

Лекция 1. Қазіргі заманғы жасушалық биологияның әдістері

XIX ғасырдың ортасы электронды микроскопты нәтижелі пайдаланудан басталады. Қазіргі кезеңдегі пәннің дамуы зерттеу әдістерінің кең, кешенді пайдалануымен, әсіресе, оның ішінде электронды микроскоппен көру, мұздату, электронды микроскопиялық цитохимия, сан тұрғысынан сипаттау және басқа әдістерімен сипатталады.

Пәннің жасуша құрылысын, қызметін зерделеуге бағытталған кәдімгі (классикалық), жаңа (қазіргі) әдістері өте мол. Сондықтан олардың тек ілімдік қана емес, қолданбалы маңызы аса зор.

Жарық микроскоп көмегімен ағза, ұлпа, жасуша кесінділерін зерделеу әдістеріне-гистологиялық, цитологиялық, цито-, гистохимиялық, иммуноцито-, гистохимиялық, будандастыру, автордиография, бекітілмеген ұлпаларды бояудың арнайы, организмнен тыс жасуша, ұлпа, ағзаларды себу әдістері және жасуша, ұлпа құрылымының сандық бағалауы жатады.

Гисто-, цитологиялық әдістермен зерделеуге жұқа кесінділер арнайы сойылған жануарлардан, ауру себебін анықтау мақсатында тірі жануар организмнен (ұлпадан үлгі алу: биопсия-грек. -тіршілік, өмір; -көру), өлексені жарып тексеру (аутопсия-грек. өз көзімен көру) жолдарымен алады. Препарат қалыңдығы 5-10 мм аспағаны жөн. Эксперимент зерделеуде лабораториялық жануарлар тұтас, ұлпалар мен ағзалар бөлшектеніп алынады.

Өлі (уытталған) жасуша, ұлпаларды зерттеу әдісі-**негізгі** (классикалық) деп аталады. Ол үшін мына негізгі өңдеу жолдардан өтеді: бекіту, суда жуу, сусыздандыру, қатыру, кесінді әзірлеу, бояу, бұзылмайтын ортада сақтау. Диагнозды анықтау мақсатымен бекітілген өлі жасуша, ұлпаларды зерделеуде препараттар жағынды ретінде (қан, сүйек майы, сілекей, жұлын сұйығы); із (таңба) ретінде (көкбауыр, айырша безі, бауыр); ұлпалар жұқа қабығы ретінде (дәнекер ұлпа, ішперде, көкірекперде, жұмсақ ми қабығы) болады.

Кейде препаратта кездейсоқ, немесе нашар өңдеуден гистологияда **жасанды деп аталатын белгі** (артефакт), немесе **құрылымдар** пайда болады. Олар өлгеннен кейінгі ыдырауда, ыстық парафинді қолданғаннан кейінгі бүрісуде, формалинде ұлпа көп жатқаннан, немесе оны аз жуғанда, микротом пышағында кетігі барында кездеседі.

Препаратты зерделеу үшін әртүрлі жарық микроскоптар (МБИ, «Биолам», басқа арнайы түрлері (қараңғы көз алды, кезеңді-қарсылыстық, поляризациялық, ультракүлгінді, флюоресцентті (қоздыру әсері тоқталғаннан кейін тез өшіп қалатын люминесценция, люминесцентті микроскоппен көру) қолданылуда.

Цито-, гистохимиялық әдістер жасуша, ұлпа құрылымындағы химиялық заттарды (темір, кальций, ақуыздар, майлар, нуклеин қышқылдары, гликоген, ферменттер), топтарды (альдегид, сульфгидрил, амин) айқындайды. Бұл әдіс бояудың белгілі химиялық қосындыларымен (РНҚ, ДНҚ) ерекше байланысына, ізделіп отырған заттың (фермент) орналасқан жерінде гистохимиялық реакция нәтижесінде боялмаған өнімнен боялған түрі түзілуіне негізделген. Бұл әдістер жасуша, жасушасыз құрылым, ұлпадағы ДНҚ, РНҚ, белок, амин қышқылдары, май, көмірсу, минераль заттардың орналасуын, мөлшерін, ферменттер белсенділігін анықтайды.

Иммуноцито-, гистохимиялық әдістер жасуша, ұлпалардағы ең ерекше заттар анықтауды қамтамасыз етіп, жағынды, кесіндідегі тегіжат болып келетін анықтайтын затты белгіленген ерекше қарсы денелермен өңдеуге негізделген. Мұнда тікелей, бұрылыс әдістер қолданылады. Тікелей әдісте белгіленген қарсы денелер мен тура анықтайтын зат арасында ерекше байланыс-реакция жүреді. Бұрылыс (өте сезгіш) әдісте белгіленбеген алғашқы қарсы денелер анықтайтын тегіжатпен өзара іс-қимыл жасап, кейіннен оларды екінші белгіленген қарсы денелер (оларда алғашқы тегіжат болғандықтан) көмегімен табады. Бұл әдістер белгіленген әртүрлі жасушалар ұқсастығын табып, секрет бөлу процестерін зерделеп, гормондар, сезімтал жүйке ұштарын айқындайды.

Будандастыру әдісі. РНҚ, ДНҚ молекулалары нуклеотидтердің белгілі бірізділігін айқындап, ДНҚ молекуласындағы бірізділіктің иРНҚ молекуласына жазылуындағы тектердің, оның өнімдерінің орнын зерттеуге көмектеседі. Бұл ДНҚ, РНҚ бөлімдерінің өздеріне сәйкес нуклеотидтер бірізділігін сақтайтын белгіленген үзінділердің ерекше байланысына (будандастыруға-грек. -дүбәрә, дүрегей) негізделген.

Авто-, радиография (грек. -өзім, -шығару, тарату, -жазу) әдісі ұлпаларға радиоактивті изотоптармен таңбаланып жіберілген заттардың орналасуын айқындауға негізделген. Бұл әдіс таңбаланған ізашардың макромолекулаларға, қосыла бастауын, жасушалар мен ұлпалардағы тасылымын бақылау мүмкіндігін туғызады. Түрлі заттардың түзілу, секреция процестеріне, сезімтал жүйке ұштары орналасуына, жасушалар бөлінуіне, олардың популяциядағы қозғалысына негіз болатын мәліметтер алынды. Бекітілмеген ұлпаларды бояудың арнайы әдістеріне тірілей (витальді), суправитальді бояулар жатады.

Витальді (лат. -тіршілік, өмір) бояуда кейбір бояғыштар (трипанды көк, литийлі кармин, туш) тірі жасушаларға уытты болмай, оларды бұзбайды. Олар нақты ертінді емес, жүзінді кішкене бөлшектер тәрізді. Бұл бояғыштарды организмге (көбінесе қанға) енгізгенде, қарбу жасушаларымен ұсталады. Жасушада бояғыштардың осылай жиналуы, оның таңбалануын көрсетеді.

Суправитальді боялу организмнен бөлініп алынған тірі жасушалар құрамы кейбір бояғышпен байланыс түзуіне негізделіп, арнайы мақсаттарды шешуде қолданылады.

Қолдан өсірілген **себіндідегі** (лат. өңдеу) зерттеу жасуша, ұлпа, ағзадағы өсу, жіктелу, түзілу, секрет бөлу, басқа процестерге түрлі себепшарттардың әсерін зерделеу үшін жүргізіледі. Жасуша, ұлпа себінділері биотехнология, биоинженерия (ауыстырып салуға қажет жасушалар, ұлпалар алу, биологиялық қарқынды заттар түзу, моноклондық антиденелер өнімдерін түзу) мақсаттары үшін кең қолданыла бастады.

Жасушалар және ұлпалар құрылымының **сандық** бағалауында қолданылатын морфоөлшемдік әдіс гистологиялық препараттардағы (олардың суреттеріндегі) жасушалар, ұлпалар құрылым параметрлерінің сандық бағасын беретін бірнеше тәсілдер жиынтығы болып келеді. Бұл әдіспен жасуша, ұлпалар диаметрі, биіктігі, қалыңдығы, қима ауданы, аумақтағы зерзат саны, олардың түрлері және басқалар анықталады.

Қараңғы көз алды микроскоппен көру арнайы конденсор (қысқа фокусты линза) қолданылуға негізделген, препараттағы объективке түспейтін қисық сәуле жарығының түсуін қамтамасыз етеді. Объектив жоқта көз алды қараңғы болады, ал ол барда жарықтың біразы объективте байқалады. Бұл тәсіл жарық микроскоптан тыс орналасқан құрылымды, мөлшерді айқындауға мүмкіндік береді. Оны тірі жасушалар зерделеуінде де қолдануға болады.

Кезеңді- қарсыластық микроскоппен көру зерделеу зерзатының түрлі құрылымдары арқылы өтетін жарық сәулесінің кезеңдері біркелкі емес өзгеруіне негізделген. Ол көзге көрінбейтін кезең ерекшеліктерін амплитудалыққа, өзгертеді. Бұл тәсіл тірі жасушаларды бекітпей, боямай тікелей зерделеуге мүмкіндік туғызады.

Поляризациялық микроскоппен көру әр түрлі әуестік, немесе қос жарық сәулесінің сынуы қасиеттері бар құрылымдарды зерделеуде қолданылады. Онда зерзатқа, поляризацияланған жарық сәулесі бағытталады. Ол келешекте қабылдағыш (зерзат пен окуляр арасында орналасқан) арқылы өткізіледі. Сөйтіп зерзатта молекулалардың заңды кеңістікте орналасуы айқындалады.

Ультракүлгінді микроскоппен көру зерделеудегі зерзатқа ультракүлгін сәулелерінің жарық түсіруіне байланысты болады. Оны зерзат құрылым құрамбөліктері таңдап сіңіреді. Өйткені, ультракүлгін сәулелері толқынының ұзындығы көрінетін спектрдегі жарықпен салыстырғанда қысқа, болады. Ол микроскоптың шешу қабылеттілігін екі есе арттырады. Ультракүлгінді микроскоппен көруде көрінбейтін бейне жарық сезгіш табақша, немесе басқа, құрылғы көмегімен көрінетінге өзгереді.

Флюоресцентті (люминесцентті) микроскоппен көруде кейбір заттардың зерзатқа ультракүлгінді сәуле жарығы түскенде көрінетін сәуле тарату қабылеті қолданылады. Кейбір жағдайда ол ұлпаны алдын ала химиялық өндегеннен кейін пайда болады. Иммуногистохимиялық әдіспен ұлпаларды зерттегенде сәуле тарату бояғыштар арнайы антиденелермен байланысып тиісті тегіжаттарды айқындайды. Онда сынапты, ксенондық лампалар пайданылады. Олар сәуле тарату құбылысын қоздырады. Қозудан қалыпты күйге көшуінде сәуле шығады, оның толқын ұзындығы ұзақ болады. Бұл құбылыстың бәрі жазылып, кейін тұжырымдалып, зерзат ішкі құрылымын, құрамын анықтатады.

Қазіргі кезде ғылыми зерттеулер жүргізіп, клиникалық диагноз қоюда электронды микроскоппен көрудің екі әдісі - заттектердің ортамен қатынасы (**трансмиссиялық**), немесе жарық түсіруші және көз аясында (**сканерлі**), немесе әртүрлі жеке элементтерден түзілетін бейне (**растрлі**) кең қолданылуда. Оларда электрондар, ағыны қолданылады, зерттеу зерзаттарының жазықтық бейнесі байқалады. Оның қуат күші 50 000 В, толқын ұзындығы 0,0056 нм, көрсеткіш қабылеттілігі 0,002 нм, үлкейткіштік қабылеттілігі 600000 есеге тең. Электронды микроскоппен жасуша құрылымдарының өте ұсақ бөлшектеріне дейін анық көруге болады.