

9. Laboratorijas darbs

Nosaukums: Šūnas bioloģija

Mērķis: sniegt priekšstatu šūnu uzbūvi, skaitu, lielumu un citoskeleta funkcijām.

Teorētiskais pamatojums.

Šūnu bioloģijā pēta, kā apkārtējās vides apstākļi nosaka šūnu uzbūvi. Pēc šūnu lieluma atšķirībām var novērtēt vai organismam ir pietiekami daudz barības vielu, vai organismam ir slimības, vai temperatūra u. c. apstākļi ir piemēroti.

Bieži ir nepieciešams noskaidrot, cik ātri un kā dažādos augšanas apstākļos mainās šūnu skaits. Piemēram, kā zinātnieku izgudrotās un sintezētās ķīmiskās vielas ietekmē šūnu augšanu un dalīšanos.

Apkārtējās vides apstākļi ietekmē šūnu darbību. Šūnas reaģē uz mehāniskiem bojājumiem, karstumu, aukstumu, vides skābuma izmaiņām, gaismas klātbūtni, magnētisko un elektromagnētisko lauku klātbūtni. Šūnu reakcija izpaužas kā vielu transporta un citoskeleta izraisītās šūnu vai organoīdu kustības izmaiņas.

Darba uzdevumi

1. Apskatīt un izanalizēt patstāvīgo preparātu, noteikt šūnas lielumu.
2. Pagatavot sērijveida atšķaidījumu un noteikt raugu šūnu skaitu paraugā.
3. Pagatavot preparātu un noteikt citoplazmas strāvošanas ātrumu.

Nepieciešamais aprīkojums un materiāli

Pastāvīgie preparāti, rauga šūnu suspensija, elodeja, mikroskops, okulāra lineāls, objektīva mikrometrs vai okulāru kalibrācijas tabula, indikatorpapīrs, termometrs, hronometrs, Mērcilindri, mērglāzes, automātiskās pipetes

1. Šūnas lieluma noteikšana

Epidermas šūnu mērīšana

Novieto preparātu uz mikroskopa priekšmetgalda.

Aplūkojot preparātu mazajā palielinājumā (objektīva palielinājums 10 x), atrod ar vietu, kur paraugs ir plāns (satur vienu šūnu kārtu).

Pārbauda, vai šūnās citoplazma nav atrāvusies no šūnapvalka. Tas nozīmētu, ka fiksācija nav bijusi pietiekami ilga vai bijuši citi faktori, kas traucējuši fiksāciju.

Citoplazmas krāsojums ir gaiši brūns, bet hloroplasti un kodoli ir tumši brūni.

Pagriež objektīvu revolveri un uzstāda objektīva ar palielinājumu 20 x, apskata šūnas.

Pagriež objektīvu revolveri un uzstāda objektīva ar palielinājumu 40 x, apskata šūnas.

Izmēra 3 dažādu šūnu platumu okulāra mikrometra skalas vienībās (sk. pielikuma lapu).

Pielikuma lapa tiek dota komplektā katram mikroskopam.

Datus ieraksta tabulā. Aprēķina vidējo šūnas diametru.

Aprēķina šūnu platumu mikrometros, izmantojot doto (uz tāfeles uzrakstīto okulāra lineāla iedaļas vērtību mikrometros).

Mikroskopā novēroto šūnu izmēri

N.p.k.	Epidermas šūnas platums okulāra lineāla iedaļās	Epidermas šūnas platums (μm)	Aprēķina piemērs:
1.			
2.			
3.			

Piemērs

Mērvienības

$$1 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{ m}, 1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$$

$$1 \text{ l} = 1000 \text{ ml}, 1 \text{ ml} = 1000 \mu\text{l}$$

Apskata šūnas lielajā palielinājumā (objektīva palielinājums x 40)

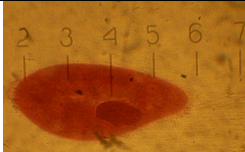
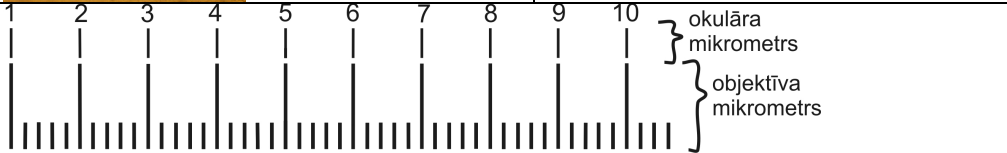
Izmēra šūnas garumu okulāra mikrometra skalas vienībās.

Izņem paraugu un tā vietā uz priekšmetgalda novieto objektīva mikrometru

Izskaita cik objektīva mikrometra iedaļas atbilst vienai okulāra mikrometra iedaļai.

Zināms, ka (vienas iedaļas garums objektīva mikrometram ir 10 μm).

Aprēķina okulāra lineāla iedaļas vērtību mikrometros.

	<p>1. Cik gara ir šūna? Šūnas garums ir četras okulāra lineāla iedaļas.</p>
	

2. Izmēra cik objektīva mikrometra iedaļas ievietojas vienā okulāra lineāla iedaļā.

Vienā okulāra lineāla iedaļā ievietojas 5 objektīva mikrometra iedaļas.

3. Cik gara ir okulāra mikrometra iedaļa, ja objektīva mikrometra iedaļas garums ir 10 μm ?

Okulāra lineāla iedaļas garums ir 50 μm .

4. Cik gara ir šūna?

$$4 \times 50 = 200 \mu\text{m}.$$

2. Šūnu skaita noteikšana

Izlej doto rauga suspensiju no mēģenes mērcilindrā un izmēra rauga suspensijas tilpumu (ml), reģistrē datus.

Pārlej citā mērcilindrā 1ml suspensijas, pielej ūdeni līdz 100ml, izlej atlikušo rauga suspensiju.

Pārlej otrā mērcilindrā 1 ml tikko pagatavotās atšķaidītās rauga suspensijas, pielej ūdeni līdz 100ml, izlej atlikušo rauga suspensiju.

Iegūtais suspensijas atšķaidījums ir 1:10 000.

Uz priekšmetstikla uzpilina vienu pilienu suspensijas, pārklāj ar segstiklu. Viens pilienis ir apmēram **20 μl**.

Novieto pagatavoto preparātu uz mikroskopa priekšmetgalda.

Noregulē attēla asumu, aplūkojot preparātu mazajā palielinājumā (objektīva palielinājums 10 x).

Pakāpeniski nomaina objektīvus, aplūko preparātu lielajā palielinājumā (objektīva palielinājums 40 x).

Saskaita rauga šūnas vienā redzes laukā, reģistrē datus.

Pārbīdot priekšmeta galdu (preparātu), saskaita šūnas vēl 2 redzeslaukos, reģistrē datus.

Aprēķina vidējo šūnu skaitu redzes laukā.

Aprēķina šūnu skaitu pētītajā paraugā, ņemot vērā, ka šim mikroskopa modelim lielajā palielinājumā visā laukumā zem segstikla ir 400 redzes lauki.

Aprēķina šūnu skaitu mēģenē.

N.p.k.	Šūnu skaits redzes laukos	Vidējais rauga šūnu skaits redzes laukā	Rauga šūnas skaits mēģenē

Piemērs

Ar mērcilindru izmēra rauga suspensijas daudzumu mēģenē.

Pieņemsim, ka ir 2 ml suspensijas

Ielej mērcilindrā 1ml suspensijas, pielej ūdeni līdz 100ml un pārējo izlej.

1ml atšķaidītās suspensijas ielej mērcilindrā un pielej ūdeni līdz 100 ml, pārējo izlej.

Iegūtais suspensijas atšķaidījums ir 1:10 000.

Cik μl atšķaidītās suspensijas teorētiski var iegūt no 2ml suspensijas?

$2\text{ml} \times 10\,000 = 20\,000\text{ml}$ vai **20 000 000 μl**

Uz priekšmetstikla uzpilina vienu pilienu suspensijas. Viens pilienis ir apmēram **20 μl** (precīzi var nomērīt ar mehānisko mikropipeti).

Pakāpeniski maina mikroskopa palielinājumu. Lielajā palielinājumā (objektīvs 40 x) 3 parauga vietās saskaita redzamo šūnu skaitu. Aprēķina vidējo šūnu skaitu.

Pieņemsim, ka novēroja 2 šūnas, 4 šūnas un 3 šūnas. Tātad vidējais šūnu skaits 3 redzes laukos ir 3 .

Saskaita cik redzes lauki ir redzami visā segstikla garumā.

Ja segstikla izmēri ir 2cm x 2cm, mikroskopa objektīva palielinājums ir 40 reizes, okulāra redzes lauks 20mm, tad var saskaitīt, ka segstikla garums ir 40 redzes lauki un platums arī ir 40 redzes lauki.

Cik redzes lauki ievietojas segstiklā? $40 \times 40 = 1600$ redzes lauki.

Aprēķina šūnu skaitu uz priekšmetstikla

$1600 \text{ redzes lauki} \times 3 \text{ šūnas} = 4800 \text{ šūnas}$

Ja uz priekšmetstikla bija 20 μl atšķaidītās suspensijas, tad 20 μl atšķaidītās suspensijas ir 4800 šūnas.

Aprēķina šūnu skaitu 20 000 000 μl atšķaidītās suspensijas.

$20\,000\,000 \mu\text{l} : 20 \mu\text{l} \times 4800 \text{ šūnas} = \mathbf{4800\,000\,000 \text{ šūnas}}$

3. Citoplazmas strāvošana

Noskatās demonstrējumu par citoplazmas strāvošanu.

Ar termometru izmēra ūdens temperatūru traukā, kurā aug elodejas.

Ar indikatorpapīru nosaka ūdens skābumu traukā, kurā aug elodejas.

No Petri plates paņem elodejas zara fragmentu un ar pinceti atdala lapu, kuru novieto uz priekšmetstikliņa ūdens pilienā.

Paraugu pārsedz ar segstikliņu un ar preparējamo adatu izspiež gaisa burbulīšus, ja tādi ir parādījušies.

Novieto preparātu uz mikroskopa priekšmetgaldiņa un ieslēdz maksimālo apgaismojumu.

Ar lineālu izmēra diafragmas atvērumu – gaismas kūļa diametru zem priekšmeta galdiņa.

Noregulē attēla asumu mazajā palielinājumā (objektīva palielinājums 10 x), uzstāda lielo palielinājumu (objektīva palielinājums 40 x), apskata šūnas un novēro citoplazmas strāvošanu.

Ar hronometru izmēra laiku, kas nepieciešams, lai hloroplasts pārvietotos pa 2 okulāra lineāla iedaļām, reģistrē datus.

Atkārtο mērījumu vēl 2 reizes citās šūnās.

Ūdens temperatūra _____

Ūdens pH _____

Diafragmas atvērums _____

1. tabula. Citoplazmas strāvošanas ātruma izmaiņas atkarībā no gaismas intensitātes.

Nr.	Hloroplasta noietais ceļš (μm)	Nepieciešamais laiks intensīvā gaismā (s)
Vidējie rādītāji		

Izmantojamā literatūra

[http://priede.bf.lu.lv/studiju_materiāli/MolekularasBiologijas/.....](http://priede.bf.lu.lv/studiju_materiāli/MolekularasBiologijas/)