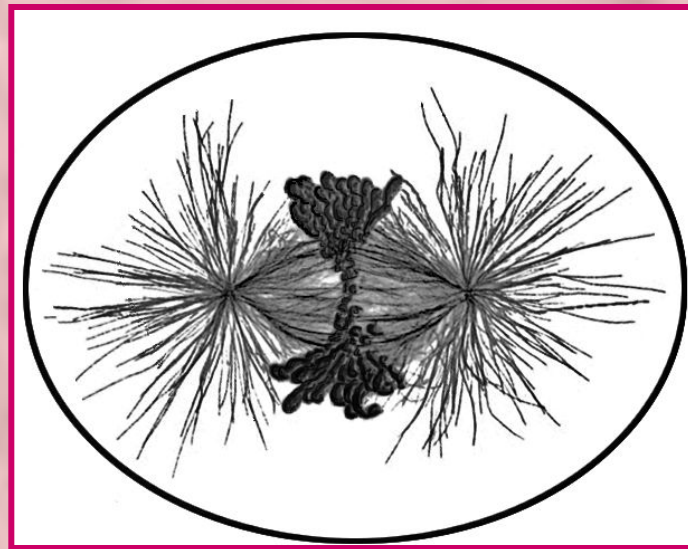


ЦИТОЛОГИЯ (БИОЛОГИЯ КЛЕТКИ)



Профессор Анисимов Алим Петрович
Кафедра клеточной биологии и генетики ШЕН ДВФУ

ТЕМА 1.

ПРЕДМЕТ И МЕТОДЫ КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ

§ 1. БИОЛОГИЯ КЛЕТКИ – ЕЁ ЗАДАЧИ И МЕСТО СРЕДИ ДРУГИХ НАУК

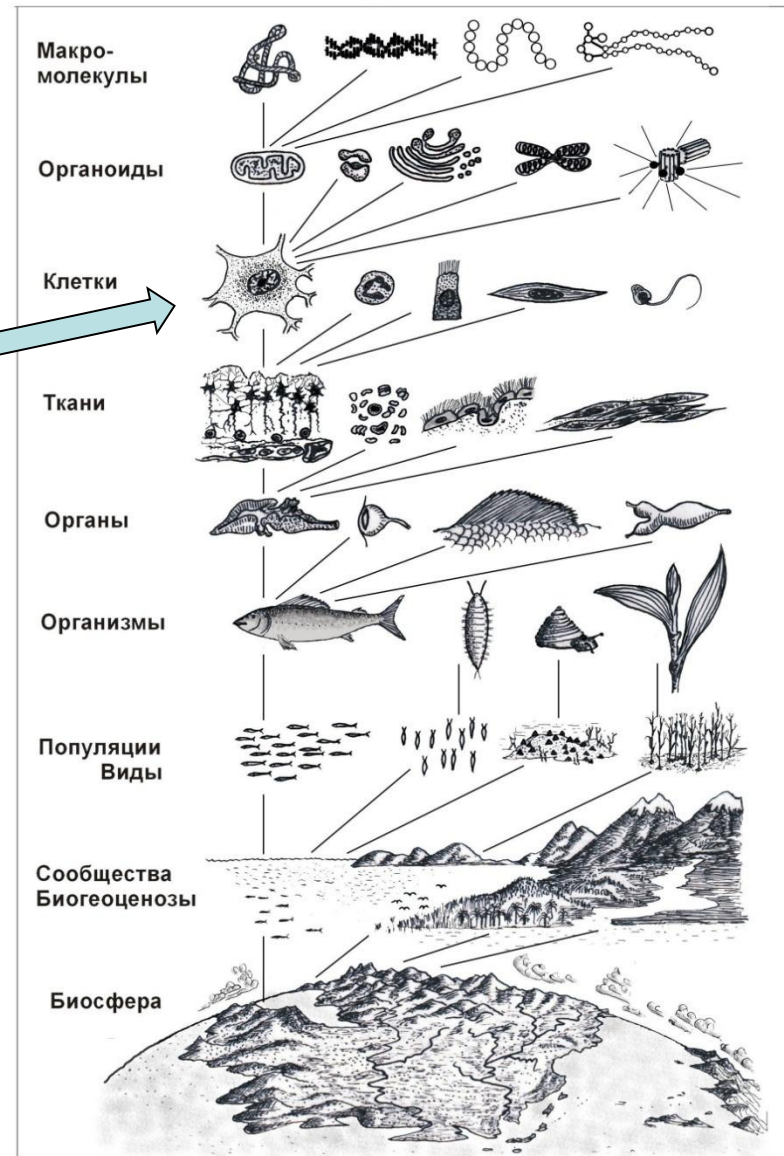
**1.1. Биология клетки (cell biology)
= Цитология (cytology)
= Наука о клетке.**

Предмет изучения цитологии – клетка
как элементарный уровень
организации жизни.

В соответствии с Общей теорией систем живая материя представляет собой иерархию уровней организации. Клеточный уровень – ключевой, т.к. клетка это наименьшая и полноценная (элементарная) живая система, ей присущи все свойства жизни:

- Обмен веществ и энергии,
- Чувствительность, реактивность, подвижность,
- Саморегуляция и адаптивность,
- Размножение и функциональная специализация,
- Наследственность и изменчивость,
- Способность к самостоятельному существованию и эволюции (одноклеточные организмы).

**Т.о., биология клетки (цитология) –
наука об основах жизни.**



1.2. Современные проблемы и задачи клеточной биологии

1. Общие и сравнительные аспекты строения и функционирования клеток (морфология и физиология клетки).
2. Механизмы взаимодействия органоидов и интеграции клеточных функций.
3. Межклеточные взаимодействия в исполнении тканевых функций (в частности, при организации иммунного ответа).
4. Механизмы управления клеточным размножением и тканевой дифференцировкой (биология стволовых клеток, клеточная рецепция, сигналинг, регуляция генов, апоптоз, клеточные биотехнологии).
5. Патология клеток как элементарное проявление патологии организма (в частности, некроз, опухолевая трансформация, биомедицина).
6. Клеточные механизмы биоадаптаций (цитозэкология).
7. Происхождение и эволюция клеток (в частности, происхождение жизни на Земле, филогения прокариот и эукариот, теория эволюции).

1.3. Отношение к другим наукам

Цитология развивается благодаря тесным связям с новыми науками, изучающими субклеточный уровень:

- **биохимия и молекулярная биология,**
- **молекулярная генетика,**
- **иммунохимия и иммуногенетика,**
- **биофизика и пр.**

С другой стороны, цитология сама служит основой развития наук, изучающих более высокие уровни организации жизни:

- **гистология, иммунология и пр.,**
- **биология развития, эмбриология,**
- **морфология и физиология,**
- **онкология, общая патология и пр.**

Т.о., биология клетки (общая цитология) – синтетическая и фундаментальная наука, использует и обобщает знания смежных наук применительно к клеточному уровню организации жизни.

Значение цитологии для общей биологии, медицины, биотехнологии.



§ 2. МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ КЛЕТКИ

Различать (1) методики и (2) методы как методологию.

2.1. Методики

– технологические приемы исследования клеток, их органелл и молекул (приборы, прописи, протоколы).

1. Световая микроскопия в разных видах:

- в проходящем и отраженном свете,
- темное поле, фазовый контраст,
- поляризация света,
- флуоресценция,
- сканирующая лазерная (конфокальная) микроскопия и пр.

Увеличение = до 1 тыс.

**Разрешающая способность =
= до 0,5-0,1 мкм.**



2. Электронная микроскопия:

- трансмиссионная, в проходящем сквозь срез потоке электронов;
- сканирующая, в отраженных от поверхностей электронных «лучах».

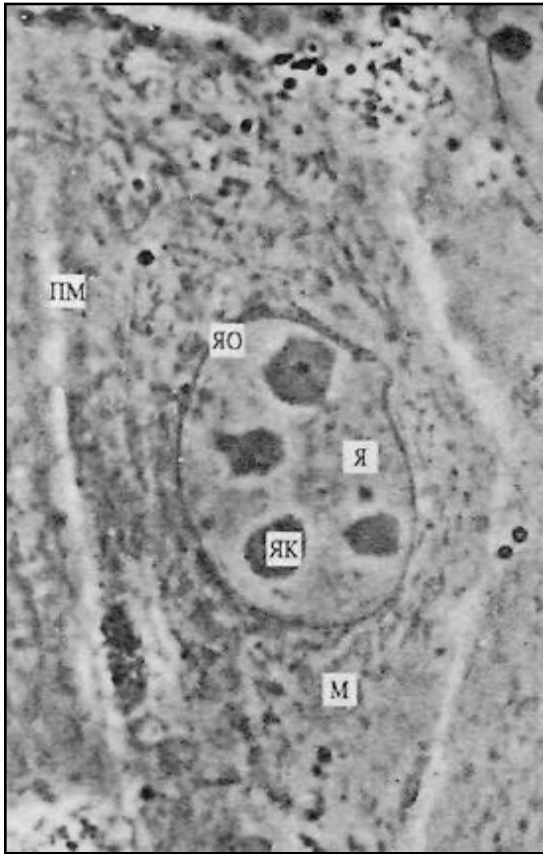
Увеличение = до 100 тыс. и более.

Разрешающая способность = до 0,5-0,1 нм.



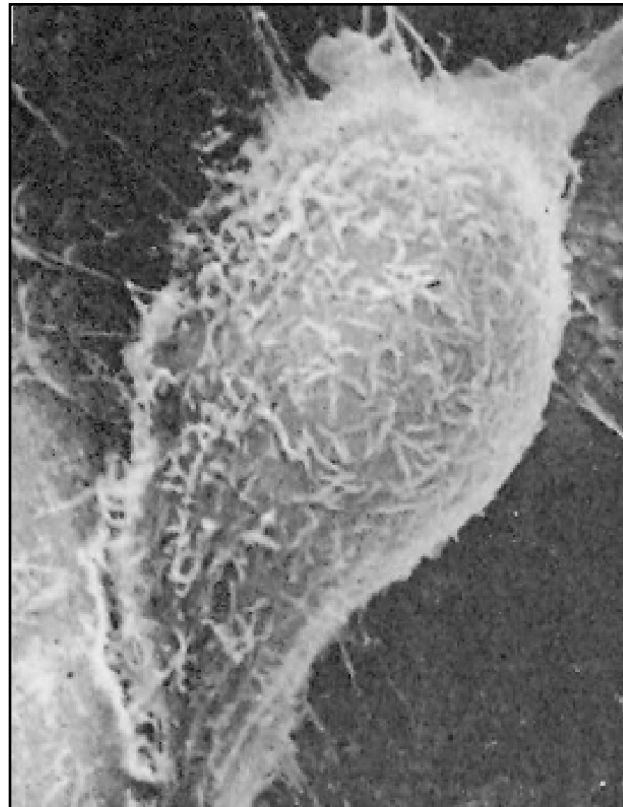
Световая микроскопия

Живая клетка
(фазовый контраст без окраски, максимальное увеличение).

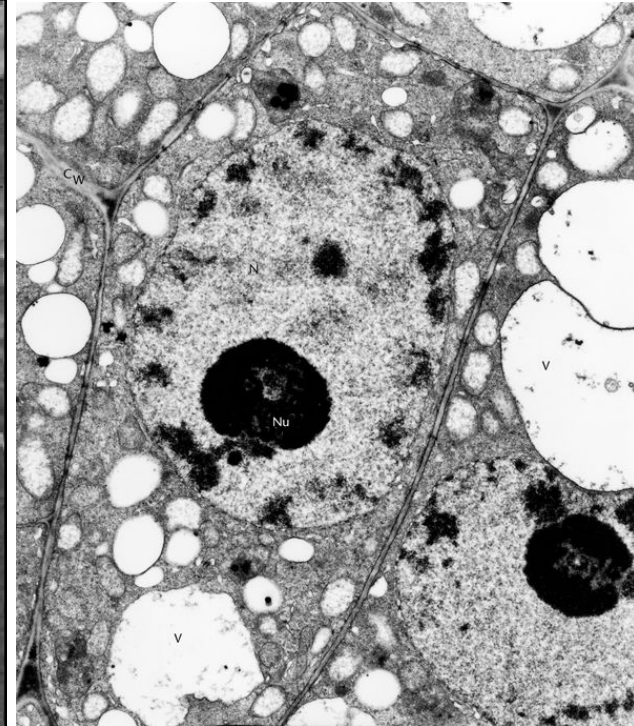


Электронная микроскопия

Сканирующий
микроскоп -
вид клетки с
поверхности.



Трансмиссионный
микроскоп –
ультратонкий срез
через середину клетки
(минимальное увеличение).



3. Сорбционная цитохимия:

- окраски и аналитические реакции на различные органоиды и вещества клетки (ДНК, РНК, суммарные белки, ферменты, аминокислоты, липиды, полисахариды ...).

4. Иммуноцитохимия:

- выявление индивидуальных белков с помощью специфических антител методом флуоресцентной (в т.ч. лазерной) микроскопии.

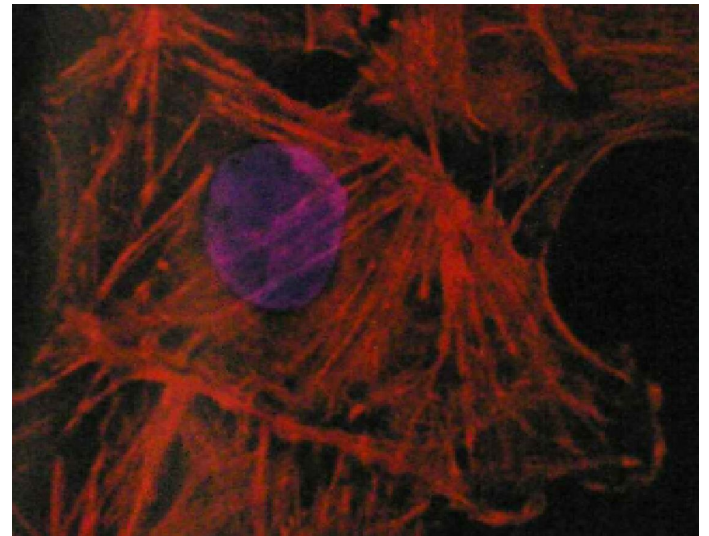
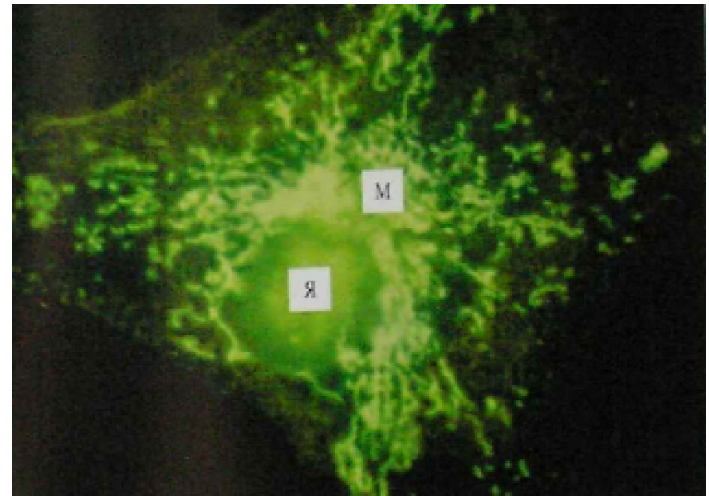
5. Гибридизация ДНК (РНК) in situ:

- выявление определенных генов (ДНК), либо продуктов их экспрессии (РНК) небольшими олигонуклеотидными зондами.

6. Цитометрия:

- графическое и фотометрическое измерение клеток, их частей, содержания веществ, активности синтезов и др. цитохимических параметров, выявляемых методами (3, 4, 5).

В т.ч. компьютерный анализ изображений, проточная цитофлуорометрия.

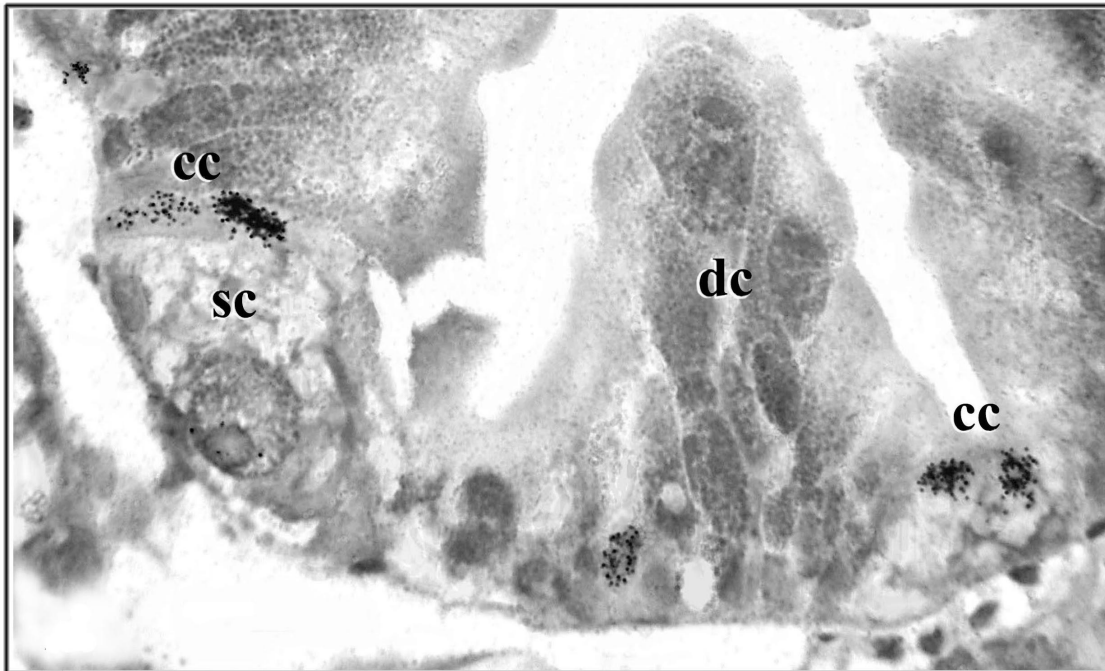
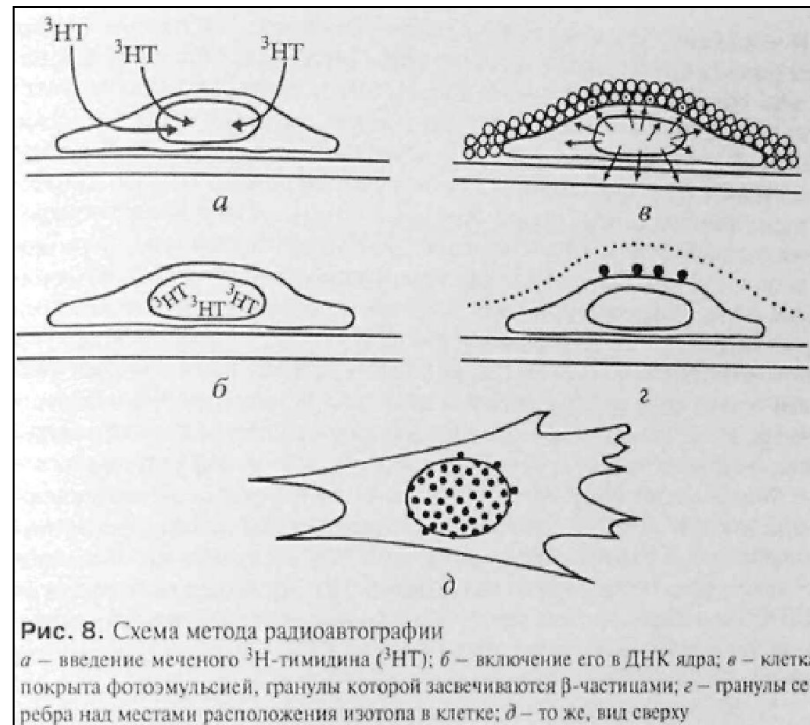


7. Авторадиография (метод меченых атомов):

- выявление места и скорости синтеза веществ (РНК, белков и др.), их накопления и перемещения в клетке по включению мономеров (нуклеотидов, аминокислот и др.), меченных радиоактивными изотопами ^3H , ^{14}C и др.

- особая роль ^3H -тимидина = включается в хромосомы при синтезе ДНК, позволяет оценивать скорость деления и перемещение клеток в тканях и органах.

В последнее время используются и другие (цитохимические) маркеры синтеза ДНК.

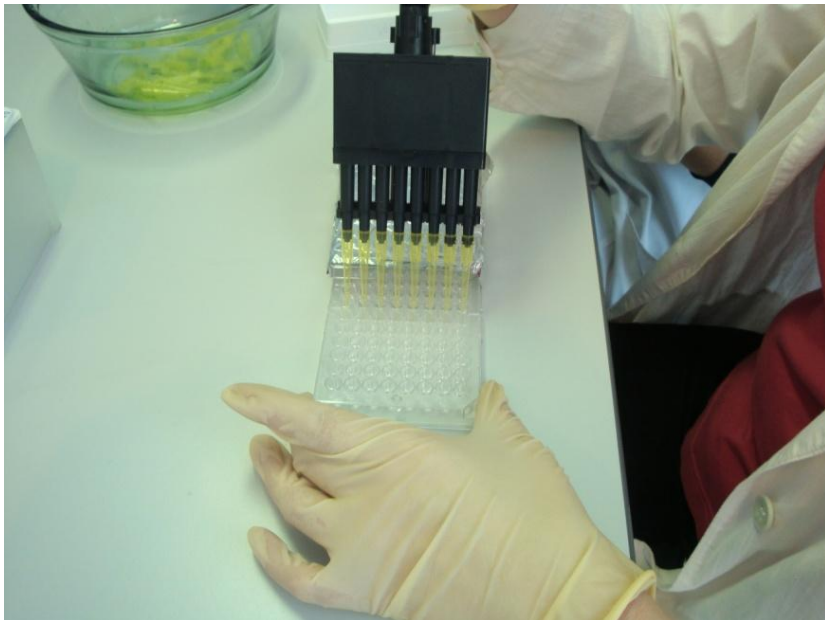


Радиоавтограф клеток
пищеварительной железы
улитки, меченных ^3H -
тимидином.

Помечены ядра клеток,
в которых происходит

8. Биохимические и молекулярно-генетические методы в цитологии:

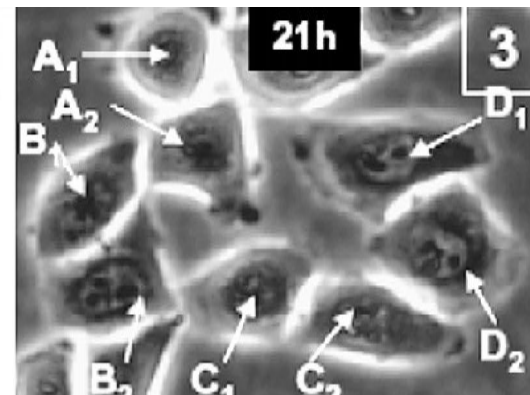
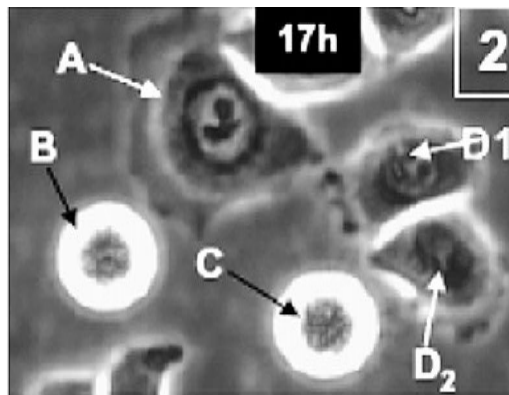
- фракционирование клеточных органелл и молекул методом дифференциального центрифугирования (в сочетании с электронной микроскопией);
- хроматография;
- электрофорез;
- рестрикция ДНК (генов);
- гибридизация молекул и пр.



9. Цитофизиологические методы

(на живых клетках):

- регистрация электрических потенциалов;
- витальное (прижизненное) окрашивание;
- оценка вязкости, светорассеяния и светопреломления цитоплазмы;
- оценка клеточного дыхания (потребления O₂);
- оценка подвижности ресничек и жгутиков;
- видеосъемка клеточных движений, деления, слияния и т.п.



10. Культивирование клеток in vitro:

- цитофизиологические оценки;
- производство вакцин и других БАВ;
- размножение и дифференцировка стволовых клеток, клеточные биотехнологии;
- слияние (гибридизация) клеток.



2.2. Метод как методология

- общий подход, принцип, логика исследования.

В цитологии, как и в других биологических науках, используются универсальные методы (принципы) познания:

1. Описательный метод, или наблюдение:

- Изучение структуры и функций клеток различными методиками в нормальном состоянии, на удобных (модельных) объектах: клетки поджелудочной железы, печени, нейроны, культуральные клеточные линии.

Исходят из представления о тождестве (универсализме) основных структур и органелл и их комбинаторике у различных клеток (концепция универсальных блоков).

2. Экспериментальный метод, или опыт:

- Изучение функциональной организации клеток путем изменения их состояния внешним воздействием, т.е. в экстремальных условиях, отличных от нормы: блокирующие или стимулирующие воздействия (токсины, антибиотики, гормоны); агенты комплексного действия (тепло, давление, pH); трансплантация клеток, ядер, генов; гибридизация.

Выявляются потенциальные свойства клеток, физиологические механизмы адаптаций.

3. Сравнительный, или исторический, метод:

- Сравнение по принципу гомологии позволяет устанавливать эволюционную (историческую) преемственность, филогенетическое родство клеток и их органелл: про-, мезо- и эукариоты; протисты, растения, грибы животные; сравнительная кариология, эволюция митоза.

- Сравнение по принципу функциональной аналогии (сопоставление клеток одной и той же специализации у разных организмов) раскрывает общие закономерности клеточной организации, общие механизмы функционирования, параллелизмы и конвергенции.

4. Математическое моделирование:

- На основе вариационной статистики клеточных структур и процессов возможно построение вероятностной модели поведения, развития, старения и адаптивной перестройки клеток: например, прогноз размножения, дифференцировки и опухолевой трансформации клеток в культуре при изменениях среды и условий культивирования.

5. Синергетический подход:

- На основе законов синергетики – науки и самоорганизационных процессах - раскрываются универсальные для всех клеток механизмы сборки-разборки макромолекул и органелл, динамика формирования отростков и другие клеточные процессы, не требующие непосредственного генетического или внешнего (эпигенетического) управления.
Возможно математическое (на основе фрактальной геометрии) описание и сравнение морфогенетических процессов у разных клеток, на разных стадиях развития организма.

6. Анализ и синтез:

- Общий принцип системного двухстадийного изучения сложных объектов:
 - 1) разложении целого на части, детализация частей (аналитический этап);
 - 2) интеграция полученных знаний для понимания объекта как целого (синтетический этап).

В цитологии XX века преобладал аналитический подход (электронномикроскопическая ультраструктурная морфология, молекулярная биология клетки, молекулярная генетика, иммуноцитохимия). Современная задача – интегрировать, синтезировать эти знания в единое учение о клеточной системе, понять механизмы взаимодействия внутриклеточных структур, макромолекул, генов, а также механизмы межклеточных взаимодействий и управления ими в развитии многоклеточного организма.

Эту задачу решает современная синтетическая наука – биология клетки, или общая цитология.