# HUMBOLDT-UNIVERSITÄT ZU BERLIN



# V2 Photosensitivitätsanalyse von Grünalgen C. reinhardtii

#### Versuchsdurchführende

Tom Oberländer (633676) Huyen Anh Nguyen (572309)

#### ${\bf Versuchsort}$

Institut für Biophysik Invalidenstr.42, Erdgeschoss rechts

#### Versuchsbetreuer

Yousef Kamrani

07. März 2024

### Contents

1	Einführung	1
2	Versuchsdurchführung2.1Bewegungsmuster unterm Fluoreszenzmikroskop2.2Photometrische Bestimmung des Aktionsspektrum2.3pH-Veränderung des Medium	1
3	Ergebnis	2
4	Disskusion	4

### 1 Einführung

Die Grünalge Chlamydomonas reinhardtii (abgekürzt: C. reinhardtii) ist in der Lage mit ihren zwei Flagella sich fortzubewegen. Zudem besitzt die Grünalge ein Augenfleck, dass photosensitiv ist und somit Licht wahrnehmen kann.

Eine durch Licht gerichtete Bewegung wird als Phototaxis bezeichnet und es gibt zwei große Unterscheidungen von Phototaxen. Es wird zwischen Phobo-Phototaxis, wobei die Bewegungsrichtung bei einer Veränderung der Strahlungsintensität nicht mit der Strahlungsrichtung korreliert und Tobo-Phototaxis, wo die Bewegungsrichtung mit der Strahlungsrichtung korreliert.

Bei der Tobo-Phototaxis wird zudem noch zwischen negativen und positiven Tobo-Phototaxis unterschieden.

Welche phototaktisches Verhalten wird bei C. reinhardtii beobachtet und bei welchen Wellenlänge wird die stärkste Reaktion gemessen?

Der Versuch wird in drei Punkten gegliedert, um die Frage zu beantworten:

- grobe Bestimmung der Bewegungsmuster bei grünes, blaues und rotes Licht unterm Fluoreszenzmikroskop
- photometrische quantitative Bestimmung des Aktionsspektrums der Grünalge bei der Wellenlänge  $\lambda=455,\,470,\,505,\,530$  nm
- mikroskopische Beobachtung des Verhalten der Grünalgen bei der Zugabe von 1 mol/L Salzsäure in das Medium

## 2 Versuchsdurchführung

### 2.1 Bewegungsmuster unterm Fluoreszenzmikroskop

Es wird 1 mL unverdünntes C. reinhardtii Suspension (Stockkonzentration beträgt 0.36 oD/mL in Nitrogen Minimal Medium kultiviert) in eine Mikroskop geeignete Küvette überführt und unterm Mikroskop die Bewegungsmuster begutachtet, ohne Lichteinfluss.

Dann Wird die Bewegungsmuster für grünes, rotes und blaues Licht untersucht.

### 2.2 Photometrische Bestimmung des Aktionsspektrum

Für die photometrische Analyse wird die Kultur auf 1.1 oD/mL verdünnt.

In einer Küvette wird die homogene Suspensionskultur überführt und bei der Wellenlänge  $\lambda = 455$ , 470, 505, 530 nm photometrisch bei unterschiedlichen Lichtintensität von 0 - 100 % bestimmt.

#### 2.3 pH-Veränderung des Medium

Es wird zu 3 mL unverdünnten Suspensionskultur 0.5 mL 1 M Salzsäure hinzugegeben und homogenisiert.

Die Suspension wird in eine Mikroskopgeeignete Küvette überführt und unterm Mikroskop analysiert.

# 3 Ergebnis

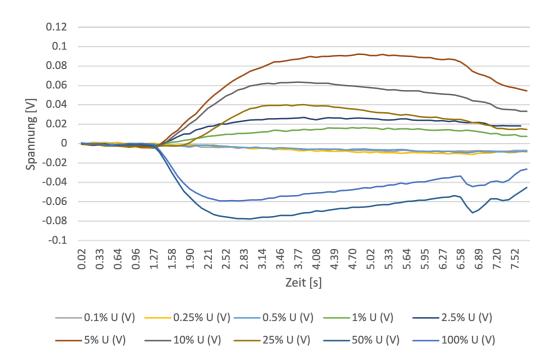


Figure 1: Absorptionsspektrum von nativen eGFP und Puffer bei  $\lambda=350\text{-}520$  nm. Puffer dient hier als Referenzprobe Der Absorptionsmaxima liegt bei  $\lambda=490$  nm.

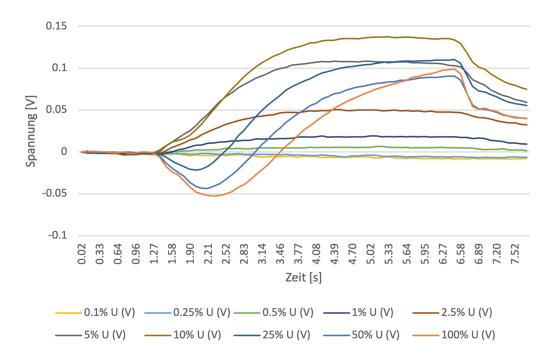


Figure 2: Absorptionsspektrum von nativen eGFP und Puffer bei  $\lambda=350\text{-}520$  nm. Puffer dient hier als Referenzprobe Der Absorptionsmaxima liegt bei  $\lambda=490$  nm.

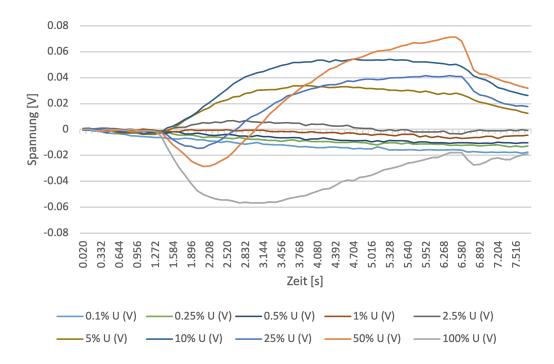


Figure 3: Absorptionsspektrum von nativen eGFP und Puffer bei  $\lambda=350\text{-}520$  nm. Puffer dient hier als Referenzprobe Der Absorptionsmaxima liegt bei  $\lambda=490$  nm.

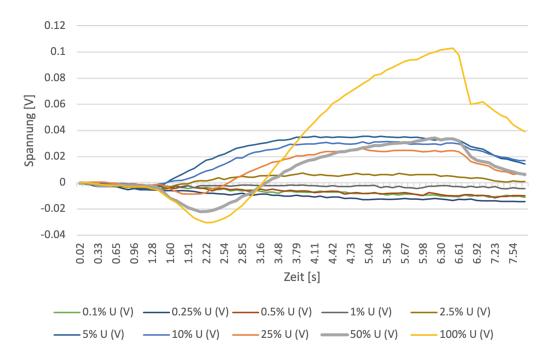


Figure 4: Absorptionsspektrum von nativen eGFP und Puffer bei  $\lambda=350\text{-}520$  nm. Puffer dient hier als Referenzprobe Der Absorptionsmaxima liegt bei  $\lambda=490$  nm.

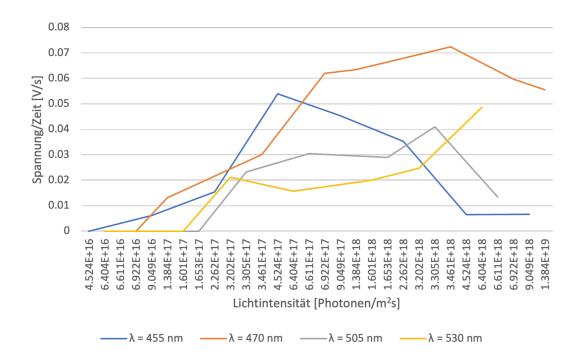


Figure 5: Absorptionsspektrum von nativen eGFP und Puffer bei  $\lambda=350\text{-}520$  nm. Puffer dient hier als Referenzprobe Der Absorptionsmaxima liegt bei  $\lambda=490$  nm.

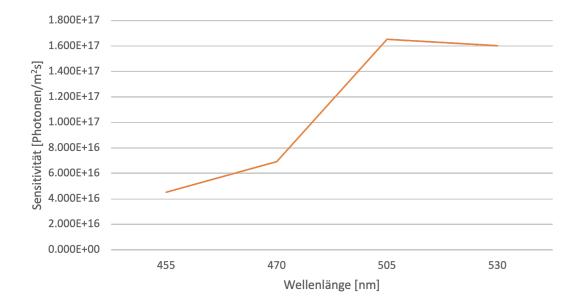


Figure 6: Absorptionsspektrum von nativen eGFP und Puffer bei  $\lambda=350\text{-}520$  nm. Puffer dient hier als Referenzprobe Der Absorptionsmaxima liegt bei  $\lambda=490$  nm.

### 4 Disskusion