



Univerza v Mariboru

Fakulteta za naravoslovje
in matematiko

Navodila za vaje iz biologije celice

Saša Lipovšek
Barbara Dariš

Maribor, 2014

NAVODILA ZA VAJE IZ PREDMETA BIOLOGIJA CELICE

Navodila za vaje so namenjena študentom in študentkam študijskega programa Biologija pri predmetu Biologija celice na Fakulteti za naravoslovje in matematiko v Mariboru.

Pri vsaki vaji so naštetih mikroskopski preparati, ki si jih boste ogledali ali pa so navedene praktične vaje, ki jih opravite pri vaji. Pri tistih vajah, kjer boste pripravate izdelovali sami, je naveden potreben material. Vse pripravate, ki so zajeti v Navodilih, je potrebno prepoznati tudi pri praktičnem preverjanju znanja.

Vaje bodo potekale tako, da boste vsakič spoznali teoretske osnove vsebine, nato bo sledilo samostojno delo. Študenti opravite pri vsaki vaji naloge, ki so navedene v **Protokolih**. Po opravljenem individualnem praktičnem delu na vaji in po reševanju nalog oddate Protokol v pregled vodji vaj.

Seznam vaj:

1. Uvod v mikroskopiranje
2. Rastlinska in živalska celica
3. Velikost in oblika celic
4. Citološke in histološke tehnike
5. Elektronski mikroskop. Plazmalema
6. Celični organeli. Endomembranski sistem, biosintetska in sekrecijska pot
7. Citoskelet
8. Medceličnina
9. Odnos med strukturo in funkcijo celice
10. Celično jedro, kromosomi, celični cikel in celična smrt
11. Spolne celice in gametogeneza

Želimo vam uspešno delo!

1. Uvod v mikroskopiranje

1. Spoznavanje svetlobnega mikroskopa

- seznanitev z mehanskimi in optičnimi deli mikroskopa ter osnovnimi zakonitostmi mikroskopiranja;
- priprava mikroskopa na mikroskopiranje.

Kratka navodila za mikroskopiranje:

- mikroskop postavimo na sredino delovnega prostora;
- prižgemo svetilko;
- revolver zavrtimo tako, da je v optični osi *objektiv z najmanjšo povečavo*;
- preparat orientiramo tako, da je krovno steklo zgoraj. Nato preparat položimo na mizico mikroskopa;
- mizico premaknemo tako, da je preparat v sredini vidnega polja;
- sliko izostrimo z makrometrskim vijakom, nato še z mikrometrskim vijakom;
- naravnamo zaslonko pod kondenzorjem tako, da dobimo kontrastno sliko z dobro ločljivostjo;
- ko želimo uporabiti objektiv z večjo povečavo, postavimo izbrano področje preparata v sredino vidnega polja, zavrtimo revolver in izostrimo sliko le z *mikrometrskim vijakom*!
- ponovno prilagodimo položaj zaslonke tako, da dobimo kontrastno sliko z dobro ločljivostjo;
- ko prenehamo mikroskopirati, zavrtimo revolver tako, da je v optični osi objektiv z najmanjšo povečavo in ugasnemo svetilko.

2. Vaja v uporabi makrometrskega in mikrometrskega vijaka:

- Jetra: celice, plazmalema, citoplazma, jedro.

3. Priprava in opazovanje svežega mikroskopskega preparata:

- iz notranje strani lica vzamemo bris ustne sluznice z leseno palčko;
- bris prenesemo na objektno stekelce;
- brisu dodamo kapljico fiziološke raztopine, pokrijemo s krovnim stekelcem;
- sveži preparat pogledamo s svetlobnim mikroskopom.

Protokol:

1. Izračunajte ločljivost svetlobnega mikroskopa pri vseh treh objektivih (srednja valovna dolžina svetlobe je 550 nm). Izračunajte maksimalno ločljivost mikroskopa, če je $NA = 1,4$.

2. Skicirajte in označite celice ustne sluznice.

2. Rastlinska in živalska celica

1. Celice povrhnjice čebulnega luskolista (*Allium cepa*):

- na objektnem stekelcu pripravite sveži preparat luskolista čebule. Luskolist čebule pokrijte s krovnim stekelcem in mikroskopirajte.

2. Kloroplasti v listu mahu (*Mnium cuspidatum*):

- na objektnem stekelcu pripravimo sveži preparat lista mahu. List pokrijte s krovnim stekelcem in mikroskopirajte.

3. Levkoplasi (*Solanum tuberosum*):

- s preparirno iglo postrgaj po prerezanem gomolju in prenesi kapljico soka v kapljico vode. Pomešaj in prenesi kapljico na objektno stekelce. Pokrij in mikroskopiraj.

4. Celice želodca:

- mikroskopiranje trajnega preparata

Protokol:

1. Narišite in označite opazovane celice povrhnjice v svežem preparatu. Označite celično steno, plazmalemo, citoplazmo, vakuolo in jedro.

2. Narišite celice lista mahu. Označite kloroplaste.

3. Narišite škrobna zrna krompirja.

4. Narišite in označite celice želodca (plazmalema, citoplazma, jedro, jedrna ovojnica)

3. Velikost in oblika celic

1. **Celice sferične oblike – limfociti (kri):** plazmalema, citoplazma, jedro, jedrna ovojnica
2. **Celice poligonalne oblike – jetra:** plazmalema, citoplazma, jedro, jedrna ovojnica
3. **Celice visokoprizmatske oblike – žolčnik:** apikalna in bazolateralna plazmalema, citoplazma, jedro, jedrna ovojnica
4. **Celice vretenaste oblike – gladke mišične celice:** plazmalema, citoplazma, jedro, jedrna ovojnica
5. **Celice asimetrične oblike – živčne celice v možganih:** plazmalema, citoplazma, jedro, jedrna ovojnica, telo živčne celice, začetni deli odrastkov
6. **Celice asimetrične oblike – celice aerenhima (navadni loček)**

Protokol:

1. Narišite in označite opazovane evkariotske celice.

1. _____

2. _____

3. _____

4. _____

5. _____

4. Citološke in histološke tehnike

1. Razmaz brisa ustne sluznice in barvanje po Giemsi:

- na objektnem stekelcu pripravite razmaz brisa ustne sluznice in ga posušite na zraku;
- na posušen razmaz nakapljamo giemsovo barvilo, barvamo 2 do 3 minute;
- dokapljamo enako količino destilirane vode, pazimo, da barvilo ne odteka z objektnega stekelca, barvamo 4 minute;
- preparat speremo pod tekočo vodo, obrišemo objektno stekelce po spodnji strani in pokrijemo s krovnim stekelcem ter mikroskopiramo.

2. Hitra metoda fiksiranja in barvanja – celice ustne sluznice:

- pripravimo razmaz ustne sluznice na objektnem stekelcu;
- fiksiramo in barvamo z acetokarminom (karminocetna kislina);
- pokrijemo s krovnim stekelcem in mikroskopiramo.

3. Izdelava trajnega histološkega preparata.

Protokol:

1. Shematsko predstavite glavne faze v pripravi trajnega histološkega preparata.

5. Elektronski mikroskop. Plazmalema

1. Značilnosti, vrste in uporaba elektronskih mikroskopov.

2. Plazmoliza in deplazmoliza v rastlinskih celicah: celice luskolista čebule

- iz notranje strani luskolista čebule odluščite plast povrhnjice, jo položite v kapljico vode na objektnem steklu. Pokrijte s krovnim steklom in opazujte;
- trak filtrirnega papirja prislonite na eno stran krovnega stekla, na drugo dodajte nekaj kapljic raztopine NaCl. Opazujte, kaj se dogaja s celicami;
- zamenjajte raztopino NaCl z destilirano vodo, tako, da filtrirni papir prislonite na eno stran krovnega stekla, na nasprotni strani dodajte kaplice destilirane vode.

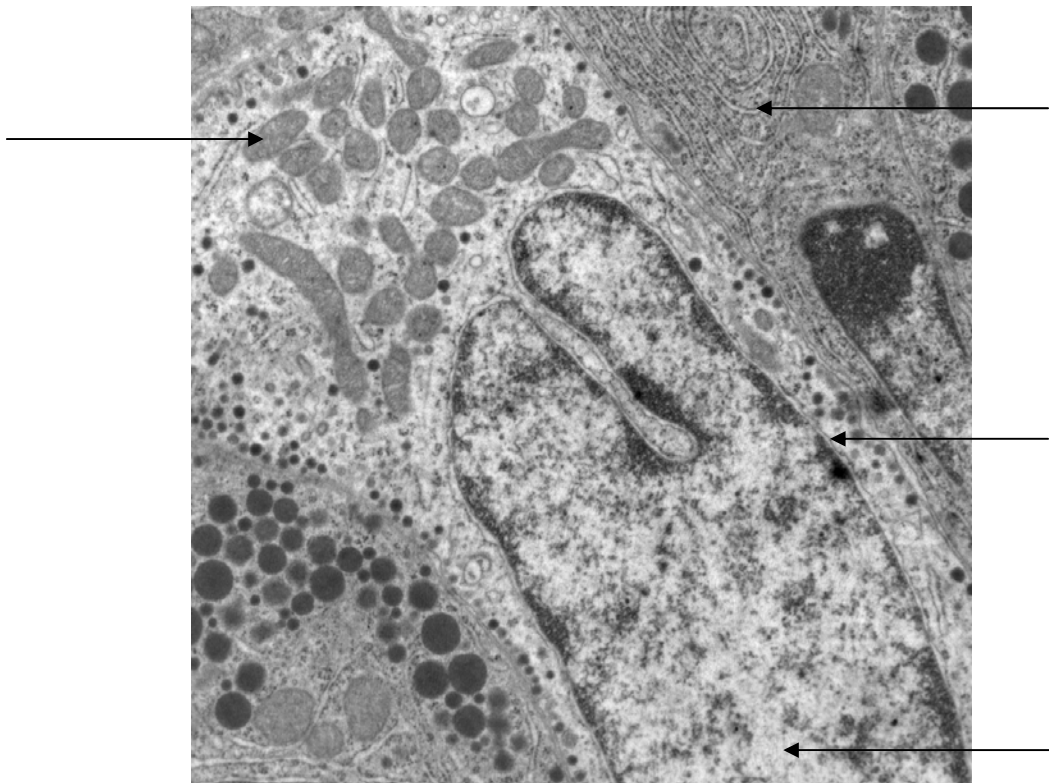
3. Ultrastruktura celice:

- plazmalema, citoplazma, zrnati endoplazemski retikulum, gladki endoplazemski retikulum, Golgijev aparat, jedrna ovojnica, jedro.

Protokol:

- 1. Narišite celice povrhnjice (celična stena, plazmalema, vakuola) v vodi in raztopini NaCl.**

2. Označite in poimenujte strukture, ki jih prepoznate na mikrografiji celic hipofize (slika 1, 7000x).



6. Celični organeli. Endomembranski sistem, biosintetska in sekrecijska pot

1. Ultrastruktura celice na mikrografijah:

- jedrna ovojnica, endoplazemski retikulum, Golgijev aparat, sekrecijska zrna.

2. Žleze v koži: lojnice (holokrino izločanje) in znojnice (merokrino izločanje).

3. Ultrastruktura celice na mikrografijah: mitohondriji, peroksisomi.

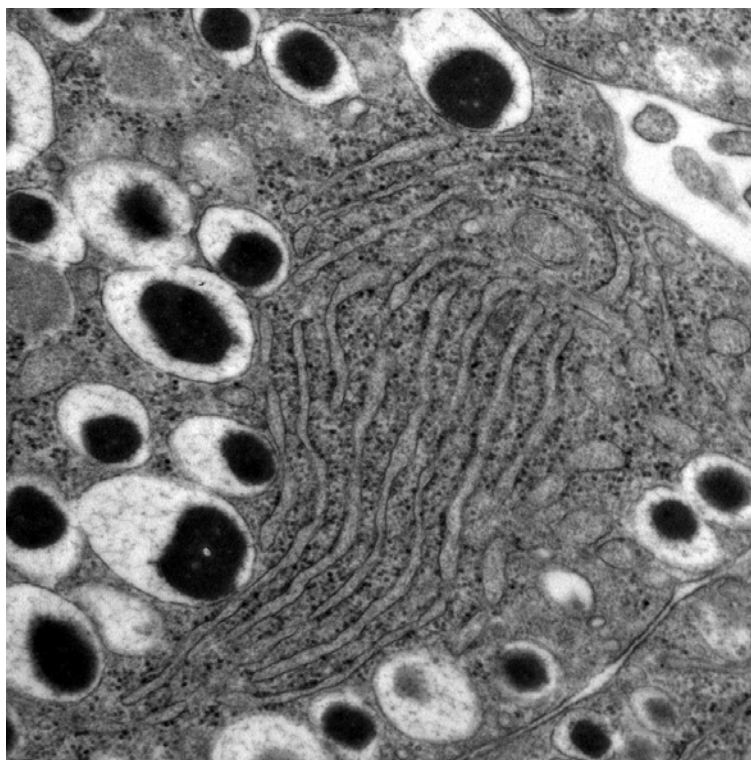
Protokol:

1. Shematsko predstavite potek biosintetske poti sekrecijskih proteinov od informacije na DNK do izločanja iz celice.

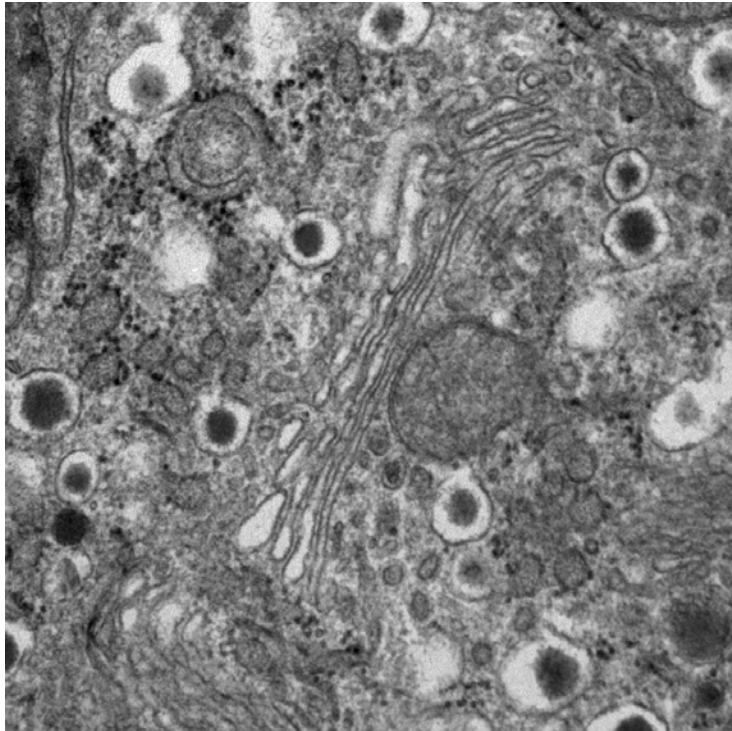
2. Narišite žlezi s holokrinim in merokrinim izločanjem.

3. Narišite mitohondrij. Označite posamezne strukture. S puščicami prikažite Transporte protonov skozi notranjo membrano mitohondrija (proteini dihalne verige, ATP sintaza). Označite, v katerem delu mitohondrija je pH višji in kje je nižji. Zakaj?

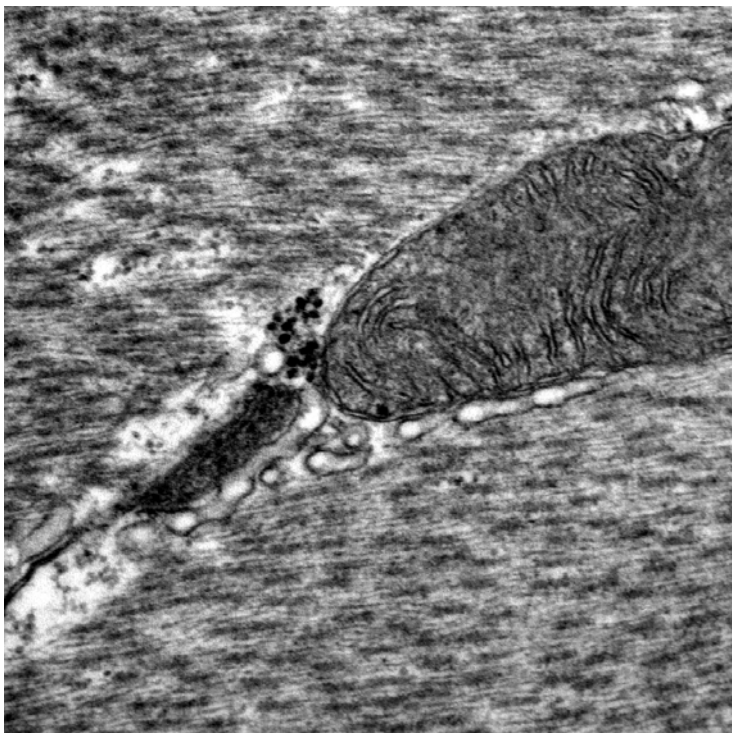
4. Oglejte si naslednje mikrofotografije.



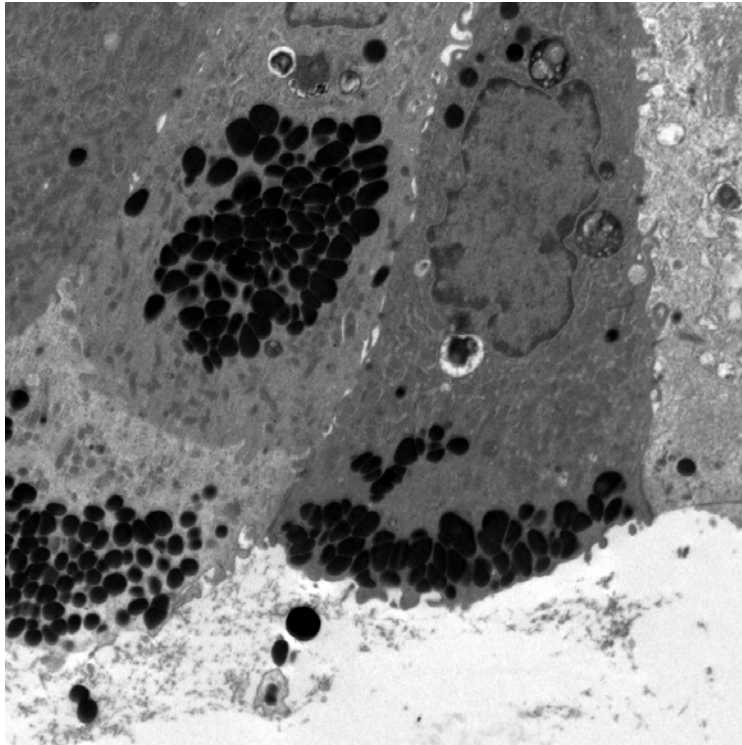
Slika 2: Zrnati endoplazemski retikulum in sekrecijska zrna (trebušna slinavka; 12000x)



Slika 3: Golgijev aparat (nadledvična žleza; 12000x)



Slika 4: Mitochondrij (prečno progasta mišica; 12000x)



Slika 5: Celice želodčnega epitela s sekrecijskimi zrnji (7000x)

7. Citoskelet

1. Mikrotubuli – migetalke: migetalčni epitel v traheji.

2. Mikrografije mikrotubulov v prečnem prerezu migetalk v dihalnem epitelu zdravih oseb in oseb s kartagenerjevim sindromom.

3. Aktinski filamenti: fotografije celic z označenimi aktinskimi filamenti v citoplazmi. Uporabljena so bila protitelesa za aktin, označena s fluorescentnim barvilom.

Protokol:

1. Narišite celice migetalčnega epitela in označite strukture.

2. Narišite shemi centriola (ali bazalnega telesa) in bička (ali migetalke) v prečnem prerezu. Poimenujte posamezne strukture.

3. Oglejte si mikrografije prečnega prereza migetalk dihalnega epitela. Katere osebe imajo kartagenerjev sindrom in katere so zdrave? Narišite razpored mikrotubulov pri osebah s kartagenerjevim sindromom.

8. Medceličnina

1. Elastična vlakna – aorta: elastin (lamele, fibrile)

2. Kisli proteoglikani, obarvani z alcianskim modrilom: kisli proteoglikani v medceličnini hrustanca so obarvani svetlo modro

3. Bazalna lamina - ledvični glomeruli: prerez ledvic, obarvanih s PAS reakcijo. Vidni so ledvični glomeruli z odebeljeno bazalno lamino in ledvičnimi kanalčki.

4. Mikrografije bazalne lamine v ledvičnem glomerulu.

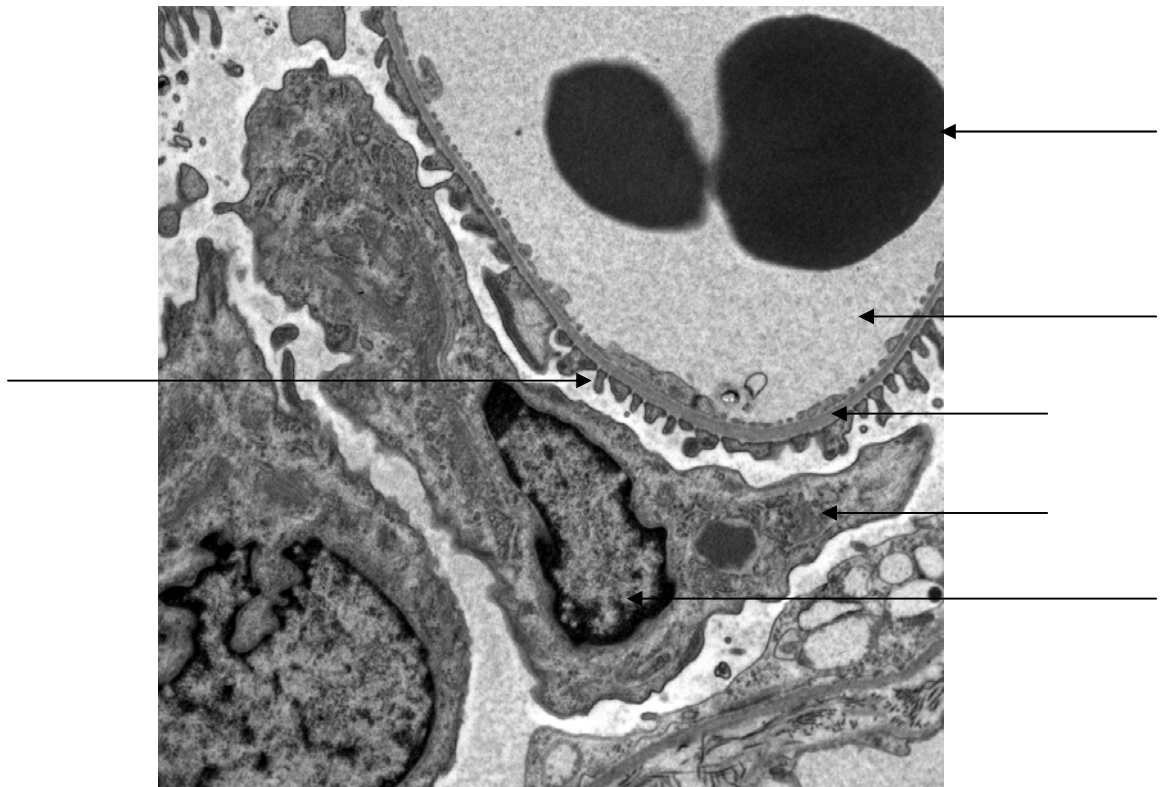
Protokol:

1. Narišite aorto v prečnem prerezu.

2. Narišite hrustančno tkivo. Označite celice in zunajcelični matriks.

3. Narišite ledvične glomerule in označite bazalno lamino.

4. Označite strukture na mikrografiji ledvičnega glomerula (slika 6, 12000x).



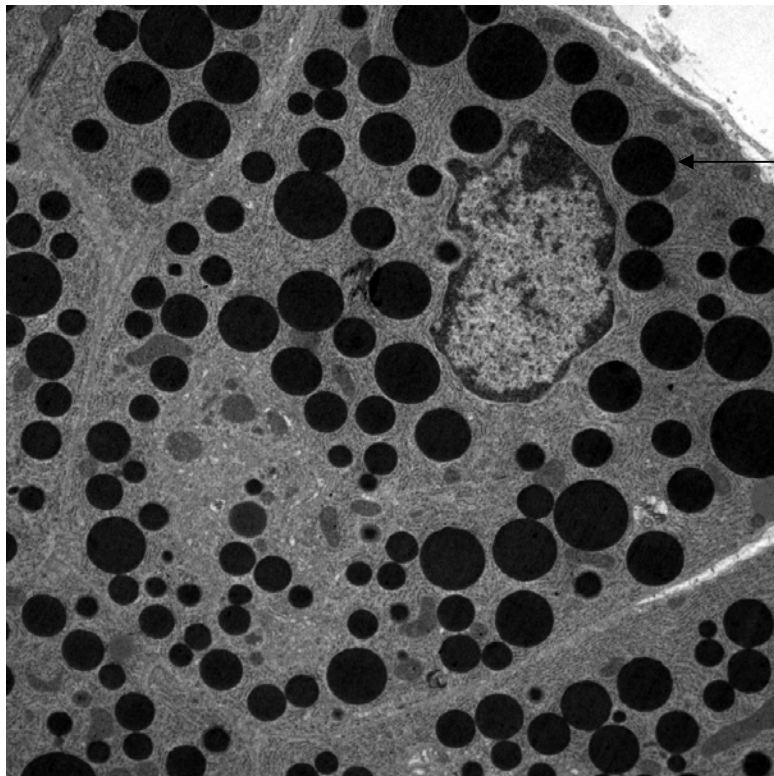
9. Odnos med strukturo in funkcijo celice

1. **Sekrecijske celice – celice pankreasa:** celice z okroglimi jedri in nakopičenimi sekrecijskimi produkti
2. **Celice pankreasa:** celice z nakopičenimi sekrecijskimi vezikli (TEM-mikrografija)
3. **Absorpcijske celice – celice tankega črevesa:** visokoprizmatske celice črevesnega epitela
4. **Absorpcijske celice:** apikalna plazmalema je diferencirana v mikrovile (TEM-mikrografija)
5. **Celice urotelija – epitelne celice sečnega mehurja:** velike površinske celice prekrivajo vmesne in bazalne celice
6. **Površinske celice urotelija:** odebeljena apikalna plazmalema, številni fuziformni vezikli (TEM-mikrografija)
7. **Endotelne celice – epitelne celice arterije:** stena žile je obarvana s hematoksilinom in eozinom
8. **Endotelne celice:** med celicami so izraziti tesni stiki (TEM-mikrografija)
9. **Celice asimetrične oblike – živčne celice v možganih**
10. **Živčna celica (TEM-mikrografija)**
11. **Prečno progasta mišična celica:** v mnogojedrni celici se izmenjujejo anizotropni (A) in izotropni (I) pasovi
12. **Miofibrila:** ultrastruktura miofibrile s pasovi A, I, H in Z diskom (TEM-mikrografija)

Protokol:

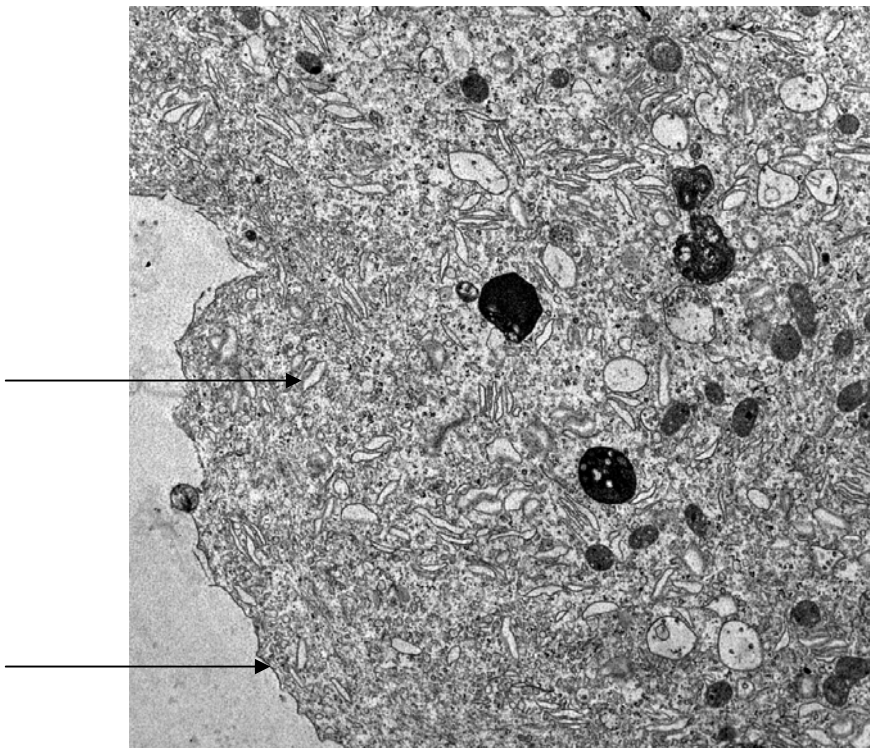
1. Narišite sekrecijske celice pankreasa.

2. Na mikrografiji označite strukture sekrecijske celice (slika 7, 4500x).



3. Narišite in označite urotelij v sečnem mehurju.

4. Na mikrografiji označite strukture urotelija (slika 8, 7000x).



5. Narišite in označite prečno progasto mišično vlakno, kakršno vidite pod svetlobnim mikroskopom. Shematsko prikažite ultrastrukturo miofibrile.

10. Celično jedro. Kromosomi, celični cikel in celična smrt

1. Oblike jeder – levkociti: razmaz krvi s številnimi eritrociti in levkociti.

2. Oblike kromosomov – kariotip človeka: metacentrični, submetacentrični in akrocentrični kromosomi.

3. Mitoza - fibroblasti

4. Apoptotske celice (TEM-mikrografija)

Protokol:

1. Narišite in označite različne tipe krvnih celic.

2. Skicirajte vse tri oblike kromosomov.

3. Narišite in označite celice v interfazi in vseh fazah mitoze.

Interfaza:

Profaza:

Prometafaza:

Metafaza:

Anafaza:

Telofaza:

11. vaja: Spolne celice in gametogeneza

1. Spermatogeneza – testisovi kanalčki: bazalna lamina, sertolijeve celice, klične celice (spermatogoniji, primarni in sekundarni spermatociti, spermatide, spermiji).

2. Jajčni folikli – ovarij: enoslojni epitel, vezivna ovojnica, skorja (folikli, vezivo), sredica (vezivo, žile),

- primordialni folikel (oocit, ploščate foliklove celice)
- primarni folikel (oocit, enoslojni ali večslojni kubični foliklov epitel, zona pellucida)
- sekundarni folikel (oocit, večslojni foliklov epitel, špranje, zona pellucida)
- graafov folikel (oocit, večslojni foliklov epitel, antrum, napolnjen s foliklovo tekočino, zona pellucida).

Protokol:

1. Narišite in označite prerez testisovega kanalčka. Katere celice v spermatogenezi so diploidne in katere haploidne?

2. Narišite in označite vse tipe jajčnih foliklov pri sesalcih. Na kateri stopnji oogeneze je spolna celice v primordialnem, primarnem, sekundarnem in zrelem, graafovem jajčnem foliklu?

PRIMORDIALNI FOLIKEL:

PRIMARNI FOLIKEL:

SEKUNDARNI FOLIKEL:

ZRELI, GRAAFOV FOLIKEL:

Literatura:

Alberts, B. (2007) Molecular biology of the cell. 5th Edition, Garland Science, New York.

Karp, G. (2010) Cell and Molecular Biology. Concepts and Experiments. 6th Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York.

Lodish, H. (2013) Molecular cell biology. 7th Edition, W.H. Freeman.

Veranič, P., Romih, R., Pšeničnik, M. (2010) Praktični pouk celične biologije. 3. natis, Tehniška založba Slovenije, Ljubljana.

Welsch, U. (2005) Atlas Histologie: Zytologie, Histologie, Mikroskopische Anatomie. 7. Auflage, Elsevier GmbH, München.

.