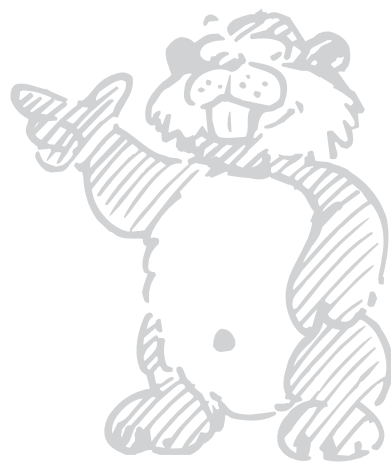


Gerd Poeggel

**Praktikum & Seminare  
Biologie für Mediziner**



---

# 1. Kurstag

---

## *Zellen, Zellorganellen und Zelloberflächen*

### **A. *In vivo-Beobachtung von Protozoen***

#### **1. Beobachtung von Protozoen in einem Tropfen Heuaufguß**

Nehmen Sie von Ihrem Arbeitsplatz einen Objektträger und lassen Sie sich einen Tropfen Heuaufguß geben. Setzen Sie eine winzige Menge Kongorot-gefärbter Hefe zu (steht an Ihrem Arbeitsplatz) und legen Sie vorsichtig ein Deckglas auf. ***Beobachten und zeichnen Sie die Paramecien, den Freßvorgang sowie den Farbumschlag von rot nach blau in den Gasteriolen.*** Durch vorsichtiges seitliches Absaugen der Flüssigkeit mit Filterpapier können Sie die Bewegungen der Paramecien verlangsamen.

***Beschriften Sie Ihre Zeichnung!***

*Paramecium caudatum*

## B. Eukaryontische Zellen

Im Mittelpunkt stehen einige Zellorganellen und Oberflächendifferenzierungen der Zelle. Sie sollen lernen, wie die Ultrastruktur der Zelle insgesamt und die einzelnen Zellorganellen im elektronenmikroskopischen Bild aussehen. Die in diesem Kapitel vorhandenen elektronenmikroskopischen Aufnahmen sollen Ihnen zum Einzeichnen und Beschriften dienen. Da die Auflösung auf einem Hochglanzfoto wesentlich besser ist als in diesem Buch, liegen sämtliche hier verwendeten Aufnahmen noch einmal als Fotoabzüge auf Ihren Arbeitsplätzen vor.

### 1. Mitochondrien

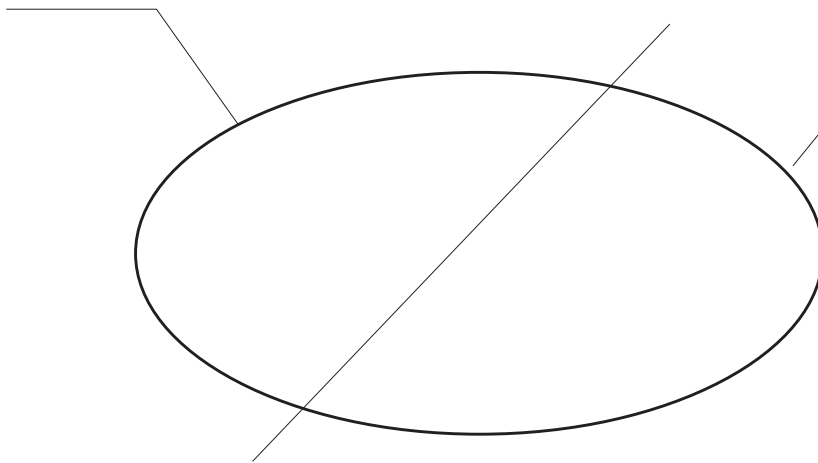
Wie Sie aus der Vorlesung wissen, teilt man die Mitochondrien nach der Struktur ihres inneren Membransystems in verschiedene Typen ein. Zwei dieser Typen findet man bei tierischen Zellen. Schauen Sie sich die elektronenmikroskopischen Aufnahmen an und identifizieren Sie die beiden vorhandenen Typen an je einer Aufnahme.

a) Typ 1: Name: Zelltyp:

b) Typ 2: Name: Zelltyp:

**Zeichnen Sie ein Mitochondrium, bilden Sie beide Typen in Ihrer Zeichnung ab und beschriften Sie die verschiedenen Kompartimente. Zeichnen Sie nach den elektronenmikroskopischen Abbildungen und beachten Sie die Relationen!**

Typ 1:



Typ 2:

## 2. Indirekte Darstellung des basalen Labyrinths in Nierentubuli durch Eisenhämatoxylin

Nephron:

Die basale Cytoplasmamembran der Epithelzellen des proximalen Nierentubulus ist zur Verbesserung von Transportvorgängen vielfach in das Zellinnere eingefaltet. Dadurch vergrößert sich die Austauschoberfläche der Zelle enorm. In die Membran dieser Falten integriert sind Carriermoleküle, die unter Energieverbrauch Ionen aus den Zellen in den Interzellularraum hinaus pumpen. Die für diese Pumpen benötigte Energie wird von den Mitochondrien geliefert, welche in den von den Membranfalten gebildeten Fächern liegen.

apikal: Mikrovilli

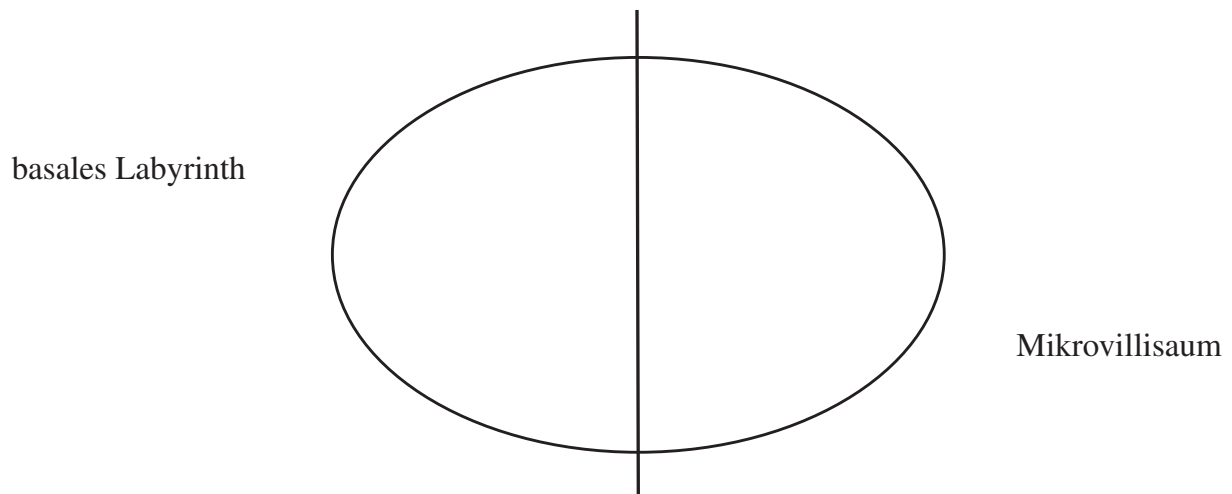
Zellkern

Mitochondrien

basal: basales Labyrinth

Da hier sehr viele Mitochondrien auf engem Raum wohlgeordnet liegen, kann man dieses System im Lichtmikroskop nach einer Färbung mit Eisenhämatoxylin visualisieren. Es erscheint als eine basale Streifung der Tubuluszellen. Sie können auf der Abb. 1 diese Anordnung sehr schön erkennen. Sie sehen auch die unmittelbare Nachbarschaft der Tubuluszellen zu den gefensterten Kapillaren, über welche die herausgepumpten Ionen wegtransportiert werden. Kapillarendothel und Tubulusepithel besitzen eine gemeinsame Basallamina.

**Zeichnen Sie den Querschnitt eines proximalen Nierentubulus an Hand des Präparates Maus: Niere-Eisenhämatoxylin! Sie finden diese Tubuli in der Nierenrinde. Beschriftung!**



### 3. Indirekte Darstellung des Mikrovillisaums im proximalen Tubulus der Niere

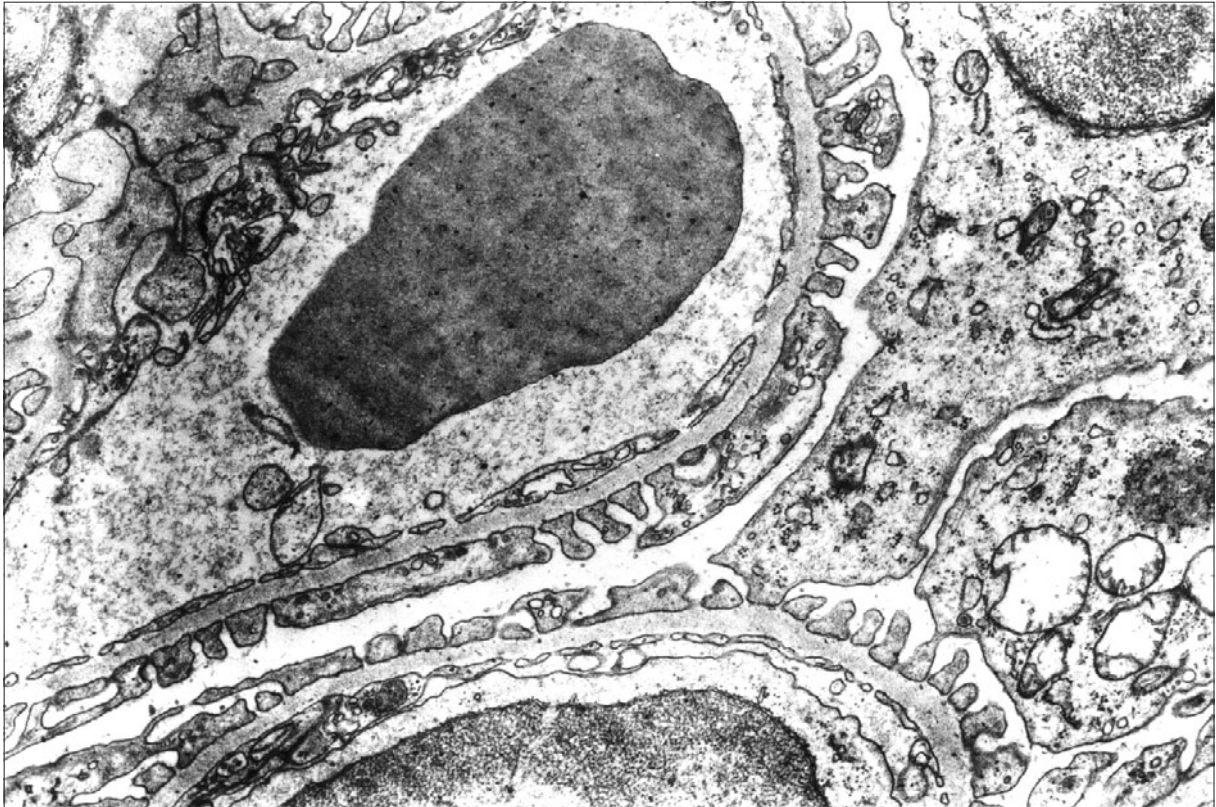
Vergrößerungen der Zelloberfläche findet man überall dort, wo verstärkt Transportvorgänge stattfinden. Neben Einstülpungen (s. basales Labyrinth) sind es hauptsächlich Ausstülpungen, die zur Oberflächenvergrößerung führen. Solche Ausstülpungen sind die Mikrovillissäume im Verdauungstrakt und des Nierenepithels, die der Resorption dienen. Ein einzelner Mikrovillus ist lichtmikroskopisch nicht darstellbar, jedoch kann man einen Mikrovillisaum durch bestimmte Reaktionen sehr schön darstellen. Charakteristisch für Mikrovilli ist das Vorhandensein des Enzyms alkalische Phosphatase. Dieses Enzym spaltet bei einem pH-Wert im alkalischen Bereich Ester von Alkoholen, Phenolen oder anderen Substanzen mit Phosphorsäure. Durch eine enzymhistochemische Reaktion kann man die Aktivität dieses Enzyms visualisieren und damit Mikrovillissäume lokalisieren.

Nachweis mit einer Methode nach Gomori:

- Ein vorsichtig fixierter Gewebeschnitt wird in einer Lösung inkubiert, die folgende Substanzen enthält:
  - ein Puffersystem, eingestellt auf pH 8.8-9.2,
  - Na- $\beta$ -Glycerophosphat als Enzymsubstrat,
  - Ca-Ionen als Fällungsreagens.

Die im Gewebe vorhandene alkalische Phosphatase spaltet von dem Substrat (Na- $\beta$ -Glycerophosphat) den Phosphatrest ab. Dieser präzipitiert bei Überschreiten des Löslichkeitsprodukt (was sehr schnell geschieht) mit den Ca-Ionen als unlösliches Ca-Phosphat praktisch am Entstehungsort aus. Durch eine Verdrängungsreaktion werden die Ca-Ionen aus dem Calciumphosphat bei neutralem pH-Wert durch Pb-Ionen ersetzt. Dieses wird durch Inkubation in einer 2% Pb-Nitratlösung erreicht. Da Bleiphosphat als weißes Präzipitat auch noch nicht sichtbar ist, erfolgt eine zweite Verdrängungsreaktion, bei der die Phosphationen jetzt durch Sulfidionen ausgetauscht werden (Inkubation mit Natriumsulfidlösung). Da Bleisulfid schwarz aussieht, kann man jetzt die Lokalisation der alkalischen Phosphatase (und damit der Mikrovillissäume) im Mikroskop erkennen.

**Vervollständigen Sie die oben begonnene Zeichnung des Querschnitts eines proximalen Nierentubulus an Hand des Präparates Ratte: Niere-alkalische Phosphatase indem Sie den Mikrovillisaum einzeichnen!**



*Abb. 1: Maus; Niere, Glomerulus, Vergr.: x 24.800  
Aufnahme: Dr. G. Hoheisel*



*Abb. 2: Maus; Niere, proximaler Tubulus, Vergr.: x 30.400  
Aufnahme: Dr. G. Hoheisel*

### 3. ER und Produkte des Golgi-Apparates

Alle Proteinsynthesen laufen an den Ribosomen der Zelle ab. Müssen Proteine modifiziert werden, sind sie für den Export aus der Zelle bestimmt, oder sollen es lysosomale Proteine werden, so erfolgt die Synthese an den Ribosomen, die an das endoplasmatische Retikulum angelagert sind. Den Mechanismus der Anlagerung haben Sie in der Vorlesung kennengelernt. Je nachdem, ob das ER Ribosomen angelagert hat oder nicht, unterscheidet man zwei Typen des ER. Auf den Ihnen vorliegenden elektronenmikroskopischen Aufnahmen sind beide Typen zu finden.

*Suchen Sie den Zelltyp mit vorwiegend rauem ER und vorwiegend glattem ER! In welchem Zelltyp findet man beide Formen je zur Hälfte?*

a) <i>raues ER:</i>	<i>Abb.:</i>	Zelltyp
b) <i>glattes ER:</i>	<i>Abb.:</i>	Zelltyp
c) <i>raues und glattes ER:</i>	<i>Abb.:</i>	Zelltyp

Durch Übergangsvesikel gelangen die am rauem ER produzierten Proteine in das System des Golgi-Apparates, werden hier weiter modifiziert und verpackt. Der Golgi-Apparat schnürt Vesikel ab, deren Inhalt sehr unterschiedlich sein kann.

#### a) Sekretvesikel

*elektronenmikroskopische Abb. 4: Maus:Pankreas-exokrine Pankreaszelle  
Beschriften Sie in Abb. 4 dieser Skripte raues ER, Golgi-Apparat und Sekretvesikel!*

#### b) Lysosomen

Ein zweites Produkt des Systems rER/Golgi-Apparat sind primäre Lysosomen. Sie sind für den Eigenbedarf der Zelle bestimmt, dienen u. a. der zellulären Verdauung (auch der Selbstverdauung beim Zelltod). Alle in den Lysosomen eingeschlossenen Enzyme, die sehr vielen verschiedenen Enzymklassen angehören, haben eines gemeinsam: ihr pH-Optimum liegt im sauren Bereich. Mit dieser Eigenschaft kann man Lysosomen durch den Nachweis eines ihrer Leitenzyme, der sauren Phosphomonoesterase (auch saure Phosphatase genannt) gut visualisieren. Die Reaktion entspricht im Prinzip der Methode zum Nachweis der alkalischen Phosphatase, nur wird jetzt im sauren pH-Bereich (pH 3-5) gearbeitet, und die freigesetzten Phosphationen werden bei diesem pH-Wert direkt mit Bleiionen ausgefällt.

Das Ergebnis einer solchen Reaktion zeigt sowohl primäre als auch sekundäre Lysosomen. Sie können es in folgender Abbildung sehen:

*elektronenmikroskopische Abb. 5: Ratte:Gehirn:Nucleus supraopticus-unspezifische saure Phosphomonoesterase; Beschriftung der primären Lysosomen!*

### D. Altern

Während der Tätigkeit der sekundären Lysosomen werden viele Substrate abgebaut. Dabei fallen zum einen nicht abbaubare Produkte an, zum anderen läßt die enzymatische Aktivität immer mehr nach. Mit der Zeit verschwindet die enzymatische Aktivität, es entstehen tertiäre Lysosomen (Restkörper). Diese sind enzymatisch inaktiv und enthalten nicht mehr abbaubare Stoffwechselprodukte (z.B. Lipofuscin). Diese tertiären Lysosomen können sich in einigen Zelltypen ansammeln und letztlich zum Zelltod führen. Das ist eine Ursache des Alterns von Zellen. Lipofuscin hat in einigen Organen (Leber, Herz) eine typische gelbe Eigenfärbung, so daß man es im Lichtmikroskop gut erkennen kann. In anderen Organen (Gehirn) gibt es zwar sehr viel Lipofuscin, man muß es aber erst mit spezifischen Methoden färben.