kattalashtirib ko'rsata oladi.

1-topshiriq. 5-, 6-, 7 – elektron mikroskopik mikrosuratlarini o'rganing. 5-suratda Shvan hujayrasining elektron mikroskopik tasviri berilgan. Unda endoplazmatik to'ring naychalari, pufakchalari va sisternalari (3), yadro (1), yadro qobig'i (2) va Golji kompleksi (4) ko'rinadi.

6-suratda odam terisidagi kollagen tolalar tasvirlangan. Unda tolaning ko'ndalang chiziqliligi ko'zga tashlanadi.

7-suratda esa kalamushning taloq hujayrasidagi DNK molekulasini tasvirlangan. 6-suratni rasm daftaringizga chizing.

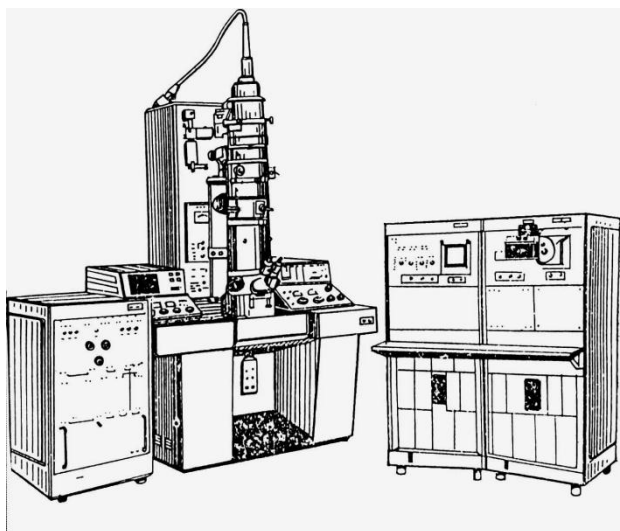
2-topshiriq. Skanerlangan mikroskop yordamida qilingan 8 va 9– suratlarni kuzating. 8-suratda odamda xavfli o'sma hosil qiluvchi tirik hujayraning hajmli tasviri berilgan. Hujayra qobig'ining bunday murakkab strukturasini boshqa mikroskoplarda ko'rib bo'lmaydi.

9-suratda esa nilufar gulining chang donachasining skanerlangan mikroskopik fotosurati berilgan.

10-suratda diatom suv o'tining skanerlangan elektron mikroskopik fotosurati berilgan.

11-suratda esa dinaflagellat degan sodda hayvonning skanerlangan elektron mikroskopik tasviri berilgan. Ko'rinib turibdiki, skanerlangan elektron mikroskoplarda yorug'lik mikroskoplarida ko'rib bo'lmaydigan strukturalar yaxshi ko'rinadi.

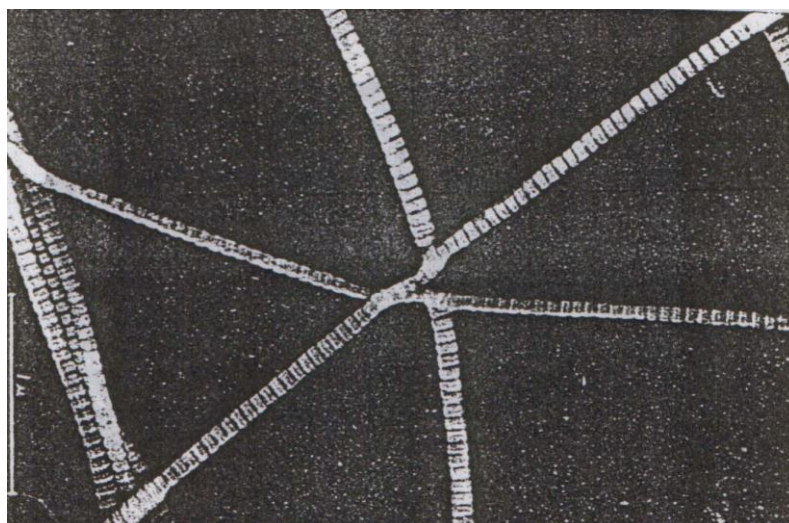
Kuzatganlaringizdan xulosa qilib, skanerlangan mikroskopning afzalligi haqida bayon qiling.



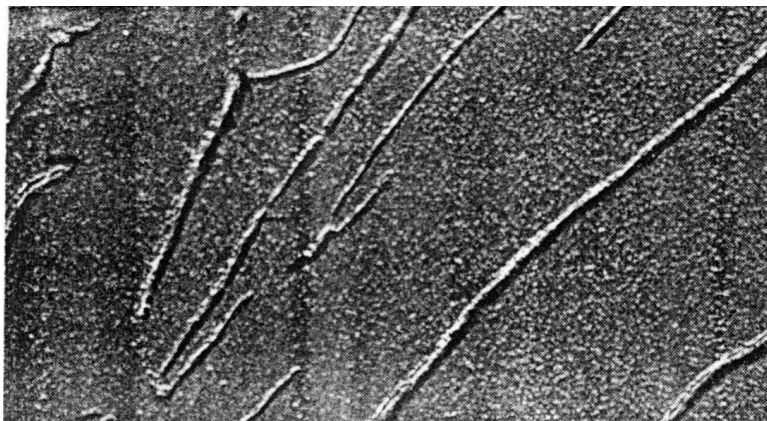
4-rasm. Zamonaviy elektron mikroskop



5-rasm. Shvan hujayrasining elektron mikroskopda ko'rinishi.
1-yadro, 2-yadro qobig'i, 3-endoplazmatik to'r, 4-Golji kompleksi



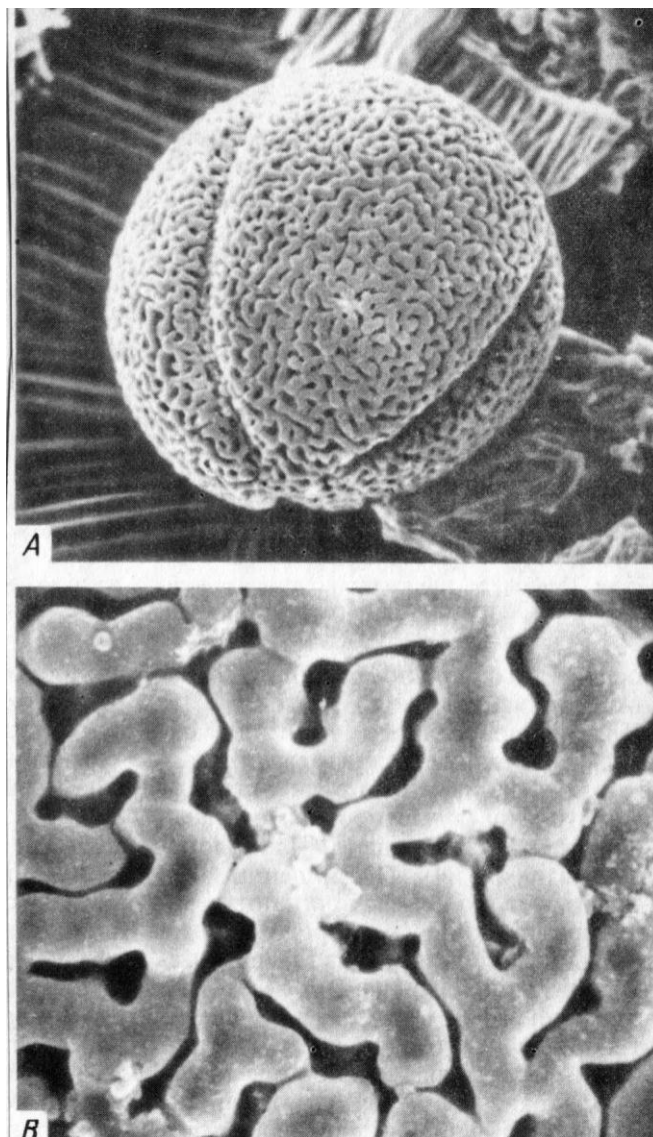
6-rasm. Odam terisidagi kollagen tolalarining elektron mikroskopda ko'rinishi.



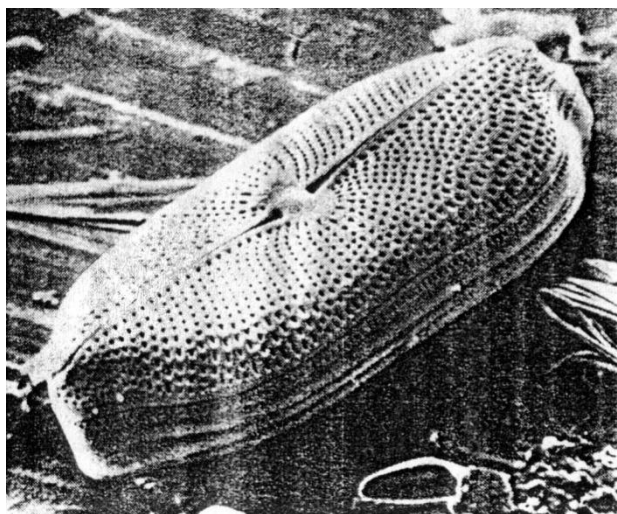
7-rasm. Kalamushning taloq hujayrasidagi DNKning elektron mikroskopda ko'rinishi.



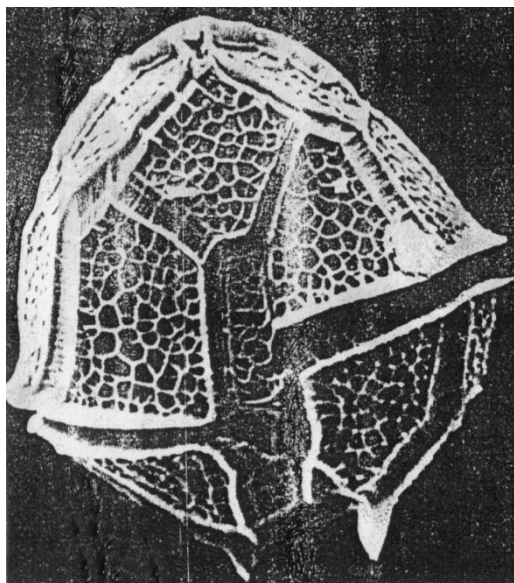
8-rasm. Odamda xavfli o'sma hosil qiluvchi tirik hujayraning ckanerlangan elektron mikroskopda ko'rinishi.



9-rasm. Nilufar gulining chang donachasini skanerlangan elektron mikroskopda ko'rinishi.
A – umumiy ko'rinishi, B – bir qismining kattalashtirilgani



10-rasm. Diatom suv o'tining skanerlangan elektron mikroskopda ko'rinishi.



11-rasm. Dinaflagellat degan sodda hayvonning skanerlangan elektron mikroskopda ko'inishi.