



Лекция 1. Введение в цитологию.

Развитие цитологии



Роберт Гук
(1635-1703)



Антони ван
Левенгук
(1632-1732)



Роберт Броун
(1773 -1858)

Роберт Гук в 1665 г. «Исследование строения пробки с помощью увеличительных линз».
Антони ван Левенгук основоположник научной микроскопии, в 1680 г. описал ядро в
клетке животного.

Роберт Броун в 1831 г. описал ядро в растительной клетке.

Цитология

(греч. κύτος — «клетка» и λόγος — «учение»)
- раздел биологии, изучающий живые клетки,
их происхождение, развитие, строение и
функционирование.

Синонимы: клеточная биология, биология клетки.

Уровни организации живой материи

- Молекулярный
- **Клеточный**
- Тканевой
- Органный
- Организменный
- Популяционно-видовой
- Биогеоценозный
- Биосферный

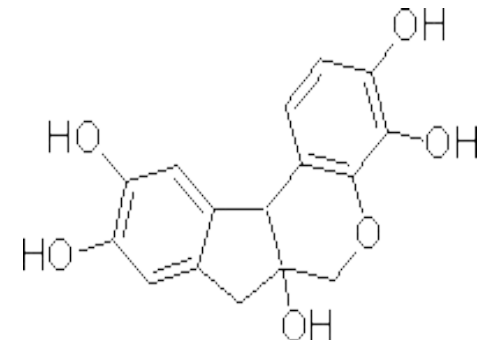
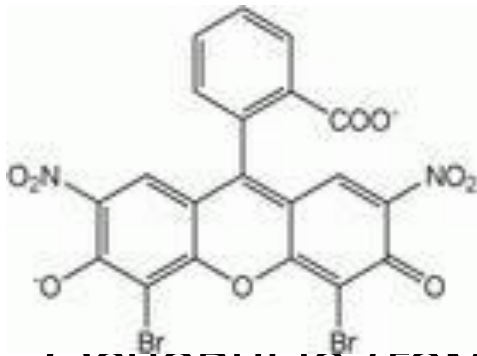
Красители

- Кислые (эозин, оранжевый G)



Окрашивают структуры, несущие положительный заряд.

Способность окрашиваться кислыми красителями – оксифилия, ацидофилия (цитоплазма большинства клеток).



- Основные (гематоксилин, метиленовый синий, азур II):



Окрашивают структуры несущие отрицательный заряд.

Способность окрашиваться основными красителями – базофилия (ядро, рибосомы, грЭПС)

Особенности окрашенных клеток

Метахромазия - изменение цвета красителя при его связывании с некоторыми структурами (молекулами) клетки.

Артефакты - структуры, возникающие в клетках в результате манипуляций исследователя и отсутствующие в нативных клетках.

Тинкториальные свойства клетки – способность клетки окрашиваться тем или иным красителем.

Принципы окрашивания

- **Витальное** – окрашивание клеток путем введения красителя в организм животного.
- **Суправитальное** – окрашивание нефиксированных клеток, выделенных из организма.
- **Поствитальное** – окрашивание фиксированных клеток.

Развитие микроскопии

В Нидерландах Захарий и Ханс Янсены в 1590 г. смонтировали две выпуклые линзы внутри одной трубки (Ув. от 3 до 10 раз).

Галилей в 1610 г. сконструировал микроскоп путем сочетания в свинцовой трубке выпуклой и вогнутой линз.



Микроскопия

- **Разрешающая способность** - минимальное расстояние между двумя точками объекта, на котором они воспринимаются раздельно (размер минимально видимой структуры).
- **Увеличение** – соотношение между линейными размерами изображения изучаемого объекта и его истинными размерами. Определяется как произведение увеличения окуляра на увеличение объектива.

Ограничение световой микроскопии

В 1872 г. Э. Аббе описал физически разрешенный предел световой микроскопии.

$$d = \frac{\lambda}{2n \sin \alpha}$$

Выявляются только структуры, которые:

- поглощают или отражают свет;
- смещают свет по фазе;
- поворачивают плоскость поляризации света.



Ernst Abbe
(1840-1905)

Виды световой микроскопии

Fluorescence



Bright-field



Polarised



Dark-field



DIC

Phase contrast

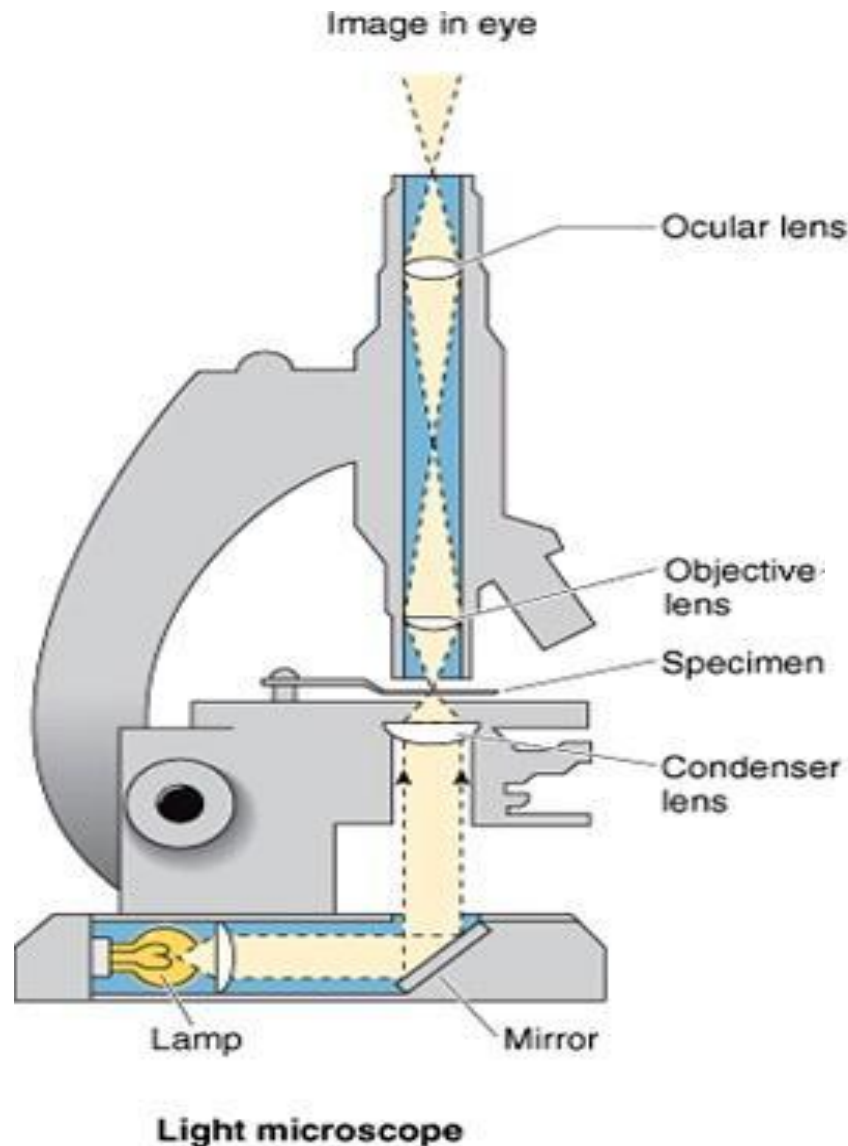


Устройство светового микроскопа



Светлопольная микроскопия

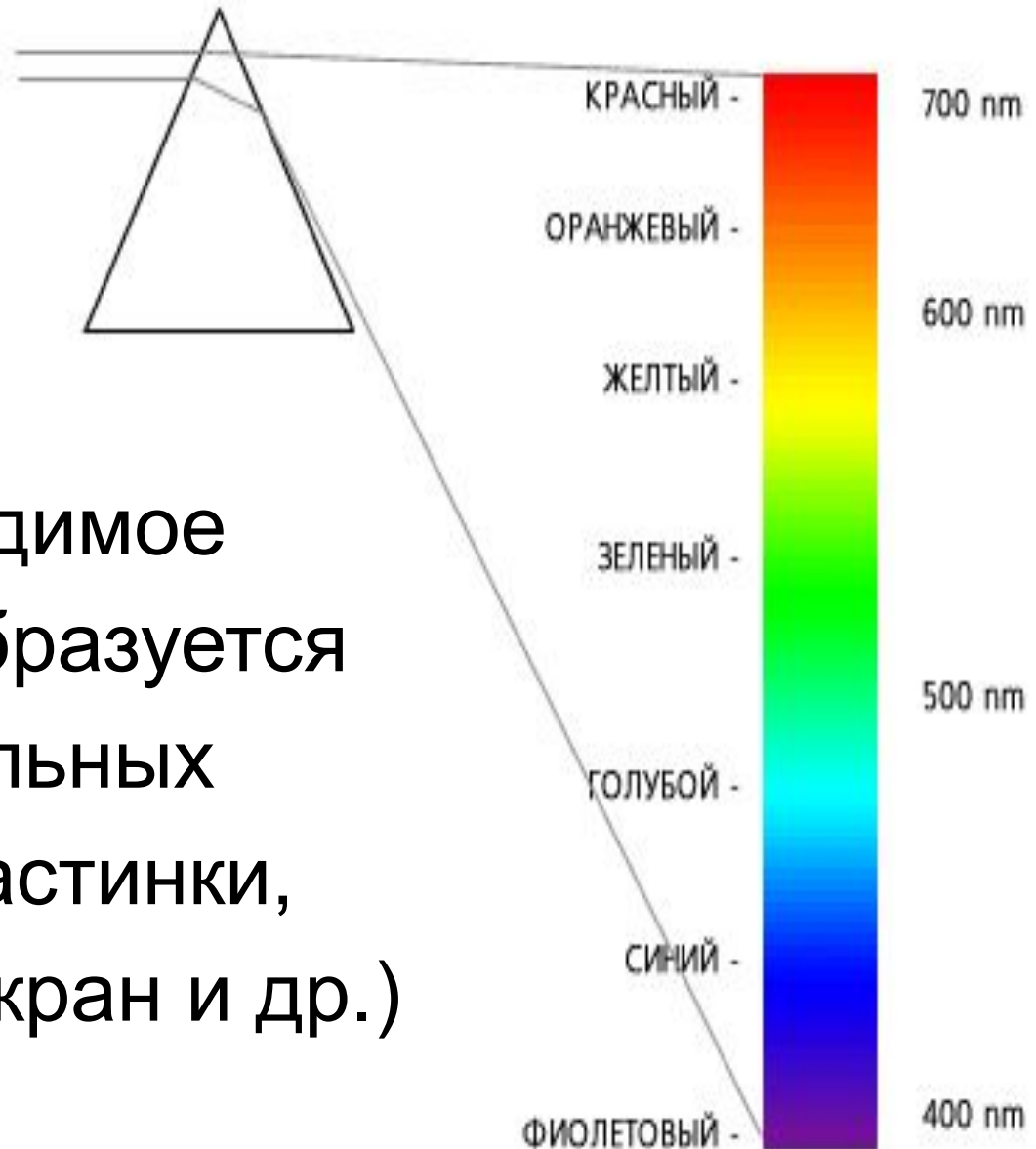
В отсутствие препарата пучок света из конденсора, проходя через объектив, даёт вблизи фокальной плоскости окуляра равномерно освещенное поле. При наличии в препарате поглощающих свет структур происходит частичное поглощение и частичное рассеивание падающего света, что обуславливает изображения.



Ультрафиолетовая микроскопия

- Объект освещается УФ-лучами.

- Полученное невидимое изображение преобразуется с помощью специальных устройств (фотопластинки, люминесцентный экран и др.)

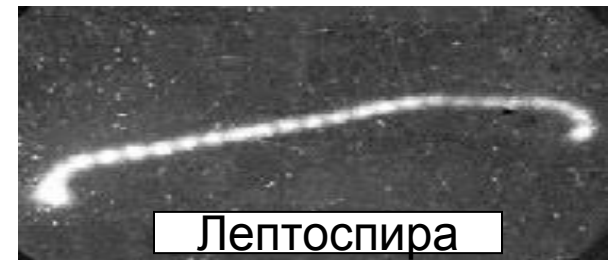
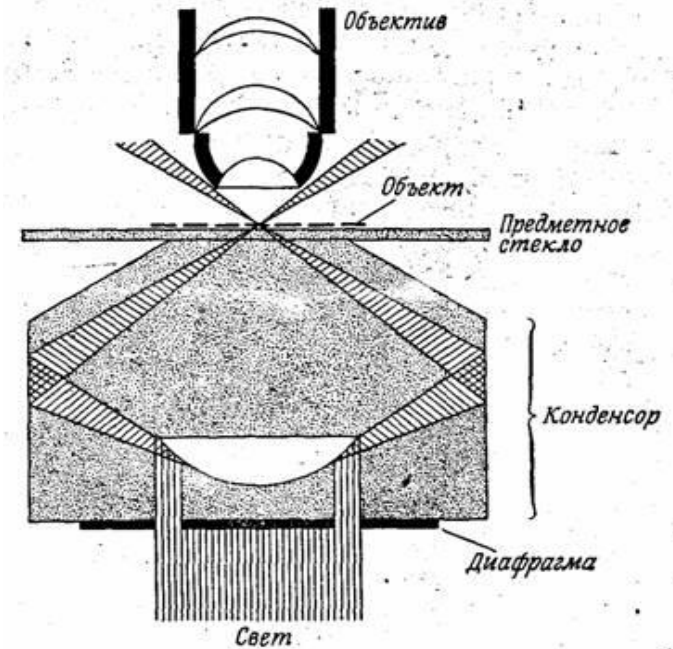


Темнопольная микроскопия

- это микроскопическое исследование с помощью темнопольного микроскопа (темнопольного конденсора).

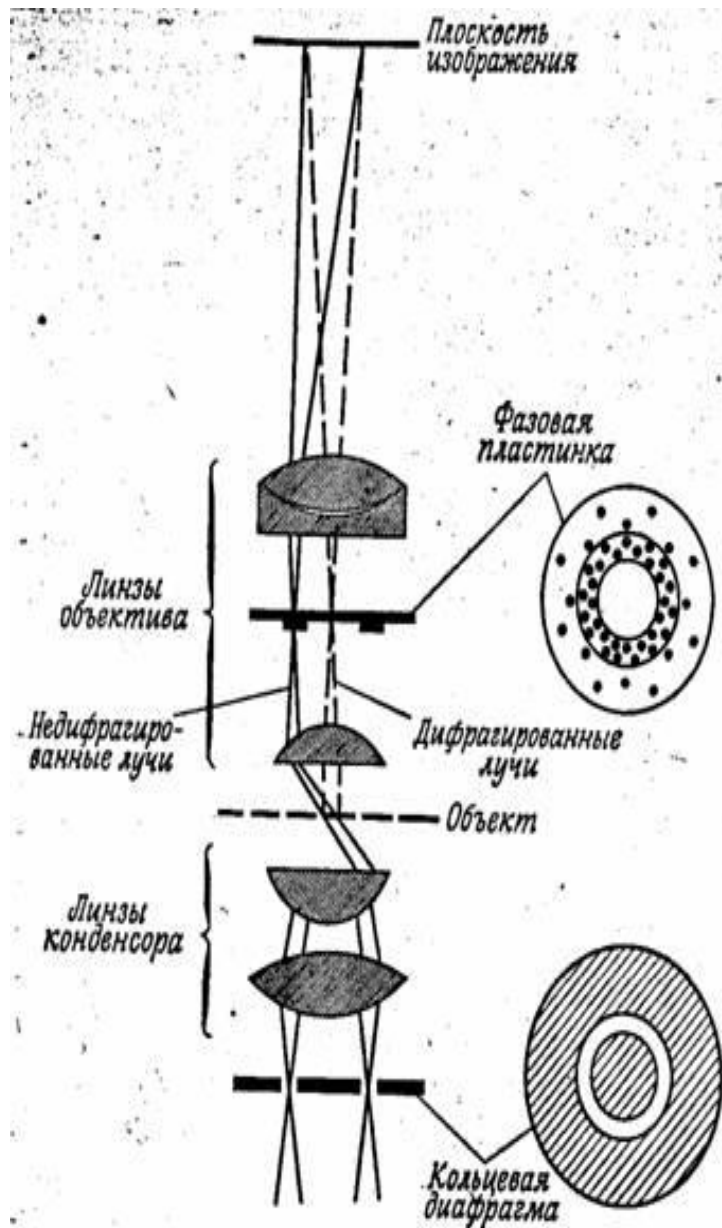
Центральная часть темнопольных конденсоров затемнена и прямые лучи от осветителя в объектив микроскопа не попадают.

Объект освещается косыми боковыми лучами и в объектив микроскопа попадают только лучи, рассеянные частицами, находящимися в препарате.



Фазово-контрастная микроскопия

При прохождении света через образец меняется фаза колебания фотонов. Изменения фазы преобразуется микроскопом (кольцевая диафрагма, фазовая пластинка объектива) в изменения амплитуды света.



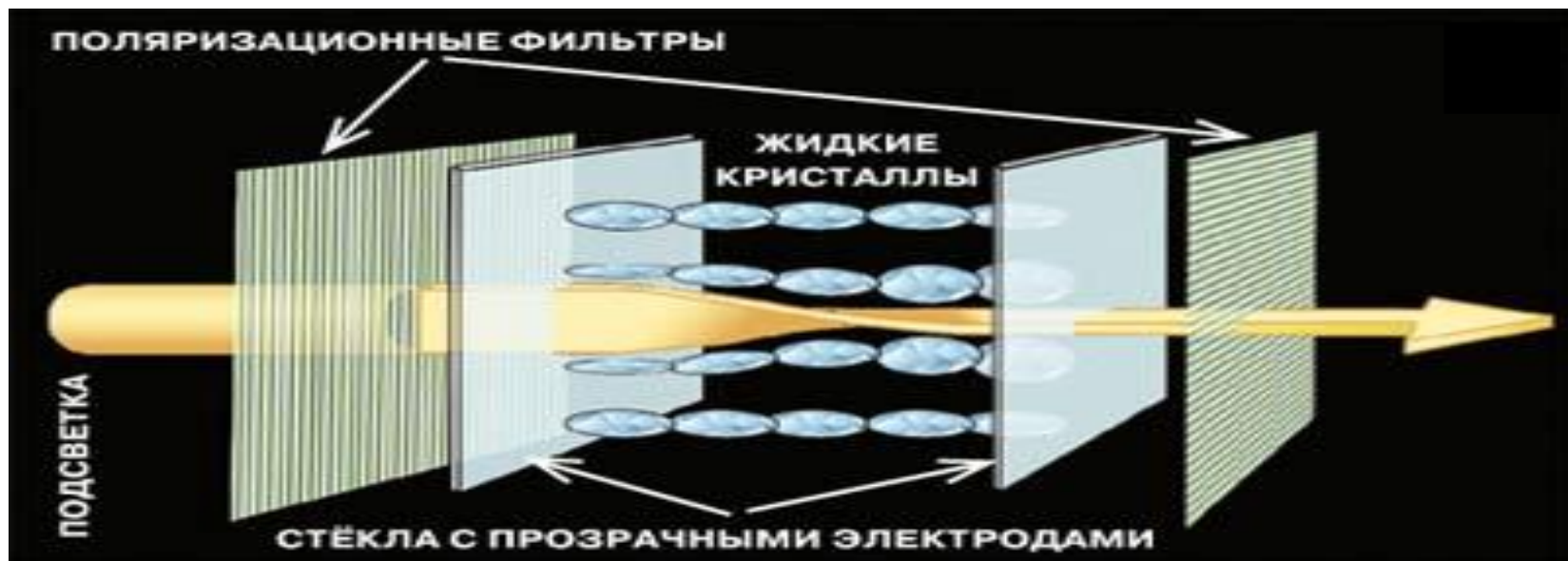
Дифференциально-интерференционная микроскопия

Пучок света от осветителя разделяется на два. Один проходит через объект и изменяется по фазе, другой минует объект. В призмах объектива два пучка интерферируют. В результате строится изображение, при котором участки разной толщины и плотности отличаются по степени контрастности.



Поляризационная микроскопия

Используется только для анизотропных объектов. На объект падает поляризованный свет, который, пройдя объект, попадает на анализатор, устройство определяющее отклонение плоскости поляризации от исходной. Выявляет строго упорядоченно расположенные структуры в объекте.

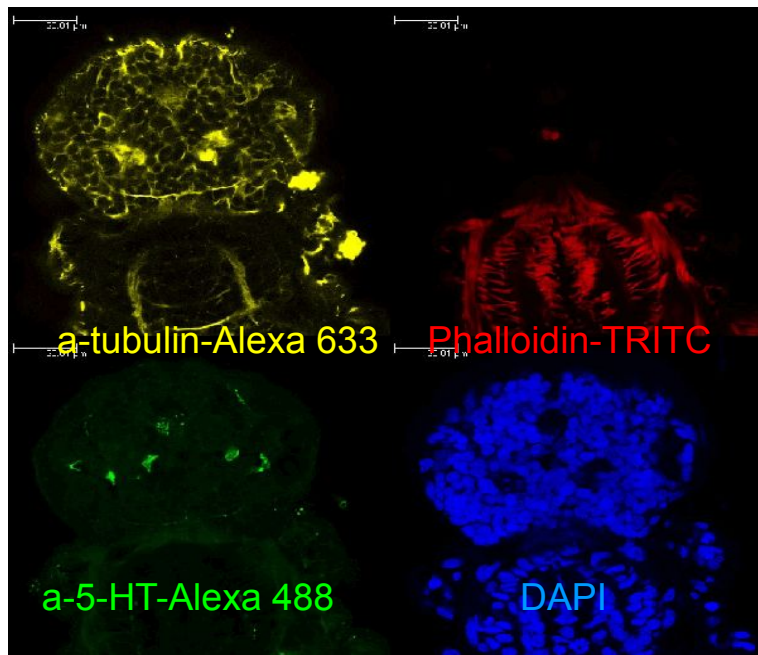


Люминесцентная микроскопия

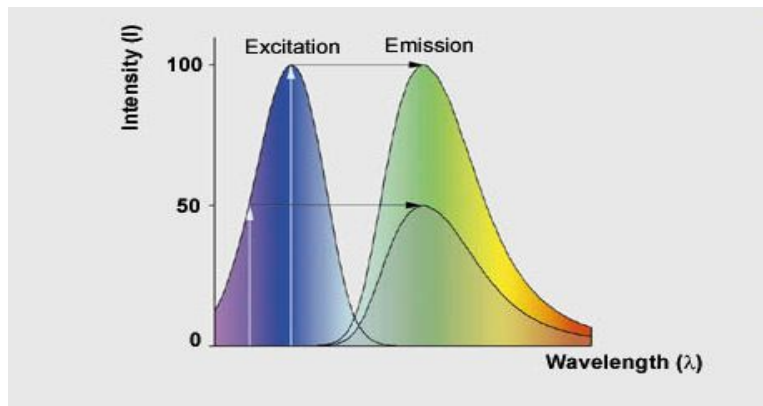
В основе метода лежит способность различных веществ, входящих в состав исследуемого объекта испускать свет, после их облучения.

Флуоресценция:

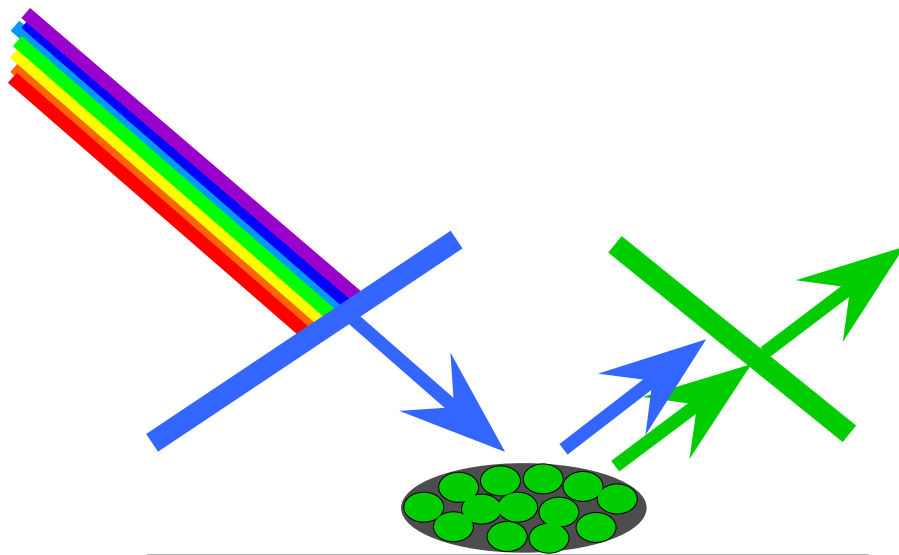
- Первичная (автофлуоресценция): серотонин, адреналин.
- Вторичная (наведенная) обработка образца флуорохромами (родамин, флуоресцеин).



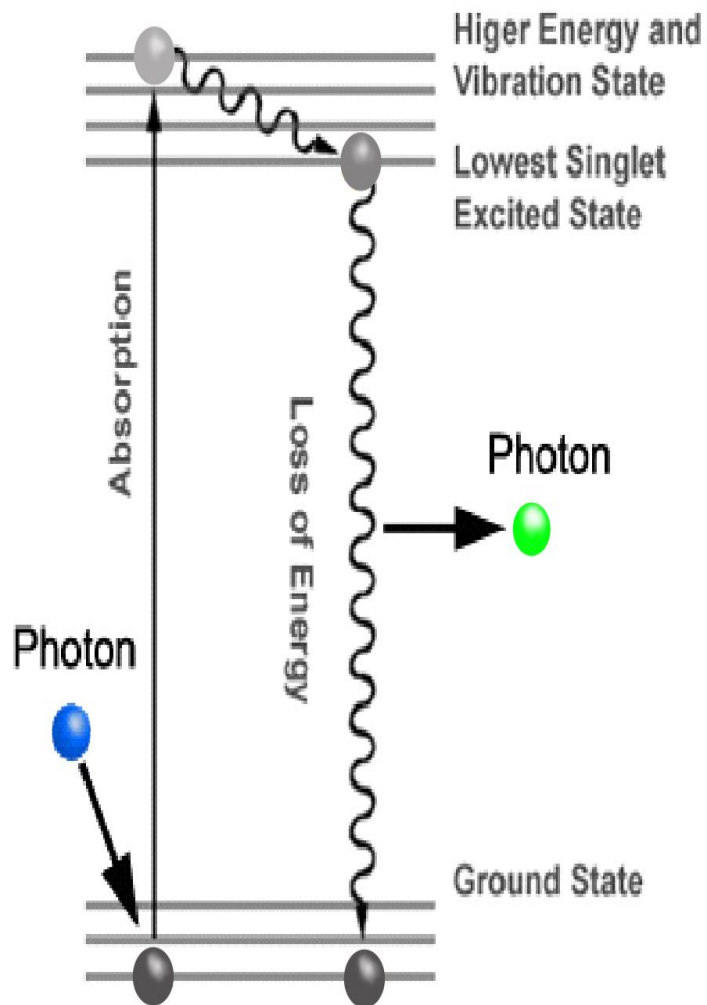
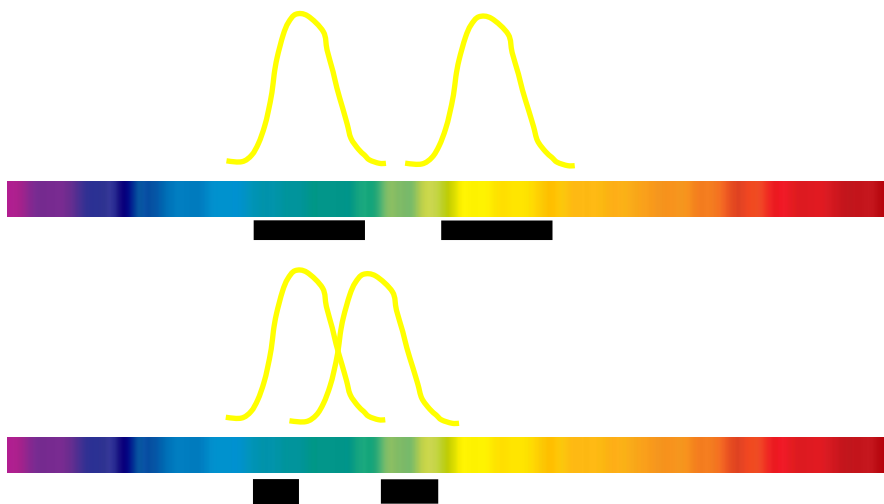
Platynereis dumerilii



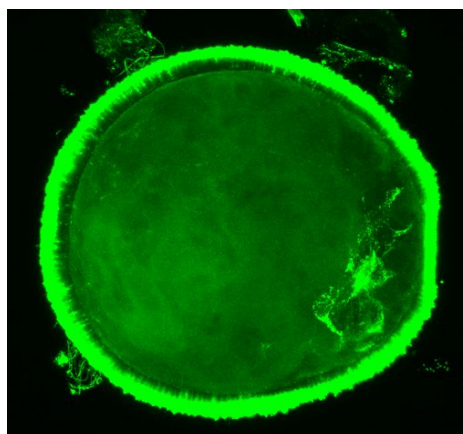
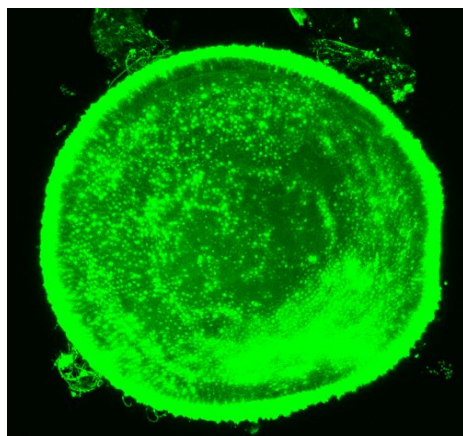
Люминесценция



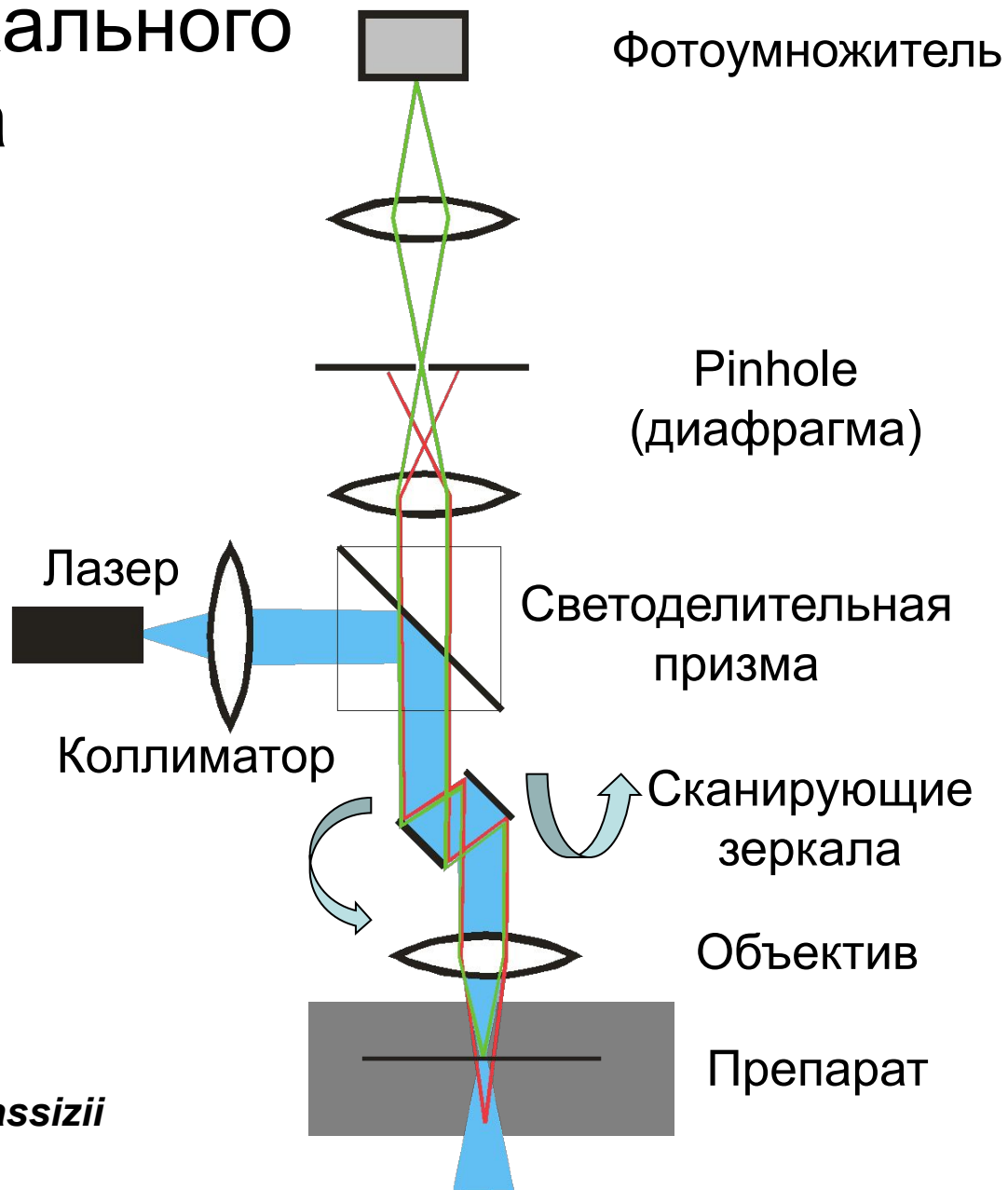
ФЛУОРОХРОМ



Устройство конфокального микроскопа



Ранний эмбрион *Phascolosoma agassizii*
α-FMRFa-Alexa 488



ЦИТОХИМИЯ

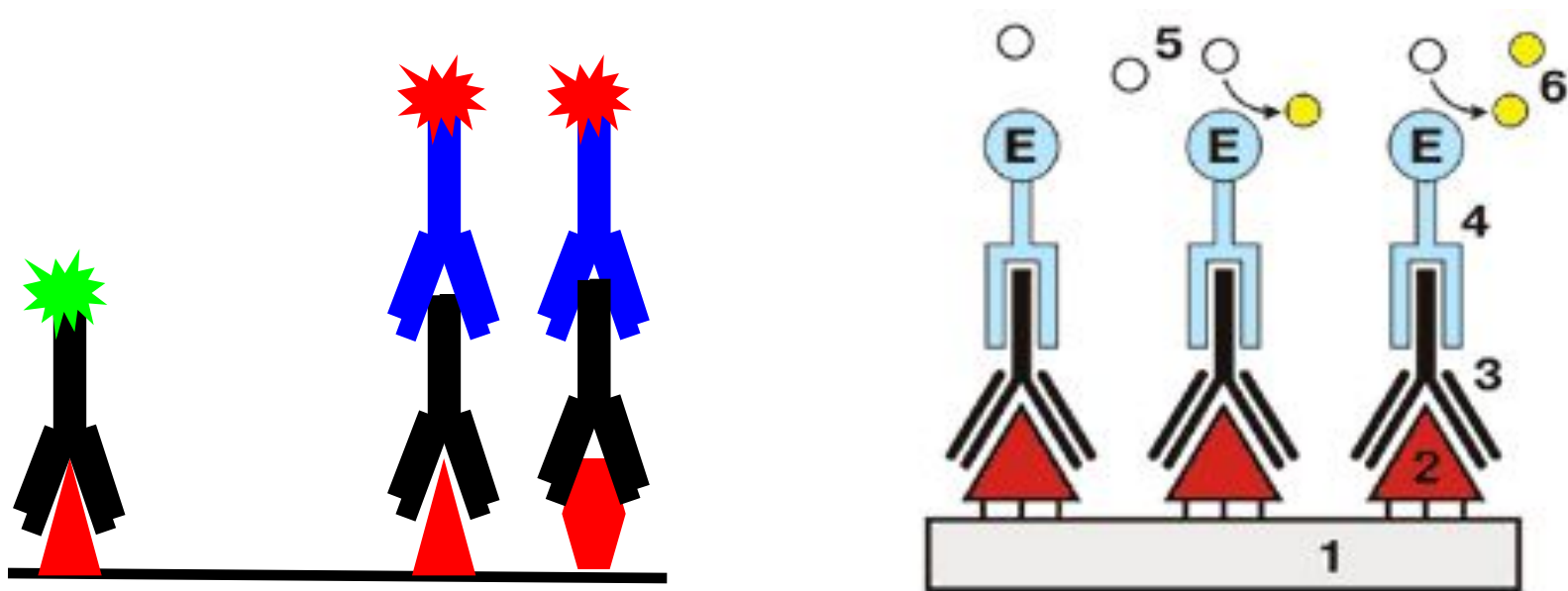
- метод основанный на специфическом взаимодействии ионов, химических соединений или их функциональных групп с красителями или образовании окрашенных веществ из неокрашенных реагентов в процессе специфической реакции.



В основе метода лежат качественные реакции.

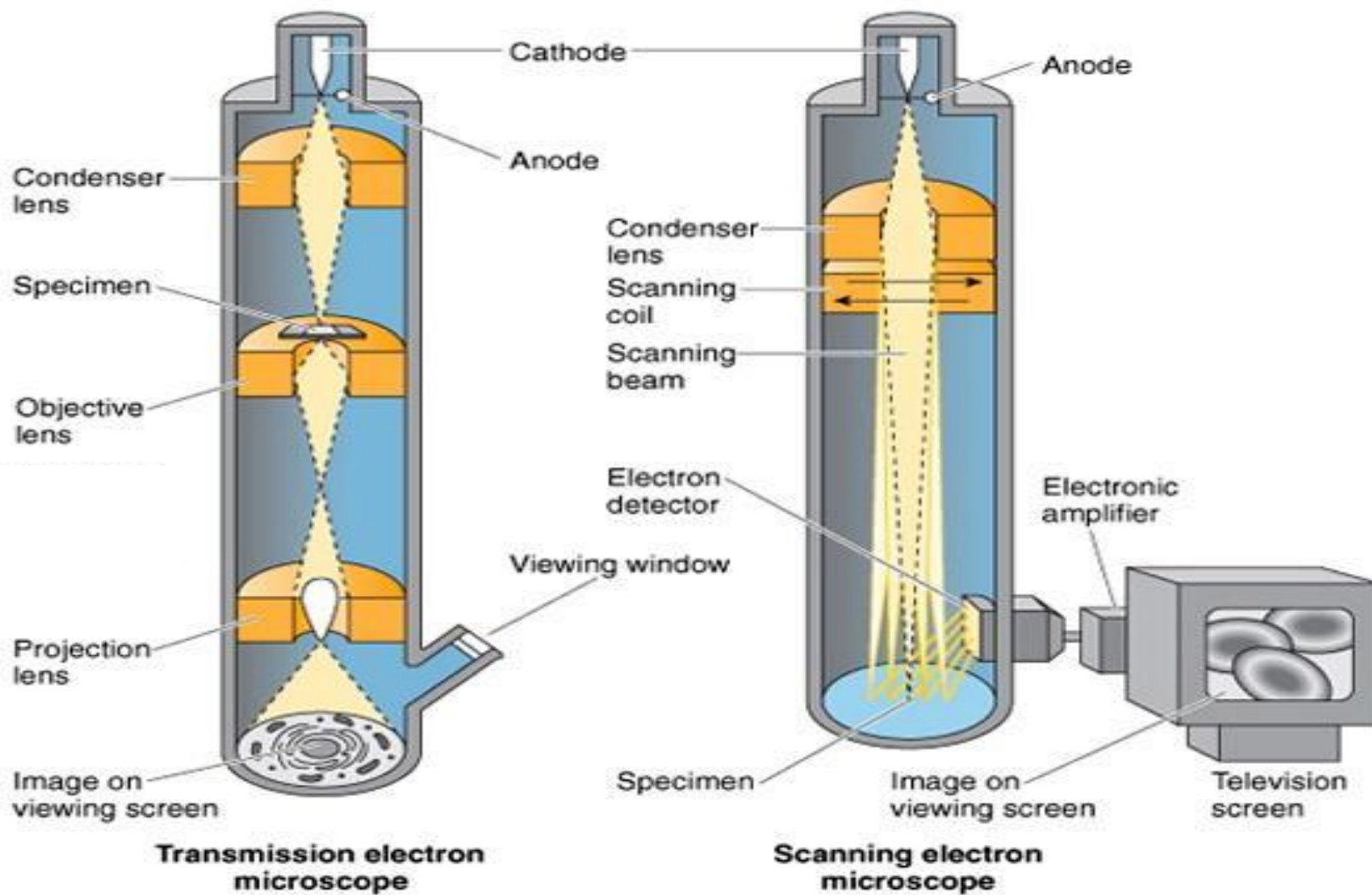
Иммуноцитохимия

- высокоинформативный и наиболее специфический метод выявления молекул в клетках.



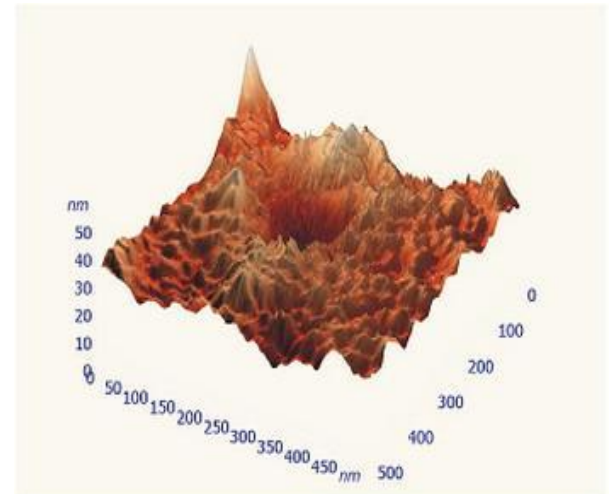
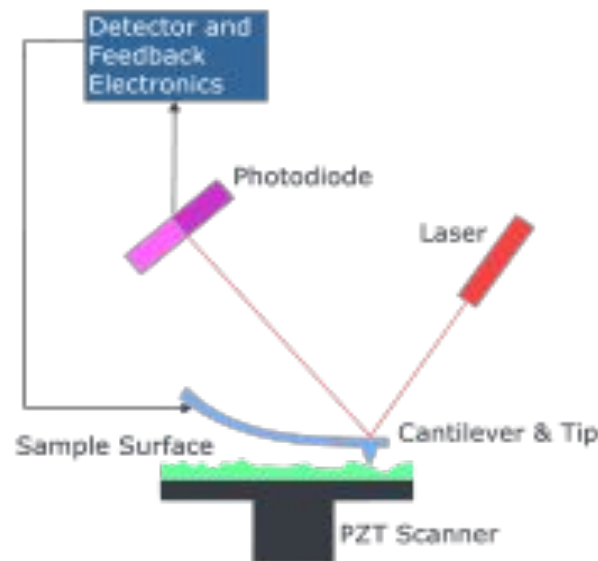
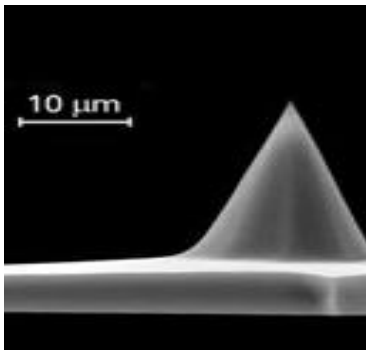
В основе лежит реакция «антиген-антитело»

Электронная микроскопия



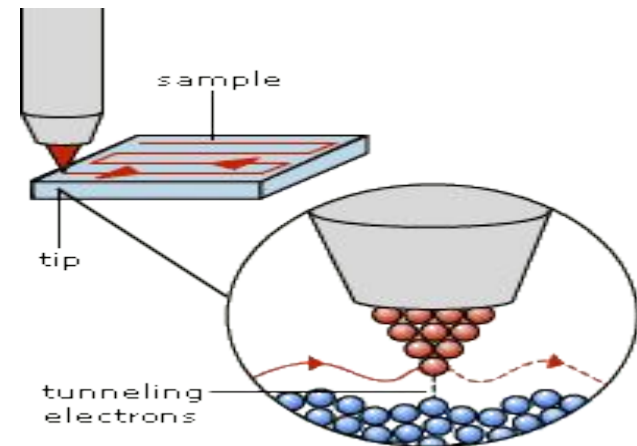
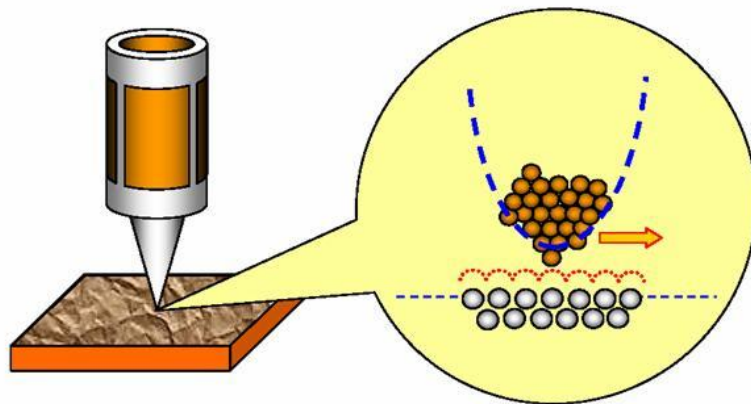
Атомно-силовая микроскопия

- сканирующий зондовый микроскоп высокого разрешения, основанный на взаимодействии зонда - кантилевера с поверхностью исследуемого образца.



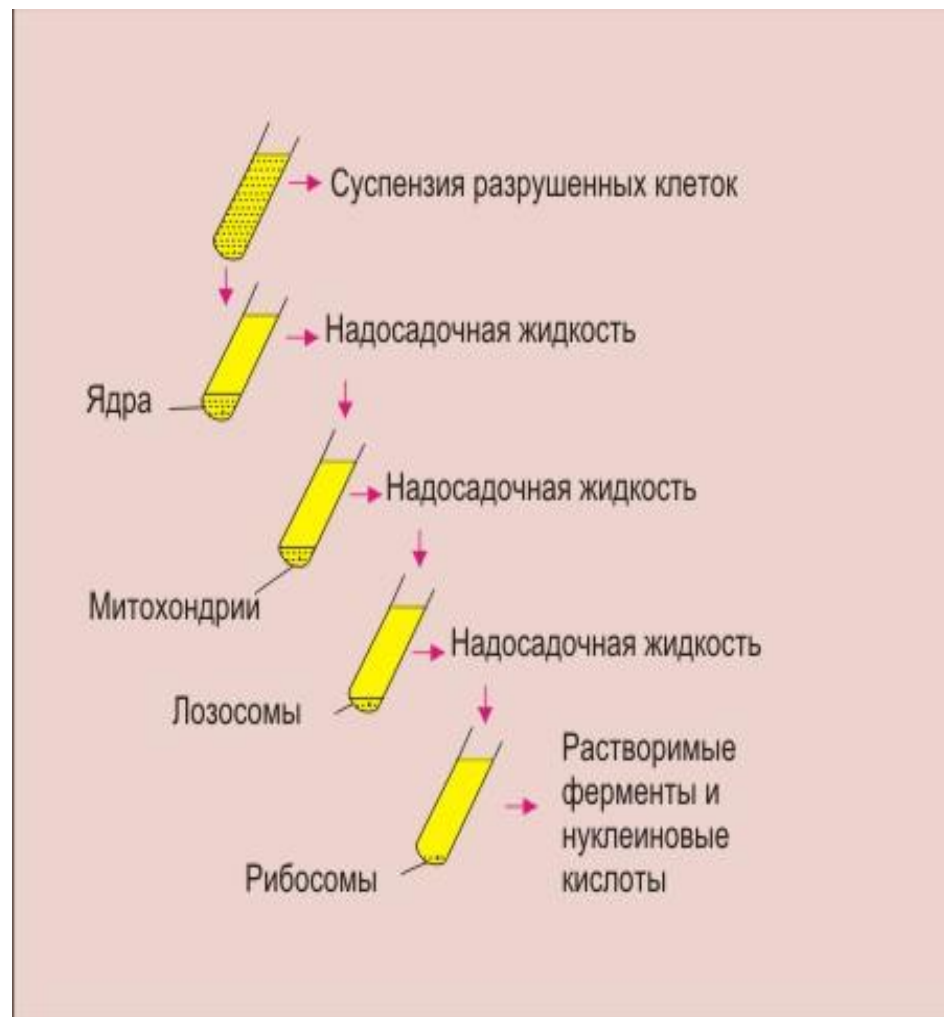
Сканирующий туннельный микроскоп

Металлическая игла подводится к образцу на расстояние нескольких ангстрем. При подаче на иглу относительно образца небольшого потенциала возникает туннельный ток. Величина этого тока экспоненциально зависит от расстояния образец-игла. В процессе сканирования игла движется вдоль образца, туннельный ток поддерживается стабильным за счёт действия обратной связи.



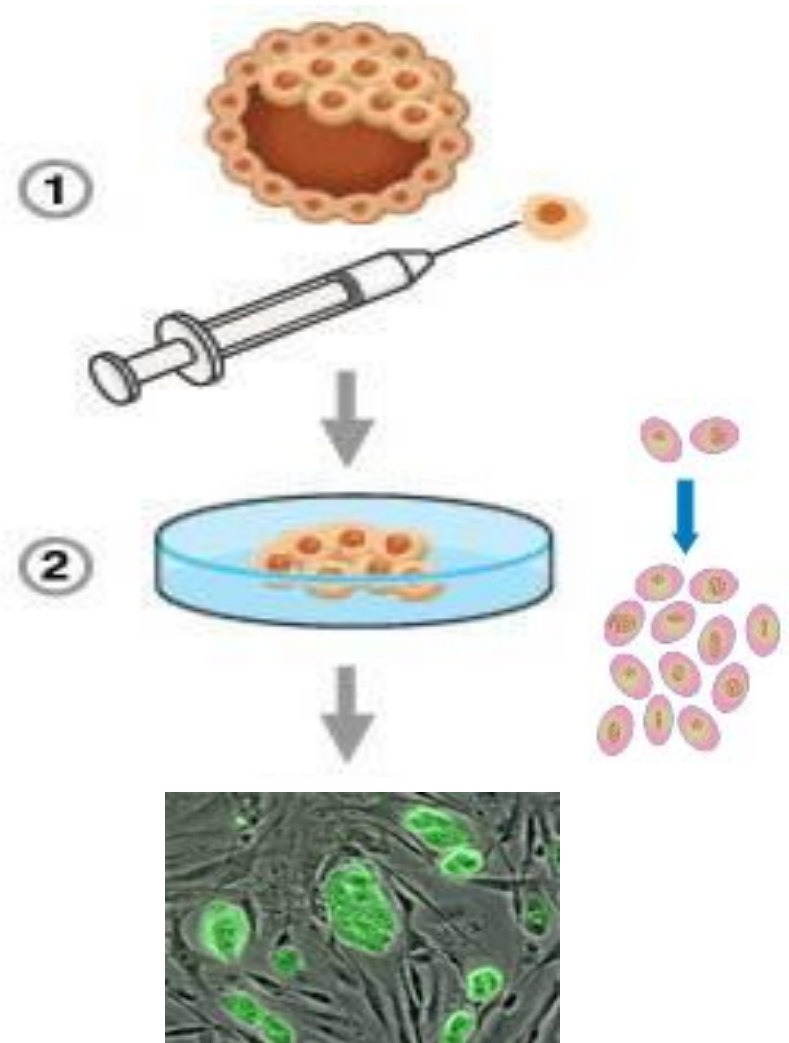
Дифференциальное центрифугирование

- метод разделения внутриклеточного содержимого при центрифугировании 80000-150000 об/мин.



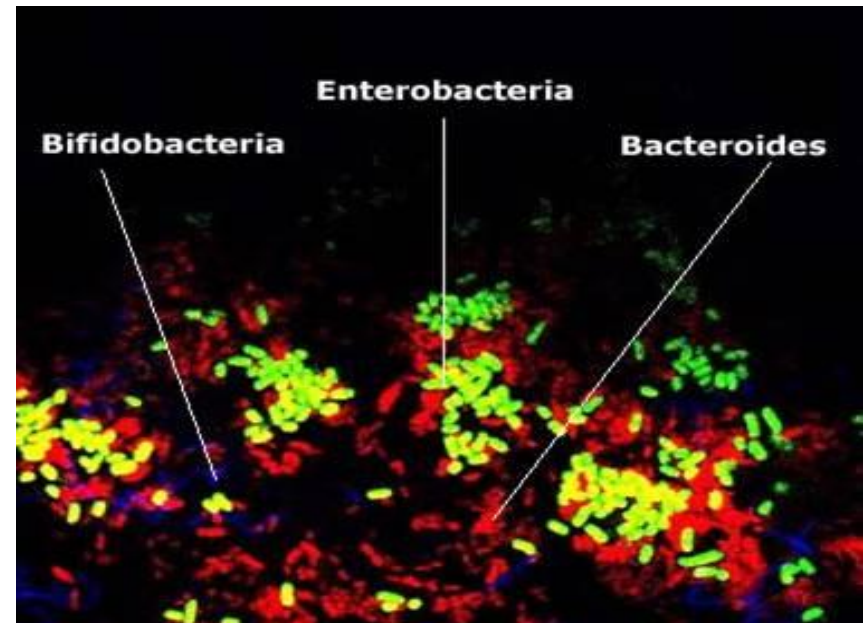
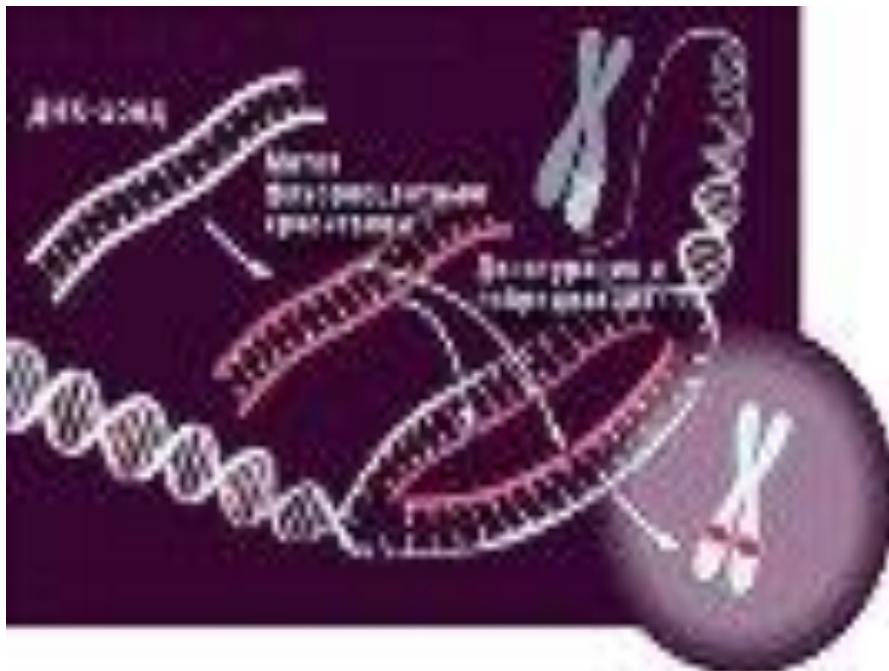
Культивирование клеток

Культивирование требует питательной среды и поддержания параметров культивирования (t, pH, стерильность).



Гибридизация in situ

- метод выявления в клетках последовательности нуклеотидов ДНК или РНК, основанный на комплементарном взаимодействии исследуемой нуклеотидной последовательности с соответствующей маркированной последовательностью ДНК или РНК.



Клетка

– элементарная структурно-функциональная единица всех живых организмов, обладающая собственным обменом веществ, способная к самостоятельному существованию, развитию и самовоспроизведению.

Организм взрослого человека состоит приблизительно из 10^{13} клеток.



Клеточная теория

Сформулирована в 1838 г. Маттиасом Шлейденем и Теодором Шванном.

- Все организмы как многоклеточные, так и одноклеточные состоят из клеток;
- Клетка – элементарная живая система способная к самообновлению, саморегуляции и самовоспроизведению;
- Клетки всех живых организмов построены по единому принципу;
- Клеточное строение организмов свидетельствует о единстве их происхождения;
- Клетки способны организовываться в структуры более высокого порядка (ткани, органы, организм);
- Новые клетки возникают только в результате деления предшествующих клеток.

Клеточные формы жизни

прокариот
ы



эукариот
ы



Компоненты клетки

- Клеточная оболочка - совокупность структур (клеточная стенка, капсула, чехол, плазматическая мембрана) отделяющих внутреннее содержимое клетки от внешней среды.
- Протоплазма - внутреннее содержимое клетки, отделенное от внешней среды клеточной оболочкой.

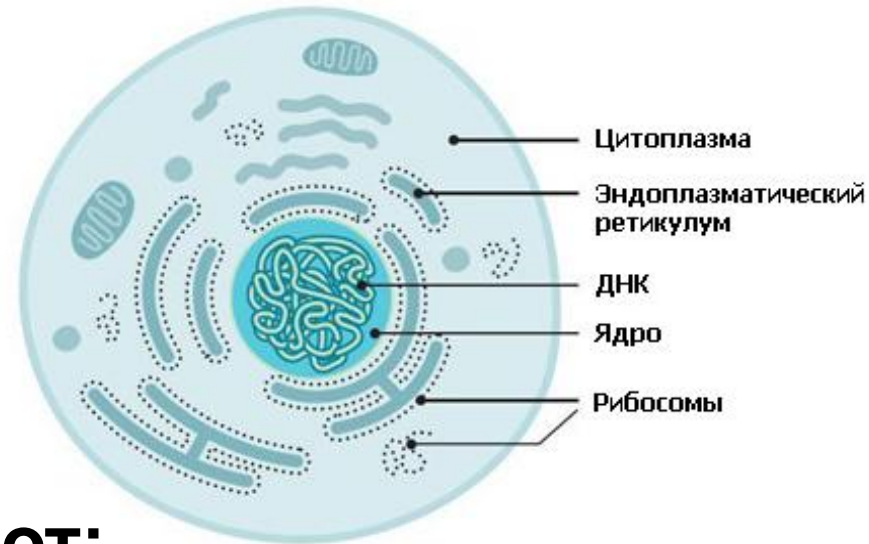
Протоплазма

Протоплазма прокариот:

- Цитоплазма

Протоплазма эукариот:

- Цитоплазма
- Ядро



Цитоплазма про- и эукариот:

- Цитозоль (гиалоплазма, клеточный матрикс).
- Органеллы (органойды).
- Включения.

Ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО) -
отношение площади ядра к площади
цитоплазмы.

Органеллы

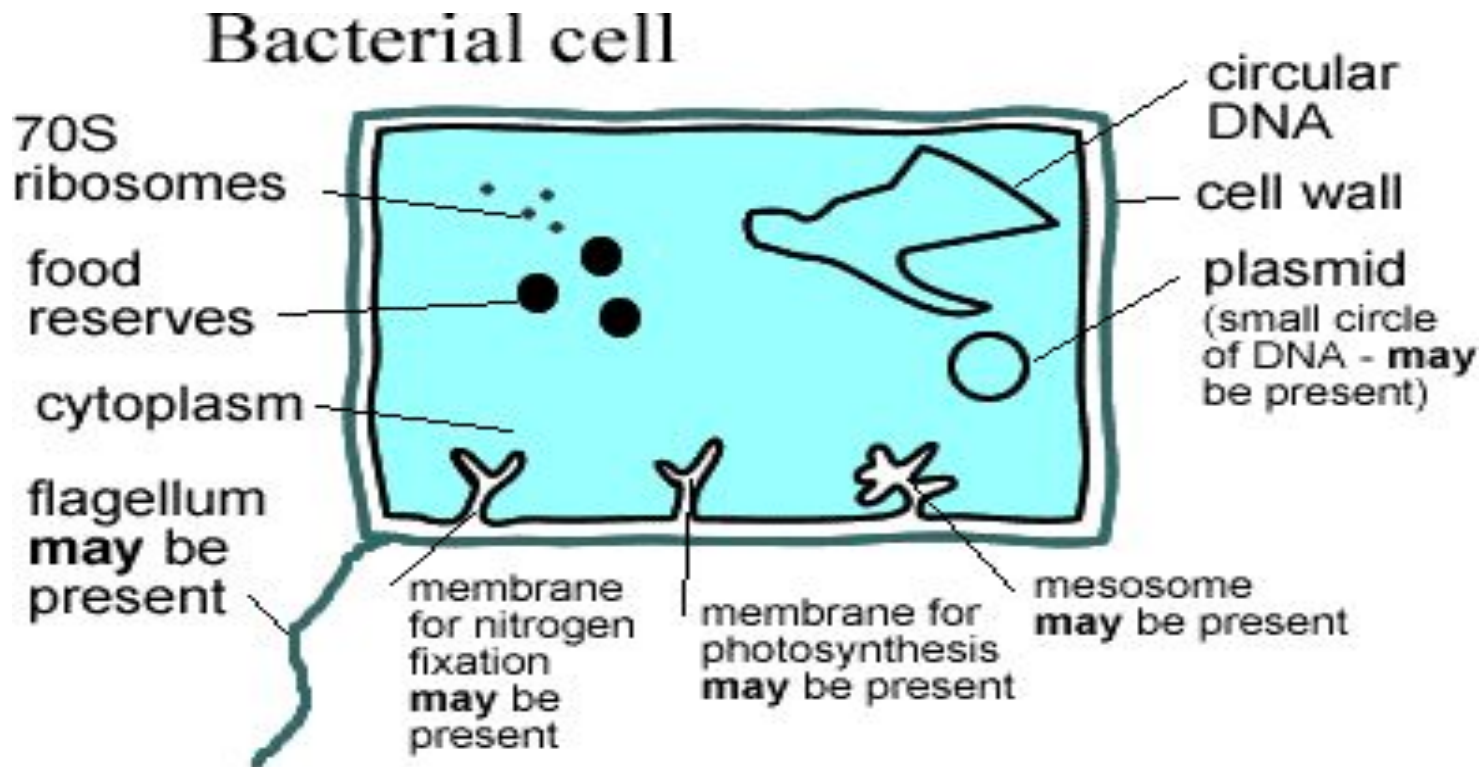
- постоянно присутствующие в цитоплазме структуры, имеющие характерное строение и специализированные на выполнении определенных функций.

Органеллы общего назначения имеются во всех клетках и необходимы для обеспечения их жизнедеятельности.

Специальные органеллы имеются в некоторых клетках и обеспечивают выполнение ими специализированных функций.

Органеллы прокариот

Нуклеоид, рибосомы, мезосомы, плазмиды, жгутики, фимбрии (пили).



Sometimes the entire cell **may** be contained in a **capsule**

Органеллы эукариот

- **Органеллы общего назначения:**

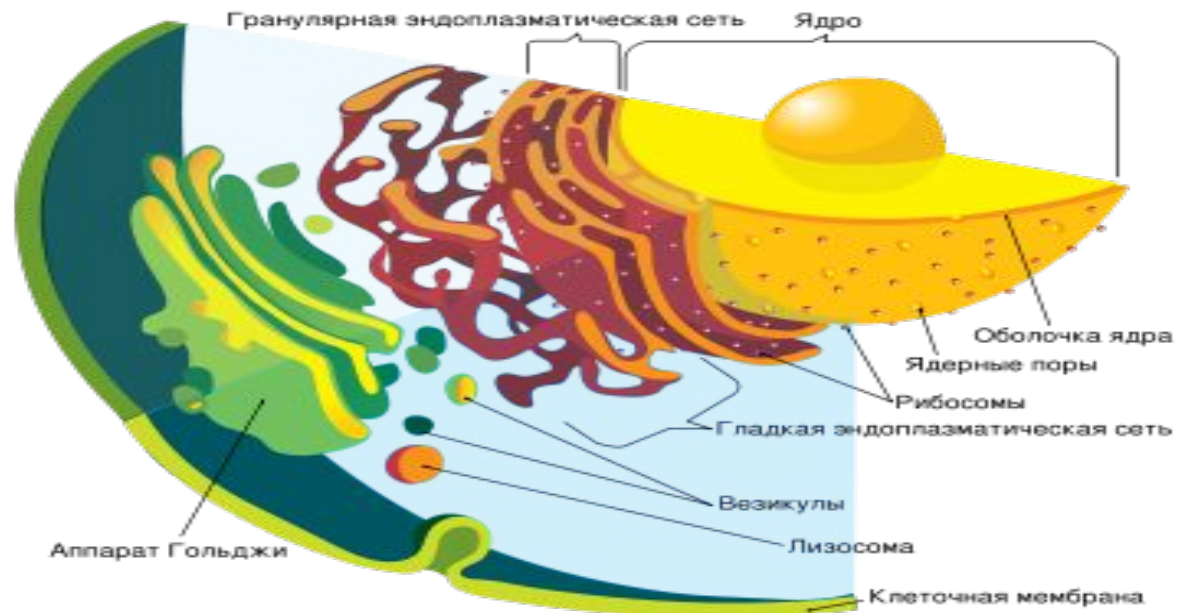
митохондрии, эндоплазматический ретикулум, комплекс Гольджи, лизосомы, пероксисомы, цитоцентр, цитоскелет, рибосомы, протеасомы, пластиды, вакуоли.

- **Органеллы специального назначения:**

реснички, жгутики, микроворсинки, миофибриллы, акросома.

Функциональные системы (аппараты) эукариотической клетки

- Синтетический аппарат.
- Энергетический.
- Аппарат внутриклеточного пищеварения.
- Опорно-двигательный аппарат.



Гиалоплазма

(цитозоль, клеточный матрикс, клеточный сок)

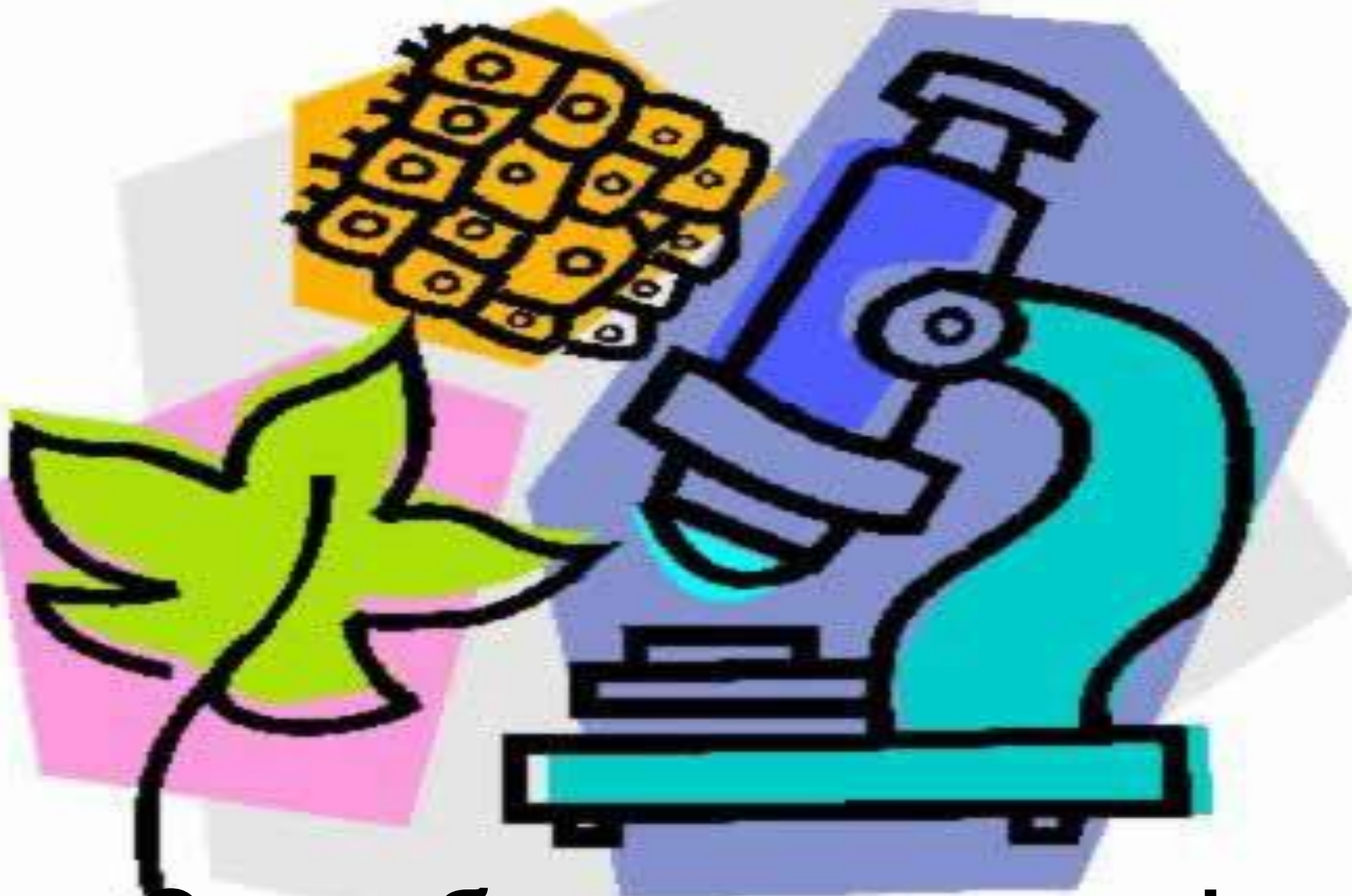
- внутренняя среда клетки, составляющая $\approx 50\%$ её общего объема. Представляет собой коллоидный раствор, в котором находятся все органеллы и включения, а также ионы, белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды, липиды, витамины и др.

В ней протекает ряд биохимических процессов (гликолиз, синтез жирных кислот, белков, холестерина, глюконеогенез).

Изменяет консистенцию благодаря обратимым переходам по типу гель-золь.

Включения

- временные компоненты цитоплазмы, образованные в результате накопления продуктов метаболизма.
- трофические (липидные, углеводные);
- секреторные (содержат секретируемый клеткой продукт);
- эксcretорные (содержат удаляемые из клетки продукты метаболизма);
- пигментные - окруженные мембраной или лежащие свободно скопления эндогенных или экзогенных пигментов (гемоглобин, гемосидерин, меланин, липофусцин);



Спасибо за внимание!