

### Teoreticko praktická časť

Praktická úloha č.2.

**Téma: Mikrobiológia - Fyziologické procesy v jednobunkovej riasе**

Úvod

Jednobunkové eukaryotické organizmy sú veľmi často objektom výskumu, pretože sa jednoducho a lacno pestujú, rýchlo sa rozmnožujú a mnoho procesov v ich bunkách je veľmi podobných procesom v bunkách vyšších eukaryotov. *Chlamydomonas reinhardtii* je jednobunková zelená riasa, ktorá sa pohybuje pomocou dvoch bičíkov. Bičíky často odpadnú, keď sú v kontakte s niektorými látkami, alebo môžu byť absorbované do vnútra bunky počas bunkového cyklu. Riasa obsahuje aj svetlocitlivú škvrnu - stigmú, ktorá je umiestnená v apikálnej časti bunky pri chloroplastovej membráne. V mikroskope sa javí ako červený bod. Riasy *Chlamydomonas reinhardtii* obsahujú genetickú informáciu v haploidnom jadre, v chloroplaste a v mitochondriách. Chloroplast je v bunke iba jeden, má obličkovitý tvar a vyplňa veľkú časť bunky. Obsahuje mnoho kópií chloroplastovej DNA. Vašou úlohou bude pozorovať preparáty kultúr *Chlamydomonas reinhardtii*, a pozorovať procesy, ktoré sa dejú s bunkami po pridaní určitých látok, nakresliť ich a vysvetliť.

Materiál

1. skúmavka s kultúrou štandardného kmeňa *C. reinhardtii* (označená ako skúmavka 1)
2. skúmavka s kultúrou mutantného kmeňa *C. reinhardtii* cw 15 - mutantný v tvorbe bunkovej steny (označená ako skúmavka 2)
3. svetelný mikroskop
4. podložné sklíčka
5. krycie sklíčka
6. ocot
7. NaOH (3M)
8. octan sodný (3M)
9. kvapkadlo

#### Časť A

Mikroskopické pozorovanie štandardných buniek (wt) a buniek mutantu cw 15, ktorý má narušenú syntézu bunkovej steny.

1. Urobte preparáty z oboch typov kultúr a pozorujte ich pod mikroskopom. Zakreslite, čo vidíte v mikroskope pri obidvoch preparátoch.

Aký rozdiel pozorujete medzi štandardným typom buniek a cw15 mutálnymi bunkami v mikroskope? Skúste pozorovaný rozdiel vysvetliť.

.....

.....

2. Pridajte kvapkadlom k obom preparátom kvapku octu. Kvapnite ju ku okraju krycieho sklíčka tak, aby pomaly prenikala do preparátu. Ihneď pozorujte v mikroskope.

Aký je v mikroskope rozdiel medzi štandardným typom buniek a cw15 mutálnymi bunkami? Aký proces prebehol po pridaní octu k obom typom buniek?

.....

.....

.....

3. Opäť si urobte preparát zo skúmavky 1, pozorujte ho pri najväčšom zväčšení a zakreslite, čo vidíte v bunkách riasy. Jednotlivé štruktúry na obrázku označte šípkami a popíšte vedľa obrázku. (bičičky, chloroplast, bunková stena, jadro, pyrenoid)

4. Urobte preparát zoskúmavky 2 a zakreslite, čo vidíte pod mikroskopom. Pridajte ku okraju krycieho sklíčka kvapku NaOH a ihneď pozorujte pod mikroskopom. Zakreslite, čo sa stalo po pridaní NaOH.

Aký proces prebehol po pridaní NaOH k bunkám?

.....  
.....

5. Urobte opäť preparát zo skúmavky 2 a pridajte ku okraju krycieho sklíčka kvapku octanu sodného a ihneď pozorujte pod mikroskopom. Zakreslite, čo sa stalo po pridaní octanu .

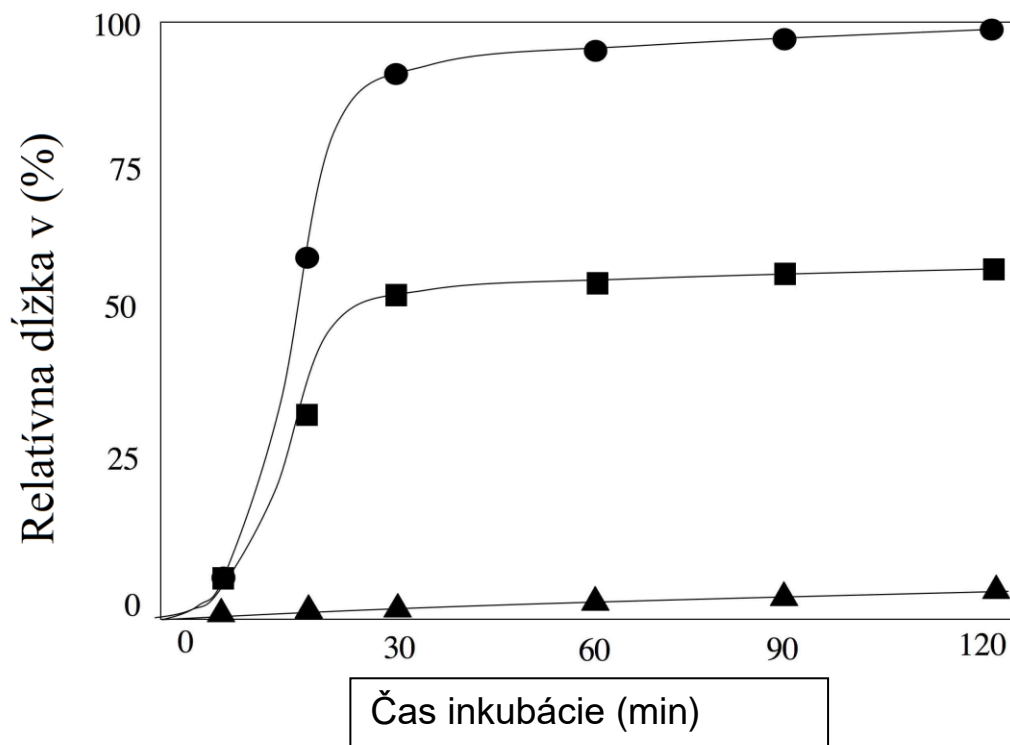
Āký proces prebehol po pridaní octanu sodného k bunkám?

.....  
.....

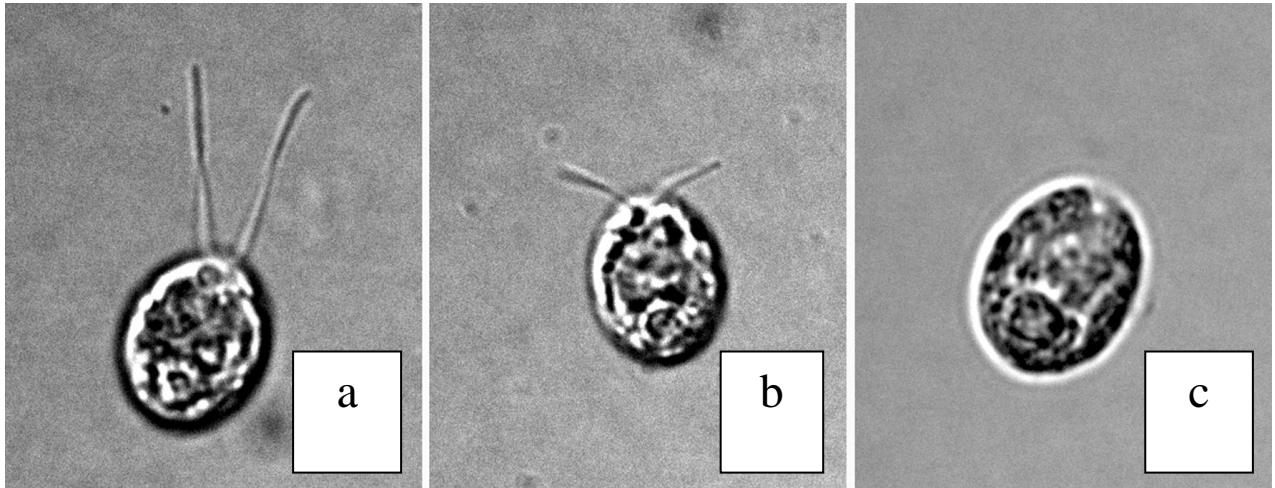
### Āast' B

Štandardný typ buniek s odstráneným biĀíkom bol inkubovaný pri rôznych podmienkach (a, b alebo c). Nasledovný graf prezentuje závislosť dĺžky biĀíka k jeho pôvodnej dĺžke v rôznych časových intervaloch.

- a. kontrola (inkubovaná bez inhibítorov) (oznaĀená ●)
- b. kultúra inkubovaná s cykloheximidom, inhibítorom proteínovej syntézy (oznaĀená ■)
- c. kultúra inkubovaná s kolchicínom, inhibítorom tvorby mikrotubúl (oznaĀená ▲)



Na obrázku sú fotografie buniek riasy po inkubácii s určitou látkou pri rôznych podmienkach (a, b, c) v Āase 120 minút.



Ktoré z nasledovných tvrdení je podporené výsledkom pozorovania buniek inkubovaných s cykloheximidom?

- a. Všetky proteíny inkorporované do regenerovaného bičíka sú syntetizované *de novo*.
- b. *De novo* syntéza proteínov je esenciálna pre kompletnú regeneráciu bičíka.
- c. *De novo* syntéza proteínov je esenciálna pre formovanie bazálneho telieska bičíka.

Čo je potrebné pre regeneráciu bičíka u buniek inkubovaných s kolchicínom?

- a. Polymerizácia tubulínu
- b. Polymerizácia aktínu
- c. Polymerizácia keratínu
- d. Depolymerizácia tubulínu
- e. Depolymerizácia aktínu
- f. Depolymerizácia keratínu