

Министерство образования и науки Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Владимирский государственный университет
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых»

Кафедра ботаники, зоологии и экологии

ПРАКТИЧЕСКИЕ РАБОТЫ ПО КУРСУ «ЦИТОЛОГИЯ»

Методические разработки для студентов

Составитель
Л. С. СКРИПЧЕНКО



Владимир 2013

УДК 576.3
ББК 28.903
П69

Рецензент

Кандидат биологических наук, доцент кафедры анатомии,
физиологии, химии и безопасности жизнедеятельности

Владимирского государственного университета

им. А. Г. и Н. Г. Столетовых

Е. П. Грачёва

Печатается по решению редакционно-издательского совета ВлГУ

Практические работы по курсу «Цитология» : метод. раз-
П69 раб. для студентов / Владим. гос. ун-т. им. А. Г. и Н. Г. Столето-
вых ; сост. Л. С. Скрипченко. – Владимир : Изд-во ВлГУ, 2013. –
48 с.

Раскрывают материал учебной программы курса «Цитология».

Предназначены для студентов 1-го курса биологических специальностей. Могут быть использованы на практических занятиях и в процессе прохождения педагогической практики в школах. Будут полезны учителям в повседневной работе.

Рекомендовано для формирования профессиональных компетенций в соответствии с ФГОС 3-го поколения.

Ил. 43. Библиогр.: 8 назв.

УДК 576.3
ББК 28.903

ВВЕДЕНИЕ

Задачей, стоящей перед студентами естественно-географического факультета, является приобретение навыков работы с микроскопом и изучение строения клетки и ее отдельных компонентов.

На практических занятиях студенты имеют возможность ознакомиться с микро- и ультраструктурой бактериальной, растительной и животной клеток, научиться готовить временные препараты и работать с постоянными препаратами.

Материал практических занятий подразделяется на ряд тем, в которых имеются определенные задания, определяется их объем и представлен порядок выполнения.

В пособии представлены микропрепараты, которые необходимо зарисовывать, фрагменты микрофотографий, которые нужно использовать для зарисовки отдельных органоидов клетки, а также вопросы для самостоятельного изучения.

Глубокое знание учителем процессов, происходящих в растительных и животных организмах, вооружение его необходимыми первоначальными сведениями и умениями в данной области является одним из основных условий выполнения тех высоких требований, которые предъявляются к подготовке будущих педагогов.

Методические разработки для студентов составлены при помощи опытных преподавателей кафедры «Ботаника, зоология и экология» Педагогического института ВлГУ, в них обобщен многолетний опыт коллектива кафедры в проведении практических занятий.

Данное пособие составлено в соответствии с рабочей программой и содержит методические разработки к практическим и лабораторным занятиям, охватывающим почти все разделы курса «Цитология».

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 1

Тема: «Световая микроскопия. Методы приготовления препаратов. Строение прокариотических организмов (сине-зеленые водоросли или цианобактерии)».

Оборудование: микроскоп, предметные и покровные стекла.

Материалы: водоросли – осциллятория, микроцистис.

Последовательность выполнения работы:

- 1) описать методы работы с разными увеличениями микроскопа;
- 2) описать методы приготовления препаратов;
- 3) рассмотреть методом раздавленной капли строение водоросли микроцистис, осциллятории;
- 4) зарисовать строение водорослей, их ультраструктуру.

Теоретическая информация

1. Методы работы со световым микроскопом

Световая микроскопия обеспечивает увеличение до 2 – 3 тыс. раз, цветное и подвижное изображение живого объекта, возможность микрокино съемки и длительного наблюдения одного и того же объекта, оценки его динамики и химизма. Основными характеристиками любого микроскопа являются разрешающая способность и контраст. **Разрешающая способность** – это минимальное расстояние, на котором находятся две точки, демонстрируемые микроскопом отдельно. Разрешение человеческого глаза в режиме наилучшего видения равно 0,2 мм. **Контраст изображения** – это различие яркостей изображения и фона. Если это различие составляет менее 3 – 4 %, то его невозможно уловить ни глазом, ни фотопластинкой; тогда изображение останется невидимым, даже если микроскоп разрешает его детали. На контраст влияют как свойства объекта, которые изменяют световой поток по сравнению с фоном, так и способности оптики уловить возникающие различия в свойствах луча.

Увеличение микроскопа определяется как произведение увеличения объектива на увеличение окуляра. У типичных исследовательских микроскопов увеличение окуляра равно 10, а увеличение объективов – 10, 45 и 100. Соответственно, увеличение такого микроскопа составляет от 100 до 1000. Некоторые из микроскопов имеют увели-

чение до 2000. Еще более высокое увеличение не имеет смысла, так как при этом разрешающая способность не улучшается (напротив, качество изображения ухудшается).

Существуют несколько *методов световой микроскопии* (освещения и наблюдения). Методы микроскопии выбираются (и обеспечиваются конструктивно) в зависимости от характера и свойств изучаемых объектов, так как последние, как отмечалось выше, влияют на контрастность изображения.

Метод светлого поля в проходящем свете применяется при изучении прозрачных препаратов с включенными в них абсорбирующими (поглощающими свет) частицами и деталями. Это могут быть, например, тонкие окрашенные срезы животных и растительных тканей, тонкие шлифы минералов и т. д. В отсутствие препарата пучок света из конденсора, проходя через объектив, дает вблизи фокальной плоскости окуляра равномерно освещенное поле. При наличии в препарате абсорбирующего элемента происходит частичное поглощение и частичное рассеивание падающего на него света, что и обуславливает появление изображения. Применение этого метода возможно и при наблюдении неабсорбирующих объектов, но лишь в том случае, если они рассеивают освещающий пучок настолько сильно, что значительная часть его не попадает в объектив.

Метод косо́го освещения – разновидность предыдущего метода. Различие между ними состоит в том, что свет на объект направляют под большим углом к направлению наблюдения. Иногда это помогает выявить «рельефность» объекта за счет образования теней.

Метод светлого поля в отраженном свете применяется при исследовании непрозрачных отражающих свет объектов, например шлифов металлов или руд. Освещение препарата (от осветителя и полупрозрачного зеркала) производится сверху, через объектив, который одновременно играет роль конденсора.

Метод темного поля в проходящем свете (*Dark-field microscopy*) используется для получения изображений прозрачных неабсорбирующих объектов, которые не могут быть видны, если применить метод светлого поля. Зачастую это биологические объекты. Свет от осветителя и зеркала направляется на препарат конденсором специальной конструкции – т. н. конденсором темного поля. По вы-

ходе из конденсора основная часть лучей света, не изменившая своего направления при прохождении через прозрачный препарат, образует пучок в виде полого конуса и не попадает в объектив (который находится внутри этого конуса).

Проведение темнопольного исследования: предметные стекла должны быть не толще 1,1 – 1,2 мм, покровные – не толще 0,17 мм, без царапин и загрязнений. При приготовлении препарата следует избегать наличия пузырьков и крупных частиц (эти дефекты будут видны ярко светящимися и не позволят наблюдать препарат). Для темнопольного исследования применяют мощные осветители и максимальный накал лампы. Настройка темнопольного освещения в основном заключается в следующем:

- 1) устанавливают свет по Келеру;
- 2) заменяют светлопольный конденсор темнопольным;
- 3) на верхнюю линзу конденсора наносят иммерсионное масло или дистиллированную воду;
- 4) поднимают конденсор до соприкосновения с нижней поверхностью предметного стекла;
- 5) объектив малого увеличения фокусируют на препарат;
- б) с помощью центрировочных винтов переводят в центр поля зрения светлое пятно (иногда имеющее затемненный центральный участок);
- 7) поднимая и опуская конденсор, добиваются исчезновения затемненного центрального участка и получения равномерно освещенного светлого пятна. Если этого сделать не удастся, надо проверить толщину предметного стекла (обычно такое явление наблюдается при использовании слишком толстых предметных стекол – конус света фокусируется в толще стекла). После правильной настройки света устанавливают объектив нужного увеличения и исследуют препарат.

Метод фазового контраста и его разновидности – т. н. метод «аноптрального» контраста – предназначены для получения изображений прозрачных и бесцветных объектов, невидимых при наблюдении по методу светлого поля. К таковым относятся, например, живые неокрашенные животные ткани. Суть метода в том, что даже при очень малых различиях в показателях преломления разных элементов препарата световая волна, проходящая через них, претерпевает раз-

ные изменения по фазе (приобретает т. н. фазовый рельеф). Фазово-контрастная микроскопия применяется также для изучения клеток культуры ткани, наблюдения действия различных вирусов на клетки и т. п. В этих случаях часто применяют биологические микроскопы с обратным расположением оптики – инвертированные микроскопы. У них объективы расположены снизу, а конденсор – сверху.

Поляризационная микроскопия – это метод наблюдения в поляризованном свете для микроскопического исследования препаратов, включающих оптически анизотропные элементы (или целиком состоящих из таких элементов). Таковыми являются многие минералы, зерна в шлифах сплавов, некоторые животные и растительные ткани и пр. Наблюдение можно проводить как в проходящем, так и в отраженном свете. Свет, излучаемый осветителем, пропускают через поляризатор. Сообщенная ему при этом поляризация меняется при последующем прохождении света через препарат (или отражении от него). Эти изменения изучаются с помощью анализатора и различных оптических компенсаторов. Анализируя такие изменения, можно судить об основных оптических характеристиках анизотропных микрообъектов: силе двойного лучепреломления, количестве оптических осей и их ориентации, вращении плоскости поляризации, дихроизме.

Метод интерференционного контраста (интерференционная микроскопия) состоит в том, что каждый луч раздваивается, входя в микроскоп. Один из полученных лучей направляется сквозь наблюдаемую частицу, другой – мимо нее по той же или дополнительной оптической ветви микроскопа. В окулярной части микроскопа оба луча вновь соединяются и интерферируют между собой. Один из лучей, проходя через объект, запаздывает по фазе (приобретает разность хода по сравнению со вторым лучом). Величина этого запаздывания измеряется компенсатором. Можно сказать, что метод интерференционного контраста сходен с методом фазового контраста: они оба основаны на интерференции лучей, прошедших через микрочастицу и миновавших ее. Как и фазово-контрастная микроскопия, этот метод дает возможность наблюдать прозрачные и бесцветные объекты, но их изображения могут быть и разноцветными (интерференционные цвета). Оба метода пригодны для изучения живых тканей и клеток и применяются во многих случаях именно с этой целью. Главное отли-

чие интерференционной микроскопии от метода фазового контраста – это возможность измерять разности хода, вносимые микрообъектами.

Метод исследования в свете люминесценции (люминесцентная, или флуоресцентная, микроскопия) состоит в наблюдении под микроскопом зелено-оранжевого свечения микрообъектов, которое возникает при их освещении сине-фиолетовым светом или невидимыми глазом ультрафиолетовыми лучами. В оптическую схему микроскопа вводятся два светофильтра. Один из них помещают перед конденсором. Он пропускает от источника-осветителя излучение только тех длин волн, которые возбуждают люминесценцию либо самого объекта (собственная люминесценция), либо специальных красителей, введенных в препарат и поглощенных его частицами (вторичная люминесценция). Второй светофильтр, который установлен после объектива, пропускает к глазу наблюдателя (или на фоточувствительный слой) только свет люминесценции. В люминесцентной микроскопии используют освещение препаратов как сверху (через объектив, который в этом случае служит и конденсором), так и снизу, через обычный конденсор. Наблюдение при освещении сверху иногда называют «люминесцентной микроскопией в отраженном свете» (этот термин условен – возбуждение свечения препарата не является простым отражением света).

2. Методы приготовления препаратов

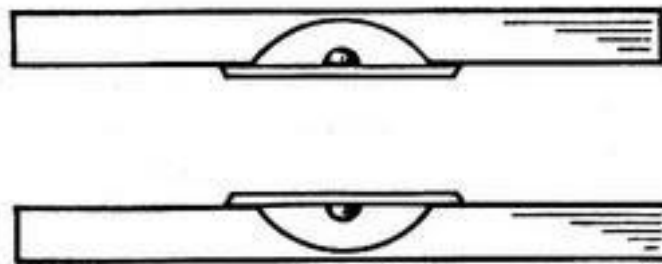
Метод «раздавленной» капли (рис. 1). На поверхность обезжиренного предметного стекла наносят каплю исследуемого материала или суспензию бактерий и покрывают ее покровным стеклом. Капля должна быть небольшой, не выходящей за край покровного стекла. Микроскопируют препарат с объективом 40X.



Рис. 1

Метод «висячей капли» (рис. 2). Препарат готовят на покровном стекле, в центре которого наносят одну каплю бактериальной культуры. Затем предметное стекло с лункой, края которой предварительно смазывают вазелином, прижимают к покровному стеклу так, чтобы капля находилась в центре лунки. Быстрым движением переворачивают препарат покровным стеклом вверх. В правильно приготовленном препарате капля должна свободно висеть над лункой, не касаясь ее дна или края.

Для микроскопии вначале используют малый сухой объектив 8X, под увеличением которого находят край капли, а затем устанавливают объектив 40X и исследуют препарат.



Приготовление висячей капли

Рис. 2

Отпечаток. Для приготовления препаратов (отпечатки) берут небольшой кусочек пораженной ткани, кладут его на фильтровальную бумагу, сложенную вчетверо. Затем чистыми обезжиренными предметными стеклами слегка надавливают на эти кусочки ткани и высушивают их на воздухе.

3. Цианобактерии, особенности сине-зеленых водорослей

Цианобактерии (лат. *Cyanobacteria*, от греч. κυανός – сине-зеленый или **сине-зеленые водоросли, цианопрокариоты**, – значительная группа крупных грамтрицательных бактерий, способных к фотосинтезу, сопровождающемуся выделением кислорода.

Систематика цианобактерий разработана недостаточно. Хроококковые и плеврокапсовые объединяют одиночные или колониальные сравнительно простые формы, в порядке осцилляториевых, ностокковых, стигонемовых входят нитчатые высокоорганизованные формы. Современная систематика распределяет цианобактерии по морфологии на пять порядков. «Высокоорганизованные» порядки содержат нитчатые формы, разница между ними – в наличии или отсут-

ствии истинного ветвления и дифференцированных клеток (гетероцист и гормогониев). Внесистематической группой цианобактерий считаются «прохлорофиты» – цианобактерии, содержащие помимо хлорофилла *a* какой-либо другой хлорофилл (*b*, *c* или *d*). Некоторые из них не имеют фикобилипротеинов (хотя это – один из основных признаков цианобактерий). Все одноклеточные и колониальные формы объединены в порядок Chroococcales. Порядок Oscillatoriales включает в себя нитчатые безгетероцистные виды. Нитчатые формы, имеющие гетероцисты, делятся на виды с настоящим ветвлением (Stigonematales), неветвящиеся и виды с ложным ветвлением (Nostocales).

Цианобактерии обладают полноценным фотосинтетическим аппаратом, характерным для кислородвыделяющих фотосинтетиков. Фотосинтетическая электронтранспортная цепь включает фотосистему (ФС) II, b_6f -цитохромный комплекс и ФС I. Конечным акцептором электронов служит ферредоксин, донором электронов – вода, расщепляемая в системе окисления воды, аналогичной таковой высших растений. Светособирающие комплексы представлены особыми пигментами – фикобилинами, собранными (как и у красных водорослей) в фикобилисомы. При отключении ФС II способны к использованию других, нежели вода, экзогенных доноров электронов: восстановленных соединений серы, органических соединений в рамках циклического переноса электронов с участием ФС I. Однако эффективность такого пути фотосинтеза невелика, и он используется преимущественно для переживания неблагоприятных условий.

Цианобактерии отличает чрезвычайно развитая система внутриклеточных впячиваний цитоплазматической мембраны (ЦПМ) – тилакоидов; высказаны предположения о возможном существовании у них системы тилакоидов, не связанных с ЦПМ, что до сих пор считалось невозможным у прокариот. Накопленная в результате фотосинтеза энергия используется в темновых процессах фотосинтеза для производства органических веществ из атмосферного CO_2 . **Большинство цианобактерий – облигатные фототрофы**, которые, однако, способны к непродолжительному существованию за счет расщепления накопленного на свету гликогена в окислительном пентозофосфатном цикле и в процессе гликолиза (достаточность од-

ного гликолиза для поддержания жизнедеятельности подвергается сомнению). Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) не может участвовать в получении энергии из-за отсутствия α -кетоглутаратдегидрогеназы. «Разорванность» ЦТК, в частности, приводит к тому, что цианобактерии отличаются повышенным уровнем экспорта метаболитов в окружающую среду.

Азотфиксация обеспечивается ферментом нитрогеназой, который отличается высокой чувствительностью к молекулярному кислороду. Поскольку кислород выделяется при фотосинтезе, в эволюции цианобактерий реализованы две стратегии: пространственного и временного разобщения этих процессов. У одноклеточных цианобактерий пик фотосинтетической активности наблюдается в светлое, а пик нитрогеназной активности – в темное время суток. Процесс регулируется генетически на уровне транскрипции; цианобактерии являются единственными прокариотами, у которых доказано существование циркадных ритмов (причем продолжительность суточного цикла может превышать продолжительность жизненного цикла). У нитчатых цианобактерий процесс азотфиксации локализован в специализированных терминально дифференцированных клетках – гетероцистах, отличающихся толстыми покровами, которые препятствуют проникновению кислорода.

Ход выполнения работы

Необходимо рассмотреть и зарисовать клетки цианобактерий.

1. Осциллятории (рис. 3 – 5) – многоклеточные цианобактерии, имеющие нитчатое строение.

Надцарство: Доядерные (Procarvota)

Царство: Бактерии (Bacteria)

Тип: Цианобактерии (Cyanobacteria)

Отряд: Oscillatoriales

Семейство: Осцилляториевые (Oscillatoriaceae)

Род: Осциллятория (Oscillatoria)

Особенностью цианобактерий, отнесенных в порядок Oscillatoriales, является недифференцированность трихома (последний состоит только из вегетативных клеток) и его рост путем деления клеток в одной плоскости. Цианобактерии этой таксономической

группы различаются строением трихомов и отдельных клеток, особенностями соединения клеток в трихоме, наличием или отсутствием чехла, способностью к движению и некоторыми другими морфологическими признаками. Для большинства представителей этой группы характерны прямые трихомы, клетки в которых дисковидные или цилиндрические, плотно прилегают друг к другу или разделены глубокой перетяжкой. Трихомы могут быть окружены общим чехлом разной толщины. Скользящее движение свойственно цианобактериям, не образующим чехла или со слабым развитием последнего. К этой же группе относятся цианобактерии, имеющие подвижные спиралевидные трихомы, состоящие из клеток разной формы, не окруженные чехлом.

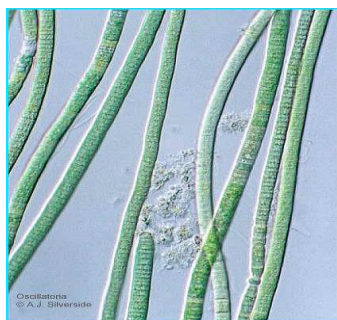


Рис. 3

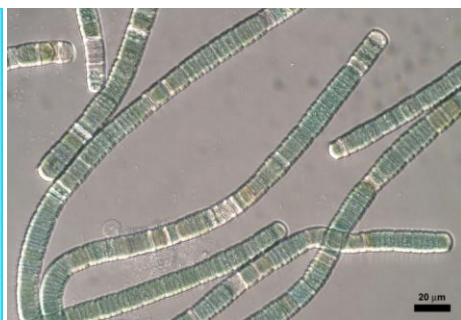


Рис. 4

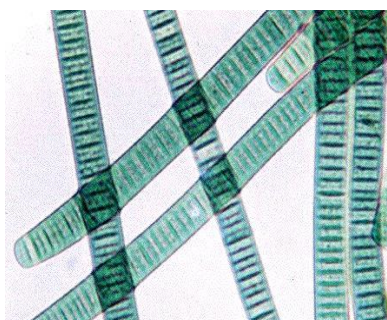


Рис. 5

2. Микроцистис (рис. 6) – это микроскопические, большей частью бесформенные комочки слизи, в которые погружена масса беспорядочно расположенных мелких шаровидных клеток.

Отдел: Сине-зеленые, или циановые, водоросли (Cyanophyta)

Класс: Хроококковые (Chroococophyceae)

Порядок: Хроококковые (Chroococcales)

Семейство: Микроцистиевые (Microcystidaceae)

Род: Микроцистис (Microcystis)



Рис. 6

Колонии микроцистиса могут иметь шаровидную, эллипсоидную формы, но чаще неправильную, продырявленную. Очертания слизи колонии могут быть отчетливыми или более или менее расплывающимися. Клетки у большей части видов микроцистиса содержат газовые вакуоли, которые обеспечивают им парение в воде. Виды этого рода – частые возбудители «цве-

тения» воды почти во всех климатических зонах, некоторые содержат или выделяют ядовитые вещества. Род охватывает 20 – 25 трудно-определяемых видов, из которых наиболее обычен *Microcystis aeruginosa*.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Каков предел разрешения светового микроскопа?
- 2) В чем особенности флуоресцентной микроскопии?
- 3) На чем основана фазово-контурная микроскопия?
- 4) Электронная микроскопия.
- 5) Перечислите методы приготовления микропрепаратов.
- 6) Каковы особенности строения прокариотических клеток?

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 2

Тема: «Строение клеток эукариотических организмов. Общий тип строения растительных клеток – оболочка клетки, цитоплазма, хлоропласты. Запасные питательные вещества».

Оборудование и материалы: микроскоп, растения – валлиснерия, элодея канадская, кожица лука, клетки клубня картофеля, раствор йода.

Последовательность выполнения работы:

- 1) рассмотреть и зарисовать клетки листа валлиснерии, отметить видимые части клетки;
- 2) рассмотреть и зарисовать клетки элодеи канадской;
- 3) рассмотреть, зарисовать, отметить характерные особенности клеток кожицы лука;
- 4) сделать тонкий срез клубня картофеля, рассмотреть препарат после окрашивания йодом.

Теоретическая информация

Особенности строения растительных клеток и функции видимых органелл клеток

Растительная клетка состоит из более или менее жесткой клеточной оболочки и протопласта.

Клеточная оболочка – это клеточная стенка и цитоплазматическая мембрана.

Термин «**протопласт**» происходит от слова «протоплазма», которое долгое время использовалось для обозначения всего живого. Протопласт – это протоплазма индивидуальной клетки. Протопласт состоит из цитоплазмы и ядра.

В **цитоплазме** находятся органеллы (рибосомы, микротрубочки, пластиды, митохондрии) и мембранные системы (эндоплазматический ретикулум, диктиосомы). Цитоплазма включает в себя еще цитоплазматический матрикс (основное вещество), в которое погружены органеллы и мембранные системы.

От **клеточной стенки** цитоплазма отделена плазматической мембраной, которая представляет собой элементарную мембрану.

В отличие от большинства животных клеток растительные клетки содержат одну или несколько **вакуолей**. Это пузырьки, заполненные жидкостью и окруженные элементарной мембраной (тонопластом).

Плазматическая мембрана представляет собой бислойную фосфолипидную структуру. Для растительных клеток свойственны впячивания плазматической мембраны. Плазматическая мембрана выполняет следующие функции: участвует в обмене веществ между клеткой и окружающей средой; координирует синтез и сборку целлюлозных микрофибрилл клеточной стенки; передает гормональные и внешние сигналы, контролирующие рост и дифференцировку клеток.

Ядро – это наиболее заметная структура в цитоплазме эукариотической клетки. Оно выполняет две важные функции: контролирует жизнедеятельность клетки, определяя, какие белки и в какое время должны синтезироваться; хранит генетическую информацию и передает ее дочерним клеткам в процессе клеточного деления. Ядерная оболочка в некоторых местах объединяется с эндоплазматическим ретикуломом.

Вакуоли, целлюлозная клеточная стенка и **пластиды** – характерные компоненты растительных клеток. Каждая пластида имеет собственную оболочку, состоящую из двух элементарных мембран. Внутри пластиды различают мембранную систему и различной степени гомогенное вещество – строму. Зрелые пластиды классифицируют на основании содержащихся в них пигментов.

Хлоропласты – полуавтономные органеллы напоминают бактерии. Например, рибосомы бактерий и хлоропластов имеют достаточно высокое сходство. Они меньше рибосом эукариот. Синтез белка на рибосомах бактерий и хлоропластов подавляется хлорамфениколом, не оказывающим влияния в клетках эукариот. Кроме того, и бактерии, и хлоропласты имеют схожего типа нуклеоиды, организованные сходным образом. Несмотря на то, что образование хлоропластов и синтез находящихся в них пигментов в значительной степени контролируется хромосомной ДНК клетки, тем не менее в отсутствие собственной ДНК хлоропласты не формируются.

Хромопласты – пигментированные пластиды. Многообразные по форме, они не имеют хлорофилла, но синтезируют и накапливают каротиноиды, которые придают желтую, оранжевую, красную окраску цветкам, старым листьям, плодам и корням. Хромопласты могут развиваться из хлоропластов, которые при этом теряют хлорофилл и внутренние мембранные структуры, накапливают каротиноиды. Это происходит при созревании многих плодов. Хромопласты привлекают насекомых и других животных, с которыми они вместе эволюционировали.

Лейкопласты – непигментированные пластиды. Некоторые из них синтезируют крахмал (амилопласты), другие способны к образованию различных веществ, в том числе липидов и белков. На свету лейкопласты превращаются в хлоропласты.

Митохондрии. Как и хлоропласты, митохондрии окружены двумя элементарными мембранами. Внутренняя мембрана образует множество складок и выступов – крист, которые значительно увеличивают внутреннюю поверхность митохондрии. Они значительно меньше, чем пластиды (имеют около 0,5 мкм в диаметре), и разнообразны по длине и форме.

Вакуоли – это отграниченные мембраной участки клетки, заполненные жидкостью – клеточным соком. Они окружены тонопластом (вакуолярной мембраной).

Рибосомы маленькие частицы (17 – 23 нм), состоящие примерно из равного количества белка и РНК. В рибосомах аминокислоты соединяются с образованием белков. Их больше в клетках с активным обменом веществ. Рибосомы располагаются в цитоплазме клетки сво-

бодно или же прикрепляются к эндоплазматическому ретикулуму (80S). Их обнаруживают и в ядре (80S), митохондриях (70S), пластидах (70S).

Аппарат Гольджи – этот термин используется для обозначения всех диктиосом, или телец Гольджи, в клетке. Диктиосомы – это группы плоских, дисковидных пузырьков, или цистерн, которые по краям разветвляются в сложную систему трубочек. Диктиосомы у высших растений состоят из 4 – 8 цистерн, собранных вместе.

Ход выполнения работы

1. Охарактеризовать особенности строения клеток растения валлиснерии (рис. 7, 8).

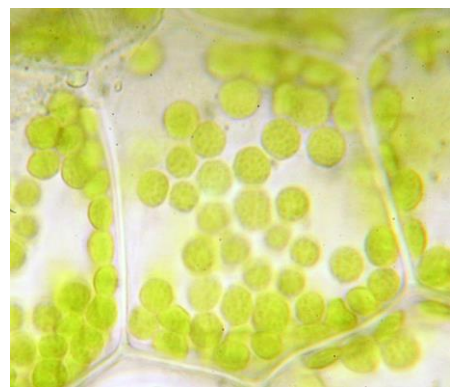
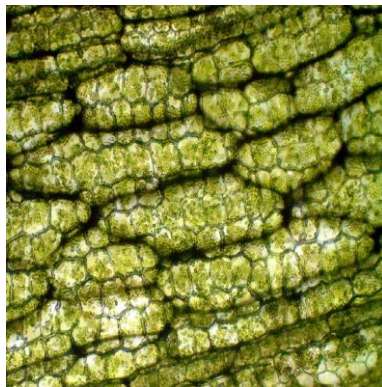


Рис. 7

Рис. 8

Рис. 9

Видимые органеллы клетки (рис. 9):

- 1) оболочка;
- 2) хлоропласты;
- 3) ядро.

2. Зарисовать клетки элодеи (рис. 10) и описать функции видимых частей клетки.

Видимые органеллы клетки:

- 1) оболочка;
- 2) хлоропласты.

3. Зарисовать вид клеток кожицы лука под микроскопом (рис. 11).

Видимые органеллы клетки:

- 1) оболочка;
- 2) ядро;
- 3) цитоплазма.

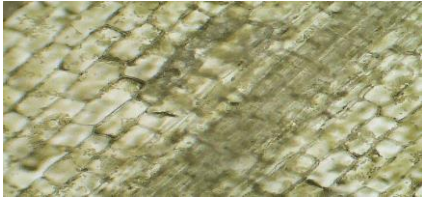


Рис. 10



Рис. 11

4. Изучить особенности строения клеток клубня картофеля (рис. 12, 13). Описать функции запасных питательных веществ.

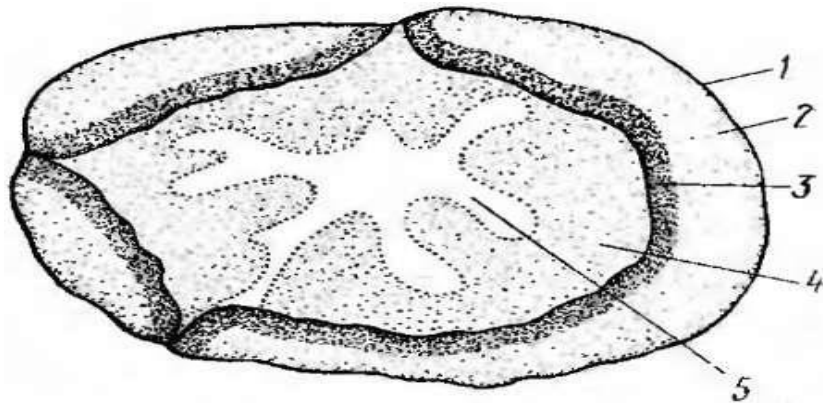


Рис. 12

Строение клеток клубня картофеля:

- 1) кожа;
- 2) перидерма;
- 3) комбиальное кольцо;
- 4) внешняя сердцевина;
- 5) внутренняя сердцевина.

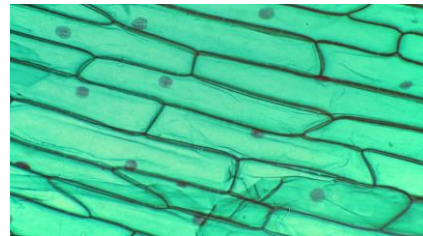


Рис. 13

Вопросы для самоконтроля

1. Каковы отличительные особенности эукариотических организмов?
2. Перечислите видимые в световой микроскоп части клетки и функции этих органелл.
3. Какова функция органелл, характерных для растительных клеток?
4. Перечислите органеллы клеток, выполняющих функции запаса питательных веществ.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 3

Тема: «Общий тип строения клеток животных. Пиноцитоз и фагоцитоз. Секреция».

Оборудование и материалы: микроскоп, эпителий полости рта человека, эритроциты лягушки, препарат тонкой кишки собаки, купферовские клетки, препарат всасывания жира в тонкой кишке.

Последовательность выполнения работы:

- 1) рассмотреть и зарисовать эпителий полости рта человека;
- 2) рассмотреть и зарисовать эритроциты лягушки;
- 3) рассмотреть и зарисовать всасывание жира в тонкой кишке;
- 4) рассмотреть и зарисовать фагоцитоз купферовских клеток.

Теоретическая информация

Общий тип строения клеток животных. Плазматическая мембрана называется также плазмалеммой, наружной клеточной мембраной. Это биологическая мембрана, толщиной около 10 нанометров, которая обеспечивает в первую очередь разграничительную функцию по отношению к внешней для клетки среде. Кроме этого, она выполняет транспортную функцию. На сохранение целостности своей мембраны клетка не тратит энергии: молекулы удерживаются.

Структура цитоплазмы. Цитоплазма состоит из гликокаликса, плазмалеммы и молекул жира (гидрофобных частей молекул), которым термодинамически выгоднее располагаться в непосредственной близости друг к другу. Гликокаликс представляет собой «заякоренные» в плазмалемме молекулы олигосахаридов, полисахаридов, гликопротеинов и гликолипидов. Гликокаликс выполняет рецепторную и маркерную функции. Плазматическая мембрана животных клеток в основном состоит из фосфолипидов и липопротеидов с вкрапленными в нее молекулами белков, в частности поверхностных антигенов и рецепторов. В кортикальном (прилегающем к плазматической мембране) слое цитоплазмы находятся специфические элементы цитоскелета – упорядоченные определенным образом актиновые микрофиламенты. Основной и самой важной функцией кортикального слоя (кортекса) являются псевдоподиальные реакции – выбрасывание, прикрепление и сокращение псевдоподий. При этом микрофиламенты

перестраиваются, удлиняются или укорачиваются. От структуры цитоскелета кортикального слоя зависит также форма клетки (например, наличие микроворсинок). Жидкую составляющую цитоплазмы также называют цитозолем. Под световым микроскопом кажется, что клетка заполнена чем-то вроде жидкой плазмы или золя, в котором «плавают» ядро и другие органоиды. На самом деле это не так. Внутреннее пространство эукариотической клетки строго упорядочено. Передвижение органоидов координируется при помощи специализированных транспортных систем, так называемых микротрубочек, служащих внутриклеточными «дорогами», и специальных белков – динеинов и кинезинов, играющих роль «двигателей». Отдельные белковые молекулы также не диффундируют свободно по всему внутриклеточному пространству, а направляются в необходимые компартменты при помощи специальных сигналов на их поверхности, узнаваемых транспортными системами клетки.

Эндоплазматический ретикулум. В эукариотической клетке существует система переходящих друг в друга мембранных отсеков (трубок и цистерн), которая называется эндоплазматическим ретикулумом (ЭПР), или эндоплазматической сетью (ЭПС). Ту часть ЭПР, к мембранам которой прикреплены рибосомы, относят к **гранулярному** (или **шероховатому**) эндоплазматическому ретикулуму, на его мембранах происходит синтез белков. Те компартменты, на стенках которых нет рибосом, относят к **гладкому** (или **агранулярному**) ЭПР, принимающему участие в синтезе липидов. Внутренние пространства гладкого и гранулярного ЭПР не изолированы, а переходят друг в друга и сообщаются с просветом ядерной оболочки.

Аппарат Гольджи. Аппарат Гольджи представляет собой стопку плоских мембранных цистерн, несколько расширенных ближе к краям. В цистернах аппарата Гольджи созревают некоторые белки, синтезированные на мембранах гранулярного ЭПР и предназначенные для секреции или образования лизосом. Аппарат Гольджи асимметричен – цистерны, располагающиеся ближе к ядру клетки (**цис-Гольджи**), содержат наименее зрелые белки, к этим цистернам непрерывно присоединяются мембранные пузырьки – везикулы, отпочковывающиеся от эндоплазматического ретикулума. По-видимому, при помощи таких же пузырьков происходит дальнейшее перемещение

созревающих белков от одной цистерны к другой. В конце концов от противоположного конца органеллы (*транс*-Гольджи) отпочковываются пузырьки, содержащие полностью зрелые белки.

Ядро. Клеточное ядро содержит молекулы ДНК, на которых записана генетическая информация организма. В ядре происходит репликация – удвоение молекул ДНК, а также транскрипция – синтез молекул РНК на матрице ДНК. В ядре же синтезированные молекулы РНК претерпевают некоторые модификации (например, в процессе сплайсинга из молекул матричной РНК исключаются незначительные, бессмысленные участки), после чего выходят в цитоплазму. Сборка рибосом также происходит в ядре, в специальных образованиях, называемых ядрышками. Компартмент для ядра – кариотека – образован за счет расширения и слияния друг с другом цистерн эндоплазматической сети таким образом, что у ядра образовались двойные стенки за счет окружающих его узких компартментов ядерной оболочки. Полость ядерной оболочки называется *люменом*, или *перинуклеарным пространством*. Внутренняя поверхность ядерной оболочки подстилается ядерной ламинай, жесткой белковой структурой, образованной белками-ламинами, к которой прикреплены нити хромосомной ДНК. В некоторых местах внутренняя и внешняя мембраны ядерной оболочки сливаются и образуют так называемые ядерные поры, через которые происходит материальный обмен между ядром и цитоплазмой.

Лизосомы. Лизосома – небольшое тельце, ограниченное от цитоплазмы одинарной мембраной. В ней находятся литические ферменты, способные расщепить все биополимеры. Основная функция – автолиз, – то есть расщепление отдельных органоидов, участков цитоплазмы клетки.

Цитоскелет. К элементам цитоскелета относят белковые фибриллярные структуры, расположенные в цитоплазме клетки: микротрубочки, актиновые и промежуточные филаменты. Микротрубочки принимают участие в транспорте органелл, входят в состав жгутиков, из микротрубочек строится митотическое веретено деления. Актиновые филаменты необходимы для поддержания формы клетки, псевдоподиальных реакций. Роль промежуточных филаментов, по видимому, также заключается в поддержании структуры клетки. Бел-

ки цитоскелета составляют несколько десятков процентов от массы клеточного белка.

Центриоли. Центриоли – цилиндрические белковые структуры, расположенные вблизи ядра клеток животных (у растений центриолей нет). Центриоль представляет собой цилиндр, боковая поверхность которого образована девятью наборами микротрубочек. Количество микротрубочек в наборе может колебаться для разных организмов от 1 до 3.

Вокруг центриолей находится так называемый центр организации цитоскелета – район, в котором группируются минус концы микротрубочек клетки.

Перед делением клетка содержит две центриоли, расположенные под прямым углом друг к другу. В ходе митоза они расходятся к разным концам клетки, формируя полюса веретена деления. После цитокинеза каждая дочерняя клетка получает по одной центриоли, которая удваивается к следующему делению. Удвоение центриолей происходит не делением, а путем синтеза новой структуры, перпендикулярной существующей.

Центриоли, по-видимому, гомологичны базальным телам жгутиков и ресничек.

Митохондрии. Митохондрии – особые органеллы клетки, основной функцией которых является синтез АТФ – универсального носителя энергии. Дыхание (поглощение кислорода и выделение углекислого газа) происходит также за счет ферментативных систем митохондрий.

Внутренний просвет митохондрий, называемый *матриксом*, ограничен от цитоплазмы двумя мембранами, *наружной* и *внутренней*, между которыми располагается *межмембранное пространство*. Внутренняя мембрана митохондрии образует складки, так называемые *кристы*. В матриксе содержатся различные ферменты, принимающие участие в дыхании и синтезе АТФ. Центральное значение для синтеза АТФ имеет водородный потенциал внутренней мембраны митохондрии.

Митохондрии имеют свой собственный ДНК-геном и прокариотические рибосомы, что безусловно указывает на симбиотическое происхождение этих органелл. В ДНК митохондрий закодированы

совсем не все митохондриальные белки, большая часть генов митохондриальных белков находится в ядерном геноме, а соответствующие им продукты синтезируются в цитоплазме, а затем транспортируются в митохондрии. Геномы митохондрий отличаются по размерам: например, геном человеческих митохондрий содержит всего 13 генов. Самое большое число митохондриальных генов (97) из изученных организмов имеется у простейших.

Пиноцитоз и фагоцитоз. Это два процесса, происходящие с поглощением энергии, обеспечивают попадание в клетку еще более крупных частиц, чем проникающие через поры мембран четвертого типа.

А. Пиноцитоз. При пиноцитозе мембрана (обычно это мембрана первого типа) образует впячивания, которые в конечном итоге преобразуются в пузырьки. Таким образом осуществляется проникновение через мембрану молекул, размер которых слишком велик для того, чтобы они могли диффундировать обычным путем, особенно белков. Благодаря пиноцитозу вещества, находившиеся вне клетки, оказываются внутри нее, и наоборот.

Б. Фагоцитоз. За счет фагоцитоза, обладающего известным сходством с пиноцитозом, происходит перемещение еще более крупных частиц. Так, методом электронной микроскопии было отчетливо показано, что твердые частицы проходят через клеточные мембраны капилляров у млекопитающих, причем для этой цели, по-видимому, может использоваться вся поверхность капилляра. Ферменты и гормоны зачастую как бы выдавливаются из клеток в виде пузырьков, заключенных в липидную мембрану. Именно таким образом пять гидролитических проферментов поджелудочной железы выдавливаются все вместе в виде так называемых «зимогеновых гранул».

Секреция. Секреция (от лат. *secretio* – отделение) – выработка и выделение железистыми клетками секретов. По существу, в каждой клетке организма в ходе ее жизнедеятельности образуются некоторые продукты метаболизма, выделяемые либо во внешнюю среду, либо во внутреннюю. Если секреторная функция становится основной для выполняющих ее специализированных, т. н. железистых, клеток, то ее называют секрецией. Различают секрецию внешнюю, или экзокринную, когда продукты, вырабатываемые железой, выделяются из орга-

низма во внешнюю среду (секрет сначала поступает в проток железы, а затем выводится на поверхность тела или в половые органы), и внутреннюю (эндокринную) секрецию или инкрецию, – выделение синтезируемых веществ в кровь или лимфу.

Ход выполнения работы

1. Рассмотреть и зарисовать препарат эпителия полости рта человека (рис. 14).

Стерильным стеклянным шпателем провести с легким нажимом по небу или по деснам. При этом на кончике шпателя в капельке слюны окажутся слущенные клетки эпителия.

На препарате видны плавающие в жидкости отдельно плоские клетки, содержащие ядра.

Большая часть клеток мертвые, так как они имеют сильно структурированное ядро. Так как поверхностные клетки покровного эпителия являются высокодифференцированными клетками, в которых затухают синтетические процессы, в их ядрах отсутствуют ядрышки или они очень мелкие.

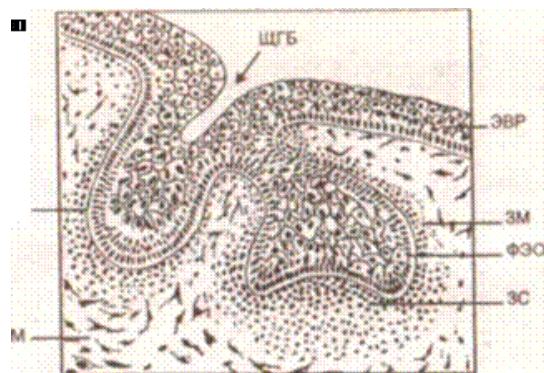


Рис. 14

2. Рассмотреть и зарисовать эритроциты лягушки (рис. 15).

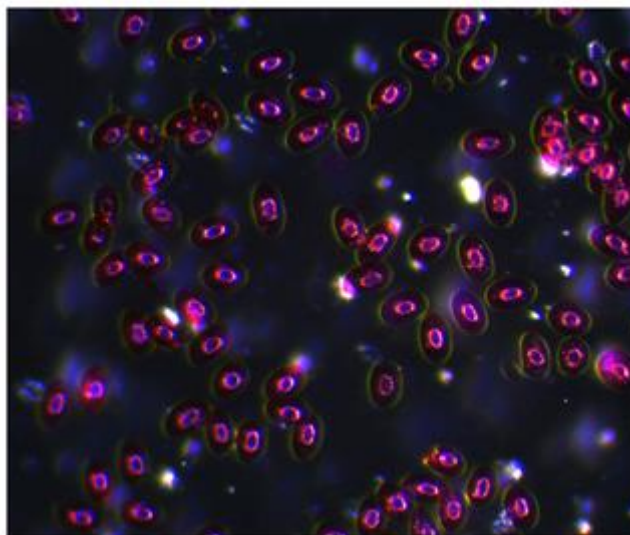


Рис. 15

Большинство клеток имеют овальную форму и овально плотное ядро, окрашивающееся гематоксилином в сине-фиолетовый цвет. Цитоплазма этих клеток закрашивается эозином в оранжево-красный цвет за счет гемоглобина, растворенного в теле этой клетки.

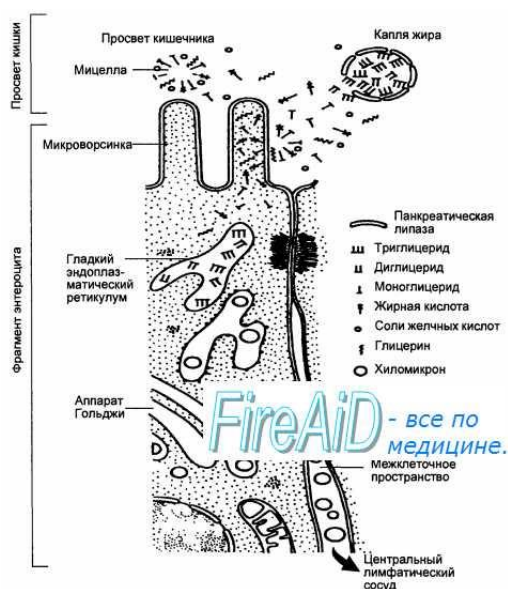


Рис. 16

3. Рассмотреть и зарисовать препарат всасывания жира в тонкой кишке (рис. 16).

На поперечном срезе видны ворсинки, выстланные высоким призматическим эпителием. Окрашенные осмием в черный цвет капли жира обнаруживаются в просвете кишечника и самих эпителиальных клетках. Отдельные жировые капли видны за пределами клеток эпителия, в подлежащей рыхлой соединительной ткани ворсинки.

4. Рассмотреть и зарисовать препарат фагоцитоза купферовских клеток (рис. 17).

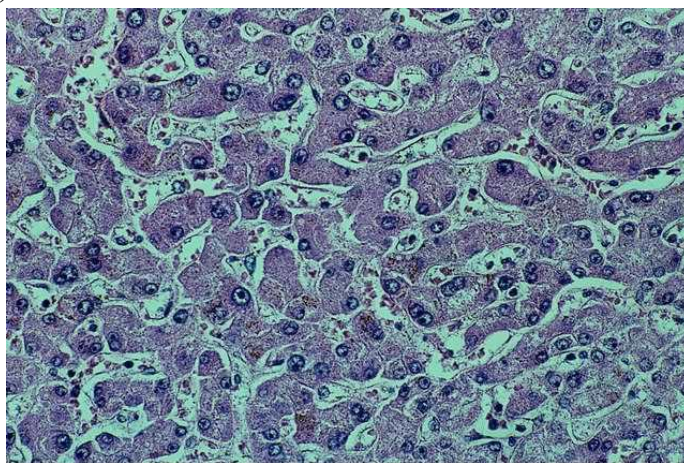


Рис. 17

На препарате видны клетки с крупными овальными ядрами, на фоне слабоокрашенных квасцовым кармином клеток четко выделяются меньшего размера и неправильной формы купферовские клетки. Они хорошо заметны благодаря наличию в их цитоплазме частиц черной туши.

Вопросы для самоконтроля

1. В результате какой диффузии в клетку поступают вода, аминокислоты, глюкоза?
2. Почему вещества, содержащиеся в клетке в более высокой концентрации, чем в окружающей среде, не покидают клетку?
3. Каким экспериментом можно доказать, что пиноцитоз не просто поглощение воды, а способ питания?
4. Какой способ поглощения питательных веществ оказывается более распространенным у животных клеток – пиноцитоз или фагоцитоз?
5. Какие клетки организма человека способны к фагоцитозу?
6. В чем заключается различие между экзоцитозом и эндоцитозом?
7. Что такой активный транспорт веществ?

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 4-5

Тема: «Ультраструктура цитоплазматической мембраны, ЭПС, аппарат Гольджи, рибосомы, лизосомы».

Оборудование и материалы: микропрепараты (тигроид в нейронах спинного мозга; аппарат Гольджи в клетках спинномозгового узла кошки), электронная фотография аппарата Гольджи, электронная фотография лизосомы из клетки печени мыши, микрофотографии (гигантская полисома в клетке, зараженной вирусом полиомиелита; изолированные рибосомы бактерии кишечной палочки).

Теоретическая информация

Цитоплазматическая мембрана (рис. 18) – это тонкая структура, которая отделяет содержимое клетки от окружающей среды. Она состоит из двойного слоя липидов с белковыми молекулами толщиной примерно 75 ангстрем.

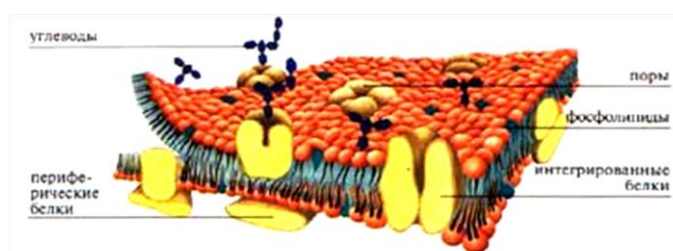


Рис. 18

Функции наружной цитоплазматической мембраны: 1) барьерная; 2) транспортная; 3) матричная; 4) механическая; 5) энергетическая; 6) рецепторная; 7) ферментативная; 8) осуществления генерации и проведения биопотенциалов.

Клеточная мембрана сплошная, но у нее имеются многочисленные складки, извилины и поры, что позволяет регулировать прохождение через нее веществ. Важное свойство биологических мембран – текучесть. Все клеточные мембраны представляют собой подвижные текучие структуры: большая часть составляющих их молекул липидов и белков способна достаточно быстро перемещаться в плоскости мембраны. Другое свойство мембран – их асимметрия: оба их слоя различаются по липидному и белковому составу, что отражает функциональные различия их поверхностей.

Эндоплазматическая сеть (рис. 19) – внутриклеточный органоид, представленный системой плоских цистерн, канальцев и пузырьков, ограниченных мембранами; обеспечивает главным образом передвижение веществ из окружающей среды в цитоплазму и между внутриклеточными структурами.

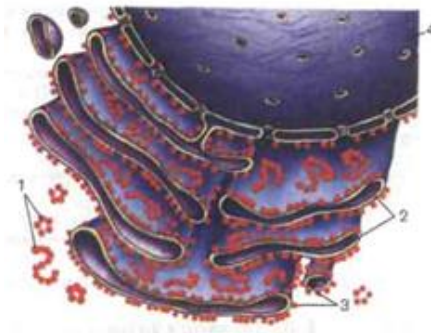


Рис. 19

Впервые ЭПС была выявлена в 1945 году американским ученым К. Портером путем электронной микроскопии. Строение и количество элементов ЭПС зависят от функциональной активности клетки, стадии клеточного цикла и дифференцировки. Толщина мембран ЭПС 5 – 6 нм, ширина просвета между мембранами 70 – 500 нм. Различают два типа ЭПС – гранулярную, к мембранам которой прикреплены рибосомы, и агранулярную. Гранулярная ЭПС принимает участие в синтезе, агранулярная ЭПС – в синтезе и транспорте липидов, стероидов, в синтезе и распаде гликогена, в процессе нейтрализации различных токсических и лекарственных веществ. Обоим типам ЭПС свойственны накопление продуктов синтеза в просветах мембран и их транспорт в зону комплекса Гольджи.

Схема строения эндоплазматической сети:

- 1 – свободные рибосомы;
- 2 – полости;
- 3 – рибосомы, прикрепленные к мембранам;
- 4 – ядерная оболочка.

К мембранам эндоплазматической сети прикреплено большое число рибосом – мельчайших органоидов клетки. На рибосомах происходит синтез белков.

Комплекс Гольджи. Открыт К. Гольджи в 1898 году в нервных клетках. Структурно-функциональная единица – диктиосома. В клетке содержится до 20 (редко более) диктиосом. Область комплекса Гольджи практически лишена рибосом, в животных клетках она часто окружает центриоли. В секреторных клетках комплекс Гольджи располагается в апикальной части клетки, и в его состав входят формирующиеся секреторные гранулы. Функции комплекса Гольджи: модификация белков – глюкозилирование, сульфатирование, фосфорилирование, частичное расщепление полипептидных цепей, упаковка секретлируемых продуктов в гранулы, синтез некоторых полисахаридов, формирование клеточной мембраны, образование лизосом. Белки поступают в комплекс Гольджи из гранулярной ЭПС в мембранных пузырьках. В комплексе Гольджи из них образуются сложные белки (липопротеиды, мукопротеиды, мукополисахариды). Транспорт пузырьков осуществляется с помощью микротрубочек. При делении клетки комплекс Гольджи распадается на отдельные диктиосомы, которые случайно распределяются между дочерними клетками.

Лизосомы – мембранные пузырьки, которые наполнены гидролитическими ферментами. Лизосомы (от греч. *lysis* – «разложение, растворение, распад» и *soma* – «тело») – это пузырьки диаметром 200 – 400 мкм. Имеют одномембранную оболочку, которая снаружи иногда бывает покрыта волокнистым белковым слоем. Содержат набор ферментов (кислых гидролаз), которые осуществляют при низких значениях pH гидролитическое (в присутствии воды) расщепление веществ (нуклеиновых кислот, белков, жиров, углеводов). Основная функция – внутриклеточное переваривание различных химических соединений и клеточных структур. Выделяют первичные (неактивные) и вторичные лизосомы (в них протекает процесс переваривания). Вторичные лизосомы образуются из первичных. Они подразделяются на гетеролизосомы и аутолизосомы.

Рибосома (от «рибонуклеиновая кислота» и греч. «сома» – тело) – органоид, синтезирующий белки. Представляет собой сферическую частицу диаметром около 20 нм, состоящую из двух субъеди-

ниц, которые могут разъединяться и вновь объединяться. В клетках эукариот рибосомы формируются в ядрышке. Субъединицы рибосомы выходят из ядра в цитоплазму, и здесь завершается формирование полноценных рибосом. В цитоплазме рибосомы свободно находятся в цитоплазматическом матриксе (гиалоплазме) или прикрепляются к внешним мембранам ядра и *эндоплазматической сети*. Рибосомы на мембранах образуют комплексы – полирибосомы, которые синтезируют белки, поступающие через эндоплазматическую сеть в аппарат Гольджи. Количество рибосом в клетке зависит от интенсивности биосинтеза белка – их больше в клетках активно растущих тканей (меристем растений, зародышей и т. д.). В хлоропластах и митохондриях есть свои собственные мелкие рибосомы, они обеспечивают этим органоидам автономный (независимый от ядра) биосинтез белков.

Строение аппарата Гольджи и схема транспорта проиллюстрированы на рис. 20.

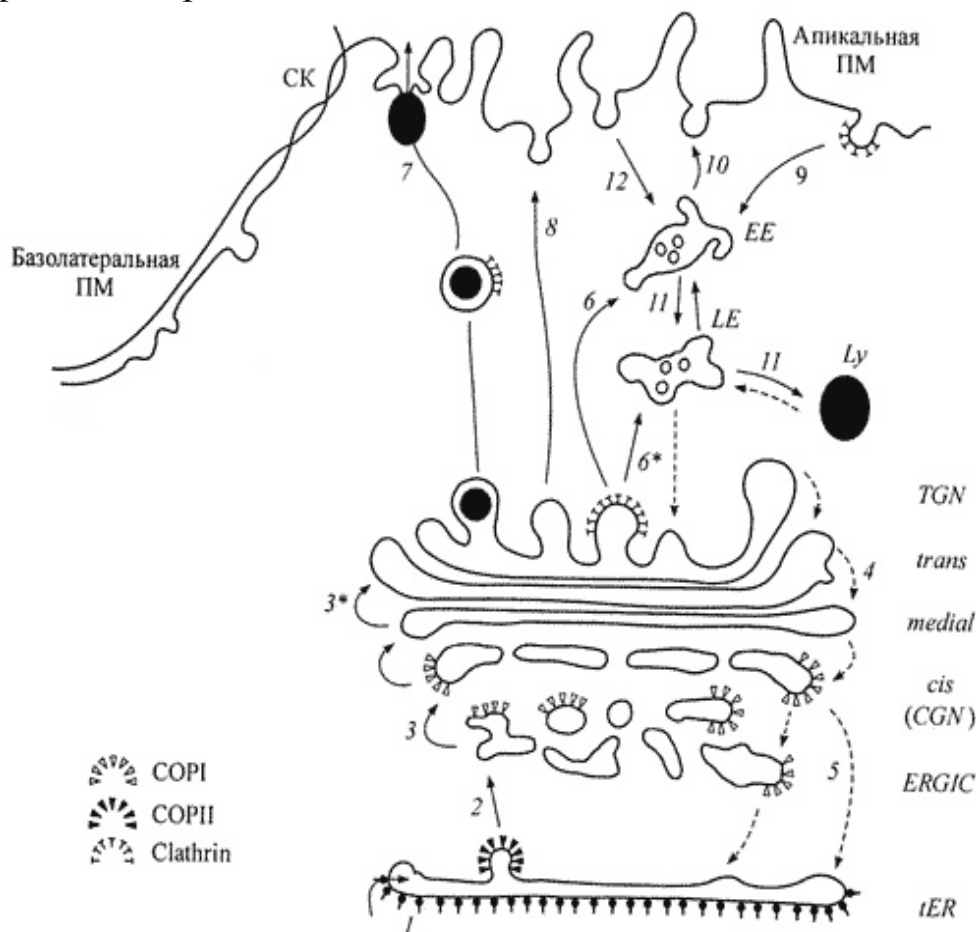


Рис. 20

Ход выполнения работы

Необходимо зарисовать:

а) тигроид – ЭПС (рис. 21). Зарисовать фрагменты электронных микрофотографий, демонстрирующих ультраструктуру тигроидного вещества.

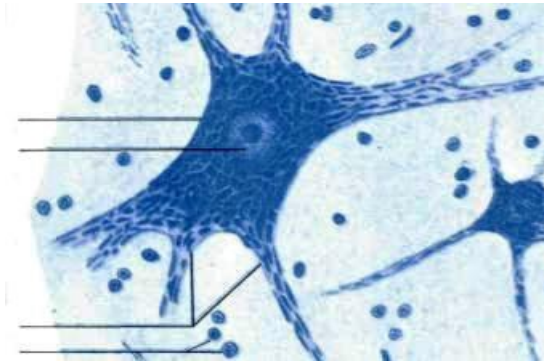


Рис. 21

На рис. 22 изображена ультраструктура глыбок тигроидного вещества нервной клетки. При зарисовке необходимо отметить каналцы и пузырьки ЭПС и рибосомы;

б) спинно-мозговые узелки кошки – аппарат Гольджи (или диктиосомы). Следует познакомиться с ультраструктурой аппарата Гольджи.

Ультраструктура аппарата Гольджи клетки гермафродитной железы *Helix pomatia* показана на рис. 23. Параллельно расположенные мембраны образуют сферическую диктиосому, в зоне которой много мелких пузырьков;

в) лизосому. Лизосома из клетки печени мыши изображена на рис. 24;



Рис. 22



Рис. 23



Рис. 24

г) рибосомы – рассмотреть все электронные микрофотографии, иллюстрирующие рибосомы.



Рис. 25

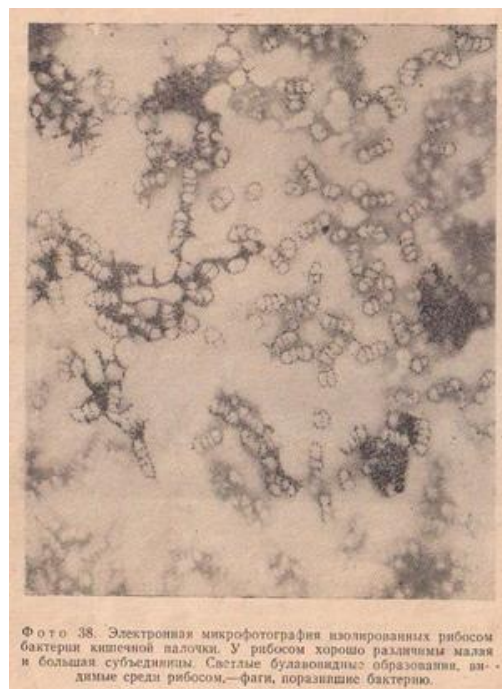


Рис. 26

Гигантская полисома в клетке, зараженной вирусом полиомиелита, изображена на рис. 25. Полисома рельефно выделяется благодаря примененному методу позитивного контраста. Электронная микрофотография изолированных рибосом бактерии кишечной палочки приведена на рис. 26. У рибосом хорошо различимы малая и большая субъединицы. Светлые булавовидные образования, видимые среди рибосом, – фаги, поразившие бактерию.

Вопросы для самоконтроля

1. Имеется ли разница в ультраструктуре плазматической мембраны растительной и животной клеток?
2. Каким клеткам организма человека свойственны микроворсинки?
3. В каких клетках гранулярная ЭПС выявляется микроскопически и почему?
4. С какими структурами клетки связана локализация рибосом?
5. Какие клетки организма человека особенно богаты лизосомами и почему?
6. Какие органоиды общего назначения выполняют в клетке транспортную функцию?

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 6

Тема: «Строение митохондрий. Биологические формы движения».

Оборудование и материалы: микроскоп, постоянные микропрепараты – клетки кишечного эпителия аскариды; митохондрии инфузории; митохондрии амебы; мерцательный эпителий кишечника беззубки; ультраструктура жгутика.

Последовательность выполнения работы:

- 1) рассмотреть микропрепарат с клетками кишечного эпителия аскариды;
- 2) рассмотреть микропрепараты митохондрий инфузории и амебы;
- 3) рассмотреть микропрепарат мерцательного эпителия кишечника беззубки;
- 4) рассмотреть микропрепарат ультраструктуры жгутика.

Теоретическая информация

Митохондрии. Животные клетки, являясь гетеротрофными, не способны к непосредственному использованию солнечной энергии. В процессе эволюции они приспособились к извлечению энергии, заключенной в химических связях питательных веществ. При этом у них выработалось два способа извлечения этой энергии: эволюционно более древний гликолиз и окислительное фосфорилирование, иначе, клеточное дыхание. Клеточное дыхание и гликолиз в клетке пространственно разобщены: гликолиз совершается в гиалоплазме, а клеточное дыхание на митохондриях. Однако эти два процесса тесно связаны друг с другом.

При нормальной физиологической нагрузке все энергозатраты клетки покрываются за счет клеточного дыхания, и в этом случае гликолиз выступает лишь как подготовительная фаза расщепления углеводов до пировиноградной кислоты, которая поступает в цикл Кребса. Водород, отщепляемый от промежуточных продуктов цикла Кребса, поступает на митохондрии. Он служит тем субстратом, из которого клетка извлекает энергию в процессе дыхания.

Доминирование клеточного дыхания над гликолизом – эффект Пастера – имеет место до тех пор, пока клеточное дыхание компенсирует все энергозатраты клетки. Но при их дальнейшем возрастании подключается гликолиз, который в этом случае будет идти параллельно с дыханием и до конца, то есть до образования молочной кислоты. Митохондриям отводится регулирующая функция в подключении гликолиза. При понижении уровня АТФ в митохондриях из них выделяются в гиалоплазму вещества, условно названные усиливающим фактором, который приводит в действие всю систему гликолитических ферментов и тем самым подключает гликолиз.

Биологические формы движения. Движение является наиболее очевидным проявлением жизни. В постоянном движении находится гиалоплазма клетки, иногда приобретая строго направленное круговое течение (циклоз), возможны самостоятельные движения большинства структур клетки: ядра, митохондрий, центриолей, хромосом, рибосом и т. д.

Разнообразны биологические формы движения, связанные с перемещением клеток и целых организмов в пространстве: амебоидное движение, при котором клетка может перемещаться любой частью своего тела, движение с помощью специальных органоидов (ресничек и жгутиков) и, наконец, самая совершенная форма – мышечное сокращение, осуществляемое специальными сократительными структурами – миофибриллами. Любая форма движения связана с сократимостью белков протоплазмы, молекулы которых претерпевают обратимые конформационные изменения. И, кроме того, все формы движения являются результатом прямого перехода химической энергии АТФ в механическую, под действием АТФ-азной активности самих контрактильных белков.

Ход выполнения работы

1. Рассмотреть микропрепарат с клетками кишечного эпителия аскариды, найти митохондрии, зарисовать:

- 1) ядро;
- 2) оболочку;
- 3) митохондрии.

2. Рассмотреть микропрепараты митохондрий инфузории и амебы (рис. 27), зарисовать:

- 1) кристы;
- 2) тилакоиды.

3. Рассмотреть микропрепарат мерцательного эпителия кишечника беззубки (рис. 28), зарисовать, отметить основные составляющие эпителия:

- 1) мерцательные клетки;
- 2) соединительную ткань;
- 3) вставочные клетки;
- 4) базальную мембрану.

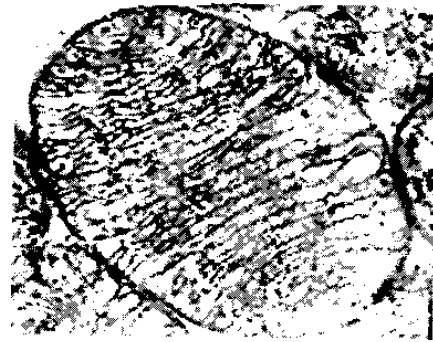


Рис. 27

4. Рассмотреть микропрепарат ультраструктуры жгутика (рис. 29), зарисовать, отметить основные составляющие:

- 1) микротрубочки;
- 2) плазматическую мембрану;
- 3) цитоплазму.



Рис. 28



Рис. 29

Вопросы для самоконтроля

1. Какие организмы возникли на Земле раньше – гетеротрофы или автотрофы?

2. Назовите существующие способы освобождения клетками энергии.

3. Почему гликолиз, несмотря на низкую эффективность, сохранился у всех ныне существующих организмов?

4. В каких участках митохондрий совершается процесс фосфорилирования?

5. Какие формы биологического движения связаны с перемещением клетки в пространстве?

6. Какие структуры клетки способны к движению?

7. Какая форма биологического движения эволюционно наиболее древняя?

8. В чем сходство между амебоидным движением, движением с помощью ресничек, жгутиков и мышечным сокращением?

9. Чем отличаются органоиды специальные от органоидов общего назначения?

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 7

Тема: «Ядро клетки, хроматин, ядрышко, хромосомы, центриоли».

Оборудование и материалы: микроскоп, предметные и покровные стекла; микропрепарат мазка крови человека; микропрепарат яйцеклетки лягушки; микропрепарат политенных хромосом клетки слюнной железы личинки комара; микропрепарат полового хроматина в нейроне кошки; микропрепарат тельца Барра в ядре эпителиальной клетки женщины; микропрепарат полового хроматина «барабанная палочка» в нейтрофильном лейкоците женщины.

Последовательность выполнения работы:

- 1) рассмотреть микропрепарат крови человека, зарисовать его;
- 2) рассмотреть микропрепарат, знакомящий с множественными ядрышками в овоцитах лягушки, зарисовать его;
- 3) рассмотреть микропрепарат политенных хромосом клетки слюнной железы личинки комара, зарисовать его;
- 4) рассмотреть микрофотографии, демонстрирующие половой хроматин в виде тельца Барра и барабанной палочки.

Теоретическая информация

Ядро (рис. 30). Ядро имеется в клетках всех эукариот за исключением эритроцитов млекопитающих. У некоторых простейших имеется два ядра, но как правило, клетка содержит только одно ядро. Ядро обычно принимает форму шара или яйца; по размерам (10 – 20 мкм) оно является самой крупной из органелл. Ядро отграничено от цитоплазмы ядерной оболочкой, которая состоит из двух мембран (наружной и внутренней), имеющих такое же строение, как и плазматическая мембрана. Между ними находится узкое пространство, заполненное полужидким веществом. Через множество пор в ядерной оболочке

осуществляется обмен веществ между ядром и цитоплазмой (в частности, выход и-РНК в цитоплазму). Внешняя мембрана часто бывает усеяна рибосомами, синтезирующими белок.

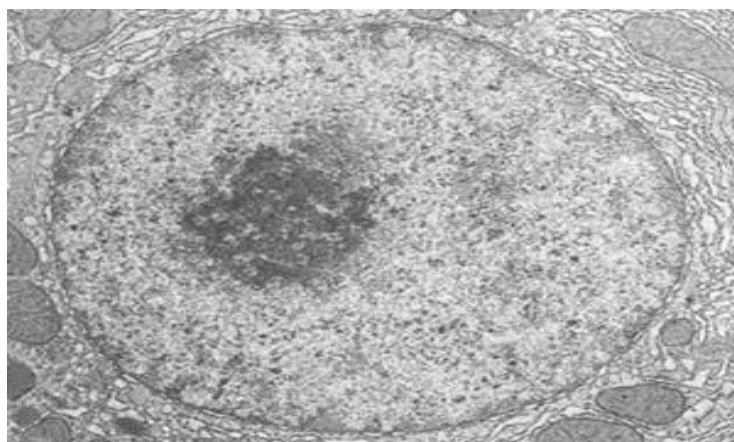


Рис. 30

Под ядерной оболочкой находится кариоплазма (ядерный сок), в которую поступают вещества из цитоплазмы. Кариоплазма содержит хроматин – вещество, несущее ДНК, и ядрышки. Ядрышко – это округлая структура внутри ядра, в которой происходит формирование рибосом.

Совокупность хромосом, содержащихся в хроматине, называют хромосомным набором. Число хромосом в соматических клетках диплоидное ($2n$), в отличие от половых клеток, имеющих гаплоидный набор хромосом (n).

Важнейшей функцией ядра является сохранение генетической информации. При делении клетки ядро также делится надвое, а находящаяся в нем ДНК копируется (реплицируется). Благодаря этому у всех дочерних клеток также имеются ядра.

Ядрышко. Ядрышко находится внутри ядра и не имеет собственной мембранной оболочки, однако хорошо различимо под световым и электронным микроскопом. Основной функцией ядрышка является синтез рибосом. В геноме клетки имеются специальные участки, так называемые **ядрышковые организаторы**, содержащие гены рибосомной РНК (рРНК), вокруг которых и формируются ядрышки. В ядрышке происходит синтез рРНК РНК полимеразой I, ее созревание, сборка рибосомных субчастиц, локализуются белки, принимающие участие в этих процессах. Некоторые из этих белков имеют специальную последовательность – сигнал ядрышковой локализации (NoLS, от англ. *Nucleolus Localization Signal*). Следует отметить,

самая высокая концентрация белка в клетке наблюдается именно в ядрышке. В этих структурах было локализовано около 600 видов различных белков, причем считается, что лишь небольшая их часть действительно необходима для осуществления ядрышковых функций, а остальные попадают туда неспецифически.

Под электронным микроскопом в ядрышке выделяют несколько субкомпарментов. Так называемые *фибрилярные центры* окружены участками *плотного фибриллярного компонента*, где и происходит синтез рРНК. Снаружи от плотного фибриллярного компонента расположен *гранулярный компонент*, представляющий собой скопление созревающих рибосомных субчастиц.

Хромосомы (рис. 31). Хромосомы являются обязательной структурой ядра. Однако они выявляются микроскопически не во все периоды жизненного цикла клетки. В интерфазе хромосомы деспирализованы и поэтому видны как глыбки хроматина. Конденсируясь и спирализуясь во время митоза, они становятся хорошо заметными, особенно в метафазе и анафазе.

Каждый вид растений и животных обладает своим кариотипом, т. е. определенным числом хромосом с определенной морфологией и величиной. Морфологическая классификация хромосом основана на локализации первичной перетяжки, которая делит хромосому на два плеча. В соответствии с этим различают метацентрические, или равноплечие, хромосомы, субметацентрические, если одно плечо несколько больше другого, и ацентрические, когда разница в длине плеч очень велика. Некоторые хромосомы имеют вторичную перетяжку, соединяющую ее со спутником. В этом случае хромосома называется спутничной.

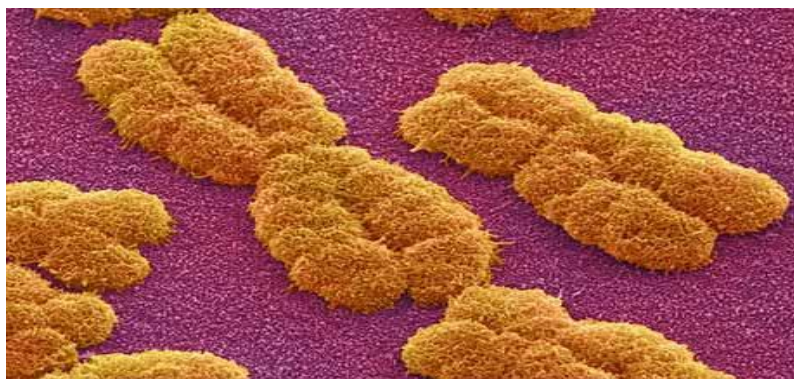


Рис. 31

Хроматин. Огромная длина молекул ДНК эукариот предопределила появление специальных механизмов хранения, репликации и реализации генетического материала. Хроматином называют молекулы хромосомной ДНК в комплексе со специфическими белками, необходимыми для осуществления этих процессов. Основную массу составляют «белки хранения», так называемые гистоны. Из этих белков построены **нуклеосомы** – структуры, на которые намотаны нити молекул ДНК. Нуклеосомы располагаются довольно регулярно, так что образующаяся структура напоминает бусы. Нуклеосома состоит из белков четырех типов: H2A, H2B, H3 и H4. В одну нуклеосому входят по два белка каждого типа – всего восемь белков. Гистон H1, более крупный, чем другие гистоны, связывается с ДНК в месте ее входа на нуклеосому. Нуклеосома вместе с H1 называется **хроматосомой**.

Нить ДНК с нуклеосомами образует нерегулярную соленоид-подобную структуру толщиной около 30 нанометров, так называемую **30 нм фибриллу**. Дальнейшая упаковка этой фибриллы может иметь различную плотность. Если хроматин упакован плотно, его называют **конденсированным**, или **гетерохроматином**, он хорошо виден под микроскопом. ДНК, находящаяся в гетерохроматине, не транскрибируется, обычно это состояние характерно для незначущих или молчащих участков. В интерфазе гетерохроматин обычно располагается по периферии ядра (пристеночный гетерохроматин). Полная конденсация хромосом происходит перед делением клетки. Если хроматин упакован неплотно, его называют эу- или **интерхроматином**. Этот вид хроматина гораздо менее плотный при наблюдении под микроскопом и обычно характеризуется наличием транскрипционной активности. Плотность упаковки хроматина во многом определяется модификациями гистонов – ацетилированием и фосфорилированием.

Считается, что в ядре существуют так называемые **функциональные домены хроматина** (ДНК одного домена содержит приблизительно 30 тысяч пар оснований), то есть каждый участок хромосомы имеет собственную «территорию». К сожалению, вопрос пространственного распределения хроматина в ядре изучен пока недостаточно. Известно, что теломерные (концевые) и центромерные (отвечающие за связывание сестринских хроматид в митозе) участки хромосом закреплены на белках ядерной ламины.

Ядерная оболочка, ядерная ламина и ядерные поры (кариолема). От цитоплазмы ядро отделено ядерной оболочкой, образованной из-за расширения и слияния друг с другом цистерн эндоплазматической сети таким образом, что у ядра образовались двойные стенки за счет окружающих его узких компартментов. Полость ядерной оболочки называется **люменом**, или **перинуклеарным пространством**. Внутренняя поверхность ядерной оболочки подстилается ядерной **ламиной** – жесткой белковой структурой, образованной белками-ламинами, к которой прикреплены нити хромосомной ДНК. Ламины прикрепляются к внутренней мембране ядерной оболочки при помощи заякоренных в ней трансмембранных белков – **рецепторов ламинов**. В некоторых местах внутренняя и внешняя мембраны ядерной оболочки сливаются и образуют так называемые ядерные поры, через которые происходит материальный обмен между ядром и цитоплазмой. Пора не является дыркой в ядре, а имеет сложную структуру, организованную несколькими десятками специализированных белков – нуклеопоринов. Под электронным микроскопом она видна как восемь связанных между собой белковых гранул с внешней и столько же с внутренней стороны ядерной оболочки.

Ядерный матрикс. Ядерным матриксом некоторые исследователи называют нерастворимый внутриядерный каркас. Считается, что матрикс построен преимущественно из негистоновых белков, формирующих сложную разветвленную сеть, сообщающуюся с ядерной ламиной. Возможно, ядерный матрикс принимает участие в формировании функциональных доменов хроматина. В геноме клетки имеются специальные незначащие А-Т-богатые **участки прикрепления к ядерному матриксу** (англ. *S/MAR* – Matrix/Scaffold Attachment Regions), служащие, как предполагается, для заякоривания петель хроматина на белках ядерного матрикса. Впрочем, не все исследователи признают существование ядерного матрикса.

Центриоль (от лат. *centrum*, греч. *kentron* – срединная точка, центр) – органоид клеток животных и некоторых растений. Впервые описан В. Флеммингом в 1875 году. Центриоли могут входить в состав митотического аппарата клетки. В диплоидной клетке содержатся две пары центриолей, в каждой паре – диплосоме – одна центриоль зрелая, материнская, другая – незрелая, дочерняя – уменьшенная ко-

пия материнской. Удвоение центриоли происходит в синтетическом периоде митотического цикла или после него. Дочерняя центриоль образуется рядом с материнской путем самосборки. В профазе митоза диплосомы расходятся к полюсам клетки и вблизи от них формируются микротрубочки веретена. Но центры организации микротрубочек могут и не иметь центриоль, например в клетках высших растений, некоторых грибов и водорослей, у ряда простейших. Функции центриоли в делении клетки неясны. В неделящихся клетках центриоли часто располагаются вблизи аппарата Гольджи, нередко рядом с ядром. В полиплоидной клетке число центриолей соответствует числу хромосомных наборов, в политенных клетках центриоли утрачиваются. Каждая центриоль имеет форму полого цилиндра длиной около 0,3 – 0,5 мкм и шириной 0,15 мкм, построенного из девяти триплетов микротрубочек. Центриоль окружена тонковолокнистым матриксом. Такие же по строению центриоли образуют базальные тельца ресничек и жгутиков во многих животных клетках, у простейших и в зооспорах водорослей, мхов, низших грибов.

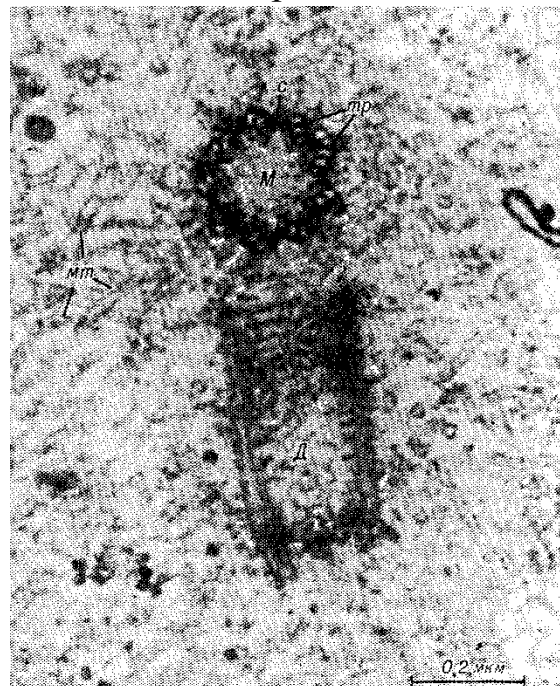


Рис. 32

На рис. 32 изображены центриоли в клетке культуры ткани (почка эмбриона свиньи) в метафазе: М – материнская центриоль; Д – дочерняя центриоль; мт – микротрубочки веретена; тр – триплеты центриоли; с – связки между триплетами.

Половой хроматин. Половой хроматин, как правило, свойственен клеткам женских организмов и отсутствует у мужских индивидумов. Его наличие связано с тем, что одна из двух имеющихся в ядре X-хромосом в интерфазе не деспирализуется, а остается в гетеропикнотическом состоянии. Оставаясь спирализованной, она выявляется микроскопически в виде небольшого образования – тельца Барра или в виде так называемой барабанной палочки.

При некоторых патологических состояниях тельца Барра выявляются и у мужчин. Это связано с дисбалансом половых хромосом и, в частности, с появлением дополнительных X-хромосом и в кариотипе мужчин.

Тельца Барра в клетках женщин могут быть множественными при наличии в их кариотипе более двух половых хромосом, и они отсутствуют, если X-хромосома будет одна.

Ход выполнения работы

Рассмотреть и зарисовать следующие микропрепараты:

- а) мазок крови человека (рис. 33). Видимые органеллы клетки:
- 1) ядра малых и средних лимфоцитов;
 - 2) ядро моноцита;
 - 3) ядра зернистых лейкоцитов;

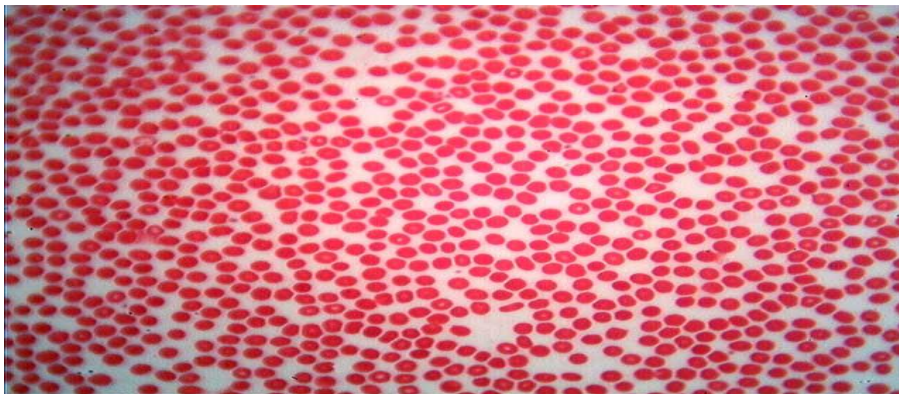


Рис. 33

б) яйцеклетку лягушки (рис. 34). Видимые органеллы клетки: множественность ядрышек в ядрах овоцитов лягушки;



Рис. 34

в) политенные хромосомы клетки слюнной железы личинки комара (рис. 35). Видимые органеллы клетки: политенные хромосомы;

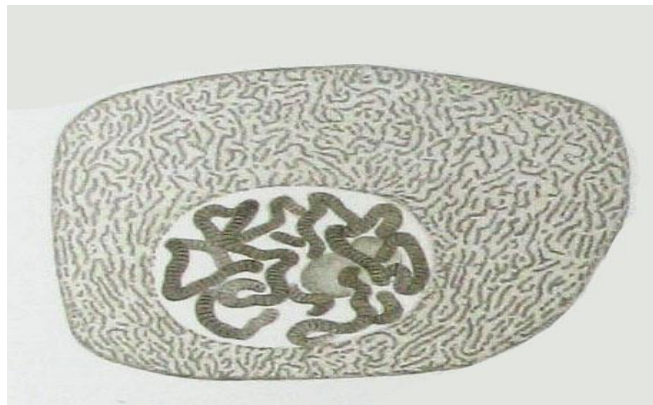


Рис. 35

г) половой хроматин в нейроне кошки (рис. 36). Видимые органеллы клетки:

- 1) цитоплазма;
- 2) ядро;
- 3) ядрышко;
- 4) тельце Барра;

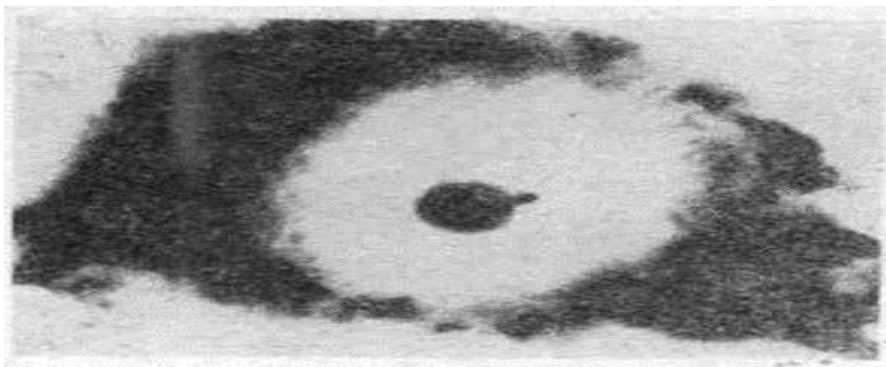


Рис. 36

д) тельце Барра в ядре эпителиальной клетки женщины (рис. 37).

Видимые органеллы клетки:

- 1) тельце Барра;
- 2) хроматин;
- 3) половой хроматин;



Рис. 37

е) половой хроматин – «барабанная палочка» в нейтрофильном лейкоците женщины (рис. 38). Видимые органеллы клетки:

- 1) нейтрофил;
- 2) половой хроматин.

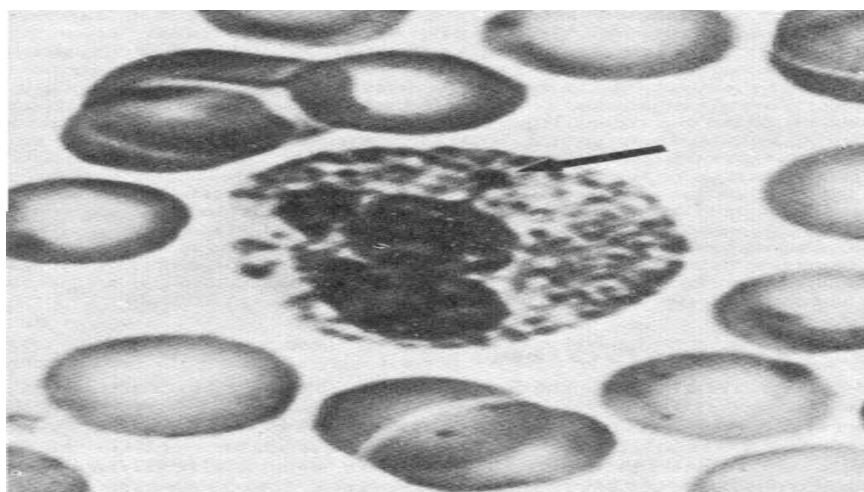


Рис. 38

Вопросы для самоконтроля

1. Является ли ядро органоидом клетки?
2. Есть ли разница между кариоплазмой и кариолимфой?
3. Почему хромосомы микроскопически не выявляются в интерфазном ядре?
4. Каково число хромонем в профазной хромосоме?
5. Сколько хромонем содержит телофазная хромосома?
6. Чем отличается политенная хромосома от обычной?
7. Какова природа полового хроматина?

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 8-9

Тема: «Виды клеточного деления: митоз, мейоз, амитоз».

Оборудование и материалы: микроскоп, микропрепараты, микрофотографии, электронные микрофотографии.

Последовательность выполнения работы:

- 1) рассмотреть микропрепараты и фотографии, иллюстрирующие различные формы клеточного деления;
- 2) зарисовать все стадии митоза животной и растительной клетки, сделав соответствующие обозначения. Провести сравнение митоза растительной и животной клеток, указать имеющиеся различия;
- 3) зарисовать последовательные этапы амитоза по любому из предложенных препаратов.

Теоретическая информация

Одно из положений клеточной теории гласит о том, что все клетки возникают из себе подобных в результате их деления. Делятся клетки как прокариотические, так и эукариотические. Деление клеток играет большую роль в сохранении жизни на Земле, так как обеспечивает рост популяций одноклеточных, рост, размножение и развитие многоклеточных организмов. Деление лежит в основе процессов регенерации – замещения отмерших и погибших клеток.

Эукариотическим клеткам свойственны митоз с его разновидностями и амитоз, или прямое деление.

Наиболее распространенной формой клеточного деления является митоз. При нем обеспечивается сохранение постоянства числа хромосом и постоянство генотипа. Образуются дочерние генетически равноценные клетки. Это достигается благодаря предшествующей репликации хромосомного материала и особому механизму распределения хромосом между дочерними клетками.

Наряду с обычным митозом у растений и животных встречается его разновидность – эндомитоз, иначе эндорепродукция. При эндомитозе сохраняется репликация хромосомного материала, и в частности репликация ДНК, но выпадает одна из фаз митотического цикла. Это приводит к тому, что материнская клетка не делится на две дочерние. В результате в клетке происходит кратное увеличение числа хромосом – полиплоидия, или хромосомы становятся политенными, то есть оказываются состоящими из большого числа хромонем.

Для всех организмов, которые размножаются половым путем, характерна еще одна форма клеточного деления – мейоз. При мейозе не сохраняется постоянство числа хромосом, а имеет место редукция, уменьшение их числа вдвое. Она приводит к уменьшению генетической разнородности, так как дочерние клетки получают не пары гомологичных хромосом, а лишь отдельных партнеров из этих пар. Тем самым они лишаются аллельных генов. Но, с другой стороны, при мейозе имеет место кроссинговер – обмен между гомологичными хромосомами определенными участками, что служит, в свою очередь, известным источником генетической разновидности.

Амитоз – довольно редкая форма клеточной репродукции. Ее своеобразие заключается в том, что клетка делится, не прерывая своих функций, находясь, по-существу, в интерфазе. При этом хромосомы, будучи деспирализованными, микроскопически не выявляются. Разделение клетки на дочерние совершается путем образования перетяжек на ядрышке и ядре. Цитотомия наблюдается не всегда, что приводит к возникновению многоядерных клеток. Поскольку репликация хромосомного материала имеет место не во всех случаях, появляются клетки с ядрами различной ploидности.

Митоз (от греч. *mítos* – нить), кариокинез, – не прямое деление клетки – наиболее распространенный способ воспроизведения (репродукции) клеток, обеспечивающий тождественное распределение

генетического материала между дочерними клетками и преемственность хромосом в ряду клеточных поколений.

Стадии митоза: профаза, метафаза, анафаза и телофаза.

В профазе происходят реорганизация ядра с конденсацией и спирализацией хромосом, разрушение ядерной оболочки и формирование митотического аппарата путем синтеза белков и «сборки» их в ориентированную систему веретена деления клетки. Метафаза заключается в движении хромосом к экваториальной плоскости (метакинез, или прометафаза), формировании экваториальной пластинки («материнской звезды») и разъединении хроматид, или сестринских хромосом. Анафаза – стадия расхождения хромосом к полюсам. Анафазное движение связано с удлинением центральных нитей веретена, раздвигающего митотические полюсы, и с укорочением хромосомальных микротрубочек митотического аппарата. Удлинение центральных нитей веретена происходит либо за счет поляризации «запасных» макромолекул, достраивающих микротрубочки веретена, либо за счет дегидратации этой структуры. Укорочение хромосомальных микротрубочек обеспечивается свойствами сократительных белков митотического аппарата, способных к сокращению без утолщения. Телофаза заключается в реконструкции дочерних ядер из хромосом, собравшихся у полюсов, разделении клеточного тела (цитотомия, цитокинез) и окончательном разрушении митотического аппарата с образованием промежуточного тельца.

Ход выполнения работы

1. Митоз клетки в корешке лука проиллюстрирован на рис. 39.

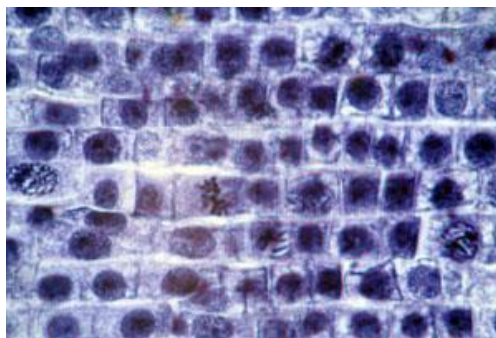


Рис. 39

2. Митоз в дробящихся яйцеклетках аскариды показан на рис. 40. На нем цифрами отмечены следующие элементы: 1 – хромосомы, 2 – центриоли, 3 – сияние вокруг центриолей, 4 – веретено, 5 – оболочка яйцеклетки.

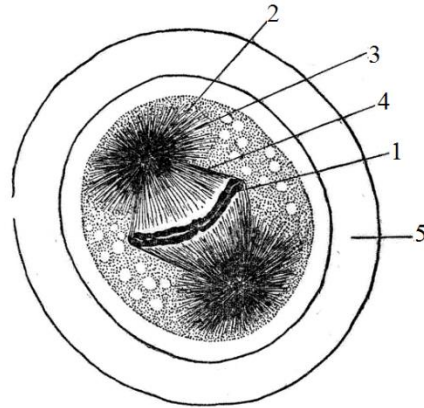


Рис. 40

3. Амитоз клеток эпителия мочевого пузыря мыши проиллюстрирован поэтапно на рис. 41 – 43.

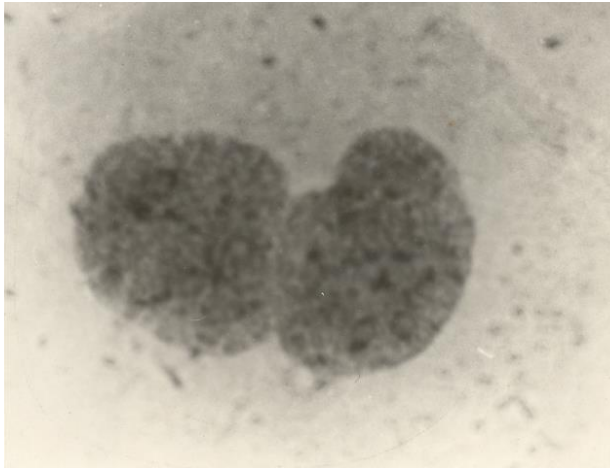


Рис. 41

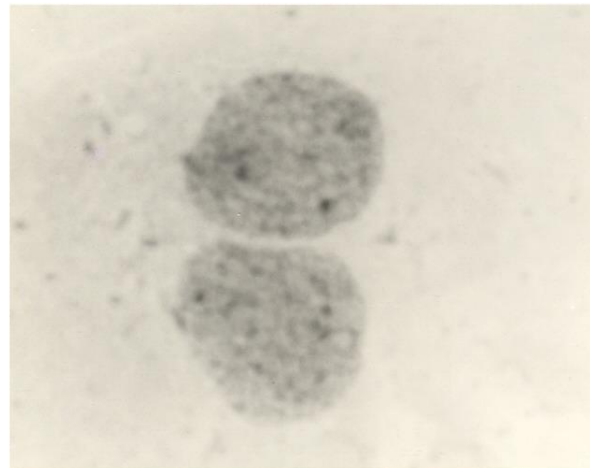


Рис. 42

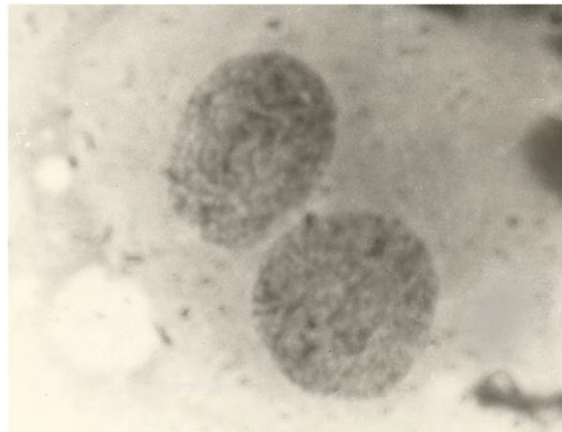


Рис. 43

Вопросы для самоконтроля

1. Какая форма клеточного деления является наиболее распространенной?
2. Каково назначение интерфазы, предшествующей делению клетки?
3. В чем отличие мейоза от митоза?
4. В чем сущность кроссинговера, каково его значение?
5. Чем объясняется суточная ритмика митозов?

Библиографический список*

1. *Верещагина, В. А.* Основы общей цитологии : учеб. пособие для студентов вузов / В. А. Верещагина. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Академия, 2007. – 176 с. – (Высшее профессиональное образование).
2. *Заварзин, А. А.* Основы общей цитологии : учеб. пособие / А. А. Заварзин. – Л. : ЛГУ, 1982. – 239 с.
3. *Заварзин, А. А.* Биология клетки: общая цитология / А. А. Заварзин. – СПб. : СПбУ, 1992.
4. *Михайлова, Н. В.* Микро- и ультраструктура клетки : рук. к практ. занятиям по цитологии / Н. В. Михайлова. – Владимир : ВГПИ, 1977. – Ч. 1. – 86 с.
5. *Михайлова, Н. В.* Структура и функции клетки : рук. к практ. занятиям по цитологии / Н. В. Михайлова. – Владимир : ВГПИ, 1981. – 75с.
6. *Плышевская, Е. В.* Основы цитологии : метод. разработка для слушателей подготов. отд-ния / Е. В. Плышевская. – Владимир : ВГПУ, 2006. – Ч. 2. – 36 с.
7. *Ченцов, Ю. С.* Общая цитология : учеб. для биолог. специальностей вузов / Ю. С. Ченцов. – М. : МГУ, 1984. – 350 с.
8. *Ченцов, Ю. С.* Введение в клеточную биологию / Ю. С. Ченцов. – М. : Академкнига, 2004.

* Приводится в авторской редакции.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	3
Практическая работа № 1	4
Практическая работа № 2	13
Практическая работа № 3	18
Практическая работа № 4-5	25
Практическая работа № 6	31
Практическая работа № 7	34
Практическая работа № 8-9	43
Библиографический список	47

ПРАКТИЧЕСКИЕ РАБОТЫ ПО КУРСУ «ЦИТОЛОГИЯ»

Методические разработки для студентов

Составитель

СКРИПЧЕНКО Лилия Степановна

Ответственный за выпуск – зав. кафедрой доцент Т. С. Бибик

Подписано в печать 27.11.13.

Формат 60x84/16. Усл. печ. л. 2,79. Тираж 50 экз.

Заказ

Издательство

Владимирского государственного университета
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых.
600000, Владимир, ул. Горького, 87.