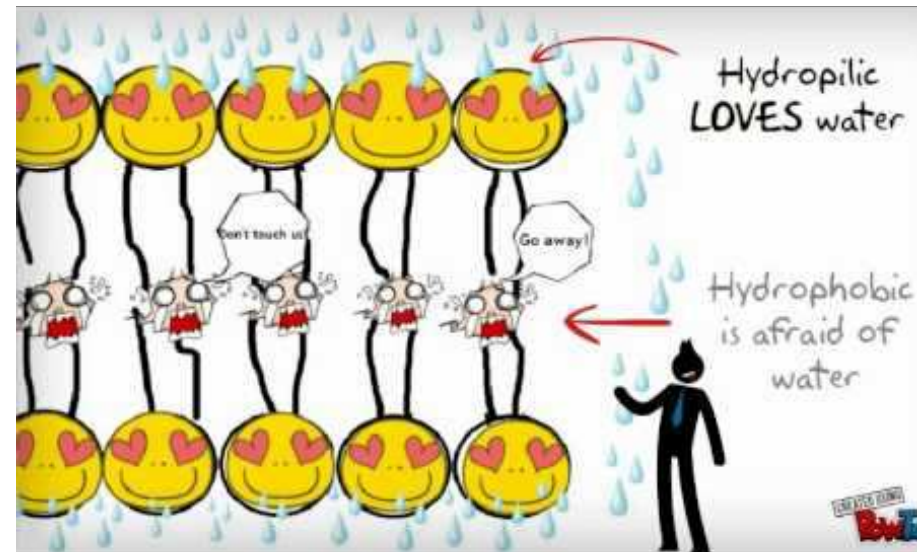
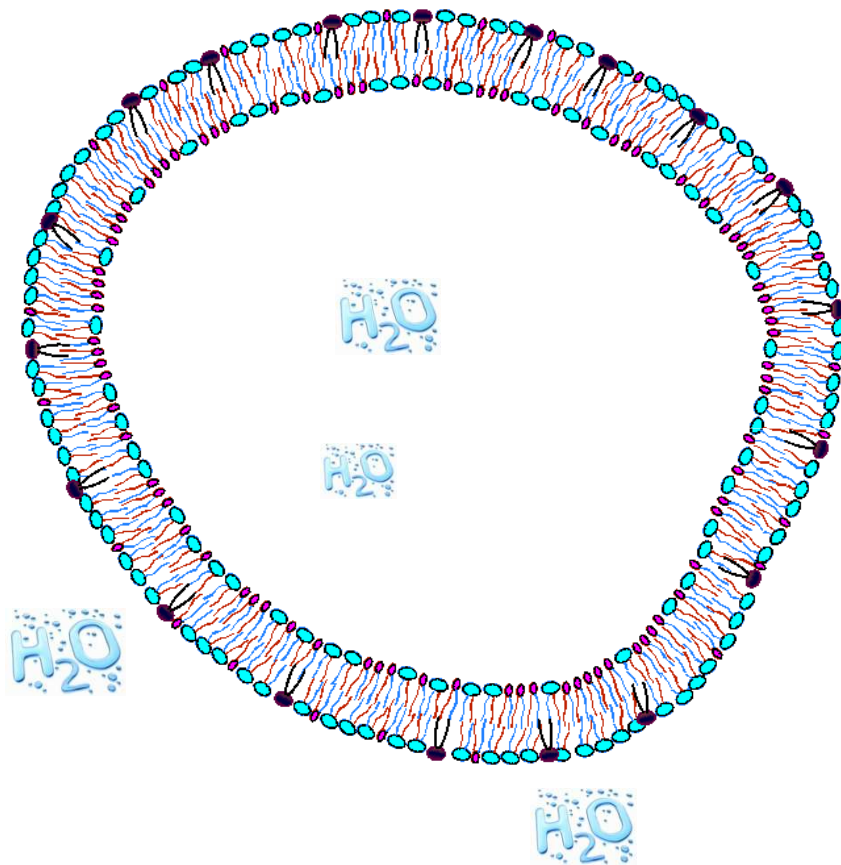


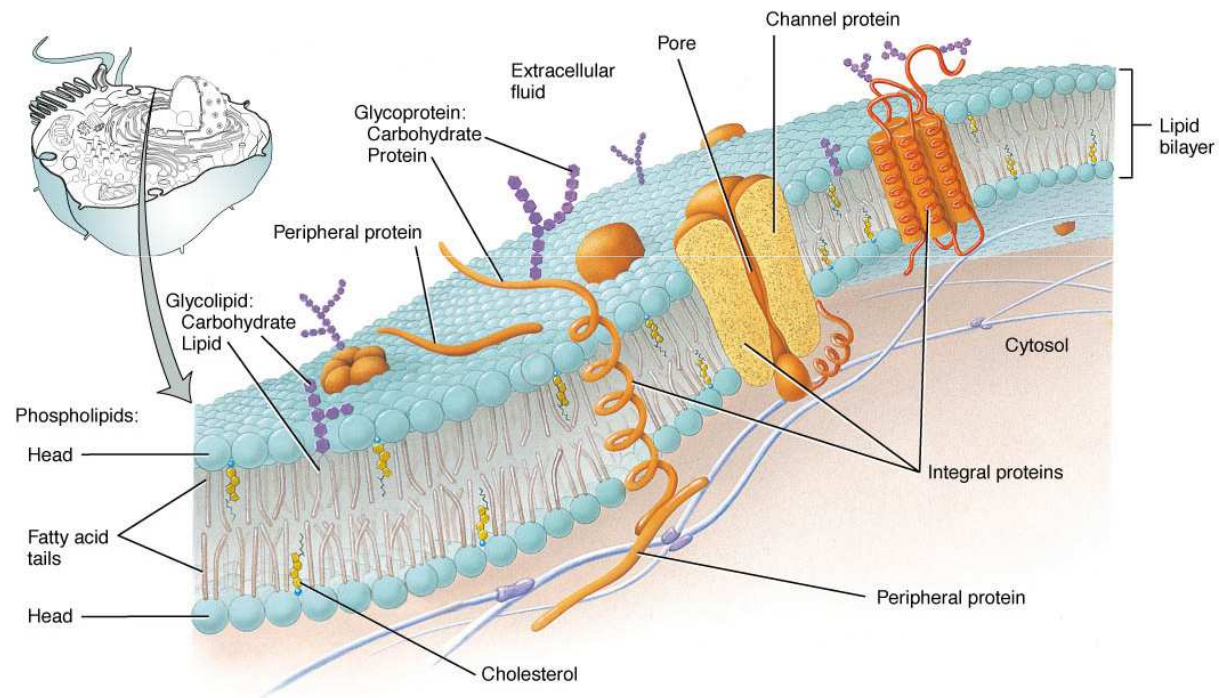
## ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΣΚΗΣΗ 5

### ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ



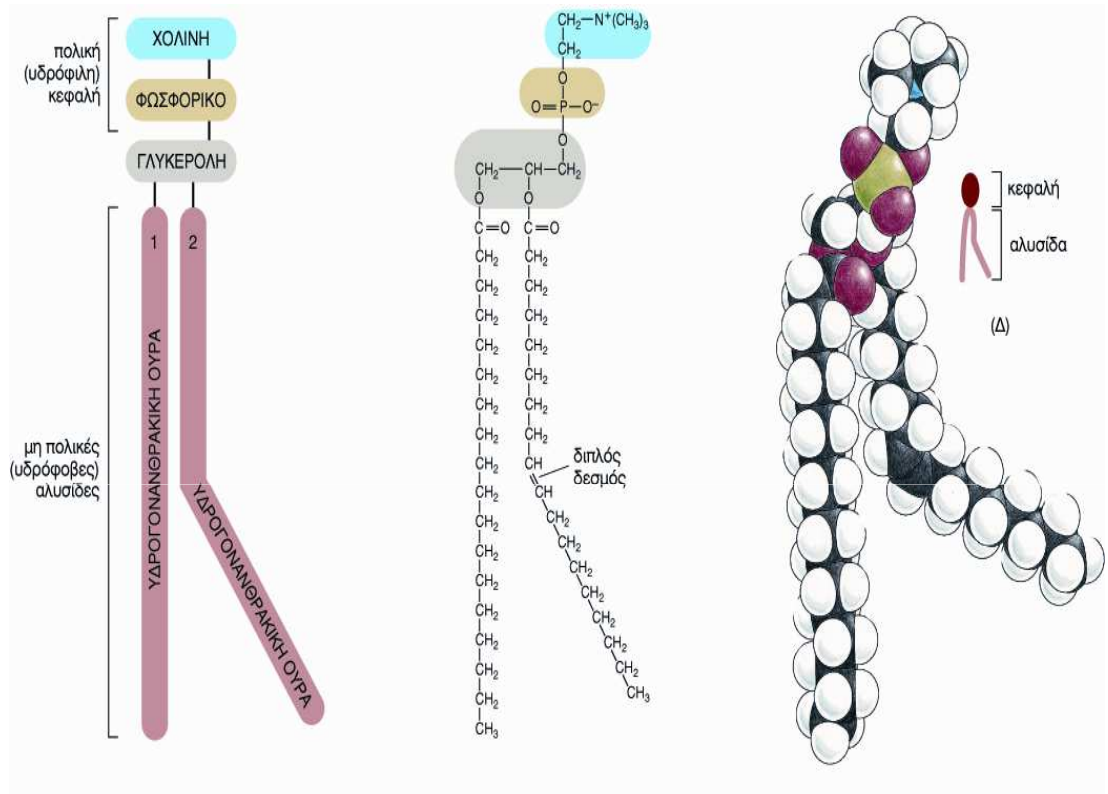
# Λιπιδιακή διπλοστοιβάδα

## Λιπίδια/Πρωτεΐνες/Υδατάνθρακες



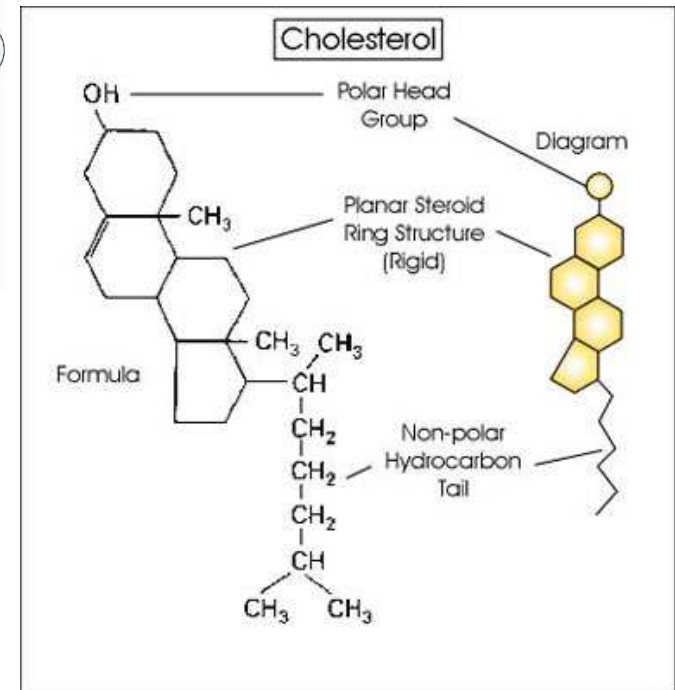
- Η μεμβράνη ανήκει σε φυτικό ή σε ζωικό κύτταρο;

# Φωσfolιπίδια

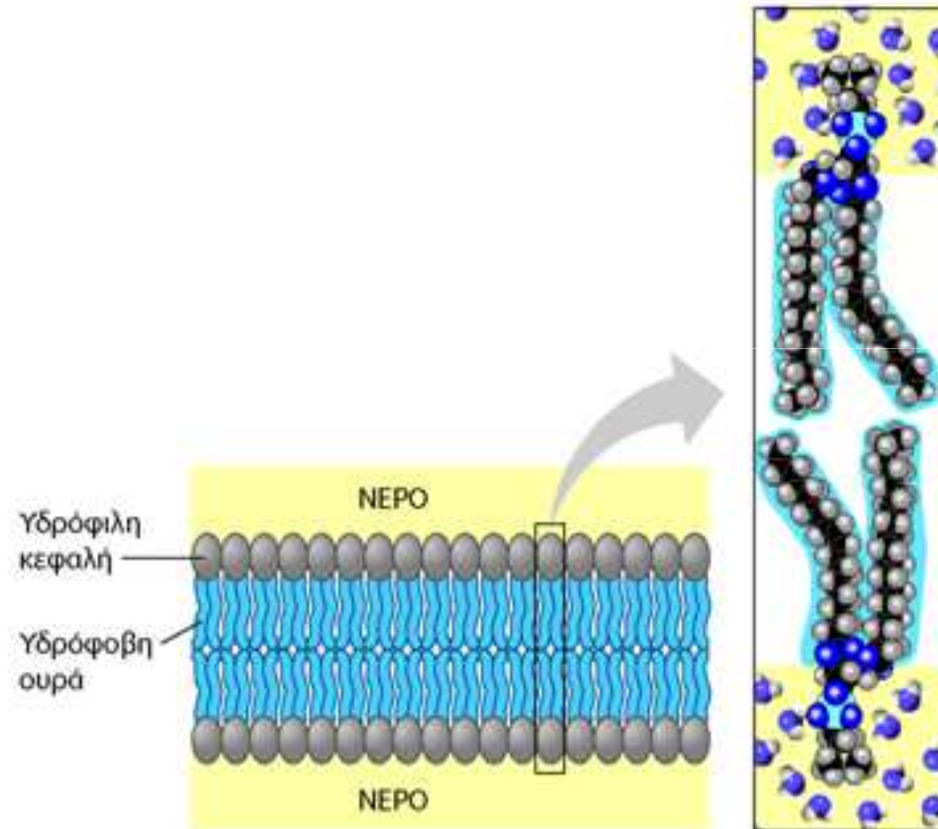


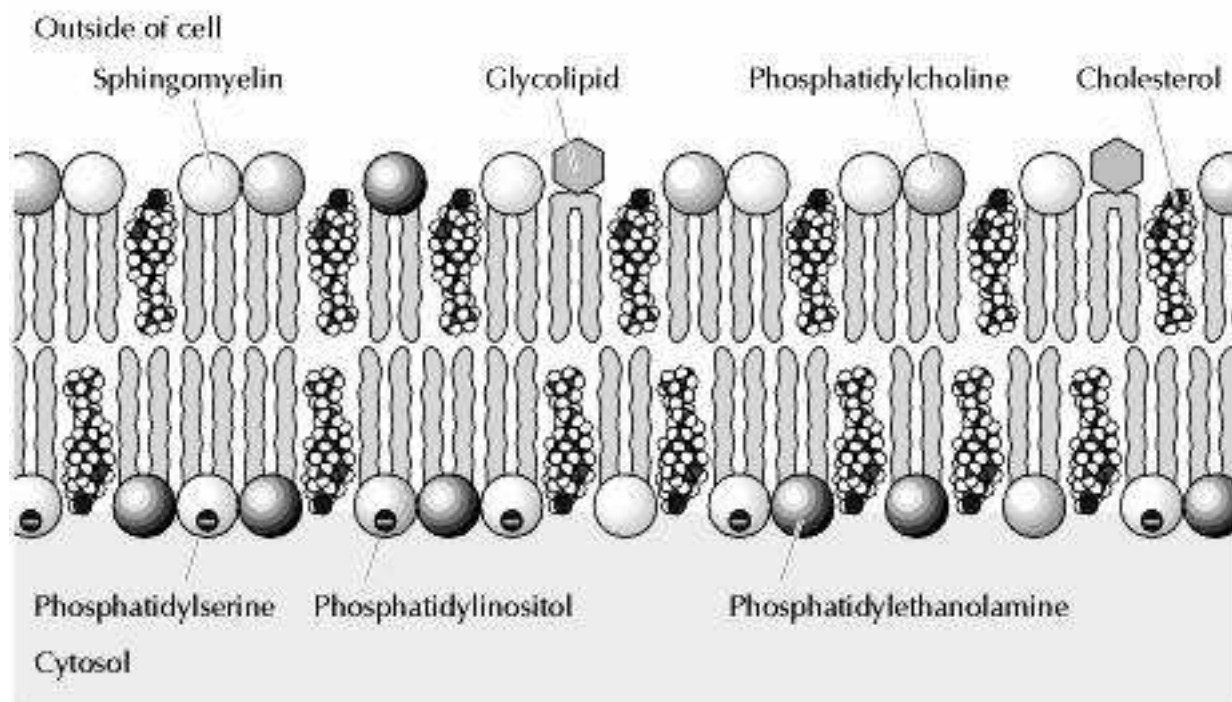
Κ.Βαρέλη ΒΕΤ

# Χοληστερόλη

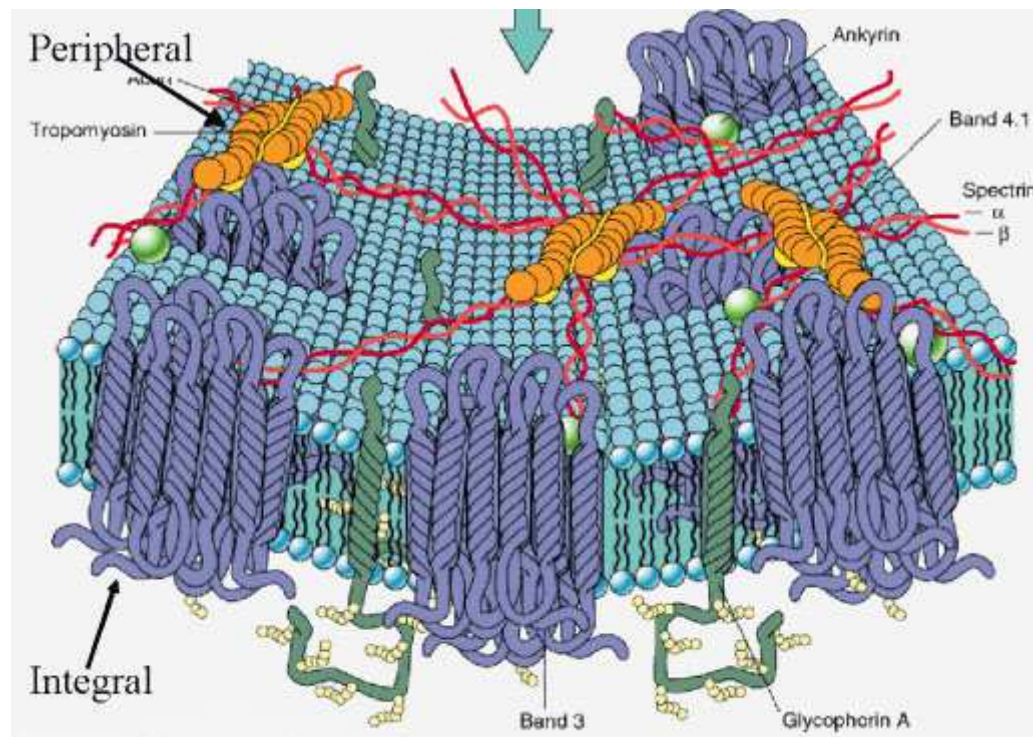


Ο αμφιπαθής χαρακτήρας των φωσfolιπιδίων είναι καθοριστικός παράγοντας για τη συγκρότηση των βιολογικών μεμβρανών



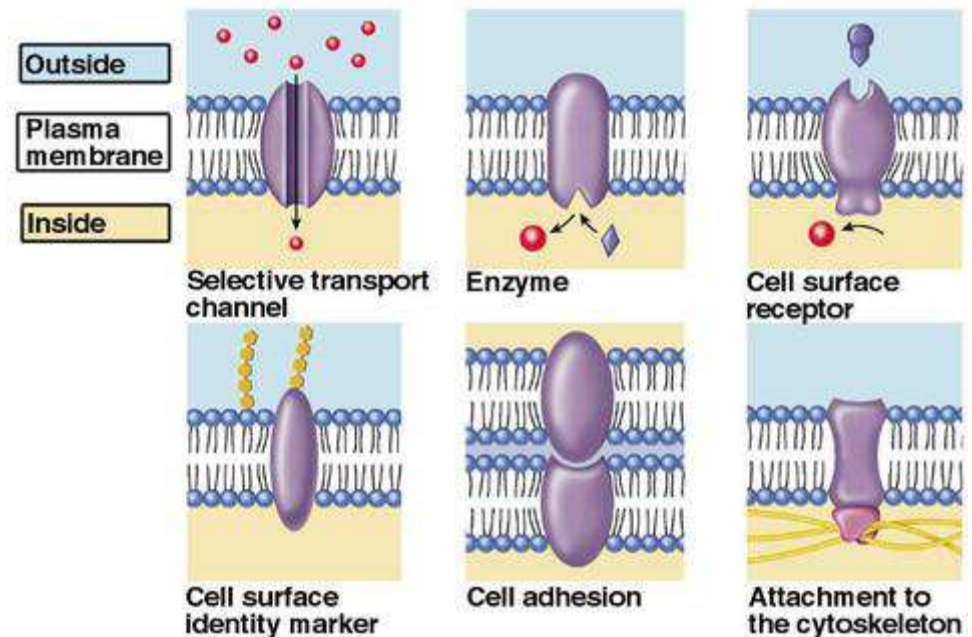


# Μεμβρανικές πρωτεΐνες. Τα κατεξοχήν λειτουργικά μέρη των μεμβρανών



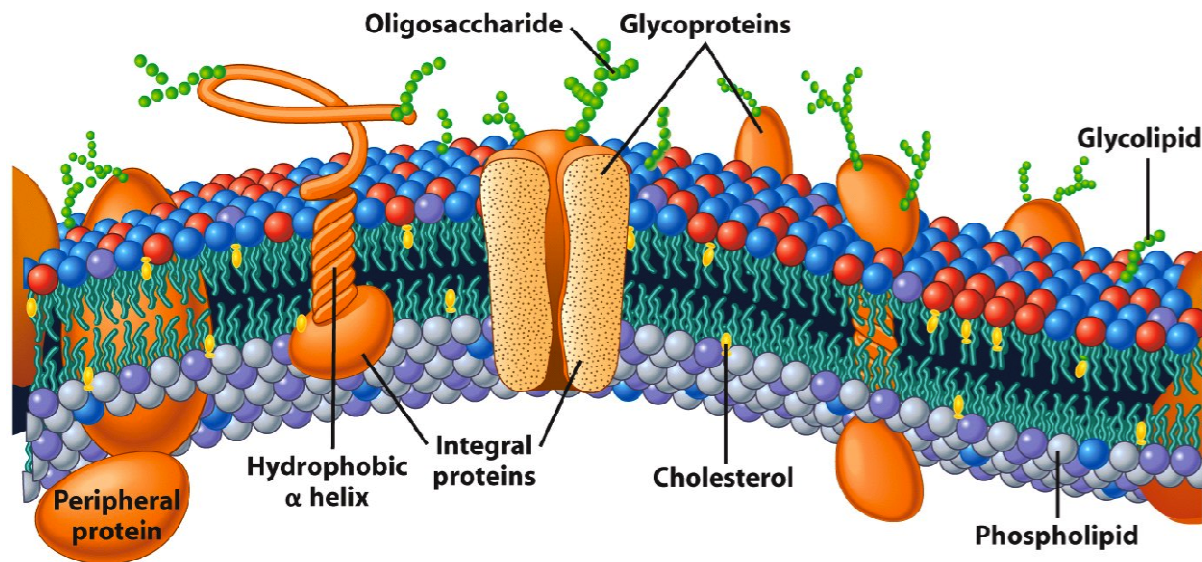
# Λειτουργίες μεμβρανικών πρωτεϊνών

- Μεταφορά ουσιών
- Ενζυμική λειτουργία
- Μεταγωγή σήματος
- Διακυτταρική αναγνώριση
- Διακυτταρική σύνδεση
- Προσκόλληση στον κυτταροσκελετό και την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία



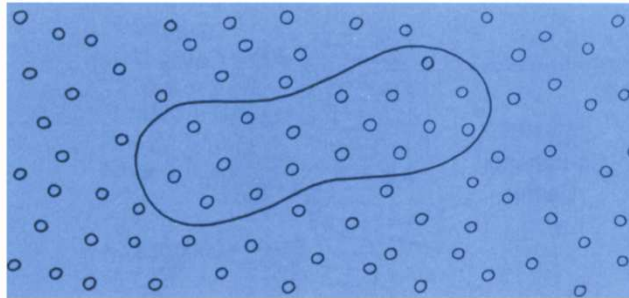


# Η συγκρότηση των μεμβρανών κλειδί για το λειτουργικό τους ρόλο.

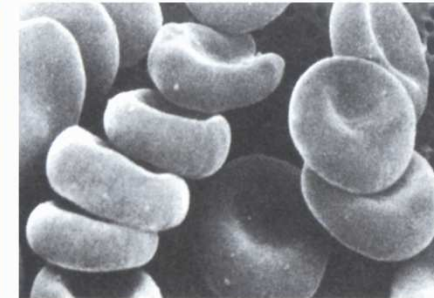


# Όσμωση

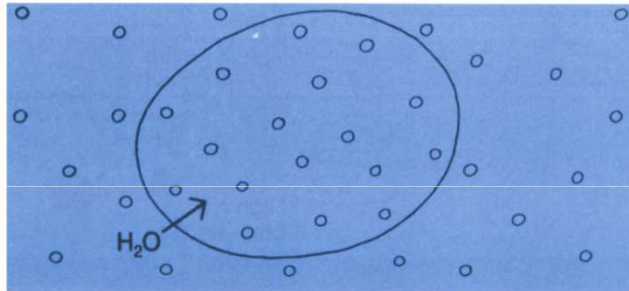
Η μετακίνηση του  $H_2O$  από μια περιοχή χαμηλής συγκέντρωσης μορίων (υψηλή συγκέντρωση  $H_2O$ ) σε μια περιοχή υψηλής συγκέντρωσης μορίων (χαμηλή συγκέντρωση νερού)



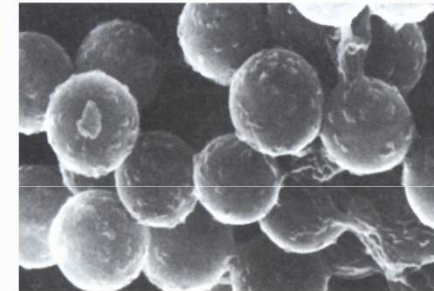
Ισότονο διάλυμα



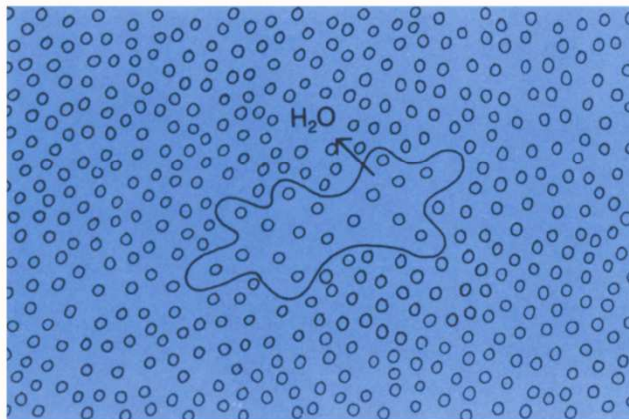
Ερυθροκύτταρα



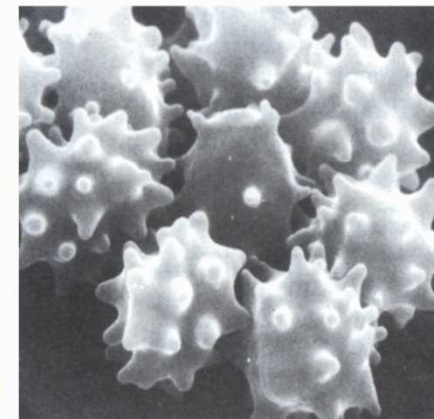
Υπότονο διάλυμα



Ερυθροκύτταρα διογκωμένα



Υπέροτονο διάλυμα



Ερυθροκύτταρα συρρικνωμένα

# Διαπερατότητα μεμβρανών

- Εκλεκτική διαπερατότητα που εξυπηρετεί την επικοινωνία του κυττάρου και βασίζεται στη βιοχημεία των μεμβρανών
- Μη πολικά, υδρόφοβα μόρια θα περάσουν με ευκολία τη λιπιδιακή διπλοστιβάδα (CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, υδρογονάνθρακες)
- Πολικά μόρια θα περάσουν με αργό ρυθμό (H<sub>2</sub>O)
- Φορτισμένα ιόντα δεν θα περάσουν, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>
- Μεταφορικές πρωτεΐνες απαραίτητες για την μεταφορά

## **Εργαστηριακό πρωτόκολλο**

A. Όσμωση και κυτταρικές μεμβράνες

B. Όσμωση στο φυτικό κύτταρο

### A. Όσμωση και κυτταρικές μεμβράνες

Γεμίστε τρεις μεμβράνες διαπίδυσης με 20ml διαλύματος 0,2M σουκρόζης, αφαιρέστε προσεκτικά τον αέρα και κλείστε τις αεροστεγώς.

Ζυγίστε κάθε μεμβράνη και σημειώστε την μέτρησή σας.

Τοποθετείστε

**α. μία μεμβράνη σε δοχείο που περιέχει απιονισμένο νερό,**

**β. μία σε διάλυμα που περιέχει 0.2M σουκρόζη και**

**γ. μία σε διάλυμα που περιέχει 0.4M σουκρόζη.**

Μετά από διάστημα 2 ωρών ανασύρατε μια μεμβράνη από κάθε ένα από τα τρία δοχεία σκουπίστε την περίσσεια διαλύματος που υπάρχει εξωτερικά και ζυγίστε. Σημειώστε την μέτρησή σας.

#### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

|                          | Αρχική μέτρηση βάρους γραμμάρια | Μετά από διαπίδυση 30min γραμμάρια |
|--------------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| Σε <b>H<sub>2</sub>O</b> |                                 |                                    |
| Μεμβράνη <b>1</b>        | <b>27</b>                       |                                    |
| Σε <b>0.2M σουκρόζη</b>  |                                 |                                    |
| Μεμβράνη <b>2</b>        | 32                              |                                    |
| Σε <b>0.4M σουκρόζη</b>  |                                 |                                    |
| Μεμβράνη <b>3</b>        | <b>17</b>                       |                                    |

Δικαιολογείστε την απάντησή σας

## **B. Όσμωση στο φυτικό κύτταρο**

Φτιάξτε δύο παρασκευάσματα επιδερμίδας βολβού κρεμμυδιού για παρατήρηση στο μικροσκόπιο.

Στο ένα χρησιμοποιείτε διάλυμα ισότονο με το κυτταρόπλασμα και στο δεύτερο διάλυμα 10% NaCl.

Παρατηρείστε στο μικροσκόπιο και σκιαγραφείτε στις σημειώσεις σας.

Εξηγείστε την εικόνα.;

Συμπληρώστε την λεζάντα στην εικόνα 11

### **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

**H<sub>2</sub>O**

**10%NaCl**

Δικαιολογείστε την απάντησή σας

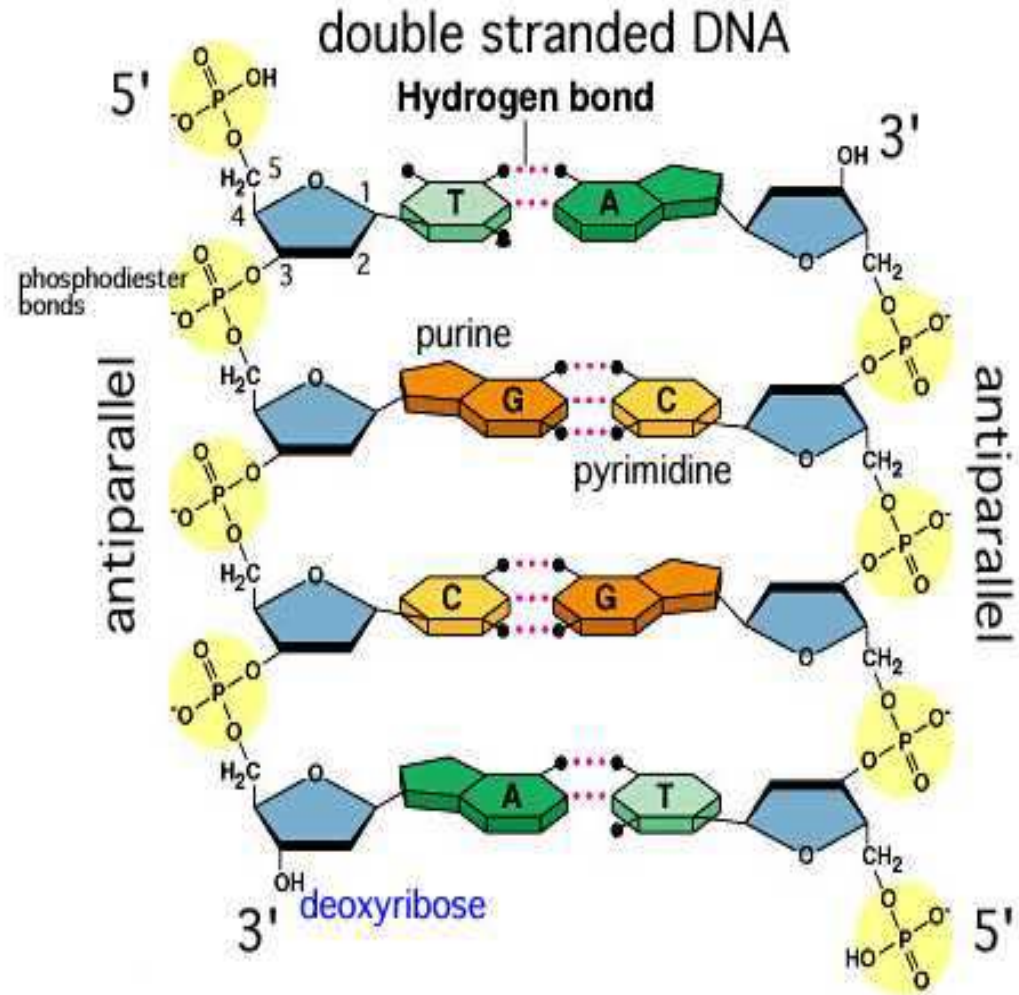
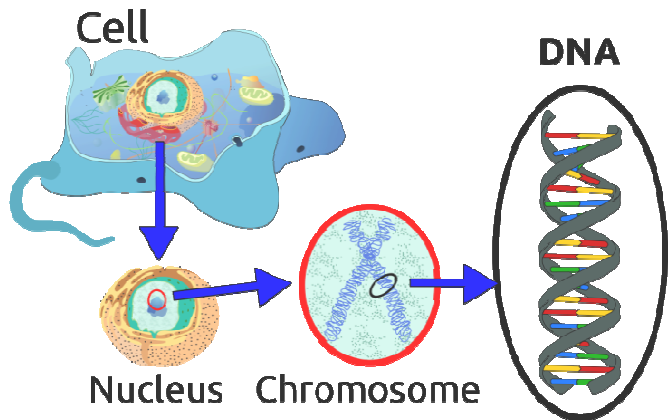
## ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΣΚΗΣΗ 6

### ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ DNA ΑΠΟ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ ΣΤΟΜΑΤΙΚΗΣ ΚΟΙΛΟΤΗΤΑΣ.



Our DNA makes the world go round

# Δομή DNA



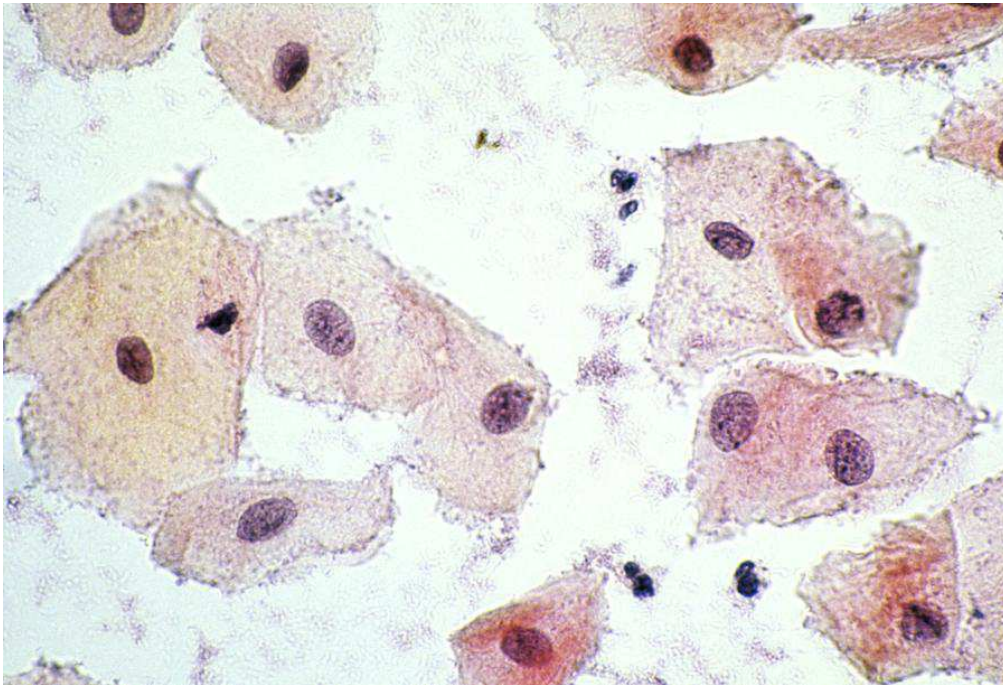


- Σκοπός της σημερινής άσκησης είναι να απομονώσετε το DNA από τα δικά σας κύτταρα. Τα κύτταρα που θα χρησιμοποιήσετε είναι επιθηλιακά κύτταρα από το εσωτερικό του στόματός σας. Πρόκειται για κύτταρα που πολλαπλασιάζονται με γοργό ρυθμό, έχουν μεγάλους ρυθμούς ανανέωσης, άρα η χρήση τους για την εργαστηριακή άσκηση δεν σας δημιουργεί οποιοδήποτε πρόβλημα.

Το πρωτόκολλο συνοπτικά περιλαμβάνει:

- α) τη συλλογή των κυττάρων σε νερό
- β) τη λύση των κυτταρικών μεμβρανών με τη χρησιμοποίηση του απορρυπαντικού SDS
- γ) την επίδραση πρωτεασών για την πέψη των πρωτεϊνών και την απελευθέρωση του DNA και
- δ) την προσθήκη αλάτων και παγωμένης αιθανόλης για την καταβύθιση του DNA

Επιθηλιακά κύτταρα που καλύπτουν την ανθρώπινη στοματική κοιλότητα,  
μετά από χρώση του DNA



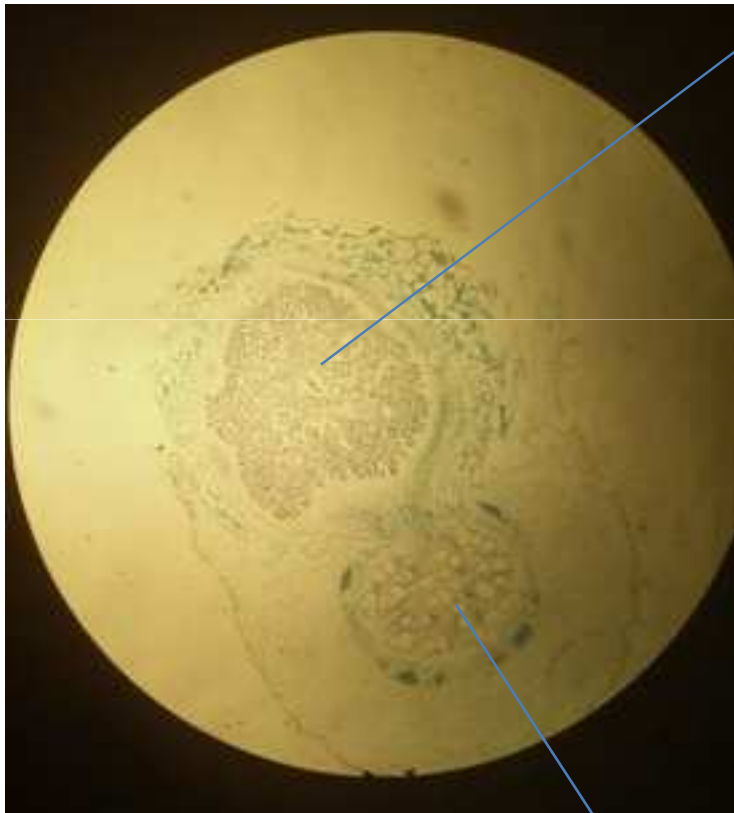
## Πειραματική πορεία

- Σημειώστε τα αρχικά σας στον αποστειρωμένο φυγοκεντρικό σωλήνα των 15ml και τοποθετήστε τον στο στατώ.
- Προσθέστε ποσότητα 3ml πόσιμου  $H_2O$  στο φυγοκεντρικό σωλήνα. Απαλά ξύστε το στόμα σας χρησιμοποιώντας τα δόντια και τη γλώσσα σας. Μεταφέρετε το νερό και ξεπλύνετε το στόμα σας για 30 sec. Είναι σημαντικό να εξαντλήσετε το χρόνο γιατί ο αριθμός των επιθηλιακών κυττάρων που θα αποσπαστούν είναι καθοριστικός για την ποσότητα του DNA που θα απομονώσετε. Μεταφέρετε το νερό (που περιέχει τα κύτταρά σας) με προσοχή πίσω στον φυγοκεντρικό σωλήνα.
- Προσθέστε 2ml lysis buffer (διάλυμα λύσης 50mM Tris, 1%SDS pH 8) στο σωλήνα σας. Κλείστε το σωλήνα και ανακινήστε τον 5 φορές σύμφωνα με τις οδηγίες που θα σας δοθούν.
- Προσθέστε στο κυτταρικό εκχύλισμα 400μl διαλύματος πρωτεάσης-αλάτων. Κλείστε το σωλήνα και ανακινήστε τον 5 φορές σύμφωνα με τις οδηγίες που θα σας δοθούν. Τοποθετείστε το σωλήνα σε υδατόλουτρο που έχει ρυθμιστεί στους 50°C και αφήστε τον για 10min.
- Προσθέστε 10 ml παγωμένη αιθανόλη (95%) με προσοχή χωρίς να την αναμίξετε με την υδατική φάση σύμφωνα με τις οδηγίες. Αφήστε τον σωλήνα στον πάγκο για 5 min. Τι παρατηρείτε στο σημείο επαφής των δύο φάσεων. Ανακινείτε απαλά το σωλήνα σας. Τα λεπτά διαφανή ή άσπρα νημάτια που παρατηρείτε είναι τα μόρια του δικού σας DNA.

- Συμπληρωματικές διαφάνειες της προηγούμενης άσκησης

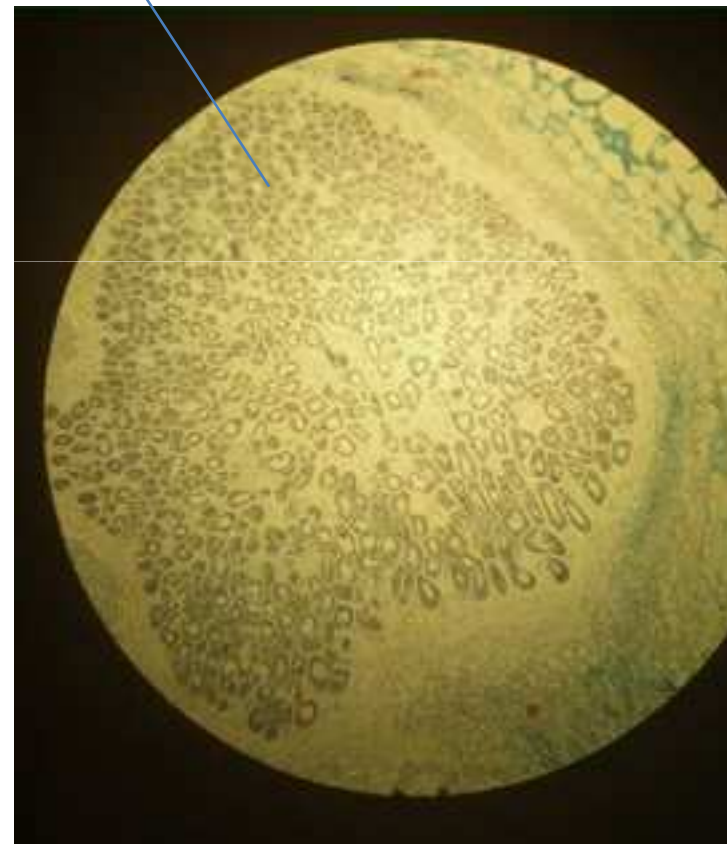
*Rhizobium* sp. Τομή ρίζας με φυμάτιο

4x



φυμάτιο

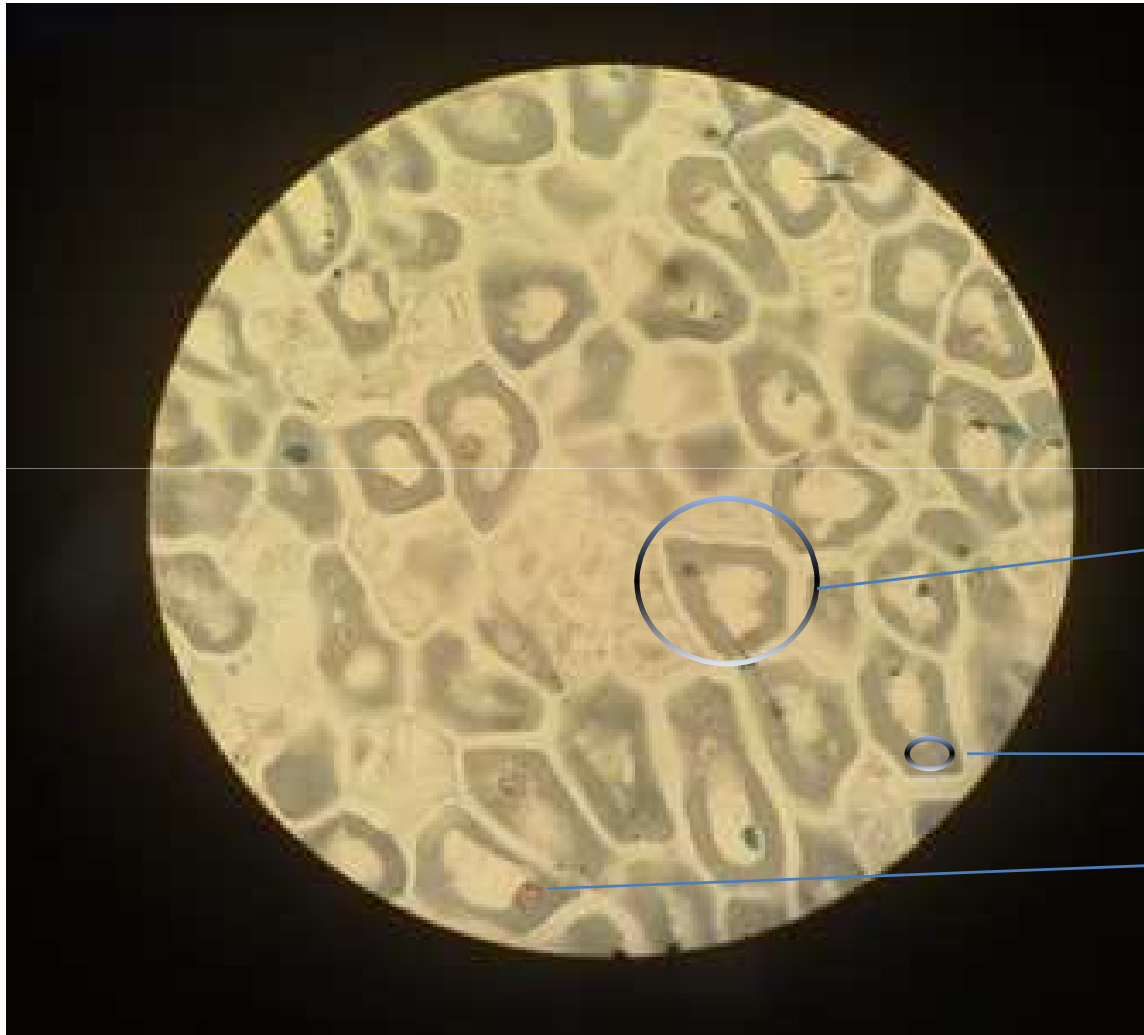
10x



Ρίζα

Κ.Βαρέλη BET

*Rhizobium* sp. σε φυμάτιο 40x



Κύτταρο  
ρίζας με  
συμβιωτικά  
βακτήρια

Βακτήρια

πυρήνας