**Краткий курс лекций**

**По дисциплине «Биология клеток»**

**Лекция 1.**  **Дисциплина «Биология клеток», содержание, цель и задачи, связь с другими биологическими науками, значение для развития наук и практики. История развития науки о строении и функционировании клеток. Постулаты клеточной теории. Методы исследования клеток и тканей.**

 **Цель:** Дать представление о месте цитологии в комплексе биологических наук, истории развития науки о клетке, методах исследования клеток и тканей.

**Ключевые слова**: клетка, ткань, онтогенез, микроскоп

**Цитология** – с греческого языка переводится как “наука о клетке». История цитологии начинается с момента описания английским естествоиспытателем Робертом Гуком в книге «Микрография» (1665) строения среза пробкового дерева. Он впервые ввел понятие «клетка» при рассмотрении через лупу мельчайшие пустые «мешочки» и «ячейки» пробки. Впервые он описал клетки бузины, укропа, моркови и других растений. Клетки растений на срезе были настолько малы, что их не возможно было увидеть невооруженным глазом. И все дальнейшие открытия в строении клеток были связаны с изобретением первых микроскопов голландским натуралистом Антонио Левенгуком (1665-1723). Освоив ремесло шлифовальщика, Левенгук изготавливал линзы 300-кратного увеличения, и устанавливая их в металлические оправы (микроскопы), проводил исследования различных жидкостей (вода из лужи, кровь, сперма и др.). С помощью своих микроскопов А. Левенгук открыл мир одноклеточных организмов (амебы, инфузории), кишечнополостные и их деление (гидра), микроорганизмы (дрожжи, бактерии), эритроциты и сперматозоиды животных. Конструирование и использование микроскопов позволило итальянскому ученому Марчелло Мальпиги проводить исследования по микроскопической анатомии растений, которые он вместе с английским ботаником Немия Грю опубликовал в книге «Анатомия растений» (1671). Именем Мальпиги впоследствии были названы некоторые открытые им органы и структуры: [мальпигиевы тельца](https://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%9C%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%BF%D0%B8%D0%B3%D0%B8%D0%B5%D0%B2%D1%8B_%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D1%86%D0%B0&action=edit&redlink=1) (в почках и селезёнке), [мальпигиев слой](https://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%9C%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%BF%D0%B8%D0%B3%D0%B8%D0%B5%D0%B2_%D1%81%D0%BB%D0%BE%D0%B9&action=edit&redlink=1) (в коже), [мальпигиевы сосуды](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%BF%D0%B8%D0%B3%D0%B8%D0%B5%D0%B2%D1%8B_%D1%81%D0%BE%D1%81%D1%83%D0%B4%D1%8B) (у паукообразных, многоножек и [насекомых](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9D%D0%B0%D1%81%D0%B5%D0%BA%D0%BE%D0%BC%D1%8B%D0%B5)). Наряду с [М. Мальпиги](http://www.enci.ru/%D0%9C%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%BF%D0%B8%D0%B3%D0%B8%2C_%D0%9C%D0%B0%D1%80%D1%87%D0%B5%D0%BB%D0%BB%D0%BE), Немия Грю стал основоположником анатомии растений. Он впервые описал устьица, строение цветков, радиальное расположение [ксилемы](http://www.enci.ru/%D0%9A%D1%81%D0%B8%D0%BB%D0%B5%D0%BC%D0%B0) в корнях, морфологию сосудистой ткани в стеблях, ввел термины «сравнительная анатомия», «ткань» и «[паренхима](http://www.enci.ru/%D0%9F%D0%B0%D1%80%D0%B5%D0%BD%D1%85%D0%B8%D0%BC%D0%B0)» в ботанике. В XVIII веке совершаются первые попытки сопоставления микроструктуры клеток растений и животных. Немецкий и российский анатом и физиолог Каспар Вольф в работе «Теории зарождения» (1759) пытается сравнить развитие микроскопического строения растений и животных, а также найти источники их зарождения. По Вольфу, зародыш как у растений, так и у животных развивается из клетки, которая движется по специальным каналам, таким образом, он положил начало эмбриологии.

 Большой вклад в открытие различных типов клеток животных внес итальянский ученый Феличео Фонтана (1781). Однако прогресс в изучении микроанатомии растений и животных был в большей степени связан с развитием микроскопирования в XIX в. С помощью микроскопов того времени были описаны различные части клеток: протоплазма и ядро. Чешским физиологом Яном Пуркиня (1830) была открыта протоплазма – содержимое клетки, отграниченное от внешней среды клеточной стенкой. Он утверждал, что все процессы в клетке происходят именно в протоплазме, а не связаны только с клеточной стенкой, как считали ранее. Его имя носят также открытые им нервные клетки и нервные волокна. Практически в тоже время в протоплазме шотландским ботаником Робертом Брауном был открыт постоянный компонент клетки - ядро (1833). Заслуга Р.Брауна (Броуна) заключалась также в том, что он открыл движение пыльцевых зерен (мужских половых клеток растений) в жидкости. Позднее это хаотичное движение пыльцы назвали «броуновским». Однако все вышеназванные ученые были далеки от осмысления своих наблюдений, и только немецкий зоолог Теодор Шванн (1838-1839 ) понял, что клетки являются главным элементом построения всех живых тканей. В опубликованной в 1839 г. работе «Микроскопические исследования о соответствии в структуре и росте животных и растений» Т. Шванн сделал широкое биологическое обобщение, получившее название «клеточной теории». **Клеточная теория** того времени включала три главных положения: теорию образования клеток; доказательство клеточного строения всех организмов и их частей; распространение этих двух положений на рост и развитие растений и животных.

 Важным стимулом для тщательных микроскопических исследований доказательства единства клеточного строения всего органического мира Теодору Шванну послужил труд немецкого ученого-ботаника Маттиаса Шлейдена «Данные о фитогенезе» (1838). Таким образом, создателями клеточной теории можно, по-праву, считать двух ученых Т.Шванна и М.Шлейдена. Основываясь на множестве исследований, Т.Шванн и М.Шлейден (1838-1839) обобщили имеющиеся знания и ввели в науку основополагающее представление о клетке: вне клеток нет жизни, а также то, что клетки животных, растений и бактерий имеют схожее строение. Позднее эти заключения стали основой для доказательства единства организмов.

 Дальнейшее развитие клеточная теория получила в работах немецкого ученого Рудольфа Вирхова. Он утвердил преемственность образования клеток в своей, ставшей знаменитой формуле: «всякая клетка из клетки» (omnis cellula e cellula)». Р.Вирхов (1858) — основатель так называемой целлюлярной (клеточной) патологии. Знаменитый патологоанатом, гистолог и физиолог, он на многих примерах показал, что в основе болезненных процессов животного организма лежат изменения в жизнедеятельности элементарных частиц – клеток.

 Таким образом, создание клеточной теории стало важнейшим событием в биологии, одним из решающих доказательств единства всей живой природы. Клеточная теория оказала значительное влияние на развитие биологии, послужили главным фундаментом для развития таких дисциплин, как эмбриология, гистология и физиология. Она дала основы для понимания жизни, для объяснения родственной взаимосвязи организмов, для понимания индивидуального развития, а также причин развития различных болезней. Неслучайно Ф. Энгельс включил клеточную теорию в число «трех великих открытий» естествознания (наряду с законом сохранения и превращения энергии и эволюционным учением).

 С появлением новых достижений в области биологии клеточная теория получила дальнейшее развитие: появились новые положения, расширились и уточнились уже сформулированные постулаты. **Клеточная теория** сегодня это обобщенные представления о строении, функционировании и развитии клеток. Основными постулатами современной клеточной теории являются:

1. Клетка – единица строения, жизнедеятельности, роста и развития живых организмов, вне клетки нет жизни.

2. Клетка – единая система, состоящая из множества закономерно связанных друг с другом элементов (органелл или органоидов), представляющих собой определённое целостное образование.

3. Клетки гомологичны по строению и по основным свойствам.

4. Новые клетки образуются только в результате деления исходных клеток и только после удвоения ее ДНК.

5. Клетки многоклеточных организмов образуют ткани, а ткани образуют органы. Жизнь организма в целом обусловлена взаимодействием составляющих его клеток и нервно-гуморальной регуляцией многочисленных функций.

6. Клетки многоклеточных тотипотенты, то есть обладают генетическими потенциями всех клеток данного организма, но отличаются друг от друга разной экспрессией (работой) различных генов, что приводит их к дифференцировке (морфологическому и функциональному разнообразию).

 Согласно клеточной теории живой организм - это целостная система, в которой можно выделить ряд уровней организации живой материи: атомы-молекулы - макромолекулы - органеллы- клетки - ткани - морфофункциональные единицы органов - органы - системы органов - организм. Свойства живой материи на каждом из уровней изучает определенная наука. Не затрагивая атомно-молекулярный уровень, необходимо дать определение клетке, ткани, морфофункциональной единице органа, являющихся предметом изучения цитологии и гистологии.

**Клетка** - наименьшая единица, обладающая всеми свойствами, отвечающими определению "живое": способностью к воспроизведению, использованию и трансформации энергии, метаболизмом, чувствительностью, адаптацией, изменчивостью. Как уже говорилось выше, наука, изучающая строение, функционирование, воспроизведение и происхождение клеток называется **цитологией** (биология клетки).

**Ткань** - система клеток и образуемых ими межклеточных структур, объединенных общей функцией и структурно-химической организацией. Различают 4 основных типа тканей, встречающихся в составе разнообразных органов всех многоклеточных животных: эпителиальные, ткани внутренней среды, ткани нервной системы и мышечные. Данные типы тканей осуществляют все необходимые функции при взаимоотношении организма с окружающей средой: пограничность, создание постоянства внутренней среды, сокращение, восприятие, передача и анализ раздражения. Наука о строении, развитии и жизнедеятельности тканей животных организмов называется **гистологией**.

**Морфофункциональная единица** **органа** - это структурная и функциональная его единица. Например, морфофункциональная единица почек – нефрон (почечное тельце и канальцы), легких – ацинус (бронхиолы, альвеолярные ходы и альвеолы), печени – печеночная долька. В качествеморфофункциональных единиц органа могут выступать не только совокупность клеток и тканей, но и отдельные специализированные клетки. Например, морфофункциональной единицей мозга и нервной системы является нейрон. Наука о строении, развитие органов и систем животных организмов называется **частной гистологией**. Строение и функционирование органов, а также систем органов изучает также анатомия. Особенности специализированных клеток в различных тканях и органах изучает раздел общей цитологии - частная цитология.

Цитология с гистологией решают следующие задачи: описание строения исследуемых структур, их функциональные назначения, установление связей между ними, раскрытие закономерностей их развития.

Курс цитологии и гистологии тесно связан с преподаванием других биологических и медико-биологических наук - анатомии, физиологии, биохимии, генетики, эмбриологии, молекулярной биологии, биофизики, патологической анатомии, а также клинических дисциплин. Как известно, знание химического строения клетки и ее компонентов составляет основу биохимии, а знание структурной и функциональной организации хромосом, передачу генетической информации в ряду поколений - основу генетики. Изучение закономерностей развития клеток и тканей лежит в основе эмбриологии, а формирование клеточных ансамблей в структуре органов - анатомии. Знание нормальной структуры клеток, тканей и органов является необходимым условием для понимания механизмов изменений в организме в патологических условиях.

**Методы исследования клеток и тканей.**

Световая микроскопия.

Разрешающая способность (d) - минимальное расстояние между двумя точками объекта, которые видны раздельно. Известно, что d = 0,61 \* L/n \* sin a, где L - длина волны света, в котором наблюдается объект; n - показатель преломления среды между объектом и объективом; а - угол между оптической осью объектива и наиболее отклоненным лучом, попадающим в объектив. Из формулы следует, что разрешающая способность микроскопа тем выше, чем меньше длина волны и чем больше апертура объектива (n \* sin a).

В обычных световых микроскопах источником освещения служит естественный или искуственный свет (видимая часть спектра). Минимальная длина волны видимой части спектра равна примерно 0,4 мкм (400 нм). Следовательно, для обычного светового микроскопа наименьшее разрешаемое расстояние равно примерно 0,2 мкм, а общее увеличение (произведение увеличения объектива на увеличение окуляра) может быть 1500-2500.

Таким образом, в световом микроскопе можно видеть не только отдельные клетки размером от 4 до 150 мкм, но и их внутриклеточные структуры - органеллы, включения. Для усиления контрастности микрообъектов применяют их окрашивание.

Ультрафиолетовая микроскопия.

В ультрафиолетовом микроскопе используют более короткие ультрафиолетовые лучи с длиной волны около 0,2 мкм. Разрешаемое расстояние здесь в 2 раза меньше. Полученное в ультрафиолетовых лучах невидимое глазом изображение преобразуется в видимое с помощью регистрации на фотопластинке или путем применения специальных устройств (люминесцентный экран, электронно-оптический преобразователь).

Флюоресцентная (люминесцентная) микроскопия.

Атомы и молекулы, поглощая коротковолновые лучи, переходят в возбужденное состояние. Обратный переход из возбужденного состояния в нормальное происходит с испусканием света, но с большей длиной волны. В качестве источников света для возбуждения флуоресценции применяют ртутные или ксеноновые лампы , обладающие высокой яркостью в области спектра 0,25-0,4 мкм (ближние ультрафиолетовые лучи) и 0,4-0,5 мкм (сине-фиолетовые лучи). Изображение объекта изучают в свете флуоресценции. Различают собственную и наведенную флуоресценцию.

Собственной флуоресценцией обладают серотонин, катехоламины (адреналин, норадреналин), содержащиеся в нервных, тучных и других клетках.

Наведенная флуоресценция возникает при обработке препаратов специальными красителями - флюорохромами (акридин оранжевый, родамин, флюоросцеин и др.). При обработке акридиновым оранжевым ДНК имеет ярко-зеленое, а РНК - ярко-красное свечение. Таким образом, спектральный состав излучения несет информацию о внутреннем строении объекта и его химическом составе.

Фазовоконтрастная микроскопия.

Позволяет получить контрастные изображения прозрачных и бесцветных живых объектов. Контрастность неокрашенных структур достигается за счет специальной кольцевой диафрагмы, помещаемой в конденсоре, и фазовой пластинки, находящейся в объективе. Имеет место преобразование не воспринимаемых глазом фазовых изменений прошедшего через неокрашенный препарат света в изменение его амплитуды, т.е. яркости получаемого изображения. Повышение контраста позволяет видеть все структуры, различающиеся по показателю преломления.

Интерференционная микроскопия.

Интерференционный микроскоп предназначен для количественного определения массы ткани. Пучок света от осветителя разделяется на два потока: один проходит через объект и изменяет по фазе колебания, второй идет, минуя объект. В призмах объектива оба пучка соединяются и интерферируют между собой. В результате строится изображение, в котором участки микрообъекта разной толщины и плотности различаются по степени контрастности. Проведя количественную оценку изменений, определяют концентрацию и массу сухого вещества.

Электронная микроскопия.

В электронном микроскопе используется поток электронов. Длина волны электромагнитных колебаний, возникающих при движении потока электронов в вакууме, равна 0,0056 нм. Теоретически рассчитано, что разрешаемое расстояние может быть около 0,002 нм, или 0,000002 мкм, т.е. в 100 000 раз меньше, чем в световом микроскопе. Практически в современных электронных микроскопах разрешаемое расстояние составляет около 0,1-0,7 нм. В настоящее время широко используются трансмиссионные (ТЭМ) и сканирующие (СЭМ) электронные микроскопы. С помощью ТЭМ можно получить плоскостное изображение объекта, СЭМ позволяет получить пространственное изображение.

Исследование фиксированных клеток и тканей.

 Гистологический препарат может представлять собой мазок (крови, костного мозга, слюны), отпечаток (селезенки, тимуса, печени), пленку из ткани (соединительной или брюшины, плевры), тонкий срез.

Процесс изготовления гистологического препарата для световой и электронной микроскопии включает следующие основные этапы: 1) взятие материала и его фиксация; 2) уплотнение материала; 3) приготовление срезов; 4) окрашивание или контрастирование.

Готовый постоянный гистологический препарат может быть использован для изучения под микроскопом в течение многих лет.

Исследование живых клеток и тканей.

Прижизненные исследования клеток в организме (in vivo).

С помощью специальных микроскопов-иллюминаторов можно наблюдать циркуляцию крови в микрососудах.

Вживление прозрачных камер в организм животного помогает изучать изменения в трансплантанте, находящимся внутри камеры, в динамике.

Исследование живых клеток и тканей в культуре (in vitro).

Выделенные клетки, образцы тканей или органов помещают в стеклянные или пластмассовые сосуды, содержащие питательную среду. Обеспечивается стерильность среды и температура, соответствующая температуре тела. В этих условиях клетки в течении длительного времени сохраняют способность к росту, размножению, дифференцировке, движению.

Исследование химического состава клеток и тканей.

Цито- и гистохимические методы позволяют выявлять локализацию ДНК, РНК, белков, углеводов, липидов, аминокислот, минеральных веществ, витаминов в структурах клеток, тканей и органов. Эти методы основаны на специфичности реакции между химическим реактивом и субстратом, входящим в состав клеточных и тканевых структур, и окрашивании продуктов химической реакции.

Фракционирование клеточного содержимого.

Фракционировать структуры и макромолекулы клеток можно ультрацентрифугированием, хроматографией, электрофорезом.

С помощью ультрацентрифугирования клетки можно разделить на органеллы и макромолекулы. Вначале разрушают клетки осмотическим шоком, ультразвуком или механически. При этом мембраны распадаются на фрагменты, из которых формируются пузырьки, а ядра и органеллы сохраняются интактными. При ультрацентрифугировании вначале оседают более крупные части (ядра, цитоскелет), затем последовательно митохондрии, лизосомы и пероксисомы, микросомы и мельчайшие пузырьки, рибосомы и крупные макромолекулы. При центрифугировании различные фракции оседают с различной скоростью, образуя в пробирке отдельные полосы, которые можно выделить и исследовать.

Количественные цитохимические методы.

Особенность количественно-гистохимических методов исследования заключается в возможности изучения концентрации и содержания химических компонентов в конкретных структурах клеток и тканей.

Цитоспектрофотометрия - метод количественного изучения внутриклеточных веществ по их абсорбционным спектрам.

Цитоспектрофлюориметрия - метод количественного изучения внутриклеточных веществ по спектрам их флюоресценции.

Рекомендуемая литература:

1. Ченцов Ю.С. Основы клеточной биологии.М., МГУ, 2004,
2. Ченцов Ю.С. Общая цитология. Учебник. М.,МГУ, 1995. 384 с.
3. Заварзин А.А., Харазова А.Д.,Молитвин М.Н. Биология клетки.С-Петербург,ЛГУ, 1992. 314 с.
4. Ченцов Ю.С. Основы цитологии. Учебник. М., МГУ, 1984. 344 с.
5. Гистология, цитология и эмбриология (под ред. Ю.И.Афанасьева, Н.А.Юриной). М., Медицина, 2001.
6. Гистология (под ред. В.Г. Елисеева и др.). М., Медицина, 1989.

**Лекция 2. Учение о клетке. Организация биомембран, химический состав гиалоплазмы, цитозоль. Модели строения мембран. Функции биомембран (барьерно-транспортная, рецепторная, межклеточные соединения).**

**Цель:** сформировать представление об организации и функциях биомембран, химическом составе гиалоплазмы и цитозоля.

**Ключевые слова**: клеточная теория, цитоплазма, органелла, мембрана

Содержимое клетки отделено от внешней среды или от соседних клеток плазматической мембраной. Все эукариотические клетки состоят из двух основных компонентов: ядра и цитоплазмы. В ядре различают хроматин, ядрышки, ядерную оболочку, нуклеоплазму и ядерный белковый остов. Цитоплазма включает в себя гиалоплазму, в которой находятся органеллы. Часть органелл имеет мембранное строение: эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, лизосомы, пероксисомы, митохондрии. Немембранные органеллы представлены рибосомами, клеточным центром, ресничками, жгутиками, цитоскелетом. Кроме того, в гиалоплазме могут встретитьтся включения (жировые капли, пигментные гранулы и др.). Разделение клетки на отдельные компоненты не означает их функциональной обособленности. Все компоненты выполняют отдельные внутриклеточные функции. Изучением общих черт строения и функционирования клеток занимается цитология. Она исследует: отдельные клеточные структуры, их функции, пути регуляции этих функций, воспроизведение клеток и их компонентов, приспособление клеток к условиям среды, реакции на действие различных факторов, патологические изменения клеток.

**Цитоплазма.**

Цитоплазма - отделена от окружающей среды плазмолеммой, включает в себя гиалоплазму, находящиеся в ней обязательные клеточные компоненты - органеллы, а также различные непостоянные структуры - включения.

**Гиалоплазма.**

Гиалоплазма - матрикс цитоплазмы. Имеет вид гомогенного или тонкозернистого вещества с низкой электронной плотностью. Гиалоплазма является сложной коллоидной системой, включающей в себя различные биополимеры: белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды и др. Способна переходить из золеобразного (жидкого) состояния в гелеобразное и обратно. Отдельные зоны гиалоплазмы могут менять свое агрегатное состояние в зависимости от функциональной задачи. В гиалоплазме при участии рибосом и полирибосом происходит синтез белков, необходимых для собственно клеточных нужд, для поддержания и обеспечения жизни данной клетки. Важнейшая роль гиалоплазмы заключается в том, что эта полужидкая среда объединяет все клеточные структуры и обеспечивает химическое взаимодействие их друг с другом. Через гиалоплазму осуществляется большая часть внутриклеточных транспортных процессов: перенос аминокислот, жирных кислот, нуклеотидов, сахаров. В гиалоплазме идет постоянный поток ионов к плазматической мембране и от нее к митохондриям, к ядру и вакуолям. В гиалоплазме происходит отложение запасных продуктов: гликогена, жировых капель, пигментов, которые представляют собой **клеточные включения**.

**Понятие о мембранных и немембранных органеллах клетки.**

**Органеллы - постоянно присутствующие и обязательные** для всех клеток микроструктуры, выполняющие жизненно важные функции.

Различают мембранные и немембранные органеллы. Мембранные органеллы представлены цитоплазматической сетью, пластинчатым комплексом, митохондриями, лизосомами, пероксисомами. К немембранным органеллам относят рибосомы, клеточный центр и элементы цитоскелета (микротрубочки, микрофиламенты и промежуточные филаменты).

**Структурно-химическая характеристика мембран клеток.**

К клеточным мембранам относятся плазмолемма, кариолемма, мембраны митохондрий, эндоплазматической сети, аппарата Гольджи, лизосом, пероксисом. Общей чертой всех мембран клетки является то, что они представляют собой тонкие (6-10 нм) пласты липопротеидной природы. Основными химическими компонентами клеточных мембран являются липиды (40 %) и белки (60 %), кроме того - углеводы (5-10 %).

 К липидам относится большая группа органических веществ, обладающих плохой растворимостью в воде и хорошей растворимостью в органических растворителях и жирах. Состав липидов в разных мембранах неодинаков. Характерными представителями липидов, встречающихся в клеточных мембранах, являются фосфолипиды, сфингомиелины, холестерин.

Особенностью липидов является разделение их молекул на две функционально различные части: гидрофобные неполярные "хвосты", состоящие из жирных кислот, и гидрофильные полярные "головки". Это определяет способность липидов самопроизвольно образовывать двуслойные мембранные структуры.

 Белки мембран состоят из участков, богатых полярными аминокислотами, и участков, обогащенных неполярными аминокислотами. Белки в липидных слоях располагаются так, что их неполярные участки погружены в "жирную" часть мембраны, где находятся гидрофобные участки липидов. Полярная часть белков взаимодействует с головками липидов и обращена в сторону водной фазы. Эти белки как бы пронизывают мембрану, их называют интегральными белками мембран. Кроме интегральных белков существуют белки, частично встроенные в мембрану, - полуинтегральные и примембранные, не встроенные в билипидный слой. По биологической роли белки мембран делятся на белки-ферменты, белки-переносчики, рецепторные и структурные белки.

Углеводы мембран входят в их состав не в свободном состоянии, они связаны с молекулами липидов (гликолипиды) или белков (гликопротеиды).

**Плазмолемма.**

**Плазмолемма** - внешняя клеточная мембрана. Ее толщина - 10 нм, она является самой толстой из клеточных мембран.

Снаружи от плазмолеммы располагается **гликокаликс**. Его толщина 3-4 нм. В его состав входят периферические белки и углеводные компоненты гликолипидов и гликопротеидов. Гликокаликс играет важную роль во взиамоотношении клеток с окружающей средой и друг с другом (рецепция, адсорбция, пристеночное пищеварение).

Подмембранный слой - узкий участок цитоплазмы с внутренней стороны плазмалеммы, называется **кортексом.** В данном участке гиалоплазма более вязкая, не содержит органелл, содержит элементы цитоскелета.

 **Функции плазмолеммы.**

Разграничительная.

Рецепторная функция. Клеточная поверхность обладает большим набором рецепторов, определяющих возможность специфически связываться с различными агентами. Рецепторами могут служить гликопротеиды и гликолипиды мембран. Рецепторы могут быть разбросаны по всей поверхности клетки или собраны в набольшие зоны.

Транспортная. Плазмолемма обеспечивает как пассивный перенос ряда веществ (воды, ионов, низкомолекулярных соединений), так и активный - против градиента концентрации с затратой энергии за счет расщепления АТФ (сахаров, аминокислот). Эти процессы могут быть сопряжены с транспортом ионов, в них участвуют белки-переносчики. Крупные молекулы и их агрегаты попадают внутрь клетки в результате процесса эндоцитоза. Эндоцитоз разделяют на фагоцитоз (захват крупных частиц - бактерий, фрагментов других клеток) и пиноцитоз (захват отдельных молекул и макромолекулярных соединений).

Эндоцитоз начинается с сорбции на поверхности плазмолеммы поглощаемых веществ. Связывание их с плазмолеммой определяется наличием на ее поверхности рецепторных молекул. Затем плазмолемма начинает образовывать сначала небольшие впячивания, которые затем углубляются, отшнуровываются от плазмолеммы и свободно располагаются под ней. В дальнейшем эндосомы могут сливаться друг с другом, к ним подходят лизосомы и сливаются с ними. Гидролитические ферменты лизосом расщепляют биополимеры до мономеров, которые в результате активного транспорта через мембрану пузырька переходят в гиалоплазму.

 Экзоцитоз - выведение веществ из клетки. Внутриклеточные продукты (белки, мукополисахариды, липопротеиды), заключенные в вакуоли или пузырьки и отграниченные от гиалоплазмы мембраной, подходят к плазмолемме, мембрана и плазмолемма сливаются в месте контакта, содержимое вакуоли поступает за пределы клетки.

**Межклеточные соединения.**

 Межклеточные соединения делят на простые и сложные.

 Простое межклеточное соединение - сближение плазмолемм соседних клеток на расстояние 15-20 нм. При этом происходит взаимодействие слоев гликокаликса соседних клеток. Гликопротеиды соседних клеток узнают клетки одного типа и реагируют только с соответствующими им клетками.

 Сложные межклеточные соединения подразделяются на запирающие, сцепляющие и коммуникационные.

 К запирающим относится плотный контакт, осуществляемый посредством интегральных белков, расположенных в виде ячеистой сети по периметру клетки, взаимодействующих с расположенными аналогично интегральными белками соседней клетки. Плотный контакт непроницаем для макромолекул и ионов.

 К сцепляющим соединениям относятся адгезивный поясок и десмосомы.

 Адгезивный поясок - парное образование в виде ленты, опоясывающей апикальную часть клетки. Клетки связаны друг с другом интегральными гликопротеидами, к которым со стороны цитоплазмы примыкает слой примембранных белков, включающих винкулин. К этому слою подходит и связывается с ним пучок актиновых микрофиламентов.

 Десмосомы - парные структуры, представляющие собой небольшую площадку или пятно. Со стороны цитоплазмы прилежит слой белков, в состав которого входят десмоплакины. В этом слое заякореваются пучки промежуточных филаментов. С внешней стороны клетки в области десмосом соединяются с помощью трансмембранных доменов белков - десмоглеинов.

 Коммуникационные соединения представлены щелевыми контактами и синапсами.

 Щелевое соединение - область протяженностью 0,5 - 3 мкм, где плазмолеммы разделены промежутком в 2-3 нм. В структуре плазмолемм соседних клеток друг против друга располагаются специальные белковые комплексы (коннексоны), которые образуют как бы каналы из одной клетки в другую. Щелевое соединение участвует в переносе ионов и мелких молекул от клетки к клетке.

 Синапсы - участки контактов двух клеток, специализированных для односторонней передачи возбуждения или торможения.

### Рекомендуемая литература

1. Ченцов Ю.С. Введение в клеточную биологию . Учебник. М.,МГУ, 2004.
2. Заварзин А.А., Харазова А.Д.,Молитвин М.Н. Биология клетки.С-Петербург,ЛГУ, 1992. 314 с.
3. Ченцов Ю.С. Основы цитологии. Учебник. М., МГУ, 1984. 344 с.

**Лекция 3.** **Одномембранные органеллы клетки: цитоплазматическая сеть (гранулярный и агранулярный эндоплазматический ретикулум), пластинчатый комплекс Гольджи. Строение и функция.**

**Цель :** сформировать представление строение и функциях клеточных органелл

**Ключевые слова**: вакуоль, эндоплазматическая сеть, Аппарат Гольджи, лизосомы, цитоскелет, митохондрия

**Эндоплазматическая сеть.**

 Представляет собой совокупность вакуолей, плоских мембранных мешков или трубчатых образований, создающих как бы мембранную сеть внутри цитоплазмы. Различают гранулярную и агранулярную цитоплазматическую сеть.

 **Гранулярная эндоплазматическая сеть (ГЭР)** представлена замкнутыми мембранами, которые образуют на сечениях уплощенные мешки, цистерны, трубочки. Ширина полостей значительно варьирует в зависимости от функциональной активности клетки. Наименьшая ширина их - ок. 20 нм. Отличительной чертой этих мембран является то, что они со стороны гиалоплазмы покрыты рибосомами. ГЭР может быть представлена редкими разрозненными цистернами или их локальными скоплениями. Рибосомы, связанные с ГЭР, участвуют в синтезе белков, выводимых из данной клетки, а также белков-ферментов, используемых для внутриклеточного пищеварения.

 **Функции ГЭР:** синтез белков на экспорт, их изоляция от содержимого гиалоплазмы внутри мембранных полостей, химическая модификация белков (первичное глюкозилирование), локальная конденсация секрета, транспорт белков в другие участки клетки, синтез структурных компонентов клеточных мембран.

 **Агранулярная эндоплазматическая сеть (АЭР)** представлена мембранами, образующими мелкие вакуоли, трубки, канальцы, которые могут ветвиться, сливаться друг с другом. На мембранах АЭР нет рибосом. Диаметр вакуолей и канальцев обычно около 50-100 нм.

 АЭР возникает и развивается на основе ГЭР. В отдельных участках ГЭР возникают новые липопротеидные мембранные участки, лишенные рибосом. Эти участки могут разрастаться, отщепляться от гранулярных мембран и функционировать как самостоятельная вакуолярная система.

 **Функции АЭР:** участие в заключительных этапах синтеза липидов, некоторых внутриклеточных полисахаридов, депонировании ионов кальция, дезактивации различных вредных веществ за счет их окисления с помощью ряда специальных ферментов.

 **Пластинчатый комплекс.**

 Пластинчатый комплекс (**аппарат Гольджи**) представлен уплощенными мембранными мешочками и везикулами, собранными вместе в небольших зонах. Отдельная зона скопления этих мембран называется **диктиосомой.** Таких зон в клетке может быть несколько. В диктиосоме плотно друг к другу (на расстоянии 20-25 нм) расположены 5-10 плоских цистерн, между которыми находятся тонкие прослойки гиалоплазмы. В центре мембраны цистерн сближены (до 25 нм), на периферии могут иметь расширения - ампулы, ширина которых непостоянна. По периферии диктиосом расположено множество мелких везикул. В диктиосоме различают проксимальный (цис-) и дистальный (транс-) участки. В секретирующих клетках обычно комплекс Гольджи поляризован, его проксимальный, выпуклый, полюс обращен к ядру, дистальный, вогнутый, - к плазмалемме.

 В клетках отдельные диктиосомы могут быть связаны системой везикул и цистерн, примыкающих к дистальному концу скопления плоских мешочков, так что образуется рыхлая трехмерная сеть.

 **Функции комплекса Гольджи**: накопление продуктов, синтезированных в ГЭР, их химическая перестройка, созревание; синтез полисахаридов, их комплексирование с белками; выведение готовых секретов за пределы клетки. Отщепившиеся от ГЭР мелкие везикулы с белковым секретом в зоне цис-полюса соединяются с цистерной, внутри цистерн идет модификация углеводных компонентов гликопротеидов. Модифицирующиеся белки переходят от цистерны проксимальной части в цистерны дистальной части путем переноса мелких вакуолей с транспортируемым секретом. В дистальной части происходит сортировка белков: на внутренних поверхностях мембран цистерн располагаются белковые рецепторы, узнающие или секреторные белки, или белки, входящие в состав лизосом. В результате от дистальных участков диктиосом отщепляются два типа вакуолей: вакуоли - содержащие гидролазы - первичные лизосомы, и вакуоли, содержащие секреторные белки. Везикулы, содержащие секреторный продукт, могут сливаться друг с другом и увеличиваться в размерах, образуя секреторные гранулы. Секреторные гранулы приближаются к поверхности клетки, соприкасаются с плазмолеммой, мембраны сливаются, содержимое поступает за пределы клетки.

 С самого момента образования до выведения из клеток секретируемые продукты отделены мембраной от гиалоплазмы. Следовательно, мембраны аппарата Гольджи выполняют сегрегирующую роль.

**Лекция 4.** **Одномембранные органеллы клетки: лизосомы, пероксисомы, сферосомы, вакуоли. Строение и функция.**

**Лизосомы.**

Лизосомы - это вакуоли размером 0,2-0,4 мкм, ограниченные одиночной мембраной. Лизосомы содержат гидролитические ферменты - гидролазы (протеиназы, нуклеазы, глюкозидазы, фосфатазы, липазы), расщепляющие различные биополимеры при кислом рН.

 Выделяют **первичные лизосомы, вторичные лизосомы (фаголизосомы и аутолизосомы) и остаточные тельца.**

 Первичные лизосомы представляют собой мелкие мембранные пузырьки размером 0,2-0,5 мкм, заполненные бесструктурным веществом, содержащим гидролазы.

Вторичные лизосомы, или внутриклеточные пищеварительные вакуоли, формируются при слиянии первичных лизосом с фагоцитарными или пиноцитозными вакуолями, образуя фаголизосомы, а также с измененными органеллами самой клетки, подвергающимися перевариванию (аутофагосомы). При этом ферменты первичной лизосомы получают доступ к субстратам, которые они начинают расщеплять. Образовавшиеся мономеры транспортируются через мембрану лизосомы в гиалоплазму, где они включаются в различные обменные процессы.

Остаточное тельце - лизосома, содержащая непереваренные продукты. Содержит меньше гидролитических ферментов. В ней происходит уплотнение содержимого, его перестройка. В остаточных тельцах происходит вторичная структуризация непереваренных липидов, которые образуют слоистые структуры. В остаточных тельцах накапливаются пигменты.

**Пероксисомы.**

Пероксисомы - небольшие (0,3-1,5 мкм) овальной формы тельца, ограниченные мембраной, содержащие гранулярный матрикс, в центре которого часто видны кристаллоподобные структуры, состоящие из фибрилл и трубок. Содержат ферменты окисления аминокислот, при работе которых выделяется перекись водорода. Находящийся в пероксисомах фермент каталаза служит для разрушения перекиси водорода, являющейся токсичной для клетки.

**Сферосомы.**

**Сферосомы –** мембранные пузырьки размером 0,1-0,5 мкм, встречающиеся в клетках растений.СФ образуются из элементов эндоплазматического ретикулума. На концах цистерны ЭПР накапливается осмиофильный материал, который отпочковывается в мелкий пузырек. Это просферосома, которая растет и постепенно превращается в масляную каплю, окруженную одинарной мембраной. Кроме жиров в составе сферосом обнаруживают белки и среди них, фермент липазу, расщепляющий липиды.

**Вакуоли растительных клеток**

В цитоплазме клеток низших и высших растений содержатся вакуоли, несущие ряд важных физиологических функций:

- поддержание тургорного давления клеток;

- функция накопительных резеруаров, где накапливаются запасные вещества и метаболиты, которые затем экскретируются.

В качестве запасных веществ могут быть сахара и белки, неорганические вещества: фосфаты калия, натрия, кальция, соли органических кислот (оксолаты, цитраты).

У молодых клеток содержатся несколько вакуолей, которые по мере роста сливаются друг с другом, и образуют одну или несколько крупных вакуолей, занимающих 90% объема клетки. Это центральная вакуоль. Она отделена от цитоплазмы мембраной, которая называется **тонопластом**.

**Лекция 5. Двумембранные органеллы клетки: митохондрии и пластиды. Строение и функция митохондрий. Синтез АТФ. Митохондриальный ретикулум.**

Диаметр митохондрий около 0,5 мкм, длина от 1 до 10 мкм. Их количество варьирует от единичных до сотен. В клетках митохондрии могут перемещаться, сливаться друг с другом, делиться. Обычно митохондрии скапливаются в тех участках цитоплазмы, где возникает потребность в АТФ. Увеличение числа митохондрий происходит путем деления или почкования исходных.

Митохондрии ограничены двумя мембранами толщиной около 7 нм. Наружная митохондриальная мембрана отделяет их от гиалоплазмы. Обычно она имеет ровные контуры и замкнута, так что представляет собой мембранный мешок. Внешнюю мембрану от внутренней отделяет межмембранное пространство шириной около 10-20 нм. Внутренняя митохондриальная мембрана ограничивает собственно внутреннее содержимое митохондрии, ее матрикс. Внутренняя мембрана образует многочисленные впячивания (кристы) внутрь митохондрии.

Матрикс митохондрий имеет тонкозернистое строение, в нем выявляются тонкие нити и гранулы размером около 15-20 нм. Нити матрикса митохондрий представляют собой молекулы ДНК, а мелкие гранулы - митохондриальные рибосомы.

Функция митохондрий - синтез АТФ, происходящий в результате процессов окисления органических субстратов и фосфорилирования АТФ. Начальные этапы этих процессов совершаются в гиалоплазме. Здесь происходит первичное окисление субстратов до пировиноградной кислоты без участия кислорода (анаэробное окисление, гликолиз). Дальнейшее окисление пировиноградной кислоты и других субстратов с выделением СО2 происходит при участии О2 внутри митохондрий с участием ферментов цикла трикарбоновых кислот в матриксе. На мембранах крист происходит перенос электронов от одного белка-акцептора к другому и конечное их связывание с кислородом с образованием воды. Выделяющаяся энергия идет на образование АТФ. Именно на мембранах крист происходит окислительное фосфорилирование с помощью расположенных в них белков цепи окисления и АТФ-синтетазы.

В матриксе митохондрий локализована система автономного белкового синтеза. Она представлена молекулой ДНК, на которой происходит синтез РНК разных типов: иРНК, тРНК, рРНК. В матриксе имеет место синтез ряда митохондриальных белков.

**Лекция 6. Двумембранные органеллы клетки: строение и функция пластид. Классификация пластид. Фотосинтез: световая и темновая фазы фотосинтеза.**

**Пластиды**. Пластиды – это органоиды, встречающиеся у фотосинтезирующих эукариотических организмов (высшие растения, низшие водоросли, некоторые одноклеточные организмы). 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), представляющих собой ряд взаимных превращений одного вида пластиды в другой. Хлоропласты – это структуры, в которых происходят фотосинтетические процессы, приводящие в конечном итоге к связыванию углекислоты, к выделению кислорода и синтезу сахаров..Характерным для хлоропластов является наличие в них пигментов, хлорофиллов, которые и придают окраску зеленым растениям. При помощи хлорофилла зеленые растения поглощают энергию солнечного света и превращают ее в химическую. Поглощение света с определенной длиной волны приводит к изменению в структуре молекулы хлорофилла, она переходит при этом в возбужденное, активированное состояние. Освобождающаяся энергия активированного хлорофилла через ряд промежуточных этапов передается определенным синтетическим процессам, приводящим к синтезу АТФ и к восстановлению акцептора электронов НАДФ (никотинамидадениндинуклеотид) до НАДФ-Н, которые тратятся на реакции связывания СО2 и синтез сахаров.Суммарная реакция фотосинтеза может быть выражена следующим образом:

nСО2 + nН2О свет => (СН2О) n + nО2

 хлорофилл

Таким образом, главный итоговый процесс здесь – связывание двуокиси углерода с использование воды для образования различных углеводов и выделение кислорода. Молекулы кислорода, который выделяется в процессе фотосинтеза у растений, образуется за счет гидролиза молекулы воды. **Процесс фотосинтеза представляет собой сложную цепь событий, заключающую в себе две фазы: световую и темновую.** Первая, протекающая только на свету, связана с поглощением света хлорофиллами и с проведением фотохимической реакции (реакция Хилла). Во второй фазе, которая может идти в темноте, происходит фиксация и восстановление СО2 , приводящие к синтезу углеводов.В результате световой фазы происходит фотофосфорилирование, синтез АТФ из АДФ и фосфата с использованием цепи переноса электронов, а также восстановление кофермента НАДФ в НАДФ-Н, происходящего при гидролизе и ионизации воды. В темновой (независящей от потока фотонов) стадии фотосинтеза за счет восстановленного НАДФ и энергии АТФ происходит связывание атмосферного СО2, что приводит к образованию углеводов. Этот процесс фиксации СО2 и образования углеводов состоит из многих этапов, в которых участвует большое число ферментов (цикл Кальвина). В конечном счете в хлоропласте из шести молекул СО2 образуется одна молекула гексозы, для этого процесса требуется 12 молекул НАДФ-Н и 18 молекул АТФ, поступающих из световых реакций фотосинтеза. Образовавшийся в результате темновой реакции фруктоза-6 –фосфат дает начало сахарам, полисахаридам (крахмал) и галактолипидам. В строме хлоропластов кроме того из части глицерид-3-фосфата образуются жирные кислоты, аминокислоты и крахмал. Синтез сахарозы завершается в цитоплазме. В строме хлоропластов происходит восстановление нитритов до аммиака, за счет энергии электронов, активированных светом; в растениях этот аммиак служит источником азота при синтезе аминокислот и нуклеотидов.

**Лекция 7.**

**Немембранные органеллы клетки: рибосомы, цитоскелет, клеточный центр, реснички и жгутики, включения.**

Рибосомы.

Рибосомы - элементарные аппараты синтеза полипептидных молекул. Рибосомы - это рибонуклеопротеиды, в состав которых входят белки и молекулы рРНК примерно в равных весовых отношениях. Размер рибосомы 25\*20\*20 нм. Рибосома состоит из большой и малой субъединиц. Каждая субъединица состоит из рибонуклеопротеидного тяжа.

Различают единичные рибосомы и комплексы рибосом (полисомы). Рибосомы могут свободно располагаться в гиалоплазме и быть связанными с мембранами ГЭР. Синтетическая деятельность свободных рибосом направлена на собственные нужды клетки – «белки домашнего пользования». Связанные рибосомы обеспечивают синтез белков на экспорт – «экспортные белки».

Цитоскелет.

Цитоскелет - опорно-двигательная система клетки. Представлена немембранными белковыми нитчатыми образованиями. Нитчатые белковые структуры - динамичные образования, могут быстро возникать и быстро разбираться. К этой системе относятся фибриллярные структуры и микротрубочки.

Фибриллярные структуры цитоплазмы. К ним относятся микрофиламенты толщиной 5-7 нм и промежуточные филаменты, или микрофибриллы, толщиной около 10 нм.

*Микрофиламенты* встречаются практически во всех типах клеток. Они располагаются в кортикальном слое цитоплазмы пучками или слоями. Образованы сократительными белками: актином, миозином, тропомиозином, а-актинином. Микрофиламенты выполняют функцию сокращения (обеспечивают подвижность клетки, внутриклеточные перемещения вакуолей, участвуют в делении клетки). Кроме того выполняют каркасную роль, соединяясь со стабилизирующими белками и образуя пучки или сети.

*Промежуточные филаменты*, или *микрофиламенты -* тонкие, неветвящиеся, часто располагающиеся пучками нити белковой природы. Белковый состав различен в разных тканях (в эпителии - кератин, в соединительной ткани - виментин, в мышечных клетках - десмин) Функция их - опорно-каркасная.

*Микротрубочки -* прямые, неветвящиеся полые цилиндры. Внешний диаметр - 24 нм, внутренний просвет - 15 нм, толщина стенки - 5 нм. Стенка построена за счет плотно уложенных округлых субъединиц. На поперечном сечении видны 13 субъединиц. Содержат белки - тубулины. Функции: внутриклеточный каркас, необходимый для поддержания формы клетки; участие в перемещении вакуолей (как по рельсам); являются составной частью клеточного центра, ресничек, жгутиков. Система микротрубочек развивается в связи с центриолью, где происходит начальная полимеризация тубулинов и рост микротрубочек.

Клеточный центр.

Клеточный центр состоит из *центриолей* и связанных с ними микротрубочек - *центросферы.*

Центриоль образована 9 триплетами микротрубочек, образующими полый цилиндр. Его ширина 0,2 мкм, длина 0,3-0,5 мкм. В интерфазных клетках две центриоли, расположенные под прямым углом друг к другу, образуют *диплосому*. Различают материнскую и дочернюю центриоли. Вокруг каждой центриоли волокнистый бесструктурный матрикс. Центросфера вокруг центриоли образована микротрубочками.

При подготовке клетки к делению происходит удвоение центриолей. Две центриоли расходятся и около каждой из них возникает по новой дочерней, так что в клетке перед делением 2 диплосомы. Центриоли участвуют в индукции полимеризации тубулина при образовании микротрубочек.

Реснички и жгутики.

*Ресничка* представляет собой тонкий цилиндрический вырост цитоплазмы с постоянным диаметром 300 нм. Внутри - аксонема ("осевая нить") - сложная структура, состоящая из микротрубочек. Проксимальная часть реснички (*базальное тело*) погружена в цитоплазму. Диаметры аксонемы и базального тела одинаковы.

Базальное тельце по структуре сходно с центриолью. Оно состоит из 9 триплетов микротрубочек.

Аксонема в своем составе имеет 9 дуплетов микротрубочек, образующих стенку цилиндра аксонемы и связанных друг с другом с помощью белковых выростов - "ручек", состоящих из белка динеина. В центре аксонемы располагается пара центральных микротрубочек. Систему микротрубочек реснички описывают как (9\*2) +2 в отличие от (9\*3)+0 системы центриолей и базальных телец. Базальное тельце и аксонема структурно связаны друг с другом и составляют единое целое: две микротрубочки триплетов базального тельца являются микротрубочками дуплетов аксонемы.

Функции ресничек и жгутиков: осуществление движения клетки или окружающих клетку жидкостей. Движение маятникообразное, крючкообразное, волнообразное.

Основной белок ресничек - тубулин - неспособен к сокращению. Движение ресничек осуществляется за счет активности белка динеина "ручек". Смещение дуплетов микротрубочек друг относительно друга вызывает изгиб всей реснички.

### Рекомендуемая литература

1. Ченцов Ю.С. Введение в клеточную биологию . Учебник. М.,МГУ, 2002.
2. Заварзин А.А., Харазова А.Д.,Молитвин М.Н. Биология клетки.С-Петербург,ЛГУ, 1992. 314 с.
3. Ченцов Ю.С. Основы цитологии. Учебник. М., МГУ, 1984. 344 с.

**Лекция 8**. **Строение и функция клеточного ядра. Строение ядерной оболочки. Компоненты ядерной оболочки. Ядерные поры и ядерные ламины. Роль ядерных пор в ядерно-цитоплазматическом обмене.**

**Цель :** сформировать представление строение и функциях клеточного ядра

**Ключевые слова**: ядро, нуклеоплазма, хроматин, ядрышко,хромосома

Ядро – обязательная часть клетки у многих одноклеточных и всех многоклеточных организмов. По наличию или отсутствию в клетке оформленного ядра все организмы делят на прокариот и эукариот. Основные отличия – в степени обособления генетического материала от цитоплазмы и в образовании сложных ДНК- содержащих структур – хромосом. Ядро обеспечивает две группы функций. Во первых - хранение и поддержание наследственной информации (репарационные ферменты ликвидируют спонтанные повреждения молекул ДНК; редупликация ДНК в ядре, т.о. при митозе дочерние клетки получают одинаковые объемы наследственной информации). Во вторых – реализация наследственной информации – обеспечение синтеза белка (создание аппарата белкового синтеза – транскрипция и образование иРНК, тРНК, рРНК; образование субъединиц рибосом).

Таким образом, ядро – вместилище генетического материала, место функционирования этого материала, место его воспроизведения.

Структура и химический состав ядра.

Большинство клеток эукариот имеет одно ядро, обычно сферическое или эллипсоидное, реже неправильной формы (лопастное и т.п.). Размеры от 1 мкм (у простейших) до 1 мм (в яйцах некоторых рыб, земноводных). Нередки двуядерные и многоядерные клетки (поперечнополосатые мышечные волокна). Встречаются ядра с политенными хромосомами (хромосомы, образованные не двумя, а большим числом хромонем). Ядра с большим, чем характерно для вида числом хромосом называются полиплоидными.

Ядро состоит из хроматина (хромосом), ядрышка, ядерного белкового остова (матрикс), кариоплазмы (нуклеоплазма) и ядерной оболочки, отделяющей ядро от цитоплазмы.

Ядерный белковый матрикс.

Ядерный белковый матрикс – структурная сеть внутри ядра, образованная негистоновыми белками. Определяет морфологию и метаболизм ядра. Представлен периферическим фибриллярным слоем, подстилающим ядерную оболочку – ламина. Кроме того, матрикс образует внутриядерную сеть, к которой крепятся фибриллы хроматина.

Функции матрикса – поддержание формы ядра, организация пространственного расположения хромосом, организация активности хромосом. На элементах матрикса располагаются ферменты синтеза РНК и ДНК. Белки матрикса участвуют в дальнейшей компактизации ДНК.

 Ядерная оболочка.

 Ядерная оболочка – кариолемма, состоит из внешней и внутренней ядерных мембран, разделенных перинуклеарным пространством. Ядерная оболочка содержит ядерные поры. Ядерная оболочка – барьер между содержимым ядра и цитоплазмой. Регулирует транспорт макромолекул между ядром и цитоплазмой. Морфология мембран ядра не отличается от мембран клетки. Со стороны гиалоплазмы на внешней ядерной мембране расположены полирибосомы. Внешняя ядерная мембрана может прямо переходить в мембраны ГЭР. Ядерная оболочка участвует в создании внутриядерного порядка, в фиксации хромосом в трехмерном пространстве.

 Ядерные поры образуются за счет слияния двух ядерных мембран. Округлые сквозные отверстия поры имеют диаметр около 90 нм. Они заполнены глобулярными и фибриллярными структурами. Совокупность фибриллярных и глобуллярных структур и мембранных перфораций называется комплексом поры. Комплекс поры имеет октагональную симметрию. По границе отверстия в ядерной оболочке расположены 3 ряда гранул по 8 в каждом: один ряд со стороны ядра, другой со стороны цитоплазмы, третий в центральной части поры. Величина гранул 25 нм. От гранул отходят фибриллярные отростки. Размер пор как внутри одной клетки, так и между клетками разных организмов стабилен.

Ядерные поры участвуют в рецепции транспортируемых макромолекул, переносе макромолекул с использованием АТФ.

Число пор зависит от метаболической активности клеток. Чем интенсивнее метаболические процессы, тем больше пор на единицу поверхности ядра. В среднем на одно ядро приходится несколько тысяч поровых комплексов.

**Лекция 9. Строение и функция хроматина: эу- и гетерохроматин. Хромосомный цикл. Морфология митотических хромосом. Каритип вида. Уровни компактизации ДНК: функциональная роль гистоновых и негистоновых белков. Нуклеосомы, нуклеомеры, хромомеры, хромонемы, хроматиды.**

Хроматин.

Хроматин – компонент ядра, способный хорошо воспринимать красители, особенно основные. Такими же свойствами обладают хромосомы – плотные окрашенные тельца во время митоза. В интерфазных клетках хроматин может более или менее равномерно заполнять объем ядра или располагаться отдельными глыбками.

Хроматин – ДНК в комплексе с белками. Хроматин интерфазных ядер – хромосомы, которые теряют свою компактную форму – деконденсируются. Степень деконденсации различна. Зоны полной деконденсации – эухроматин. Гетерохроматин (конденсированный хроматин) – не полная деконденсация. Степень деконденсации отражает функциональную нагрузку. Чем «диффузнее» хроматин, тем интенсивнее синтетические процессы. Максимально конденсирован хроматин во время митоза – выявляется в виде хромосом. В этот период хромосомы не выполняют никаких синтетических функций. Таким образом хромосомы в клетках могут находиться в 2 структурно-функциональных состояниях: в активном, частично или полностью деконденсированном (процессы транскрипции и редупликации) и в неактивном, состоянии метаболического покоя при максимальной конденсации (распределение и перенос генетической информации в дочернии клетки)

Фибриллы хроматина, толщиной 20-25 нм, - сложные комплексы ДНП (ДНК + специальные хромосомные белки – гистоновые и негистоновые). В составе хроматина обнаруживаются также РНК. Отношение ДНК, белка и РНК равно 1 / 1,3 / 0,2. Длина ДНК может достигать сотен мкм и см. (первая хромосома человека содержит ДНК длиной 4 см.).

ДНК – линейные молекулы, состоящие из тандемно расположенных репликонов разного размера. Репликоны – участки независимой репликации. Синтез ДНК внутри одной хромосомы и среди нескольких хромосом идет асинхронно. Наиболее поздно репликация заканчивается в конденсированных участках хромосом.

Белки хроматина составляют 60-70% от его сухой массы. Различают гистоновые и негистоновые белки. Гистоны – щелочные белки (богаты основными аминокислотами – лизином, аргинином). Гистоны обеспечивают специфическую укладку молекулы ДНК; регулируют транскрипцию. Гистоны расположены по длине молекулы ДНК в виде блоков. Один блок – 8 молекул гистонов – нуклеосома. Размер нуклеосомы около 10 нм. При образовании нуклеосомы происходит сверхспирализация ДНК, ее длина уменьшается в 7 раз. Хромосомная фибрилла имеет вид нитки бус, где каждая бусинка – нуклеосома. Такие фибриллы толщиной 10 нм дополнительно продольно конденсируются и образуют основную элементарную фибриллу хроматина толщиной 25 нм.

В интерфазе фибриллы хроматина собраны в петли. Эти петли собраны в розетки. Основания петель связаны друг с другом негистоновыми белками. Петлевые группы при падении активности хроматина могут конденсироваться, образуя хромомеры.

В ядрах обнаруживаются также перихроматиновые фибриллы, перихроматиновые и интерхроматиновые гранулы. Они представляют собой иРНК, связанные с белками.

ДНК для синтеза рРНК собрана в нескольких компактных участках, входящих в состав ядрышек интерфазных ядер.

Морфология митотических хромосом.

Как интерфазные, так и митотические хромосомы – одна молекула ДНП. Хромосомы в метафазе, в момент их наибольшей конденсации, представляют собой палочковидные структуры разной длины и довольно постоянной толщины.

Центромера – зона первичной перетяжки, делит хромосому на два плеча. Хромосомы с равными плечами – метацентрические, с плечами неодинаковой длины – субметацентрические. Акроцентрические – с очень коротким, почти незаметным вторым плечом. В области первичной перетяжки расположен кинетохор - сложная белковая структура в виде овальной пластинки, связанная с ДНК в центромерном районе. К кинетохору во время деления подходят микротрубочки веретена деления.

Некоторые хромосомы имеют вторичные перетяжки, расположенные вблизи одного из концов хромосомы и отделяющие маленький участок – спутник хромосомы. Вторичные перетяжки – это ядрышковые организаторы. Теломеры – конечные участки плеч хромосом.

 Размеры хромосом и их число у разных видов варьируют в широких пределах. Кариотип вида – совокупность числа, размеров и особенностей строения хромосом.

**Лекция 10. Структура и функция ядрышек. Гранулярный и фибриллярный компоненты ядрышек. Фибриллярные центры и ядрышковый организатор. Структурные типы ядрышек: ретикулярный (нуклеолонемный, компактный, кольцевидный, сегрегированный). Число ядрышек в клетке. Множественность рибосомальных генов. Амплификация ядрышек.**

Ядрышко.

В ядре выявляется 1 или несколько округлой формы телец – ядрышко (нуклеола). Ядрышко хорошо окрашивается красителями, особенно основными, т.к. богаты РНК. Ядрышко – производное хромосомы, один из ее локусов с наиболее высокой концентрацией и активностью синтеза РНК. Не является самостоятельной структурой. Ядрышко – место образования рРНК и рибосом.

Образование ядрышек и их число связаны с активностью ядрышковых организаторов (расположены в зонах вторичных перетяжек). Количество ядрышек может меняться за счет слияния нескольких ядрышек, или изменения числа хромосом с ядрышковыми организаторами. ДНК ядрышкового организатора – множество копй генов рибосомной РНК. На каждом гене синтезируется предшественник рРНК, который превращается в более короткую РНК рибосом. Т.О. на ДНК ядрышкового организатора образуется предшественник рРНК, который в зоне ядрышка одевается белком, происходит сборка рибонуклеопротеидных частиц – субъединиц рибосом, которые выходят в цитоплазму, собираются в рибосомы, включаются в синтез белка.

Ядрышко имеет гранулярный и фибриллярный компоненты. Фибриллярный компонент - тяжи РНП предшественников, гранулярный – созревающие субъединицы рибосом. В зоне фибрилл располагаются также участки ДНК ядрышковых организаторов. Ультраструктура ядрышек зависит от активности синтеза рРНК. При высоком уровне активности в ядрышке много гранулярного компонента, при снижении активности число гранул снижается, ядрышко превращается в плотные фибриллярные тельца.

**Лекция 11. Клеточный цикл. Регуляция клеточного цикла. Факторы стимуляции митоза**

**Цель:** сформировать представление о клеточном цикле, клеточном делении, дифференцировке и клеточной гибели.

**Ключевые слова**: клеточный цикл, периоды клеточного цикла, факторы митоза

Клеточный цикл.

Увеличение числа клеток происходит путем деления исходной клетки. Делению клеток предшествует редупликация числа хромосом. Клеточный цикл – время существования клетки от деления до деления (или от деления до смерти). Клетки различных тканей имеют неодинаковую способность к делению. Встречаются популяции клеток, полностью потерявшие способность делиться (специализированные клетки, зернистые лейкоциты крови). Есть постоянно обновляющиеся ткани, в которых часть клеток постоянно делятся, заменяя погибающие клетки (покровный эпителий, кроветворные клетки костного мозга). Многие клетки, не размножающиеся в обычных условиях, приобретает это свойство при репаративной регенерации.

 Размножающиеся клетки обладают разным количеством ДНК в зависимости от стадии клеточного цикла. Половые клетки несут гаплоидный набор хромосом (1n), следовательно, содержат ДНК в 2 раза меньше (1с). Соматические клетки диплоидны (2n2с). Во время клеточного цикла клетки диплоидные, тетраплоидные и с промежуточным количеством ДНК.

 Клеточный цикл состоит и 4 отрезков времени: митоз (М), пресинтетический (G1), синтетический (S) и постсинтетический (G2) периоды интерфазы.

 Пресинтетический период (G1) – диплоидное содержание ДНК (2с), содержание белков и РНК вдвое меньше, чем в родительской клетке. Происходит рост клеток за счет накопления белков. Начинается подготовка клетки к синтезу ДНК. Имеет место синтез ферментов, необходимых для образования предшественников ДНК.

 Синтетический период (S) – удвоение количества ДНК. Уровень синтеза РНК возрастает соответственно увеличению количества ДНК.

 Постсинтетическая фаза (G2) – имеет место синтез иРНК для митоза, синтез рРНК. Синтез тубулинов.

 Конец G2  периода, митоз – синтез РНК резко падает и полностью прекращается во время митоза. Синтез белка также понижается.

 Период G0 – клетки находятся вне цикла. Клетки после митоза не вступают в пресинтетический период. Это покоящиеся клетки. В частности, камбиальные, которые находятся в пресинтетическом периоде длительное время, не изменяя своей морфологии, сохраняя способность делиться. Кроме того дифференцирующиеся клетки, у которых потеря способности делиться сопровождается их специализацией. Есть клетки, которые временно теряют способность делиться (клетки печени), полностью теряют способность к делению (нейроны головного мозга, кардиомиоциты).

**Лекция 12 Клеточное деление (митоз и мейоз). Митотическое деление клеток. Различные типы митоза эукариот (плевромитоз, ортомитоз). Организация митоза. Эндорепродукция, полиплоидия и политения. Патология митоза.**

 Митоз.

#  Митоз – кариокинез – непрямое деление – универсальный способ деления эукариотических клеток. При этом редуплицированные и конденсированные хромосомы переходят в компактную форму митотических хромосом, образуется веретено деления, происходит расхождение хромосом к противоположным полюсам и цитокинез.

 Митоз делится на несколько фаз: профаза, метафаза, анафаза, телофаза.

 Профаза. Хромосомы регистрируются как плотные нитевидные тельца. В начале профазы сестринские хромосомы тесно соприкасаются друг с другом, взаимноспирализуясь друг вокруг друга. Двойственность хромосом не различима. Визуально определяется 2n набор хромосом. В конце профазы хромосомы начинают обособляться, раскручиваться. Выявляется 4n набор хромосом. Имеет место исчезновение и дезинтеграция ядрышек. В середине профазы начинается разрушение ядерной оболочки: исчезают ядерные поры, оболочка распадается на отдельные фрагменты, затем на мелкие мембранные пузырьки. В цитоплазме имеет место уменьшение ГЭР, он распадается на короткие цистерны и вакуоли, количество рибосом резко уменьшается. Редуцируется число полисом на мембранах ГЭР и в гиалоплазме.

 Образуется веретено деления (к полюсам расходятся диплосомы, начинают формироваться микротрубочки). Аппарат деления имеет веретеновидную форму и состоит из двух зон центросфер с центриолями внутри них и зоны волокон веретена. Микротрубочки возникают в результате полимеризации тубулинов в зоне центриолей. Микротрубочки достигают кинетохоров и связываются с ними. Различают два типа микротрубочек – идущие от полюса к центру веретена и хромосомные, соединяющие хромосомы с одним из полюсов.

Метафаза. Заканчивается образование веретена деления. Хромосомы выстраиваются по экватору, образуя метафазную пластинку (материнскую звезду). Сестринские хромосомы обособляются, сохраняя контакт только в зоне центромеры.

Анафаза. Хромосомы все одновременно теряют связь друг с другом и начинают расходиться к полюсам клетки. Скорость движения хромосом равномерная. Расхождение хромосом по полюсам происходит одновременно с расхождением самих полюсов (за счет скольжения друг относительно друга межполюстных микротрубочек).

Телофаза. В ранней телофазе хромосомы, не меняя своей ориентации (центромеры к полюсу, теломеры к центру), начинают деконденсироваться. В местах контактов хромосом с мембранными фрагментами обазуется новая ядерная оболочка. После замыкания ядерной оболочки начинается формирование ядрышек. Цитотомия (цитокинез) – путем образования перетяжки в результате впячивания плазматической мембраны (за счет сокращения актиновых микрофибрилл подмембранного слоя, расположенных циркулярно по экватору).

Полиплоидия.

 Полиплоидия - образование клеток с повышенным содержанием ДНК. Полиплоидные клетки образуются в результате отсутствия или незавершения отдельных этапов митоза. Например, при блокаде цитотомии (в печени взрослых млекопитающих, эпителии мочевого пузыря, пигментном эпителии сетчатки). Клетки после синтетического периода содержат 4с, они вступают в митоз, проходят все его фазы, но разделения клеток не происходит. В результате образуется двуядерная клетка. Данная клетка вступает в следующий клеточный цикл. Во время митоза в метафазе все хромосомы объединяются (4с+4с), затем происходит полный митоз с образованием двух тетраплоидных клеток. Процесс попеременного образования двуядерных и одноядерных клеток приводит к образованию ядер с 8с, 16с, 32с. Полиплоидизация характерна для специализированных, дифференцированных клеток. Не встречается в эмбриогенезе, при образовании половых клеток, среди стволовых клеток.

 Эндоредупликация – несколько циклов редупликации ДНК без последующего митоза. Приводит к увеличению количества ДНК в ядре.

 Политенные хромосомы – редуплицированные хромосомы, сохранившие связь друг с другом.

 Патология митоза.

 Процесс митоза очень чувствителен к действию самых разнообразных факторов.

 Остановка митоза на стадии метафазы. Воздействие цитостатиков (колхицина, колцемида) препятствует полимеризации тубулинов. В результате новые микротрубочки веретена не образуются, а готовые полностью разбираются. При этом митотические хромосомы собираются в центре клетки, но не образуют метафазную пластинку, а располагаются хаотично. Неразошедшиеся хромосомы деконденсируются, образуется новая ядерная оболочка вокруг удвоенного числа хромосом. Тетраплоидная клетка переходит в пресинтетическую фазу.

 Многополюсные митозы. В метафазе образуется не биполярное веретено, а веретено с 3 или 4 полюсами в результате нарушения функции центриолей. Диплосома распадается на две активные моноцентриоли. Возникают аномальные трех- и четырехполюсные митотические фигуры, участвующие в расхождении хромосом, затем наступает цитотомия с образованием 3 или 4 клеток. В этих случаях не происходит равномерного распределения хромосом, образовавшиеся клетки содержат случайные уменьшенные наборы. Клетки с ненормльным числом хромосом называют анеуплоидными. Эти клетки обычно быстро погибают.

 Нарушение митоза в результате структурных изменений самих хромосом. Воздействие лучистой энергии (УФ, рентгеновские лучи), алкилирующих соединений (иприт) приводит к изменению структуры хромосом. Возникают хромосомные абберации. При разрыве хромосомы та ее часть, которая не несет центромеры, не участвует в расхождении хромосом и случайно оказывается в одной из дочерних клеток. Такой фрагмент хромосомы в интерфазе покрывается собственной ядерной оболочкой (возникает дополнительное микроядро). В результате объединения двух поврежденных хромосом возникает одна, но с двумя центромерами, которые растягиваются к противоположным полюсам.

 Аномалии митоза на стадии цитотомии связаны с подавлением образования актиновых микрофиламентов, участвующих в оброзовании клеточной перетяжки в конце телофазы.

**Лекция 13. Мейоз. Споровый и гаметный тип мейоза.Стадии мейотического деления. Кроссинговер.**

Мейоз.

Мейоз – деление клеток, приводящее к уменьшению числа хромосом вдвое. Состоит из двух, следующих друг за другом делений ядра, сопровождающееся лишь одним увеличением количества ДНК. Для мейоза характерен кроссинговер – обмен участками между гомологичными хромосомами.

Клетка, вступающая в мейоз, имеет 2n2с набор, т.е. каждая хромосома имеет своего гомолога. Перед первым мейозом в S периоде происходит редупликация хромосом, т.о. клетка имеет 4n4с набор.

Первое деление мейоза включает следующие фазы: профазу, метафазу, анафазу и телофазу. Профаза первого деления мейоза подразделяется на следующие стадии: лептотену, зиготену, пахитену, диплотену и диакинез.

Лептотена (стадия тонких нитей). Клетки содержат 4n набор хромосом. Хромосомы начинают конденсироваться.

Зиготена (стадия сливающихся нитей). Происходит сближение и начало конъюгации гомологичных хромосом. Гомологичные хромосомы образуют биваленты. Число бивалентов 1n, число хромосом в биваленте равно 4.

Пахитена (стадия толстых нитей). Отмечается полная конъюгация гомологов, в результате хромосомы выглядят толстыми. Их число - 1n. Количество ДНК 4с. Происходит кроссинговер - взаимный обмен идентичными участками между гомологичными хромосомами.

Диплотена (стадия двойных нитей). Происходит отталкивание гомологов друг от друга. Сестринские хроматиды остаются соединенными по всей длине. В бивалентах видны хиазмы – места перекреста и сцепления хромосом. Происходит дальнейшее укорачивание и конденсация хромосом.

 Диакинез (стадия обособления двойных нитей). Отмечается уменьшение числа хиазм, укорочение бивалентов. Хромосомы теряют связи с ядерной оболочкой.

 Метафаза 1 деления мейоза. Хромосомы выстраиваются по зкватору клетки.

 Анафаза 1 деления мейоза. Происходит расхождение хромосом к противоположным полюсам клетки.

 Телофаза 1 деления мейоза. Разделение клетки на две дочернии.

 По окончании 1 деления мейоза наступает непродолжительная интерфаза без синтетического периода. Во второе деление мейоза клетка вступает, имея 2n набор хромосом. Второе деление мейоза имеет профазу, метафазу, анафазу и телофазу. По окончании второго деления образуются клетки с гаплоидным числом хромосом.

**Лекция 14. Клеточная дифференцировка. Плюро- и тотипотные клетки. Дифференциальная активность генов. Морфогенез. Дедиференцировка. Патология клеток.**

Клеточная дифференцировка.

Клеточная дифференцировка – биохимические, морфологические, функциональные изменения развивающейся структуры, при которых однородные образования превращаются во все более различные. В результате дифференцировки образуется специализированная морфологическая структура, выполняющая определенную функцию, т.е. происходит морфогенез.

Детерминация – выбор конкретного пути развития или выбор пути дифференцировки. На ранних стадиях развития у клетки имеются потенциальные возможности превращения в разные типы клеток. В ходе развития число таких потенциальных возможностей ограничивается. Такое уменьшение клеточных потенций называется коммитированием . Закрепление окончательного пути развития клетки и представляет собой процесс детерминации. Причиной детерминации является индуцирующее влияние окружения.

Процессы дифференцировки и детерминации протекают на уровне генома. Дифференцировка клетки происходит без изменения генома. Любая клетка образуется в результате деления одной и той же зиготы – значит, все соматические клетки содержат одинаковый полный набор генов, сформированный в зиготе, то есть ДНК всех клеток, независимо от уровня дифференцировки, идентична. Процессы детерминации заключаются в активации (экспрессии) одних генов и подавлении (репрессии) других генов, в результате чего возникают различия между клетками, вот почему клетки дифференцированы по-разному. В настоящее время изучены лишь некоторые механизмы избирательного включения (экспрессии) генов. Упрощенно это можно представить следующим образом: в самих генах имеются участки, включающие ген – энхансеры и участки, выключающие ген – сплансеры. В действительности эти процессы значительно сложнее и происходят на уровне транскрипции РНК (дифференциальная транскрипция) под влиянием различных энхансеров. Одни из них могут активизироваться только на определенной стадии развития, другие энхансеры активизируются только в определенных тканях.

Тотипотентные стволовые клетки – клетки, которые могут дифференцироваться во все типы клеток эмбриональных и внезародышевых тканей. Могут дать начало полноценному жизнеспособному организму (оплодотворенная яйцеклетка (зигота), первые бластомеры у большинства видов животных).

Плюрипотентные стволовые клетки – клетки, являющиеся потомками тотипотентных, могут дать начало практически всем тканям и органам, за исключением внезародышевых тканей (плаценты и т.п.) Из этих стволовых клеток развиваются три зародышевых листка: эктодерма, мезодерма и энтодерма.

Самая первая дифференцировка в процессе развития [эмбриона](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%AD%D0%BC%D0%B1%D1%80%D0%B8%D0%BE%D0%BD) происходит на этапе формирования [бластоцисты](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%BB%D0%B0%D1%81%D1%82%D0%BE%D1%86%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%B0), когда однородные клетки [морулы](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%BE%D1%80%D1%83%D0%BB%D0%B0) разделяются на два клеточных типа: внутренний [эмбриобласт](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%AD%D0%BC%D0%B1%D1%80%D0%B8%D0%BE%D0%B1%D0%BB%D0%B0%D1%81%D1%82) и внешний [трофобласт](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D1%80%D0%BE%D1%84%D0%BE%D0%B1%D0%BB%D0%B0%D1%81%D1%82). Трофобласт участвует в имплантации эмбриона и дает начало эктодерме [хориона](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A5%D0%BE%D1%80%D0%B8%D0%BE%D0%BD) (одна из тканей [плаценты](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D0%BB%D0%B0%D1%86%D0%B5%D0%BD%D1%82%D0%B0)). Эмбриобласт даёт начало всем прочим тканям эмбриона. По мере развития эмбриона клетки становятся всё более специализированными (мультипотентные, унипотентные), пока не станут окончательно дифференцировавшимися клетками, обладающими конечной функцией, как например, [мышечные](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D1%8B%D1%88%D1%86%D1%8B) клетки. В организме человека насчитывается порядка 220 различных типов клеток. Небольшое количество клеток во взрослом организме сохраняют мультипотентность. Они используются в процессе естественного обновления клеток крови, кожи и др., а также для замещения повреждённых тканей. Так как эти клетки обладают двумя основными функциями стволовых клеток — способностью обновляться, поддерживая мультипотентность, и способностью дифференцироваться — их называют **взрослыми стволовыми клетками.**

 Дедифференцировка — это процесс, обратный дифференцировке. Частично или полностью дифференцировавшаяся клетка возвращается в менее дифференцированное состояние. Дедифференцировка  – это упрощение структуры клеток, связанное с временной потерей их специализации. Возникает под действием различных факторов: химических, термических и т.д. Обычно является частью [регенеративного процесса](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%B5%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D1%80%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F) и чаще наблюдается у низших форм животных, а также у растений. Например, при повреждении части растения клетки, соседствующие с раной, дедифференцируются и интенсивно делятся, формируя [каллус](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%B0%D0%BB%D0%BB%D1%83%D1%81). При помещении в определённые условия клетки каллуса дифференцируются в недостающие ткани. Так при погружении черенка в воду из каллуса формируются корни. С некоторыми оговорками к явлению дедифференцировки можно отнести [опухолевую](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D0%BF%D1%83%D1%85%D0%BE%D0%BB%D1%8C) трансформацию клеток.

Патология клеток.

Реакция клеток на внешние воздействия.

В зависимости от интенсивности поражения, его длительности и характера судьба клетки может быть разной. Измененные в результате повреждения клетки могут адаптироваться, приспособиться к воздействующему фактору, восстанавливаться, реактивироваться после снятия повреждающего воздействия или измениться необратимо и погибнуть.

 При различных воздействиях на клетку наиболее частым изменением структуры ядра является конденсация хроматина, что может отражать падение ядерных синтетических процессов. При гибели клетки происходит агрегация хроматина, собирание его в грубые сгустки внутри ядра (пикноз), что часто завершается распадом на части (кариорексис) или растворением ядра (кариолизис). Ядрышки при подавлении синтеза рРНК уменьшаются в размерах, теряют гранулы, фрагментируются. Перинуклеарное пространство расширяется, ядерная оболочка приобретает извитые контуры.

 На ранних этапах повреждения клетки приобретают шаровидную форму, теряют многочисленные клеточные выросты и микроворсинки. В дальнейшем, наоборот, изменения плазмолеммы сводятся к появлению на поверхности клеток различных выростов или мелких пузырей.

 На начальных этапах нарушения окислительного фосфорилирования происходит сжатие митохондриального матрикса, расширение межмембранного пространства. В дальнейшем происходит набухание митохондрий, митохондрии принимают сферическую форму, увеличиваются в размерах, матрикс просветляется (обводняется). Набухание митохондрий сопровождается редукцией числа и размеров крист. При необратимом повреждении митохондрий происходит разрыв их мембран, матрикс смешивается с гиалоплазмой.

 Эндоплазматический ретикулум чаще всего подвергается вакуолизации и распаду на мелкие пузырьки. На мембранах ГЭР уменьшается число рибосом, что указывает на падение белкового синтеза.

 Цистерны ап. Г. могут увеличиваться в объеме и распадаться на мелкие вакуоли.

 В поврежденных клетках происходит активация лизосом, увеличивается число аутофагосом. При тяжелых клеточных повреждениях мембраны лизосом разрываются и лизосомные гидролазы начинают разрушать сами клетки, происходит лизис клеток.

 Если изменения в клетке не зашли слишком далеко, происходит репарация клеточных повреждений (внутриклеточная регенерация).

 Повреждение клеток может привести к нарушениям регуляции их метаболизма. При этом происходит интенсивное отложение или, наоборот, резорбция ряда клеточных включений (дистрофии). При жировой дистрофии в клетках наблюдаются жировые включения. При углеводной дистрофии – патологическое накопление и отложение гликогена, что может быть связано с недостаточностью фермента, расщепляющего гликоген. Часто в измененных клетках животных происходит отложение различных пигментов, белковых гранул (белковая дистрофия).

**Лекция 15. Клеточная гибель. Некроз и апоптоз. Программируемая клеточная смерть (апоптоз), роль в морфогенезе, развитии и функционировании организма. Каспазы, роль в запуске и развитии апоптоза. Причины, вызывающие некроз клеток и их биохимические и морфологические проявления.**

Гибель клеток.

 Различают две формы гибели клеток – некроз и апоптоз.

 Некроз вызывается различными внешними факторами, химическими или физическими, которые влияют на проницаемость мембран или клеточную энергетику. В клетке происходит изменение ионного состава, наблюдается набухание мембранных компонентов, прекращение синтеза АТФ, белков, нуклеиновых кислот, деградация ДНК, активация лизосомных ферментов, что в конечном итоге приводит к лизису клетки.

 Апоптоз может происходить без первичного нарушения клеточного метаболизма. В результате воздействия различных стимулов происходит активация в ядре некоторых генов, ответственных за самоуничтожение клетки. Это гены как бы запрограммированной гибели клетки. Программа самоуничтожения включается в результате воздействия сигнальных молекул, прекращение воздействия регулирующего сигнала (после удаления семенников погибают клетки предстательной железы).

 При апоптозе мембранные органеллы не изменяются, синтез РНК и белка не падает. В ядре происходит активация эндонуклеаз, происходит расщепление ДНК на нуклеосомные фрагменты, хроматин конденсируется, образуя грубые скопления по периферии ядра. Ядра начинают фрагментироваться, распадаться на «микроядра», каждое из которых покрыто ядерной оболочкой. Начинает фрагментироваться цитоплазма. От клетки отшнуровываются крупные фрагменты, часто содержащие «микроядра». Это так называемые апоптические тельца.

### Распространенность в природе

Во время нормального развития организма апоптоз возникает в клетках при формировании формы или структуры органа. Например при образовании конечности мыши некоторые клетки подвергаются апоптозу и образуются пальцы.


Апоптоз во время нормального развития конечности мыши. Клетки подвергшиеся апоптозу (слева) мечены желтым. Та же конечность (справа) через один день. [Alberts]

Интересно, что некоторые птицы, такие как утка, имеют перепонки между пальцами, тогда как у других птиц, таких как курица, перепонок нет. В раннем эмбриогенезе и курицы и утки имеют перепонки между пальцами. Специфический белок BMP4 образуется в клетках между пальцами, запуская клеточную смерть этих клеток. Другой белок BMP (gremlin) образуется вокруг пальцев у обоих птиц и только у уток образуется также и в клетках перепонок, предотвращая запуск апоптоза в них.

Если добавлять белок gremlin в перепонку эмбрионов курицы, то она не подвергается апоптозу и сохраняется.

Слева лапка курицы после добавления в перепонку белка Gremlin (перепонка сохранилась), справа контрольный эксперимент без добавления белка (перепонка подверглась апоптозу).

Другим примером апоптоза в нормальном развитии является метаморфоз головастика лягушки. Под воздействием тиреоидного гормона при метаморфозе головастика лягушки, запускается апоптоз и хвост головастика исчезает. [Alberts, 4th edition]


### Пути апоптоза в клетке

Существуют два основных пути апоптоза в клетке:митохондриальный путь и путь через рецепторы апоптоза (смерти).
1. **Рецепторы апоптоза** - семейства белков CD95 (Apo-1 или Fas) и TNF-R (фактор опухолевого некроза). TNF-альфа высоко цитотоксичная молекула, использовалась как лекарство против рака. TNF-R1 рецептор широко распространен и поэтому не может быть избирательным. Другие представители этого семейства (не все) имеют домен клеточной смерти (DD) - домен белок-белкового взаимодействия связывающийся с белком адаптором, таким как FADD. Активация рецепторов апоптоза лигандами (например, CD-95L и TNF-альфа приводит к активации каспазы-8, запуская каскад реакций ведущих к апоптозу.
2. **Митохондриальный путь**. Митохондрии выполняют центральную роль в апоптозе, при этом наблюдается увеличение проницаемости митохондриальной мембраны. Баланс между про- и анти-апоптозных членов семейства Bcl-2 регулирует выход про-апоптозных веществ из митохондрий, ведущих к запуску апоптоза, таких как AIF, эндонуклеаза G, Smac/DIABLO и цитохром C. Утечка цитохрома-С из митохондрии приводит к образованию апоптосомы в цитоплазме, которая активирует каспазу-9 и запускает клеточную смерть.
Оба пути приводят к активации каспаз и запуску каскада реакций приводящих к гибели клетки.

### Каспазы

**Каспазы** (caspase) - ферменты расщепляющие белки по остаткам аспартата. Они содержат цистеиновые остатки на своих активных центрах. Многие изоформы каспаз ведут к апоптозу. Они могут быть активированы двумя путями: через рецепторы апоптоза и митохондрии.
Первая открытая каспаза - Ced-3 (Cell Death-3), обнаруженная у нематоды C. elegans. Мутация Ced-3 предотвращала гибель 131 клетки в процессе нормального развития нематоды. Гомолог Ced-3 у млекопитающих - интерлейкин-1альфа-преобразующий фермент (ICE) и был позже назван ингибитор каспазы-1.

Каскад активации каспаз

Известно 14 каспаз, которые подразделяются на инициаторы, эффекторы и стимуляторы. Инициаторы (каспаза-8 и -9) расщепляют и активируют каспазы эффекторы (каспаза-3). Эффекторы расщепляют различные белки, что ведет к гибели клетки. Активация каспаз ведет к запуску протеолитического каскада реакций ведущих к гибели клетки. При этом одни каспазы активируют другие - амплификация сигнала.

Каспаза представляет собой тетрамер, состоящий из двух больших (~20kDa) и двух малых субъединиц (~10kDa). Большая и малая субъединицы образуется в результате расщепления прокаспазы. Каспаза содержат два активных центра QACXG. Ингибирующий домен (DED или CARD) может быть вырезан из каспазы.
Эффекторные каспазы активируются другими каспазами (трансактивация). Инициаторные каспазы активируются автоактивацией, которая происходит при взаимодействии нескольких прокаспаз (например, прокаспаза-8 и DISC). Рецептор апоптоза сам по себе не обладает протеазной активностью.
Активация каспаз ведет к различным последствиям:
каспаза-9 разрушает ядерные поры, что ведет к проникновению в ядро каспаз-3 и -7. Каспаза-3 расщепляет ингибирующую субъединицу ICAD в двух местах. Выпуск CAD приводит к расщеплению ДНК между нуклеосомами.
Каспазы ведут к реорганизации цитоскелета и распаду клетки на апаптозные тельца.

**Каспазы** - семейство цистеиновых протеиназ, главные эффекторы апоптоза, существуют в клетке как неактивные проформы и зимогены, которые расщепляются на активные формы ферментов, активируя апоптоз.
Лиганд-->рецептор смерти-->активация инициаторов каспаз (каспаза-8, -10)-->каскад активации других каспаз>активация каспаз-3, -6-->инактивация клеточных структур.
Разрушение клеточных структур при апоптозе
Фрагментация хромосомной ДНК неактивный фермент CAD в комплексе с ICAD (ингибитор CAD-фактор фрагментации ДНК) расщепляется каспазой-3 высвобождая CAD, кот разрезает ДНК м-у нуклеосомами
Инактивация ферментов вовлеченных в репарацию ДНК - фермент поли (ADF-ribose) полимераза, или PARP- первый белок обнаруженный как субстрат для каспаз. PARP вовлекается в репарацию ДНК и катализирует синтез (ADF-ribose) и закрепляет на цепи ДНК ломая и изменяя ядерные белки. Способность PARP репарировать разрушения ДНК предотвращается последующим расщеплением PARP каспазой-3
Инактивация белков вовлеченных в репликацию. Каспазы могут инактивировать ДНК топоизомеразу II, способствуя разрушению ДНК.
Разрушение структурных ядерных белков. Каспаза-6 разрушает ламины разрушая ядро, что приводит к конденсации хромосом.
Чувствительность клеток к стимулам изменяется в зависимости от экспрессии про- и анти-апоптозных белков (Bcl-2 белок ингибитора), серьезности стумулов и стадии клеточного цикла
Распад клетки на везикулы, переход фосфатидилсерина из внутреннего монослоя цитоплазматической мембраны в наружный монослой, уменьшение объема клетки, сморщивание цитоплазматической мембраны, конденсация ядра (апоптозные тельца), фагоцитирующиеся макрофагами и клетками-соседями.
Инициаторы апоптоза
внешние сигналы (связывание лиганда индуцирующего смерть рецептором на клеточной пов-ти), быстрый вариант а
гранзим B может доставляться в клетки цитотоксичными T лимфоцитами, когда они узнают инфицированную клетку, активирует каспазы-3, 7, 8 и 10.

**клеточный стресс** – радиация, химикалии, вирусная инфекции, недостаток фактора роста, ox стресс | кол-во bcl-2 белков определяет кол-во стресса необходимого для запуска а. Если митохондрии не справляются с удалением активных форм O2, последнии инициируют открытие пор во внеш. м-не и выход в цитозоль белка, ответственного за каскад реакций, ведущих к синтезу протеаз, нуклеаз
Митохондрия может быть ключевым регулятором каспазного каскада и апоптоза - избавление от цитохрома С в митохондрии может вести к активации каспазы 9 и затем каспазы 3. Этот эффект достигается через образование апоптосомы – мультипротеинового комплекса включающего цитохром C, Apaf-1, прокаспазу 9 и АТФ

### Апоптосома

Цитохром C освобождается из митохондрий, связываясь с цитозольным белком Apaf-1. Это взаимодействие изменяет конформацию Apaf-1 которая стабилизируется связыванием ATP позволяя молекулам Apaf-1 ассоциировать друг с другом в колесоподобный комплекс состоящий из 7 молекул. Apaf-1, цитохром C и ATP - апоптосома, присоединяющая 7 молекул прокаспаз-9. Возможные механизмы:
1. Apaf-1, цитохром C и прокаспаза-9 – комплекс может активировать цитозольную прокаспазу-9 входящую в апоптосому.
2. Две апоптосомы взаимодействуют друг с другом активируя прокаспазу-9.

Оксид азота NO ингибирует апоптоз в лейкоцитах, гепатоцитах, трофобластах и эндотелиальных клетках. Эффект может быть вызван через нитрозилирование и инактивацию каспаз-3, -1, -8. NO взаимодействует с гемом гуанилат циклазы-->синтез сGMP-->активация cGMP-зависимой протеинкиназы-->экспрессия противоапоптозных белков.
bcl-2 - семейство белков

bcl-2 - семейство белков регуляторы апоптоза (bc-2, bcl-XL – противоапоптозные), (Bad, Bax – проапоптозные) | чувствительность клеток к апоптозным стимулам может зависеть от баланса противо- и проапоптозных bc-2 белков | стресс?проапоптозные bc-2 белки перемещаются на пов-ть митох, инактивируя антиапоптозные белки, что приводит к образ пор в митох и выпуск цитохрома с и др про-апоптозных молекул из межм-ного пр-ва-->формируется апоптосома-->активация каспазового каскада.
Проапоптозные члены Bcl-2 увеличивают проницаемость митохондриальной мембраны, что ведет к попаданию проапоптозных белков в цитоплазму. Противоапоптозные представители семейства - уменьшают проницаемость.
Bcl-2 разделяется на три субсемейства.
Bcl-2 субсемейство включает Bcl-2, Bcl-xL и Bcl-w, являющиеся противоапоптозными.
Bax субсемейство включает Bax, Bak и BAD, являющиеся проапоптозными белками. Их последовательности гомологичны регионам Bcl-2 субсемейства - BH1, BH2 и BH3, но не региону BH4.
BH3 субсемейство с единственным представителем - Bid, у которого гомологичен только BH3 регион.У Bid так же отсутствует трансмембранный домен.
Имеется несколько моделей, как Bcl-2 могут регулировать проницаемость митохондриальной мембраны.
Члены Bcl-2 семейства способны формировать гомо- и гетеродимеры. Гетеродимеризация между про- и противо-апоптозными представителями Bcl-2 ингибирует про-апоптозный белок.
Bcl-2 белки так же способны образовывать ионные каналы (Bcl-xL, Bcl-2 и Bax).
По другому механизму Bcl-2 образуют поры в митохондриальной мембране, осуществляющие неспецифический транспорт небольших молекул меньше 1.5kDa, что нарушает синтез ATP и ведеит к клеточной смерти. Так же цитохром-С и AIF могут выходить в цитоплазму и образовывать апоптосомуt. Bax и Bak - индуцируют выход цитохрома-С и AIF из митохондрий.

### Сокращения.

DD - death domain
Caspases - (cysteinyl aspartate-specific proteases)
ICE - interleicin converting enzime

### Рекомендуемая литература

1. Ченцов Ю.С. Введение в клеточную биологию . Учебник. М.,МГУ, 2004.
2. Заварзин А.А., Харазова А.Д.,Молитвин М.Н. Биология клетки.С-Петербург,ЛГУ, 1992. 314 с.
3. Ченцов Ю.С. Основы цитологии. Учебник. М., МГУ, 1995. 344 с.

###  Рекомендуемая литература

1. Ченцов Ю.С. Введение в клеточную биологию . Учебник. М.,МГУ, 2002.
2. Заварзин А.А., Харазова А.Д.,Молитвин М.Н. Биология клетки.С-Петербург,ЛГУ, 1992. 314 с.
3. Ченцов Ю.С. Основы цитологии. Учебник. М., МГУ, 1984. 344 с.