

Versuch 1.1 – Köhlern des Mikroskopes

Um mit dem Mikroskop gute und richtige Beobachtungen erzielen zu können, müssen zunächst die einzelnen Bestandteile auf die Versuchssituation eingestellt werden. Dieser Vorgang, „Köhlern“ genannt, wurde in diesem Fall anhand eines menschlichen Haares durchgeführt.

Zu den Unterschieden bei geöffneter und geschlossener Aperturblende lässt sich feststellen, dass eine geschlossene Blende der Kontrasterhöhung dient, jedoch gleichsam die Lichtstärke verringert. Eine größere Helligkeit, jedoch geringere Kontrastierung lässt sich mit geöffneter Blende feststellen.

Versuch 1.2 – Vermessen von Hefezellen und Säugetierzellen

Einleitung

Verschiedene Zellen können sich in ihren Abmessungen mitunter stark unterscheiden. In diesem Versuch sollen Zellen vermessen und miteinander verglichen werden.

Durchführung

Untersucht wurde ein Präparat, welches sich aus folgenden Suspensionen zusammen setzte:

- 10 µl Hefezellen
- 10 µl Hybridomzellen (THP 1)
- 10 µl Magnetkügelchen

Der Durchmesser eines solchen Magnetkügelchens betrug 2,8 µm. Um die Zellen nun vermessen zu können, wurden die Kügelchen mit einem Magneten ausgerichtet. Damit war es möglich den ungefähren Durchmesser einer Zelle als Vielfaches von 2,8 µm zu bestimmen.

Ergebnisse

Die zwei Zelltypen ließen sich deutlich erkennen, wobei die großen Hybridomzellen einen Durchmesser von ca. fünf Magnetkügelchen und die Hefezellen einen Durchmesser von zwei Kügelchen hatten.

	<i>Oberfläche</i> μm^2	<i>Volumen</i> μm^3	<i>Oberfläche</i> m^2	<i>Volumen</i> m^3	<i>Verhältnis</i> <i>Obfl : Vol</i>
<i>Bakterie</i>	1,96	0,196	$1,96 \times 10^{-12}$	$0,19 \times 10^{-18}$	10
<i>Hefezelle</i>	98,5	92,0	$98,5 \times 10^{-12}$	$92,0 \times 10^{-18}$	1,07
<i>Hybridomzelle</i>	615,75	1436,76	$615,75 \times 10^{-12}$	$1436,76 \times 10^{-18}$	0,43

Das Volumenverhältnis Bakterie : Hefezelle : Hybridomzelle ergibt sich als 1 : 469 : 7330

Diskussion

Die Zusammensetzung des Inkubationspuffers ist an die des Zellplasmas angepasst. Ist die

Oberfläche im Verhältnis zum Volumen relativ groß, so kann die Zelle effektiver Stoffe mit ihrer Umgebung austauschen. Diese Tatsache ist vor allem für Zellen im Darm und in Drüsen wichtig. Soll eine größere Oberfläche erreicht werden, so kann dies durch eine zylindrische Form, sowie Einfaltungen in der Zellmembran geschehen.

Versuch 1.3 – Untersuchung intrazellulärer Kompartimente, Anfärbung von Lysosomen

Einleitung

Zellen und ihre Organellen können eingefärbt werden um Beobachtungen unter dem Mikroskop zu erleichtern. Hierbei werden die unterschiedlichen chemischen Eigenschaften der Zellorganellen genutzt, da Farbstoffe spezifisch auf bestimmte Bestandteile wirken können.

Durchführung

Auf einen Objektträger mit Angewachsenen Lysosomen wurde der Farbstoff Neutralrot gegeben. Während der Farbstoff aufgenommen werden konnte befand sich der Objektträger in einer abgedeckten Petrischale. Das Präparat wurde dann unter dem Mikroskop betrachtet und ein Vergleichstest mit 10 µl Neutralrot in verschiedenen Pufferlösungen durchgeführt.

Ergebnisse

Folgende Skizze einer Zelle ergibt sich nach Betrachtung unter dem Mikroskop:

Die Pufferlösungen wurden durch das Neutralrot wie folgt gefärbt:

Puffer	Farbe
sauer	pink
neutral	rosa
basisch	gelb

Diskussion

Durch den Vergleichstest mit dem Pufferlösungen lässt sich feststellen, dass in den Lysosomen der Zelle ein neutrales bis leicht saures Milieu vorkommt. In einigen Zellen ließ die Verteilung der Lysosomen darauf schließen dass diese sich um den Zellkern anordnen.

Die Organisation der Zelle in Organellen bringt Vorteile für alle in der Zelle ablaufenden Reaktionen mit sich. So lassen sich Reaktionsabhängig die beeinflussenden Faktoren wie pH-Wert oder Konzentration bestimmter Stoffe bestmöglich in einzelnen Reaktionsräumen einstellen. Einzelne Reaktionen können damit auch unbeeinflusst von anderen ablaufen.

Versuch 1.4 – Demonstrationsversuch: Färbung von Zellkernen mit Fluoreszenzfarbstoffen

Einleitung

Durch die Nutzung von Fluoreszenzfarbstoffen bietet sich der Vorteil einer höheren Empfindlichkeit, sowie der einfachen Unterscheidbarkeit mehrerer Farbstoffe durch spektral selektive Filter.

Durchführung

In einem Demonstrationsversuch wurden adhärente Zellkulturzellen mit dem DNA Farbstoff Hoechst 33342 für eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert.

Ergebnisse

Beim Betrachten durch ein entsprechendes Mikroskop waren die Zellkerne sowie die Membranen als grün-blau schimmernd zu erkennen.

Diskussion

Die Anfärbung der Zellen mit einem Farbstoff hat eine geringe Empfindlichkeit. Nach dem Lambert-Beerschen Gesetz ist die Absorption proportional zur Konzentration der Lösung und der Wellenlänge des Lichts durch die Farbstofflösung. Da der Weg durch das Präparat gering ist und die Lösung in kleiner Konzentration vorliegt, ist die Empfindlichkeit somit nur gering.