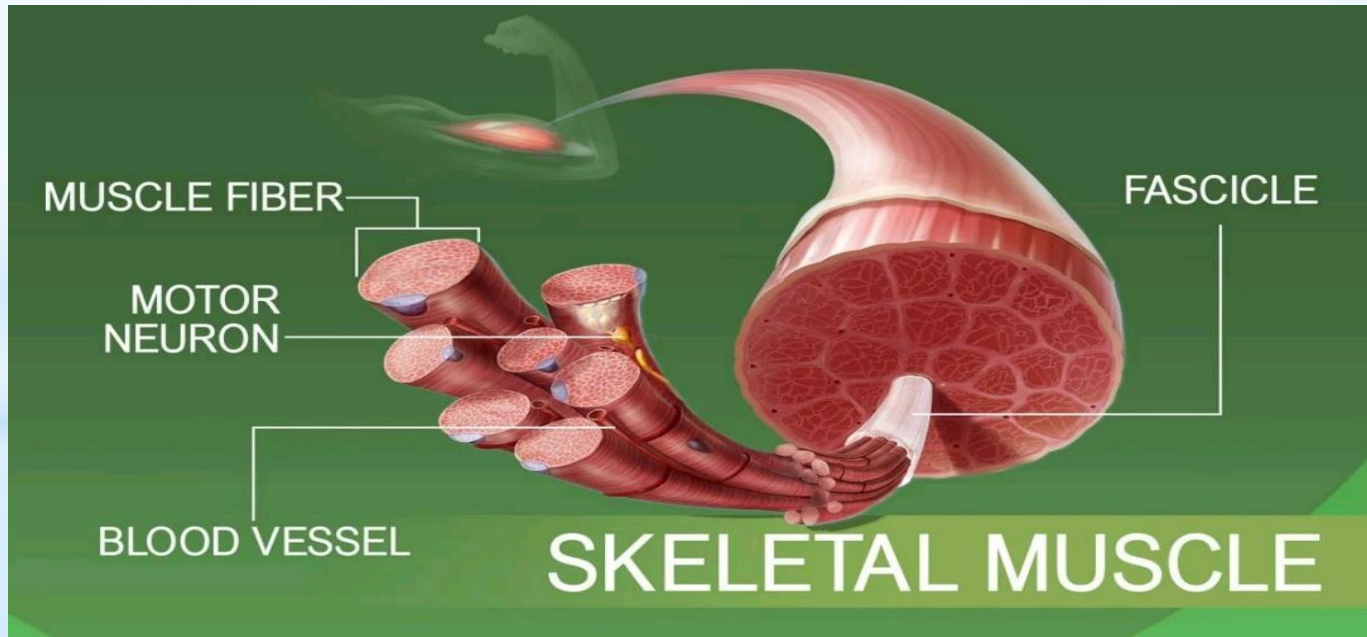




University of Isfahan
Biological Science and Technology
Department of Cell and Molecular Biology
Cellular and Molecular Laboratory
Farzaneh Forouharfar

عنوان

مشاهده و بررسی سلول های بافت عضلانی عضله مخطط (Striated muscle)



اهداف

بررسی بافت عضلانی مخطط Striated muscle
بررسی کوچکترین واحد انقباضی درون یاخته ای Sarcomere

پیکر برخی از مهره داران و بی مهرگان دارای سه نوع ماهیچه صاف و مخطط می باشد.
ماهیچه صاف (Smooth Muscle)

ماهیچه قلبی (Cardiac Muscle)

ماهیچه مخطط (Striated Muscle)

ماهیچه صاف تحت کنترل اعصاب مرکزی و عملکرد آن غیر ارادی می باشد و در اندام های داخلی مثل روده ها طحال و رگ های بزرگ قرار دارد. از نظر سلول شناسی در مقایسه با عضله مخطط بدون اختصاصات ویژه می باشند.

ماهیچه مخطط از نظر عملکرد ارادی بوده و قابل کنترل و دارای اختصاصات سلول شناسی ویژه ای است.

ماهیچه قلبی از نظر سلول شناسی شبیه ماهیچه مخطط و از نظر عملکردی شبیه ماهیچه صاف می باشد و مسئول پمپاژ بی وقفه و غیر ارادی خون در قلب است.

در این جلسه از بین سلول های عضلانی مختلف سلول عضله مخطط مورد بررسی سلول شناسی قرار می گیرند و سپس کوچکترین واحد انقباضی درون سلولی مشخص می گردد.

عضله مخطط

سلول های سازنده بافت عضلانی مخطط از سلول هایی به نام میو بلاست منشاء می گیرند. پس از شکل گیری سلول های عضلانی مخطط، پر هسته ای بوده و هسته ها معمولا مسطح و به سطح زیرین غشاء محکم فشرده می شوند. این سلول ها بسیار طویل و به شکل استوانه می باشند طول آن ها در پیکر موجود زنده به چند سانتی متر می رسد. پهنای آن ها معمولا حدود 80-10 میکرومتر می باشد و می توانند حدود دو سوم وزن پیکر موجود زنده را به خود اختصاص دهند و از هزاران تا ماهیچه ای انقباض پذیر که در کنار هم به طور موازی قرار گرفته اند تشکیل شده و توسط غلافی از بافت پیوندی احاطه می شوند.

غشاء سلولی این سلول ها سارکولما و سیتوپلاسم آن ها سارکوپلاسم نام دارد.

قسمت اعظم سارکوپلاسم از میوفیبریل تشکیل شده که پروتئین های موجود در عضله را ذخیره می کند. این سلول ها ارتباط تنگاتنگی با رشته های عصبی و مویرگ های خونی دارند.

میوفیبریل ها عناصر انقباضی موجود در سلول های عضلانی هستند که از واحد های تکراری به نام سارکومر تشکیل شده اند. تا حدود صد هزار سارکومر می تواند در طول رشته میوفیبریل وجود داشته باشد. طول هر سارکومر در حالت استراحت حدود 1-2

میکرومتر است. پروتئین های موجود در سلول های عضلانی عمدتاً اکتین و میوزین می باشند. پروتئینهای دیگری از جمله تروپومیوزین دیستروفین و تروپونین نیز در سلول های عضلانی وجود دارند. عدم بیان ژن سنتز پروتئین دیستروفین منجر به بیماری دیستروفی عضلانی می شود.

پروتئین دیستروفین در طول غشا سارکولما وجود دارد میله ای شکل است و بخشی از کمپلکس پروتئینی است اسکلت سلولی را به پروتئین های غشا که آن ها نیز به نوبه خود با پروتئین های خارج سلولی در ارتباطند پیوند می دهد.

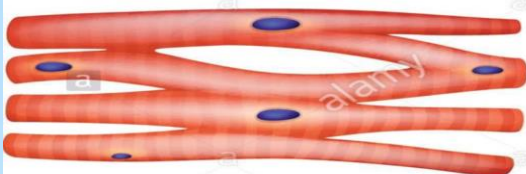
در بیماری دیستروفی عضلانی دوشن که یکی از انواع 10 نوع بیماری دیستروفی عضلانی می باشد ژن مسئول ساخت پروتئین دیستروفین که مربوط به کروموزوم x بوده و برای حفظ و ثبات ماهیچه لازم و ضروری می باشد دچار نقص شده و سبب تحلیل و نابودی ماهیچه های ارادی کنترل اعمال حیاتی می شود و نهایتاً منجر به معلولیت مشکلات تنفسی و مرگ میشود.

ساختار ویژه سلول های عضله اسکلتی در زیر میکروسکوپ به صورت تیره و روشن و مخطط دیده می شود که به دلیل طرز قرار گیری پروتئین های اکتین و میوزین در درون این سلول هاست. نوار های روشن شامل پروتئین اکتین و نوار های تیره شامل پروتئین های میوزین و درصد کمتری پروتئین اکتین می باشد. از نیمه یک نوار روشن که نوار تیره بسیار ظریفی به نام خط Z است تا نیمه نوار روشن متوالی بعدی یا Z لاین بعدی محدوده سارکومر می باشد که در واقع فاصله ی بین دو خط Z است. هنگام انقباض ماهیچه کوتاه می شود که این امر در نتیجه در هم فرو رفتن رشته های اکتین و میوزین و گذشتن آن ها از کنار یکدیگر می باشد. اندازه نوار های تیره در این فرایند ثابت بوده در حالی که نوار های روشن کوتاه تر می شوند. در مشاهدات سیتولوژیکی و میکروسکوپی سلول های مختلف از جمله سلول های عضلانی از روش رنگ آمیزی H and E یا هماتوکسیلین-ئوزین استفاده می شود. این روش گرانبه نیست به سرعت انجام می شود و نتایج خوبی را در شرایط تشخیصی پاتولوژی و تشخیص سلول های سرطانی ارائه می دهد. هماتوکسیلین هسته سلول را به رنگ ابی مایل به بنفش و ئوزین سیتوپلاسم را به رنگ صورتی در می آورد. در این آزمایش از رنگ ابی متیل جهت رنگ آمیزی هسته سلول های عضلانی و از لوگل جهت ایجاد کنتراست در ساختار پروتئینی اکتین میوزین استفاده می شود.

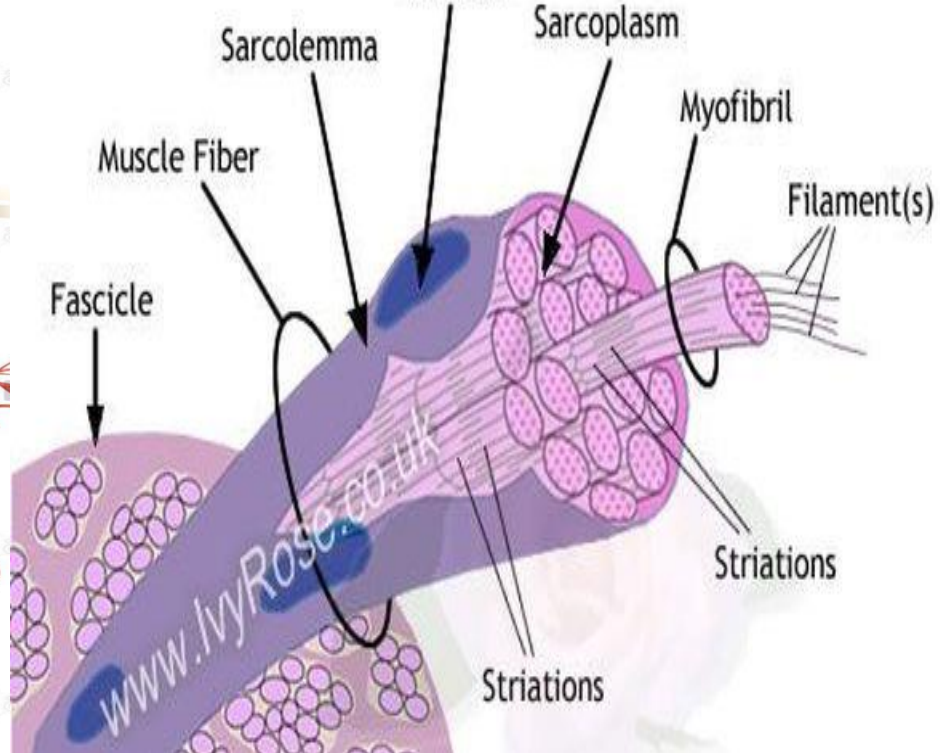
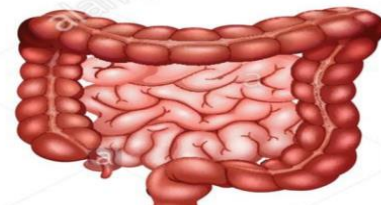
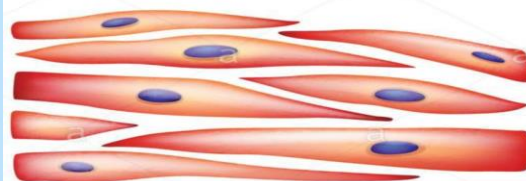
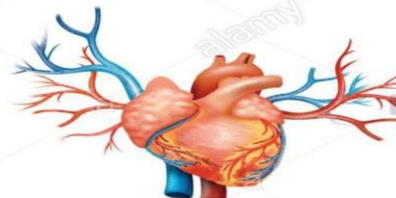
Types of Muscle Cells



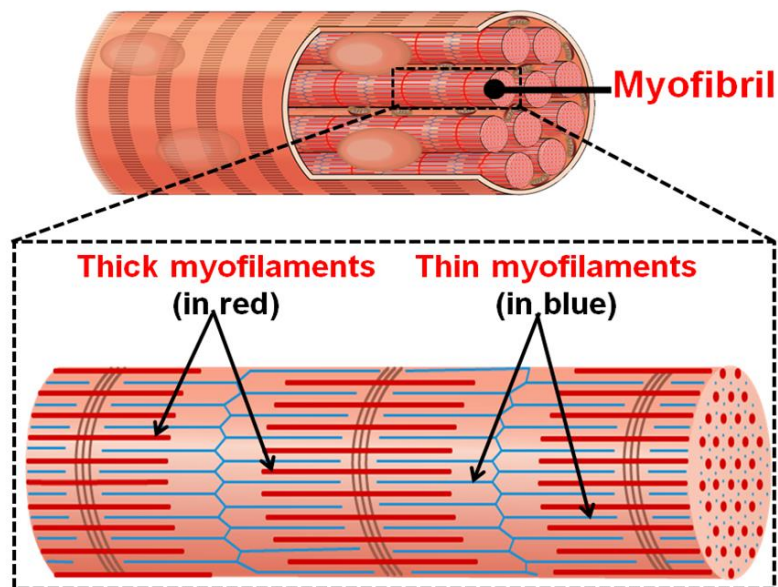
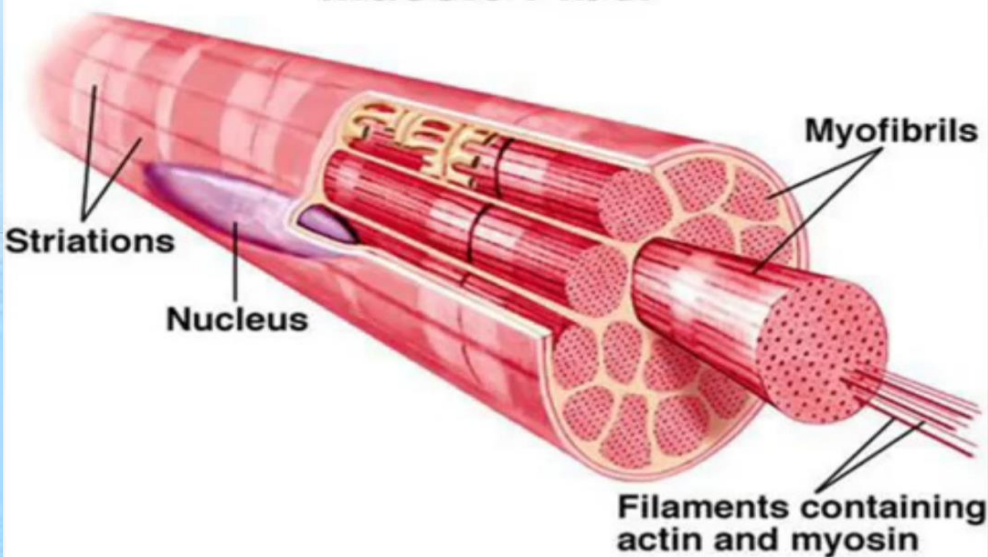
skeletal muscle

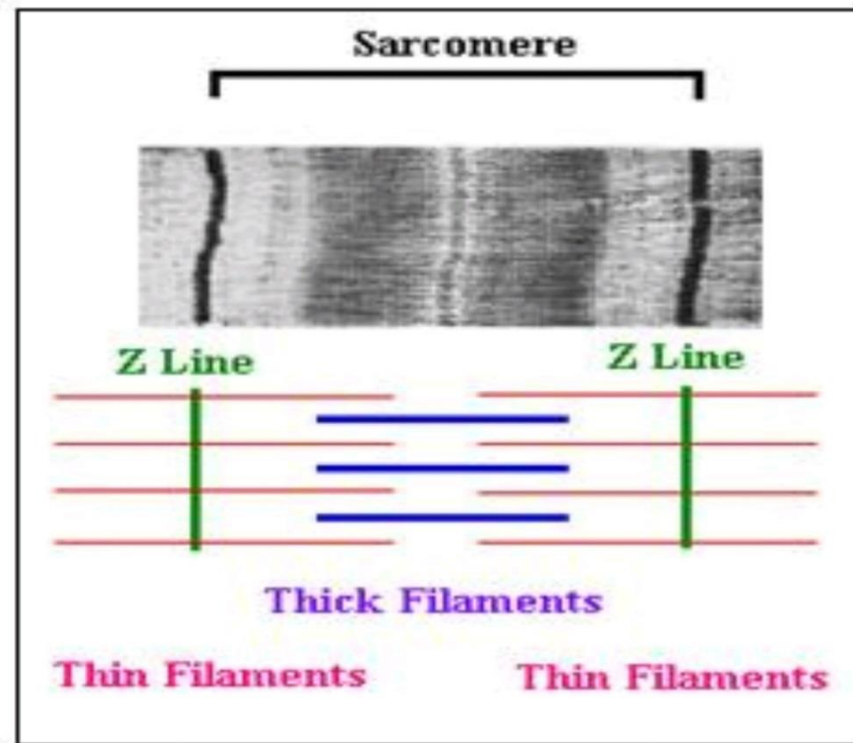
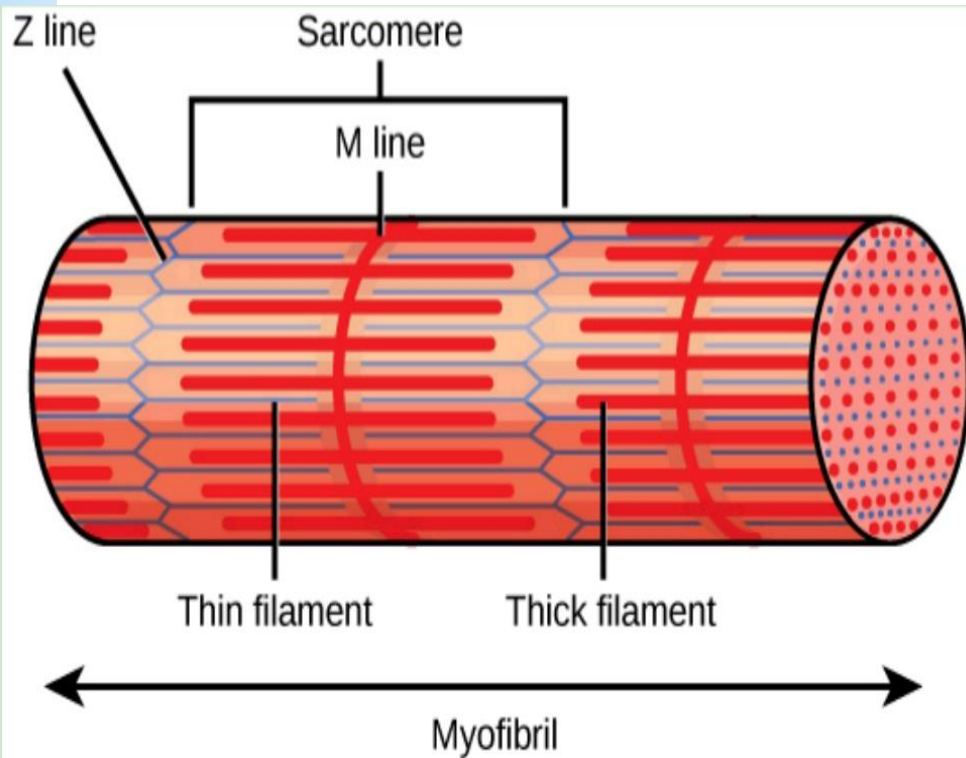
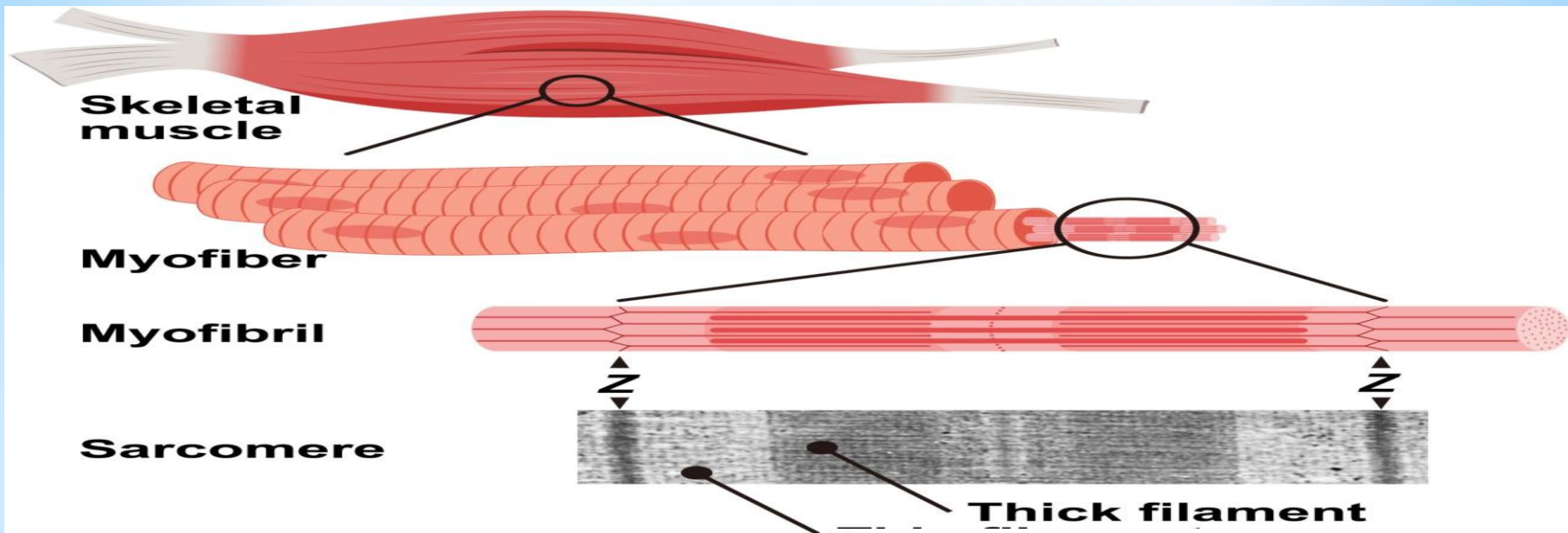


cardiac muscle



Muscle Fiber







مواد و وسایل مورد نیاز

مواد و وسایل مورد نیاز

. عضله مخطط قورباغه یا گوشت قرمز یا سفید
. قیچی نوک‌تیز
. پاستو پی‌پت یا قطره چکان
. میکروسکوپ نوری

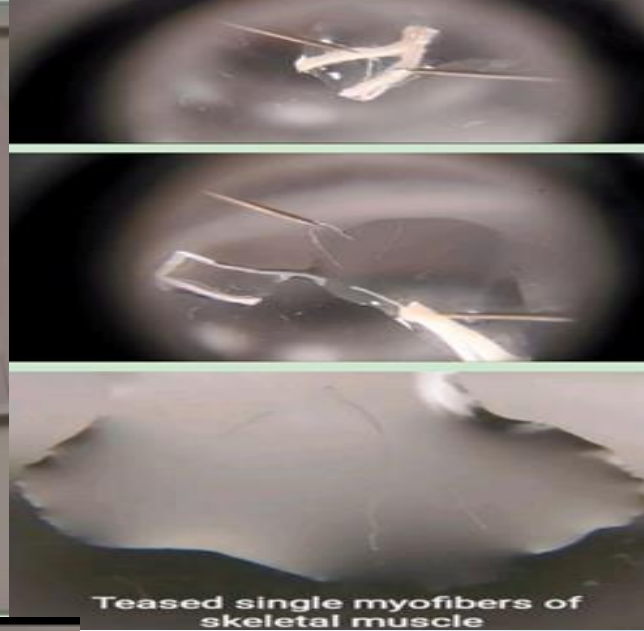
. اسیداستیک غلیظ
. لوگل
. آبی متیل
. سوزن تشریح
. لام و لامل

روش کار

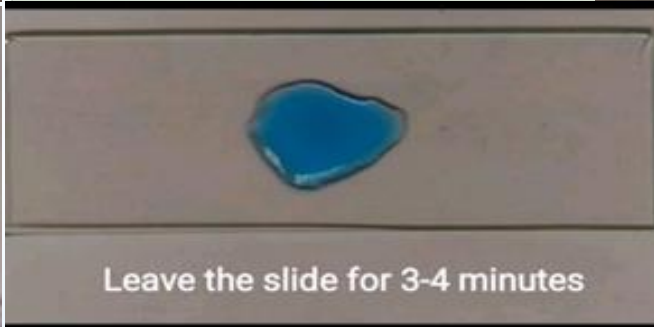
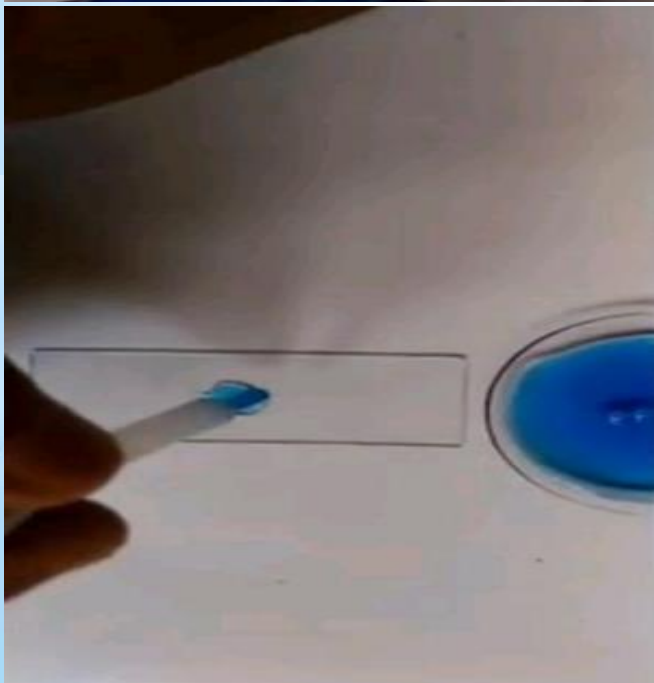
جهت مشاهده سلول های عضلانی عضله مخطط و ساختار میوفیبریل ها ابتدا تکه کوچکی از عضله ران قورباغه یا گوشت قرمز یا گوشت سفید را درون شیشه ساعت قرار داده و به مدت چند دقیقه جهت نرم شدن بافت عضله و از بین رفتن بافت پیوندی درون استیک اسید غلیظ قرار دهید. سپس مقدار بسیار کمی از بافت را بر روی لام قرار داده و با سوزن تشریح به دقت ریش ریش کنید و پس از آن یک قطره رنگ لوگل اضافه کرده و لامل گذاری نمایید. بر روی لام دیگر بدون افزودن استیک اسید غلیظ توده عضلانی را ریش ریش کرده و یک قطره آبی متیل اضافه کنید سپس لام گذاری کرده و بروی هر دو لام با انتهای خودکار چند ضربه بزنید تا سلول های بافت بین لام و لامل پخش شوند و اسکواش نموده، با کاغذ خشک کن پرس نمایید و با انگشت شصت فشار دهید تا فیکس شود به این روش تهیه لام اسکواش کردن می گویند. سپس با عدسی 4x و 10x در زیر میکروسکوپ با تنظیم مناسب کنتراست مشاهده کنید. در سلول های استوانه ای عضله مخطط هسته ها توسط آبی متیل به رنگ آبی مشاهده می شوند در اینحالت پر هسته ای بودن آن ها را بررسی نمایید. همچنین در میوفیبریل ها که توسط لوگل متمایز شده اند ساختار خط خطی بودن و چیدمان سارکومر را در طول میوفیبریل مشاهده کنید.



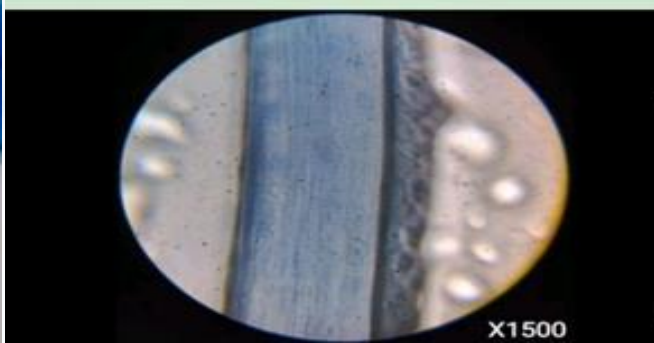
elbnuo elceum istelexe to noitroq llame A
 ebile ciqococim s no xelat
 tetsw bellitib to qorb eno gniniatnoo



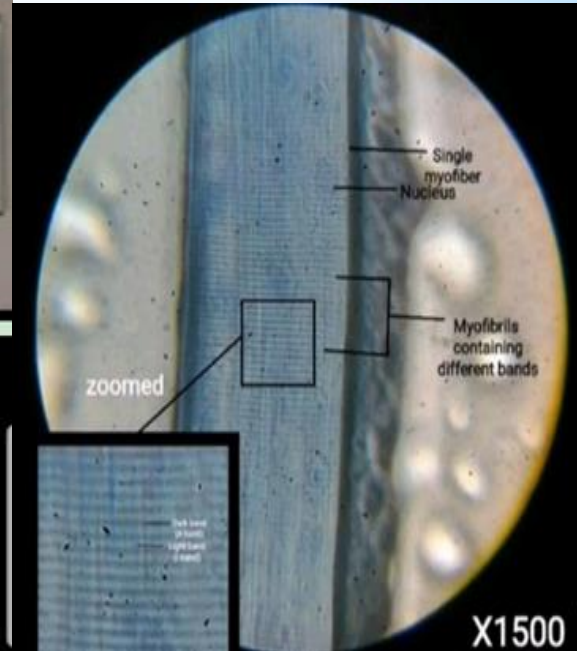
Teased single myofibers of skeletal muscle



Leave the slide for 3-4 minutes

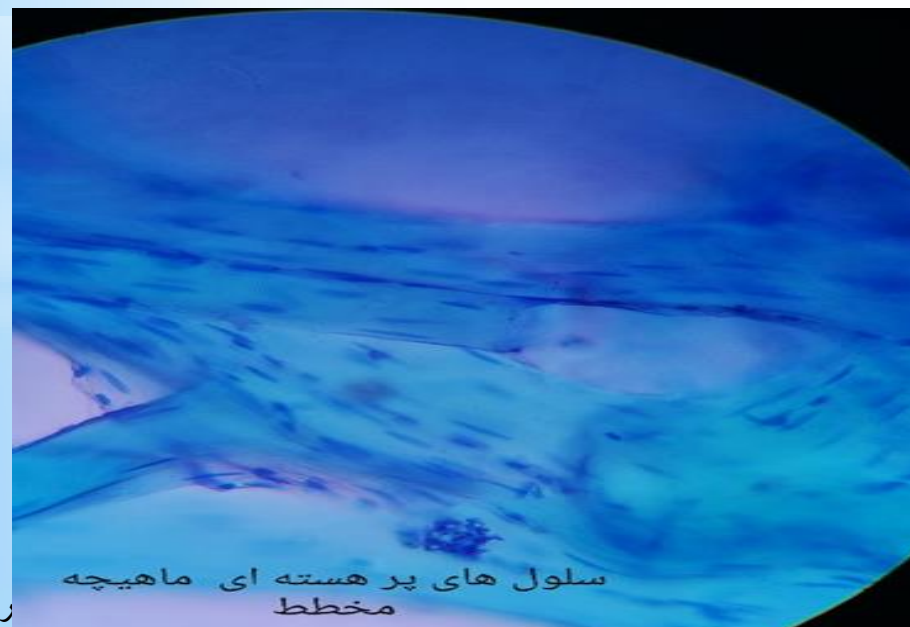
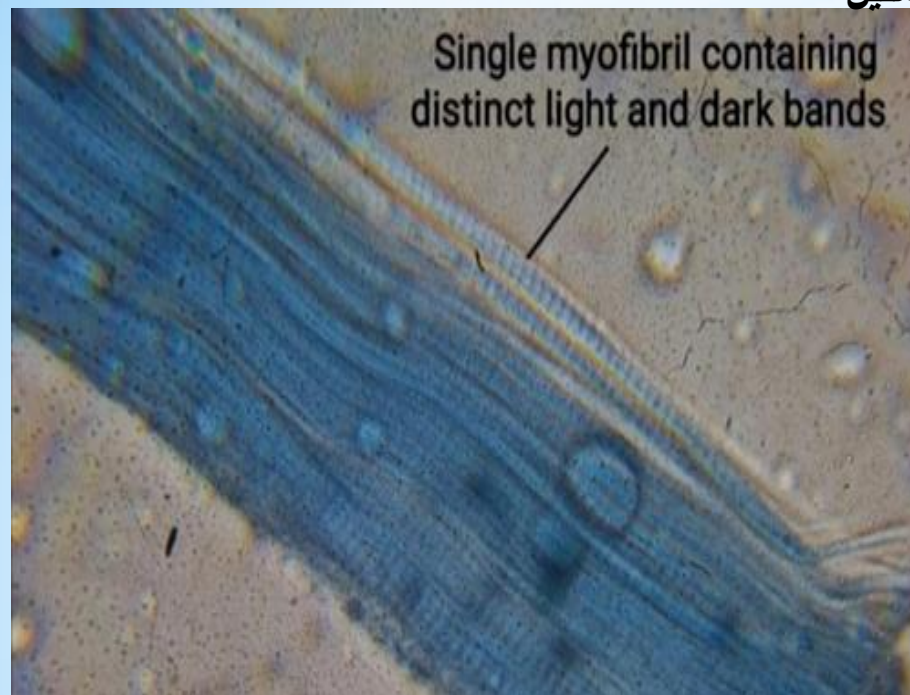


X1500

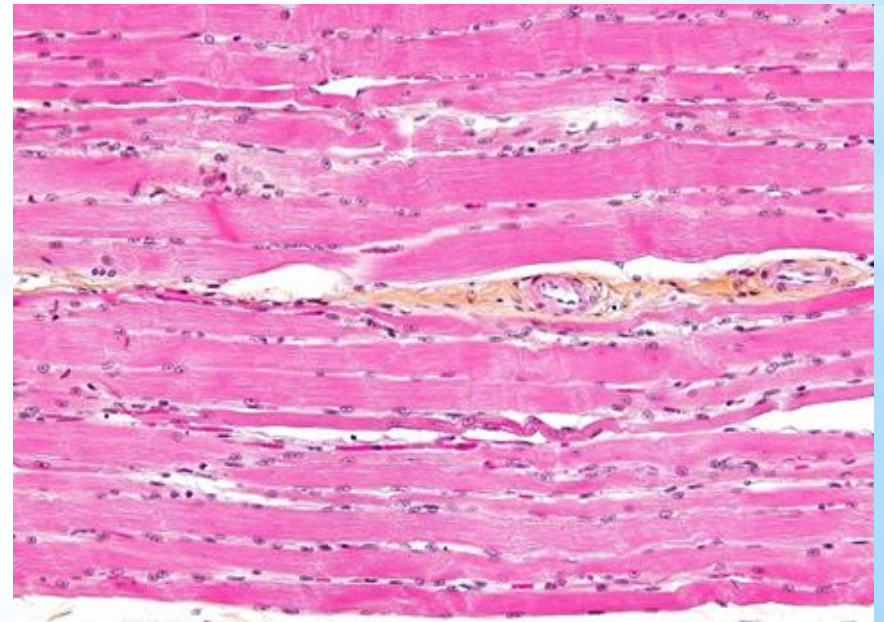
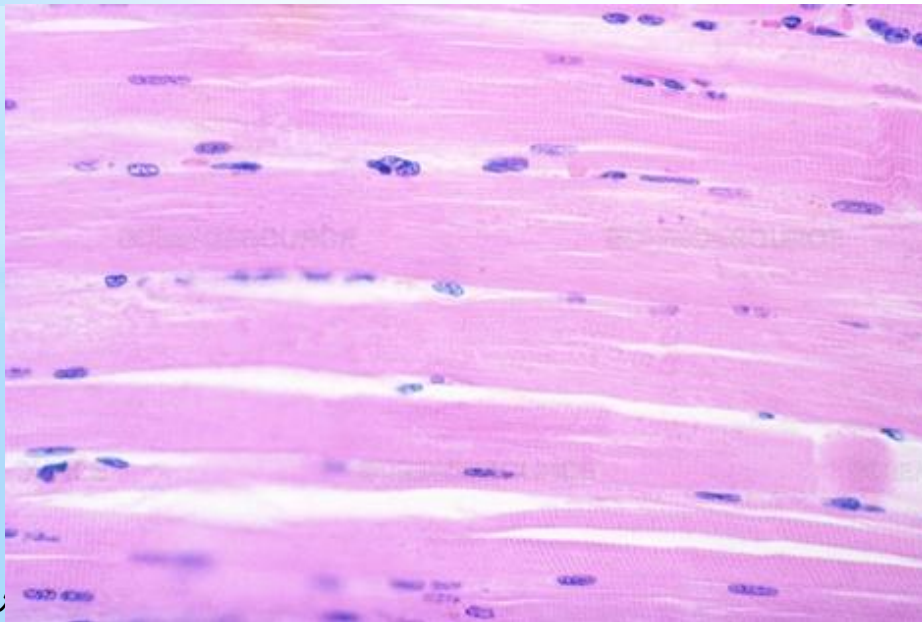
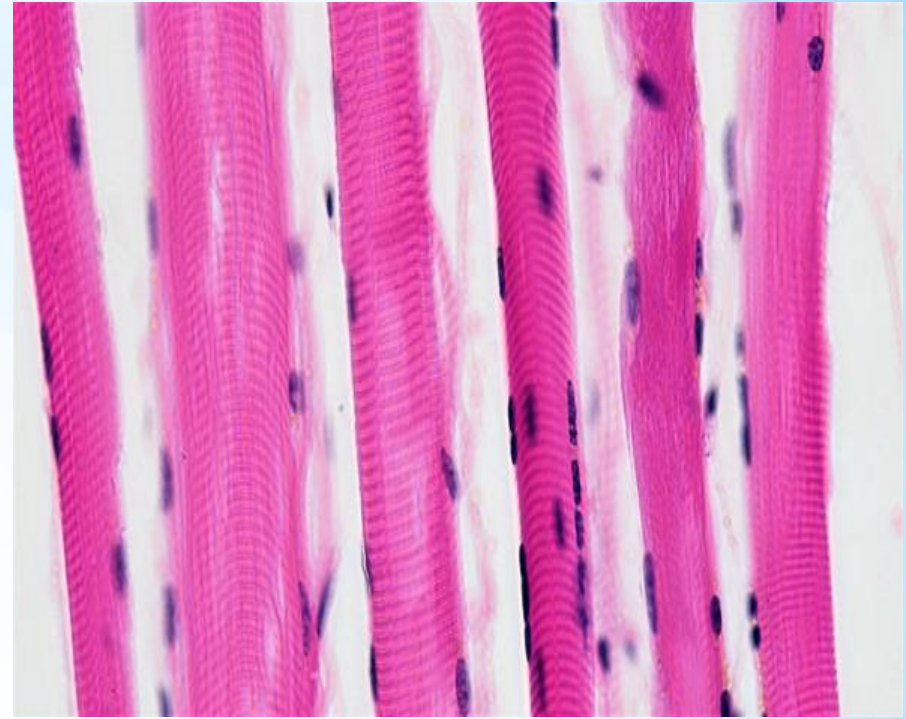
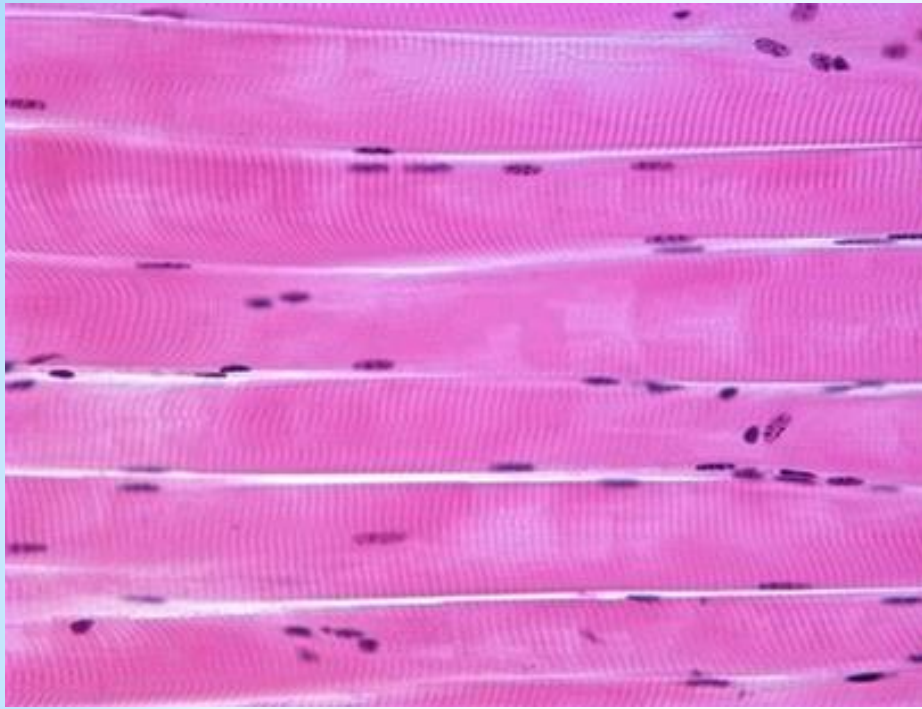


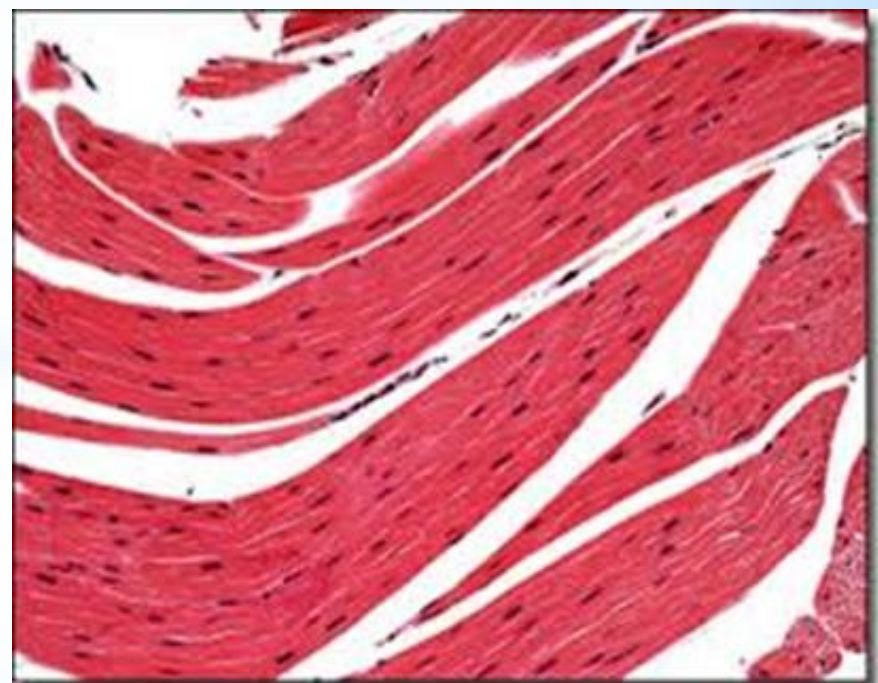
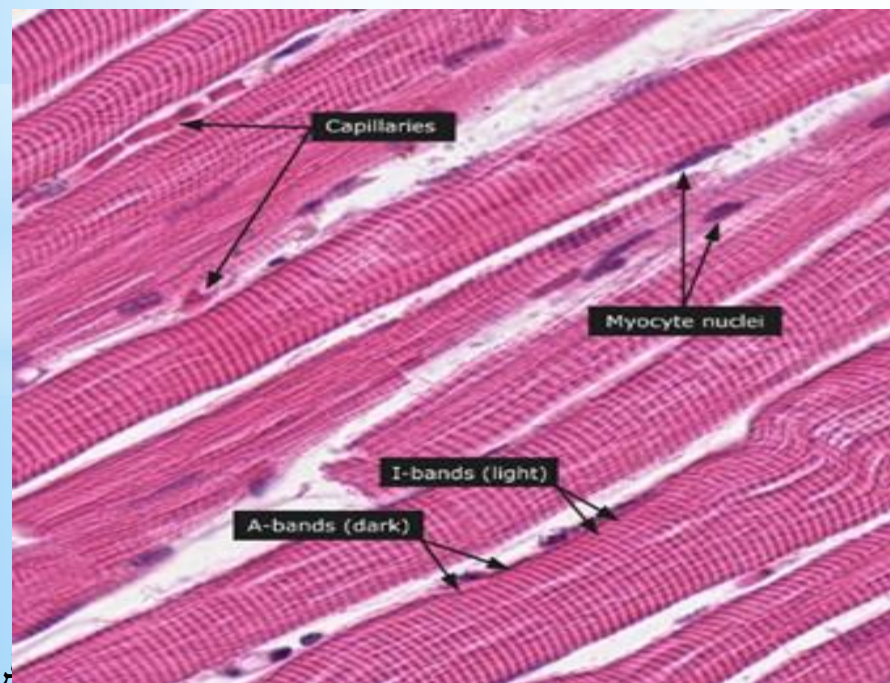
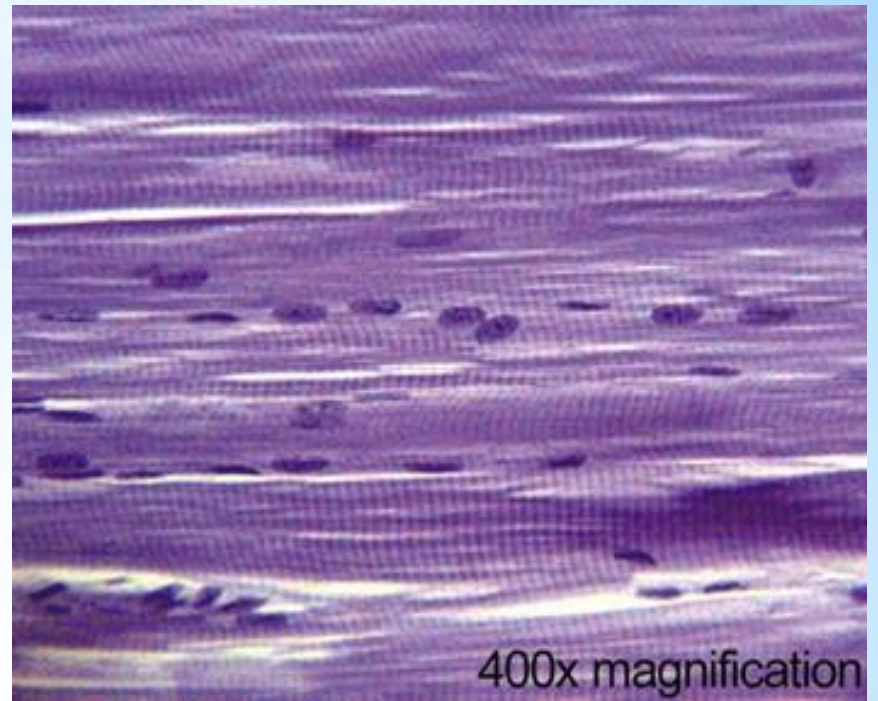
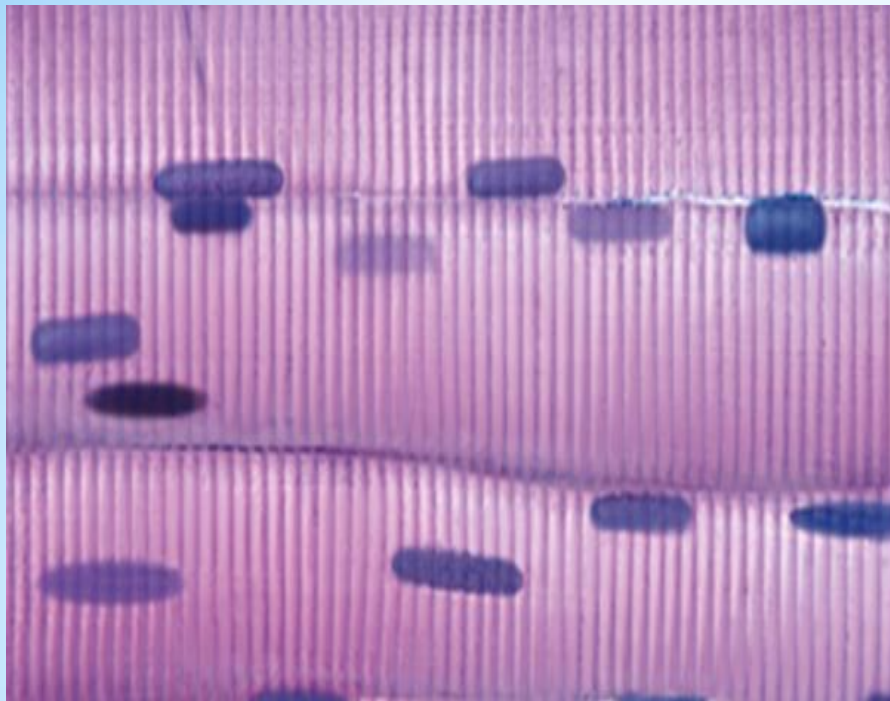
X1500

رنگ آمیزی ابي متیل

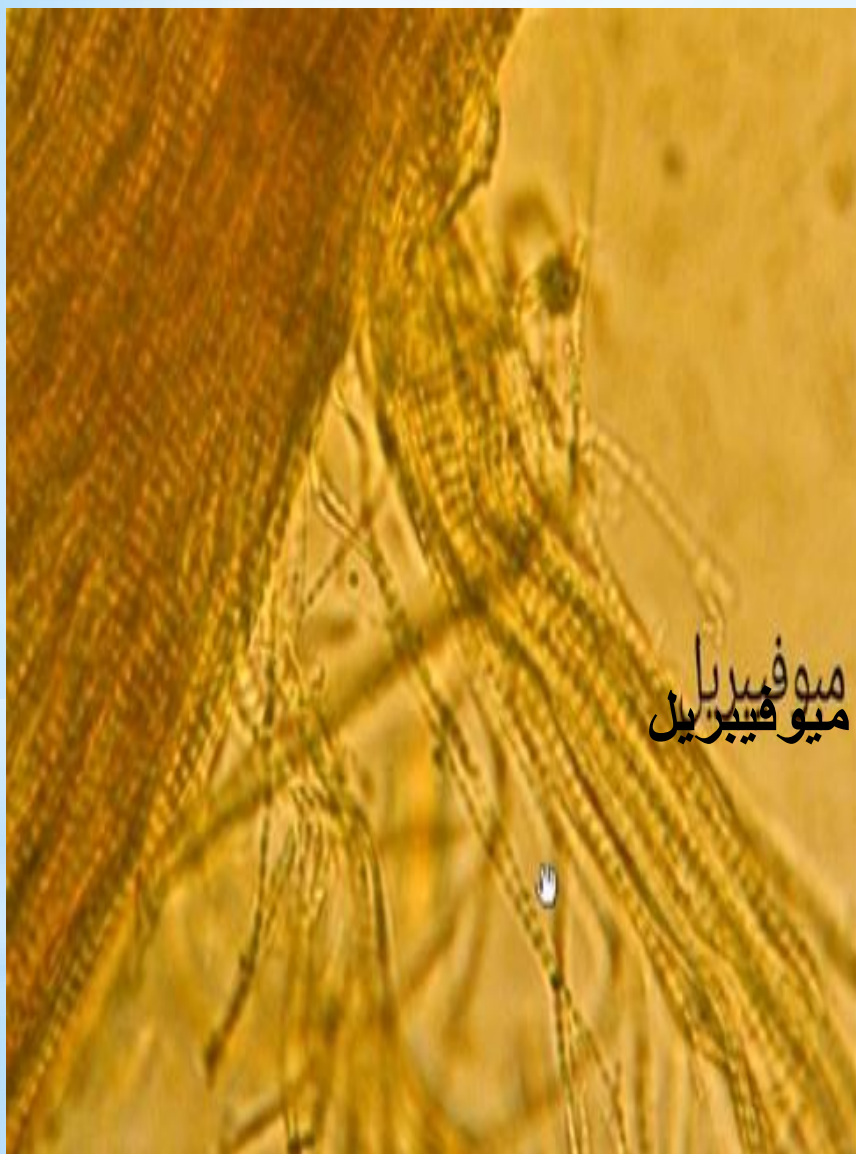


رنگ امیزی H and E یا هماتوکسیلین-ائوزین

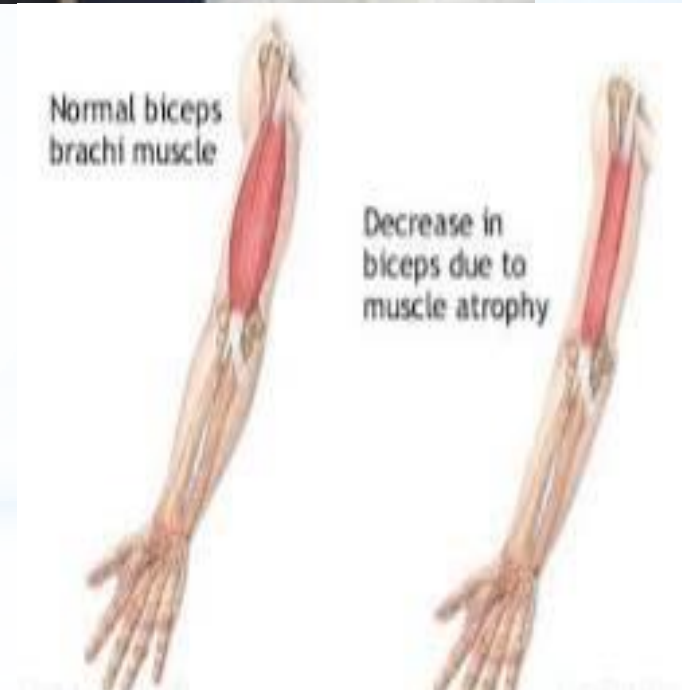
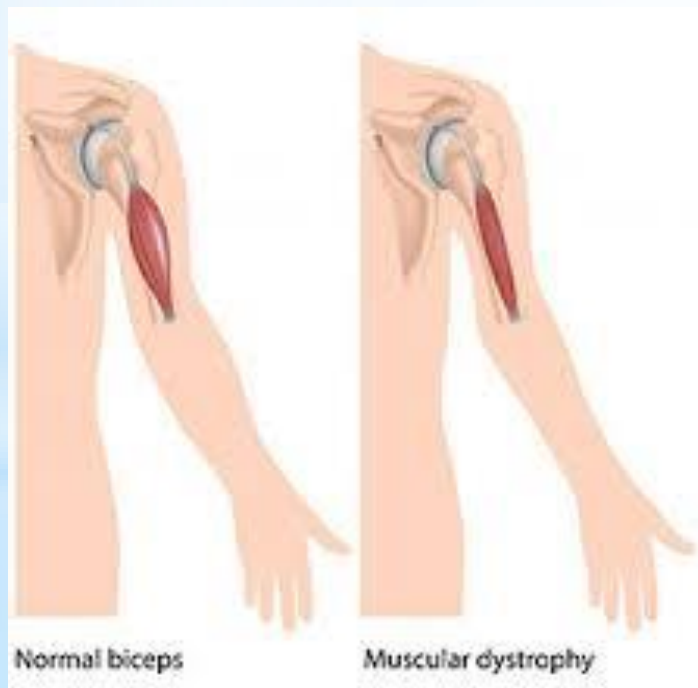


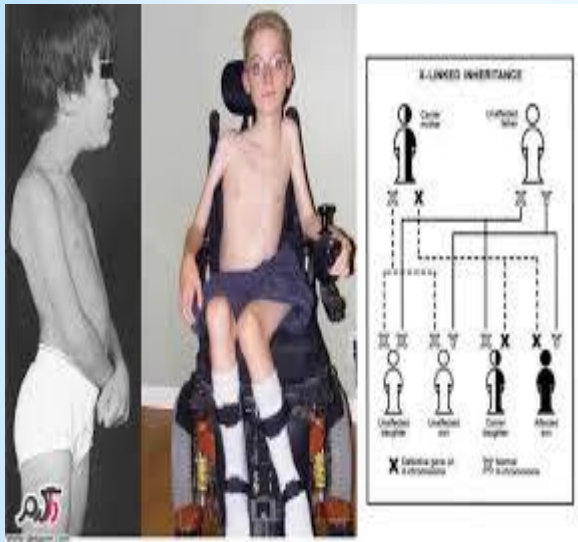


رنگ امیزی لوگل - اسید استیک



دیستروفی عضلانی





Iranian Labour News Agency



آزمایشگاه سلولی مولکولی - فرزانه فروهرفر