

Программа спецкурса «Ультраструктурная организация клетки»

I. Организационно-методический раздел.

1.1. «Ультраструктурная организация клетки». Данный курс реализуется в рамках обучения по специальностям «молекулярная биология», «биохимия», «биоорганическая химия», «молекулярная генетика», «клеточная биология, цитология и гистология».

1.2. Цели и задачи курса.

Дисциплина «Ультраструктурная организация клетки» предназначена для обучения студентов и аспирантов биологов и химиков современным представлениям об ультраструктурной организации клетки и ее функциональных систем, а также методах их изучения. Курс базируется на знаниях, полученных студентами при изучении органической химии, биохимии, цитологии и молекулярной биологии.

Основной целью освоения дисциплины является ознакомление с современными методами исследования строения и функций клетки, структурным базисом клеточного метаболизма, пространственной организацией и особенностями функционирования клеточных структур; приобретение студентами навыков чтения электронограмм, идентификации клеточных структур и оценки функционального состояния клетки, получение представлений об адекватном выборе методов исследования клеток.

Для достижения поставленной цели выделяются задачи курса:

- 1.2.1. Знакомство с современными методами исследования структуры клетки и их возможностями для правильного их использования в молекулярно-биологических экспериментах.
- 1.2.2. Изучение ультраструктурного строения клетки, соотнесение цитологических структур с макромолекулярными ансамблями клетки и их функционированием.
- 1.2.3. Изучение структурной основы цитофизиологических процессов, их визуализации с помощью электронной микроскопии и флуоресцентных меток.
- 1.2.4. Обучение студентов чтению и расшифровке электронограмм и идентификации клеточных структур.

1.3. Требования к уровню освоения содержания курса (дисциплины).

По окончании изучения указанной дисциплины студент должен:

- **иметь представление** о современных методах изучения структуры и функций клетки, их возможностях и ограничениях при использовании в молекулярно-биологических исследованиях;
- **знать** строение клетки и макромолекулярные основы ее функций;
- **уметь** идентифицировать клеточные структуры по их электронно-микроскопическому изображению и оценивать их функциональное состояние, дать цитологическое описание клетки.

1.4. Формы контроля

Итоговый контроль. Для контроля усвоения дисциплины учебным планом предусмотрен дифференциальный зачет.

Текущий контроль. Тестирование навыков студентов по идентификации клеточных структур и расшифровке электронограмм.

2. Содержание дисциплины.

2.1. Данный курс предназначен для получения системных представлений о строении и функциях клетки студентами и аспирантами. Клетки являются одним из основных объ-

ектов молекулярно-биологических исследований, и знание структурных основ функционирования клетки и ее органоидов необходимо для правильного планирования экспериментов и адекватной оценки полученных результатов. Особенностью данного курса является многоуровневый анализ структурной организации клетки, даются представления о связи макромолекулярной организации клеточных структур с их цитологическими характеристиками; структурных вариантах функционального состояния и особенностях строения разных типов клеток *in vitro* и *in vivo*. В отличие от традиционных курсов цитологии, студенты и аспиранты приобретают практические навыки чтения и расшифровки электронограмм, анализа функционального состояния клеток по их цитологическим характеристикам. Курс «Ультраструктурная организация клетки» является составной частью обучения студентов и аспирантов по специальностям «молекулярная биология», «биохимия», «биоорганическая химия», «молекулярная генетика», «клеточная биология, цитология и гистология», дополняя и расширяя их знания о структурной организации живой материи.

2.2. Тематический план курса (распределение часов).

Наименование разделов и тем	Количество часов				
	Лекции	Семинары	Лабораторные работы	Самостоятельная работа	Всего часов
Микроскопические методы исследования структуры клеток и тканей.					
Клетка. Биомембраны. Структурная организация и основные функции.					
Структурная основа синтеза белка и строение рибосом. Транспорт макромолекул в клетке.					
Клеточные органоиды. Плазмалемма. Цитоскелет. Митохондрии. Системы деградации белков.					
Ядро. Строение и его изменения в ходе жизнедеятельности клетки.					
Пути интернализации макромолекул клеткой.					
Организация клеток в системы. Ткани.					
Итого по курсу:					

2.3. Содержание отдельных разделов и тем.

2.3.1. Световая микроскопия. Витальная, поляризационная, фазово-контрастная и интерференционная микроскопия. Микроскопия в ультрафиолетовом свете. Конфокальная микроскопия. Основные принципы приготовления препаратов животных клеток и тканей для светооптического исследования.

Электронный микроскоп. Принципы работы. Трансмиссионная и сканирующая (растровая) микроскопия. Пределы разрешения. Требования к образцам для электронно-микроскопического исследования. Анализ химического состава материалов с помощью электронной микроскопии: рентгеновская спектрометрия; анализатор энергии.

Электронная микроскопия в биологии. Особенности биологических объектов, определяющие характер подготовки материала для электронно-микроскопического исследования. Сохранение структуры с помощью стабилизации химических связей (фиксация). Соблюдение требования оптимальной толщины. Опорные пленки. Ультратонкие срезы. Способы повышения контраста изображения (контрастирование солями тяжелых металлов, напыление). Изучение макромолекул методом напыления (оттенения) металлами (платина, палладий, золото). Недостатки метода.

Метод негативного контрастирования. Области применения (быстрая диагностика (идентификация) вирусов, изучение вирусных суспензий, определение концентрации вирионов в суспензии (физический титр). Индикация бактериальных клеток. Достоинства и недостатки метода. Основные этапы исследования методом негативного контрастирования.

Метод криофрактографии (криоскальвание). Метод ультратонких срезов и его возможности. Области применения. Приготовление ультратонких и полутонких срезов. Ультрамикротомы. Подготовка материала для изучения методом ультратонких срезов. Фиксация. Постфиксация. Обезвоживание. Заливочные среды. Контрастирование ультратонких срезов. Криоультрамикротомия. Авторадиография

2.3.2. Клетка. Химический состав. Вода, неорганические и мелкие органические молекулы. Типы мелких молекул: строительный материал, источник энергии; регуляторные молекулы (гормоны). Белки. Содержание и функции в клетке. Микроскопические методы изучения структуры белков.

2.3.3. Биомембраны. Структурная организация и основные функции. Фосфолипидный бислой. Замкнутые сферические структуры. Липосомы. Перенос молекул через фосфолипидный бислой.

Мембраны клеток. Электронно-микроскопическое строение клеточных мембран. Асимметрия мембран и пространства, которое они ограничивают. Температурная подвижность молекул в мембранах. Текучесть мембран. Роль холестерина. Структура мембран при замораживании-скальвании. Типы белков в мембранах клетки. Интегральные белки. Периферические белки. Порины. Перемещение белков в мембране.

Функции плазматической мембраны. Защитная. Транспортная. Поддержание ионного состава клетки, осмоса и кислотности. Связь с цитоскелетом. Взаимодействие с внеклеточными молекулами, передача сигналов.

Типы транспорта через мембрану клетки. Пассивная диффузия мелких молекул. Канальцы (поры). Белки-переносчики. Три типа переносчиков: *uniporters*, *antiporters* и *symporters (cotransporters)*. АТФ-зависимый активный транспорт.

Ионная асимметрия. Натрий и калий, их роль в поддержании ионного состава среды. Механизмы селекции ионов. Na^+/K^+ -АТФаза. Цикл работы Na / K -АТФазы. Регуляция активности Na / K -АТФазы в клетке. Роль Ca и Mg в клетке. Кальциевый насос - система кальциевых АТФаз. Работа кальциевого насоса. Повреждения кальциевого насоса.

2.3.4. Синтез белка и строение рибосом (про- и эукариоты). ЭПР. Строение ЭПР. Шероховатый и гладкий ЭПР. Варианты цитологического строения ЭПР при изменениях функционального состояния клетки. Роль ЭПР в клетке.

2.3.5. Транспорт молекул в клетке.

Перенос макромолекул с помощью пузырьков. Почкование пузырьков и «покрывные» белки. Типы «опушенных» пузырьков. Клатриновые пузырьки, молекулярные механизмы их образования. Слияние пузырьков с целевой мембраной. Слияние мембран. Транспортные потоки в клетке, их направленность. Сортировка белков.

Аппарат Гольджи. Строение и функции. Обработка белков в аппарате Гольджи. Метаболизм липидов и полисахаридов в аппарате Гольджи. Экспорт белков из аппарата Гольджи. Сортировка белков. Секреция. Регулируемая и нерегулируемая секреция. Секреция в эпителиальных клетках. Избирательность транспорта макромолекул.

2.3.6. Системы деградации мембранных и немембранных белков клетки. Лизосомы. Строение и функции. Эндоцитоз, фагоцитоз и их связь с лизосомами. Аутофагия. Аутофагосомы. Лизосомы и патология клетки.

Интернализация макромолекул клеткой. Стадии рецептивного эндоцитоза. Эндосомы. Вирусы и рецептивный эндоцитоз. Липидные рафты. Кавеолы. Эндоцитоз посредством липидных рафтов.

2.3.7. Плазмалемма и ее производные. Межклеточные контакты. Гликокаликс, его функции. Внеклеточный матрикс. Клеточная стенка (оболочка). Клеточная стенка бактерий, ее строение. Грам-положительные и Грам-отрицательные микроорганизмы. Строение клеточной стенки растительных клеток. Транзитная связь и прочные соединения клеток. Типы связи. Адгезия клеток. Селективность адгезии, роль трансмембранных протеинов.

Простой контакт. Интердигитация. Зона слияния (adherens junction). Замыкающие комплексы. Десмосомы. Щелевидный контакт (Gap junction). Роль кадгеринов в формировании межклеточных контактов.

2.3.8. Цитоскелет. Движение клетки.

Строение цитоскелета и функции его компонентов. Микрофиламенты, микротрубочки и промежуточные филаменты. Их состав и строение. Актин, его перестройки в клетке и изменения молекулярной структуры. Соединения, воздействующие на полимеризацию актина. Варианты организации пучков актиновых филаментов.

Выросты клеточной поверхности. Микроворсинки. Псевдоподии, филлоподии и ламеллоподии. Выросты клеточной поверхности, формирующиеся в ответ на внешние стимулы.

Микротрубочки. Состав, строение и функции. Система микротрубочек, центры, организующие микротрубочки. Вещества, воздействующие на сборку микротрубочек. Центросомы (центриоли). Их строение.

Реснички и жгутики. Строение, функции. Первичная ресничка и ее сенсорная роль.

2.3.9. Энергетическое обеспечение клетки. Митохондрии, хлоропласты, пероксисомы. Их отличия от других органоидов клетки.

Строение митохондрий. Теории происхождения митохондрий. Автономная система синтеза белка. Геном митохондрий. Импорт белков в митохондрии. Окислительное фосфорилирование. Цепь переноса электронов, ее структура. Образование АТФ. Теория хемиосмотического сопряжения.

Хлоропласты. Строение и пространственная организация системы фотосинтеза. Другие пластиды, их строение и функции.

Пероксисомы. Структура и функции.

2.3.10. Ядро. Ядерная мембрана, внутренняя и внешняя. Связь с ЭПР. Поровые комплексы ядра, их структура. Транспорт молекул через ядерную оболочку. Пространственная организация ядра. Эухроматин и гетерохроматин. Ядерный матрикс. Метод гибридизации *in situ*.

Ядрышко. Строение и функции.

Хромосомы и хроматин. Нуклеосома и хроматосома, их строение. Нити ДНК. Конденсация хроматина. Митотические хромосомы. Центромеры. Теломеры. Дифференциальная окраска хромосом.

Клеточный цикл. Стадии клеточного цикла. Митоз. Микроскопические изменения ядра в ходе митоза. Фазы митоза. Формирование нового ядра. Апоптоз. Морфологические характеристики апоптоза и его роль в эмбриогенезе и онтогенезе. Некроз.

2.3.11. Организация клеток в системы. Многоклеточные организмы. Специализация клеток. Основные типы тканей организма.

3.1. **Образцы вопросов для подготовки к экзамену** – билеты формируются по следующему принципу:

1. методы микроскопических исследований
2. цитологическое строение клетки, его изменения в различных функциональных состояниях.
3. составление цитологического описания одной клетки по предложенной электронограмме
4. чтение и расшифровка 5 электронограмм

3.2. Список основной и дополнительной литературы

1. Алберте Б., Брей Д., Льюис Дж. И др. Молекулярная биология клетки. Пред Георгиева Г.П. и Ченцова Ю.С. т. 1-3. М., Мир. 1994. С. 518, 544 и 504.
2. Билич Г.Л., Катинас Г.С., Назарова Л.В. Цитология. С.-П., “Деан”. 1999. 110с.
3. Кольман Я., Рём .Г. Наглядная биохимия. М. «Мир». 2000. С. 468.
4. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. – М. Мир. – 1985. – 324с.
5. Ченцов Ю.С. Общая цитология. М. Изд-во МГУ. 1984. С.350.