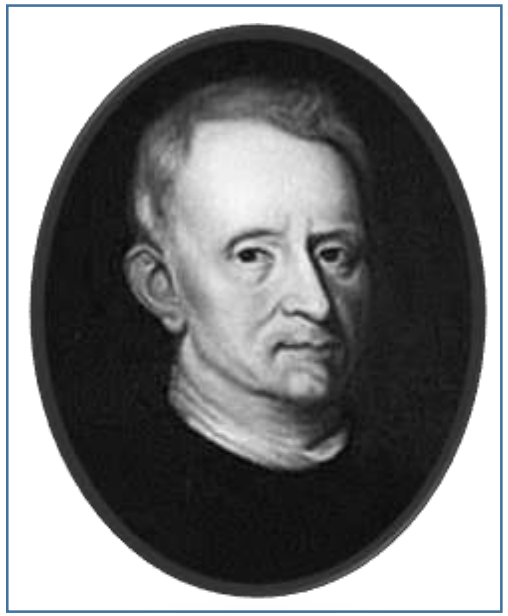
Тема. Клітина як складна високо впорядкована система

План

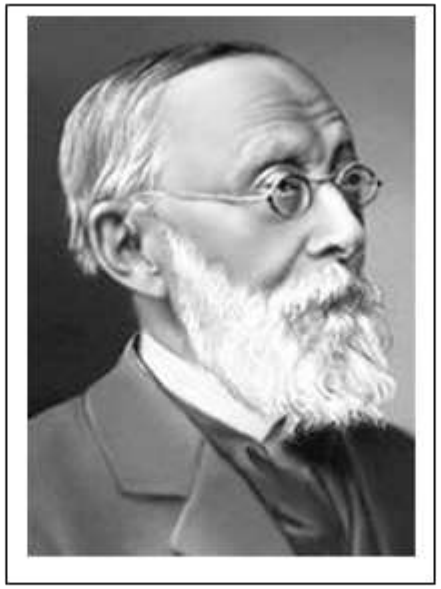
1. Мікроскопічні дослідження клітини
2. Прокаріоти
3. Еукаріоти
4. Клітинні органели

Основоположники клітинної теорії



Роберт Гук
(1635-1703)

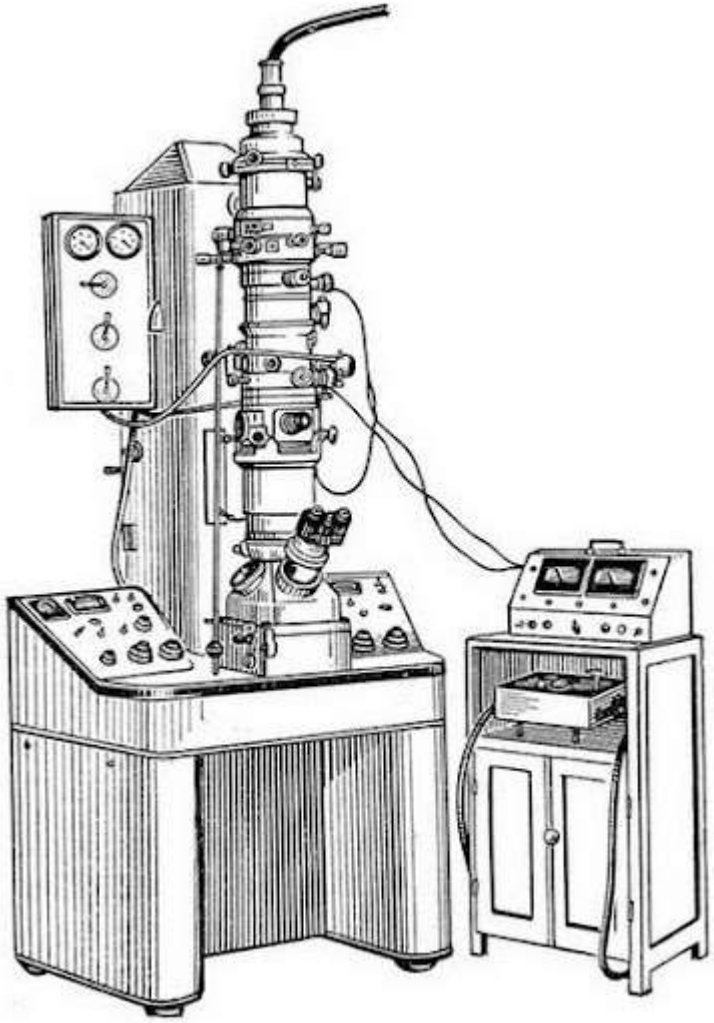
Матіас Шлейден
(1804-1881)



Рудольф Вірхов
(1821-1902)

Теодор Шванн
(1810-1882)

Мікроскопічні дослідження клітини



- Типовий розмір тваринної клітини 10-20 мкм. Видиме світло легко проходить таку товщину, але фіксатори і барвники покращують якість зображення. Для живих клітин використовують фазово-контрастну, інтерференційну мікроскопію і мікроскопію у темному полі.
- Органели та ін. компоненти клітини мають розміри <0,2 мкм. Для них використовують електронний мікроскоп, у якому пучок світла – це потік електронів. Довжина хвилі описується співвідношенням Бройля:

$$\lambda = \frac{h}{m_e v}$$

де h – стала планка, m_e – маса електрона, v – швидкість електрона.

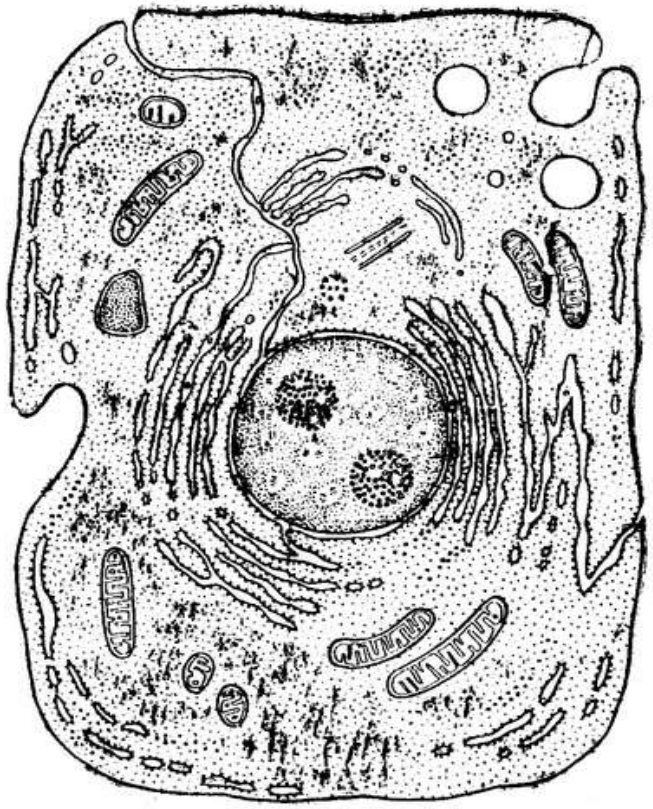
- Електрони прискорюють різницею потенціалів ф і електрони набувають кінетичної енергії:

$m_e v^2/2 = e\phi$, *де e - заряд електрона.*

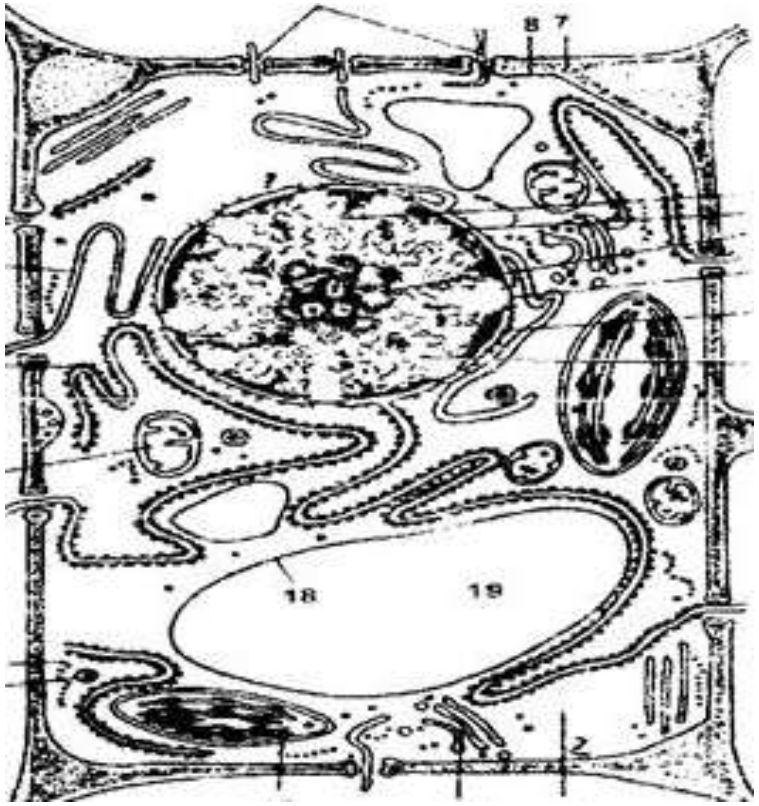
- Довжина хвилі у полі 100 000 В є 0,004 нм. Сучасні електронні мікроскопи мають розрізняючу спроможність 0,2-0,4 нм.
- Товщина мікротомних зрізів 5-10 мкм. Використовують мікротоми з діамантовими чи скляними ножами. Клітини заливають парафіном (для світлової мікроскопії) або в спеціальні пласмаси для електронної. Зображення фіксують глютаральдегідом або чотириоксидом осмію.
- Контрасність електронної мікроскопії визначається різною електронною щільністю. Ступінь розсіяння електронів пропорційна квадрату атомного номера атома, що розсіює. Для покращення контрастування використовують важкі метали – уран чи свинець.

Порівняння зображень клітин отриманих за допомогою різних типів мікроскопії

1



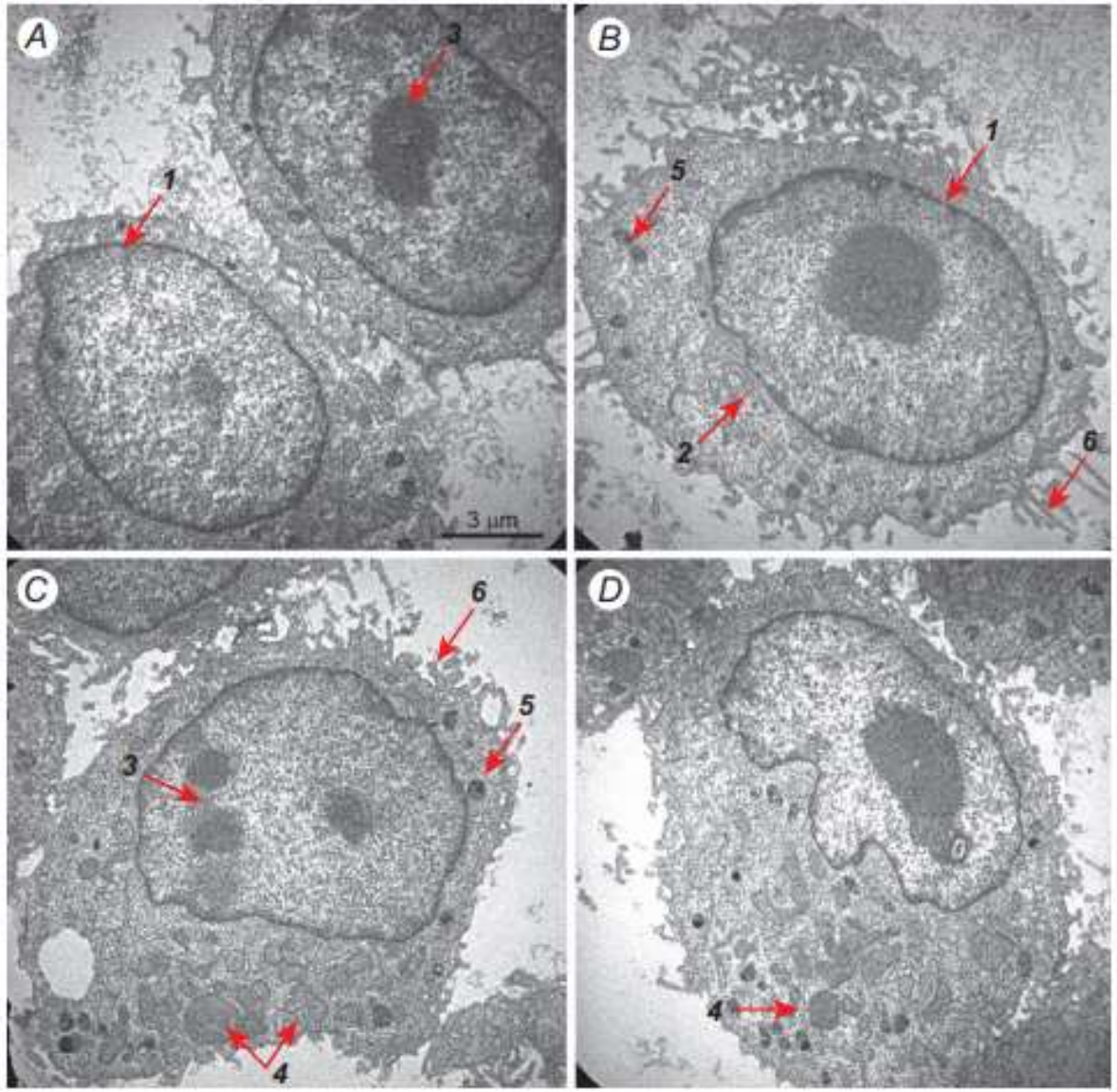
2



3

1 – світлова мікроскопія, 2 і 3 – електронна мікроскопія тваринної (2) та рослинної (3) клітин

Електронна мікроскопія клітин лімфоми Немет-Келнера

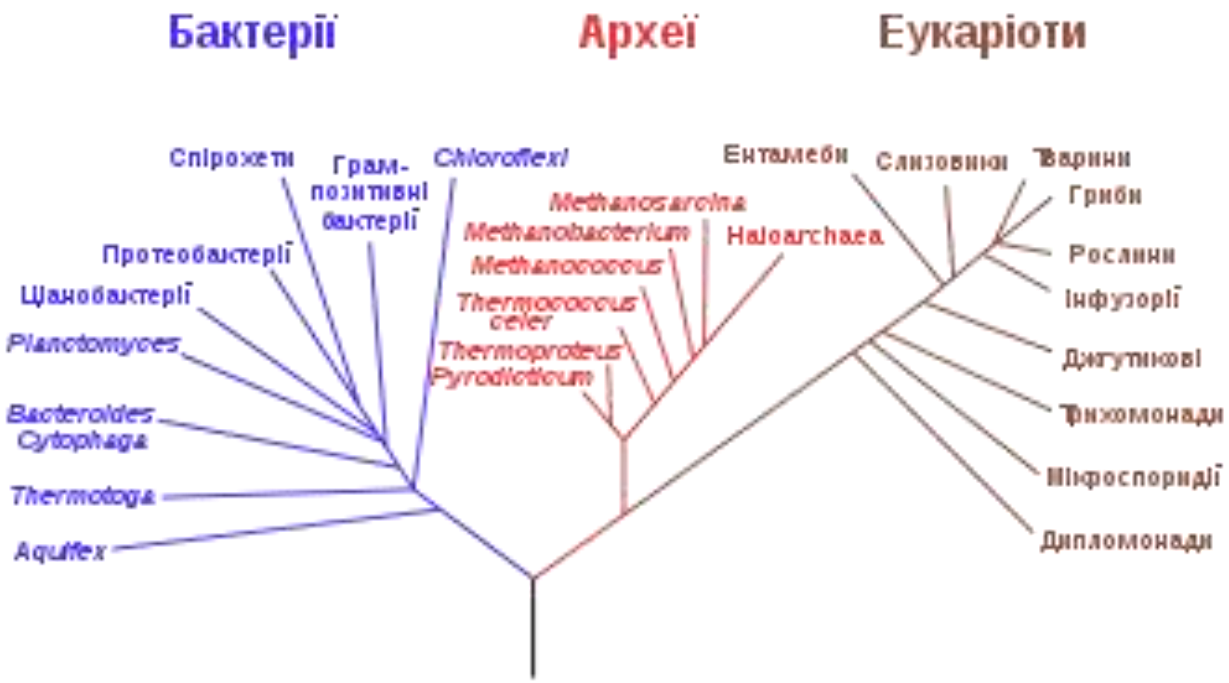


1 – ядро, 2 – цитоплазма, 3 – ядерце, 4 – мітохондрії, 5 – лізосоми, 6 – вип’ячування плазматичної мембрани

Ascite was drained from the mouse abdominal cavity on 7–10 day after cell inoculation. Lymphoma cells were washed in 0.2 mol/L **cacodylate buffer** and fixed in a solution containing 1.5% **glutaraldehyde** for 2 h and 1% solution of **osmium** tetroxide (2 h). The specimens were transferred in a 1.5% aqueous uranyl acetate solution for 12 h. Fixed specimens were washed and dehydrated at room temperature at concentrations of ethanol from 70 to 100%. The dehydrated specimens were placed in a pure **epoxy resin** for 48 h at 40 and 60 °C. Microscopic sections were cut on a UTMP6 ultramicrotome. The specimens were contrasted with a 1.5% solution of **uranylacetate** (prepared in 70% ethanol) and photographed using a PEM100 transmission electron microscope (Electron-SELMI, Ukraine).

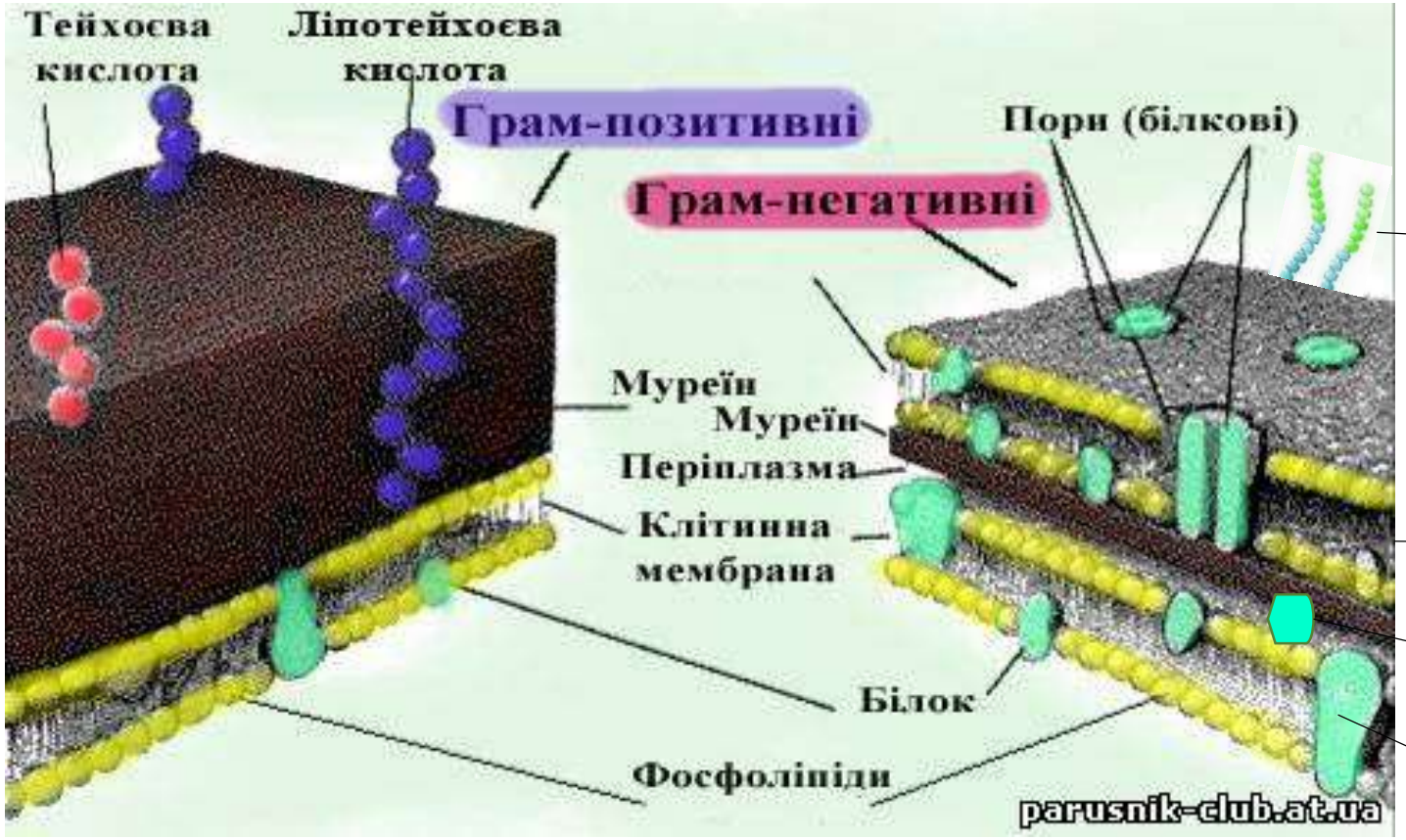
Shalai et al. Біологічні Студії / Studia Biologica • 2019 • 13/№1 • С. 51–60

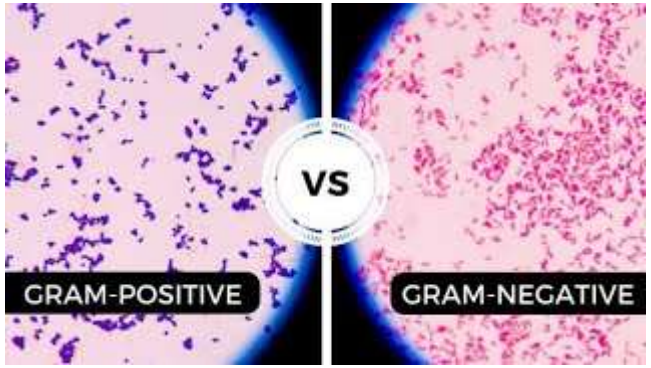
Філогенія живих організмів



Клітинна оболонка грам-позитивних і грам-негативних бактерій

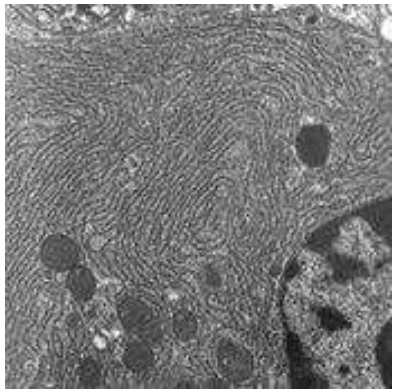
Ганс К. Грам
(1853-1938)



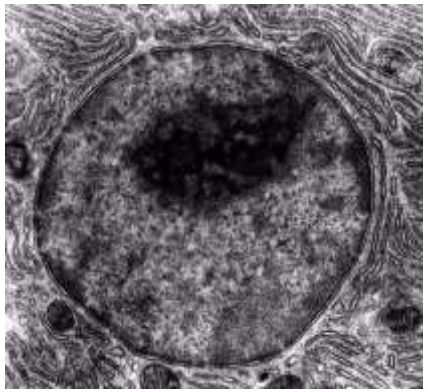


- Еубактерії класифікують на грам-позитивні і грам-негативні залежно від їхньої здатності бути пофарбованим за Грамом
- Грам-позитивні бактерії забарвлюються в темно-синій колір, а більшість інших бактерій — грам-негативні і забарвлюються в червоний колір (ядра клітин еукаріот яскраво-червоні, а цитоплазма — рожева
- Ці класи бактерій відрізняються за типом клітинної оболонки

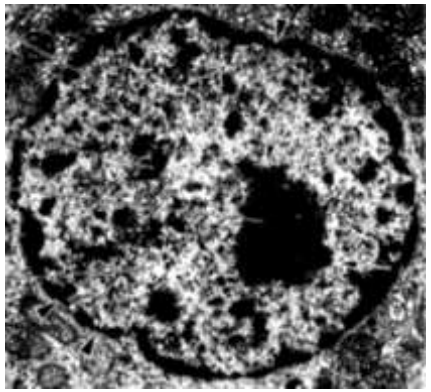
Клітинні органели



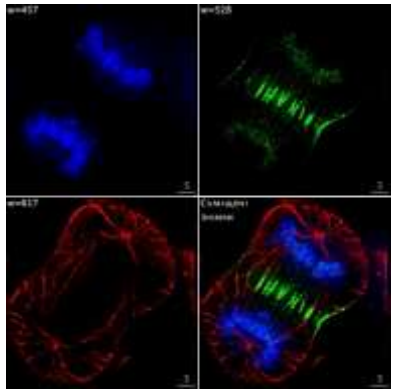
1



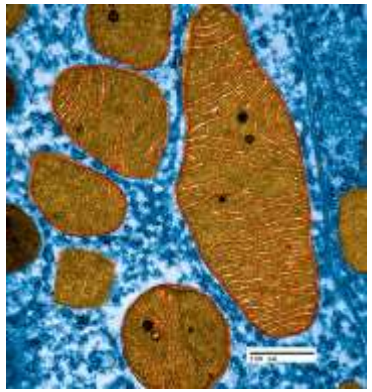
2



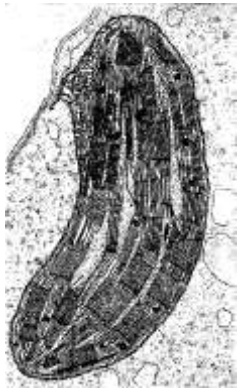
3



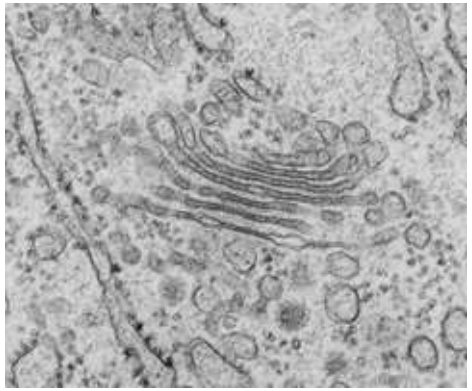
4



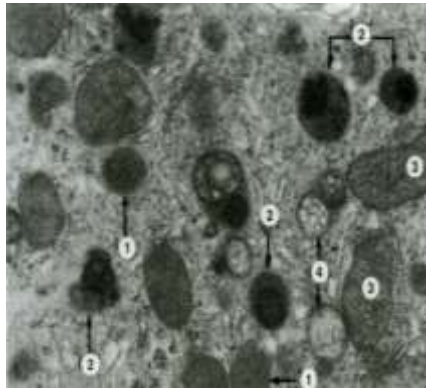
5



6

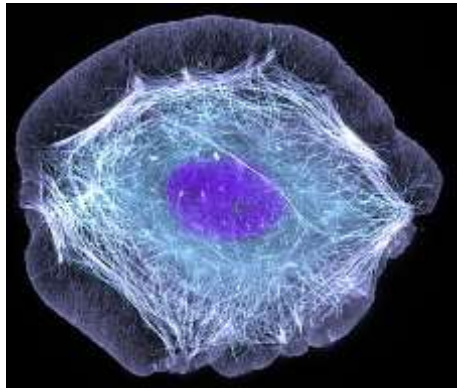


7



8

9

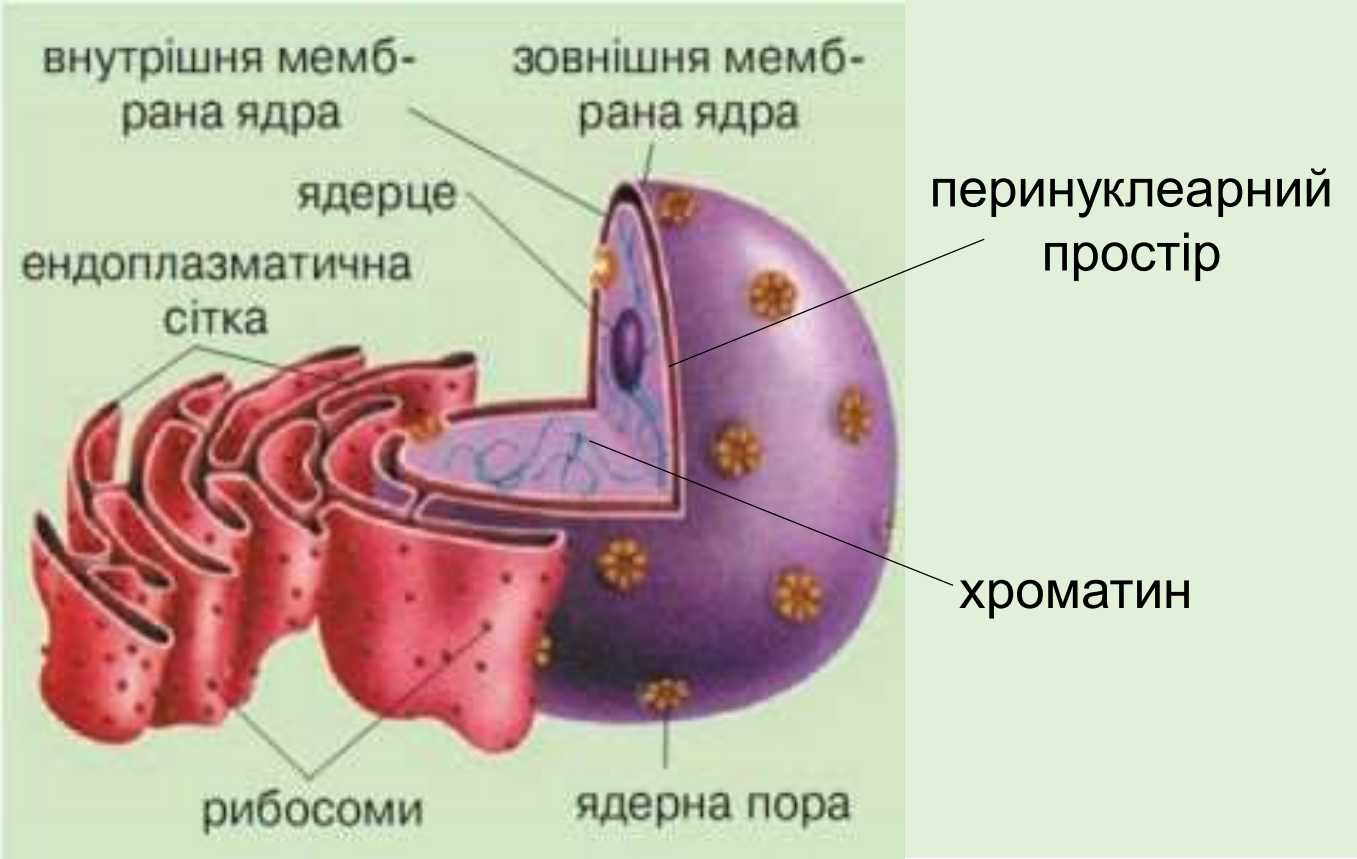


10

1. Ендоплазматичний ретикулум клітин легенів. 2. Клітинне ядро. 3. Ядерний хроматин. 4. Розходження хромосом за клітинного поділу. 5. Мітохондрії (кріоелектронна мікроскопія). 6. Хлоропласти. 7. Апарат Гольджі (стебло арабідопсіса). 8. Лізосоми. 9. Пероксисоми. 10. Цитоскелет

(c) Bebbay

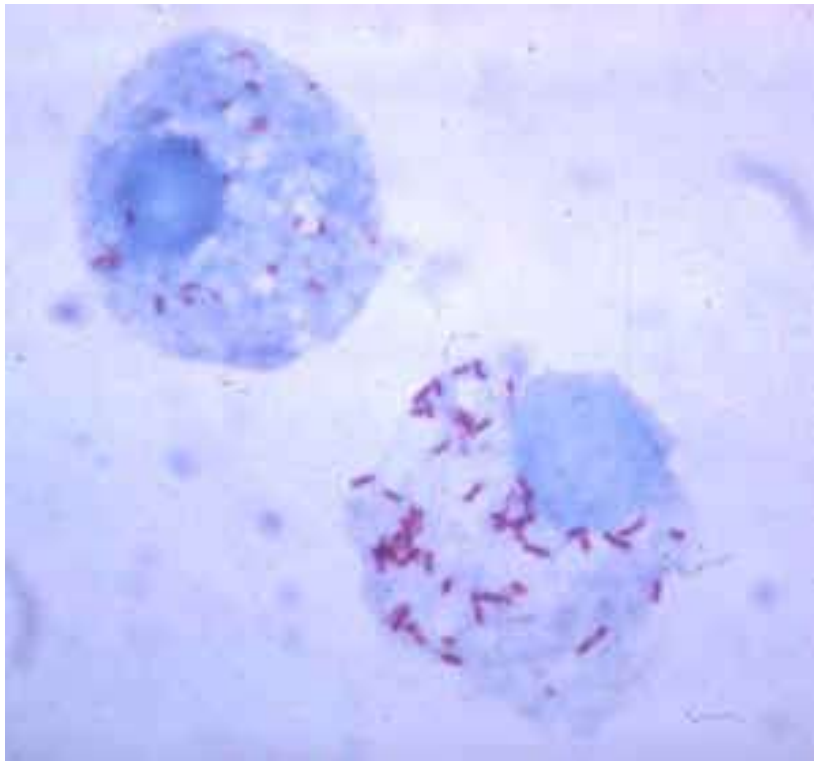
Схематичне зображення ядра ЕПР еукаріотів



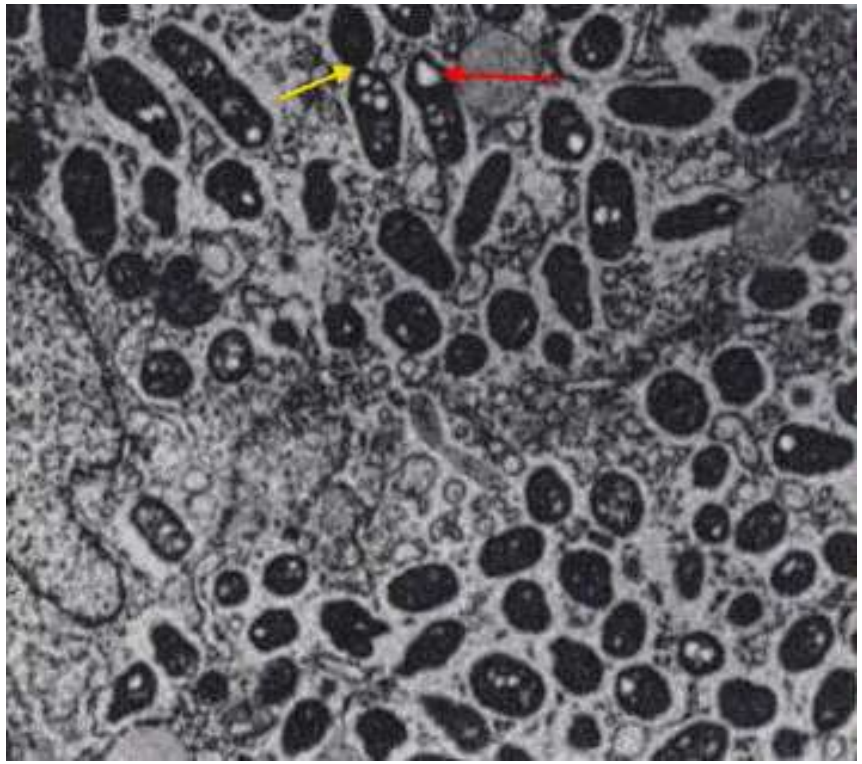
- Ядро оточене подвійною оболонкою з перинуклеарним простором. Оболонка ядра відсутня тільки в період клітинного поділу.
- Зовнішня мембрана ядра переходить у мембрани ендоплазматичного ретикулуму.

- У ядрі є пори, які поєднують внутрішню і зовнішню мембрани. Крізь них проходять навіть великі молекули.
- В ядрі сконцентрована майже уся ДНК клітини. Ядерце, де утворюються рибосоми, містить більше РНК.
- **Хроматин** формується з ДНК і спеціальних білків. У проміжках між поділом хроматин розподіляється до усьому ядру, а вже перед поділом збирається у **хромосоми**. Після реплікації дочірні хромосоми розходяться і потрапляють у дочірні клітини внаслідок мітозу.

Мітохондрії філогенетично найближчі до мікробів *Rickettsia prowazekii*

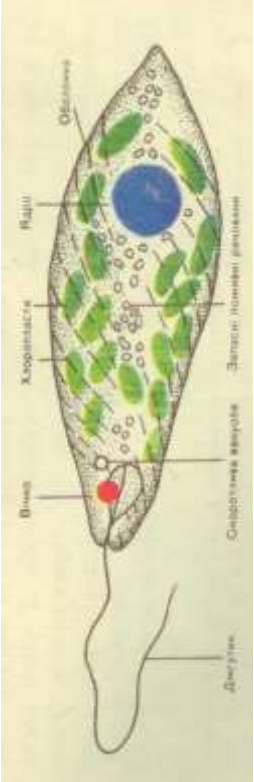
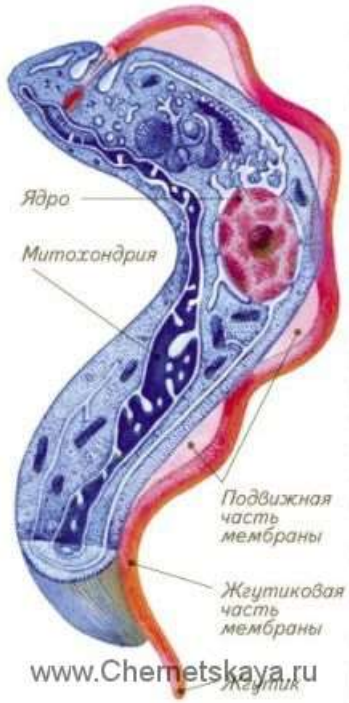
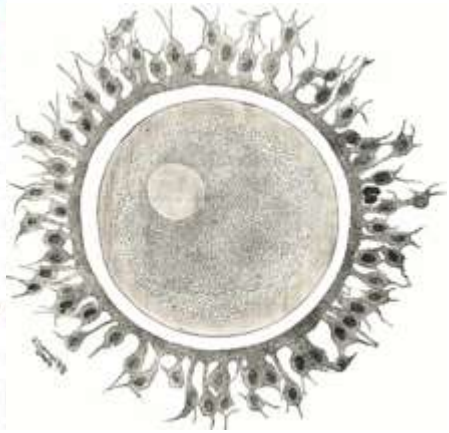
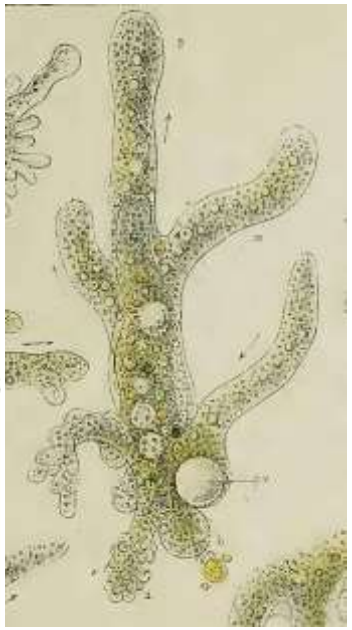
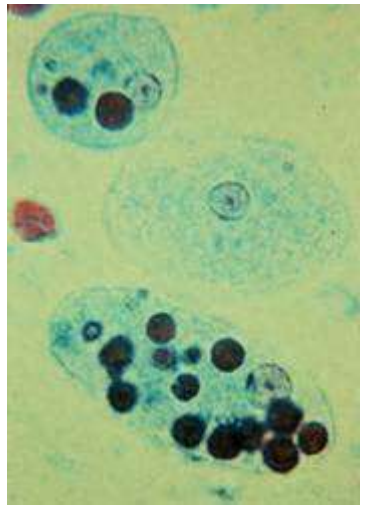


Клітини гемолімфи атаковані *Rickettsia prowazekii*

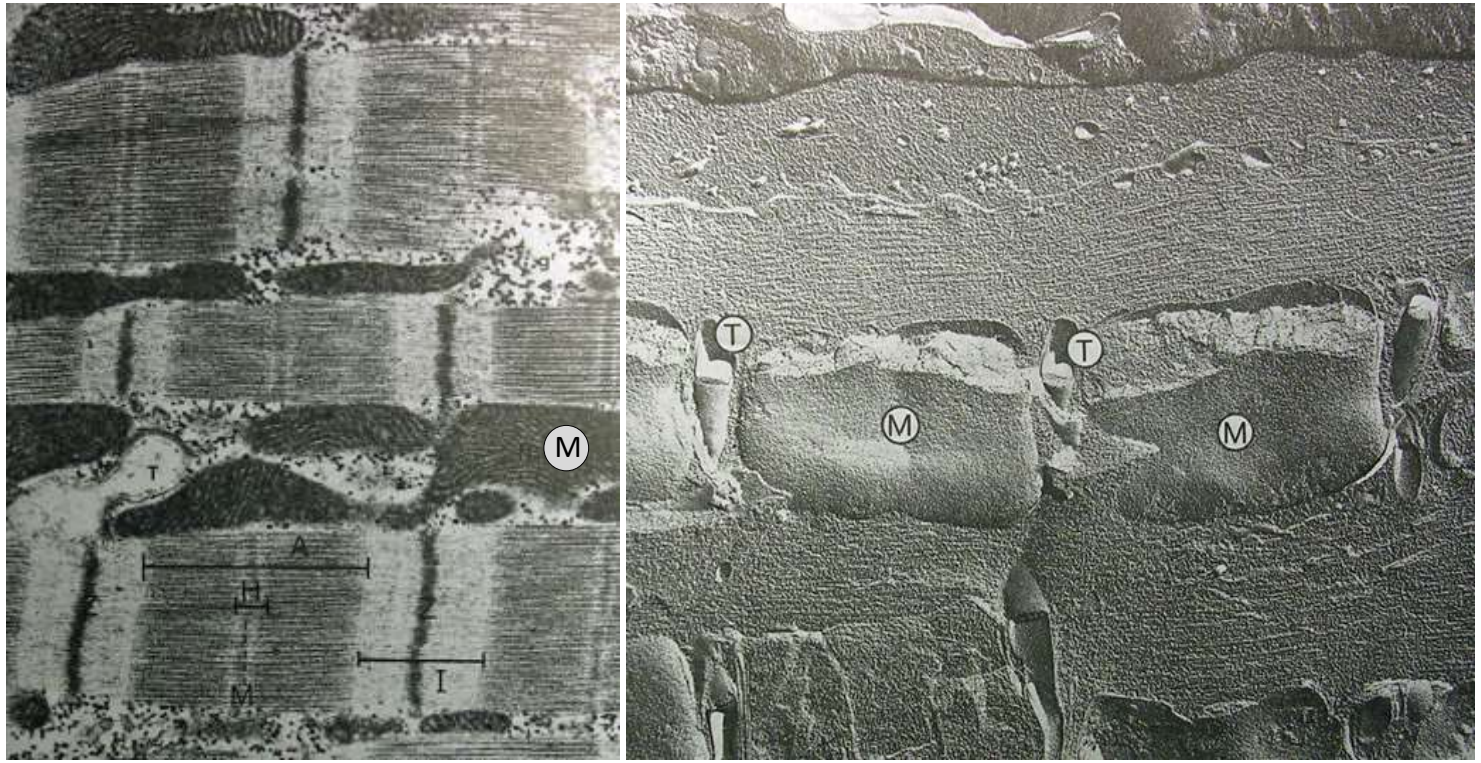


Бактерій *R. prowazekii* (чорного кольору) в цитоплазмі фібробласту ембріона курчати (13 600 х).

Кількість мітохондрій:

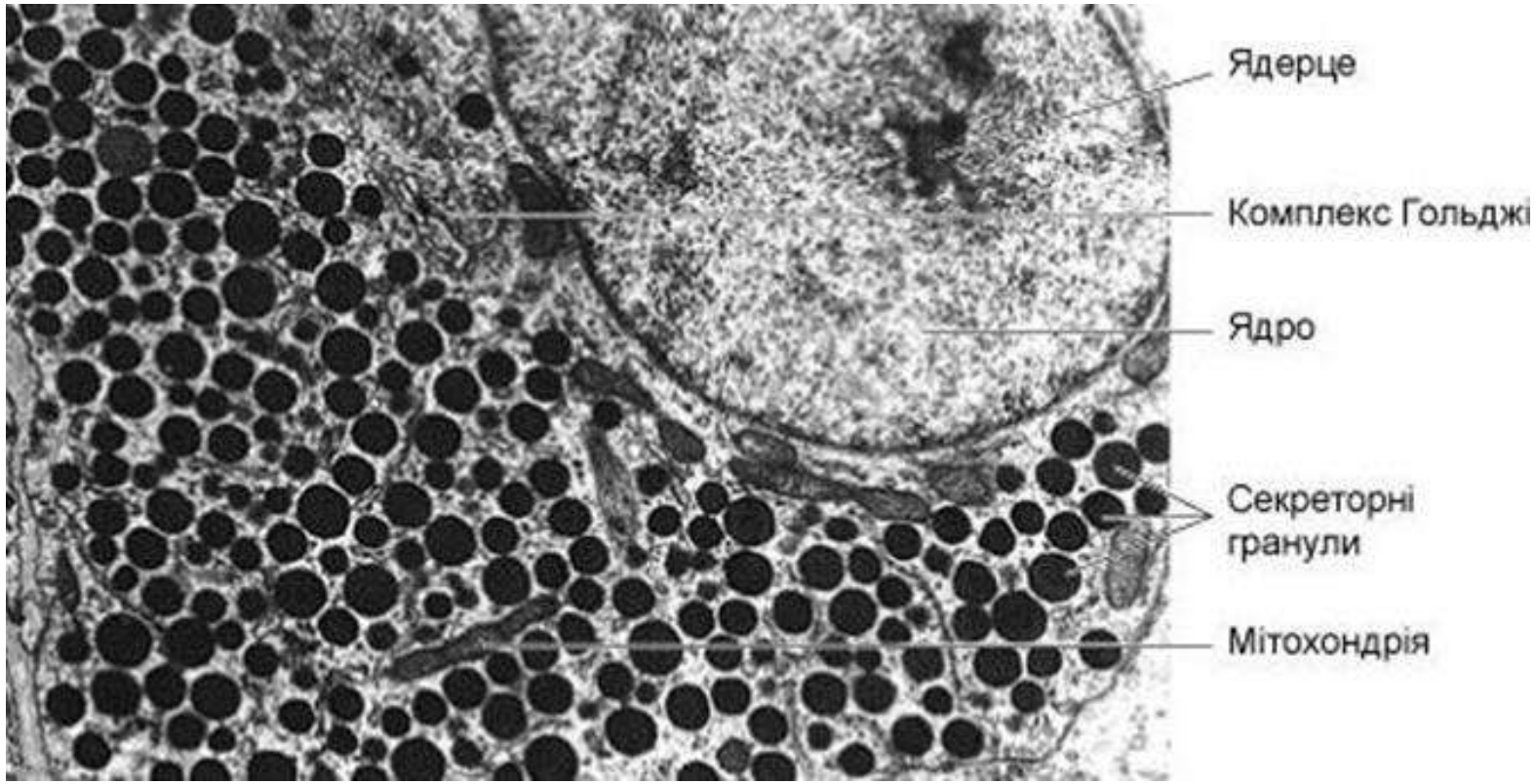
0	1	1	300000	500000
Еритроцити				
 Дизентерійна амеба (*Entamoeba histolytica)*	Евглена зелена	Трипаносома	Ооцит	Амеба *Chaos chaos*

Мітохондрії серця



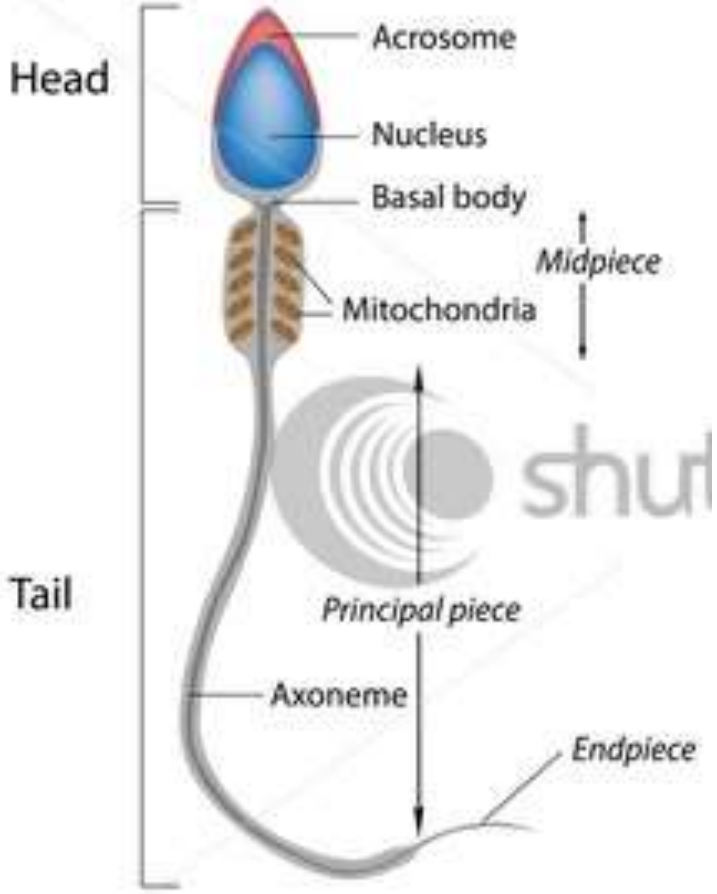
- Добре розвинута мітохондріальна сітка (M) навколо серцевих міофібрил і Т-тубул (Т). Електронна мікроскопія. х 32000. (Moravec; Scales, 1981)

Соматотропна клітина аденогіпофізу кішки



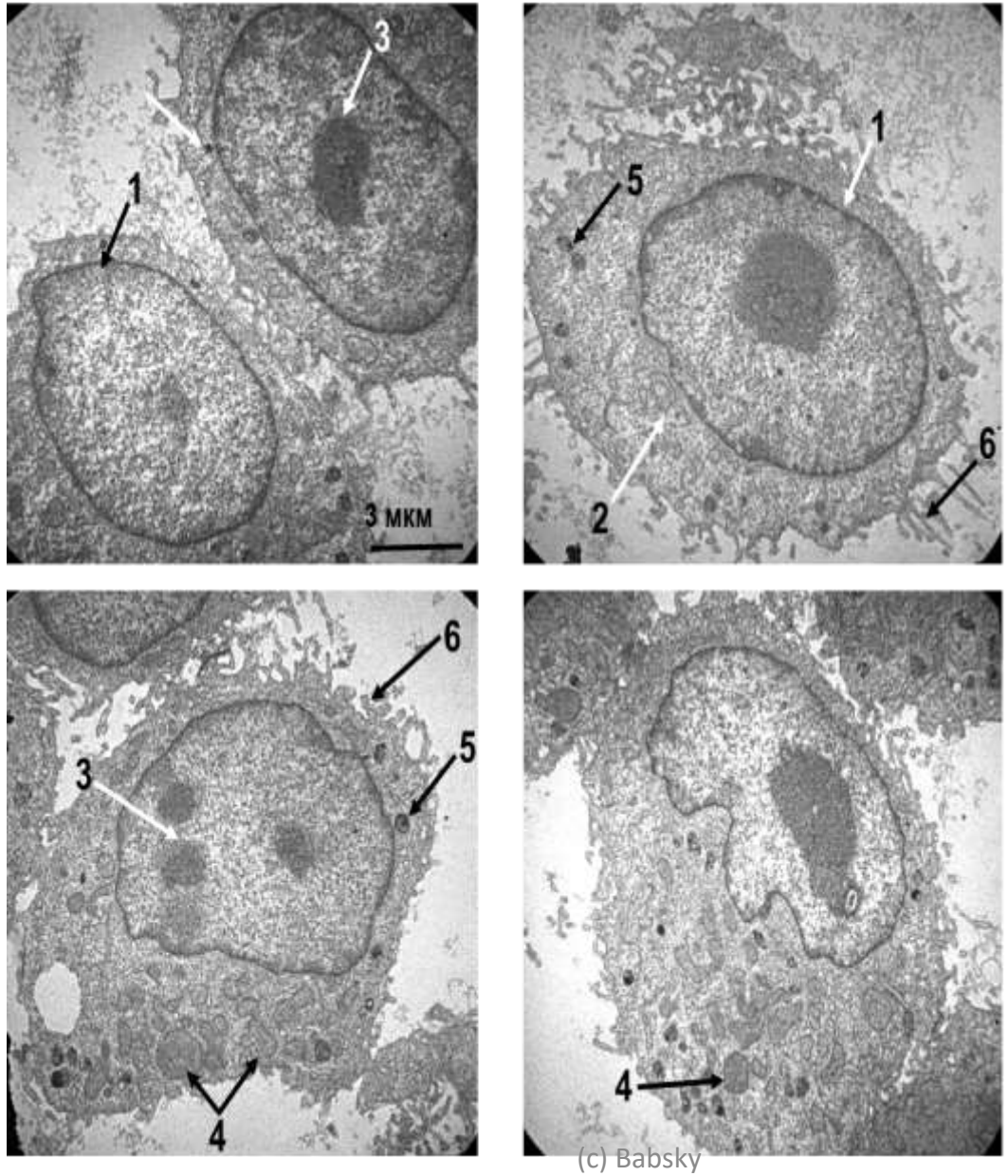
Цитоплазма містить численні електроннощільні круглі гранули соматотропіну та видовженої форми мітохондрії

Роль мітохондрій за руху сперматозоїдів



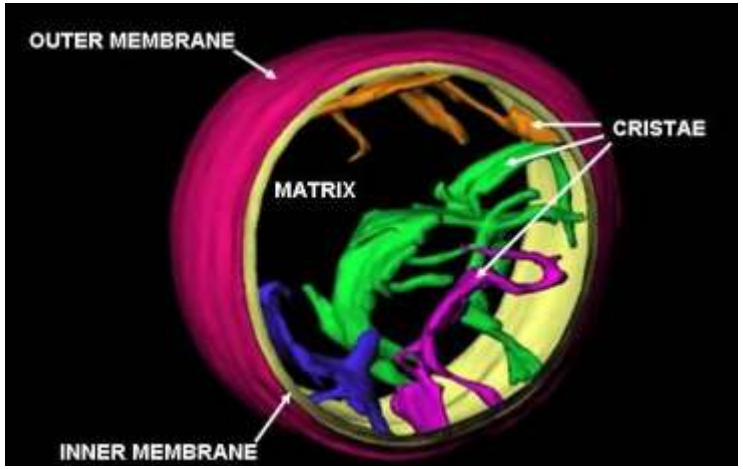
Spermatozoon

Електронна мікроскопія контрольних клітин лімфоми NK/Ly

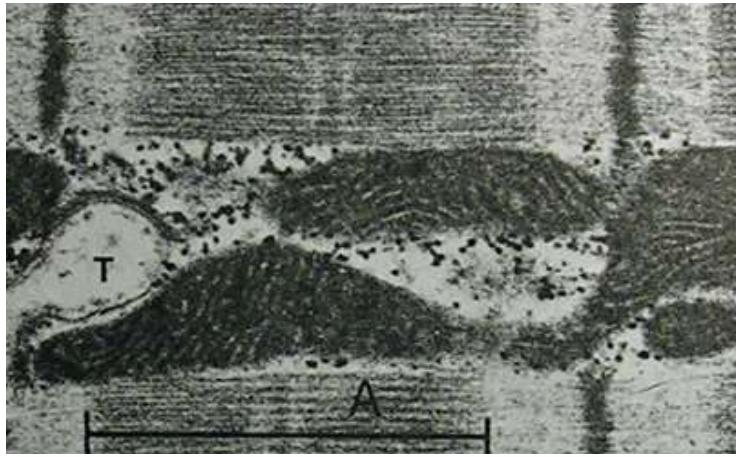


Стрілками показано:
1 – ядро
2 – цитоплазма
3 – ядерце
4 – мітохондрії
5 – лізосоми
6 – вип’ячування плазматичної мембрани

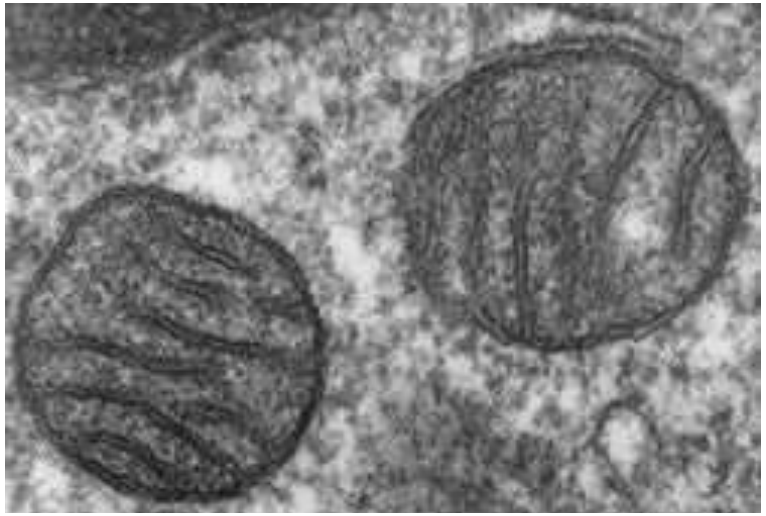
Особливості форми крист мітохондрій



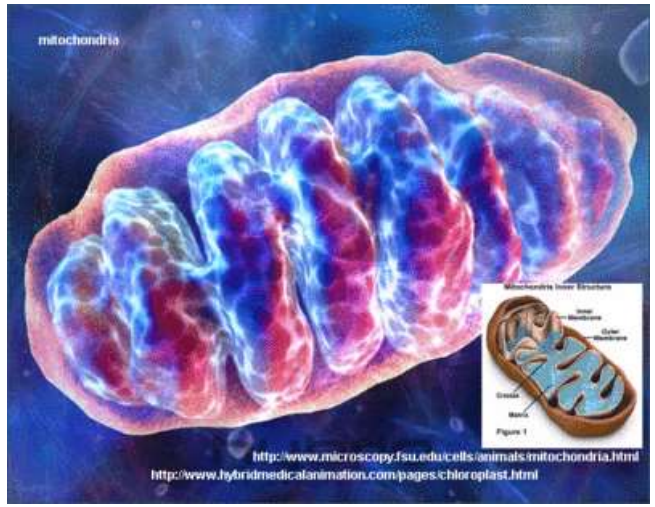
Мітохондрія печінки



Мітохондрії серця

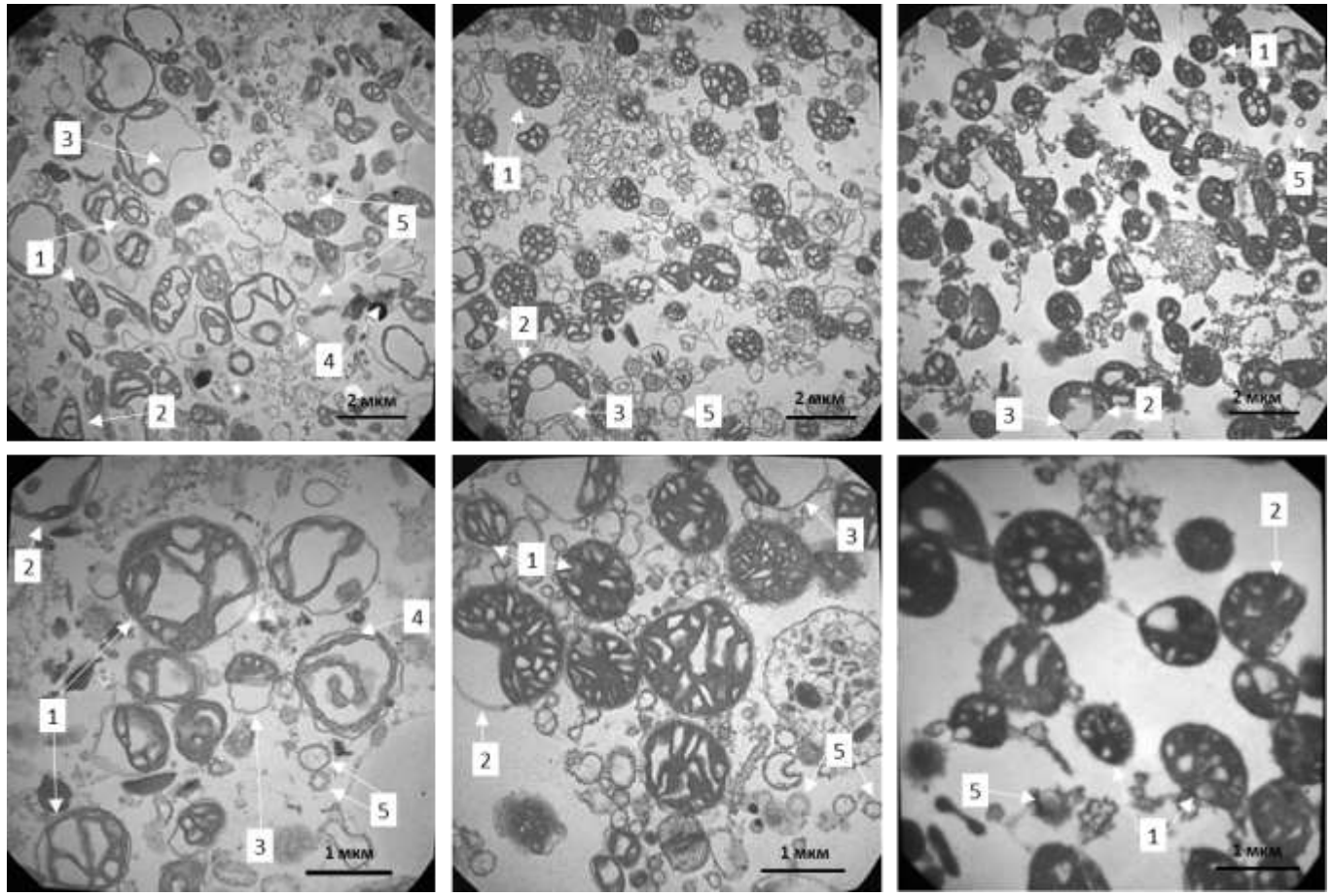


Дві мітохондрії легенів



Електронна мікроскопічна фотографія мітохондрій

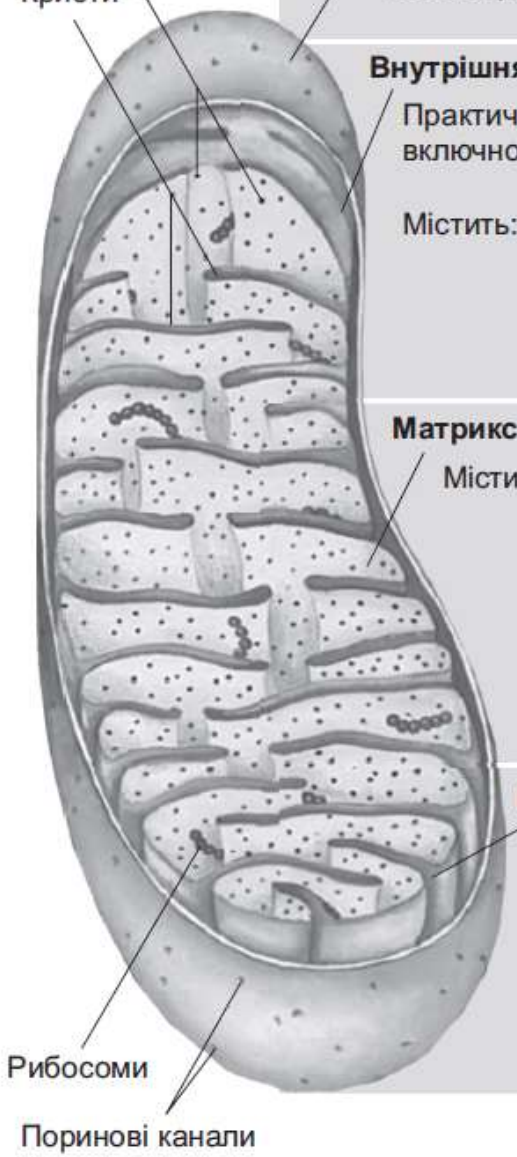
NK/Ly печінка миші печінка щура



Збільшення х4000 (верхній ряд) і х10000 (нижній ряд). 1 – молоді мітохондрії, 2 – старі мітохондрії, 3 – зовнішня мітохондрійна мембрана, 4 – автофагосоми, 5 – мікросоми.

(c) Babsky

Біохімічна анатомія мітохондрії



Зовнішня мембрана

Вільнопроникна для малих молекул та іонів

Внутрішня мембрана

Практично непроникна для більшості малих молекул включно з H^+

Містить:
- Переносники електронів у дихальному ланцюгу комплекси (I–IV)
- АДФ–АТФ-транслокази
- АТФ-синтазу (F_0F_1)
- Інші мембранні транспортери

Матрикс

Містить:
- Піруватдегідрогеназний комплекс
- Ферменти циклу Кребса
- Ферменти окиснення жирних кислот
- Ферменти окиснення амінокислот
- ДНК, рибосоми
- Багато інших ферментів
- АТФ, АДФ, $Ф_н$, Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^+
- Багато розчинних метаболітів

Міжмембранний простір

Концентрація невеликих молекул та іонів (але не крупних)
не відрізняється від цитоплазми

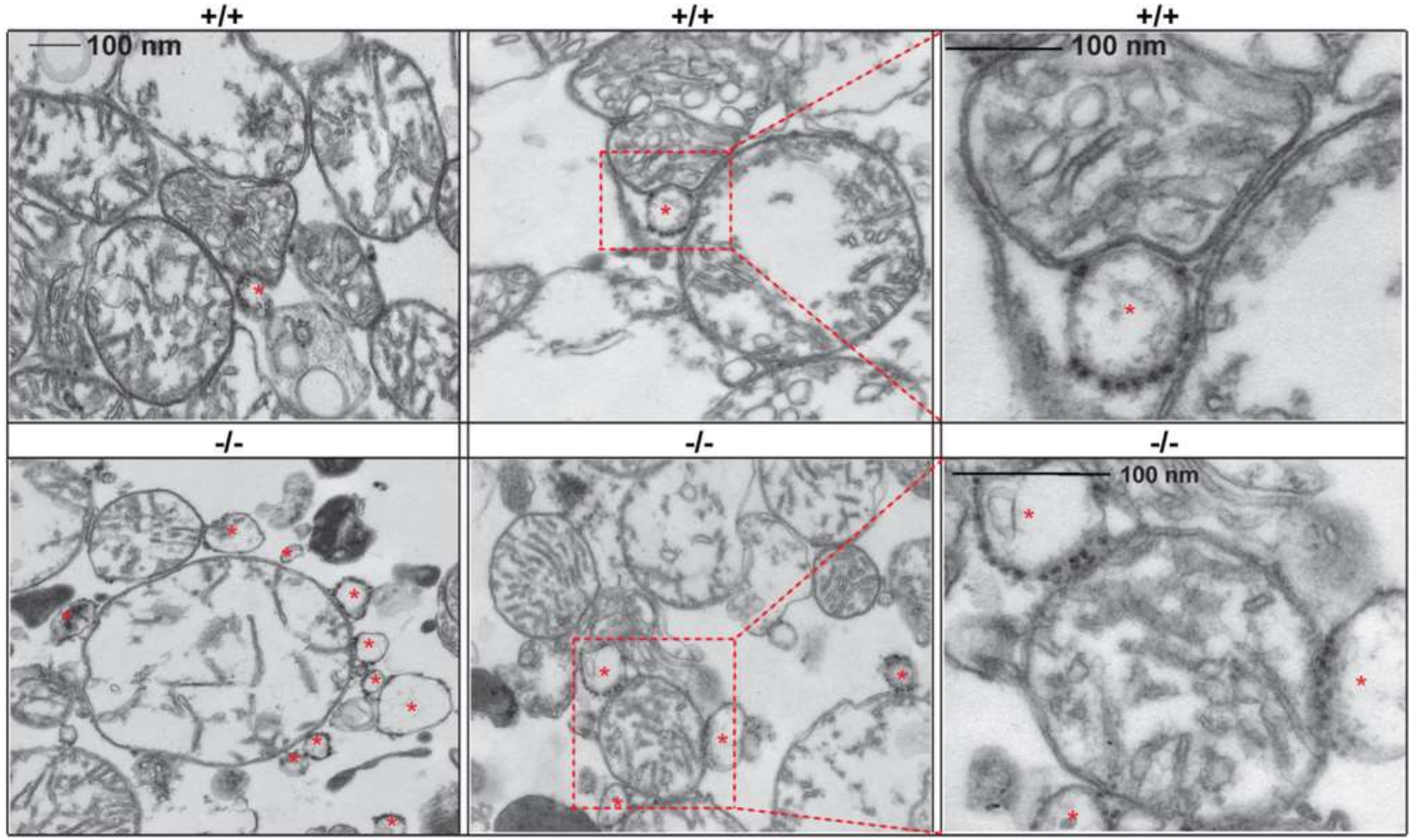
Містить:
- Цитохром *c*
- Аденілатциклазу
- Нуклеозиддифосфокіназу

Локалізація мітохондріальних ферментів

Зовнішня мембрана:	**Простір між мембранами:**
Моноамінооксидаза* Тіокінази жирних кислот Редуктаза цитохрома с Ацил-СоА-синтаза Фосфоліпаза А2	Аденілатциклаза Нуклеозиддифосфокіназа Цитохром с*
Внутрішня мембрана:	**Матрикс:**
Ферменти дихального ланцюга (в т.ч. цитохромоксидаза*) Ферменти синезу АТФ Дегідрогенази α-кетокислот Сукцинатдегідрогеназа D-β-оксибутиратдегідрогеназа Карнітин – ацилтранфераза	Цитрат-синтаза Ізоцитратдегідрогеназа Фумараза Малатдегідрогеназа* Аконітаза Глутаматдегідрогеназа* Ферменти окиснення жирних кислот

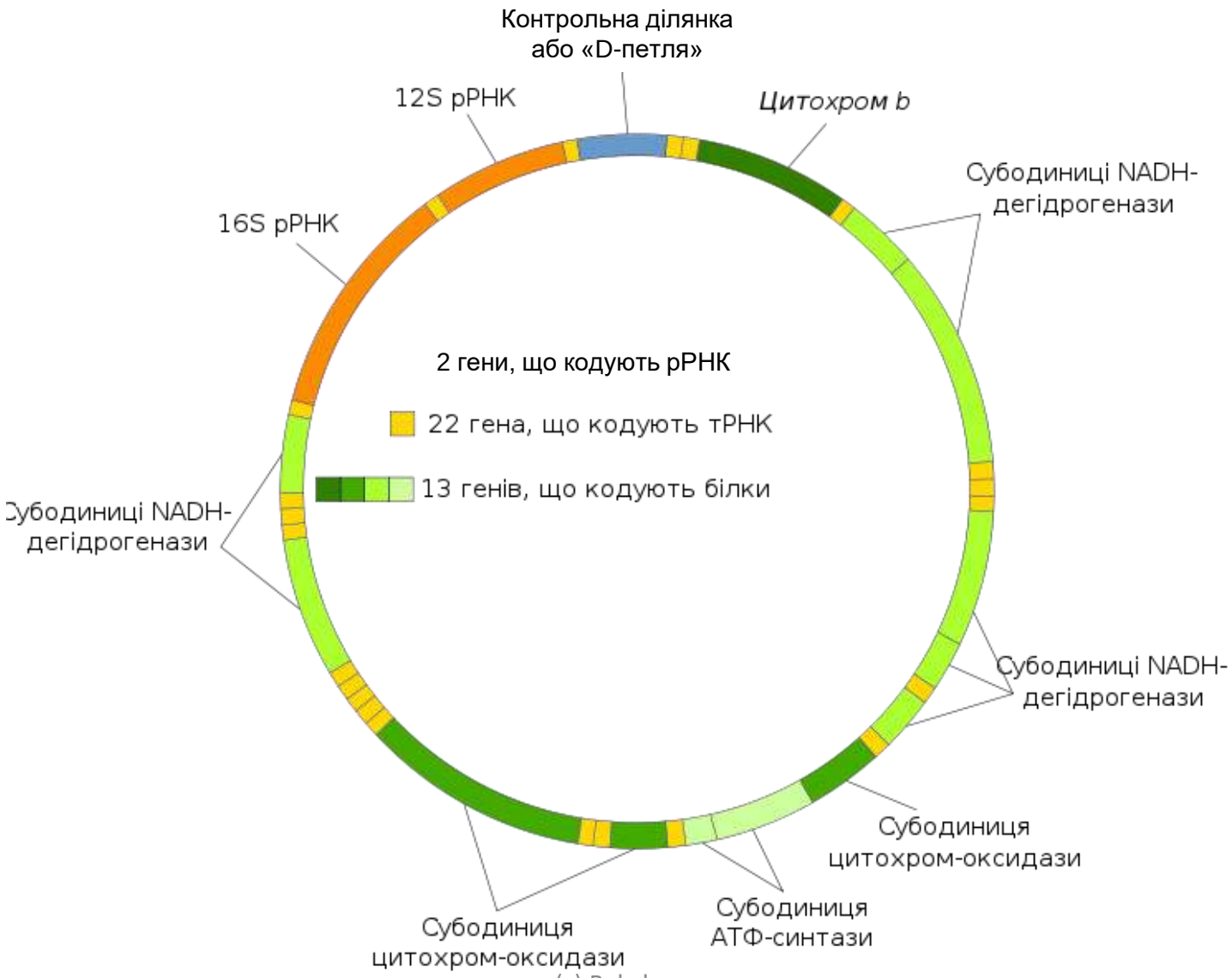
* - маркери для виявлення мітохондріальних структур.

GM1 accumulation favors the apposition between ER and mitochondrial membranes at the MAMs

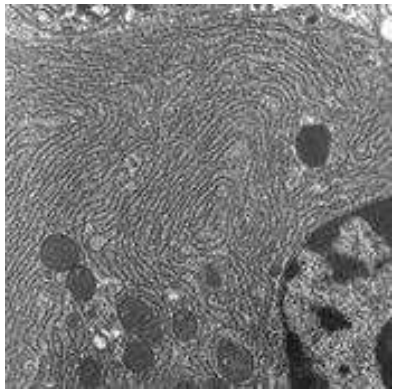


Representative electron micrographs of crude mitochondria isolated from *β-gal*$^{+/+}$ and *β- gal*$^{-/-}$brains. Asterisks mark ER vesicles juxtaposed to mitochondrial membranes (*Sano R. et al. Mol. Cell. 2009, 36, 500–511*).

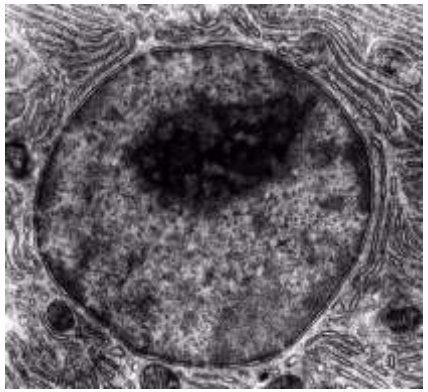
Мітохондріальна ДНК людини



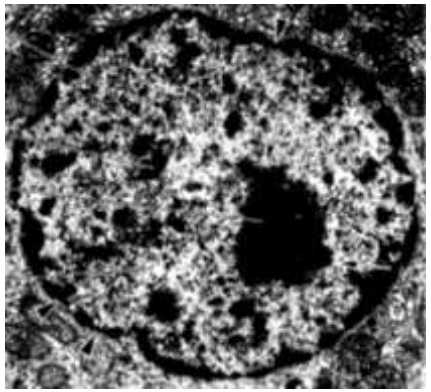
Клітинні органели



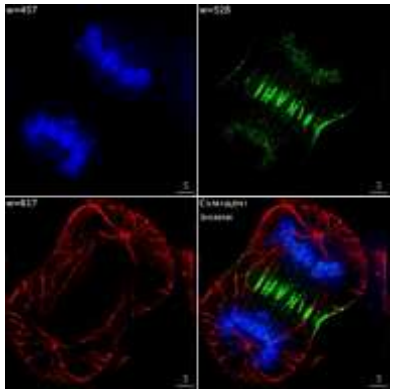
1



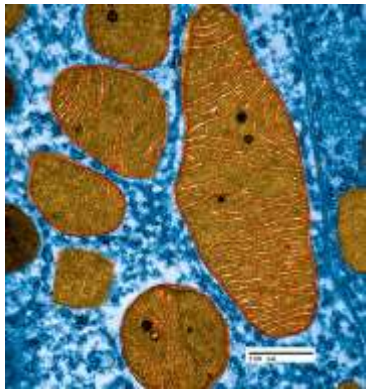
2



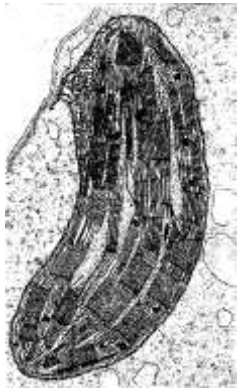
3



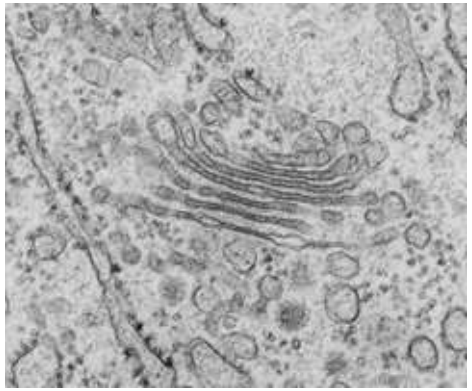
4



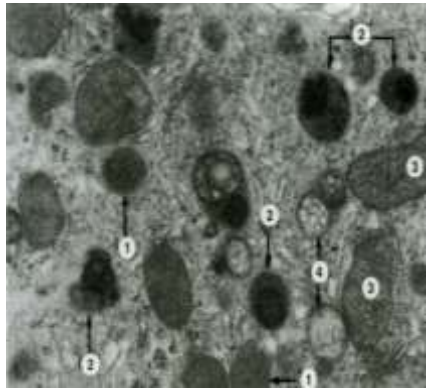
5



6

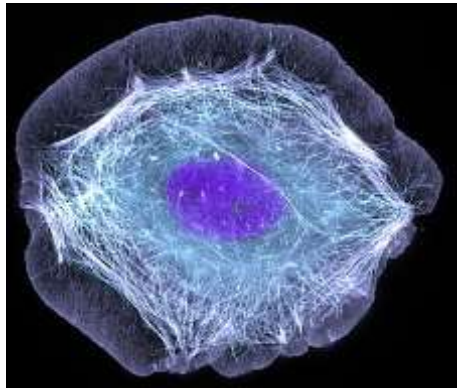


7



8

9



10

1. Ендоплазматичний ретикулум клітин легенів. 2. Клітинне ядро. 3. Ядерний хроматин. 4. Розходження хромосом за клітинного поділу. 5. Мітохондрії (кріоелектронна мікроскопія). 6. Хлоропласти. 7. Апарат Гольджі (стебло арабідопсіса). 8. Лізосоми. 9. Пероксисоми. 10. Цитоскелет

Додаткова література

- Альбертс Дж., Льюїс Р., Робертс В. Молекулярна біологія клітини (вид. 4). Львів: Наутілус.
- Костюк П.Г., Зима В.Л., Магура І.С. та ін.. Біофізика. – Київ: вид-во «Київський університет», 2008. – 567 с.
- Літнарович Р.М. Біофізика. Медична фізика, теоретична і прикладна фізика. – Рівне: вид-во МЕГУ, 2011. – 205 с.
- Посудін Ю.І. Біофізика: Підручник.– Київ: вид-во НАУ, 2016. – 451 с.
- Санагурський Д.І. Об’єкти біофізики. – Львів: вид-во ЛНУ імені Івана Франка, 2008. – 522 с.
- Слюсарєв А.О., Самсонов О.В., Мухін В.М. та ін. (2002). Біологія: навчальний посібник. Київ: Вища школа.
- Таланов С.О., Федоренко О.А., Плиска О.І., Лазоришинець В.В. Біофізика: Курс лекцій. - Київ: вид-во НПУ імені М.П.Драгоманова, 2014. – 209 с.
- Тіманюк В.О., Животова О.М. Біофізика: Навч. посібн. для студ. фармац. вищ. навч. закладів. - Харків: вид-во НФАУ: Золоті сторінки, 2001. – 204 с.
- Тейлор Д., Грин Н., Саут У. (2004). Биология 1. Москва: Мир.
- Ченцов Ю.С. (2004). Введение в клеточною биологию: Учебник для вузов (вид. 4). Москва: ИКЦ «Академкнига».
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. (2007). Molecular Biology of the Cell (вид. 5th). Garland Science.
- Campbell NA, Reece JB (2008). Biology (ed. 8th). Benjamin Cammings.
- Hardin J, Bertoni G, Kleinsmith LJ (2011). Becker’s world of the cell (ed. 8th). Benjamin Cummings.
- Harvey Lodish et al. (2007). Molecular Cell Biology (ed. 6th). W H Freeman.