



UiO : **Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet**

Institutt for biovitenskap

Cellen

Med hovedvekt på eukaryote celler



Cato Tandberg og **Linn Kristin Akslen**, Skolelaboratoriet
for biologi, UiO

Revidert 2013

Tone F. Gregers og **Kristin G. Tsigaridas**, Skolelaboratoriet
for Biologi, UiO

Innhold

Innledning	3
Eukaryote celler er utviklet fra prokaryote celler	4
Transport gjennom cellemembranen	18
Bruk av tøffeldyr som modellorganisme	23
Ledningsvev hos planter	31
Lengde- og tverrsnitt av styrkevevsceller, vedrør og silrør	33
Innstilling og bruk av stereolupen	35
Innstilling og bruk av mikroskopet	37
ELEVØVELSER	40
Mikroskopisk vannpreparat	40
Cellenes oppbygning	42
Plasmolyse i levende planteceller	44
Hud- og muskelvev hos dyr	46
Hudvev fra planter	47
Assimilasjonsvev	52
Ledningsvev A	55
Ledningsvev B	55
Styrkevev	57
Cellene ødelegges ved koking	58
Stivelse som opplagsnæring	60
Fargestoffer i klorofyll- og fargekorn (fettløselige)	62
Fargestoffer i cellesaft (vannløselige)	63
Mer om fargestoffer (Tabell)	64
Mikroorganismer i vannkultur	65
Mitose (squash-preparat av rotspiss)	70
Isolering av DNA	74

Innledning

Læren om cellen har blitt en sentral del av studieretningsfaget Biologi 1. Dette faget krever grundige kunnskaper om cellen og dens funksjoner. Cellen er også en viktig del av naturfagsundervisningen på ungdomsskolen og delvis i Vg1. For å gjøre teorien enklere og lettere å huske, kan man gjøre mange elevforsøk. Forsøkene som er beskrevet her, er enkle og krever lite utstyr utenom mikroskop eller stereolupe. Optiske instrumenter er sentrale i studiet av cellen, men stor forstørrelse i seg selv kan være vanskelig å forstå for mange elever. Vi anbefaler derfor at man starter med øvelsen «Cellenes oppbygning», der man studerer celler fra løk ved gradvis økende forstørrelse – fra håndlupe til mikroskop. Dette gjør det mulig å få et realistisk inntrykk av hva for eksempel 400 gangers (400x) forstørrelse egentlig innebærer.

Et annet hovedpoeng med dette heftet er å vise noe av den store variasjonen og spesialiseringen i forskjellige retninger man finner hos ulike celletyper, både hos dyr og planter. Organiseringen av flere celler til vev og ulike transportsystemer er viktige utviklingstrekk som har vært nødvendige for komplisert liv.

Beskrivelsen av de fleste forsøkene kan kopieres direkte fra heftet og brukes som elevveiledning. For å unngå at elevene kopierer figurer fra teksten i stedet for å tegne fritt etter preparatene, er de fleste figurene skilt ut på egne «figurark». Disse kan elevene for eksempel få som referanse etter at selve øvelsen er ferdig.

Kompetansemål Naturfag etter 10. årstrinn

- Beskrive oppbyggingen av dyre- og planteceller og forklare hovedtrekkene i fotosyntese og celleånding

Kompetansemål Naturfag etter Vg1

- Forklare hovedtrekkene i fordøyelse, transport og omsetning av energigivende næringsstoffer i kroppen
- Forklare genetisk kode og hovedtrekkene i proteinsyntesen og gi eksempler på hvordan arv og miljø samspiller.
- Forklare begrepene krysning og genmodifisering og gi eksempler på hvordan bioteknologi brukes til modifisering av egenskaper hos planter og dyr

Kompetansemål Biologi 1

- Gjøre rede for oppbyggingen av eukaryote celler og forklare funksjonen til de ulike delene i cellen.
- Forklare transport gjennom cellemembranen ved å bruke kunnskap om aktive og passive transportmekanismer.
- Forklare transport gjennom cellemembranen ved å bruke kunnskap om passive og aktive transportmekanismer.
- Gjøre rede for hvordan immunforsvaret og andre deler av infeksjonsforsvaret fungerer.

Eukaryote celler er utviklet fra prokaryote celler

Vi antar at prokaryote celler oppstod for om lag 3,5 milliarder år siden, og både prokaryoter og eukaryoter eksisterer fremdeles i dag. Prokaryotene omfatter rikene *Archaea* og *Bacteria*, og er enkeltceller som mangler organeller, og de har som regel et sirkulært kromosom. Den grunnleggende forskjellen på dem finner vi i membranlipidene deres. Hos bakterier og alle eukaryoter er de dannet med esterbindinger, mens de hos arkebakterier er dannet med eterbindinger. Eterbindinger er, i motsetning til esterbindingene, meget motstandsdyktige mot nedbrytning. Det forklarer hvorfor vi finner arkebakterier på steder med ekstreme livsbetingelser, hvor alt annet ville ha dødd. Noen av dem lever for eksempel nær dyphavskilder med en vanntemperatur omkring 100 °C, mens andre finnes i svovelskilder hvor pH er under 3, det vil si at de lever i en fortynnet svovelsyre.

Prokaryon betyr ”pro/før kjerne” mens *eukaryon* betyr ”ekte kjerne” og danner den fundamentale forskjellen mellom prokaryote og eukaryote, der eukaryote har en membranomsluttet kjerne som beskytter cellens arvestoff/DNA. Eukaryote celler har utviklet seg fra prokaryote celler. Denne overgangen betyr forenklet sett to nye prinsipper:

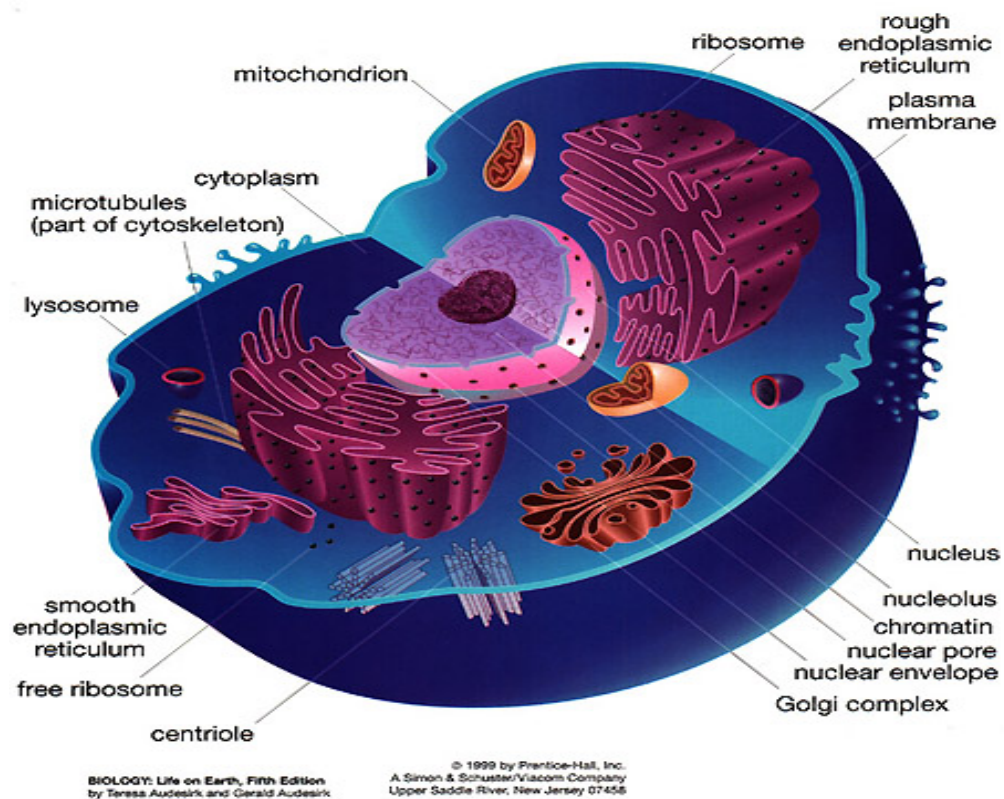
- et liv uten bakteriecellevegg
- membranavgrensede organeller inne i cellen (inkludert kjernen)

Et liv uten rigid cellevegg åpner for mulighetene for endocytose og eksocytose. Disse prosessene gjør det lettere for cellen å ta stoffer inn og å slippe stoffer ut. Bakterier kan kun ta opp næringsstoffer molekyl for molekyl via celleveggen, mens eukaryote celler kan ta opp større molekyler ved endocytose og bryte disse ned til næringsstoffer inne i cellen. Disse mekanismene

er også involvert i svært mange andre viktige prosesser inne i cellen, for eksempel sortering av proteiner og under en immunrespons.

Vi antar at det først oppstod en svekkelse av celleveggen. Da ble det mulig for cellen å ta inn en bakteriecelle og leve i symbioseforhold med denne. Den endocyterte bakterien beholdt sin cellevegg, og det som etter hvert ble organellen mitokondrium eller kloroplast, har derfor en slik dobbel membran. Denne dannelsesmåten kalles ofte *endosymbiose*. Et avgjørende bevis på at det virkelig kan ha foregått slik, er at alle eukaryote celler har DNA både i kjernen og i mitokondriene, og plante- og algeceller har også DNA i sine kloroplaster. Det er først og fremst Lynn Margulis som har jobbet med å bevise endosymbioseteorien i moderne tid. Men allerede for over hundre år siden var det forskere som så at den selvstendige delingen og den spesielle formen på både kloroplasten og mitokondriet kunne tyde på at de hadde vært selvstendige bakterier på et tidligere stadium.

I den neste delen ønsker vi å gi en generell gjennomgang av cellens oppbygning og indre strukturer. Vi fokuserer på eukaryote celler, og til en viss grad på forskjellene mellom plante- og dyreceller. Selv om det er store forskjeller blant eukaryote celler i forhold til spesialisering og funksjon, er hovedstrukturene felles. Størrelsen på eukaryote celler kan variere fra 10 μm til 100 μm .



Alle eukaryote celler omsluttet av en membran, som kalles **plasmamembranen** eller cellemembranen. Cellemembranen avgrensner livet på innsiden fra miljøet på utsiden, og fungerer som en selektiv barriere for transport av stoffer (næring, avfallsstoffer) inn og ut av cellen. Biologiske membraner består av to lag med fosfolipider og andre lipider. I tillegg til lipider finnes ulike proteiner i eller bundet til overflaten av membranen. Fosfolipidene består av et polart hydrofilt hode og en hydrofob hale. Siden fosfolipidene har to ulike sider kaller vi de amfipatiske. Når fosfolipider er i et vannholdig miljø, vil de spontant danne et dobbeltlag. I dette laget vil de hydrofobe halene med fettsyrene vende inn i membranen, mens de hydrofile hodegruppene vil være i kontakt med den vandige løsningen på hver side av membranen. I dyreceller er lipidet kolesterol en viktig bestanddel i cellemembranen. Kolesterol forsterker membranen og gjør den stivere. Membranen er såkalt semipermeabel, det betyr at den kun er gjennomtrengelig for noen stoffer. Vann og gasser er lett gjennomtrengelig mens salter og ioner ikke slipper igjennom. Vi har foreslått et enkelt elevforsøk i dette kompendiet der osmose og vanntransport kan demonstreres i plante – og dyreceller.

Cytosol er væsken rundt celleorganellene. Cytosol består av vann, ioner og næringsstoffer, og opptar omtrent halvparten av det totale volumet av en celle. Cytosol har et høyt innhold av proteiner, noe som gir en geléaktig konsistens. **Cytoplasma** regnes som alt mellom cellekjernen og cellemembranen, cytoplasma består altså av både cellens organeller og cytosol.

Cellekjernen er cellens kommandosentral og inneholder organismens genetiske informasjon. Kjernemembranen består av to atskilte membraner, og avgrenser kjernens innhold fra cytoplasma. Kjernemembranen inneholder store porer med proteiner som kalles porekomplekser, og disse regulerer transport av molekyler og partikler inn og ut av kjernen. Den genetiske informasjonen i en celle er lagret i cellekjernen som deoksyribonukleinsyre (DNA), men i tillegg har mitokondrier og kloroplaster eget DNA. DNA er bygd opp av deoksyribonukleotider til lange kjeder, og den genetiske informasjonen er bestemt av rekkefølgen av nitrogenbasene (adenin, tymin, guanin og cytosin) i DNA-molekylet. Ett nukleotid består av en nitrogenbase, et sukkermolekyl (deoksyribose) og en fosfatgruppe, og det er nitrogenbasene i tre nukleotider etter hverandre (en triplett) som koder for en enkelt aminosyre. Inne i kjernen er DNA pakket sammen med proteiner kalt histoner til kromatin. I forbindelse med celledeling blir kromatinet pakket ytterligere sammen til tykkere tråder, som kalles kromosomer. Hver eukaryot art har et bestemt antall kromosomer. I kjernen i en menneskecelle er det 46 kromosomer (23 kromosompar, ett sett arvet fra mor og ett sett arvet fra far). To av kromosomene er kjønnskromosomer (XX for jenter, XY for gutter) mens de resterende 44 kromosomene er såkalte autosomer. Kjønnscellene har derimot bare 23 kromosomer, ett kjønnskromosom og 22 autosomer. I kjernen dirigeres proteinsyntesen ved at det dannes ribonukleinsyre (RNA). Sukkermolekylet i RNA er ribose, mens nitrogenbasene er adenin, cytosin, guanin og uracil. I RNA er basen thymin byttet ut med uracil og utgjør en viktig forskjell mellom RNA og DNA. I kjernen modnes RNA til messenger (budbringer) RNA (mRNA) ved at ikke-proteinkodede sekvenser kalt introner fjernes (spleises) mens proteinkodede sekvenser kalt exoner settes sammen til et sammenhengende mRNA-molekyl. Det ferdige mRNAet transporteres fra cellekjernen gjennom kjerneporene og ut i cytosol hvor proteinsyntesen foregår.

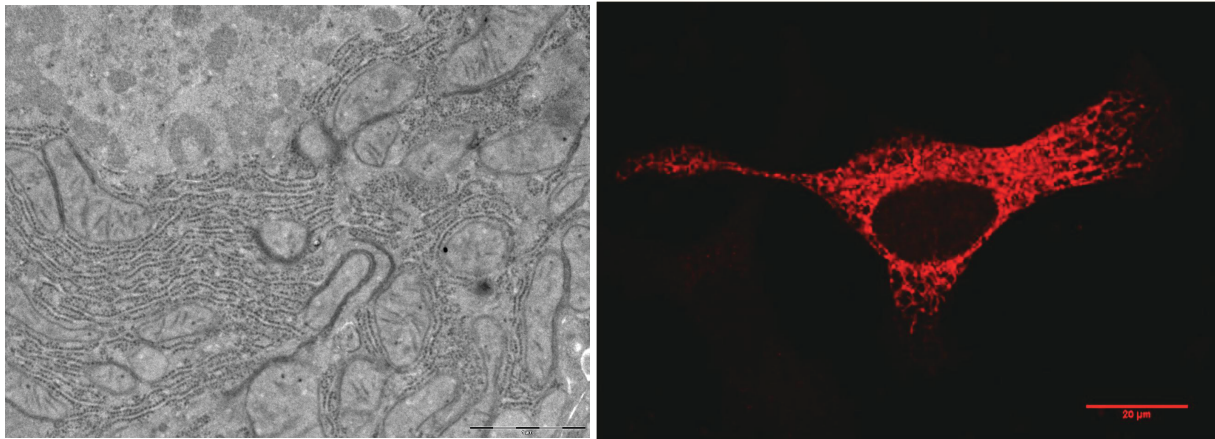
Nukleolus er et spesielt område i kjernen hvor ribosomene lages. Området er et stort kompleks av makromolekyler, og her finnes enzymer som syntetiserer, modifierer og pakker ribosomalt RNA og proteiner til ribosomale subenheter. Størrelsen på nukleolus kan variere avhengig av

proteinsyntesen; høy proteinsyntese gir et stort antall ribosomer og dermed stor nukleolus. De enkelte ribosomenhetene transporteres ut av kjernen gjennom kjerneporene og samles i cytosol ved starten av proteinsyntesen. Når syntese av proteiner ikke utføres, er de ribosomale subenhetene separert.

Ribosomer er altså ikke organeller, men komplekser av rRNA og proteiner, og det er der proteinsyntesen skjer. Ribosomene binder mRNA, som spesifiserer rekkefølgen av aminosyrene under proteinsyntesen. På ribosomene oversettes (translateres) nukleotidsekvensen i mRNA til aminosyrer, som igjen utgjør et protein. Celler med høy proteinsyntese har spesielt mange ribosomer – for eksempel har en celle i bukspyttkjertelen flere millioner ribosomer, mens andre typer celler som regel har noen tusen. Ribosomene finnes bundet til den cytosoliske siden av endoplasmatisk retikulum (ER)-membranen eller fritt i cytosol. De fleste proteiner som dannes på de frie ribosomene, skal utføre sine oppgaver i cytosol. ER-bundne ribosomer produserer proteiner som skal skilles ut av cellen, inkorporeres i cellemembranen eller fungerer i bestemte organeller som for eksempel lysosomer. Membranbundne og frie ribosomer er strukturelt og funksjonelt identiske.

Kjernemembranen, ER, golgiapparatet og lysosomene omtales ofte som det **endomembrane systemet** (det indre membransystemet), og henger sammen enten ved direkte membrankontinuitet eller via vesikler.

Endoplasmatisk retikulum (ER) er et nettverk av membraner bestående av både tubulære strukturer og vesikler som brer seg utover i cytosol. ER-membranen utgjør mer enn halvparten av membraninnholdet i en gjennomsnittlig dyrecelle.



Endoplasmatisk retikulum; Bildet til venstre er et elektronmikroskopibilde som viser membrannettverket av ER som brer seg utover i cellen. Ribosomene på ER membranen vises tydelig som svarte prikker på membranen (ru ER). Man kan også se mitokondriene og hvordan ER brer seg utover hele cellen og mellom andre organeller. Dette sees spesielt godt i bildet til høyre som er et fluorescensbilde av en hel celle. Cellen er farget slik at ER lyser rødt. Bildet viser tydelig at ER finnes overalt i cellen og kan forsyne hele cellen med proteiner.

ER deles inn i glatt og ru ER og disse er strukturelt og funksjonelt svært ulike. Ru ER (rough ER) er den delen som har ribosomer koplet til seg og ser derfor ut til å ta en ru overflate i elektronmikroskop (se bildet over). Denne delen av ER spiller en sentral rolle i syntese av proteiner som skal skilles ut av cellen eller fungere i cellemembranen eller i endomembransystemet. Glatt ER (smooth ER) har derimot ikke koplet ribosomer til seg og får dermed en glatt overflate. Glatt ER spiller en viktig rolle i produksjon av lipider til alle cellens membranomsluttede organeller inkludert ER, golgiapparatet, lysosomer, endosomer, sekretoriske vesikler og cellemembranen. I tillegg fungerer glatt ER som et intracellulært lager av kalsium (Ca^{2+}), som i sin tur spiller en viktig rolle i mange cellulære signaliseringsprosesser.

I pattedyrceller blir proteiner som skal skilles ut av cellen eller fungere i ER, golgiapparatet eller lysosomene, først overført til innsiden av ER. De fleste proteinene transporteres inn i ER samtidig som syntesen av polypeptidkjeden utføres, ved at ribosomene som syntetiserer proteinene, er direkte festet til ER-membranen. Når det gjelder import av proteiner inn i mitokondrier, kloroplaster, kjernen og peroksisomene, overføres polypeptidkjeden etter at den er blitt dannet på frie ribosomer i cytoplasma. Det er informasjon i mRNA som bestemmer hvorvidt

et protein skal produseres på frie ribosomer eller ER bundede ribosomer. Når proteinene er ferdig syntetisert på ER-ribosomer vil proteinene foldes riktig ved hjelp av hjelpeproteiner kalt chaperoniner.

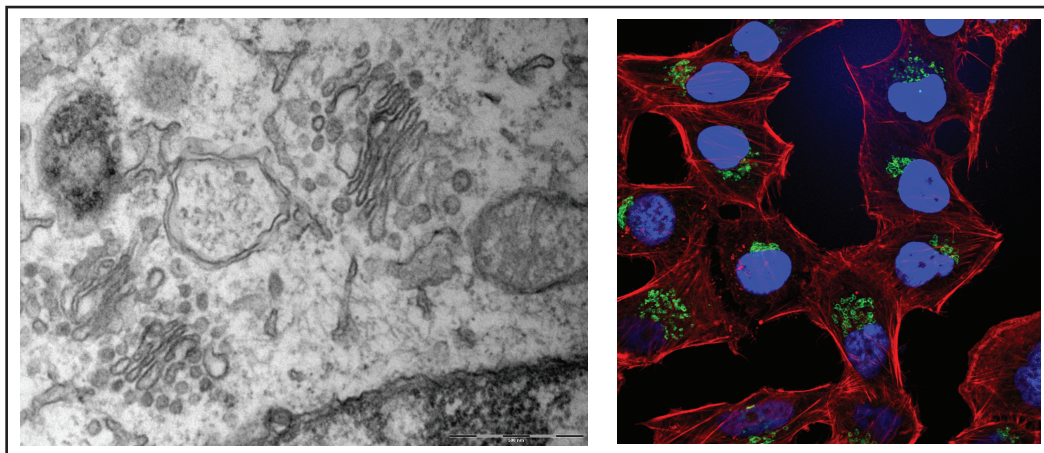
I glatt-ER produseres fettsyrer og lipider. De fleste celler har glatt ER, men mengden er avhengig av celletype. I celler som er viktig i lipid-metabolismen, for eksempel celler som syntetiserer steroidhormoner fra kolesterol, finnes det mye glatt-ER. I leverceller inneholder glatt-ER enzymer som kan omdanne giftige forbindelser, som alkohol, til ufarlige stoffer. Foruten protein- og lipidsyntese har ER den viktige funksjonen å regulere Ca^{2+} i cytosol. Generelt er nivået av Ca^{2+} i cytosol langt lavere (ca 100 nM) enn utenfor cellen eller i ER (ca 1 mM). Opptak og utslipp av Ca^{2+} i cytosol fra ER skjer som følge av ulike signaler både i og utenfor cellen. Kalsiumioner er viktige signalmolekyler i en rekke ulike signalveier i cellen og er dermed nøye regulert gjennom ulike transportmekanismer. Skjelettmuskelceller har spesialisert glatt-ER som kalles sarkoplasmatiske retikulum. Frigjøring og opptak av kalsiumioner fra glatt-ER er viktig for regulering av musklens kontraksjon.

Hovedoppgaven til **golgiapparatet** er modifisering og sortering av proteiner. Proteinene som transporteres fra ER, har ulike oppgaver på ulike steder i cellen. De bearbeides og sorteres i golgiapparatet før de sendes til sin endelige destinasjon. Golgiapparatet består av flate membransekker som ligger tett sammen i stabler rundt om i cellen. Golgiapparatet er lokalisert i nærheten av cellekjernen i dyreceller, men i enkelte planteceller er «golgi-stabler» derimot fordelt rundt i hele cellen. Det er ikke bare lokaliseringen til golgiapparatet som varierer i ulike celletyper, men også antallet. Mange celler har bare ett enkelt stort golgiapparat, mens andre celler har flere hundre «golgi-stabler». I tillegg kan antallet membransekker (cisterner) i hver stabel variere.

Golgiapparatet kan deles inn i en *cis*-, *medial*- og *trans*-golgi-del. *cis*-golgi er inngangen, den delen som er lokalisert nærmest ER, mens *trans*-golgi er lokalisert nærmest cellemembranen og kan sees på som utgangen. Riktig foldede proteiner i ER pakkes i vesikler som snøres av fra ER-membranen. Vesiklene vil bevege seg langs mikrotubuli mot golgiapparatet. Vesiklene med nydannede proteiner vil smelte sammen til større strukturer og til slutt overføres til *cis*-golgi. Proteiner kan bevege seg gjennom golgiapparatet ved vesikkeltransport, vesikler snøres av fra en

membransekk (cisterne) og smelter sammen med den neste, men proteiner kan også overføres mellom membransekker via tubulære strukturer.

Proteiner og lipider modifiseres på sin vandring gjennom golgiapparatet. En av disse prosessene er glykosylering, hvor karbohydrater festes til proteinet eller lipidet. De fleste proteiner som skal til cellemembranen eller sendes ut av cellene, er glykosylerte. Karbohydratkjedene som settes på proteinene, kan både være viktige for proteinets funksjon, og fungere som et sorteringssignal, som mannose-6-fosfat (se under lysosomer). Andre typer av protein- og lipid-modifisering, som sulfatering og fosforylering, skjer også i golgiapparatet. I *trans*-golgi-nettverket sorteres proteiner og lipider til ulike vesikler og fraktes dit de skal utføre en jobb. Transportvesiklene som snøres av, har ulike markører på overflaten som gjenkjenner og bidrar til binding til de ulike cellulære målmembraner.

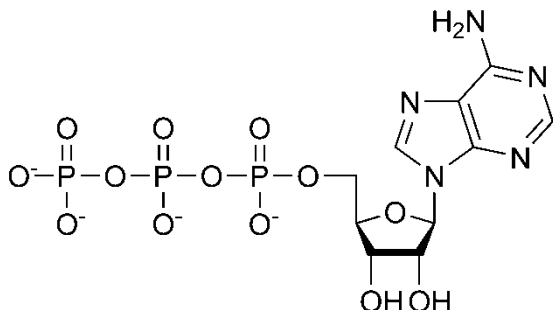


Golgi: Bildet til venstre viser et snitt av en celle der de karakteristiske stablene av membransekker i golgiapparatet synes. Bildet til høyre er et fluorescens bilde der et protein i Golgi (giantin) er farget grønt. Kjernen er farget blå og mikrotubuli er farget rødt (se under). (Bilde til høyre: Cinzia Progida)

Prosessen fra et protein syntetiseres på ER ribosomer, foldes i ER, modifiseres i Golgi og sorteres ut av cellen kalles **den sekretoriske vei**.

Mitokondriene er små organeller, ca. 0,5–1 μm i diameter og 1–5 μm lange. Mitokondriene er stedet for cellulær respirasjon, prosessen som danner energi som cellen benytter til sine aktiviteter. Energien ligger lagret i næringsstoffer som karbohydrater, proteiner og fett. Energien som dannes når næringsstoffene brytes ned, blir brukt til å danne ATP (adenosintrifosfat), som er

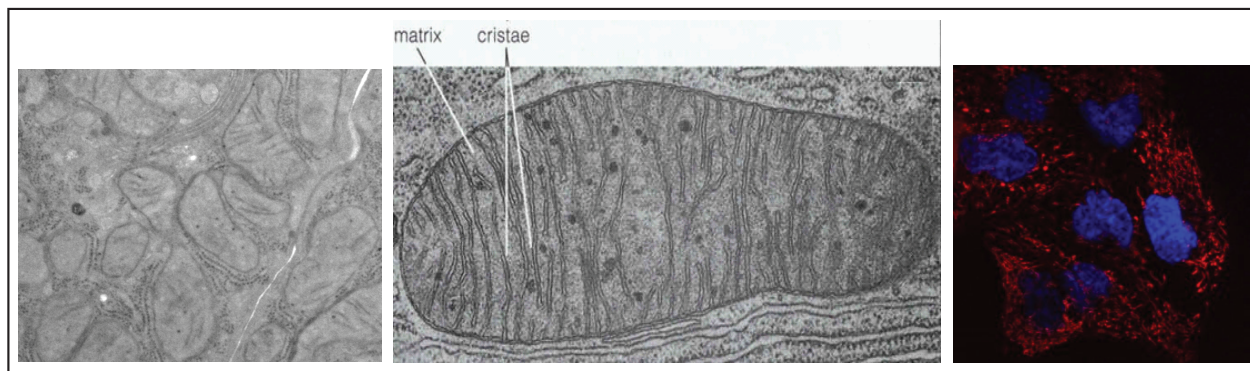
en av cellens viktigste molekyler fordi det er den eneste energiformen cellen kan anvende direkte. ATP består av et adenosinmolekyl og tre fosfatgrupper.



ATP består av en ribose og nitrogenbasen adenin som sammen danner adenosin. Tre fosfatgrupper (tri-fosfat) er bundet til ribosen. Hydrolyse av ATP frigir store mengder energi som benyttes i energikrevende reaksjoner.

Mitokondrier er bygd opp av to spesialiserte membraner, den ytre og den indre. Den indre membranen har dype foldete innbuktninger. Rommet mellom disse to membranene kalles det intermembrane området, mens det indre området kalles matriks. Mitokondrier har sitt eget genom i form av et sirkulært DNA-molekyl. I tillegg har de egne ribosomer og kan dermed selv produsere en rekke av proteinene som er nødvendige for energiproduksjonen.

I korte trekk starter nedbrytningen av næringsstoffer i cytosol, hvor energi utvinnes fra nedbrytningen av karbohydrater i en prosess kalt *glykolysen*. Denne prosessen fortsetter i mitokondriene via *sitronsyresyklusen* (Krebs-syklusen). Det dannes et begrenset antall ATP-molekyler, og i tillegg koenzym (NADH og FADH₂) som inngår i *elektrontransportkjeden*. Elektrontransportkjeden er lokalisert til den indre av de to mitokondriemembranene. Elektroner fra koenzymene brukes til transport av protoner (H⁺) gjennom den indre membranen, som fører til en protongradient over membranen. Protongradienten som dannes, er svært viktig for *oksidativ fosforylering* (oksidativ fordi den krever oksygen), det vil si produksjon av ATP. Oksygen gjør det mulig for mitokondriene å produsere store mengder ATP svært raskt (man antar at ett glukosemolekyl kan generere et sted mellom 34-38 ATP molekyler).



Mitokondrier: Elektronmikroskopbildene over viser tydelig dobbeltmembranen med de mange innbuktningene den indre membranen har. Dette skaper en stor overflate med høy kapasitet for ATP - dannelsen. Fluorescensbildet til høyre viser flere celler der mitokondriene er farget rødt. Vi kan se at de er jevnt fordelt utover i hele cellen. Kjernen er farget blå. (Bilde helt til høyre: Frode Skjeldal)

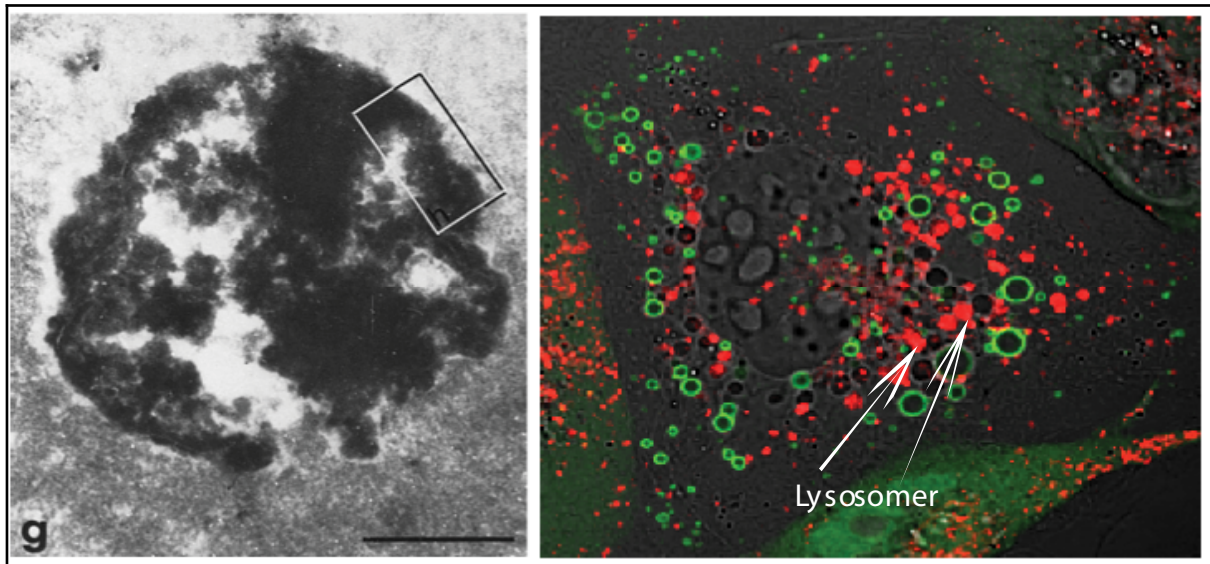
Vi arver mitokondriene kun fra mor og i human genetikk regner man med at mitokondriene videreføres direkte fra mor til avkom uten rekombinasjon. Det betyr at vi alle per definisjon nedstammer direkte fra en mitokondriell urmor (mitochondrial Eve).

Kloroplaster er organeller som omformer energi fra sollyset til kjemisk energi. De finnes i planteceller og i flercellete og encellete alger. Kloroplaster utvikler seg fra proplastider, og denne utviklingen stimuleres under påvirkning av lys. Kloroplasten er en organelle som har oppstått via endosymbiose og har derfor eget DNA, plastom. Plastom-DNA koder for flere av de proteinene som brukes under fotosyntesen. Men flere av proteinene blir også kodet for i gener som ligger i cellekjernen. Disse proteinene blir laget i cytosol og fraktes inn i kloroplasten. Inne i en kloroplast er det en formløs, geléaktig masse, stroma. I stroma foregår dannelsen av glukose og produksjonen av stivelse. I stromaet er det også små membranomsluttende sekker, kalt tylakoider. Rommet inne i tylakoiden kalles tylakoidlumen. Membranen kalles tylakoidmembranen, og det er i denne at den lysavhengige delen (fotodelen) av fotosyntesen er lokalisert. Tylakoidene er ordnet i stabler som kalles *grana*. Mellom et granum og et annet dannes det som kalles stromatylakoider.

Kloroplastene er betydelig større enn mitokondriene, 5–10 μm lange. Prosessen som omdanner energi fra absorbert lys til kjemisk energi, kalles fotosyntese. I prosessen forbrukes vann og

karbondioksid, og det skilles ut oksygen. Energien lagres i sluttproduktet i form av glukose, som så brukes for å danne andre lagringsformer, som stivelse og fett.

Lysosomer er omgitt av en enkel membran og er omtrent 0,5 µm i diameter. Lysosomene inneholder enzymer som kalles hydrolaser som bryter ned ødelagte organeller, makromolekyler og bakterier. Hydrolasene fungerer optimalt ved lav pH, og miljøet inne i lysosomene er derfor surt med en pH rundt 5. Enzymer og andre proteiner som skal til lysosomene, er merket med den spesielle karbohydratstrukturen mannose-6-fosfat. I golgiapparatet vil proteiner som inneholder mannose-6-fosfat, bli gjenkjent av en spesiell reseptor (mannose-6-fosfat-reseptoren) og deretter pakket i vesikler som sendes til lysosomene.

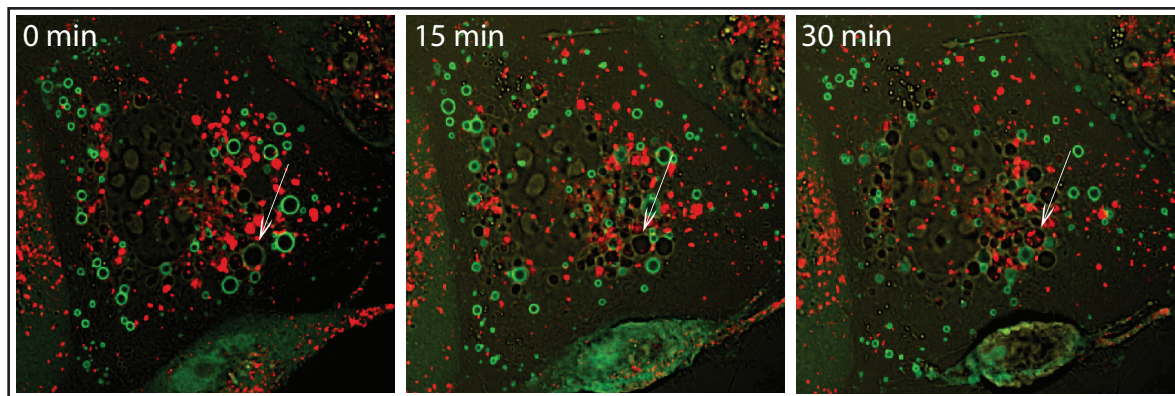


Lysosomer: Bildet til venstre viser et elektronmikroskopibilde av ett lysosom. Lysosomer får ofte denne karakteristiske svarte fargen i elektronmikroskop og kalles "dense" eller tettpakket pga de hydrolytiske enzymerne og mye degradert materiale. Bildet til høyre viser et fluorescensbilde der et lysosomalt protein er farget grønt. (Bildet til venstre: Espen Stang, Bildet til høyre: Frode Skjeldal)

Peroksisomer er metabolske organeller som er avgrenset av en enkel membran, størrelsen varierer fra 0,2 µm til 2 µm. Peroxisomene inneholder enzymer som bryter ned fettsyrer og aminosyrer. Ved disse reaksjonene dannes biproduktet hydrogenperoksid (H_2O_2). Hydrogenperoksid er giftig og omdannes derfor raskt til oksygen og vann av enzymet H_2O_2 -katalase. Spesialiserte peroksisomer kalt glyoksysomer finnes i fettlagrende plantevev, særlig i endosperm og frøbladene. Disse organellene inneholder enzymer som initierer omdannelsen av

fettsyrer til sukker, som spirende frø kan benytte som energi- og karbonkilde inntil de kan produsere sitt eget sukker. Tidligere trodde man at peroksisomer også hadde oppstått ved hjelp endosymbiose fordi nye peroksisomer oppstår ved deling av allerede eksisterende peroksisomer. I tillegg syntetiseres peroksisom-proteiner på ribosomer i cytosol og transporteres til peroksisomene på samme måte som proteiner til mitokondrier og kloroplaster. Men i dag vet vi at peroksisomer stammer fra ER. De regnes allikevel ikke som en del av endomembransystemet da det kun er membranen som kommer fra ER. Import av peroksisom-proteiner fører deretter til modne organeller.

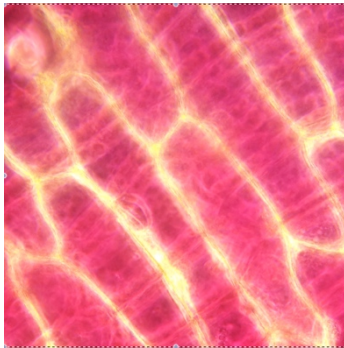
Endosomer er svært dynamiske vesikler (0,1–1 μm i diameter, vanligvis 300–400 nm) involvert i intracellulær transport. Endosomene inneholder materiale tatt opp ved endocytose, og kan enten gå igjennom en modningsprosess fra tidlig til sene endosomer og deretter til lysosomer eller de kan smelte sammen med plasmamembranen, slik at innholdet slippes ut av cellen igjen. Innholdet i de endosomene som modnes vil gradvis brytes ned pga større og større aktivitet hos enzymer (proteolytiske enzymer) som spalter peptidbindinger og surere pH. Endosomer mottar også nysyntetiserte proteiner fra Golgi som skal leveres til ulike cellulære organeller.



Endosomer og lysosomer: Bildet viser fluorescensfarging av endosomer (grønne) og lysosomer (røde). Endosomene er farget mot et protein som sitter på utsiden av membranen og som faller av etter hvert som endosomet modner. Når endosomet er modnet til et lysosom, fylles organellen med lysosomale proteiner (farget røde). Modningsprosessen varierer veldig fra celletype til celletype. I dette tilfelle har modningen tatt ca 30 minutter (Bilder: Frode Skjeldal)

Vakuoler er membranomsluttede organeller av varierende størrelse. Plantecellen og noen dyreceller inneholder vakuoler. Vakuolene er væskefylte hulrom, og innholdet av vakuolen kalles ofte celledsaft og fungerer som et lagringssted for ioner og proteiner. I enkelte tilfeller er det

stoffer løst i vakuolen som gir plantedeler, for eksempel rødløkceller, sin karakteristiske farge. I noen tilfeller kan vakuolen utgjøre mer enn 90 % av cellens volum. Vakuolen inneholder oppløste stoffer som bidrar til at vann strømmer inn via osmose og fører til at vakuolens størrelse øker. Vakuolen vil da presse mot plantecellens cellevegg og skape et trykk (turgortrykk) som gir ulike plantedeler den nødvendige stivhet og støtte.



Planteceller fra rødløk: Vakuolen inneholder fargestoffet antocyanin som gir rødløken sin karakteristiske farge. Vakuolen fyller nesten hele cellens volum og presser på celleveggene (lysegule). (Bilde: Tone Gregers)

Alle har vi vel opplevd en plante i stuevinduet som henger med bladene. Vakuolene er nesten tomme for vann og turgortrykket er lavt. Planten har mistet sin stivhet. Men vanner vi den vil den gradvis reise seg igjen når vakuolene fylles opp.

Organismer som består av en enkelt dyrecelle, er avhengig av vakuoler for å overleve i ferskvann. Hos organismer som ciliater og amøber fungerer vakuolene som vannregulatorer. Vi har foreslått noen enkle elevøvelser i dette kompendiet der man kan studere vakuoler i blant annet rødløkceller og hos tøffeldyr.

Cellevegger finnes utenfor cellemembranen i planteceller. Celleveggen er 1–3 μm tykk og gir cellene støtte og beskyttelse. Den spiller en viktig rolle i plantecellens beskyttelse mot patogene mikroorganismer. Den viktigste komponenten i celleveggen er cellulose. Veggen inneholder porer slik at vann, ioner og andre oppløste stoffer kan diffundere igjennom veggen.

Plasmodesmata er kanaler i celleveggen som bidrar til transport av materiale og kommunikasjon mellom planteceller, uten å gå veien om cellens ytre miljø. Dyreceller har ikke cellevegg, men en struktur som kalles **ekstracellulær matriks (ECM)**. Hovedkomponentene i ECM er kollagen og proteoglykaner, en type proteiner med lange, ugrenede karbohydratkjeder kovalent bundet til seg.

Komponentene i ECM varierer fra celletype til celletype og bidrar til alt fra mekanisk beskyttelse til forsvar mot ulike bakterier og virus.

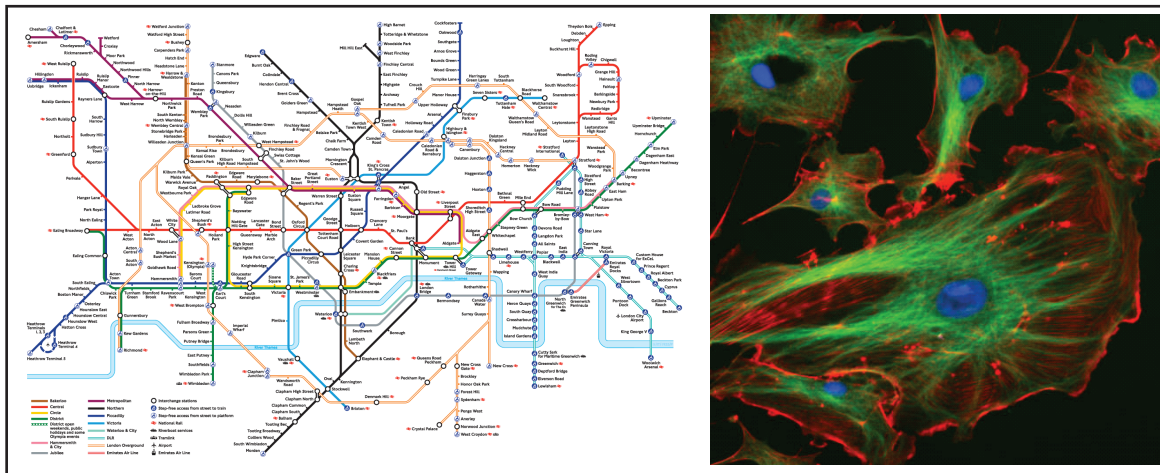
Cytoskjelettet (celleskjelettet) er et fleksibelt, tredimensjonalt nettverk i cellens cytoplasma bestående av proteiner. Cytoskjelettet er en dynamisk struktur som kontinuerlig bygges opp og brytes ned. Nettverket består av de tre komponentene mikrotubuli, aktinfilamenter (mikrofilamenter) og intermediære filamenter. Cytoskjelettet kan sammenliknes med et T-bane nett i en storby. Vesikler og proteiner fraktes frem og tilbake langs filamentene til ulike destinasjoner. Dette krever energi i form av ATP og utføres av såkalte motorproteiner (T-banetrokker).

Mikrotubuli er rørformede fibrer (25 nm i diameter) som er bygd opp av proteinene α - og β -tubulin. Mikrotubuli har flere viktige funksjoner i cellen. Fibrene er viktige for å opprettholde cellens form og struktur, og bidrar til organiseringen av de ulike organellene, intracellulær transport av vesikler og forflytning av kromosomene under celledelingen. Ulike akvatiske encellede organismer har cilier eller flageller, og mikrotubuli bidrar til bevegelse av disse strukturene. Mikrotubuli finnes også i flimmerhår (cilier) langs slimhinner og i flagellen til sædceller. Mutasjoner i motorproteiner (kalt dynein) som driver bevegelsen av flimmerhår og flageller kan føre til luftveisplager samt til dårlig svømmeevne hos sædceller og lav fertilitet hos menn. Kvinner påvirkes også av slike mutasjoner ved at flimmerhår i egglederne fungerer dårlig og dermed påvirker egglosning.

Aktinfilamenter (også kalt mikrofilamenter) består av proteinet aktin og er de tynneste fibrene i celleskjelettet (5–7 nm i diameter). Aktinfilamentene er fleksible og kan bidra til å forandre cellens form, og er dermed også viktige for bevegelsen til for eksempel amøber. Det er spesielt mye aktinfilamenter i muskelceller, hvor de er viktige for muskelkontraksjon. Aktinfilamenter er kortere enn mikrotubuli. Transport over store avstander inne i cellen skjer ofte via mikrotubuli, mens transport over kortere avstander skjer via aktinfilamenter. Transport av vesikler og forflytning av organeller langs mikrotubuli og aktinfilamenter er avhengig av proteinkomplekser kalt motorproteiner. Muskelkontraksjon og bevegelse av cilier er også avhengig av motorproteiner. Det finnes tre hovedtyper av motorproteiner: myosiner, som beveger seg langs

aktin, og kinesiner og dyneiner, som beveger seg langs mikrotubuli. Motorproteiner får energi til å bevege seg ved hydrolyse av ATP.

De intermediære filamentene er taulignende fibre (diameter 10 nm) som brer seg utover i cytoplasma, rundt kjernen og ut mot celleoverflaten. Deres hovedfunksjon er å gi cellen styrke til å tåle mekanisk stress.



Cytoskjelett: Cytoskjelettet kan sammenliknes med undergrunnsnettet i London der T baner transporterer til ulike destinasjoner. Fluorescensbildet til høyre viser kjernen i blått, aktinfilamenter i rødt og mikrotubuli i grønt. Aktin gir cellen dens form og er ofte lokalisert nær cellemembranen der de også spiller en viktig rolle i cellens bevegelse men også i endocytose og eksocytose (se under). Mikrotubuli dannes ut fra spesifikke strukturer (centrioler) nær kjernen og ser derfor ofte ut som de spinner ut fra kjerneområdet (IF: Frode Skjeldal).

Transport på cytoskjelettet kan visualiseres. Denne videoen på Youtube.com (<http://www.youtube.com/watch?v=7sRZy9PgPvg>) viser en fantastisk video av vesikler som fraktes langs mikrotubuli i en voksende rot i planten *Arabidopsis thaliana*. I dette kompendiet har vi foreslått et elevforsøk med vannplanten Vasspest (Elodea) der man med lysmikroskopi enkelt kan se hvordan kloroplastene beveger seg langs aktinfilamenter nær cellemembranen i en prosess som kalles cytoplasmisk strømning.

Transport gjennom cellemembranen

Endocytose – eksocytose

Transport inne i cellen skjer hovedsakelig via vesikler. Transport av store molekyler gjennom cellemembranen er også avhengig av vesikler. Dette kalles endocytose og eksocytose, og er prosesser som krever energi i form av ATP.

Cellene benytter seg av **endocytose** for å ta materiale inn i cellen. Det kan være ulike molekyler på utsiden av cellen eller lipider og proteiner i cellemembranen. Det finnes ulike typer endocytose, men reseptordrevet endocytose er den best studerte formen. Ved reseptordrevet endocytose utgjør det endocyterte materialet makromolekyler, oftest ulike proteiner, som er fanget opp av reseptorer i cellemembranen. Under endocytosen dannes det en innbuktning av et lite område i cellemembranen. Innbuktningen former en lomme hvor reseptorer med proteiner bundet til seg samles. Membranområdet snøres av i en energikrevende prosess, og det dannes en vesikkel på innsiden av cellemembranen. I cytosol kan vesikkelen smelte sammen med endosomer som videre modnes til lysosomer. I endosomene og lysosomene vil redusert pH føre til at proteinene skilles fra reseptorene, og reseptorene sendes tilbake til cellemembranen ved hjelp av resirkulerings-endosomer. I lysosomene finnes enzymer (hydrolaser) som bryter ned proteinene til stoffer som cellen trenger. Viktige funksjoner av endocytose er opptak av lipoproteiner, Fe^{3+} , vitamin A og D (bundet til proteiner), og nedregulering av reseptorer på cellemembranen. En spesialisert form for endocytose er **fagocytose**. Dette er en prosess hvor relativt store partikler tas opp av spesielle eukaryote celler. Amøber spiser næringspartikler ved fagocytose og næringsvakuolene fusjonerer med lysosomer. Makrofager spiser bakterier og rester av ødelagte celler og organeller ved fagocytose.

Transport av proteiner og lipider fra ER, gjennom golgiapparatet, og så via vesikler til cellemembranen kalles **eksocytose**. Ved eksocytose kan cellen skille ut stoffer til den ekstracellulære væsken. I blant annet endokrine celler er dette svært viktig – da lagres vesiklene like under membranen, og når cellene stimuleres, tømmes vesikkelinnholdet raskt ut av cellen. I celler i bukspyttkjertelen lagres insulin i sekretoriske vesikler under cellemembranen og skilles ut av cellen bare ved signal; høye glukoseverdier i blodet. Vesikkelmembranen blir i eksocytosen en del av cellemembranen, og på denne måten tilføres cellemembranen stadig nye fosfolipider og membranproteiner, slik at størrelsen av cellemembranen opprettholdes.

Aktiv og passiv transport

Fettsyrehalene til fosfolipidene i cellemembranen danner et hydrofobt midtsjikt som lar fettløselige stoffer diffundere gjennom membranen, men hindrer passasje av vannløselige

molekyler. Denne barrieren bidrar til at cellen kan opprettholde forskjellige konsentrasjoner av ioner og hydrofile molekyler i cytosolen, i den ekstracellulære væsken og inne i de ulike organellene i cellen.

For å kunne ta opp nødvendige næringsstoffer, skille ut avfallsprodukter og regulere den intracellulære ionekonsentrasjonen benytter celler forskjellige mekanismer for transport av vannløselige molekyler gjennom membranen. Alle disse mekanismene for transport av ioner og små vannløselige organiske molekyler gjennom det dobbelte lipidlaget er knyttet til spesialiserte transmembran-proteiner. Viktigheten av membrantransport reflekteres i det store antallet gener som koder for transportproteiner i alle organismer. Transportproteiner utgjør 15–30 % av membranproteinene i en celle. Noen spesialiserte celler bruker opptil to tredjedeler av hele sitt energiforbruk på prosesser knyttet til membrantransport.

Diffusjon av stoffer gjennom cellemembranen kalles **passiv transport** fordi cellen ikke trenger å bruke energi på å drive transporten. Transport ved diffusjon har alltid retning ned stoffets energigradient. For uladete molekyler er retningen alltid fra et område med høyere konsentrasjon til et område med lavere konsentrasjon, det vil si ned stoffets konsentrasjonsgradient. For ioner er i tillegg elektriske spenningsforskjeller mellom de aktuelle områdene med på å bestemme transportretningen ved diffusjon. For å beskrive hvordan ioner diffunderer, brukes derfor begrepet elektrokjemisk gradient, som uttrykker den samlede virkningen av konsentrasjons- og spenningsforskjeller på diffusjonen. Ioner vil alltid diffundere i retning ned sine elektrokjemiske gradienter. Ved passiv transport blir det frigjort potensiell energi.

Ved **aktiv transport** kan stoffer transporteres mot sine elektrokjemiske gradienter eller konsentrasjonsgradienter. Slik transport er avhengig av tilskudd av energi, som cellen skaffer ved hydrolyse av ATP.

Det finnes to hovedklasser av membrantransportproteiner:

- kanaler
- bæreproteiner

Kanaler danner sammenhengende diffusjonstunneler gjennom membranen, slik at stoffer i vandig løsning kan diffundere gjennom kanalene uten å gå inn i membranens lipidfase. Transport gjennom kanaler skjer alltid ved diffusjon, og er derfor alltid passiv. De fleste typene av membrankanaler er permeable for ulike uorganiske ioner, og kalles for *ionekanaler*. Disse kanalene er spesifikke, som betyr at de har ulik permeabilitet for forskjellige ioner. Mange ionekanaler er permeable for bare ett ioneslag, og får da navn etter dette ioneslaget, for eksempel Na^+ -kanaler, K^+ -kanaler, Ca^{2+} -kanaler, Cl^- -kanaler. Andre kanaler er permeable for flere ioneslag, og kan for eksempel betegnes som kationkanaler eller anionkanaler. Transport gjennom kanaler skjer mye raskere enn transport gjennom bæreproteiner (se nedenfor).

Ionekanalene har som regel portstrukturer, og ulike typer påvirkning fører til åpning eller lukking av kanalene. Gjennom en åpen ionekanal kan opptil 100 millioner ioner passere per sekund, ned ionenes elektrokjemiske gradienter. Åpning og lukking av forskjellige typer ionekanaler styres av for eksempel endring av membranpotensialet, det vil si forskjellen i elektrisk spenning mellom cytosolen og utsiden av cellen (spenningsstyrte ionekanaler), mekanisk stress (strekkstyrte ionekanaler), eller binding av en ligand (ligandstyrte ionekanaler). Samarbeid mellom ulike typer spenningsstyrte ionekanaler bestemmer aktiviteten til elektrisk eksiterbare celler, det vil si celler som kan danne aksjonspotensialer (nerveceller, muskelceller og mange typer endokrine celler). Ligandstyrte ionekanaler er viktige i synapsene i nervesystemet, og strekkstyrte ionekanaler er viktige i mange sanseceller.

Selv om vann kan diffundere gjennom cellemembranens dobbelte lipidlag, inneholder cellemembranen spesifikke, transmembrane vannkanaler, *akvaporiner*, som øker cellens permeabilitet for vann. Akvaporiner finnes det spesielt mye av i celler som må transportere vann raskt, for eksempel epitelceller i nyrene og i planterøtter. Én akvaporinkanal kan transportere 10^9 vannmolekyler per sekund. Akvaporinene ble oppdaget av Peter Agre som fikk Nobelpris for denne oppdagelsen i 2003. Agre er i dag æresdoktor ved Universitetet i Oslo.

Bæreproteiner binder spesifikke ioner eller molekyler, og ved hjelp av en rekke endringer i konformasjonen transporteres det bundne ionet eller molekylet gjennom membranen. Bindingsstedet er først tilgjengelig på den ene siden av cellemembranen, og etter

konformasjonsendringen er bindingssetet flyttet til den andre siden av membranen. I motsetning til transporten gjennom kanaler, som alltid er passiv, kan transport ved hjelp av bæreproteiner være enten aktiv eller passiv. Passiv transport via bæreproteiner skjer alltid i retning ned ionenes elektrokjemiske gradient eller ned konsentrasjonsgradienten til nøytrale molekyler. Andre bæreproteiner transporterer stoffer mot sine elektrokjemiske gradienter eller konsentrasjonsgradienter. Dette er aktiv transport som krever ekstra tilskudd av energi. Aktiv transport kan være *primær aktiv transport* eller *sekundær aktiv transport*. Energien som driver primær aktiv transport, kommer fra hydrolyse av ATP. Bæreproteinene som transporterer ioner ved primær aktiv transport, kalles ofte for ionepumper, for eksempel H^+ -pumpa og Na^+/K^+ -pumpa.

Ved sekundær aktiv transport transporteres som regel to ulike stoffer samtidig av det samme bæreproteinet, og transportretningen for det ene stoffet er ned stoffets energigradient. Det blir da frigjort potensiell energi, som blir benyttet til å transportere det andre stoffet mot sin energigradient (elektrokjemisk gradient eller konsentrasjonsgradient). Det er også eksempler på bæreproteiner som transporterer flere enn to stoffer samtidig. Det er en stor elektrokjemisk gradient for Na^+ inn i celler, både fordi Na^+ -konsentrasjonen er mye høyere utenfor cellen enn i cytosolen, og fordi cytosolen er negativ i forhold til cellens utside. Ved transport av Na^+ inn i cellen frigjøres det derfor mye potensiell energi, og Na^+ -transport inn i cellen er den vanligste energikilden ved sekundær aktiv transport. Et eksempel er den samtidige transporten av Na^+ og glukose fra tarminnholdet og inn i tarmens epitelceller via det samme bæreproteinet (sekundær aktiv transport). Transporten av glukose fra blodet, via vevsvæsken og inn i kroppens øvrige celler skjer også ved hjelp av et bæreprotein i cellemembranen, men den transporten er passiv og ikke koplet. Det er et viktig poeng at den lave intracellulære konsentrasjonen av Na^+ skyldes at cellen hele tiden bruker ATP for å pumpe ut det Na^+ som transporterer inn (via ionekanaler og bæreproteiner). Både primær og sekundær aktiv transport er derfor avhengig av hydrolyse av ATP.

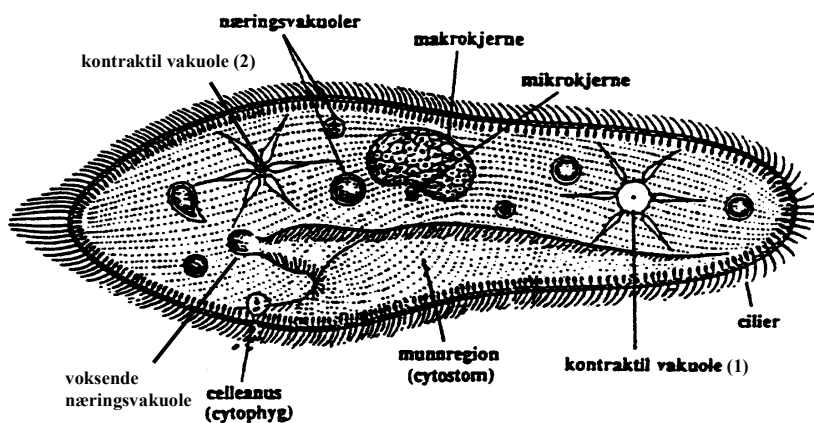
Samtidig transport av flere stoffer av det samme bæreproteinet kalles *kotransport*. Et bæreprotein som transporterer to stoffer i samme retning, kalles en *symporter*, mens en *antiporter* transporterer stoffene i motsatt retning.

Bruk av tøffeldyr som modellorganisme

Ciliater er encellede organismer (protozoa) og er blant de mest avanserte cellene som eksisterer. Siden hele organismen kun er én celle, må denne cellen inneholde alt som er nødvendig for å overleve. Ciliater er derfor en meget velegnet modell for studier av ulike celledelfunksjoner, blant annet celledeling, bevegelse, næringsopptak, fordøyelse og osmoregulering. I det følgende vil dere få tips til hvordan dere kan belyse disse celledelfunksjonene ved bruk av ciliater i undervisningen.

Navnet *ciliat* skyldes at den ytre overflaten (plasmamembranen) til cellene er dekt med cilier (flimmerhår) i minst ett av stadiene i livssyklusen. De fleste ciliater bruker cilierne til bevegelse, men hos enkelte arter fungerer cilier bare som fødeorganeller. Blant de mer enn 8000 artene beskrevet, finnes noen av de mest spesialiserte eukaryotiske cellene. Ikke bare er deres morfologiske struktur kompleks, men også deres fysiologiske, biokjemiske, økologiske og atferdsmessige karaktertrekk viser et høyt nivå av kompleksitet. Cellenes lengde varierer fra 10 µm til 4500 µm, og de har et stort antall forskjellige former. Ciliatene har en bred klimatisk utbredelse, som gjenspeiler deres evne til å tilpasse seg og tolerere ulike miljøer. Ciliater lever i de fleste vandige miljøer og i fuktig jord og sand. Siden mange ciliater har evne til å danne et hvilestadium, sporer, kan de overleve tørke og andre ugunstige forhold. De fleste ciliater er frittlevende, men noen er fastsittende. Det er beskrevet mange symbiotiske og parasittiske former med både invertebrater og vertebrater som verter.

Felles med andre eukaryoter er at cytoplasma hos ciliater fylt med mange ulike organeller som endoplasmatiske retikulum, golgiapparat, mitokondrier, lysosomer og næringsvakuoler. I tillegg har ciliatene spesielle organeller som kontraktile vakuoler (benyttes til osmoregulering), extrusomer (benyttes til angrep/forsvar) og to forskjellige typer kjerner (makro- og mikrokjerne) (se figur 1). I Norge er arter fra slekten *Paramecium* vanlig å finne i dammer og pytter og på tørt gress (i hvilestadium). De finnes i mange størrelser, men de har et felles likhetstrekk; de ligner en tøffel, derfor navnet «tøffeldyr». Siden arter fra denne slekten er relativt lett tilgjengelig og lett gjenkjennelig, vil forsøkene vi presenterer her, være rettet mot tøffeldyr. Figur 1 viser et typisk tøffeldyr.



Figur 1. En *Paramecium*-celle

Hvordan få tak i ciliater

Ciliater finnes nesten overalt hvor det er fuktig. Mange ciliatarter har også evnen til å danne et hvilestadium under ugunstige forhold, for eksempel tørke og kulde. Celler i hvilestadiet kan fraktes med vinden. Det er derfor relativt enkelt å finne ciliater ute i naturen. Slik går man frem (la gjerne elevene gjøre dette): Man henter tørt gress/høy og vann fra en dam eller en pytt. Man dekker så bunnen i et kar (for eksempel 20 cm × 30 cm × 10 cm) med tørt gress (det er viktig at dere velger organisk materiale som har stått en stund ute i naturen, for da er sjansen for å finne noen ciliater større). Deretter heller man vannet fra pytten over gresset til karet blir 1/4 fullt. Siden ciliater er avhengig av oksygen, er det lurt å ikke tildekke kulturen fullstendig. Kulturen bør stå på et lunt sted (ikke i direkte sollys) i 5–10 dager. Lag helst flere kulturer fra forskjellige steder, siden det er mulig å være uheldig å ikke fange noen *Paramecium*-celler. Ciliatene, som befant seg i hvilestadiet i gresset, vil våkne til liv etter noen dager i vann ved romtemperatur. Siden ciliatene lever av bakterier, er det viktig at vannet ikke er for rent. Dersom forholdene ligger til rette for det, vil ciliatene begynne å dele seg (generasjonstid 5–20 timer). Etter hvert vil det dannes en hinne på vannoverflaten som er rik på bakterier og ciliater. Dersom du sørger for å etterfylle med friskt vann, kan du ha kulturen gående i måneder.

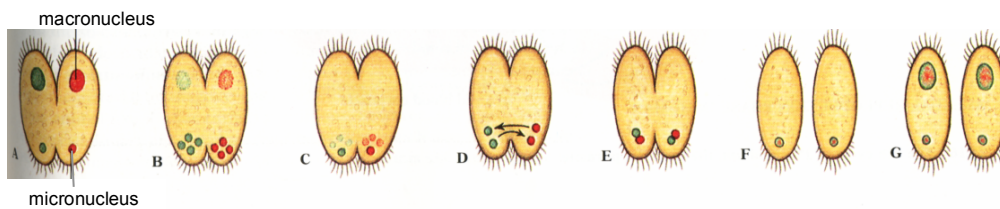
Under finner dere et nettsted som beskriver de vanligste organismene i en dam/pytt :

<http://www.microscopy-uk.org.uk/pond/index.html>

Reproduksjon

I gunstige tider vil ciliater dele seg ved enkel celledeling. Etter delingen vil det dannes to nye celler som raskt vokser opp til å bli to nye individer. Hele prosessen finner sted to til tre ganger per dag dersom forholdene ligger til rette for det.

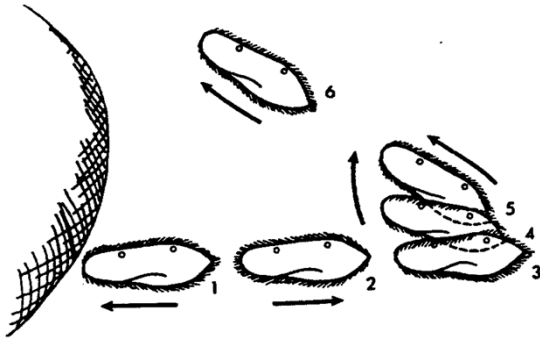
En av grunnene til at ciliater er en slik suksessrik gruppe, skyldes at de har mulighet til seksuell formering (konjugering, se figur 2). *Paramecium*-celler har sex ved jevne mellomrom. Under akten ligger de ved siden av hverandre (langside mot langside) og utveksler genetisk materiale (mikrokjerner). Etter at de har skilt lag, fortsetter de reproduksjonen ved å dele seg i to ved vanlig celledeling.



Figur 2. Konjugering hos cilitater

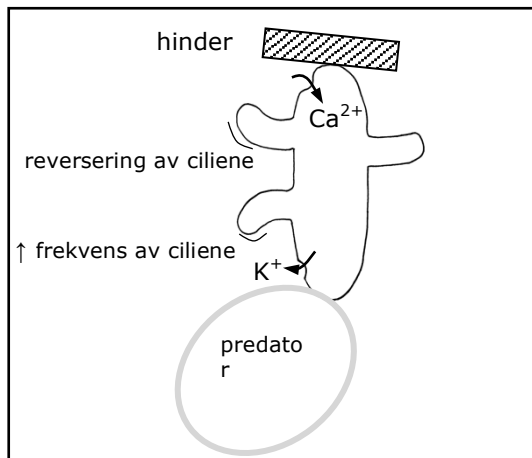
Bevegelse

Ciliene fungerer som mikroskopiske årer som driver cellen gjennom vannet. Hastigheten til disse dyrene er fire ganger sin egen lengde per sekund. Ciliatene er gode til å orientere seg i vannet. Ciliatenes svømmeatferd påvirkes av forskjellige ytre stimuli som for eksempel mat, berøring og lys. I figur 3 ser dere en typisk unnvikelsesrespons hos *Paramecium*. Dersom den treffer et hinder i fronten, rygger dyret i en kort periode før den stopper og fortsetter i en annen retning. Denne responsen skyldes at mekanosensitive Ca^{2+} -kanaler i forenden åpnes, og Ca^{2+} -ioner strømmer inn i cellen, og membranen depolariserer (se figur 4). Ciliene reverserer slagretningen som følge av depolariseringen.



Figur 3. Unnvikelsesrespons i *Paramecium*

Når *Paramecium* stimuleres mekanisk i bakenden, observeres en fluktreaksjon. Denne responsen skyldes aktivisering av mekanosensitive K^+ -kanaler i bakenden av cellen, K^+ ioner strømmer ut av cellen og membranen hyperpolariserer, se figur 4. Cellen reagerer på dette ved å øke slagfrekvensen slik at cellen svømmer raskere forover, og den har derfor en mulighet til å unnsnippe en predator.

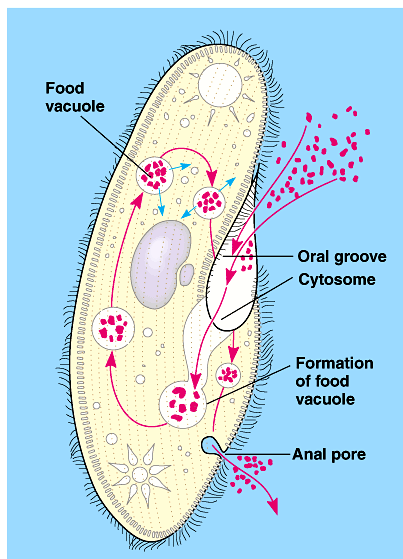


Figur 4. Mekanisk stimulering av forenden og bakenden på en *Paramecium*-celle

Næringsopptak

Eukaryote celler har utviklet ulike strategier til opptak av føde. Mekanismen bak matinntak i ciliater og pattedyr har mange likhetstrekk, noe som indikerer at dette systemet oppstod tidlig i evolusjonen. Ciliater har et fast sted på cellemembranen hvor mat samles og tas opp (figur 5). Opptaksmekanismen varierer. Noen ciliater har spesialiserte cilier som fører næringspartikler inn

i munnhulen. Maten blir konsentrert i en voksende næringsvakuole. Fødevakuolen snører av etter at en viss mengde mat har blitt oppkonsentrert (endocytose) (figur 2). Triggersignalet er ukjent. Denne prosessen er relativt uspesifikk (kun størrelsesorientert), og ciliater som benytter denne teknikken, for eksempel *Paramecium* og *Tetrahymena*, kalles filter-spisere. *Paramecium*-celler spiser kontinuerlig, bortsett fra når den deler seg eller dør. Disse ciliatene foretrekker bakterier som næringskilde, og de er viktige for å holde bakteriebestanden nede i for eksempel innsjøer. Andre ciliater viser et mer spesifikt opptak av næring. De vet hva de vil ha (gjenkjenner) og maten kan være av plante- eller kjøttkvalitet. Noen ciliater spiser til og med sine egne. Næringsvakuolene smelter sammen med lysosomene, og maten brytes ned ved hjelp av hydrolytiske enzymer. Den nedbrutte maten transporteres ut i cytoplasma. Det materialet som ikke er nedbrytbart, blir skilt ut fra cellen på et fast forankret sted i plasmamembranen (celleanus, se figur 5).

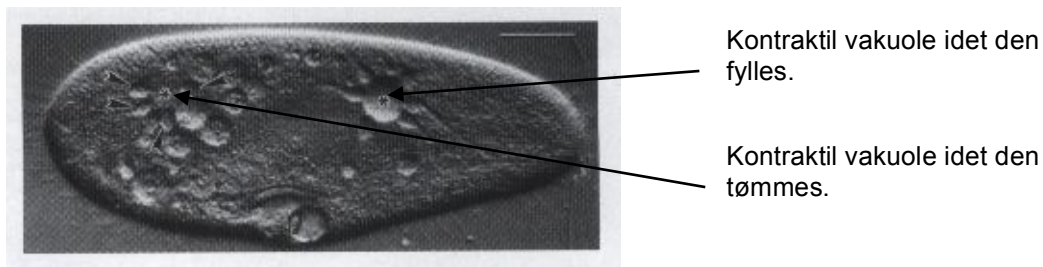


Figur 5. Opptak av næring i tøffeldyr

Osmoregulering

Osmolariteten (et mål på osmotisk aktivitet) til en dyrecelle varierer. En menneskecelle har en osmolaritet på rundt 300 mOsm, mens ciliater som lever i ferskvann, har en osmolaritet på rundt 100 mOsm (varierer noe fra art til art). Dersom en dyrecelle ikke hadde hatt evnen til å osmoregulere, ville den skrumpe eller svelle avhengig av hvor den lever. For ferskvannsciliater

diffunderer vann hele tiden inn i dyret (ferskvann har en osmolaritet på om lag 5 mOsm). Ferskvannsciliater har utviklet egne organeller til å kvitte seg med alt det overflødige vannet. Disse organellene kalles kontraktile vakuoler, og navnet reflekterer deres evne til å pulsere (se figur 6). De kontraktile vakuolene tømmer sitt innhold til omgivelsene rett etter at de har rundet opp. Denne pulseringen er mulig å studere i et vanlig lysmikroskop hos store ciliater.



Figur 6. Kontraktile vakuoler i *Paramecium multimicronucleatum*

Eksempler på mikroskopiske dyr man kan finne i en dam eller pytt

Ciliatene kan deles inn i 4 grupper: *Holotricha*, *Peritricha*, *Spirotricha* og *Suctoria*.

Holotricha: Ciliene er likt fordelt over hele kroppen. Til denne gruppen hører tøffeldyret *Paramecium*.

Peritricha: Fremre delen av kroppen er omdannet til en skiveliknende struktur som kalles peristom. Denne er utstyrt med en krans av cilier som omgir munnåpningen. Ciliekledningen ellers er sparsom. Ved hjelp av muskelliknende tråder kan dyret raskt dra seg sammen hvis det forstyrres. Til denne gruppen hører klokkedyret *Vorticella*. De finnes gjerne på gresstråene i kulturen. De peritriche ciliatene er hovedsakelig bakterieetende, og finnes i store mengder i vann som er organisk forurensset. De er derfor en viktig del av faunaen i biologiske vannrenseanlegg.

Spirotricha: Typisk for denne gruppen er en rad av spesialiserte cilier som går i en svak høyrevridning langs kroppen mot munnåpningen, eks. trompetdyret *Stentor*.

Suctoria: Voksne individer har ikke cilier. De er stort sett fastsittende. De fanger og suger ut byttedyr ved hjelp av tentakler.

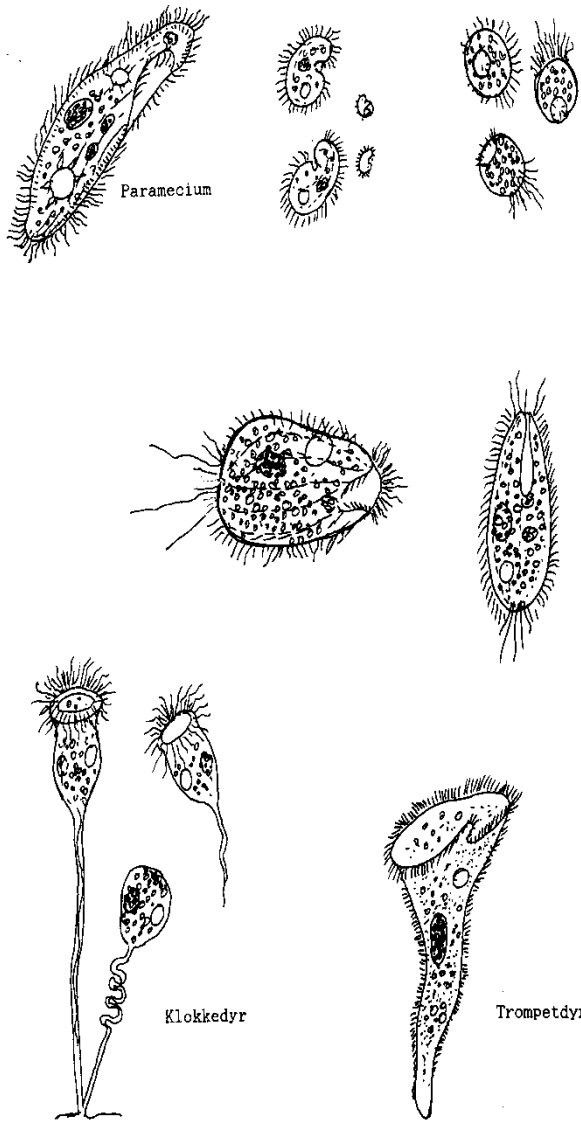
Hjuldyr (*Rotatoria*). I motsetning til amøber og ciliater er hjuldyr flercellede. Navnet har de fått etter kransen av cilier rundt munnåpningen. Noen av hjuldyrene har en velutviklet fot.

Hos de fritt svømmende artene brukes denne som en padleåre, mens den gir en igleliknende bevegelse hos de bunnlevende artene.

Rundormer (*Nematoda*) skulle være lette å gjenkjenne der de bukker seg karakteristisk framover. De har ingen cilier, er ikke leddelte, og de er spisse i begge ender.

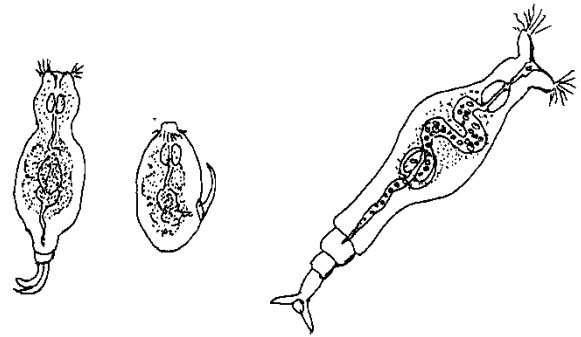
CILIATER

46

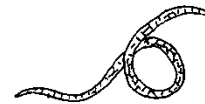


HJULDYR

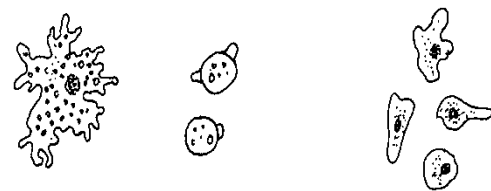
47



RONDØR



AMØBER



Ledningsvev hos planter

Kontrollert bevegelse av stoffer oppløst i vann er viktig for enhver organisme. Hos plantene (fra og med karsporeplanter) er dette organisert i to ulike rørsystemer. Vann og en del oppløste stoffer fraktes i vedrør (xylem), og fotosynteseprodukter og enkelte hormoner i silrørene (floem).

Transport i vedrørene skjer i døde celler og fra rot til topp, mens i silrørene skjer transporten fra produksjonssted til lagringssted og innbefatter en følgecelle og aktiv transport av molekylet som skal fraktes både inn i følgecellen og ut av silrørcellen. Frakten av vann, imot gravitasjonskraften og noen ganger over 100 meter, er et samvirke mellom flere krefter som er imponerende.

Vedrør

Vannet fra rota med oppløste næringsalter ledes gjennom karene, vedrørene. Cellene her er døde, lange celler som ligger over hverandre. Celleveggene mellom dem er løst opp slik at det dannes lange, sammenhengende rør. Veggene er fortykket med ringer eller spiraler, eller de tykke veggene er gjennombrutt av porer. I snitt av blad kan du finne lange spiraler som er løsrevet fra disse veggene. Veden i stammer og greiner er for det meste bygd av slike celler. I lengdesnitt får en som regel ikke se sammenhengende kar gjennom hele snittet – karene ser ut som de er avkortet med spisse ender.

Silrør

I silrørene ledes fotosynteseprodukter fra bladene til andre deler av planten der de trengs eller skal bli lagret. Disse cellene har tynne vegger, og endeveggen mellom dem er delvis løst opp. På denne måten dannes det gjennomhullede silplater mellom to celler som ligger over hverandre. Disse cellene defineres gjerne som levende celler, men mesteparten av kontrollen er overlatt til følgecellen som ligger tett inntil dem. Plasmaet i cellene står i forbindelse med hverandre ved strenger gjennom silplatene. I tynne tverrsnitt kan man se disse platene. I greiner og stammer ligger silvevet mellom barken og veden. I silrørene skjer transporten i motsatt retning av transporten i vedrørene (karene). Dermed vil det diffundere vann over fra vedrørene. Dette øker presset, og silrørsvæsken beveger seg. Det er en aktiv transport av stoffer inn og ut av følgecellen både ved produksjonssted og ved målcellen. I bladnerver finner en begge typer ledningsrør sammen med bunter av styrkevev.

Styrkevevceller er spesialiserte celler. De er lange og smale, som oftest tilspisset i endene. Cellene er døde og luftfylte. Celleveggene er fortykket og forsynt med porer. De kan være innsatt med lignin eller med kiselsyre. Stengler av gress, spesielt marehalm og strandrug, har styrkevev med kiselsyre. Her er celleveggene harde (som glass). Det samme gjelder sneller, som tidligere ble brukt som oppvaskkost! Lindebast, lin og hamp er bygget av slike celler med lignin i veggene. Veden i trestammer og greiner er bygd av disse cellene sammen med vannførende kar. Ved framstilling av cellulose fra tremasse må ligninet fjernes. Noen nytteplanter med sterkt styrkevev er for eksempel lind, nesle, lin og hamp.

Lind

Styrkevevet, lindebasten, ligger mellom barken og veden. Basten har fra gammelt av vært brukt til tauverk. Fægri sier i *Norges planter*: «Men gjennom den lengste del av den tid det har vært drevet fiskeri og gårdsbruk her til lands, har nok lindebastrepet fått bære de fleste byrdene». Repene er ikke dårlige, selv om de verken i pris eller kvalitet kan måle seg med rep av hamp eller kokos». (Eller nylon!) Grenene kan legges til røting i vann, som er en gjæringsprosess som gjør at basten løsner både fra barken og veden. Men oftest flekkes først bast og bark når sevjen går om våren, og etterpå legges dette til røting. Etter røtingen må basten renses og sorteres etter finhet og etter den bruk man skal gjøre av tauverket.

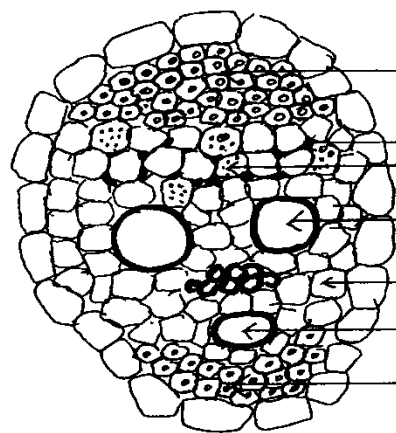
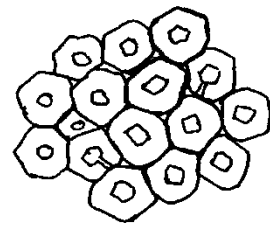
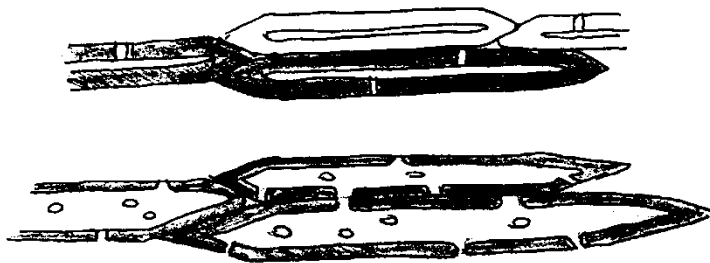
Nesle

Helt opp mot vår tid var neslen Nordens viktigste tekstilplante. Stengelen inneholder fine, sterke bastfibre som behandles på samme måten som lin og lind. Den må altså røtes først. Siden må den renses ved banking og kjemning. Den ferdige vevnaden, nesleduken, likner en mellomting mellom lin og bomull. Nesle ble dyrket i stor stil som tekstilplante inntil bomullen overtok etter ca. år 1800 (Ane Martha Borgen: *Urtehagen på Knatten*). Nesle er også brukt som fôrplante. Ved tørking og koking forsvinner brenningen. Ved farging av garn gir de underjordiske stenglene en gul farge, mens bladene gir en blågrønn farge. Den er også en gammel medisinsplante, og tørkede blader har vært brukt til te.

Lin

Under selvforsyningsbruket var lindyrrking vanlig i Norge. Fra gammelt av ble lin lagt ut på en gressbakke til røting. Nå brukes vannrøting med kjemikalier.

Lengde- og tverrsnitt av styrkevevsceller, vedrør og silrør



Styrkevev

Følgecelle

Silvev

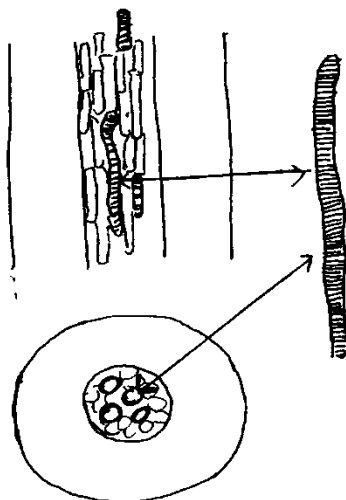
Porekar

Levende grunnvev

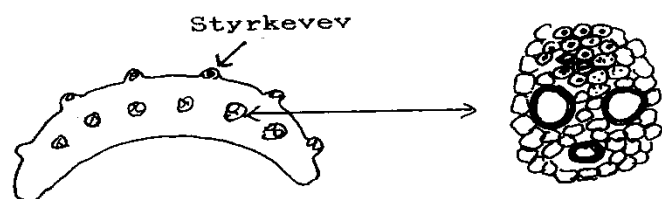
Ringkar

Styrkevev

Disse strengene går gjennom stenglene og ut i bladene som bladnerver

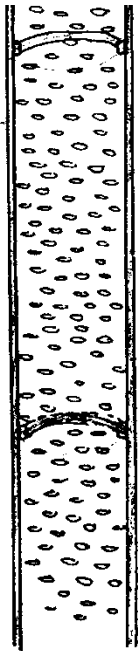


Lengdesnitt og tverrsnitt
av gulrot

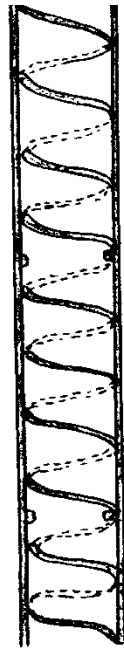


Styrkevev

Tverrsnitt av selleri
med ledningsstrenger



Porekar

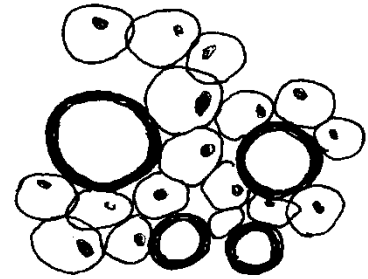


Spiralkar



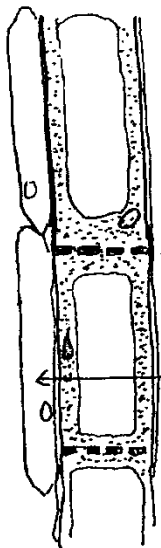
Ringkar

Lengdesnitt av vannledende kar



Tverrsnitt

I en bladnerve ligger karene spredt i et grunnvev som består av levende celler. Porekarene er de største.

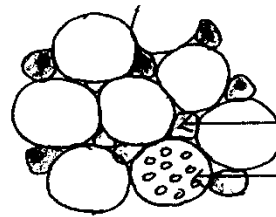


Lengdesnitt av silrør

Silrør

Silplate

Følgecelle



Følgecelle

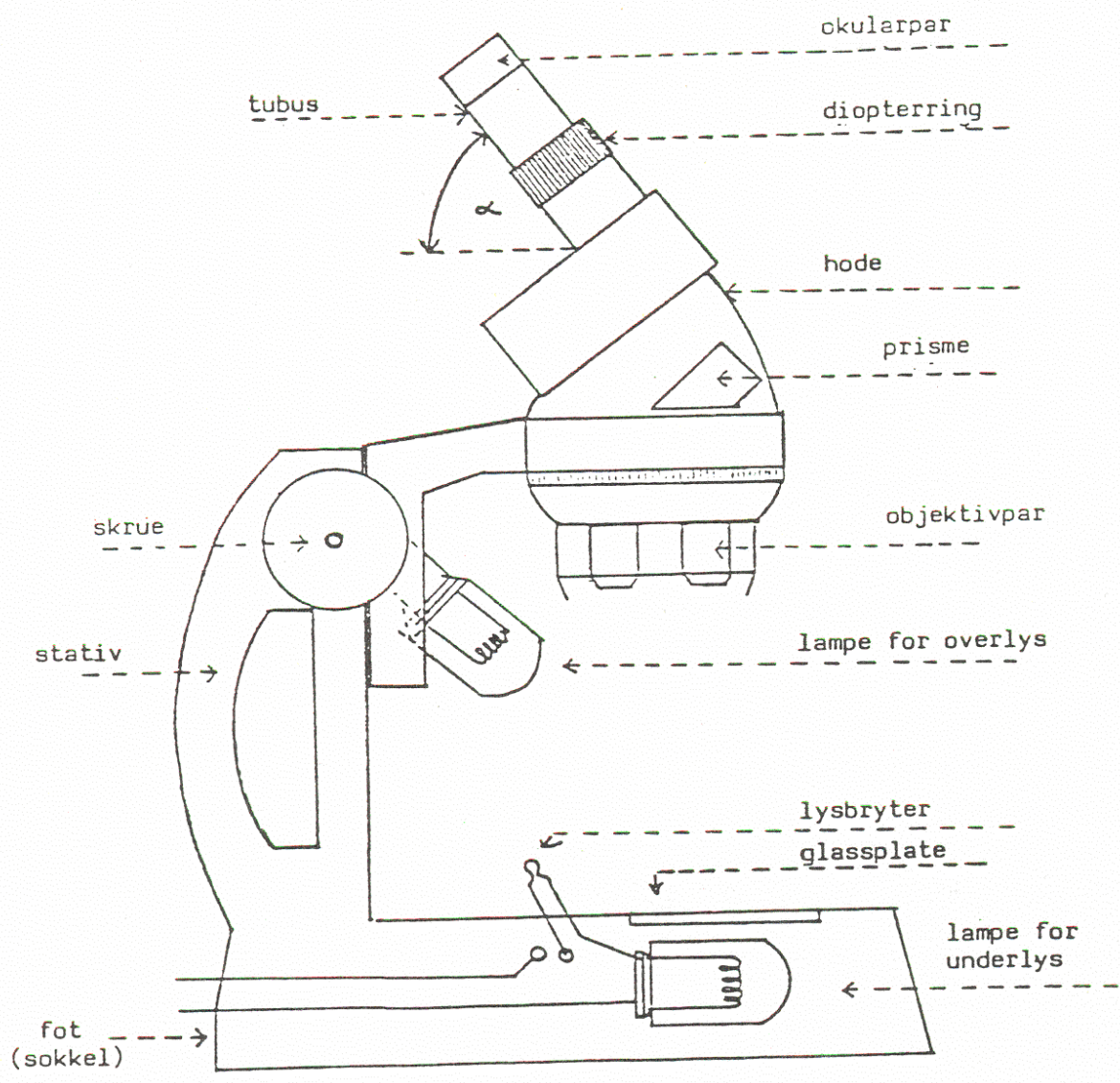
Silplate

Tverrsnitt av silveg. Det kan være vanskelig å skille dette vevet fra vanlig grunnvev, men de små følgecellene som ligger mellom silrørene er et karakteristisk trekk. Noen ganger kan en være heldig og finne tydelige silplater.

Innstilling og bruk av stereolupen

1. Tenn lyset. Bruk overlys og minste forstørrelse først.
2. Legg for eksempel en mynt på platen under objektivene.
3. Bruk fokuseringsskruen og still hodet med okularene i laveste stilling.
4. Se ned i okularene og løft okularhodet til du ser mynten tydelig. Bruk nå ett øye om gangen, og se om bildet blir like skarpt for begge øynene. Hvis dette ikke er tilfelle, må okularene justeres. I tillegg til fokuseringsskruen som beveger objektivene, kan også det ene okulalet fokuseres med en såkalt diopterring.
 - a. Hvis det venstre okulalet har diopterringen, begynner du med det høyre øyet.
 - b. Lukk det venstre øyet og bruk fokuseringsskruen til du får et helt skarpt bilde av mynten med det høyre øyet.
 - c. Lukk det høyre øyet og reguler med diopterringen til du får se et helt skarpt bilde med det venstre øyet – bruk nå begge øynene, og juster avstanden mellom okularene til du får et sammenfallende, tredimensjonalt bilde av mynten.
5. Nå kan du skifte forstørrelse ved å skifte objektpar, som sitter i tromlen nederst på hodet. Drei på tromlen til du hører et lite knepp. Nå skal det bildet du ser, være forstørret, men det er kanskje ikke like skarpt over det hele, derfor må du nå bruke skruen litt.
6. Hvis du ser på gjennomsiktige preparater, kan du bruke underlyset. På noen stereoluper er det mulig å bruke over- og underlys samtidig.
7. Før du setter lupen bort, må du alltid tørke av eventuelt vannsøl og legge over støvhette.

NB! Ta aldri direkte på linsene med fingrene, de skal pusses med spesielt linsepapir.



Innstilling og bruk av mikroskopet

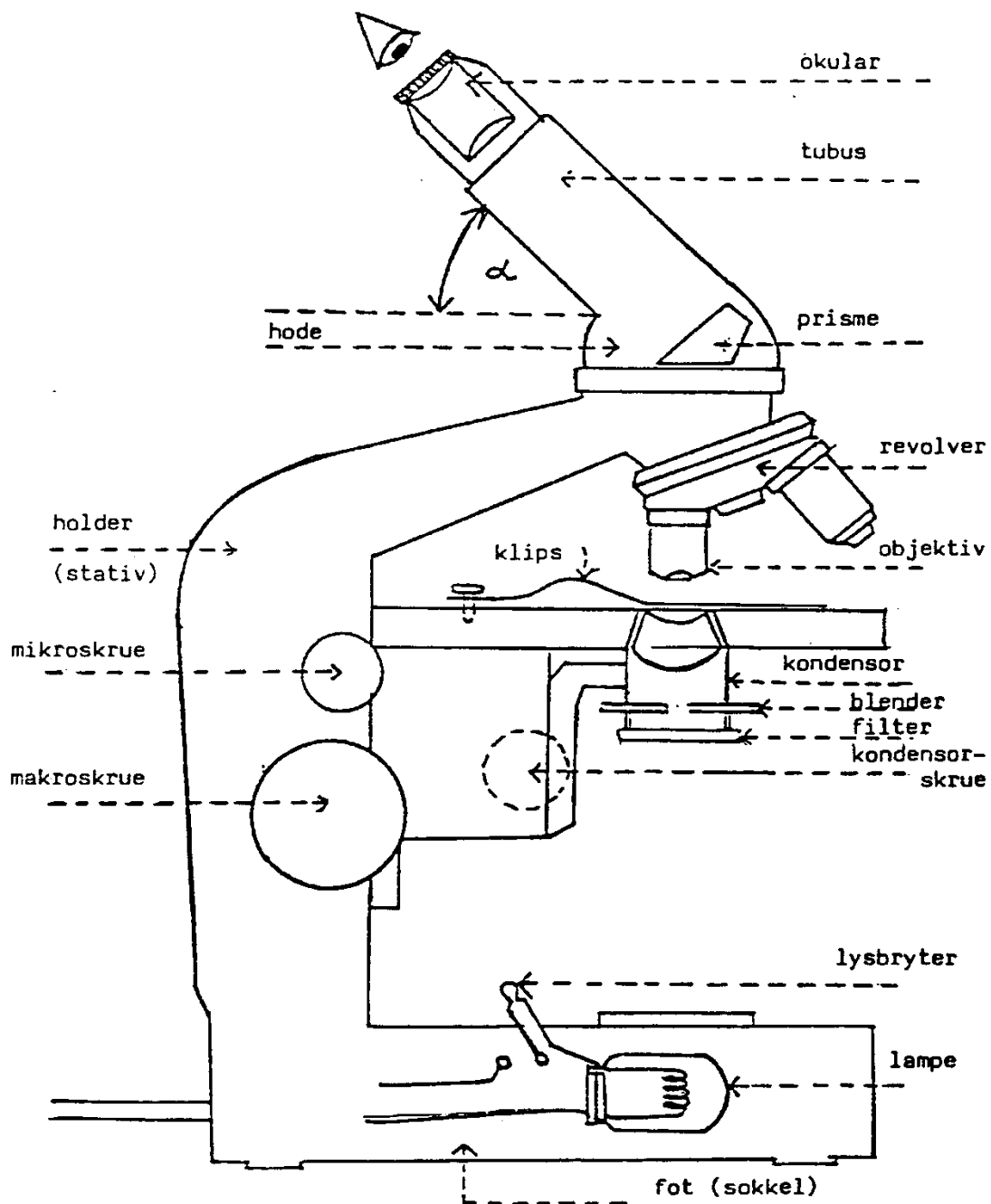
1. Tenn lyset.
2. Drei revolveren slik at du får innstilt med minste forstørrelse først (svakeste objektiv). Du skal høre et lite knepp når objektivet er på plass. Bruk selve skiven når du skal dreie. Ikke hold i objektivene.
3. Legg objektglasset med preparatet på objektbordet og fest det med klipsene. Forskyv objektglasset slik at lyset fra mikroskoplampen treffer selve preparatet.
4. Se ned i okularet og still inn med fokuseringsskruene til du får et skarpt bilde av preparatet: Start med objektbordet i lavest stilling og løft det forsiktig med makroskruen til du får et tydelig bilde. Finjuster til slutt med mikroskruen.
5. Det er ikke nødvendig å lukke det øyet du ikke bruker selv om du bare har ett okular. De fleste synes det er mer behagelig å ha begge øynene åpne samtidig.
6. Forskyv preparatet til du får den viktigste delen i sentrum. Når du skyver preparatet, forskyves alltid bildet i motsatt retning.
7. Trening: Skriv bokstaven h på et stykke papir og legg det inn under objektivet. Skyv det fram og tilbake mens du ser ned i okularet. Gi deg ikke før du kan bevege det slik du vil.
8. Hvis blenderåpningen er for liten, vil bildets ytterkant være mørk. Juster blenderåpningen slik at den akkurat er stor nok til å gi jevn belysning over hele bildeflaten ved laveste forstørrelse. Denne blenderåpningen er mer enn stor nok til å gi jevn belysning med de sterkere objektivene. Siden for stor blenderåpning gir dårlig kontrast, kan det derfor bli aktuelt å blende ned ved sterkere forstørrelse. Prøv deg fram.
9. Hvis mikroskopet har kondensor som kan forskyves, skal du sette den i lav stilling ved minste forstørrelse og heve den når du skifter til større forstørrelser. Hvis det oppstår en svart ring langs kanten av synsfeltet, har du imidlertid hevet kondensoren for mye. Prøv deg fram med justering av blender og kondensor til du får maksimal kontrast ved stor forstørrelse.
10. Når du arbeider med de sterkeste objektivene, må du passe på ikke å løfte objektivbordet så mye at dekkglasset presses mot objektivet! Både objektivlinsen og preparatet kan bli ødelagt! For å unngå dette, skarpstiller du alltid først med liten forstørrelse. Når du etterpå skifter til sterkere objektiver, bruker du bare mikroskruen for fininnstilling av skarpheten.

11. Skal du bruke objektiv 100x, må du bruke immersjonsolje. Dette må kun gjøres i samarbeid med læreren.
12. Når du er ferdig med mikroskopet, skal du sette det tilbake på plass;
 - innstilt med svakeste objektiv på plass
 - med objektbordet i laveste stilling
 - med støvhetten på.

Husk:

- Fjern preparatet.
- Tørk bort vannsøl med filterpapir.
- Tørk bort eventuell immersjonsolje med et spesielt rensemiddel.
- Linsene må pusses med spesielt linsepapir.
- Du må aldri ta direkte på linsene med fingrene.

Det kan være nyttig å ha en skriftlig instruks når man skal lære elevene å behandle mikroskoper og stereoluper riktig. Disse sidene er ment som et forslag til en slik instruks. De to siste figurene er uten tekst, og de kan kopieres slik at elevene selv kan sette inn den manglende teksten. Det lønner seg å bruke god tid på å lære bruken av disse instrumentene. Vi vil fremheve stereolupen som et nyttig instrument i skolen. Det tredimensjonale bildet gir et godt inntrykk, og den moderate forstørrelsen gjør det lettere å få et konkret forhold til preparatet. Spesielt for lavere alderstrinn er den store forstørrelsen med et mikroskop i seg selv en abstraksjon som er vanskelig å forstå.



ELEVØVELSER

Mikroskopisk vannpreparat

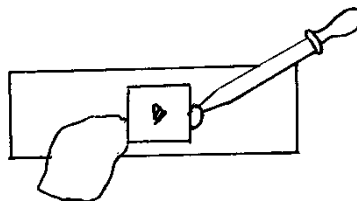
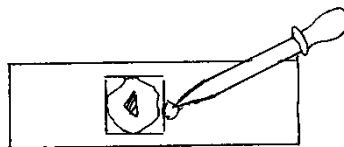
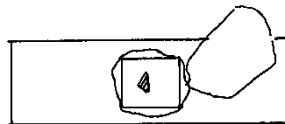
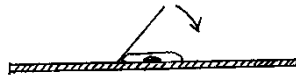
Utstyr:

objektglass, dekkglass

dråpeteller

filtrerpapir

1. Objektglass og dekkglass må være helt rene.
2. Sett en dråpe vann på objektglasset og plasser det du skal se på, for eksempel en bit av et hårstrå, i vanndråpen.
3. Sett kanten av dekkglasset forsiktig mot objektglasset. Deretter legger du det langsomt ned på objektglasset. På denne måten får du presset ut luften slik at du unngår luftbobler. Dekkglasset skal ligge tett inntil objektglasset og ikke «seile» omkring på vanndråpen.



4. Dersom vannet går ut over kanten på dekkglasset, må du fjerne det overflødige med et filterpapir.
5. Er det for lite vann, skal du sette til en liten dråpe ved kanten av dekkglasset. Vannet trekker inn av seg selv. Hvis du arbeider lenge med et preparat, kan det bli nødvendig å tilsette vann flere ganger.
6. Hvis du skal sette for eksempel jod eller et fargestoff til preparatet, plasserer du en dråpe ved kanten av dekkglasset og trekker den inn ved å fjerne vann fra den motsatte siden av dekkglasset med et filterpapir.

Cellenes oppbygning

Utstyr:

løkskjell av matløk (gjerne rød)

jodløsning

skalpell, pinsett, dråpeteller

filtrerpapir

objektglass, dekkglass

håndlupe, stereolupe, mikroskop

La hvert elevparti få et løkskjell. De cellene som skal undersøkes, ligger på den konkave innersiden av skjellet.

1. Se først på overflaten av løkskjellets innside med en vanlig håndlupe. Skjær et kryss på innsiden av løkskjellet og trekk av med en pinsett. Hold med pinsetten opp mot lyset, og se på overflaten gjennom lupen. Tegn det du ser.
2. Se på hudlaget under stereolupen. Legg hudflaket på et rent objektglass og plasser det under objektivene på lupen. Bruk påfallende overlys. Beskriv cellenes utseende og tegn figur.
3. Til slutt skal du se på cellene i mikroskop. Riv av en flik av løkskjellet som beskrevet under punkt 1. Bruk bare et lite stykke på ca. $0,5 \text{ cm}^2$. Dette legges i en dråpe vann på et rent objektglass og dekkes med dekkglass. Fjern overflødig vann med filtrerpapir. Se på dette mikroskoppreparatet med forstørrelsene 40x, 100x og 400x. Bruk blender og kondensor slik at du får se flest mulig detaljer.

Prøv å finne:

cellevegger med porer

cellekjerner

plasma

vakuoler

4. Tilsett en dråpe jodløsning ved kanten av dekkglasset og trekk den inn under dekkglasset ved hjelp av et stykke filtrerpapir. Tegn det du ser. Bruk farger.

Plasmolyse i levende planteceller

Utstyr:

mikroskop

skalpell, pinsett

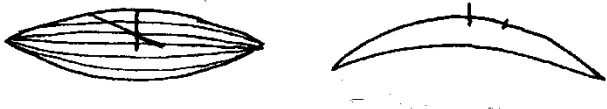
dråpeteller, filtrerpapir

dekkglass, objektglass

rødløk

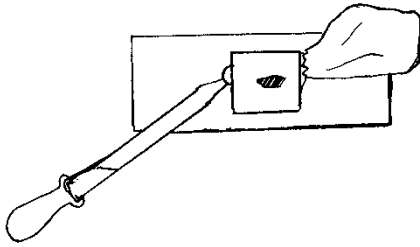
mettet oppløsning av NaCl

Her skjærer
du snittet



1. Lag et mikroskoppreparat av den blanke huden på yttersiden av et løkskjell. Se på huden i mikroskop, først med 100x forstørrelse, og så med 400x forstørrelse. Du vil nå tydelig se store celler som er fylt med rød cellesaft helt ut til kanten mot celleveggen. Plasmaet sees bare som en tynn fargeløs hinne mellom vakuolen med cellesaft og celleveggen. Noen celler i kanten av snittet er fargeløse fordi de er revet i stykker og har mistet cellesaften. Tegn figur av 4–5 celler.

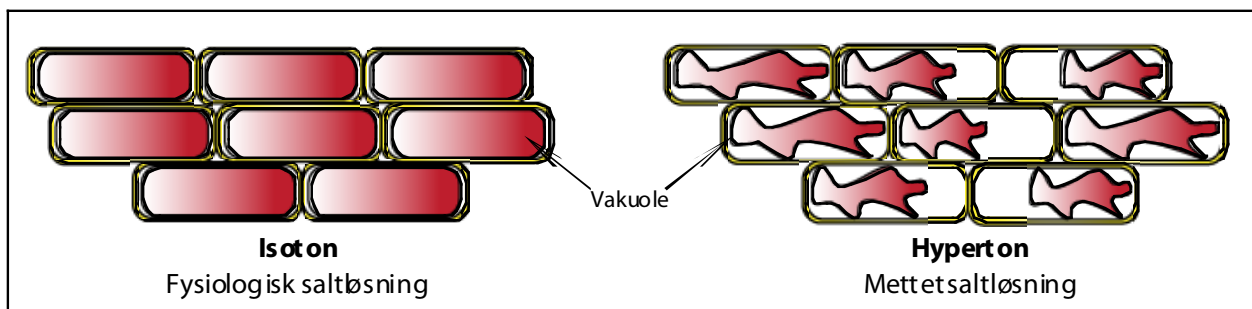
2. Tilsett noen dråper mettet NaCl-oppløsning ved kanten av dekkglasset. Ta et forholdsvis stort stykke filtrerpapir med revet kant og legg det på objektglasset slik at det trekker saltløsningen under dekkglasset som vist på figuren.



3. Følg nøye med i mikroskopet. Beskriv det du ser, og tegn de samme cellene i forskjellige stadier. Kan du forklare det som har skjedd? Prøv om du kan finne en måte å snu prosessen på.

Det er praktisk om elevene lager et ekstra vannpreparat som referanse. Rødløk er fint å bruke til dette forsøket fordi cellene er så store. La hvert elevparti få et båtformet løkskjell. Det er praktisk om elevene lager et ekstra vannpreparat som referanse. Cellekjernene skiller seg tydelig ut som lyse, litt kornete flekker. I noen av cellene kan en tydelig se at kjernen ligger inntil celleveggen, omgitt av en tynn plasmahinne. I de fleste cellene kan det imidlertid se ut som om kjernen ligger løs i cellesaften.

Plasmolysen reverseres ved å trekke vann gjennom preparatet slik at saltet vaskes ut igjen. Forsøket kan utvides ved å studere fargeskiftet i sur og alkalisk oppløsning: Tilsett noen dråper syre/base ved kanten av dekkglasset og trekk gjennom ved hjelp av et filtrerpapir. En annen mulighet er å tilsette syre ved den ene siden av dekkglasset og base ved den motsatte siden, og så følge med i mikroskopet og se hva som skjer.



Plasmolyse i planteceller

Hud- og muskelvev hos dyr

Utstyr:

Kjøtt fra fisk – laks/ørret, eller kuhale, som er billig og har vist seg å gi gode resultater.

tannpirker

skalpell, jodløsning, ATP

objektglass, dekkglass

mikroskop

filtrerpapir

1. Skrap litt med tannpirkeren på innsiden av kinnet. Gni det avskrapte ut i litt spytt på et objektglass. Se på cellene i mikroskop. Det du ser, er hudceller (epitelceller). Legg en dråpe I/KI-løsning ved siden av dekkglasset og trekk den igjennom ved hjelp av et filtrerpapir. Ser du cellekjernene? Tegn det du ser.
2. Klem en liten bit av fisken mellom to objektglass. Ta bort det ene objektglasset og lag et mikroskoppreparat. Studer preparatet ved stor forstørrelse og finn ut om du ser på glatt eller tverrstripet muskulatur. Tegn det du ser.
3. Tilsett en dråpe ATP (100mg/ml) på muskelfibrene. Forklar det som skjer.

Blodceller

Denne øvelsen kan benyttes til flere formål, bl.a. å studere blodets sammensetning og formen på de ulike cellene. Dette kan knyttes til transport av stoffer samt immunforsvaret. Her beskriver vi en øvelse som også kan benyttes for å sammenlikne osmose og plasmolyse i dyre- og planteceller (jmf. plasmolyse i levende planteceller over) og knytte dette til forskjeller i oppbygning på dyre – og planteceller.

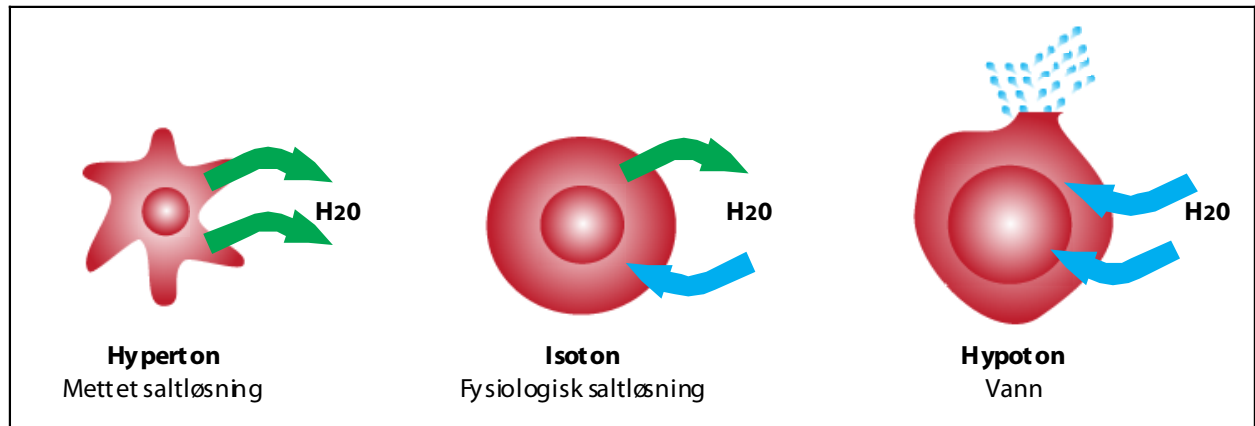
Utstyr:

Stikkpenn (for å få en bloddråpe)

Objektsglass, dekkglass

Mikroskop/stereolupe

1. Stikk ett hull i fingeren og klem ut en bloddråpe
2. Lag mikroskopipreparat av bloddråpen og se direkte på preparatet, først på lav forstørrelse, deretter på en større forstørrelse. Hva ser du ? Kan du se forskjellen på røde og hvite blodceller? Kan du se blodplater? Hvilken form har de røde blodcellene? Dersom det blir for mye celler kan de fortynnes 1:2 i fysiologisk NaCl løsning (0,9%)
3. Tilsett noen dråper mettet NaCl-oppløsning ved kanten av dekkglasset og observer hva som skjer.
4. Lag et nytt mikroskoppreparat og tilsett rent vann ved kanten av dekkglasset. Observer hva som skjer. Ser du forskjell fra det du observerte i 3.?
5. Forklar likheter og forskjeller mellom dyre- og planteceller ut fra det du har observert.



Osmose i blodceller

Hudvev fra planter

Utstyr:

blad fra forskjellige planter (planter som egner seg: rødkål, alpefiol, grønne renner, purre, tulipan, brennesle, pelargonium, duftpelargonium, møllplante, m.m.)

skalpell, pinsett

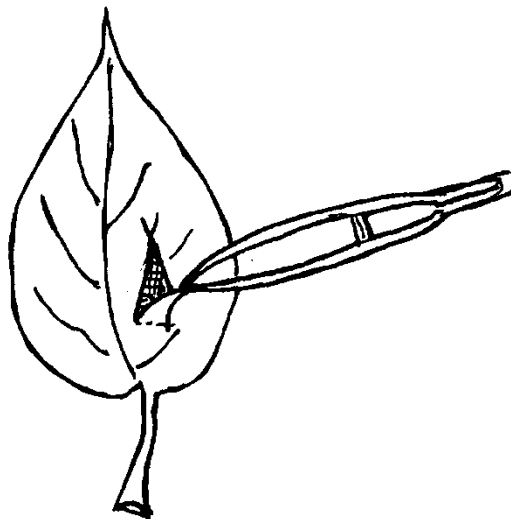
neglelakk

objektglass, dekkglass

stereolupe

mikroskop/stereolupe

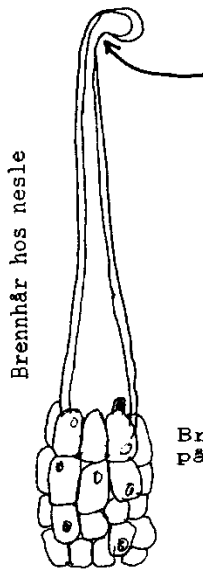
1. Legg hele bladet under stereolupen og se på det både i påfallende og i gjennomfallende lys. Tegn og beskriv det du ser. Hos noen planter er hudcellene svært små, men hos andre kan en tydelig se enkeltcellene. Er de helt flate?
2. Finn et blad med hårete overflate. Studer hårene først med 20x forstørrelse, deretter med 40x forstørrelse. Har bladet forskjellige typer hår? Dersom du har brennesle, kan du prøve å finne ut hva som er brennhår.
3. Lag mikroskoppreparater av hudvevet til noen blader. Noter hvilken plante du bruker og om du tar preparatet fra oversiden eller undersiden av bladet. Dette gjør du lettest slik:



Skjær et kryss som vist på figuren. Ta tak med pinsetten i et hjørne og trekk nedover. Dersom dette ikke går, kan du holde bladet stramt over fingeren og skjære så tynt du kan. Let etter spalteåpninger og forskjellige hårtyper. Tegn figur. Finner du noen forskjell på oversiden og undersiden av bladet? Kan du eventuelt forklare det?

Det er ikke alltid hårene har en åpenbar funksjon, men planter som vokser på tørre steder, har ofte tett behåring som kan hindre sterk innstråling og fordamping (filtkongsslys). Fjellplanter har ofte sterk behåring som hemmer frostdannelse (mogop). Hår på frukter og frø kan fremme spredning (geitrams, løvetann, bomull).

Hudvev



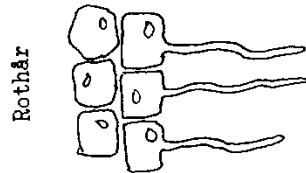
Brennhår hos nesle

Her brister celleveggen, og spissen blir stående igjen som en sprøyte-spiss av glass.

17

Cellen er levende og har forkislete vegger. Cellen inneholder bl.a. maursyre og hormon-lignende stoffer.

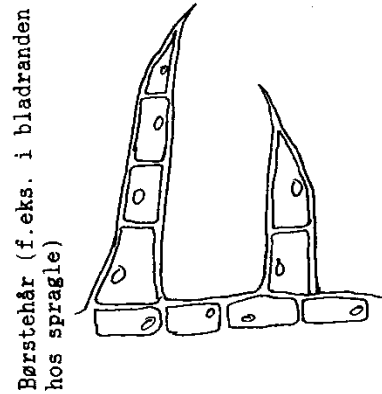
Brennhåret, som er en enkelt stor celle, står på en sokkel av små epidermisceller.



Rothår

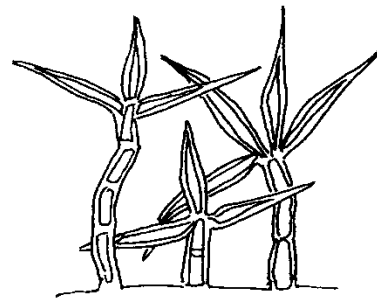
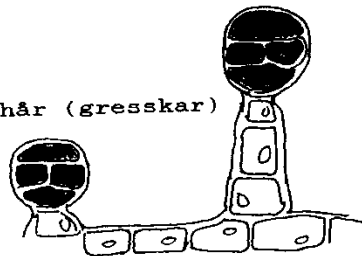


Fløyelshår hos stemorsblomst



Børstehår (f.eks. i bladranden hos spragle)

Kjertelhår (gresskar)



Dekkhår fra feltblad hos kongsløys. Hårene er døde og luftfylte.

Assimilasjonsvev

Utstyr:

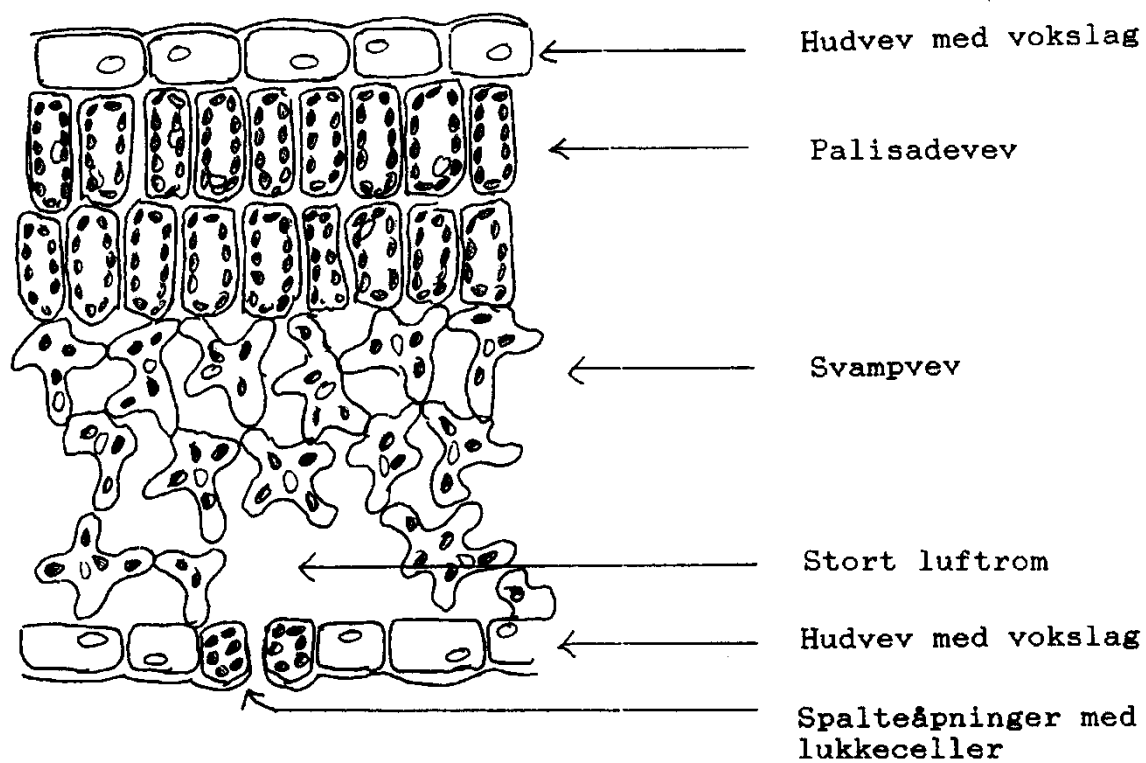
blad av alpefiol

barberblad, pinsett, dråpeteller

dekkglass, objektglass

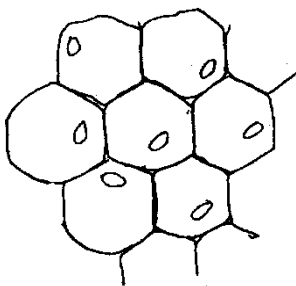
mikroskop

1. Skjær et tynt snitt fra oversiden av et alpefiolblad og lag et mikroskoppreparat.
2. Se først i kanten av preparatet. Der kan du se overhuden, som består av levende celler uten klorofyll. Cellene ligger tett sammen og danner en beskyttende hud. Tegn figur.
3. Lenger nede i snittet finner du celler som er fylt med klorofyllkorn (assimilasjonsvev). For å se disse cellene tydelig, må du bruke mikrometerskruen. Tegn figur.
4. Lag et nytt preparat av huden på undersiden av bladet. Det går enkelt hvis du skjærer et kryss i huden og trekker av en flik med pinsetten. Legg hudflaket med yttersiden opp på objektglasset. Tegn det du ser. Ser du celler med klorofyllkorn her? Hvilke oppgaver har de?
5. Lag et tverrsnitt av bladet: Skjær først ut et stykke, en strimmel ca. 1/2 cm bred. Legg bladstykket på et fast underlag og skjær mange snitt på tvers, så tynne som mulig. Lag et preparat av de beste snittene og undersøk dem i mikroskopet. Finner du igjen de samme cellene som du så i flatesnittene? Tegn figur.
6. Diskuter sammenhengen mellom bygning og funksjon av de vevstypene du har funnet.



Flatesnitt av blad fra alpefiol

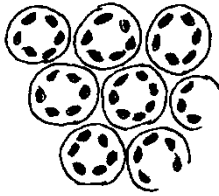
Huden på oversiden av bladet. Levende celler som ligger tett sammen. Cellene mangler klorofyll og er dekket av et vokslag.



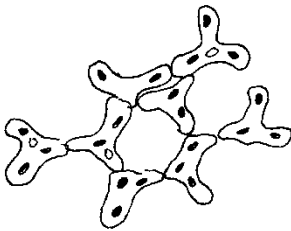
Assimilasjonsvev

1. Palisadevev. Levende sylinderformete celler som ligger tett sammen. Rikelig med kloroplaster.

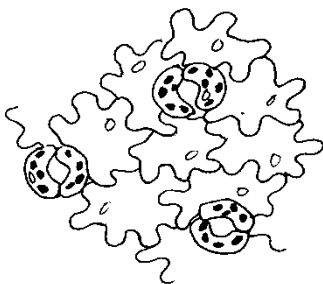
Kan du se en sammenheng mellom plassering og funksjon?



2. Svampvev. Levende celler med store luftrom innimellom. Forholdsvis få kloroplaster i hver celle.



3. Hudvev på undersiden. Spalteåpninger. Lukkecellene har klorofyll. Alle cellene er levende. Huden er dekket av et vokslag. Kan du se forandring på lukkecellen når preparater har ligget under sterkt lys en stund?



Ledningsvev A

Utstyr:

hvit nellik eller pinselilje, eller annen plante med hvit blomst

begerglass, 500 mL

rødt blekk, karminoppløsning eller konditorfarge

stereolupe

1. Lag en sterkt farget oppløsning av karmin, konditorfarge eller rødt blekk, og fyll opp et par cm i begerglasset.
2. Sett blomsten i begerglasset og skjær over stilken nede i oppløsningen. Du bør kutte av minst et par cm. Hvorfor skal du ikke snitte i luft?
3. Merk begerglasset og sett det bort til neste gang du har biologi.
4. Neste time: Skjær en skive av stengelen på tvers og studer snittflaten under lupe. Tegn figur og bruk fareblyanter.
5. Studer kronbladene med lupe, både på oversiden og undersiden. Tegn figurer av det du ser.

Ledningsvev B

Utstyr:

stangselleri, gulrot

skalpell, dråpeteller

dekkglass, objektglass

stereolupe/mikroskop

Skjær et snitt av selleristilken. Skjær på tvers av stilken og så tynt som mulig.

1. Legg snittet på et objektglass og studer det under lupen. Bruk gjennomfallende lys. Tegn et oversiktsbilde. Inne i grunnvevet finner du nervene med ledningsceller. Tegn dem inn. Du kan også finne styrkevev som skiller seg tydelig ut fra grunnvevet. Hvor kan du forvente å finne det?

2. Skjær flere nye tverrsnitt så tynne som mulig og lag mikroskoppreparat. Bruk 40x og 100x forstørrelse. På arket med figurer finner du de forskjellige celletypene i nervene. Kan du finne dem igjen i preparatet? Tegn dem inn slik du ser dem plassert i nervene. Hvilke oppgaver har disse cellene?
3. Gjør tilsvarende forsøk med gulrot. Bruk først lupe, så mikroskop. Hvor finner du ledningsceller her? Lag et tynt lengdesnitt også. Pass på at du tar det fra området med ledningsceller. Tegn figur.

Styrkevev

Utstyr:

stengel av brennesle

hammer

pinsett, pirkenål, dråpeteller

objektglass, dekkglass

stereolupe

mikroskop

1. Kutt 5–6 cm av stengelen og bank kraftig på den slik at den flises opp. Ta en liten flis og del den opp med skalpellen. Legg noen av småflisene på et objektglass og se på dem i gjennomfallende og påfallende lys under lupen. Tegn det du ser.

2. Lag et par mikroskoppreparater av slike tynne fliser. Bruk fliser fra ytre deler av stengelen. Styrkevevceller er døde celler med tykke vegger. Se om du kan finne dem, og tegn det du ser. Hva er styrkevevets oppgave?

Cellene ødelegges ved koking

Utstyr:

rødbete

2 poteter

2 kokekar

2 kokeplater

2 glasskåler med vann

2 reagensrør

jodløsning

merketusj

dråpeteller

kniv

1. Skjær to jevntynke skiver av en rødbete. Begge skivene skylles godt i kaldt vann. Den ene skiven legges i en glasskål, godt dekket av vann, mens den andre kokes et par minutter i vann. Den kokte skiven skylles godt før den legges i den andre skålen. La skålene stå litt før du tegner og beskriver det du ser. Kan du forklare det?

2. Vask den ene poteten godt og kok den med skallet på. Denne poteten må ikke ha sår eller skader i skallet. Skrell den andre poteten og kok den i et annet kokekar. Bruk ikke mer vann enn at det akkurat dekker potetene. Merk to reagensrør A og B. Reagensrør A fylles halvt med vannet etter poteten uten skall. Reagensrør B fylles halvt med vannet etter poteten med skall. Ha et par dråper jodløsning i begge reagensrørene. Tegn figur og forklar det du ser.

Til lærer: Rødbeten må være frisk og hard! Hvis den er myk og litt vissen, holder ikke cellene i den rå skiven så godt på celsafta. Når rødbeten kokes, koagulerer plasmaet i cellene samtidig som celleveggene sprenges. De ødelagte celleveggene gjør den lettere fordøyelig samtidig som celsafta slipper ut i kokevannet. Fargestoffet i rødbeten skifter i sur og basisk oppløsning: fiolett i sur, rød i nøytral og gul i basisk oppløsning. Dette er et artig åpent forsøk du kan prøve på elevene. Rødbetesaften blir meget sterk. Den bør fortynnes hvis en skal prøve med tilsetning av

syre og base. Og husk, rødbetsaft og saft fra rødkål gir ikke samme fargereaksjon i sur og basisk oppløsning.

Potetskall består delvis av døde celler som inneholder korkstoffer, og dette skallet holder tett selv under koking. Dette forsøket er en fin demonstrasjon av hvorfor poteter bør kokes med skallet på!

Stivelse som opplagsnæring

Utstyr:

stereolupe/mikroskop

objektglass, dekkglass, skalpell

dråpeteller, jodløsning

potet

hestebønner (bondebønner), svellede og spirte

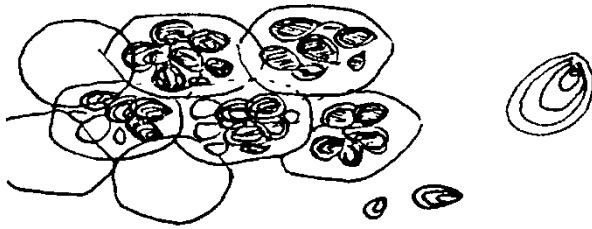
1. Skjær en tynn skive av en potet. Skyll godt i rennende vann og tørk snittflaten med filtrerpapir. Sett litt jodløsning til snittflaten. Legg skiven under stereolupen og se på snittet i påfallende lys. Med 20x og 40x forstørrelse skal du tydelig kunne se celleveggene i de overskårne cellene, og stivelseskornene som er klumpet sammen i de hele cellene.

2. Lag et mikroskoppreparat: Skrap forsiktig med skalpellen på snittflaten av en rå potet, og legg litt av massen i en dråpe vann på et objektglass. Du skal ikke skjære snitt! Blend godt av og se på finstrukturen i stivelseskornene med største forstørrelse. Denne formen og strukturen er karakteristisk for potetstivelse. Sett et par dråper jodløsning til ved kanten av dekkglasset og trekk den inn i preparatet ved hjelp av et filtrerpapir. Tegn det du ser. Bruk fargeblyant.

3. Kløv forsiktig de svellede bønnene. Sett jodløsning til spalteflaten, og se på den med stereolupe i påfallende lys. Tegn og sett navn på det du ser. Plukk ut noen av de spirte bønnene. Noter hvor mye de har spirt, og undersøk på samme måte hvordan det går med stivelseskornene etter hvert som bønnene spirer.

Bønnene legges i bløt i ett døgn. Bønnene som settes til spiring, bør først ligge ca. 15 min i 10 % klorin for å hemme soppvekst. Det samme gjelder papiret hvis du setter dem i papir. Ulempene med papir fremfor jord er at papir er utsatt for sopp, og det tørker lettere ut. For å få differensiert spiringen, kan du sette bønnene i forskjellige temperaturer, hvis du ikke vil sette dem til forskjellig tid. Spirende frø inneholder enzymer som spalter stivelse. Både hos potet og

hestebønner er cellene så store at vi tydelig kan se dem med en vanlig stereolupe som forstørrer mellom 20x og 40x.



Stivelseskornene hos potet
ser ut som små blåskjell

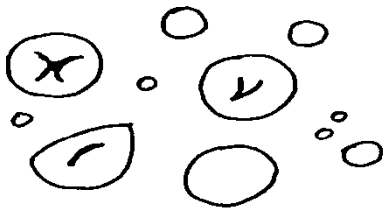


Avlange celler pakket tett med
stivelseskorn hos Valsk bønne

Sagomel blir ofte forfalsket med potetstivelse, men en prøve under mikroskopet avslører dette.

Sagostivelseskornene har små utvekster og er ovale.

Elevene kan også lage mikroskopiske preparater av finsiktet mel, f.eks. havre, rug, hvete. En kan da se at kornslagene har stivelseskorn med forskjellig form og størrelse.



Rug (med tørkesprekker)



Havre

Fargestoffer i klorofyll- og fargekorn (fettløselige)

Utstyr:

blad av vasspest, *Elodea* (eller fagermose)

rød og grønn paprika (eller moden og umoden tomat)

pinsett, skalpell, dråpeteller

objekt- og dekkglass

nikotinekstrakt (2x bleiesnus legges overnatt i 10 ml 30% Et-OH)

mikroskop

1. Legg et blad av vasspest i en vanddråpe på et objektglass. Legg et dekkglass over. Bruk 100x og 400x forstørrelse. Tegn 5–6 celler. Fargestoffet i de grønne kornene er klorofyll. Hvilken oppgave har det? Selve kornene heter klorofyllkorn eller kloroplaster. Kornene ligger i cellens plasma, som er i stadige strømninger. Kan du se om kornene beveger seg? Tilsett en dråpe nikotinekstrakt mens bladet ligger på mikroskopet. Hva skjer? Hvorfor?

2. Skjær et tynnest mulig snitt fra overflaten av grønn paprika og lag et vannpreparat av det. Det er ikke så lett å få snittet tynt, men se i kanten av snittet. Her finner du trolig enkeltceller med klorofyllkorn. Tegn figur.

3. Lag et tilsvarende snitt av rød paprika. Ser du noen av de grønne kornene nå? Beskriv det du ser, og tegn figur. Fargestoffene i de røde kornene (karoten og xantofyll) er de samme som gir farge til bl.a. nyper, tomater, gulrot, aprikos og gule blader om høsten. Hvordan kan du teste om disse fargestoffene er løselige i vann? Er det nok å legge frukten i vann?

Fordelen ved å bruke vasspest er at den har så tynne blader at det er lett å se plasmastrømninger. Klorofyll- og fargekorn ligger i cellens plasma, ikke i cellesaften. Når vi ødelegger membraner og cellevegger ved koking, er det lett å se om fargestoffet som frigis, er løselig i vann (jf. koking av rødkål). Fargestoffene i kloroplaster er fettløselige og må dermed trekkes ut med alkohol eller aceton. Fargestoffene kan så skilles fra hverandre via kromatografi, eller de kan løses i en løsning og sjekkes med deres absorpsjonsspektra i et spektrofotometer.

Fargestoffer i cellesaft (vannløselige)

Utstyr:

rødkål

1M HCl

1 perle krystall NaOH i 100 mL vann

krystallsoda, eddik, sitrønsaft

store petriskåler

3 reagensrør i stativ

dråpeteller, pinsett, skalpell

kokeplate og kasserolle eller gassbrenner, stativ og stort begerglass

merketusj

objektglass, dekkglass

mikroskop

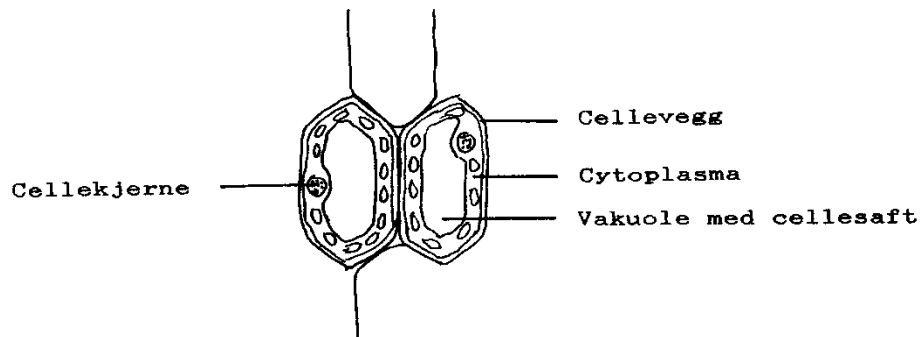
Prøv stoffer som er vanlige i husholdningen: C-vitamin, soda, salmiakk, vaskepulver og kanskje Zalo. Slike forsøk kan også gjøres med hibiskuste, blåbær eller kirsebærsaft.

1. Riv noen blad av rødkålen, skjær dem i strimler og kok dem i vann til du har fått en kraftig farget oppløsning. NB: spar noen friske blad til neste punkt. Mens du venter, gjør du punkt 2.

2. Lag et mikroskopisk vannpreparat fra huden av et rødkålblad: Riss forsiktig et kryss i den fargede overhuden. Ta tak i en spiss med pinsetten og trekk huden av. Legg flaket i en dråpe vann på objektglasset. Pass på at oversiden av huden ligger opp. Legg dekkglasset over og se på preparatet i mikroskopet (100x og 400x). Er fargestoffet bundet til fargekorn eller løst i cellesaften? Tegn figur.

3. Fyll tre reagensglass halvt med den kokte rødkålsaften. Merk glassene A, B og C. Tilsett HCl i rør A og NaOH i rør C. Behold B som kontroll. Tegn figur og bruk fargeblyanter.

4. Sett noen petriskåler på hvitt papir. Hell litt av rødkålsaften i skålen og legg i en sodaperle. Prøv med litt sitrønsaft eller eddik i. Kan du tenke deg andre husholdningsvarer det går an å prøve?



Mer om fargestoffer (Tabell)

<i>Fargestoffer</i>	<i>Farger</i>	<i>Forekomst</i>
Karotener (E160)	orange	Gulrot, aprikos, mais, safran, nyper, paprika
Lycopener	rød	Tomat, vnnmelon
Xantofyller	gul	sitrussaft
Klorofyller (E140)	grønn	Grønne plantedeler, umoden frukt
Anthocyaner (E163)*	Rød/blå/purpur	Rødkål, rødløk, solbær, kirsebær
Flavoner*	Hvit/gul	Poteter, eple
Tanniner*	Brun	Te, rødvin
Hemoglobin	Mørk rød	Oksygenfattig blod
Oksyhemoglobin	Lys rød	Oksygenrikt blod
Myoglobin	Purpur/rød	Oksygenfattig muskelveg
Oksymyoglobin	Lys rød	Oksygenrikt muskelveg
Curcumin (E100)	Gul	gurkemeie
Riboflavin (E101)		Vitamin B2, melk, egg

* Vannløselige fargestoffer, resten er fettløselige.

Mikroorganismer i vannkultur

Hvordan lage et preparat

Lag et mikroskoppreparat med en dråpe (20–50 μL) med ciliater fra kulturens overflatehinne.

Bruk et dekkglass oppå preparatet for å hindre uttørring.

Siden ciliater som oftest svømmer, anbefales et tynt lag med bomull på et objektglass før du tilsetter dråpen, eventuelt rester av det råtnende plantematerialet slik at dyrene beveger seg langsommere og blir lettere å studere. Studier av ciliater krever litt tålmodighet og stor forstørrelse (400x). De synes først som små lysende prikker, men hvis man retter oppmerksomheten på ett enkelt dyr, kan man se hvordan det beveger seg. Med god nedblending og skarp fokusering er det mulig å se både cellekjerne og næringsvakuolene som strømmer rundt i plasmaet.



Studier av mikroorganismer i vannkultur (næringsopptak, vannbalanse, taksier)

Utstyr:

vannkultur av store ciliater (f.eks. *Paramecium*)

kongorødt

0,1M HCl

kjøkkensalt

destillert vann

dråpeteller, pinsett, pirkenål

dekkglass, objektglass

mikroskop

1. Plasser en dråpe fra kulturens overflate på et objektglass. Stikk en pirkenål ned i glasset med kongorødt og ta med deg så mye farge at du såvidt kan se den på nålen (for mye farge dreper dyrene). Kongorødt er et indikatorfargestoff. Det er rødt i base og blått i syre. Følg en stor ciliat så godt du kan (det krever litt øvelse) og beskriv hvordan den tar inn «maten», og hva som skjer siden. Dersom du følger samme dyret i et par minutter, får du se hvordan det kvitter seg med avfallsstoffer. Hva tror du ciliatene har levd av i kulturen? Kanskje du ser det?

2. Behold objektglasset fra punkt 1. Plasser en dråpe 0,1M HCl ved kanten av dekkglasset. Dersom du har passe mengde med fargestoff, skal du nå kunne se et svakt fargeskifte der syren diffunderer inn. Bruk minste forstørrelse og studer dyrenes oppførsel i noen minutter. Tegn det du ser. På hvilken måte kan dette ha betydning for dyrenes evne til å overleve? Hvordan er denne oppførselen sammenliknet med reaksjonen når de støter mot et gresstrå? Slike reaksjoner (taksier) på stimuli fra omgivelsene, som f.eks. trykk og kjemiske stoffer, er vanlige hos dyr som ikke har noe utviklet nervesystem. Kan du tenke deg andre ting det kan være viktig å reagere på?

3. Dersom du har store ciliater i kulturen, kan du observere vakuolene som pumper vann ut av cellen. Den bakerste vakuolen er lettest å oppdage. Du må nok følge dyret i 1–2 min før du ser at den pumper. Hvor tror du vannet kommer fra? Kunne du gjøre noe slik at dyret ikke måtte pumpe så ofte? Og hva måtte til for at dyret skulle pumpe oftere?

Ved å plassere ciliatene i destillert vann er det mulig å observere økt pumpehastighet. Ved å tilsette en saltløsning kan man observere at pumpehastigheten avtar, men den saltløsningen må ikke være for sterk, da dyret vil miste vann og skrumpe inn. Dette kan observeres: Plasser 3–4 saltkrystaller ved siden av dråpen (her er det en fordel å ikke bruke dekkglass). Bruk minste forstørrelse og plasser objektglasset slik at du har både saltkrystallene og noe av kulturen i bildet. Skyv krystallene forsiktig inn mot dråpen med en pirkenål mens du studerer dyrene som kommer i nærheten av saltkrystallene.

Hvordan studere reproduksjon?

Dersom forholdene ligger til rette for det, er det mulig å se på celler som deler seg. Det beste er å isolere noen ciliater i en liten dråpe. Bruk gjerne en dråpeteller eller en glasspipette. På grunn av stor fare for fordampning, må dråpen dekkkes med olje. Det er mulig å bruke små rør hvor dere legger et lag med olje på toppen. Ciliatene vil dele seg dersom de trives. Ciliater deler seg på tvers. Siden konjugering skjer veldig tilfeldig, er det vanskelig å trigge denne aktiviteten. Men man kan oppfordre elevene til å se om de ser celler som ligger lenge ved siden av hverandre (langside mot langside), for da kan det være snakk om konjugering.

Hvordan studere bevegelse?

Når ciliatene er fanget i bomullsnettverket, vil cellen hele tiden støte mot fibre med forparten. Cellen vil dermed rygge, noe som er relativt lett å observere. Det er vanskelig å studere fluktreaksjonen, siden det mest sannsynlig ikke er predatorer i preparatet. Men dere har helt sikkert predatorer i kulturen. *Paramecium* har mange potensielle predatorer, som f.eks. hoppekreps, vannlopper og andre ciliater (eks. *Didinium*).

Hvordan studere opptak av næring?

Paramecium-celler er relativt ukritiske til hva de spiser. De selekterer ofte kun etter størrelse på partiklene. I dette forsøket «lurer» vi cellene til å tro at de spiser bakterier ved å tilsette det røde fargestoffet karmin. Cellene spiser karmin, og prosessen er lett å følge siden karmin er knallrødt. Karminpulver kan bestilles ved Sigma-Aldrich, og karminpulver har produktnummer C1022). For å lage en egnet karminløsning, tilsett 10 mg karminpulver til 10 mL vann. Det er viktig at konsentrasjonen ikke blir for høy, for da lar dyrene være å spise. Heller ikke bør konsentrasjonen av karmin være for lav, siden prosessen da blir for langsom.

Forslag til fremgangsmåte:

1. Ta et objektglass, og fordel et meget tynt lag med bomull oppå objektglasset.
2. Bruk en dråpeteller og sug opp en dråpe med celler.
3. Fordel dråpen med celler over bomullen på objektglasset.
4. Sett til en liten dråpe fargekornløsning.
5. Legg et dekkglass over.

6. Se raskt i mikroskopet. Studer et utvalgt dyr i 10 min.
Tegn dette dyret 1 min, 5 min og 10 min etter at dere satte til fargekornløsningen.
7. Beskriv prosessen dere har studert. Hvilken celleegenskap viser dette?

Hvordan studere osmoregulering?

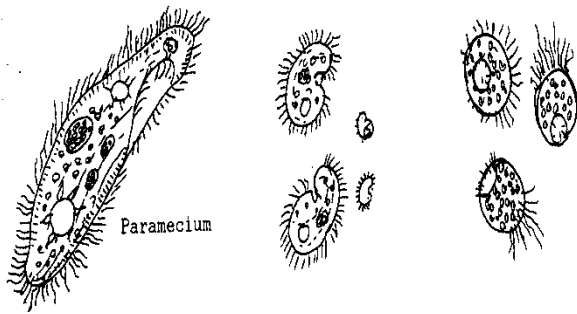
Det er viktig i dette forsøket å selekttere store ciliater (ca. 1 mm), helst store *Paramecium*-celler siden de har relativt store kontraktile vakuoler (ca. 50 μm). Normalt lever disse cellene i ferskvann, så de kontraktile vakuolene pulserer kontinuerlig. For å illustrere at behovet for å kvitte seg med vann gjenspeiles i aktiviteten til de kontraktile vakuolene, tilsettes en sorbitolløsning (36 mg sorbitol i 1 mL vann gir en 200 mM løsning, dvs. 200 mOsm). Sorbitol kan bestilles ved Sigma-Aldrich, og sorbitol har produktnummer S1876). Osmolariteten utenfor cellene vil da øke, og forskjellen mellom osmolaritet utenfor og inne i cellen reduseres. Vann vil derfor ikke i like stor grad diffundere inn i cellen. Mindre vann inn i cellen reduserer aktiviteten til de kontraktile vakuolene. De vil bli mindre, og tiden mellom pulseringene vil bli lengre.

Forslag til fremgangsmåte:

1. Ta et objektglass, og fordel et meget tynt lag med bomull oppå objektglasset.
2. Bruk en dråpeteller og sug opp en liten dråpe med celler (ca. 20 μL).
3. Fordel dråpen med celler over bomullen på objektglasset.
4. Legg et dekkglass over.
5. Finn et tøffeldyr som er fanget mellom bomullsfibrene, og se om du kan se en av de to kontraktile vakuolene.
6. Noter tiden mellom pulseringene og tegn et tøffeldyr med en kontraktil vakuole hvor størrelsen på den kontraktile vakuolen (maksimale) samsvarer med størrelsen på dyret.
7. Lag et nytt cellepreparat, men før dere legger på dekkglasset, tilsett en liten dråpe sorbitolløsning, evt. vann (ca. 20 μL).
8. Hva skjer med tiden mellom pulseringene og størrelsen på den kontraktile vakuolen?
Hvorfor?

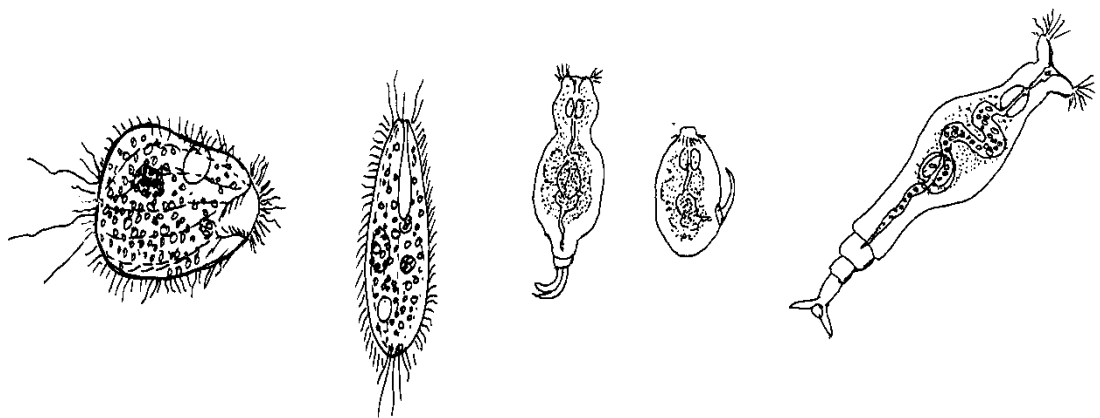
CILIATER

46

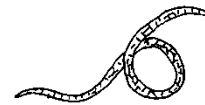


HJULDYR

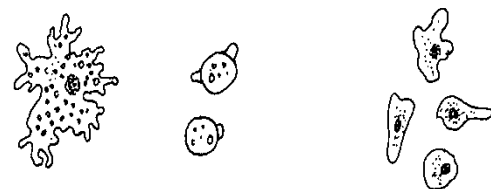
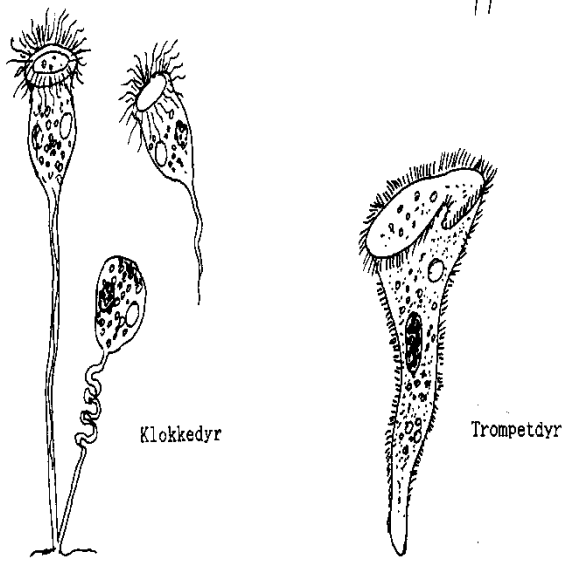
47



RONDORM



AMØBER



Mitose (squash-preparat av rotspiss)

Utstyr:

hestebønner (bondebønner)

10 mL dråpeflaske med 1M HCl

10 mL dråpeflaske med aceto-orceinoppløsning

liten porselensdigel (fingerbøltype)

skalpell, spiss pinsett

filtrerpapir

objektglass, dekkglass

mikroskop

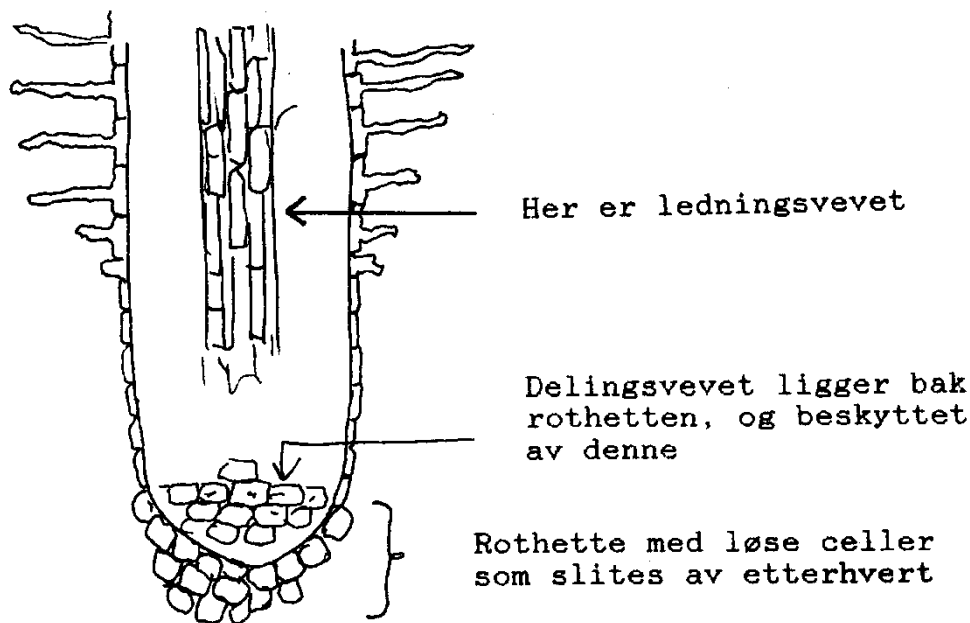
Forberedelse: Bønnene er satt til spiring 4–5 dager på forhånd. Legg bønnene i bløt i ett døgn. Skyll godt under rennende vann. Legg dem til spiring i et kar med mye filtrerpapir som er godt fuktet. På grunn av soppfaren lønner det seg ikke å ha mer enn to lag bønner over hverandre. Legg et lokk halvveis over karet slik at det ikke tørker ut for fort. Det er best å se til dem hver dag så de ikke tørker ut. Bønnene settes til spiring et mørkt sted ved romtemperatur. Etter 3–4 døgn skulle rotspissene være passe lange (et par cm). Ta bønnene ut i lyset et par timer før de skal brukes. Det kan lønne seg å lage noen bra preparater på forhånd. De holder seg i flere dager dersom de oppbevares i kjøleskap. Løkplanter som er i bra vekst om våren, kan også brukes, for eksempel tulipaner og krokus.

1. Velg en bønne med en oppsvulmet, gul rotspiss.
2. Skjær av 7–8 mm av den ytterste rotspissen og legg den i porselensdigelen. Drypp på 9 dråper aceto-orcein og 1 dråpe 1M HCl. NB: Pass øynene, det kan sprute.
3. Hold digelen med pinsetten og varm forsiktig til koking over en liten flamme.
4. Rotspissen legges på objektglasset.
5. Drypp på en dråpe aceto-orcein og legg på dekkglass.

6. Det er bare i det ytterste laget av rotspissen du finner celledeling (se figur). Bruk pinsett og skalpell og fjern forsiktig den hvite kjernen, ledningsvevet.

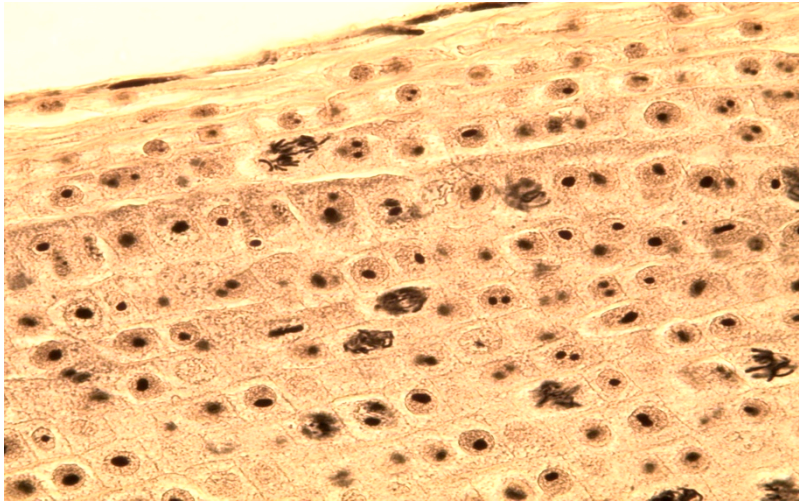
7. Legg preparatet med dekkglasset ned på filtrerpapiret og press hardt rett ned med tommelfingeren. Pass på at glasset ikke sklir.

8. Studer preparatet i mikroskopet. Kan du se kromosomer? Klarer du (med litt tålmodighet) å finne celler i deling? Dersom du har problemer med å se kromosomer, kan du forsiktig tilsette en dråpe farge ved kanten av dekkglasset.



For å studere mitose:

Legg en rotspiss på et objektglass og klem den flat. Ha en dråpe 45 % eddiksyre og 3–4 dråper aceto-orcein over den, og legg dekkglass på. Legg objektglasset på hodet mot et trekkpapir og klem godt med tommelfingeren slik at overflødig farge trekkes ut og cellene presses flate. La preparatet hvile i noen minutter før du ser på det i mikroskopet. Det kan ta litt tid å få konsentrert fargen til kromosomene.



Bildet viser ulike stadier av mitose i rotspiss.

For å studere meiose:

Legg en pollenknapp i en dråpe eddiksyre på et objektglass. Kutt av spissen på pollenknappen og klem ut innholdet med en pirkenål. Ha på farge og følg den øvrige prosedyren for mitosen.

Kromosomene er her så store at de er lette å telle. Hos firblad er kromosomtallet $2n = 20$, $n = 10$.

Firblad (*Paris quadrifolia*) er en relativt vanlig plante som spirer tidlig om våren. Planten kommer opp som en rull. Du kjenner en klump inni rullen dersom planten har haploide formeringsorganer, pollenknapp og fruktknute. Disse kan brukes til å studere meiose.

Det går an å fryse planten direkte dersom du ikke kan fikse den med det samme. Planten fikses ved å stå kaldt minst 2 timer i Carnoys løsning (etanol og eddiksyre i forholdet 3:1).

Dersom planten skal stå lenger enn et døgn, overføres den til 70 % sprit. Materialet blir stivt ved denne behandlingen, men det kan rettes på ved å ha det på eddiksyre rett før bruk.

Celledelingen i firbladpopulasjonen er synkron. Dersom noe av materialet oppbevares i romtemperatur og noe i kjøleskap, får en celledeling i forskjellige stadier. Slik kan en også få inntrykk av celledelingens hastighet.

Aceto-orcein: Resultatet blir best med DIFCO, orcein rød natural. Aceto-orcein-løsningen har begrenset holdbarhet, så det lønner seg å kjøpe orceinet i fast form. Løsningen lages ved å varme

opp 50 mL 45 % eddiksyre. Når syren nesten er på kokepunktet, tilsettes 1 g orcein. Oppløsningen ristes godt, avkjøles til romtemperatur og filtreres. Orceinet er tungt oppløselig, så det er en fordel med foldefilter. Løsningen filtreres 2–3 ganger før den er klar til bruk. Den ferdige løsningen holder seg minst i et år i kjøleskap, men den må filtreres før bruk. Orcein binder seg til DNA, slik at plasmaet blir bare svakt farget, mens kjerner og kromosomer farges sterkt røde.

Isolering av DNA

Utstyr:

2 mL engangsprøyte uten kanyle

lite begerglass (50 mL)

reagensrør, glasstav, sentrifugerør

melke (kan kjøpes fra for eksempel www.biokonsult.no)

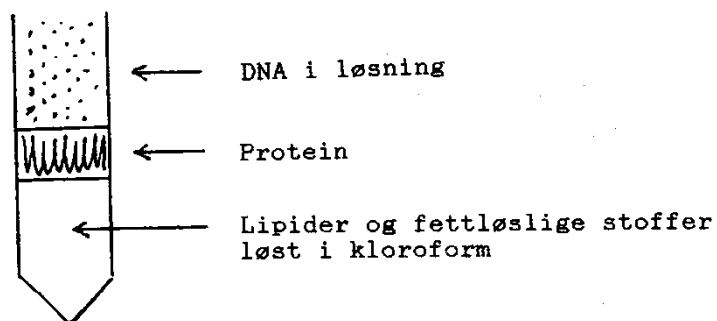
10 % Zalo, mettet NaCl-løsning

kloroform

absolutt alkohol, kokende vannbad

sentrifuge, hansker

1. Ta 0,5–1 mL melke i en 2 mL sprøyte uten kanyle. Unngå å ta med hinner fra melkeposen.
2. Press melken gjennom sprøyten 3–4 ganger.
3. Tilsett 10 mL vann og bland melken godt.
4. Tilsett 1 mL 10 % Zalo. Spermier løser seg nå opp, og du får en gelé av DNA og protein.
5. Tilsett 20 mL mettet NaCl-løsning og bland godt.
6. Ta ut 5 mL av denne løsningen og sett den i kokende vannbad i 5–10 min.
7. Løsningen kjøles og tilsettes 5 mL kloroform. Rist godt i 2–3 min. Bruk hansker.
8. Sentrifuger i 10 minutter.



9. Ta et reagensglass med alkohol og legg forsiktig en dråpe av DNA-løsningen i overflaten. DNA-et felles ut som fibre. Tvinn DNA-fibrene opp på en glasstav.
- OBS: Ikke kast kloroformen i vasken etterpå. Følg lærerens instruksjoner.

Vi tar utgangspunkt i et materiale med ekstra stort DNA innhold, og spermier egner seg bra. Vi bruker melke fra fisk. Melken kan gjerne oppbevares frossen og holder seg i flere år. Prinsippet for øvelsen er å skille oppløst DNA fra proteiner og fett, som utgjør de andre hovedkomponentene av organisk materiale i melken. Proteinene felles og denatureres ved utsalting og varmebehandling, mens fettstoffene løses i kloroform. Etter sentrifugeringen får vi så en klar vandig løsning, som i tillegg til salter også inneholder det løste DNA. DNA-et felles så ut i absolutt alkohol. Vi kan også bruke rødsprit. Vi bør ha tynne, høye reagensrør med sprit, slik at DNA-dråpene får en lang vei å «falle» ned gjennom røret. Dette gjør at vi tydelig ser den trådaktige utfellingen.

Flere lag kan samarbeide om en stamløsning (til og med punkt 5). Det er viktig å bearbeide melken godt for at resultatet skal bli best mulig.

