

LABORATUVAR 4

PROKARYOT HÜCRELER

Prokaryotlar tek hücreli organizmalardır. Bu gruba, bakteriler, mavi-yeşil algler (Cyanobacteria), virüsler, viroidler, mikrop plazmalar girer. Prokaryotik hücreler ökaryotik hücrelerden esas olarak, kalıtım materyalinin bir zar ile çevrili olmaması ile ayrılırlar. Ayrıca sitoplazmada membranla çevrili organellerin olmaması bu iki tip hücre için önemli bir farklılıktır.

Bakterilerin etrafını çeviren protein, lipit ve polisakaritten oluşan hücre çeperinin görevi, hücrenin osmotik basınçtan dolayı parçalanmasını önlemek ve şeklinin korunmasını sağlamaktır. Hücre çeperinin altında lipoprotein yapıda plazma zarı bulunur. Seçici geçirgen özellikteki bu zar, içeriye doğru katlanmalar yaparak mezozom denilen ve üzerinde solunum enzimlerini içeren yapıyı meydana getirir. Kalıtım materyalini çift iplikli, çembersel, tek bir DNA molekülü oluşturur. Prokaryot kromozomu olarak da isimlendirilen kalıtım materyalinin sitoplazmada bulunduğu bölgeye nukleoid denir. Plasmidler küçük çembersel DNA molekülleridir. Prokaryotlar "binary fission" denilen ortadan ikiye bölünme ile çoğalırlar. Mavi-yeşil alglerin sitoplazmalarında bulunan membransız fotosentetik lamellerin görevi, kloroplastlardaki tilakoit membranların görevleriyle benzerlik gösterir.

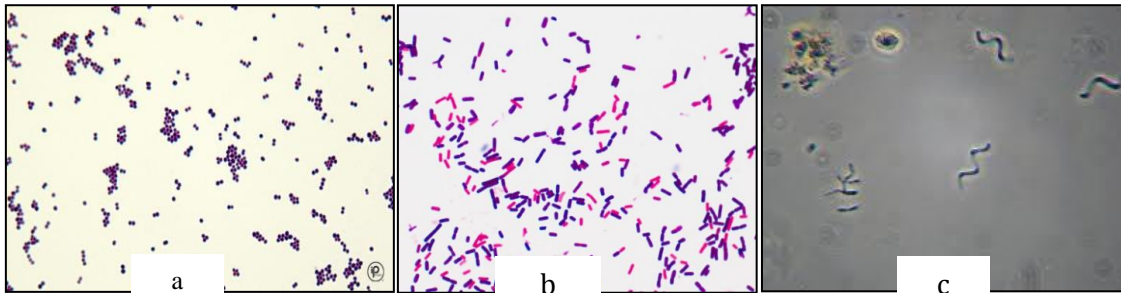
A. Bakteriler

Bakteriler şekillerine göre 3 gruba ayrılırlar:

1. Küresel bakteriler (Coccus): Küre şeklinde, tek hücreli (Micrococcus), iki hücreli (Diplococcus), uzun zincirler veya iplikler hâlinde (Streptococcus) veya üzüm salkımı (Staphylococcus) şeklinde olabilirler.

2. Çubuksu bakteriler (Bacillus): Enleri 0,3-1,5 μm , boyları 3-12 μm 'dur. Tek veya koloni hâlinde oluşlarına, spor taşıyıp taşımadıklarına göre tiplere ayrılırlar: Salmonella, Bacterium spor meydana getirmeyenlere, Bacillus, Clostridium spor meydana getirenlere, Leptothrix ipliksi olanlara, Haemophylus koloni oluşturanlara örnektir.

3. Kıvrık bakteriler (Spirillum): Spiral, burğu gibi kıvrık veya virgül şeklindedirler. Virgül şeklinde yani bir devirden az kıvrık olan Vibrio, kıvrılma sayısı birden çok olan Spirillum, spiral gibi kıvrık olan Troponema, yılankavi olan Borrelia örnek olarak verilebilir.



Şekil 4.1: Kok bakteriler (a), basil bakteriler (b), spiral bakteriler (c)

Laboratuvar Çalışması

Kültür Hazırlaması:

Basit kültür ortamlarının hazırlanması:

a. Yoğurt

1. Birkaç gün öncesinden oda sıcaklığında bırakılan yoğurttan bir miktar lam üzerine alınır ve su ile karıştırılır. Lam üzerinde ince bir tabaka hâlinde yayılır.
2. Daha sonra materyalin üzerini örtecek kadar kristal viyole boyası damlatılır ve birkaç dakika bekletilir.
3. Boya dökülür ve çeşme suyu ile yıkanır.
4. Lam üzerine Gram'ın iyot çözeltisi damlatılır ve birkaç dakika bekletilir.
5. Lam önce çeşme suyuyla sonra %95 etil alkolle yıkanır, boyanın rengi gidene kadar alkolle yıkamaya devam edilir.
6. Çeşme suyuyla son yıkamadan sonra preparatın üzerine zıt boya olan safranin konup 30-60 saniye bekletilir.
7. Boya dökülür, preparat çeşme suyunda yıkayıp kurutma kağıdı ile kurutulur. Sonra immersiyon yağı damlatılarak immersiyon objektifi ile incelenir.

b. Havuz Suyu

1. Bir kavanoz içine alınan havuz suyuna bakterileri çoğaltmak için bezelye tanesi, patates dilimleri veya saman parçaları konarak bir süre bekletilir ve sonra bakterilerin çoğalıp çoğalmadığı kontrol edilir. Bu işlem materyal 25-30°C lik etüvde tutularak hızlandırılabilir.
2. Kültür ortamından bir damla örnek alınarak aynı şekilde incelenir.

BURAYA RESİM KOY

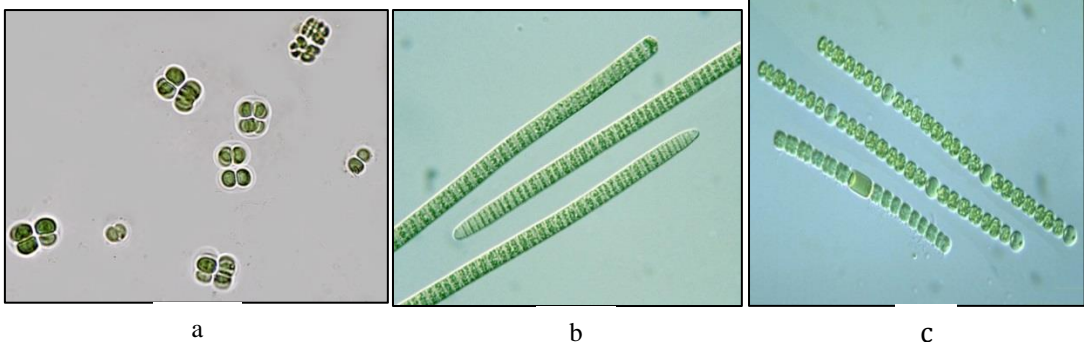
B. Mavi-Yeşil Algler (Cyanobacteria)

Mavi-yeşil algler havuz, yüzme havuzu, göl, nemli topraklar gibi ortamlarda yaşadıkları gibi ağaç kabuklarında ve ölü kütükler üzerinde de yaşarlar. Bazıları okyanuslarda da yaşayabilir. Birkaçtürü tek hücreli olmasına rağmen çoğu, hücreler arası materyal ile birlikte yaşayan yuvarlak veya iplikli koloniler hâlinindedir. Klorofil a'ya ilave olarak fikosiyenin (mavi pigment), fikoeritrin (kırmızı pigment) gibi pigmentler içerirler.

Laboratuvar Çalışması

İnceleme Materyali:

Havuz suyu: Havuz duvarları kazıntılarının da ilave edildiği havuz suyundan alınan bir damla su, lam üzerine damlatılarak mikroskopta incelenir. Gloeocapsa, Anabaena, Nostoc, Oscillatoria bulunması kolay olan örneklerdir.



Şekil 4.2: *Gleocapsa* (a), *Oscillatoria* (ipliksi alg) (b), *Anabaena* (c)

Referanslar:

ÖZTAŞ Haydar, ÖZTAŞ Fulya, YENER Yeşim, YILDIZ Hasan ve KALIPCI Erkan (2011). *Hücre Biyolojisi Laboratuvar Kılavuzu*. Celal Bayar Üniversitesi, Manisa.

ÜNAL Meral, VARDAR Filiz ve İSMAİLOĞLU Işıl (2014). *Hücre Biyolojisi Laboratuvarı*, Güncellenmiş 3. Basım. Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara.

LABORATUVAR 5

ÖKARYOTİK HÜCRELER

Prokaryotlardan farklı olarak ökaryotlar zarla çevrili nukleusa ve organellere sahip organizmalardır. Ökaryotik organizmalar tek hücreli veya çok hücreli olabilir.

A. Tek Hücreli Ökaryotlar

Tek hücreli bir organizmada, çok hücreli organizmanın birçok hücresi tarafından yapılan tüm görevler bir hücre içinde gerçekleşir. Bu duruma uygun olarak tek hücreli ökaryotlar karmaşık bir iç organizasyon gösterirler.

Laboratuvar Çalışması

a. *Paramecium*

Kültür hazırlama: *Paramecium* kültürü hazırlamak için genişliği yaklaşık 10 cm, yüksekliği yaklaşık 20 cm olan bir cam kavanozun üçte biri kuru ot, saman veya kuru yapraklar ile doldurulur. Ayrıca içerisine bir miktar elma kabuğu, muz kabuğu, pirinç ve nohut konur. Bu karışıma farklı yerlerden toplanmış havuz sularıda eklenip, üstten 3-4 cm pay bırakılacak şekilde kavanozun geri kalanı çeşme suyuyla tamamlanır. **Ağız kısmen kapatılmış kavanoz** 20-22°C sıcaklıkta doğrudan güneş almayan aydınlık bir yerde birkaç gün bırakılır. Üzerinde oluşan film tabakasının hemen altından alınan örneklerde *Paramecium* gözlemlenebilir.

1. Hazırlanan kültür ortamından bir damla sıvılam üzerine alınıp lamelle kapatıldıktan sonra incelenir.
2. Siller, makronukleus, mikronukleus, anterior ve posterior kontraktıl vakuol, sitofarinks gibi kısımları x40 objektif ile gözlenir.
3. Bir *Paramecium*'u gözlem altında tutularak hareketleri ve vakuollerin çalışması dikkatlice gözlemlenir.
4. Preparat metil yeşili veya asetokarmin ile boyanır. Böylece hem organizma fiske edilmiş hem de nukleuslar boyanmış olur. Mikronukleus genellikle makronukleus ile örtüldüğünden gözlenemez.

b. *Euglena*

Kültür hazırlama: *Euglena* doğada özellikle yaz sıcaklarında gözlemlenen yeşillenmiş su birikintilerinde (göl, akvaryum ve havuz duvarı) bol miktarda bulunur. Buradan temiz kavanoza alınan sulara yeşeren bölgelerin kazıntılarında ilave edilir. Daha sonra içerisine pirinç, buğday, saman eklenerek

ağız kısmen kapatılmış kavanoz 20-22°C sıcaklıkta doğrudan güneş almayan aydınlık bir yerde birkaç gün bırakılır.

1. Hazırlanan kültür ortamından bir damla sıvılam üzerine alınıp lamelle kapatıldıktan sonra incelenir.
2. Kamçı, nukleus, kontraktıl vakuol, stigma ve kloroplast gibi kısımlar x40 objektif ile gözlenir.
3. Bir *Euglena*'yı gözlem altında tutarak kamçı hareketleri dikkatlice gözlemlenir.



Şekil 5.1: *Paramecium* (a), *Euglena* (b)

A. Sabit Hücre Sayılı Ökaryotlar

Bazı ilkel çok hücrelilerde hücre sayısı sabittir. Örneğin; tatlı sularda yeşil bir flagellat olan *Pandorina* 8 veya 16 hücreden oluşan bir kolonidir. *Eudorina*'da hücre sayısı 16, 32 veya 64 olabilir. *Scenedesmus* bir veya iki sıra üzerine dizili, uzunca oval veya mekik şeklindeki hücrelerin meydana getirdiği koloniler hâlidir. Her bir hücrede bir nukleus, kromatofor, 1-2 pirenoid (nişasta oluşum merkezi) ve vakuoller bulunur. Koloni, türlere göre sayıları değişen uzantılar taşır. Genellikle dört köşeden çıkan bu uzantılar organizmanın su içinde durmasını sağlar. *Gonium* 4-16 hücrenin biraraya gelerek meydana getirdiği hücre plağı hâlidir. Hücrelerin her birinde dışa doğru uzanan 2 kamçı bulunur. Hücreler plazmodezmalılar ile birbirine bağlıdır. Bu özelliklerinden dolayı yüksek yapıli bitkilere geçit oluştururlar.

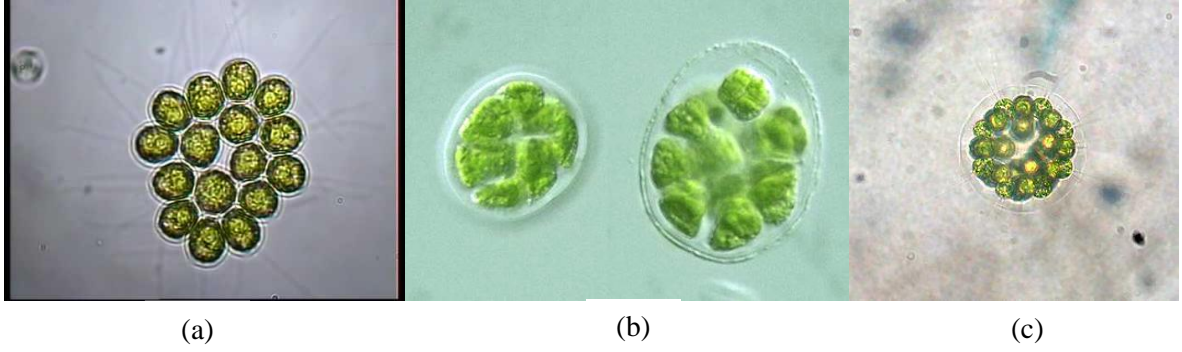
Laboratuvar Çalışması

İnceleme Materyali:

Sabit hücre sayılı ökaryot örnekleri elde etmek için tatlı su ve havuzlardaki su bitkilerinin yaprak ve gövdeleri bir kap içindeki suda hareket ettirilip sıkılır.

1. Kabın altında biriken tortu pastör pipeti ile alınır ve lam üzerinde incelenir.

2. Bulunan örnekler çizilir.



Şekil 5.2: Gonium (a), Pandorina (b) ve Eudorina (c)

B. Çok Hücreli Ökaryotlar

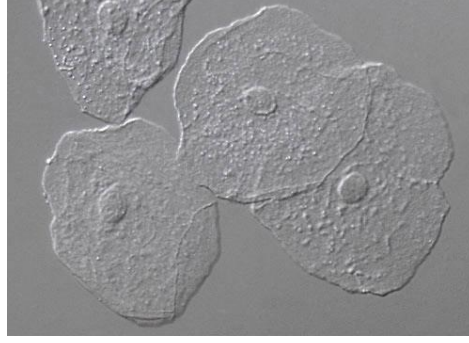
Çok hücreli canlıların çoğunda hücre sayısı sınırsızdır. Daha sonraki laboratuvarlarda bu konu bitkisel ve hayvansal materyallerde ayrıntılı olarak görülecektir.

Laboratuvar Çalışması

İnceleme Materyali:

a. Yanak İçi Epitel Hücresi

1. Yanağın iç kısmından steril bir spatula ile veya ucu steril pamuklu bir çubuk ile hafifçe kazıyarak lam üzerindeki bir damla su içine sürülür (smear). Lamel ile kapatılarak incelenir. Kullanılmış spatula veya pamuklu çubuk hemen hipoklorit solusyonuna daldırılarak sterilize edilir.
2. Hücre zarı çok ince olduğundan birçok hücre zarar görüp parçalanabilir. En iyi görünen bir hücreyi x40 objektif ile incelenir.
3. Hücrenin daha iyi görünebilmesi için metilen mavisi ile preparat boyanır. Metilen mavisi ile sitoplazma soluk mavi, nükleus daha koyu mavi boyanır. Çizilecek şekilde nükleus, nükleus zarı, nükleoplazma, kromatin granülleri, nükleolus, sitoplazma ve hücre zarını gösterilir. Bir hayvan hücresinin EM'undaki görünüşünün diyagramında hangi organeller görünür?
4. Diyagramda büyütmeyi gösteren ölçek dikkate alınarak şeklin kaç defa büyütüldüğü yaklaşık olarak hesaplanır.



Şekil 5.3: Yanak içi epitel hücresi

b. Soğan Epidermis Hücresi

1. Soğanın etlenmiş yapraklarından bir tanesinin dış yüzeyinden alınan zar lam üzerindeki bir damla su içerisine konulur. Lamel ile kapatılarak incelenir.
2. Epidermis hücreleri biri x40 objektif ile incelenir.
3. Nukleusu ve hücre çerperini daha iyi görebilmek için preparat safranin ile boyanır.



Şekil 5.4: Soğan zarı hücresi

Referanslar:

Abant Izzet Baysal University Cell Biology Schedule 2013.

ÖZTAŞ Haydar, ÖZTAŞ Fulya, YENER Yeşim, YILDIZ Hasan ve KALIPCI Erkan (2011). *Hücre Biyolojisi Laboratuvar Kılavuzu*. Celal Bayar Üniversitesi, Manisa.

ÜNAL Meral, VARDAR Filiz ve İSMAİLOĞLU Işıl (2014). *Hücre Biyolojisi Laboratuvarı*, Güncellenmiş 3. Basım. Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara.

LABORATUVAR 6

PLAZMOLİZ VE DEPLAZMOLİZ

Bitki hücrelerinin zarı gerek yapı, gerekse özellik olarak cansız membranlara nazaran daha karmaşıktır. Her bitki hücresinde, genel olarak protoplazma az çok sertleşmiş bir çeperle çevrilidir. Bu çeper, selüloz ve pektinli maddelerden yapılmış olup suya ve çeşitli maddelerden karşı geçirgendir.

Hücrelerde bazı durumlarda hücrenin her iki tarafında diğer madde konsantrasyonlarında olduğu gibi su konsantrasyonunda da bir farklılık oluşur. Bu konsantrasyona bağlı olarak hücreler ya su alarak şişer ya da su kaybedip büzülürler. Konsantrasyon farkından dolayı ortaya çıkan suyun bu net hareketine **osmoz** denir. Farklı konsantrasyonlardaki çözeltiler bir zar ile ayrıldıklarında, bir taraftan diğer tarafa suyun net geçişini durdurmak için hidrostatik basınç meydana getirirler. Bu basınca **osmotik basınç** denir. Osmoz olayında, çözeltilerin birinin hacmi artarken diğerinin hacmi azalmış olur. Su osmoz olayında bir kural olarak daima çok yoğun olarak bulunduğu **hipotonik ortamdan** (çözünenin derişimi az olan ortam) az yoğun olarak bulunduğu **hipertonik ortama** (çözünenin derişimi çok olan ortam) doğru hareket eder. Her iki ortamında derişimi eşit ise (**izotonik ortam**) su geçişi olmaz. Hipertonik bir çözeltiliye konulursa su kaybeder ve sitoplazması hücrenin ortasına doğru çekilir, sitoplazma ile selüloz çeper arasında yer yer vakuoller oluşur. Bu olaya **plazmoliz** denir. Plazmolize uğramış bir hücre hipotonik bir ortama konulursa su alarak şişer ve gerginleşir. Bu olaya da **deplazmoliz** denir. Bitki hücrelerinde su yavaş yavaş hücre içerisine girerek çeperle basınç yapar ve gerilmeye neden olur. Buna hücrenin **turgor hali** denir.

Laboratuvar Çalışması

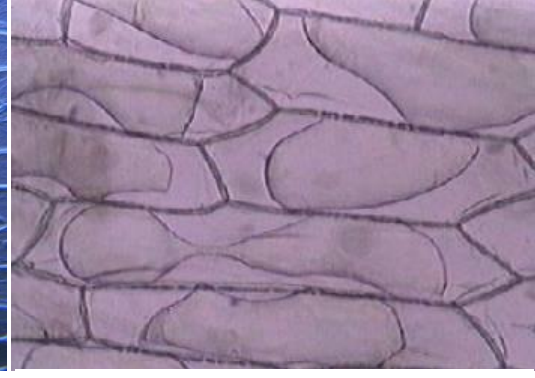
İnceleme Materyali:

Soğan zarı hücresi için;

1. Bıçak yardımıyla dörde bölünen soğanın bir dilimini alınız ve içinden bir katman çıkarınız.
2. Çıkarılan katmanın dış kısmı üzerindeki zarı kaydırıp bisturi yardımıyla kesiniz.
3. Preperatınızı lam üzerine alın gözlemleyin ve daha sonra üzerine %10' luk tuz çözeltisinden bir damla damlatın ve mikroskopta gözlemleyin.
4. Preperatınızın üzerine bir damla saf su ilave edin ve bir daha mikroskopta gözlemleyin.



Şekil 6.1: Soğan zarı hücresi



Şekil 6.2: Plazmolize olmuş soğan zarı

Referanslar:

Abant İzzet Baysal University Cell Biology Schedule 2013.

BACSO Zsolt, NAGY Peter, VARGA Tamas ve VEREB György (2003). *University of Debrecen, Medical and Health Science Center Cell Biology Laboratory Manual*.

HEIDCAMP W.H. *Cell Biology Laboratory Manual*. Gustavus Adolphus College, Minnesota, USA.

ÖZTAŞ Haydar, ÖZTAŞ Fulya, YENER Yeşim, YILDIZ Hasan ve KALIPCI Erkan (2011). *Hücre Biyolojisi Laboratuvar Kılavuzu*. Celal Bayar Üniversitesi, Manisa.