

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Вятский государственный университет»
Биологический факультет
Кафедра микробиологии

Рекомендовано к использованию
в учебном процессе
протокол заседания кафедры
№ _____ от _____
Заведующий кафедрой,
доктор медицинских наук, профессор
_____ И.В. Дармов

А.Г. Золотарев

ЦИТОЛОГИЯ

Конспект лекций

Учебно-методическое пособие

Киров 2011

ЛЕКЦИЯ 1

Тема 1: Предмет цитологии. Основы клеточной теории

Вопросы

- 1. Предмет и задачи курса.*
- 2. Определение понятия "клетка".*
- 3. Основы клеточной теории.*

Цитология (от греч. «kytos» - ячейка, клетка) - наука о клетке. В целом цитология — наука довольно молодая. Из среды других биологических наук она выделилась почти сто лет назад. Впервые обобщенные сведения о строении клеток были собраны в книге Ж.-Б. Карнуа «Биология клетки», вышедшей в 1884 г.

Современная цитология изучает строение клеток, их функционирование как элементарных живых систем; исследует функции отдельных клеточных компонентов, процессы воспроизведения клеток, их репарации, приспособления к условиям среды и многие другие процессы, позволяющие судить об общих для всех клеток свойствах и функциях. Цитология рассматривает также особенности строения специализированных клеток, этапы становления их особых функций и развития специфических клеточных структур. Другими словами, современная цитология - это биология клетки.

Дисциплина «Биология клетки» относится к фундаментальным разделам биологии, потому что она исследует и описывает единственную единицу всего живого на Земле - клетку. Познание клетки имеет важнейшее значение для развития множества других биологических наук, таких, как физиология, генетика, молекулярная биология, биохимия и др.

Клетка – элементарная структурная, функциональная и генетическая единица в составе всех растительных и животных организмов.

Основные постулаты современной клеточной теории следующие: 1) клетка - элементарная единица живого; 2) клетки разных организмов гомологичны по своему строению; 3) размножение клеток происходит путем деления исходной клетки; 4) многоклеточные организмы - это сложные ансамбли клеток, объединенные в целостные, интегрированные системы тканей и органов, соподчиненные и связанные между собой межклеточными, гуморальными и нервными формами регуляции.

Определение жизни: «Живые организмы представляют собой открытие (т.е. обменивающиеся с окружающей средой веществом и энергией), саморегулирующиеся и самовоспроизводящиеся системы, важнейшими функционирующими веществами которых являются белки и нуклеиновые кислоты». Живому свойствен ряд совокупных признаков, таких, как способность к воспроизведению (репродукции), использование и трансформация энергии, метаболизм, чувствительность, изменчивость.

Гомологичность строения клеток наблюдается внутри каждого из типов клеток: прокариотического и эукариотического. Хорошо известно разнообразие клеток бактериальных и высших организмов. Такое одновременное сходство строения и разнообразие форм определяются тем, что клеточные функции можно грубо подразделить на обязательные и необязательные, факультативные. Обязательные функции, направленные на поддержание жизнеспособности самих клеток, осуществляются специальными внутриклеточными структурами.

Строение ядра всех эукариотических клеток от низших грибов до позвоночных принципиально сходно. Сходны также строение и функции других внутриклеточных структур. Такое сходство клеток определяется гомологичностью общеклеточных функций, связанных с поддержанием самой живой системы (синтез нуклеиновых кислот и белков, биоэнергетика клетки и т.д.).

Различие клеток связано со специализацией их функций, с развитием особых функциональных клеточных аппаратов. Так, в мышечной клетке кроме общеклеточных структур (мембранных систем ретикулума, аппарата Гольджи, рибосом, ядра и др.) встречаются в большом количестве фибриллярные компоненты, обеспечивающие специальную функциональную нагрузку, характерную для этой клетки.

Структурное разнообразие клеток многоклеточного организма можно объяснить их функциональной специализацией на фоне общих, обязательных клеточных функций. Другими словами, гомологичность в строении клеток определяется сходством общеклеточных функций, направленных на поддержание жизни самих клеток и на их размножение. Разнообразие в строении одноклеточных организмов - следствие эволюционной приспособленности, изменчивости. Разнообразие в строении клеток многоклеточных организмов - результат функциональной специализации.

Размножение прокариотических и эукариотических клеток происходит только путем деления исходной клетки, которому предшествует воспроизведение ее генетического материала (редупликация ДНК).

Прокариотические клетки обычно делятся бинарным образом, т. е. простой перегородкой, без участия каких-либо специальных аппаратов деления. У эукариотических клеток единственно полноценным способом деления является митоз (или мейоз - при образовании половых клеток). При этом образуется специальный аппарат клеточного деления - клеточное веретено, с помощью которого равномерно и точно по двум дочерним клеткам распределяются хромосомы, до этого удвоившиеся в числе. Этот тип деления наблюдается как у растительных, так и у животных клеток.

Клетка - это единица функционирования в многоклеточном организме. Но клетки объединены в функциональные системы, в ткани и органы, которые находятся во взаимной связи друг с другом. Поэтому нет смысла в сложных организмах искать главные органы или главные клетки. Многоклеточные организмы представляют собой сложные ансамбли клеток, объединенные в целостные интегрированные системы тканей и органов, связанных межклеточными, гуморальными и нервными формами регуляции.

Тема 2: Методы цитологических исследований

Вопросы

- 1. Методы приготовления цитологических срезов.*
- 2. Методы окрашивания.*
- 3. Методы микроскопирования цитологических препаратов.*

Подготовка материала к гистологическому исследованию. Основным методом в гистологических исследованиях является изучение *окрашенных срезов* различных тканей и органов. Традиционный способ подготовки материала для получения постоянного гистологического препарата включает: *(1) фиксацию материала, (2) проводку (обезвоживание), (3) заливку (уплотнение), (4) приготовление гистологических срезов (резку), (5) окрашивание срезов, (6) заключение срезов.*

1. Фиксация гистологического материала (от лат. *fixatio* - закрепление) осуществляется для "закрепления" его прижизненного строения. Она предотвращает раз-

ложение извлеченных из организма тканей под действием собственных ферментов (процесс *аутолиза* - от греч. *autos* - сам и *lysis* - распад), а также ферментов микроорганизмов и способствует сохранению целостности клеточных и тканевых структур. Воздействуя на ткани, фиксатор (например, формалин, спирт, пикриновая кислота или различные сложные смеси веществ), вызывает необратимую коагуляцию белков и быструю гибель клеток. Наиболее часто используют *иммерсионную фиксацию* - погружение (иммерсию - от лат. *immersio* - погружение) кусочка органа в раствор фиксатора; в экспериментальных условиях фиксатор нередко вводят через сосудистую систему (*перфузионная фиксация* - от лат. *perfusio* - вливание).

2. *Проводка (обезвоживание) материала* осуществляется путем последовательного помещения кусочка в спирты возрастающих концентраций для удаления из него воды. Она необходима для выполнения следующего этапа обработки материала - его заливки.

3. *Заливка (уплотнение) материала* достигается путем пропитывания обезвоженного кусочка *затвердевающими средами*: расплавленным *парафином*, *целлоидином* или *специальной пластической массой*. В результате заливки после охлаждения парафина или полимеризации пластмассы кусочек ткани (блок) становится достаточно плотным для получения тонких срезов при резке.

4. *Приготовление гистологических срезов (резка)* осуществляется на специальном приборе (*микротоме*) с помощью особых стальных *ножей - бритв*. При этом обычно получают *срезы* залитого в парафин или другую среду материала толщиной 5-7 мкм (в оптимальном варианте - *серийные*, т.е. следующие один за другим в виде непрерывной ленты).

5. *Окрашивание срезов* обычно производится после их *монтирования* (приклеивания) на предметное стекло и удаления из них парафина (*депарафинирования*). Окрашивание позволяет выявить различные структурные компоненты тканей и клеток благодаря их неодинаковому сродству к *гистологическим красителям*.

Гистологические красители разделяются на две главные группы - *основные и кислые*.

Основные красители (например, гематоксилин, толуидиновый и метиленовый синий, азур II) активно связываются со структурами, содержащими кислоты (например, ДНК и РНК) и несущими отрицательный заряд. Способность окрашиваться основными красителями называется *базофилией* (от греч. *basis* - основание и *philia* - любовь), структуры, связывающие эти красители - *базофильными*.

Метахромазия (от греч. meta - изменение и chroma - краска) - изменение цвета отдельных основных красителей, (например, толуидинового синего, азура II или тионина) при их связывании с некоторыми структурами, обладающими специфическими химическими свойствами (обычно высокой концентрацией сульфатированных гликозаминогликанов).

Кислые красители (например, эозин, эритрозин, оранжевый G, лихтенборн) связываются с различными структурами, несущими положительный заряд. Способность окрашиваться кислыми красителями называется *оксифилией*, или *ацидофилией* (от греч. oxys или лат. acidus - кислый и греч. philia - любовь), а структуры, связывающие эти красители - *оксифильными*, или *ацидофильными*. Оксифилия свойственна цитоплазме клеток (в особенности, при высоком содержании в ней митохондрий и некоторых белковых секреторных гранул), эритроцитам (благодаря высокой концентрации в них гемоглобина).

Комбинированное окрашивание препаратов основано на использовании как *основных*, так и *кислых* красителей, обладающих контрастирующими цветами. Наиболее распространенная обзорная окраска гистологических препаратов сочетает *гематоксилин* (основной краситель) с *эозином* (кислым красителем).

Избирательное (элективное, специальное) окрашивание препаратов, в отличие от *общезорных методов*, выявляет не общую морфологическую картину, а какие-то *конкретные структуры*, обладающие высоким сродством к определенным красителям. Так, для избирательного выявления в тканях *эластических элементов* (волокон, мембран) применяют окраску *орсеином*; *жировые клетки и липидные включения* в различных клетках окрашивают *суданом III* или *четыреокисью осмия*; *ретикулярные волокна, нервные и некоторые эндокринные клетки* - *импрегнацией* (от лат. impregnatio - пропитывание) *солями серебра*.

Цито- и гистохимические методы исследования направлены на выявление в клетках и тканях *конкретных химических веществ* (например, железа, кальция, белков, липидов, нуклеиновых кислот, гликогена, ферментов) или *химических групп* (например, альдегидных, сульфгидрильных, аминогрупп). Они основаны на *специфическом* связывании красителей с определенными химическими соединениями (например, РНК и ДНК) или образовании окрашенных продуктов из неокрашенных в

участке расположения искомого вещества (например, фермента) в результате гистохимической реакции его выявления.

ШИК- или (PAS)-реакция - пример одного из наиболее широко используемых гистохимических методов. Название метода происходит от сокращения терминов Шиффа (реактив) - Йодная Кислота (по англ. **Periodic Acid Schiff**). Метод используется для выявления соединений, богатых углеводными группами - гликогена, гликопротеинов, мукопротеинов, протеогликанов и др. Он основан на окислении йодной кислотой гидроксильных групп сахаров до альдегидных, с которыми связывается бесцветный реактив Шиффа (содержащий фуксин), превращаясь в стабильное соединение красного цвета.

Иммуногистохимические и иммуногистохимические методы обеспечивают наиболее специфическое выявление веществ в клетках и тканях. Они основаны на обработке мазков или срезов маркированными специфическими антителами к выявляемому веществу, которое служит антигеном.

Витальная окраска. Некоторые красители (например, трипановый синий, литиевый кармин, тушь) не являются токсическими по отношению к живым клеткам и не разрушаются ими. Они представляют собой не истинные растворы, а взвесь частиц. При их введении в организм (чаще всего в кровь) эти красители активно захватываются фагоцитирующими клетками и накапливаются в них, тем самым маркируя эти клетки.

Суправитальная окраска основана на связывании некоторых красителей с компонентами живых клеток, извлеченных, из организма. Так, митохондрии окрашиваются янусом зеленым.

Стандартная световая микроскопия осуществляется путем изучения препарата в проходящем свете.

Разрешающая способность (разрешение) микроскопа - минимальное расстояние между двумя точками объекта, которые видны в нем отдельно.

Темнопольная микроскопия (микроскопия в темном поле) основана на использовании специального конденсора, обеспечивающего освещение препарата косыми лучами, не попадающими в объектив. В отсутствие объектов поле зрения представляется темным.

Фазово-контрастная микроскопия основана на неодинаковом изменении *фазы* световых лучей при их прохождении через различные структуры изучаемого объекта. Фазово-контрастный микроскоп *преобразует* незаметные для человеческого глаза *фазовые различия в амплитудные*.

Поляризационная микроскопия используется для изучения структур, обладающих свойствами *анизотропии* или *двойного лучепреломления*. В поляризационном микроскопе на объект направляется *поляризованный пучок света*, который в дальнейшем пропускается через *анализатор* (расположенный между объективом и окуляром) - устройство, определяющее отклонения плоскости поляризации света вследствие его прохождения через объект. Тем самым выявляется *закономерное* пространственное расположение молекул в объекте.

Ультрафиолетовая микроскопия связана с освещением изучаемого объекта *ультрафиолетовыми лучами*, которые избирательно поглощаются его структурными компонентами. Благодаря тому, что ультрафиолетовые лучи имеют более короткую длину волны по сравнению с лучами видимой части спектра, разрешающая способность микроскопа повышается примерно вдвое.

Тема 3: Электронно-микроскопические методы в цитологии

Вопросы

1. *Трансмиссионная электронная микроскопия.*
2. *Сканирующая электронная микроскопия.*
3. *Методы приготовления ультратонких срезов.*

Трансмиссионная (просвечивающая) электронная микроскопия (ТЭМ) основана на использовании *пучка электронов*, излучаемого *электронной пушкой* внутри *колонны* микроскопа в условиях высокого ускоряющего напряжения (40-100 кВ) и глубокого вакуума (10^{-4} мм рт. ст.). Фокусировка пучка осуществляется электромагнитными линзами, играющими роль *конденсора, объектива и проектора*. После прохождения через изучаемый объект, помещенный в колонну и обладающий в различных своих участках неравномерной электронной плотностью, пучок электронов направляется на флюоресцирующий экран и создает плоскостное изображение объекта, которое фотографируется на пластинку или пленку.

Сканирующая (растровая) электронная микроскопия основана на *сканировании* электронным пучком поверхности изучаемого объекта, что достигается благодаря его отклонению специальным устройством (дефлектором). Вторичные электроны, рассеиваемые или излучаемые поверхностью объекта, воспринимаются детектором и фокусируются на экране СЭМ, создавая ее трехмерное изображение. Разрешение СЭМ ниже, чем ТЭМ и составляет около 3-10 нм, его увеличение равно 20 тыс. раз.

Обработка материала для исследования в СЭМ включает его *фиксацию, высушивание и напыление на его поверхность металлов* (золота, палладия или др.).

Обработка материала для исследования в ТЭМ методом ультратонких срезов:

Фиксация материала производится чаще всего *глутаральдегидом*; предпочтительно использование перфузионного метода. Дополнительная фиксация (постфиксация) производится четырехокисью осмия, который одновременно окрашивает клеточные структуры.

Заливка материала осуществляется в полимеризующиеся синтетические *эпоксидные смолы*.

Резка залитого материала производится на специальном приборе - *ультратоме* с помощью *стеклянных или алмазных ножей*. Толщина получаемых ультратонких срезов составляет 30-50 нм (необходимость получения очень тонких срезов обусловлена низкой проникающей способностью электронов).

Окрашивание (контрастирование) срезов выполняют с помощью *солей тяжелых металлов* (свинца, осмия, урана и др.), которые в различной степени связываются с отдельными структурными компонентами, придавая им неодинаковую электронную плотность. Окрашенные ультратонкие срезы помещают на *металлическую сетку* и изучают в ТЭМ.

ЛЕКЦИЯ 2

Тема 1: Общие принципы структурно-функциональной организации клетки

Вопросы

1. Компоненты клетки.
2. Классификация органелл клетки.
3. Принцип системности в организации клетки.

Компоненты клетки. Каждая клетка состоит из двух основных компонентов - ядра и цитоплазмы. В ядре находятся хромосомы, содержащие генетическую информацию, которая в результате процесса *транскрипции* постоянно избирательно считывается и направляется в цитоплазму, где она контролирует ход многообразных процессов жизнедеятельности клетки, в частности, сбалансированные процессы синтеза, *анаболизма* (от греч. *anabole* - повышение), и разрушения, *катаболизма* (от греч. *kataballo* - разрушаю). Указанные процессы осуществляются в цитоплазме благодаря взаимодействию ее компонентов.

Компоненты цитоплазмы. Цитоплазма отделена от внешней (для данной клетки) среды *внешней клеточной мембраной (плазмолеммой)* и содержит *органеллы и включения*, погруженные в *гиалоплазму (клеточный матрикс)*.

Органеллы - постоянно присутствующие в цитоплазме структуры, специализированные на выполнении определенных функций в клетке. Они подразделяются на *органеллы общего значения* и *специальные органеллы*.

(1) *органеллы общего значения* имеются во всех клетках и необходимы для обеспечения их жизнедеятельности. К ним относятся митохондрии, рибосомы, эндоплазматическая сеть (ЭПС), комплекс Гольджи, лизосомы, пероксисомы, клеточный центр, компоненты цитоскелета;

(2) *специальные органеллы* имеются лишь в некоторых клетках и обеспечивают выполнение их специализированных функций. К ним относят реснички, жгутики, микроворсинки, миофибриллы, акросому (спермиев). Специальные органеллы образуются в ходе развития клетки как производные органелл общего значения.

В состав многих органелл входит *элементарная биологическая мембрана*, поэтому органеллы подразделяют также на *мембранные* и *немембранные*. К мембранным органеллам относятся митохондрии, ЭПС, комплекс Гольджи, лизосомы, перок-

сисомы, к немембранным - рибосомы, клеточный центр, реснички, микроворсинки, жгутики, компоненты цитоскелета.

Включения - временные компоненты цитоплазмы, образованные в результате накопления продуктов метаболизма клеток. Подразделяются на несколько типов.

Мембранные структуры (компоненты) клетки - совокупное название различных структур цитоплазмы и ядра: плазмолеммы, ряда органелл, включений, транспортных пузырьков, а также ядерной оболочки (кариолеммы), в состав которых входят клеточные мембраны. Последние в различных мембранных структурах клетки организованы сходным образом, однако существенно различаются, в первую очередь, составом мембранных белков, определяющим специфику их функций.

Гиалоплазма (*клеточный сок, цитозоль, клеточный матрикс*) - внутренняя среда клетки, на которую приходится до 55% ее общего объема. Она представляет собой сложную прозрачную коллоидную систему, в которой взвешены органеллы и включения, и содержит различные биополимеры: белки, полисахариды, нуклеиновые кислоты, а также ионы. Претерпевает превращения по типу гель-золь. В гиалоплазме происходит большая часть реакций *межуточного обмена*.

При даже беглом рассмотрении компонентов эукариотической клетки можно выделить следующие структурно-функциональные системы:

система сохранения, воспроизведения и реализации генетической информации - ядро;

система промежуточного обмена — гиалоплазма;

рецепторно-барьерно-транспортную систему - плазматическая мембрана, или плазмалемма;

система синтеза, сегрегации и внутриклеточного транспорта биополимеров (кроме нуклеиновых кислот) — эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, лизосомы и другие одномембранные компартменты;

каркасно-двигательная система - цитоскелет;

система энергообеспечения — митохондрии;

система фотосинтеза (автотрофные растительные организмы) — пластиды.

Тема 2: Строение и функциональное значение плазмолеммы

Вопросы

1. Структура плазмолеммы.
2. Функциональное значение плазмолеммы.
3. Механизмы мембранного транспорта.

Структура плазмолеммы. Плазмолемма - самая толстая из клеточных мембран (7,5-11 нм); под электронным микроскопом она, как и другие клеточные мембраны, имеет вид *трехслойной структуры*, представленной двумя электронно-плотными слоями, которые разделены светлым слоем. Ее молекулярное строение описывается *жидкостно-мозаичной моделью*, согласно которой она состоит из *липидного (фосфолипидного) бислоя*, в который погружены и с которым связаны молекулы белков.

Липидный бислой представлен преимущественно молекулами *фосфатидилхолина (лецитина)* и *фосфатидилэтаноламина (цефалина)*, состоящими из *гидрофильной (полярной) головки* и *гидрофобного (неполярного) хвоста*. В состав большинства мембран входит также *холестерин (холестерол)*. В мембране гидрофобные цепи обращены внутрь бислоя, а гидрофильные головки - кнаружи.

Мембранные белки составляют более 50% массы мембраны и удерживаются в липидном бислое за счет гидрофобных взаимодействий с молекулами липидов. Они обеспечивают *специфические свойства мембраны* (типы белков и их содержание в мембране отражают ее функцию) и играют различную биологическую роль (*переносчиков, ферментов, рецепторов и структурных молекул*). По своему расположению относительно липидного бислоя мембранные белки разделяются на две основные группы - *интегральные и периферические*.

Функции плазмолеммы определяются ее положением и включают:

1. *Распознавание данной клеткой других клеток, и прикрепление к ним;*
2. *Распознавание клеткой межклеточного вещества и прикрепление к его элементам (волоконкам, базальной мембране);*
3. *Транспорт веществ и частиц в цитоплазму и из нее (посредством ряда механизмов);*
4. *Взаимодействие с сигнальными молекулами (гормонами, медиаторами, цитокинами и др.) благодаря наличию на ее поверхности специфических рецепторов к ним;*

5. *Движение клетки* (образование псевдо-, фило- и ламеллоподий) - благодаря связи плазмолеммы с сократимыми элементами цитоскелета.

Мембранный транспорт веществ может включать однонаправленный перенос молекулы какого-то вещества или совместный транспорт двух различных молекул в одном или противоположных направлениях.

Пассивный транспорт включает *простую и облегченную диффузию* - процессы, которые не требуют затраты энергии. Механизмом *простой диффузии* осуществляется перенос мелких молекул (например, O_2 , H_2O , CO_2); этот процесс малоспецифичен и протекает со скоростью, пропорциональной градиенту концентрации транспортируемых молекул по обеим сторонам мембраны. *Облегченная диффузия* осуществляется через каналы и (или) белки-переносчики, которые обладают специфичностью в отношении транспортируемых молекул.

Активный транспорт является энергозатратным процессом, благодаря которому перенос молекул осуществляется с помощью *белков - переносчиков* против электрохимического градиента. Примером механизма, обеспечивающего противоположно направленный активный транспорт ионов, служит натриево-калиевый насос (представленный белком-переносчиком Na^+K^+ -АТФазой), благодаря которому ионы Na^+ выводятся из цитоплазмы, а ионы K^+ одновременно переносятся в нее.

Облегченный транспорт ионов опосредуется особыми трансмембранными белками - *ионными каналами*, обеспечивающими избирательный перенос определенных ионов. Эти каналы состоят из *собственно транспортной системы* и *воротного механизма*.

Эндоцитоз. Транспорт макромолекул в клетку осуществляется с помощью механизма *эндоцитоза* (от греч. endo - внутрь и cytos -клетка). Материал, находящийся во внеклеточном пространстве, захватывается в области впячивания (инвагинации) плазмолеммы, края которого смыкаются с формированием *эндоцитозного пузырька* или *эндосомы* - мелкого сферического образования, герметически окруженного мембраной. Далее содержимое эндосомы подвергается внутриклеточной переработке (*процессингу*).

Рецепторно-опосредованный эндоцитоз. Эффективность эндоцитоза существенно увеличивается, если он опосредован мембранными *рецепторами*, которые связываются с молекулами поглощаемого вещества или молекулами, находящимися

на поверхности фагоцитируемого объекта - *лигандами* (от лат. *ligare* - связывать). В дальнейшем (после поглощения вещества) комплекс рецептор-лиганд расщепляется, и рецепторы могут вновь возвратиться в плазмолемму.

Окаймленные пузырьки и ямки. Рецепторы макромолекул в плазмолемме, перемещаясь латерально по клеточной поверхности, могут, связывая свои лиганды, *накапливаться* в области формирующихся *эндоцитозных ямок*. Очень часто вокруг таких ямок и образующихся из них пузырьков со стороны цитоплазмы собирается сетевидная оболочка из белка *клатрина*, которая на срезах имеет вид щетинистой каемки. В покрытых клатриновой оболочкой (*окаймленных*) ямках рецепторные белки мембраны вытесняют все остальные; таким образом ямки действуют как *приспособления для накопления и сортировки молекул*.

Экзоцитоз (от греч. *exo* - наружу и *cytos* - клетка) - процесс, обратный эндоцитозу, при котором мембранные *экзоцитозные пузырьки* приближаются к плазмолемме и сливаются с ней своей мембраной, которая встраивается в плазмолемму. При этом содержимое пузырьков (продукты собственного синтеза клетки или транспортируемые ею молекулы, непереваренные и вредные вещества и др.) выделяется во внеклеточное пространство.

Трансцитоз (от лат. *trans* - сквозь, через и греч. *cytos* - клетка) процесс, характерный для некоторых типов клеток, *объединяющий признаки эндоцитоза и экзоцитоза*. На одной поверхности клетки формируется *эндоцитозный пузырек*, который переносится к противоположной поверхности клетки и, становясь *экзоцитозным пузырьком*, выделяет свое содержимое во внеклеточное пространство.

Пиноцитоз (от греч. *pinein* – пить и *cytos* – клетка) – захват и поглощение клеткой жидкости и (или) растворимых веществ; подразделяется на *макропиноцитоз* (диаметр эндосом 0,2-0,3 мкм) и *микропиноцитоз* (диаметр эндосом 70-100нм).

Фагоцитоз (от греч. *phagein* – поедать и *cytos* – клетка) – захват и поглощение клеткой плотных, обычно крупных (размером более 1 мкм) частиц; обычно сопровождается образованием выпячиваний цитоплазмы – *псевдоподий*, охватывающих объект фагоцитоза и смыкающихся над ним.

Мембранные рецепторы являются преимущественно гликопротеинами, которые расположены на поверхности плазмолеммы клеток и обладают способностью высокоспецифически связываться со своими *лигандами*. Они выполняют ряд ***функций***:

(1) регулируют проницаемость плазмолеммы, изменяя конформацию белков и ионных каналов;

(2) регулируют поступление некоторых молекул в клетку;

(3) действуют как датчики, превращая внеклеточные сигналы во внутриклеточные;

(4) связывают молекулы внеклеточного матрикса с цитоскелетом; эти рецепторы, называемые *интегринами*, играют важную роль в формировании контактов между клетками и клеткой и компонентами межклеточного вещества.

ЛЕКЦИЯ 3

Тема 1: Синтетический аппарат клетки

Вопросы

1. Состав синтетического аппарата.
2. Строение рибосом и эндоплазматической сети.
3. Функциональное значение гранулярной и гладкой ЭПС.

Синтетический аппарат клетки включает органеллы, участвующие в синтезе различных веществ, которые могут в дальнейшем использоваться самой клеткой или выделяться ею во внеклеточное пространство. Деятельность синтетического аппарата клетки, располагающегося в ее цитоплазме, контролируется ядром благодаря активности находящихся в нем генов. В синтетический аппарат входят *рибосомы*, *эндоплазматическая сеть (ЭПС)* и *комплекс Гольджи*.

Рибосомы - мелкие (диаметр - 15-30 нм) плотные немембранные органеллы, обеспечивающие *синтез белка* путем соединения аминокислот в полипептидные цепочки. Информация о синтезе приносится к рибосомам *информационной РНК (иРНК)*, которая образуется в ядре в ходе считывания (*транскрипции*) *фрагментов генетической информации с ДНК*. Синтетически активная клетка содержит несколько миллионов рибосом (например, в клетке печени их число составляет 10^7), на которые приходится около 5% ее сухой массы.

Каждая рибосома состоит из двух асимметричных *субъединиц*: *малой*, связывающей РНК, и *большой*, катализирующей образование пептидных цепей. По форме малая субъединица напоминает телефонную трубку, большая – ковш.

Эндоплазматическая сеть (ЭПС) - органелла, обеспечивающая синтез углеводов, липидов и белков, а также начальные посттрансляционные изменения последних. Она имеет мембранное строение и состоит из системы уплощенных, удлиненных, трубчатых и везикулярных образований. Название органеллы обусловлено характером связи этих элементов друг с другом, образующих в цитоплазме непрерывную трехмерную сеть, элементы которой лишь на отдельных срезах могут иметь вид изолированных структур. Мембрана ЭПС тоньше, чем плазмолемма и содержит более высокую концентрацию белка, что связано с наличием в ней многочисленных ферментных систем. Степень развития ЭПС и особенности ее строения варьируют в различных клетках и зависят от их функции. Выделяют две разновидности ЭПС: *гранулярную ЭПС (грЭПС)* и *гладкую, или агранулярную ЭПС (аЭПС)*, которые связаны друг с другом в области перехода, называемой *переходной (транзиторной) ЭПС*.

Гранулярная ЭПС обеспечивает (1) биосинтез всех мембранных белков и белков, предназначенных для экспорта из клетки, и (2) начальное гликозилирование и посттрансляционные изменения белковых молекул. Гранулярная ЭПС образована уплощенными мембранными цистернами и трубочками, на наружной поверхности которых располагаются рибосомы и полисомы, придающие мембранам зернистый (гранулярный) вид, что и отражено в названии органеллы. Мембраны грЭПС содержат особые белки, которые обеспечивают (1) связывание рибосом и (2) уплощение цистерн. Полость грЭПС содержит рыхлый материал умеренной плотности (продукты синтеза) и сообщается с перинуклеарным пространством. Благодаря грЭПС происходит отделение (*сегрегация*) вновь синтезированных белковых молекул от гиалоплазмы.

Агранулярная (гладкая) ЭПС представляет собой трехмерную замкнутую сеть мембранных анастомозирующих трубочек, канальцев, цистерн и пузырьков диаметром 20-100 нм, на поверхности которых рибосомы отсутствуют.

Функции аЭПС включают: (1) синтез липидов, в том числе мембранных (ферменты липидного синтеза располагаются на наружной - обращенной в сторону гиалоплазмы - поверхности мембраны аЭПС), (2) синтез гликогена, (3) синтез холестерина, (4) детоксикацию эндогенных и экзогенных веществ, (5) накопление ионов

Ca^{2+} , (б) восстановление кариолеммы в телофазе митоза (эта функция оспаривается авторами, считающими, что кариолемма восстанавливается за счет мембранных пузырьков, на которые она ранее распалась). Помимо указанных основных функций, в некоторых типах клеток аЭПС выполняет ряд дополнительных - например, в мегакариоцитах (гигантских клетках костного мозга) ее элементы образуют демаркационные каналы, разделяющие формирующиеся тромбоциты.

Способность аЭПС к накоплению ионов Ca^{2+} обусловлена наличием: (1) кальциевого насоса в ее мембране, который обеспечивает транспорт этих ионов из гиалоплазмы внутрь цистерн аЭПС; (2) кальцийсвязывающих белков (кальсеквестрина в мышечных клетках, кальретикулина - преимущественно в немышечных и др.), которые в просвете цистерн образуют комплекс с ионами Ca^{2+} и (3) кальциевых каналов в мембране аЭПС, которые осуществляют выведение Ca^{2+} в гиалоплазму.

Тема 2: Строение и функциональное значение комплекса Гольджи

Вопросы

1. Строение комплекса Гольджи.
2. Функции комплекса Гольджи.
3. Основные направления транспорта белков из комплекса Гольджи.

Комплекс Гольджи - сложно организованная мембранная органелла, образованная тремя основными элементами - (1) стопкой уплощенных мешочков (цистерн), (2) пузырьками и (3) вакуолями, или секреторными пузырьками. Комплекс этих элементов называется диктиосомой (от греч. diktyon - сеть); в некоторых клетках имеются множественные диктиосомы (до нескольких сотен). В специализированных секреторных клетках комплекс Гольджи располагается надъядерно под апикальной частью клетки, через которую происходит выделение секрета механизмом экзоцитоза. Нередко он лежит у ядра вблизи центриолей, в некоторых клетках его компоненты рассеяны по всей цитоплазме.

1. Цистерны имеют вид изогнутых дисков ("блюдец") диаметром 0,5-5 мкм и образуют стопку из 3-30 элементов, разделенных пространством 15-30 нм; выпуклой стороной стопка обычно обращена к ядру, вогнутой - к плазмолемме. Каждая группа

цистерн внутри стопки отличается особым составом ферментов, определяющим характер реакций процессинга белков. Периферические отделы цистерн несколько расширены от них отщепляются пузырьки и вакуоли. Механизм, удерживающий стопку в виде единого образования, неизвестен. При наличии в клетке множественных диктиосом их цистерны связаны друг с другом системой анастомозирующих и ветвящихся трубочек.

2. *Пузырьки* - сферические окруженные мембраной элементы диаметром 40-80 нм с содержимым умеренной плотности; образуются путем отщепления от цистерн.

3. *Вакуоли* - крупные (диаметр – 0,1-1,0 мкм), окруженные мембраной сферические образования, отделяющиеся от цистерны на зрелой поверхности комплекса Гольджи в некоторых железистых клетках. Они содержат секреторный продукт умеренной плотности, находящийся в процессе конденсации (*конденсирующие вакуоли*).

Полярность комплекса Гольджи. Комплекс Гольджи представляет собой *поляризованную структуру*, в которой выделяют *две поверхности*, обладающие структурными и функциональными различиями:

(а) *цис-* (от лат. *cis* - по эту сторону), *незрелую, формирующуюся* - выпуклой формы, обращенную к ЭПС и связанную с системой мелких (транспортных) пузырьков, отщепляющихся от ЭПС;

(б) *транс-* (от лат. *trans* - по ту сторону), *зрелую* - вогнутой формы, обращенную к плазмолемме и связанную с отделяющимися от цистерн вакуолями. Между цистернами *цис-* и *транс-*поверхностей располагаются цистерны медиальной части комплекса Гольджи.

Транспорт веществ в комплексе Гольджи. Белки проникают в стопку цистерн комплекса Гольджи из транспортных пузырьков с *цис-поверхности*, а выходят в вакуолях с *транс-поверхности*; каким образом осуществляется их перенос внутри комплекса, в ходе которого происходит их процессинг, остается неизвестным. Возможные пути этого транспорта описываются двумя моделями:

1) *модель перемещения цистерн* постулирует, что за счет слияния транспортных пузырьков на *цис-поверхности* непрерывно происходит *новообразование* цистерн (что легло в основу термина "*формирующаяся поверхность*"), в дальнейшем *смещающихся* к *транс-поверхности*, по достижении которой они распадаются на ва-

куоли ("*зрелая поверхность*"). Согласно этой модели, одни операции процессинга сменяются другими при перемещении самой цистерны по ходу изменений ее состава. Транспорт веществ из одной цистерны в другую, в соответствии с описанной моделью, отсутствует;

2) *модель везикулярного транспорта* предполагает, что цистерны *не меняют своего расположения* (остаются постоянно на своем месте), а *продукты синтеза переносятся* от цис- к транс-поверхности в пузырьках (везикулах), которые отпочковываются от предшествующей цистерны, сливаясь с последующей.

Функции комплекса Гольджи:

1. *синтез полисахаридов и гликопротеинов* (гликокаликса, слизи);
2. *процессинг молекул: включение углеводных компонентов в гликопротеины*, транспортируемые из грЭПС (*терминальное гликозилирование*), добавление фосфатных групп (*фосфорилирование*), жирных кислот (*ацилирование*), сульфатных остатков (*сульфатирование*), частичное расщепление белковых молекул (*протеолитическая доработка*). Каждый их указанных этапов процессинга веществ внутри комплекса Гольджи осуществляется в топографически определенном его компоненте (цис-, медиальных или транс-цистернах, а также сети транс-Гольджи);
3. *конденсация секреторного продукта* (в конденсирующих вакуолях) и образование секреторных гранул;
4. *обеспечение новообразованных гранул мембраной* (синтезированной в ЭПС) и упаковка в нее секреторных продуктов; в процессе секреции эта мембрана встраивается в плазмолемму, увеличивая площадь ее поверхности;

Транспорт белков из комплекса Гольджи осуществляется в составе трех важнейших потоков: (1) *в гидролизные пузырьки* (ранее называемые *первичными лизосомами*) - начально в виде окаймленных пузырьков, (2) *в плазмолемму* (в составе окаймленных пузырьков) и (3) *в секреторные гранулы* (в виде окаймленных пузырьков, утрачивающих в дальнейшем оболочку).

Тема 3: Строение и принципы функционирования системы внутриклеточного переваривания

Вопросы

1. *Строение и функциональное значение эндосом.*
2. *Строение и функциональное значение лизосом.*
3. *Строение и функциональное значение пероксисом.*

Аппарат внутриклеточного переваривания представлен системой особых органелл - мембранных пузырьков с кислым содержимым - **эндосом** (от греч. endo - внутри и soma - тело) и **лизосом** (от греч. lysis - разрушение и soma - тело), которые обеспечивают катаболические процессы в цитоплазме клетки. **Функция аппарата внутриклеточного переваривания** состоит в регулируемом внутриклеточном расщеплении макромолекул внеклеточного и внутриклеточного происхождения.

Объединение эндосом и лизосом в единую систему основано на наличии в их мембране АТФ-зависимого протонного насоса, вызывающего закисление среды внутри этих органелл. Низкие значения рН активируют ферменты - кислые гидролазы, которые транспортируются особыми гидролизными пузырьками, образующимися в комплексе Гольджи.

Мембрана эндосом и лизосом (толщиной около 6 нм) помимо наличия протонного насоса обладает рядом других важных свойств:

(1) она содержит рецепторы, обуславливающие ее связывание с мембраной гидролазных и транспортных пузырьков, а также фагосом, (2) обеспечивает свободную диффузию низкомолекулярных продуктов переваривания макромолекул в гиалоплазму, (3) в неповрежденном состоянии представляет собой барьер, резистентный к действию литических ферментов и препятствующий их утечке в гиалоплазму.

Эндосомы - мембранные пузырьки с постепенно закисляющимся содержимым, которые обеспечивают перенос макромолекул с поверхности клетки в лизосомы и их частичный или полный гидролиз на стадиях, предшествующих лизосомальному уровню деградации. В связи с указанными свойствами совокупность эндосом в настоящее время считают не просто механизмом транспорта веществ в клетке (как полагали ранее), а частью системы их переваривания ("**внутриклеточного пищеварительного тракта**"), в которую входят также лизосомы.

Процесс переноса веществ системой эндосом (по эндоцитозному пути) может протекать (а) с полным перевариванием макромолекул, (б) с их частичным расщеплением или (в) без изменений по ходу транспорта в лизосому. Способность к

перевариванию в эндосомах обеспечивается благодаря тому, что *кислые гидролазы* вносятся в эндоцитозный путь уже на самых ранних его этапах.

Путь транспорта и деградации веществ в клетке можно описать последовательностью: *ранняя (периферическая) эндосома* → *поздняя (перинуклеарная) эндосома* → *лизосома*.

Ранние (периферические) эндосомы являются мембранными пузырьками на *ранних* этапах после их отделения от плазмолеммы (но уже после утраты первоначально имевшейся клатриновой оболочки). Они располагаются неподалеку от плазмолеммы в *периферических* отделах цитоплазмы. В них в условиях *слабокислой* среды (рН 6.0) осуществляется *ограниченное и регулируемое* переваривание макромолекул протеазами, которые были внесены в эндосому, по-видимому, еще на этапе ее формирования. В ранней эндосоме происходит *отщепление лигандов от рецепторов* с их *сортировкой* и возможным *возвращением* последних в специальных пузырьках в плазмолемму для повторного цикла их использования (*рециклирования* – от англ. recycling).

Поздние (перинуклеарные) эндосомы получили свое название благодаря тому, что они образуются *позднее* ранних и располагаются в глубоких отделах цитоплазмы *вблизи ядра*. Они достигают диаметра 600-800 нм и характеризуются сравнительно плотным матриксом. Их отличает от ранних эндосом *более кислое* содержимое (рН 5,5) и более *глубокий* уровень переваривания ферментами.

Гидролазные пузырьки (ранее называвшиеся первичными лизосомами) - округлые мембранные органеллы диаметром до 200-400 нм с мелкозернистым плотным матриксом, содержащие литические ферменты в *неактивной форме*. В большинстве клеток они имеют очень малые размеры (порядка 50 нм), а их надежная идентификация возможна лишь путем маркировки содержащихся в них ферментов.

Литические ферменты гидролазных пузырьков синтезируются и накапливаются в ЭПС, далее переносятся в комплекс Гольджи, где модифицируются и упаковываются в мембранные пузырьки, окруженные клатриновой оболочкой, впоследствии исчезающей. В настоящее время известно около 60 таких ферментов; все они представляют собой *кислые гидролазы* (гидролитические ферменты с оптимумом рН~5) и включают протеазы, нуклеазы, гликозидазы, липазы, фосфорилазы, фосфатазы и сульфатазы.

Лизосомы (ранее называемые вторичными лизосомами)- органеллы, активно участвующие в *завершающих этапах процесса внутриклеточного переваривания* захваченных клеткой макромолекул посредством широкого спектра литических ферментов при низких значениях рН (5.0 и ниже). Они формируются с участием *поздних эндосом*. Диаметр лизосом обычно составляет 0.5-2 мкм, а их форма и структура могут существенно варьировать в зависимости от характера перевариваемого материала. Как и в случае гидролазных пузырьков, они достоверно идентифицируются только на основании выявления в них *гидролитических ферментов*.

1) **Фаголизосома** формируется путем слияния *поздней эндосомы* или *лизосомы* с *фагосомой*, называемой также *гетерофагосомой* (от греч. heteros - другой, phagein - поедать и soma - тело) – мембранного пузырька, содержащего материал, захваченный клеткой извне и подлежащий внутриклеточному перевариванию; процесс разрушения этого материала называется *гетерофагией*;

2) **Аутофаголизосома** образуется при слиянии *поздней эндосомы* или *лизосомы* с *аутофагосомой* (от греч. autos - сам, phagein - поедать и soma - тело) - мембранным пузырьком, содержащим собственные компоненты клетки, подлежащие разрушению. Процесс переваривания этого материала называют *аутофагией*. Источником мембраны, окружающей клеточные компоненты, служит грЭПС.

3) **Мультивезикулярное тельце** (от лат. multi - много и vesicula - пузырек) представляет собой крупную (диаметром 200-800 нм) сферическую окруженную мембраной вакуоль, содержащую мелкие (40-80 нм) пузырьки, погруженные в светлый или умеренно плотный матрикс. Они образуются в результате слияния ранних эндосом с поздней, причем мелкие пузырьки формируются, вероятно, путем отпочковывания внутрь от мембраны вакуоли. Матрикс тельца содержит литические ферменты и, очевидно, обеспечивает постепенное разрушение внутренних пузырьков.

4) **Остаточные тельца** - лизосомы, содержащие *непереваренный материал*, которые могут длительно находиться в цитоплазме или выделять свое содержимое за пределы клетки. Распространенным типом остаточных телец в организме человека являются *липофусциновые гранулы* - мембранные пузырьки диаметром 0.3-3 мкм, содержащие труднорастворимый коричневый эндогенный пигмент *липофусцин*.

Пероксисомы (микротельца) по своему строению сходны с лизосомами. Они представляют собой *мембранные* сферические или удлинённые пузырьки диаметром

0.05-1.5 мкм с умеренно плотным однородным или мелкозернистым содержимым (*матриксом*), в котором иногда выявляется более плотная *сердцевина (нуклеоид)*, имеющая кристаллическое строение и состоящая из фибрилл и трубочек.

Матрикс пероксисом содержит до 15 ферментов, состав которых может варьировать. Наиболее важные из них - пероксидаза, каталаза (на которую приходится до 40% общего белка органеллы), оксидаза D-аминокислот и уратоксидаза. *Нуклеоид пероксисомы* соответствует области конденсации ферментов.

Образование пероксисом происходит в ЭПС, путем отпочковывания от элементов аЭПС; их ферменты синтезируются частично в грЭПС, частично - в гиалоплазме.

Функции пероксисом. Пероксисомы (наряду с митохондриями) - *главный центр утилизации кислорода в клетке*. В результате окисления аминокислот, углеводов и других соединений в клетках образуется сильный окислитель - *перекись водорода* (H_2O_2), которая далее благодаря действию *каталазы* пероксисом распадается с выделением кислорода и воды. Пероксисомы защищают клетку от действия перекиси водорода, оказывающей сильный повреждающий эффект.

ЛЕКЦИЯ 4

Тема 1: Система энергообеспечения клетки

Вопросы

1. *Обобщенные представления об органеллах, вырабатывающих энергию.*
2. *Строение и функциональное значение митохондрий.*
3. *Строение и функциональное значение пластид фотосинтезирующих эукариотических организмов.*

В клетках животных синтез АТФ осуществляется главным образом специальными органеллами, митохондриями; в растительных клетках кроме митохондрий в энергообеспечении огромную роль играют хлоропласты, представляющие собой один из видов пластид. Оба органоида имеют общий план строения и выполняют сходные функции. Митохондрии и пластиды - двухмембранные органоиды эукариотических клеток.

Общим в их строении является то, что они отделены от цитоплазмы (гиалоплазмы) двумя мембранами - внешней и внутренней. Поэтому у митохондрий и пла-

стид различают две полости (или два пространства): одну - между внешней и внутренней мембранами (межмембранные) и вторую, основную (матрикс), ограниченную внутренней мембраной. Другой же общей чертой является то, что внутренняя мембрана образует складки, мешки, гребни, глубокие впячивания, направленные внутрь матрикса. На таких мембранных гребнях и впячиваниях локализуются активные метаболические центры этих органелл - полиферментные комплексы, определяющие выполнение основных физиологических функций (окислительное фосфорилирование для митохондрий, фотофосфорилирование для хлоропластов).

Митохондрии представляют собой *мембранные полуавтономные органеллы, обеспечивающие клетку энергией*, получаемой благодаря процессам окисления и запасаемой в виде *фосфатных связей АТФ*. Митохондрии также участвуют в биосинтезе стероидов, окислении жирных кислот и синтезе нуклеиновых кислот.

Митохондрии могут иметь эллиптическую, сферическую, палочковидную, нитевидную и др. формы, которые могут изменяться в течение определенного времени. Их размеры составляют 0.2-2 мкм в ширину и 2-10 мкм в длину, а количество в различных клетках варьирует в широких пределах, достигая в наиболее активных 500-1000. В клетках печени (*гепатоцитах*) их число составляет около 800, а занимаемый ими объем равен примерно 20% объема цитоплазмы. На светооптическом уровне митохондрии выявляются в цитоплазме специальными методами и имеют вид мелких зерен и нитей (что обусловило их название - от греч. *mitos* - нить и *chondros* - зерно).

Митохондрии состоят из *наружной и внутренней мембран*, разделенных *межмембранным пространством*, и содержат *митохондриальный матрикс*, в который обращены складки внутренней мембраны – *кристы*.

(1) **наружная митохондриальная мембрана** напоминает плазмолемму и обладает высокой проницаемостью для молекул массой до 10 килодальтон, проникающих из цитозоля в межмембранное пространство. Она содержит много молекул специализированных *транспортных белков* (например, *порин*), которые формируют широкие гидрофильные каналы и обеспечивают ее высокую проницаемость, а также небольшое количество *ферментных систем*. На ней находятся *рецепторы*, распознающие белки, которые переносятся через обе митохондриальные мембраны в особых точках их контакта - *зонах слипания*.

(2) **внутренняя митохондриальная мембрана** отделена от наружной межмембранным пространством шириной 10-20 нм, которое содержит небольшое количество ферментов. В ее состав входят белки трех типов: (а) *транспортные белки*, (б) *ферменты дыхательной цепи и сукцинатдегидрогеназа (СДГ)*, (в) *комплекс АТФ-синтазы*.

Кристы - складки внутренней мембраны толщиной 20 нм; располагаются чаще всего перпендикулярно длиннику митохондрии, но могут лежать и продольно. Их число и площадь пропорциональны активности митохондрии. На кристах находятся *элементарные (грибовидные) частицы*, называемые также *оксисомами* или *F₁-частицами*, в количестве 10⁴-10⁵, состоящие из *головки* диаметром 9 нм и *ножки* толщиной 3 нм. На них происходит *сопряжение* процессов окисления и фосфорилирования.

Форма крист - в митохондриях большинства клеток - *пластинчатая (ламеллярная)*; в некоторых клетках встречаются кристы в виде трубочек и пузырьков - *тубулярно-везикулярные кристы*. Последний вариант характерен для клеток, синтезирующих *стероидные гормоны* (клетки коркового вещества надпочечников, фолликулярные клетки и клетки желтого тела яичника, клетки Лейдига яичка).

(3) **митохондриальный матрикс** - гомогенное мелкозернистое вещество умеренной плотности, заполняющее полость (*внутреннюю камеру*) митохондрии и содержащее несколько сотен *ферментов*: растворимые ферменты цикла Кребса (за исключением СДГ), ферменты, участвующие в окислении жирных кислот, ферменты белкового синтеза. В матриксе находятся также *митохондриальные рибосомы*, *митохондриальные гранулы* и *митохондриальная ДНК* (что отличает митохондрии от всех остальных органелл).

Митохондриальная ДНК (*мтхДНК*) - образует *собственный геном митохондрий*, на который приходится около 1% общего содержания ДНК в клетке и который включает 37 генов (в ядре клеток человека насчитывают примерно 100 тыс. генов). МтхДНК - кольцевой формы двунитчатая молекула ДНК длиной 5.5 мкм и толщиной 2 нм (в каждой митохондрии имеется 2-10 таких молекул). Она сходна с бактериальной ДНК и отличается от ядерной ДНК генетическим кодом, низким содержанием некодирующих последовательностей и отсутствием связи с гистонами.

Генетическая информация мтхДНК обеспечивает синтез лишь 5-6% митохондриальных белков, в частности, большей части ферментов электронтранспортной системы и некоторых ферментов синтеза АТФ.

Наследование мтхДНК у многих видов, включая человека, происходит *только от матери* (мтхДНК отца исчезает при образовании эмбриона).

Пластиды — это мембранные органоиды, встречающиеся у фотосинтезирующих эукариотических организмов (у высших растений, низших водорослей, некоторых одноклеточных организмов). Подобно митохондриям, пластиды окружены двумя мембранами; в их матриксе имеется собственная геномная система; функции пластид связаны с энергообеспечением клетки, идущим на нужды фотосинтеза. У высших растений найден целый набор различных пластид (хлоропласт, лейкопласт, амилопласт, хромопласт), представляющий собой ряд взаимных превращений одного вида пластиды в другой. Основной структурой, которая осуществляет фотосинтетические процессы, является хлоропласт.

Хлоропласт ограничен двумя мембранами — внешней и внутренней, которые отделены друг от друга межмембранным пространством около 20-30 нм. Каждая из мембран имеет толщину около 7 нм. Внутренняя мембрана хлоропластов, как и других пластид, образует складчатые впячивания внутрь **матрикса**, или **стромы**. В зрелом хлоропласте высших растений видны два типа внутренних мембран: 1) мембраны, образующие плоские, протяженные **ламеллы стромы**, 2) мембраны **тилакоидов** — плоских дисковидных вакуолей, или мешков.

В хлоропластах происходят фотосинтетические процессы, в результате которых связывается углекислота, выделяется кислород и синтезируются сахара.

Для хлоропластов характерно наличие пигментов хлорофиллов, которые обуславливают окраску зеленым растениям. При помощи хлорофилла зеленые растения поглощают энергию солнечного света и превращают ее в химическую. При поглощении световых лучей с определенной длиной волны изменяется структура молекулы хлорофилла, при этом она переходит в возбужденное, активированное состояние. Освобождающаяся энергия активированного хлорофилла через ряд промежуточных этапов передается определенным процессам, приводящим к синтезу АТФ и восстановлению акцептора электронов НАДФ (никотинамидадениндинуклеотид) до НАДФ·Н. Оба вещества используются в реакции связывания CO₂ и синтезе сахаров.

ЛЕКЦИЯ 5

Тема 1: Опорно-двигательная система клетки

Вопросы

1. Состав и функциональное значение цитоскелета.
2. Строение и функции микротрубочек.
3. Строение и функции клеточного центра.
4. Строение и функции ресничек и жгутика.
5. Строение и функции микрофиламентов и микроворсинок.

Цитоскелет представляет собой сложную динамичную систему микротрубочек, микрофиламентов, промежуточных филаментов и микротрабекул. Указанные компоненты цитоскелета являются немембранными органеллами; каждый из них образует в клетке трехмерную сеть с характерным распределением, которая взаимодействует с сетями из других компонентов.

Основные функции цитоскелета:

- 1 поддержание и изменение формы клетки;
- 2 распределение и перемещение компонентов клетки;
- 3 транспорт веществ в клетку и из нее;
- 4 обеспечение подвижности клетки;
- 5 участие в межклеточных соединениях.

Микротрубочки - наиболее крупные компоненты цитоскелета. Они представляют собой полые цилиндрические образования, имеющие форму трубочек, длиной до нескольких микрометров (в жгутиках более 50 нм) диаметром около 24-25 нм, с толщиной стенки 5 нм и диаметром просвета 14-15 нм.

Стенка микротрубочки состоит из спиралевидно уложенных нитей - протофиламентов толщиной 5 нм (которым на поперечном разрезе соответствуют 13 субъединиц), образованных димерами из белковых молекул α - и β -тубулина.

Функции микротрубочек:

- (1) поддержание формы и полярности клетки, распределения ее компонентов,
- (2) обеспечение внутриклеточного транспорта,

(3) обеспечение движения ресничек, хромосом в митозе (формируют ахроматиновое веретено, необходимое для клеточного деления),

(4) образование основы других органелл (центриолей, ресничек).

Клеточный центр образован двумя полыми цилиндрическими структурами длиной 0.3-0.5 мкм и диаметром 0.15-0.2 мкм - *центриолями*, которые располагаются вблизи друг друга во взаимно перпендикулярных плоскостях. Каждая центриоль состоит из 9 *триплетов* частично слившихся микротрубочек (А, В и С), связанных поперечными белковыми мостиками ("ручками"). В центральной части центриоли микротрубочки отсутствуют (по некоторым данным, здесь имеется особая центральная нить), что описывается общей формулой $(9 \times 3) + 0$. Каждый триплет центриоли связан со сферическими тельцами диаметром 75 нм - *сателлитами*; расходящиеся от них микротрубочки образуют *центросферу*.

Реснички и жгутики - органеллы специального значения, участвующие в процессах, движения, - представляют собой выросты цитоплазмы, основу которых составляет *каркас из микротрубочек*, называемый *осевой нитью*, или *аксонемой* (от греч. axis - ось и нема – нить).

Аксонема образована 9 периферическими парами микротрубочек и одной центрально расположенной парой; такое строение описывается формулой $(9 \times 2) + 2$. Внутри каждой периферической пары за счет частичного слияния микротрубочек одна из них (А) полная, вторая (В) - неполная (2-3 димера общие с микротрубочкой А).

Центральная пара микротрубочек окружена *центральной оболочкой*, от которой к периферическим дублетам расходятся *радиальные спицы*. Периферические дублеты связаны друг с другом мостиками *нексина*, а от микротрубочки А к микротрубочке В соседнего дублета отходят "ручки" из белка *динеина*, который обладает активностью АТФазы.

Биение реснички и жгутика обусловлено скольжением соседних дублетов в аксонеме, которое опосредуется движением динеиновых ручек.

Базальное тельце, по своему строению сходное с центриолью, лежит в основании каждой реснички или жгутика.

Микрофиламенты - тонкие белковые нити диаметром 5-7 нм, лежащие в цитоплазме *поодиночке*, в виде *сетей* или *пучками*.

Функции микрофиламентов:

(1) обеспечение сократимости мышечных клеток (при взаимодействии с миозином);

(2) обеспечение функций, связанных с кортикальным слоем цитоплазмы и плазмолеммой (экзо- и эндоцитоз, образование псевдоподий и миграция клетки);

(3) перемещение внутри цитоплазмы органелл, транспортных пузырьков и других структур благодаря взаимодействию с некоторыми белками (минимиозином), связанными с поверхностью этих структур;

(4) обеспечение определенной жесткости клетки за счет наличия кортикальной сети, которая препятствует действию деформаций, но сама, перестраиваясь, способствует изменениям клеточной формы;

(5) формирование сократимой перетяжки при цитотомии, завершающей клеточное деление;

(6) образование основы ("каркаса") некоторых органелл (микроворсинок, стереоцилий).

(7) участие в организации структуры межклеточных соединений (опоясывающих десмосом).

Микроворсинки - пальцевидные выросты цитоплазмы клетки диаметром 0.1 мкм и длиной 1 мкм, основу которых образуют актиновые микрофиламенты. Микроворсинки обеспечивают многократное увеличение площади поверхности клетки, на которой происходит расщепление и всасывание веществ. На апикальной поверхности некоторых клеток, активно участвующих в указанных процессах (в эпителии тонкой кишки и почечных канальцев) имеется до нескольких тысяч микроворсинок, образующих в совокупности щеточную каемку.

Каркас каждой микроворсинки образован пучком, содержащим около 40 микрофиламентов, лежащих вдоль ее длинной оси.

Тема 2: Включения цитоплазмы и вещества запаса в растительных и животных клетках

Вопросы

1. Классификация включений.
2. Характеристика трофических включений.
3. Особенности секреторных и экскреторных включений.
4. Характеристика пигментных включений.

Включения цитоплазмы - временные ее компоненты, обусловленные накоплением продуктов метаболизма клеток. Традиционно подразделяются на *трофические, секреторные, экскреторные и пигментные*.

Трофические включения разделяют в зависимости от природы накапливаемого вещества. *Липидные включения* встречаются в виде липидных капель (особенно крупных в жировых клетках), которые располагаются в цитоплазме по отдельности или сливаются друг с другом. Их вид на электронно-микроскопических фотографиях варьирует в зависимости от способа фиксации. На гистологических препаратах они обычно имеют вид светлых ("пустых") вакуолей, так как при стандартных методах обработки ткани липиды растворяются. Липидные капли служат источником веществ, используемых в качестве энергетических субстратов; в некоторых клетках (например, продуцирующих стероидные гормоны) они могут содержать субстраты, необходимые для последующего синтеза. Из *углеводных трофических включений* наиболее распространены *гранулы гликогена*, представляющего собой полимер глюкозы. Они встречаются в виде плотных гранул диаметром 20-30 нм (*β-частиц*), которые часто образуют скопления (*розетки*), называемые *α-частицами*. Гранулы гликогена часто расположены вблизи аЭПС и используются в качестве источника энергии.

Секреторные включения обычно имеют вид мембранных пузырьков, содержащих секретиремый клеткой продукт; в мембране могут находиться ферменты, осуществляющие конечный процессинг продукта по мере перемещения пузырька к плазмолемме. Избыток не востребованного секреторного продукта поглощается и разрушается в цитоплазме клетки механизмом *кринофагии*.

Экскреторные включения по своему строению сходны секреторными, однако они содержат вредные продукты метаболизма, подлежащие удалению из клетки.

Пигментные включения представляют собой скопления *эндогенных или экзогенных пигментов*, которые могут окружаться мембраной. К наиболее распространенным эндогенным пигментам относятся *гемоглобин* (растворен в цитоплазме эритроцитов, переносит кислород), *гемосидерин* (продукт обмена гемоглобина, накапливается в макрофагах в виде мелких плотных частиц *ферритина*), *меланин* (синтезируется в пигментных клетках - меланоцитах, в которых он накапливается и химически дозревает в окруженных мембраной гранулах - меланосомах); *липофусцин* (пигмент

старения, накапливается в виде мембранных гранул с плотным содержимым, в котором определяются липидные капли).

ЛЕКЦИЯ 6

Тема: Строение и функциональное значение ядра

Вопросы

1. *Общая морфология ядра на световом и электронно-микроскопическом уровнях.*
2. *Строение и функции кариолеммы, комплекса ядерной коры, хроматина, кариоплазмы и ядрышка.*

Ядро является важнейшим компонентом клетки, содержащим ее *генетический аппарат*.

Функции ядра:

1 *хранение генетической информации* (в молекулах ДНК, находящихся в хромосомах);

2 *реализацию генетической информации*, контролирующей осуществление разнообразных процессов в клетке - от синтетических до запрограммированной гибели (апоптоза);

3 *воспроизведение и передачу генетической информации* (при делении клетки).

Ядерная оболочка (кариолемма) на светооптическом уровне практически не определяется; под электронным микроскопом обнаруживается, что она состоит из *двух мембран - наружной и внутренней*, - разделенных полостью шириной 15-40 нм (*перинуклеарным пространством*) и смыкающихся в области *ядерных пор*.

Наружная мембрана составляет единое целое с мембранами грЭПС - на ее поверхности имеются рибосомы, а перинуклеарное пространство соответствует полости цистерн грЭПС и может содержать синтезированный материал. Со стороны цито-

плазмы наружная мембрана окружена рыхлой сетью промежуточных (*виментиновых*) *филаментов*.

Внутренняя мембрана - гладкая, ее интегральные белки связаны с ядерной пластинкой - *ламиной* - слоем толщиной 80-300 нм, состоящим из переплетенных промежуточных филаментов (*ламинов*), образующих кариоскелет. Ламина играет очень важную роль в: (1) поддержании *формы* ядра; (2) упорядоченной укладке *хроматина*; (3) структурной организации *паровых комплексов*; (4) *формировании кариолеммы* при делении клеток.

Ядерные поры занимают 3-35% поверхности ядерной оболочки. Они более многочисленны в ядрах интенсивно функционирующих клеток и отсутствуют в ядрах спермиев. Поры содержат два параллельных кольца (по одному с каждой поверхности кариолеммы) диаметром 80 нм, которые образованы *8 белковыми гранулами*. От этих гранул к центру сходятся *фибриллы*, формирующие *перегородку (диафрагму)* толщиной около 5 нм, в середине которой лежит *центральная гранула* (по некоторым представлениям, это - транспортируемая через пору субъединица рибосомы). Совокупность структур, связанных с ядерной порой, называется *комплексом ядерной поры*. Последний образует водный канал диаметром 9 нм, по которому движутся мелкие водорастворимые молекулы и ионы.

Функции комплекса ядерной поры:

1. *Обеспечение регуляции избирательного транспорта* веществ между цитоплазмой и ядром.

2. *Активный перенос в ядро белков*, имеющих особую маркировку в виде так называемой последовательности ядерной локализации - Nuclear Localization Sequence (NLS), распознаваемой рецепторами NLS (в комплексе поры).

3. *Перенос в цитоплазму субъединиц рибосом*, которые, однако, слишком велики для свободного прохождения пор; их транспорт, вероятно, сопровождается изменением конформации перового комплекса.

Хроматин (от греч. *chroma* - краска) мелкие зернышки и глыбки материала, который обнаруживается в ядре клеток и окрашивается основными красителями. Хроматин состоит из *комплекса ДНК и белка* и соответствует хромосомам, которые в интерфазном ядре представлены длинными, тонкими перекрученными нитями и неразличимы как индивидуальные структуры. Выраженность спирализации каждой из

хромосом неодинакова по их длине. Различают два вида хроматина - *эухроматин* и *гетерохроматин*.

Эухроматин соответствует сегментам хромосом, которые *деспирализованы и открыты для транскрипции*. Эти сегменты *не окрашиваются* и не видны в световой микроскоп.

Гетерохроматин соответствует *конденсированным, плотно скрученным* сегментам хромосом (что делает их *недоступными для транскрипции*). Он *интенсивно окрашивается* основными красителями, и в световом микроскопе имеет вид гранул.

Тельце Барра - скопление гетерохроматина, соответствующее одной X- хромосоме у особей женского пола, которая в интерфазе плотно скручена и неактивна. В большинстве клеток оно лежит у кариолеммы, а в гранулоцитах крови имеет вид маленькой добавочной дольки ядра ("*барабанной палочки*"). Выявление тельца Барра (обычно в эпителиальных клетках слизистой оболочки полости рта) используется как диагностический тест для определения генетического пола (обязателен, в частности, для женщин, участвующих в Олимпийских Играх).

Уровни упаковки хроматина. Начальный уровень упаковки хроматина, обеспечивающий образование *нуклеосомной нити* диаметром 11 нм, обусловлен намоткой двойной нити ДНК (диаметром 2 нм) на блоки дисковидной формы из 8 гистоновых молекул (*нуклеосомы*). Нуклеосомы разделены короткими участками свободной ДНК. Второй уровень упаковки также обусловлен гистонами и приводит к скручиванию нуклеосомной нити с формированием *хроматиновой фибриллы* диаметром 30 нм. В интерфазе хромосомы образованы хроматиновыми фибриллами, причем каждая хроматида состоит из одной фибриллы. При дальнейшей упаковке хроматиновые фибриллы образуют *петли (петельные домены)* диаметром 300 нм, каждый из которых соответствует одному или нескольким генам, а те, в свою очередь, в результате еще более компактной укладки, формируют участки конденсированных хромосом, которые выявляются лишь при делении клеток.

Ядрышко образовано специализированными участками (*петлями*) хромосом, которые называются *ядрышковыми организаторами*. У человека такие участки имеются в пяти хромосомах - 13-й, 14-й, 15-й, 21-й и 22-й, где располагаются многочисленные копии генов, кодирующих рибосомальные РНК (рРНК). Ядрышко исчезает в

профазе митоза, когда ядрышковые организаторы "растаскиваются" в ходе конденсации соответствующих хромосом, вновь формируясь в телофазе.

Функции ядрышка заключаются в *синтезе рРНК* и ее сборке в *предшественники рибосомальных субъединиц*.

Ядрышко выявляется в интерфазном ядре на светооптическом уровне как мелкая плотная гранула диаметром 1-3 мкм, *интенсивно окрашивающаяся основными красителями*. Оно располагается в центре ядра или эксцентрично, содержит *высокие концентрации РНП*. Размеры и число ядрышек увеличиваются при повышении функциональной активности клетки. Особенно крупные ядрышки характерны для эмбриональных и активно синтезирующих белки клеток, а также клеток быстрорастущих злокачественных опухолей.

Под электронным микроскопом в ядрышке обнаруживают три компонента - *фибрилярный, гранулярный и аморфный*.

Кариоплазма (ядерный сок) - жидкий компонент ядра, в котором располагаются хроматин и ядрышко. Содержит воду и ряд растворенных и взвешенных в ней веществ: РНК, гликопротеинов, ионов, ферментов, метаболитов.

ЛЕКЦИЯ 7

Тема: Механизмы клеточного деления

Вопросы

1. Понятия о клеточном цикле.
2. Общая организация митоза.
3. Характеристика кариотипирования.

Клеточный цикл - совокупность явлений между двумя последовательными делениями клетки или между ее образованием и гибелью. Клеточный цикл включает собственно *митотическое деление* и *интерфазу* - промежуток между делениями.

Интерфаза значительно более длительна, чем митоз (обычно занимает не менее 90% всего времени клеточного цикла) и подразделяется на три периода: *пре-синтетический* или *постмитотический* (G_1), *синтетический* (S) и *постсинтетический* или *премитотический* (G_2).

1. Пресинтетический или **постмитотический** (G_1 -) **период** (от англ. gap - промежуток) наступает сразу же после митотического деления клетки и характеризуется *активным ростом клетки и синтезом белка и РНК*, благодаря чему клетка *достигает нормальных размеров и восстанавливает необходимый набор органелл*.

2. Синтетический (S -) **период** характеризуется *удвоением содержания (репликацией) ДНК и синтезом белков*.

3. Постсинтетический или **премитотический** (G_2 -) **период** следует за S -периодом и продолжается вплоть до митоза (часто обозначаемого буквой М). В течение этого периода клетка осуществляет непосредственную подготовку к делению.

Митоз (от греч. mitos - нить), называемый также **кариокинезом**, или **непрямым делением** клеток, является универсальным механизмом деления клеток. Митоз следует за G_2 -периодом и завершает клеточный цикл. Он длится 1-3 часа и *обеспечивает равномерное распределение генетического материала в дочерние клетки*. Митоз включает 4 основные фазы: *профазу, метафазу, анафазу и телофазу*.

Кариотипирование - диагностическое исследование с целью оценки *кариотипа* (набора хромосом) производится путем изучения хромосом в *метафазной пластинке*. Для кариотипирования получают культуру клеток, в которую вводят колхицин - вещество, блокирующее формирование митотического веретена. Из таких клеток извлекают хромосомы, которые далее окрашивают и идентифицируют.