

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

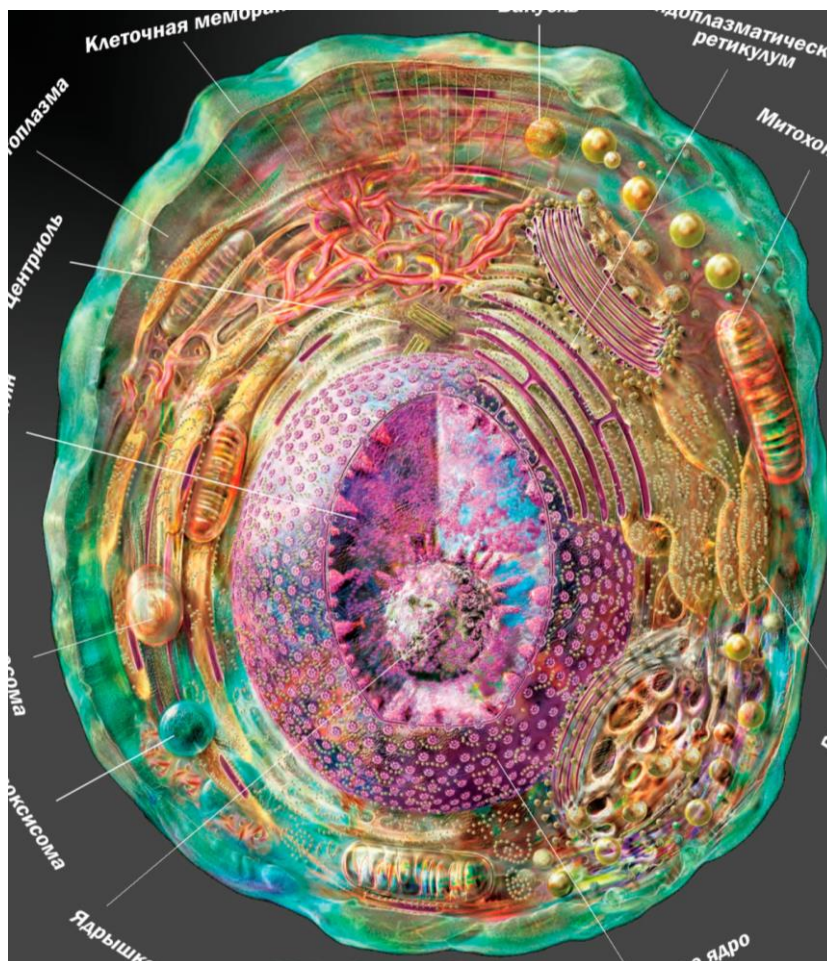
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**Факультет технології виробництва і переробки продукції
тваринництва, стандартизації та біотехнології**

Кафедра генетики, годівлі тварин та біотехнології

БІОЛОГІЯ КЛІТИНИ

**конспект лекцій для здобувачів вищої освіти СВО «Бакалавр»
освітньої спеціальності 162 – «Біотехнології та біоінженерія»**



**Миколаїв
2020**

УДК 573.6
Б 63

Рекомендовано до друку рішенням науково-методичної комісії факультету технології виробництва і переробки продукції тваринництва, стандартизації та біотехнології Миколаївського національного аграрного університету від «24» березня 2020 р., протокол № 8.

Укладач:

С. І. Луговий - д-р с.-г. наук, доцент, доцент кафедри генетики, годівлі тварин та біотехнології, Миколаївський національний аграрний університет

Рецензенти:

М. С. Козій - д-р біол. наук, доцент, професор кафедри медичної біології та фізики, мікробіології, гістології, фізіології та патофізіології Чорноморського національного університету імені Петра Могили;

С. С. Крамаренко - д-р біол. наук, професор, професор кафедри генетики, годівлі тварин та біотехнології, Миколаївський національний аграрний університет.

ЗМІСТ

Вступ	4
Біологія клітини як наука	5
Методи клітинної біології	12
Хімічний склад і фізико-хімічні властивості протоплазми клітин	23
Поверхневий апарат клітини	29
Цитоплазма, органоїди та включення	39
Система збереження, відтворення і реалізації генетичної інформації	58
Обмін речовин і перетворення енергії в клітині	66
Потік інформації в клітині	70
Клітинна сигналізація	80
Життєвий цикл еукаріотичної клітини	87
Загибель клітин	96
Список використаної літератури	102

ВСТУП

Біологія клітини – це розділ біології, що вивчає структурно-функціональну організацію прокаріотичних та еукаріотичних клітин, молекулярні механізми регуляції клітинних функцій, взаємодію ядерного і пластидного геномів, природи та передачі сигналів, які визначають онтогенез клітин і формування міжклітинних зв'язків, репродукцію, диференціювання та старіння клітин *in vivo* та *in vitro* в нормі й патогенезі.

Дана дисципліна є нормативною при підготовці здобувачів вищої освіти початкового РВО, СВО «Молодший бакалавр» та 1-го РВО, СВО: «Бакалавр», освітньої спеціальності 162 – «Біотехнології та біоінженерія» (спеціалізація «Сільськогосподарська біотехнологія»).

Опанування даної дисципліни дає можливість здобувачам сформувати теоретичну базу сучасної біотехнології, генетики, генетичної інженерії, а також інтегрувати знання у галузі молекулярно-біологічних процесів до рівня фізіологічних явищ і еволюції.

Дисципліна «Біологія клітини» виступає теоретичною основою для опанування дисциплін «Загальна та молекулярна генетика», «Основи молекулярної біології», «Загальна мікробіологія і вірусологія» та ін. і ґрунтується на знанні теоретичних основ з дисциплін шкільного курсу «Біологія», «Фізика», «Хімія».

БІОЛОГІЯ КЛІТИНИ ЯК НАУКА (CELL BIOLOGY AS A SCIENCE)

1. Предмет науки «Біологія клітини»

2. Історичні віхи становлення біології клітини як науки

3. Клітинна теорія

1. Предмет та завдання науки «Біологія клітини»

Цитологія (від грец. *cytos* – осередок, клітина) – наука про клітину, в сучасному звучанні – біологія клітини – наука досить молода. Вперше узагальнені відомості про будову клітин були зібрані в книзі Ж.-Б. Карнуа «Біологія клітини», що вийшла в 1884 р. В ній вперше було застосовано і сам термін «Біологія клітини».

За останні 70 років відбувся значний розвиток біологічної науки: гігантський крок вперед зробили молекулярна біологія і молекулярна генетика, клітинна та молекулярна інженерія. Різке розширення інтересів дослідників та розвиток багатьох принципово нових методичних підходів привели до накопичення за останні роки безлічі нових фактів і уявлень, що стосуються практично всіх аспектів біології клітини, як у вивченні її будови, так і в молекулярній та генетичній її організації.

Це призвело до того, що цитологія з описово-морфологічної перетворилася в експериментальну науку, яка ставить перед собою завдання вивчення фізіології клітини, її основних життєвих функцій і властивостей, її біології. Тому чисто структурні, «цитологічні» за поданням деяких авторів, рівні вивчення клітини як такої вже просто неможливі хоча б тому, що неможливо відокремити структуру від функції.

Іншими словами, сучасна цитологія – це фізіологія клітини. Можливість такого перемикання інтересів дослідників виникла в зв'язку з тим, що цитологія тісно пов'язана з науковими та методичними досягненнями біохімії, біофізики, молекулярної біології і генетики. Це послужило підставою для поглибленого

вивчення клітини як такої, для вивчення її загальних властивостей і функціонування вже з позицій цих наук, що і дало підставу для появи певної синтетичної науки про клітину, а саме **біології клітини**, або, як частіше називають, **клітинної біології**.

У цій науці плідно поєднуються як морфологічні, так і молекулярно-біологічні підходи; це дозволяє в даний час вважати, що терміни «цитологія» і «біологія клітини» збігаються, оскільки предметом їх вивчення є клітина, що має свої власні закономірності організації і функціонування.

На сучасному етапі розвитку біологія клітини вивчає:

- структуру та функціонування клітинних структур;
- хімічний склад клітин;
- способи проникнення речовин у клітину і виведення їх з неї, роль мембран у цих процесах;
- реакції клітин на нервові та гуморальні стимули макроорганізму та стимули навколишнього середовища;
- реакції клітин на вплив різних пошкоджень;
- адаптації клітин до факторів середовища та пошкоджувальних агентів;
- репродукція клітин і клітинних структур;
- взаємозв'язки клітин з вірусами;
- перетворення нормальних клітин в ракові.

2. Історичні віхи становлення біології клітини як науки

Відкриття та успіхи у вивченні клітини тісно пов'язані з винаходом мікроскопа і подальшим удосконаленням мікроскопічної техніки.

Першим виявив клітини англійський фізик Роберт Гук у 1665 р. Він розглядав під мікроскопом зрізи кори пробкового дуба і помітив, що вона складається з окремих комірок, які він назвав *клітинами* (лат. *cellula*). Р. Гук вважав, що клітини – це пустоти або пори між волокнами рослин. Пізніше М. Мальпігі (1671-1675), Н. Грю (1671), Ф. Фонтана (1671), спостерігаючи

рослинні об'єкти під мікроскопом, підтвердили дані Р. Гука, назвавши клітини «міхурцями» й «пухирцями».

Значний внесок у розвиток мікроскопічних досліджень рослинних і тваринних організмів зробив А. Левенгук (1632-1723). Він відкрив світ одноклітинних організмів та вперше побачив клітини тварин (еритроцити). Дані своїх спостережень він опублікував у книзі «Таємниці природи» (1695). Ілюстрації до цієї книги чітко демонструють клітинні структури рослинних і тваринних організмів.

Однак А. Левенгук не уявляв собі описані морфологічні структури як клітинні утворення. Його дослідження мали випадковий, не систематизований характер.

Упродовж XVII-XVIII століть та в першій половині XIX ст. було накопичено численні розрізнені відомості про клітинну будову рослинних і тваринних організмів.

Г. Лінк (1804) і Г. Травенаріус (1805) своїми дослідженнями показали, що клітини – це не пустоти, а самостійні обмежені стінками утворення.

Я. Пуркінєс (1830) встановив, що основною складовою частиною клітин є протоплазма. Р. Браун (1833) описав ядро, як постійний компонент клітин.

Найвагоміший внесок у розвиток цитології в першій половині XIX ст. зробили представники наукових шкіл, які очолювали Я. Пуркінєс (1787-1869) та І. Мюллер (1801-1858). Учень І. Мюллера Т. Шванн (1810-1882) проаналізував дані літератури про клітинну будову рослин і тварин, зіставив їх з власними дослідженнями і опублікував результати в праці «Мікроскопічні дослідження про відповідність у структурі та рості тварин і рослин» (1839). У ній Т. Шванн показав, що клітини є елементарними живими структурними одиницями рослинних і тваринних організмів. Вони мають загальний план будови і виникають єдиним шляхом. Ці тези стали основою *клітинної теорії*, яка до цього часу є одним із найвизначніших відкриттів у біології. Клітинна теорія докорінно вплинула на розвиток біології. Вона довела єдність живої природи і показала структурну одиницю цієї єдності, якою є клітина.

Значний вплив на розвиток клітинної теорії мали роботи німецького лікаря Рудольфа Вірхова. У 1855 році він переконливо довів, що клітини є постійними структурами і виникають тільки шляхом розмноження собі подібних. На думку Вірхова, «будь-яка клітина походить від іншої клітини. Там, де виникає клітина, їй повинна передувати клітина, подібно до того, як тварина походить тільки від тварини, рослина – тільки від рослини». Р. Вірхов спростував хибні уявлення Т. Шванна про утворення клітин з безструктурної речовини і обґрунтував одне з ключових положень клітинної теорії, сформульоване ним у короткому виразному вислові: «кожна клітина з клітини» (*omnis cellula e cellula*).

Суттєвим внеском у розвиток клітинної теорії було відкриття К. Бером яйцеклітини ссавців і зроблений ним висновок про те, що всі багатоклітинні організми починають свій розвиток з однієї клітини – зиготи. Тим самим К. Бер вперше обґрунтував положення, згідно з яким клітина є не тільки одиницею будови, але і одиницею розвитку всіх живих організмів.

Інтенсивний розвиток цитології в XIX і XX століттях підтвердив основні положення клітинної теорії і збагатив її новими даними про будову та функції клітин. У цей період було відкинуто окремі неправильні тези клітинної теорії Т. Шванна, а саме, що окрема клітина багатоклітинного організму може функціонувати самостійно, що багатоклітинний організм є простою сукупністю клітин, а розвиток клітин відбувається з неклітинної «бластеми». Наукові дані, отримані цитологами, ембріологами та фізіологами, показали, що клітини багатоклітинних організмів є його складниками, вони мають загальні принципи будови, проте вони не однакові, а різні. Їх різноманітність обумовлена специфікою виконуваних ними функцій. Життєдіяльність окремої клітини багатоклітинного організму за його межами неможлива, оскільки діяльність окремих клітин та їхніх угруповань підпорядкована єдиному цілому. Було встановлено, що клітини розмножуються шляхом поділу.

3. Клітинна теорія

У сучасному вигляді клітинна теорія включає такі основні положення:

1. Клітина є найменшою одиницею живого, якій притаманні всі властивості, що відповідають визначенню «живого». Це обмін речовин і енергії, рух, ріст, подразливість, адаптація, мінливість, репродукція, старіння і смерть. Усі неклітинні структури, з яких крім клітин побудований багатоклітинний організм, є похідними клітин.

Розглядаючи різні рівні організації живого в ієрархічному порядку, від простого до складного, легко переконатися в тому, що немає меншої одиниці живого, ніж клітина. Дійсно, можна виділити з клітини окремі її структури або навіть молекули, які володіють частиною ознак і властивостей, які відповідають визначенню «живе». Наприклад, рибосоми в присутності необхідних факторів можуть синтезувати білок. Але вся сукупність властивостей, що відрізняють живе від неживого, вперше проявляється на клітинному рівні організації життя.

2. Клітини різних організмів мають загальний план будови, який зумовлений подібністю загальноклітинних функцій, спрямованих на підтримання життя власне клітин та їх розмноження (гомологічність клітин). Різноманітність форм клітин є результатом специфічності виконуваних ними функцій.

Добре відомо, наскільки значно відрізняються клітини за формою і виконуваними функціями навіть в межах одного багатоклітинного організму. Наприклад, у людини налічується понад 200 різних типів клітин. Деякі з них мають деревовидно-гілясту форму, інші циліндричну, треті – кулясту і т. д. Разом з тим клітини всіх організмів подібні за своєю будовою, виконуваними функціями, хімічним складом і обміном речовин, тобто гомологічні. Така схожість клітин за корінними їх властивостями визначається єдністю походження життя і спільністю метаболічних процесів і функцій, необхідних для підтримки життєдіяльності будь-якої клітини. Наприклад, всі клітини мають ядро, що забезпечує зберігання і реалізацію генетичної інформації; рибосоми, здійснюють синтез поліпептидних ланцюгів; ендоплазматичний

ретикулум, який бере участь у внутрішньоклітинному транспорті, і інші життєво необхідні структури. В основі різноманітності типів клітин багатоклітинного організму лежить спеціалізація їх функцій і пов'язаний з цим розвиток особливих функціональних апаратів. Наприклад, нервові клітини, крім структур, притаманних усім клітинам, мають такі специфічні для них риси, як довгі і розгалужені клітинні відростки, що закінчуються спеціальними утвореннями – синапсами, що забезпечують передачу нервового імпульсу. Різноманітність в будові одноклітинних організмів є результатом еволюційної пристосованості їх до певних умов середовища.

3. Розмноження клітин відбувається шляхом поділу вихідної клітини з попереднім відтворенням її генетичного матеріалу.

Розмноження клітин відбувається тільки шляхом ділення клітин, якому передуює відтворення її генетичного матеріалу. Прокаріотичні клітини зазвичай розмножуються за допомогою простого ділення надвоє, тобто простою перегородкою без участі будь-яких спеціальних апаратів поділу.

У еукаріотів єдино повноцінним способом поділу є мітоз або мейоз. При цьому такі клітини утворюють спеціальний апарат клітинного ділення. Інших шляхів утворення клітин і збільшення їх кількості немає.

4. Клітини є частинами цілісного організму, їхній розвиток, особливості будови та функції залежать від усього організму, що є наслідком взаємодії у функціональних системах тканин, органів, апаратів і систем органів.

Т. Шванн і Р. Вірхов уявляли собі діяльність організмів як суму життєдіяльності окремих клітин. Дійсно, будь-яка реакція або функція організму здійснюється спеціалізованими клітинами. Однак клітини в багатоклітинному організмі об'єднані в тканини і органи, що становлять функціональні системи, які знаходяться у взаємозв'язку один з одним. Тому організм являє собою складний ансамбль клітин, об'єднаних і пов'язаних гуморальними і нервовими факторами регуляції.

Поділ функцій між клітинами в багатоклітинних організмі забезпечує широкі можливості для пристосування організмів до середовища проживання і служить передумовою ускладнення їх організації.

Клітини багатоклітинних організмів тотіпотентні, тобто мають генетичні потенції всіх клітин даного організму. Всі клітини багатоклітинного організму (у ссавців виняток становлять лімфоцити) мають однаковий генотип, що служить основою їх тотіпотентності.

Індивідуальний розвиток багатоклітинних організмів від однієї клітини до зрілої особини – результат виборчої експресії різного набору генів у різних клітинах, що призводить до появи клітин зі специфічними для них структурами і особливими функціями, тобто до процесу, званого дифференціюванням.

Визначення клітини змінювались залежно від пізнання їх будови та функції. За сучасними даними, *клітина – це обмежена активною оболонкою, структурно впорядкована система біополімерів, які утворюють ядро і цитоплазму, беруть участь у єдиній сукупності процесів метаболізму і забезпечують підтримання та відтворення системи в цілому.*

Таким чином, відкриття клітини і створення клітинної теорії дозволило обґрунтувати єдність клітинної організації всіх живих організмів, що мешкають на Землі, і сформулювати висновок, згідно з яким вільноживучих неклітинних форм життя не існує. Клітинна теорія зіграла велику роль в розвитку всіх розділів біологічної науки.

МЕТОДИ КЛІТИННОЇ БІОЛОГІЇ

(METHODS OF CELL BIOLOGY)

1. Світлова мікроскопія

2. Вітальне вивчення клітин

3. Вивчення фіксованих клітин

Цитологія виникла як відгалудження мікроанатомії, і тому одним з основних методів, який використовують цитологи – це метод світлової мікроскопії. В даний час цей метод знайшов цілий ряд доповнень і модифікацій, що значно розширило коло завдань і питань, що вирішуються цитологією. Революційним моментом у розвитку сучасної цитології і біології взагалі було застосування електронної мікроскопії, яка відкрила надзвичайно широкі перспективи.

Це створює своєрідність цитології як науки, що використовує головним чином методи вивчення клітини безпосередньо оком, озброєним збільшують оптичними системами. Крім того, в цитології застосовуються численні прийоми препаративної і аналітичної біохімії, методи біофізики.

1. Світлова мікроскопія

Світловий мікроскоп – головний прилад біології, являє собою оптичну систему, що складається з конденсатора, об'єктива і окуляра, які використовуються для розгляду об'єкта. Пучок світла від джерела освітлення збирається в конденсаторі і направляється на об'єкт. Пройшовши через об'єкт, промені світла потрапляють в систему лінз об'єктива; вони будують первинне зображення, яке збільшується з допомогою лінз окуляра. Головна оптична частина мікроскопа, яка визначає його основні можливості – об'єктив. В сучасних мікроскопах об'єктиви змінні, що дозволяє вивчати клітини при різних збільшеннях. Головною характеристикою мікроскопа як оптичної системи є роздільна здатність.

При використанні видимої області світла величина 0,2-0,3 мкм є кінцевою межею розділення світлового мікроскопа.

Якщо ж необроблені живі або мертві клітини розглядати в світлі, то в них різняться тільки великі деталі, оскільки вони володіють іншим коефіцієнтом заломлення і поглинання світлових променів, ніж навколишнє середовище. Більша ж частина клітинних компонентів мало відрізняється за цими властивостями як від середовища (води або тканинних розчинів), так і один від одного і тому мало помітна і не контрастна. Для їх вивчення доводиться змінювати освітленість (втрачаючи при цьому чіткість зображення) або застосовувати особливі методи і прилади.

Один з таких прийомів – **метод фазово-контрастної мікроскопії**, що широко використовується для спостережень за живими клітинами. Він заснований на тому, що окремі ділянки прозорої загалом клітини хоч мало, але все ж відрізняються один від одного за щільністю і світлозаломленням. Проходячи через них, світло змінює свою фазу, однак така зміна фази світлової хвилі наше око не уловлює, так як він чутливий тільки до зміни інтенсивності світла. Остання залежить від величини амплітуди світлової хвилі. В об'єктив фазово-контрастного мікроскопа вмонтована спеціальна пластинка, проходячи через яку промінь світла зазнає додатковий зсув фази коливань. При побудові зображення взаємодіють промені, що знаходяться в одній фазі або в протифазі, але володіють різною амплітудою; тим самим створюється світло-темне контрастне зображення об'єкта.

Подібний прийом використовується в **інтерференційному мікроскопі**. Він влаштований так, що пучок паралельних світлових променів від освітлювача розділяється на два потоки. Один з них проходить через об'єкт і набуває зміни в фазі коливання, інший йде, минаючи об'єкт. У призмах об'єктива обидва потоки знову з'єднуються і інтерферують між собою. В результаті інтерференції буде будуватися зображення, на якому ділянки клітини різної товщини або різної щільності будуть відрізнятися один від

одного за ступенем контрастності. Вимірюючи зрушення фаз, можна визначити концентрацію і масу сухої речовини в об'єкті.

За допомогою **поляризаційного мікроскопа** вивчають об'єкти, що володіють ізотропією, тобто впорядкованою орієнтацією субмікроскопічних частинок (наприклад, волокна веретена поділу, міофібрили і ін.). У такого мікроскопа перед конденсором поміщається поляризатор, який пропускає світлові хвилі з певною площиною поляризації. Після препарату і об'єктива розміщується аналізатор, який може пропускати світло з цієї ж площиною поляризації. Поляризатор і аналізатор – це призми, зроблені з ісландського шпату (призми Ніколя). Якщо другу призму (аналізатор) повернути потім на 90° по відношенню до першої, то світло проходити не буде. У тому випадку, коли між такими схрещеними призмами буде знаходитися об'єкт, що володіє подвійним променезаломлення, тобто здатністю поляризувати світло, буде помітно, як він як світитися на темному полі. За допомогою поляризаційного мікроскопа можна переконатися, наприклад, в орієнтованому розташуванні міцел у клітинній стінці рослин.

2. Вітальне (прижиттєве) вивчення клітин

Світловий мікроскоп дозволяє бачити живі клітини. Для короточасного спостереження клітини поміщають у рідке середовище на предметне скло. Якщо необхідно тривале спостереження за клітинами, то використовуються спеціальні камери: це або плоскі флакони з отворами, закритими тонкими скельцями, або ж розбірні плоскі камери. Як об'єкти можна використовувати вільноживучих одноклітинних найпростіших та інших одноклітинних організмів, клітини крові або ж роз'єднані клітини тканин багатоклітинних організмів як тваринного, так і рослинного походження. У будь-якому з цих випадків клітини вивчають в спеціально підібраних середовищах. Вільноживучі одноклітинні організми розглядають і вивчають у тих же середовищах, в яких вони живуть у природних умовах або культивуються в лабораторії. Так, для деяких найпростіших створено штучні середовища, на яких вони ростуть і

розмножуються. Зазвичай це збалансовані сольові розчини з добавками мікроорганізмів або інших найпростіших, які є для них їжею.

Клітини крові або інші вільні клітини багатоклітинних можуть вивчатися в краплі плазми або в спеціальних синтетичних середовищах.

Для **вивчення клітин органів і тканин тварин** використовують метод клітинних культур. Простіший варіант цього методу полягає в тому, що в камеру, наповнену живильним середовищем (суміш плазми крові з ембріональним екстрактом або суміш синтетичного середовища з додаванням плазми крові), поміщають невеликий шматочок живої тканини. Через деякий час на периферії такого шматочка починається ділення і ріст клітин. В іншому випадку вирізаний шматочок тканини злегка обробляють розчином ферменту трипсину або хелатона версена, що призводить до його дисоціації, до повного відокремлення клітин одна від одної. Потім таку суспензію відмитих клітин поміщають в посудину з живильним середовищем, де вони опускаються на дно, прикріплюються до скла і починають розмножуватися, утворюючи спочатку колонії, а потім суцільний клітинний шар. Так ростуть одношарові клітинні культури, дуже зручні для прижиттєвих спостережень. Найкраще для отримання первинних культур з тканин тварин використовувати ембріональний матеріал; культури з клітин дорослих організмів ростуть дуже погано.

При культивуванні клітин поза організмом крім зміни середовища важливо підтримувати і необхідну температуру (близько 20° для холонокровних і близько 37° для теплокровних). Обов'язковою умовою культивування клітин є дотримання стерильності.

Існує цілий ряд клітин, які тривало культивуються; це спеціальні клітинні штами, що пристосувалися десятиліттями до росту поза організмом. Здебільшого це клітини пухлинного походження або значно змінені клітини, що набули властивостей пухлинних клітин.

Метод культивування клітин поза організмом широко використовується не лише для цитологічних, а й для генетичних, вірусологічних і біохімічних досліджень.

У культурі можна вирощувати і рослинні клітини. Для цього шматочки тканини обробляються ферментами, що розчиняють клітинні оболонки. Відокремлені клітинні тіла, протопласти, поміщають у культуральне середовище, де вони діляться і утворюють зони клітин, які розмножилися.

Спостереження за живими клітинами зазвичай реєструються у вигляді фотографій, зроблених за допомогою спеціальних фотонасадок до мікроскопа.

Тепер з розвитком комп'ютерних технологій за допомогою спеціальних телекамер можливо отримувати зображення клітин прямо на моніторі комп'ютера.

При дослідженні живих клітин використовують **методи мікрохірургії**, оперативного впливу на клітини. За допомогою приладу мікроманіпулятора клітини розрізають, вилучають з них частини, вводять речовини (мікроін'єкція) і т. ін. Мікроманіпулятор поєднується зі звичайним мікроскопом, в який спостерігають за ходом операції. Мікрохірургічними інструментами служать скляні гачки, голки, капіляри, які мають мікроскопічні розміри і виготовляються на спеціальних пристроях – «мікрокузнях».

Крім механічного впливу на клітини в мікрохірургії останнім часом широко застосовують мікропучки ультрафіолетового світла або лазерні мікропучки. Це дає можливість практично миттєво інактивувати окремі ділянки живої клітини.

Нещодавно стали застосовувати апарати з лазерним мікропучком, що дозволяє дуже точно дозувати кількість енергії в точці ураження і використовувати дуже короткі (наносекунди) імпульси опромінення.

При вивченні живих клітин намагаються їх фарбувати за допомогою так званих вітальних барвників. Це барвники кислої (трипановий синій, літєвий кармін) або основної (нейтральний червоний, метиленовий синій) природи, що застосовуються при дуже великому розведенні (1 : 200 000), отже, вплив барвника на життєдіяльність клітини мінімальний. При фарбуванні живих клітин барвник збирається в цитоплазмі у вигляді гранул, а в пошкоджених або мертвих клітинах відбувається дифузне фарбування цитоплазми і ядра.

При вивченні живих клітин широко використовують **флуоресцентні барвники і метод флуоресцентної мікроскопії**. Суть його полягає в тому, що цілий ряд речовин має здатність світитися (флуоресціювати, люмінесціювати) при поглинанні ними світлової енергії. Так, виділений хлорофіл при освітленні в ультрафіолетових променях світиться червоним кольором. Цей принцип використовується в флуоресцентній мікроскопії: розглядання флуоресціюючих об'єктів у зоні коротких довжин хвиль. Зазвичай в таких мікроскопах застосовуються фільтри, що дають освітлення в синьо-фіолетовій області. Існують ультрафіолетові люмінесцентні мікроскопи.

Власною флуоресценцією володіють деякі пігменти (хлорофіли, бактеріальні пігменти), вітаміни (А і В₂), гормони. Якщо у флуоресцентний мікроскоп розглядати клітини рослин, то на темно-синьому тлі буде видно червоні зерна всередині клітини, що яскраво світяться – це хлоропласти.

Можна застосовувати метод флуоресцентної мікроскопії, додаючи живим клітинам флуорохроми (флуоресцентні речовини). Багато флуорохромів вибірково зв'язуються з певними структурами клітини, зумовлюючи їх вторинну люмінесценцію. Наприклад, флуорохром акридіновий помаранчевий вибірково зв'язується з нуклеїновими кислотами.

Останнім часом для вивчення живих клітин або їх компонентів починає широко застосовуватися поєднання світлової мікроскопії (особливо фазово-контрастної) з електронно-комп'ютерною обробкою зображення. При цьому використовується відеозапис з електронною обробкою зображення, яка ніби «прибирає» фонові рівні і виділяє, контрастує, структури, що досліджуються. Методика дозволяє на телеекрані бачити такі структури, як мікротрубочки, розмір яких (20 нм) набагато менше роздільної сили світлового мікроскопа (200-300 нм).

Звичайні методи світлової мікроскопії важко використовувати для відтворення тривимірної картини досліджуваного об'єкта через невелику глибину різкості мікроскопа. Зазвичай клітини розглядаються як оптичні розрізи на даній глибині фокуса. Для того щоб отримати повну тривимірну

реконструкцію об'єкта, використовують спеціальний **конфокальний скануючий світловий мікроскоп**. За допомогою цього приладу отримують серії послідовних оптичних зрізів, взятих з різної глибини і зображення яких накопичуються в комп'ютері, і за спеціальною програмою реконструюється тривимірне, об'ємне, зображення об'єкта. Зазвичай використовуються об'єкти, пофарбовані флуорохромами.

3. Вивчення фіксованих клітин

Незважаючи на важливість і достатню інформативність вітальних спостережень, велика частина відомостей про структуру і властивості клітин отримана на фіксованому матеріалі. Якщо клітину зруйнувати, вона починає зазнавати ряд змін, а після загибелі клітини в ній активуються автолітичні ферменти, що призводить до грубих змін клітинної структури. Отже, завдання фіксації – вбити клітину, припинити активність внутрішньоклітинних ферментів, запобігти розпаду клітинних компонентів, а також уникнути втрати структур і речовин, перешкоджати появі структур, відсутніх в живій клітині (артефактні структури). На жаль, ще не знайдено такого хімічного фіксатора, який задовольняв би всім цим вимогам.

Часто для фіксації клітин використовуються альдегіди і їх суміші з іншими речовинами. В якості фіксаторів застосовують також спирти, що викликають необоротну денатурацію білків, осадження нуклеїнових кислот і полісахаридів. Осаджуючу дію мають також сулемові фіксатори і фіксатори з пікринової кислотою.

Після фіксації об'єкти в подальшому можна піддавати додатковій обробці. Однією з головних таких обробок є фарбування клітин. Саме додаткове фарбування клітин дозволило виявити в них багато деталей.

Скло з фіксованими мазками одноклітинних організмів або з клітинами культури тканини можна безпосередньо поміщати в барвники. Але для фарбування клітин у складі органів необхідно отримати їх зрізи. Вивчають також зрізи і окремих клітин.

Для цього після фіксації шматочки органів зневоднюють у спиртах зростаючої концентрації, спирт заміщають ксилолом, а ксилол – парафіном. Таким чином, фіксована тканина, минаючи висушування на повітрі, виявляється укладеною в тверду масу парафіну, яку можна нарізати.

Зрізи товщиною до 5-10 мкм отримують на спеціальному приладі – мікротомі. Такі зрізи приклеюються на предметне скло: парафін розчиняється в ксилолі, ксилол видаляється спиртами, які заміщаються водою. Тепер зрізи можна фарбувати водними розчинами барвників.

Для виготовлення постійних препаратів пофарбовані зрізи знову зневоднюються і заливаються в канадський бальзам¹ під покривним склом. Ці препарати можна довго зберігати.

Для забарвлення фіксованих тканин і клітин застосовують різні натуральні та, головним чином, синтетичні барвники. Натуральні барвники (гематоксилін, кармін і ін.) використовують у поєднанні з протравами (оксиди різних металів), з якими вони утворюють комплексні сполуки (лаки).

Синтетичні барвники поділяють на кислі і основні.

Існує безліч сумішей таких барвників, які одночасно можуть фарбувати різні ділянки клітин в різні кольори і тим самим підвищувати контрастність клітинних і позаклітинних компонентів. Таким чином, використовуючи всілякі барвники, дослідники не тільки домагаються чіткості морфологічної картини клітини, але отримують деякі відомості про хімізм тієї чи іншої структури.

Ряд прийомів фарбування, спрямованих на виявлення специфічних хімічних речовин, отримав назву гістохімічних, або цитохімічних. Кількість кінцевого продукту цитохімічної реакції можна визначити за допомогою методу **цитофотометрії**

¹ Канадський бальзам (англ. Canada balsam) – смола (терпентин), що отримується з ялиці бальзамічної, або канадської. Завдяки своїй великій прозорості, безбарвності, великому показнику заломлення і тому, що він ніколи не мутніє і не кристалізується, використовується для склеювання оптичних стекел, склеювання призм в призмах Ніколя, занурення і заклеювання мікроскопічних препаратів, петрографічних шліфів, при виготовленні лаку і гістологічних препаратів, що підлягають тривалому зберіганню, а також в іммерсійних об'єктивах мікроскопів.

Для з'ясування локалізації місць синтезу біополімерів, для визначення шляхів перенесення речовин в клітині, для спостереження за міграцією або властивостями окремих клітин широко використовують **метод радіо-автографії** - реєстрації речовин, мічених ізотопами.

Електронна мікроскопія

За принципом конструкції електронний мікроскоп дуже схожий з оптичним: в ньому є джерело освітлення (катод електронної гармати), конденсорні система (конденсорні магнітна лінза), об'єктив (об'єктивна магнітна лінза), окуляр (проекційні магнітні лінзи), тільки замість сітківки ока електрони потрапляють на люмі- несціруючий екран або на фотопластинку.

На екранах і фотопластинках електронних мікроскопів можна отримати збільшення до 50 000 раз, в подальшому при фотодруці можна отримати ще 10-кратне збільшення, так що кінцеве збільшення, при якому максимально реалізується розрішення, може досягати 10^6 разів (наприклад, якщо 1 мм збільшити в 10^6 разів, то він досягне довжини в 1 км).

В даний час електронно-мікроскопічне зображення з флуоресціюючого екрану за допомогою цифрової телекамери передається прямо в комп'ютер, де на екрані монітора його можна обробляти різними способами.

На біологічних об'єктах такого розрішення отримати поки не вдається через низьку контрастність об'єкта. Контраст біологічних об'єктів можна підвищити, використовуючи важкі метали або їх солі (відтінення металами).

При вивченні об'єктів в електронному мікроскопі виникає ще одне ускладнення – це їх товщина. Справа в тому, що при проходженні пучка електронів через об'єкт частина електронів поглинається, що приводить до нагрівання об'єкта і до його деформації. Тому необхідно мати тонкі об'єкти (товщиною не більше 0,1 мкм). Інше обмеження полягає в тому, що навіть якщо ми будемо розглядати незмінні об'єкти великої товщини (близько 0,5-1 мкм), то на кінцевому зображенні будуть нашаровуватися проекції структур, розташованих на різних рівнях по товщині об'єкта. Вихід із цього становища

аналогічний тому, що було знайдено для світлової мікроскопії: робити зрізи дуже малої товщини, тобто ультратонкі зрізи (0,05-0,10 мкм).

Тут виникають дві проблеми: де взяти ідеальні ножі, вади яких не позначалися б при вивченні клітин на майже молекулярних рівнях, і як виготовити зрізи товщиною в соті частки мікрона. Перше завдання було вирішено таким чином: виявилось, що ідеально гостру і без зазубрин ріжучу поверхню мають відколи скла.

Все більше застосування отримують методи приготування ультратонких зрізів без фіксації і заливки клітин в тверді пластмаси. Це методи кріоультрамикротомії, тобто отримання зрізів з заморожених тканин, моментально охолоджених до температури рідкого азоту (-196°C).

Для вивчення структури різних мембранних компонентів клітини використовується **метод заморожування-сколювання**. Він полягає в тому, що об'єкт спочатку швидко заморожують рідким азотом, а потім при тій же температурі переносять у спеціальну вакуумну установку. Там заморожений об'єкт механічним способом сколюється охолодженим ножом.

Останнім часом починають застосовувати **методи високовольтної (вірніше, надвисоковольтної) мікроскопії**. Сконструйовані прилади з прискорюючою напругою 1-3 млн В. Це дуже дорогі прилади, що стримує їх широке застосування.

Метод скануючої (растрової) електронної мікроскопії дозволяє вивчати тривимірну картину поверхні клітини.

Фракціонування клітин

У цитології широко застосовують різні методи біохімії, як аналітичні, так і препаративні. В останньому випадку можна отримати у вигляді окремих фракцій різноманітні компоненти і вивчати їх хімічний склад, ультраструктуру і властивості. Так, в даний час у вигляді чистих фракцій отримують практично будь-які клітинні органели і структури: ядра, ядерця, хроматин, ядерні оболонки, плазматичну мембрану, вакуолі ЕПР, його рибосоми, рибосоми

гіалоплазми, апарат Гольджі, мітохондрії, їх мембрани, пластиди, пероксисоми, мікротрубочки і ін. останнім часом отримані чисті фракції центріолей і ядерних пор.

Одним з основних способів виділення клітинних структур є диференціальне (роздільне) центрифугування.

Отримання окремих клітинних компонентів дає можливість вивчати їх біохімію і функціональні особливості. Так можна створити безклітинну систему для рибосом, які будуть синтезувати білок за заданою експериментатором інформаційною РНК.

Великий внесок в біологію клітини вносять **методи клітинної інженерії**. Знайдено, що різні живі клітини можуть зливатися один з одним, якщо спеціальними способами обробити їх плазматичні мембрани. Так можна злити еритроцит курки і лімфоцит людини. При цьому виходить двоядерна клітина – гетерокаріон.

ХІМІЧНИЙ СКЛАД І ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПРОТОПЛАЗМИ КЛІТИН (CHEMICAL COMPOSITION AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF CELL PROTOPLASM)

1. Хімічний склад протоплазми клітин

2. Фізико-хімічні властивості протоплазми клітин

1. Хімічний склад протоплазми клітин

Речовину, яка утворює клітину, називають протоплазмою. До її складу входить більшість відомих хімічних елементів. З них 99,9% – макроелементи і 0,1% – мікро- та ультрамікроелементи. Основними макроелементами протоплазми є С, Н, О і N. Вони становлять 96% усіх макроелементів. 3,9% макроелементів – це S, P, K, Ca, Na, Cl, Fe та ін. До мікро- і ультрамікроелементів належать Cu, Co, Zn, Mn, Ni, Sr, Ba, Be, I, Pb, Zі, F та ін.

Окремі клітини, тканини та органи різняться між собою складом і кількістю елементів. Так, у кістках багато Ca і P, у щитоподібній залозі – I, в крові – Fe, в печінці – Cu, в шкірі – Sr. Ці відмінності визначають і особливості їхньої будови та функції.

Усі елементи, з яких побудована протоплазма, потрапляють в організм із зовнішнього середовища в результаті обміну речовин. Однак їх кількість у протоплазмі здебільшого не відповідає кількості та поширенню цих елементів в окремих зонах земної кори. В останній, як відомо, переважають O, Si, Al, Na, Ca, Fe, Mg і P.

Хімічні елементи, що входять до складу протоплазми, утворюють складні органічні та неорганічні речовини, які взаємодіють між собою і беруть участь у біологічних процесах. Пізнання будови цих речовин, їх взаємодії та взаємодії структур, які вони утворюють, є ключем до розкриття таємниць життєвих процесів клітини.

Органічні речовини – це переважно полімери. Їхні молекули мають велику молекулярну масу. Вони складаються з простих речовин, які називають мономерами. Останні, сполучаючись у певній послідовності один з одним, формують довгі ланцюги, на яких відбуваються складні хімічні реакції. Зміна послідовності сполучених мономерів та просторового розміщення полімерних ланцюгів призводить до зміни властивостей протоплазми.

До основних органічних речовин належать білки, нуклеїнові кислоти, нуклеотиди, ліпіди та вуглеводи.

Білки становлять 10-20% сирової маси протоплазми. За хімічним складом вони є сполуками С (50%), О (25%), N (16%), Н (8%), S (0,3-2,5%). До складу окремих білків можуть входити й деякі інші макро- та мікроелементи. Більшість білків складаються лише з амінокислот. Такі білки називають простими, або *протеїнами*. До них належать альбуміни, глобуліни, молочний казеїн, еластин, фібриноген, колаген, міозин, актин та ін. Якщо до складу білків крім амінокислот входять небілкові структури, їх називають складними, або *протеїдами*. Останні поділяють на глікопротеїди – сполуки білків з вуглеводами (глікозаміноглікани); нуклеопротеїди – сполуки білків з нуклеїновими кислотами; фосфопротеїди – сполуки білків із залишками фосфатної кислоти (казеїноген, вітеленін, вітелін, пепсин); ліпопротеїди – сполуки білків з ліпідами (елементарна біологічна мембрана) і хромопротеїди – сполуки білків з пігментними речовинами (гемоглобін, родопсин, міоглобін).

Залежно від форми білки поділяють на глобулярні та фібрилярні. *Глобулярні білки* мають кулясту, овальну або еліпсоподібну форму молекул (білки молока, антитіла, ферменти). Для *фібрилярних білків* характерна ниткоподібна форма молекул (міозин, кератин волосся).

Білки виконують численні функції в організмі. Основними з них є структурна, обмінна, захисна та акцепторно-транспортна. Структурна функція білків зумовлена тим, що вони є складовими частинами всіх компонентів клітини. З білків побудований скоротливий апарат клітин (актин, міозин, тубулін). Білки входять до складу ферментів, що є каталізаторами реакцій, які

забезпечують обмін речовин. З білків глобулінів побудовані антитіла, які формують загальний імунітет. Білки, що входять до складу гемоглобіну й міоглобіну, здатні приєднувати і переносити кисень. В окремих випадках білки можуть бути джерелом енергії (глюконеогенез).

Нуклеїнові кислоти – це ДНК (дезоксирибонуклеїнова кислота) і РНК (рибонуклеїнова кислота). ДНК входить до складу хроматину ядра клітин. Невелика її кількість міститься також у мітохондріях. ДНК є носієм генетичної інформації. Вона реалізує цю інформацію, створюючи апарат білкового синтезу. РНК здійснює синтез білка. Вона міститься в ядрі, цитоплазмі і поділяється на інформаційну, транспортну та рибосомальну.

Нуклеїнові кислоти побудовані з нуклеотидів. До складу нуклеотидів входять вуглеводи, азотисті основи та залишок фосфорної кислоти.

У протоплазмі крім нуклеотидів, з яких утворюються молекули нуклеїнових кислот є нуклеотиди, що містять кілька залишків фосфорної кислоти. До них належать аденозинтрифосфорна кислота (АТФ). Під дією ферментів від АТФ відщеплюються окремі залишки фосфорної кислоти. Цей процес супроводжується виділенням енергії, яка використовується для забезпечення всіх фізіологічних процесів клітин. Таким чином, АТФ є акумулятором і переносником енергії. Крім АТФ таку функцію виконують також інші нуклеотиди: трифосфати уридину, цитидину та гуанозину (УТФ, ЦТФ, ГТФ).

Ліпіди становлять 2-3% сирової маси протоплазми і за хімічною природою є сполуками Карбону, Оксигену і Гідрогену (С, О і Н). Вони складаються з гліцерину і жирних кислот. До їх складу можуть входити й інші речовини. Ліпіди виконують структурну функцію. Вони входять до складу елементарних біологічних мембран клітин і стероїдних гормонів. Крім того, ліпіди є важливим енергетичним матеріалом. Під час їх окиснення утворюється значна кількість енергії.

Вуглеводи становлять 1-1,5% сирової маси протоплазми. Вони, як і жири, є сполуками Карбону, Оксигену і Гідрогену. В живій речовині вуглеводи

містяться у вигляді моноцукридів (глюкоза, галактоза, фруктоза) та їх сполук: олігоцукридів (цукроза, мальтоза, лактоза) та поліцукридів (глікоген). Вуглеводи є енергетичним матеріалом. Вони виконують також структурну функцію, входячи до складу оболонки клітин, міжклітинної речовини, нуклеїнових кислот, секрету багатьох залоз, утворюють окремі біологічно активні речовини (гепарин).

Неорганічними речовинами протоплазми є вода і мінеральні речовини.

Вода становить 70-80% сирової маси протоплазми. У живій речовині вона перебуває у вільному і зв'язаному стані. Вода у вільному стані є розчинником. У вигляді розчинів у клітину надходять різні речовини і виділяються з неї продукти обміну. Вільна вода є середовищем, у якому відбуваються численні біохімічні реакції. Вона ж запобігає перегріванню клітин. Зв'язана вода утворює сольватні оболонки макромолекул різних речовин. Втрата води живою речовиною призводить до зниження і припинення біологічних процесів, які в ній відбуваються.

Мінеральні речовини становлять 5-6% сирової маси протоплазми. Разом з іншими речовинами вони беруть участь в обміні речовин. Найпоширеніші в організмі тварин солі фосфатної, сульфатної, карбонатної (вугільної) та хлоридної (соляної) кислот. Мінеральні речовини у вигляді розчинів підтримують кислотно-основний стан, що визначає реакцію середовища, в якому відбуваються життєві процеси в клітинах. Вони зумовлюють осмотичний тиск, від якого залежить транспорт речовин із навколишнього середовища в клітину і навпаки, а також їх переміщення в клітині. Мінеральні речовини впливають на колоїдний стан протоплазми. Вони входять до складу багатьох органічних сполук (фосфоліпіди, нуклеопротейди) і ферментів. У кістковій тканині мінеральні речовини виконують механічну функцію, надаючи їй міцності.

2. Фізико-хімічні властивості протоплазми клітин

Протоплазма – безбарвна речовина з густиною 1,03. Її фізико-хімічні властивості визначаються станом речовин, з яких вона утворена. Більшість речовин протоплазми перебувають у стані колоїдних розчинів, тільки окремі речовини – у стані істинних розчинів. Колоїдний розчин є двофазною системою, що складається з розчинника – дисперсного середовища і колоїдних часточок – дисперсної фази. Дисперсне середовище утворює вода, а дисперсну фазу – макромолекули органічної речовини. Останні мають здатність до полімеризації й агрегації. Агрегація молекул відбувається в результаті адсорбції, що лежить в основі багатьох життєвих процесів, які відбуваються в клітині, зокрема в процесах дихання та живлення клітин. В адсорбованому стані виявляється дія й більшості ферментів. Колоїдні часточки називають міцелами. Вони мають однойменний заряд і сольватну² оболонку.

Колоїдні розчини протоплазми перебувають у двох фазах, які переходять одна в одну, – гель і золь. У фазі *гелю* колоїдний розчин щільніший. Його міцели в результаті агрегації формують просторові ґратки, в комірках яких знаходиться дисперсійне середовище. У фазі *золю* міцели відокремлюються одна від одної, колоїдний розчин стає текучим. Зміна фаз колоїдних розчинів протоплазми залежить від її функціонального стану та дії чинників зовнішнього середовища. Так, під час формування мітотичного веретена клітин, утворення псевдоподій щільність колоїдів збільшується, а в разі зміни температури – зменшується.

Колоїдні системи протоплазми лабільні, їх білкові та ліпідні міцели формують структурну основу клітин. У разі ущільнення протоплазми утворюються нові білкові міцели, формуються зв'язки між ними, що лежать в основі регенеративних процесів клітин.

Якщо в колоїдний розчин потрапляють електроліти, настає процес коагуляції (зсідання). При цьому міцели злипаються і випадають в осад. Якщо

² Сольватація (від лат. Solvo «розчиняю») - електростатична взаємодія між частинками (іонами, молекулами) розчиненої речовини і розчинника.

дія коагулянту сильна, то процес коагуляції стає незворотним, що призводить до загибелі клітин. Явище коагуляції настає і тоді, коли міцели втрачають заряд.

У колоїдних розчинах може відбуватися процес коацервації. При цьому міцели втрачають зовнішній шар сольватної оболонки і з'єднуються за допомогою її внутрішніх шарів. У результаті цього утворюються великі агрегати – коацервати, які не сполучаються між собою. Коацервати мають рідку консистенцію. Їх формування часто спостерігається при потраплянні в клітини сторонніх речовин, що є захисною реакцією клітини.

ПОВЕРХНЕВИЙ АПАРАТ КЛІТИНИ

(THE SURFACE APPARATUS OF THE CELL)

- 1. Будова і властивості біологічних мембран**
- 2. Поверхневий апарат клітини**
- 3. Бар'єрно-транспортна функція поверхневого апарату клітини**

1. Будова і властивості біологічних мембран

Всі біологічні мембрани побудовані за єдиним принципом – це тонкі ліпопротеїнові плівки, структурну основу яких становить подвійний шар молекул ліпідів, в який включені молекули білка.

У мембранах клітин тварин вагове співвідношення ліпідів і білків приблизно однакове, хоча для різних клітинних структур воно може варіювати. До складу багатьох мембран поряд з ліпідами і білками входять вуглеводи, частка яких може становити 2-10%.

Характерними представниками ліпідів клітинних мембран є фосфоліпіди, сфінголіпіди і гліколіпіди.

Фосфоліпіди відносяться до мембранних ліпідів клітин тварин, які найбільш часто зустрічаються. Наприклад, частка їх серед всіх ліпідів мембран мітохондрій становить понад 80%.

У біліпідний шар занурені молекули білків, вага яких приблизно дорівнює вазі ліпідів. У зв'язку з тим, що розміри молекул мембранних білків майже в 30 разів більше розмірів молекул фосфоліпідів, білкові молекули ніби занурені в біліпідний шар мембрани і, подібно до «островів», з усіх боків оточені «морем ліпідів».

Виділяють три групи мембранних білків: інтегральні, напівінтегральні та периферичні.

Інтегральні білки пронизують всю товщу мембрани.

Напівінтегральні білки занурені в мембрану лише наполовину.

Периферичні білки розташовуються на зовнішній або внутрішній поверхні мембрани.

Структура біологічних мембран багато в чому визначає їх загальні властивості. До них відносяться: текучість, здатність до самозбирання, асиметрія і напівпроникність.

Текучість мембран тваринної клітини і їх **здатність до самозбирання** визначається тим, що молекули ліпідів, що входять до їх складу, знаходяться в безперервному русі, постійно переміщаються в бічному напрямку, а також обертаються навколо власної осі.

Асиметрія біологічних мембран проявляється в тому, що зовнішній і внутрішній шари їх вельми відрізняються між собою за складом ліпідів і білків. Це, в свою чергу, визначає особливості функціональних властивостей різних ділянок мембрани.

Напівпроникність природних мембран пов'язана з неоднаковою їх здатністю пропускати різні молекули. Мембрани непроникні для великих молекул, а також для іонів і заряджених частинок. У той же час через них безперешкодно дифундують малі незаряджені молекули. Мембрани проникні також для малих гідрофобних молекул.

Мембрани, що входять до складу різних клітинних структур, відрізняються за своїм складом, що відображається на їх властивостях та функціях.

2. Поверхневий апарат клітини

Поверхневий апарат клітини, або цитотека, являє собою єдине структурно-функціональне утворення і складається з цитоплазматичної мембрани (плазмалеми), надмембраного комплексу (клітинна стінка у рослин і грибів; глікокалікс – у тварин) і субмембраного комплексу (рис. 1). Відповідно до виконуваних функцій поверхневий апарат клітини називають також рецепторно-бар'єрно-транспортною системою.

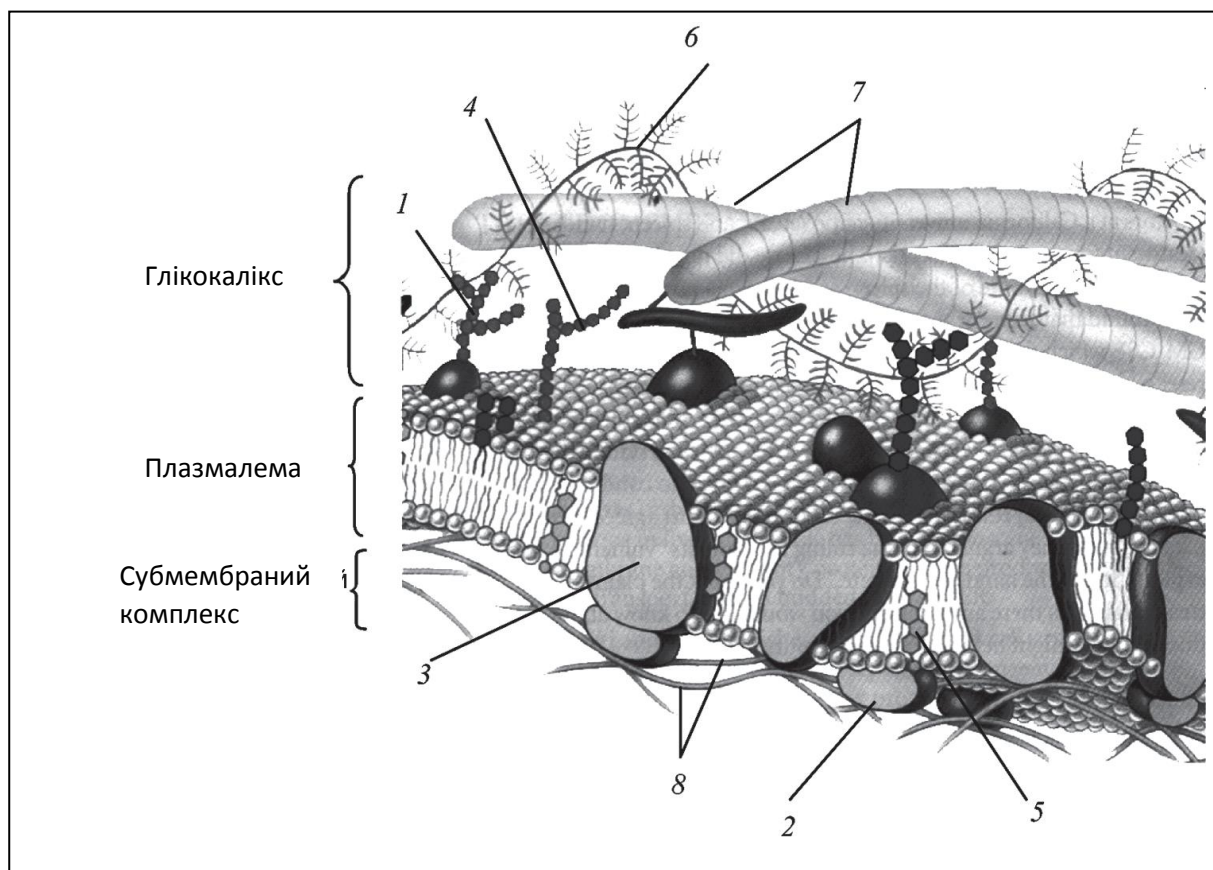


Рис. 1. Схема будови поверхневого апарату клітини:

1 – глікопротеїн; 2 – периферичний білок; 3 – інтегральний білок; 4 – олігосахарид; 5 – холестерол; 6 – протеоглікановий комплекс; 7 – колагенові фібрили; 8 – проміжні філаменти

Основу поверхневого апарату клітини становить плазматична мембрана, або плазмалема. Вона має товщину близько 10 нм. До складу плазмалеми входять у рівному ваговому відношенні білки і ліпіди, а також молекули гліколіпідів і глікопротеїнів. Будова плазмалеми описується рідинно-мозаїчною моделлю. Ця модель, запропонована 1972 р. Д. Сінгером та Г. Ніколсоном й відома також як модель Сінгера-Ніколсона. Відповідно до цієї моделі, плазмалема характеризується наступними найважливішими структурно-функціональними особливостями:

1. Плазмалема складається з ліпідного (фосфоліпідного) бішару, в який занурені і з яким пов'язані молекули білків.

2. Білки плазмалеми за своїм розташуванням щодо ліпідного бішару поділяються на три групи: периферичні білки зазвичай знаходяться поза

біліпідним шаром і неміцно пов'язані з поверхнею мембрани; інтегральні білки повністю занурені в біліпідний шар; напівінтегральні білки занурені в біліпідний шар частково.

3. Молекули ліпідів плазмалеми здатні обертатися навколо своєї осі, дифундувати в бічному напрямку і переходити з одного моношару в інший. На цьому засновані важливі властивості плазмалеми – її текучість і здатність до самозбирання.

4. Плазмалема асиметрична. У зовнішньому шарі біліпідного шару плазмалеми переважають фосфатиділхолін і сфінгомієлін, у внутрішньому – фосфатиділетаноламін, фосфатиділсерін (рис. 2.4). Гліколіпіди і глікопротеїди розташовуються тільки в зовнішньому шарі плазмалеми.

5. Плазматична мембрана володіє вибірковою проникністю. Вона непроникна для великих молекул, а також для іонів і заряджених частинок. Через неї безперешкодно дифундують малі незаряджені молекули: O_2 , CO_2 , N_2 і ін. Плазмалема проникна також для малих гідрофобних молекул, наприклад стероїдів.

6. Плазмалема має здатність до підтримання мембранного потенціалу (потенціалу спокою). Зсередини вона заряджена негативно, а зовні позитивно.

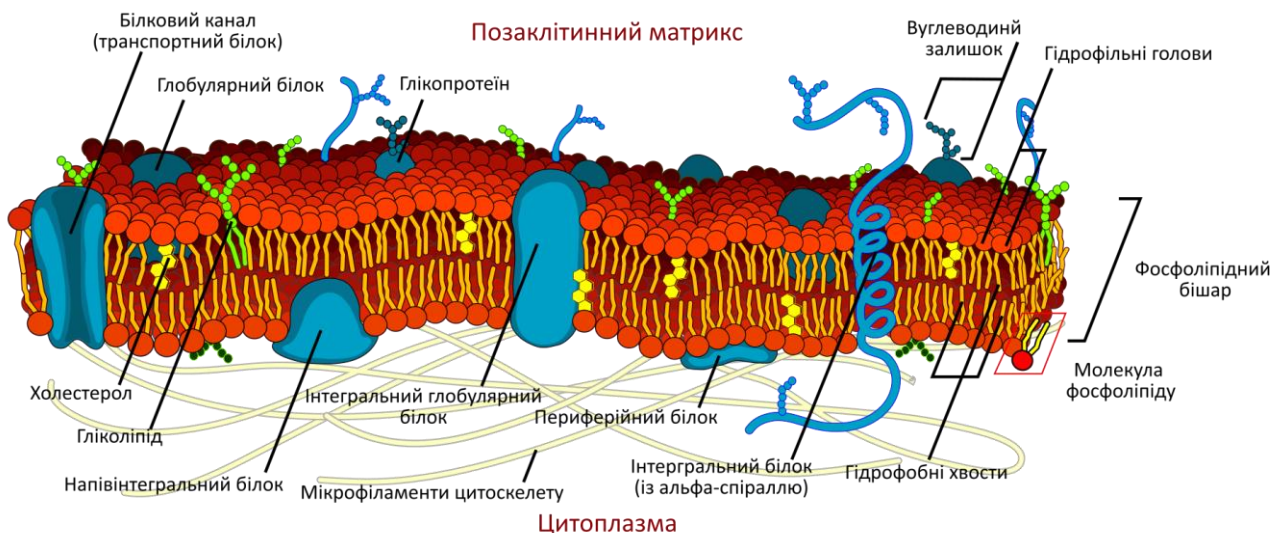


Рис. 2. Будова плазмалеми

Надмембранний комплекс (в тваринних клітинах глікокалікс) являє собою зовнішній по відношенню до плазматичної мембрани шар, що містить

олігосахаридні і полісахаридні ланцюжки мембранних глікопротеїнів і гліколіпідів, а також периферичні білки, пов'язані з зовнішньою поверхнею плазмалеми. Товщина глікокаліксу становить від 3 до 4 нм. Шар глікокаліксу має желеподібну консистенцію, що значно знижує в зазначеному шарі швидкість дифузії різних речовин. Завдяки цьому в ньому, наприклад, можуть «застрягати» ферменти і інші білки, виділені клітиною.

До складу **субмембранного комплексу** входить гіалоплазма, яка примикає до плазмалеми і містить елементи цитоскелету (мікротрубочки, мікрофіламенти, проміжні філаменти). Комплекс також включає периферичні білки, що примикають до плазмалеми з боку цитоплазми.

Поверхневий апарат виконує різноманітні **функції**:

- забезпечує транспорт речовин з навколишнього середовища в клітину і назад;
- регулює обмін речовин між клітиною і навколишнім середовищем;
- здійснює рецепцію (впізнавання) різноманітних сигналів хімічної і фізичної природи, наприклад гормонів;
- підтримує форму клітини і захищає її від пошкоджуючих впливів;
- бере участь у формуванні різних міжклітинних контактів.

3. Бар'єрно-транспортна функція поверхневого апарату клітини

Дана функція забезпечується вибіркоким перенесенням іонів, молекул і надмолекулярних структур в клітину і з неї. Транспорт через мембрани забезпечує доставку поживних речовин і видалення кінцевих продуктів обміну з клітини, секрецію, створення іонних градієнтів і трансмембранного потенціалу, підтримання в клітині необхідних значень рН і ін.

Механізми транспорту речовин в клітину і з неї залежать від хімічної природи речовини, що переноситься та її концентрації по обидва боки клітинної мембрани, а також від розмірів транспортованих частинок. Малі молекули і іони транспортуються через мембрану шляхом пасивного або активного транспорту. Перенесення макромолекул і великих частинок

здійснюється за допомогою транспорту в «мембранній упаковці», тобто за рахунок утворення оточених мембраною пухирців (фагоцитоз, піноцитоз).

Пасивним транспортом називається перенесення речовин через мембрану по градієнту їх концентрації без витрати енергії (з області, де їх концентрація вища, в область, де їх концентрація нижче). Такий транспорт здійснюється за допомогою двох основних механізмів: простої дифузії та полегшеної дифузії.

Шляхом **простої дифузії** транспортуються малі полярні і неполярні молекули, жирні кислоти та інші низькомолекулярні гідрофобні органічні речовини. Транспорт молекул води через мембрану, здійснюваний шляхом пасивної дифузії, отримав назву осмосу. Прикладом простої дифузії служить транспорт газів через плазматичну мембрану ендотеліальних клітин кровоносних капілярів у оточуючу їх тканинну рідину і назад.

Гідрофільні молекули та іони, які не здатні самотійно проходити через мембрану, транспортуються за допомогою специфічних мембранних транспортних білків. Такий механізм транспорту отримав назву **полегшеної дифузії**.

Існують два основні класи мембранних транспортних білків: білки-переносники і білки-канали.

Молекули речовини, яка переноситься, зв'язуючись з білком-переносником, зумовлюють його конформаційні зміни, результатом чого є перенесення зазначених молекул через мембрану. Полегшена дифузія відрізняється високою вибірковістю стосовно речовин, що транспортуються.

Білки-канали формують заповнені водою пори, що пронизують ліпідний бішар. Коли ці пори відкриті, неорганічні іони або молекули речовин, що транспортуються, проходять крізь них і таким чином переносяться через мембрану. Іонні канали забезпечують перенесення приблизно 10^6 іонів в секунду, що більше, ніж у 100 разів перевищує швидкість транспорту, здійснюваного білками-переносниками.

Більшість білків-каналів має «ворота», які відкриваються на короткий час, а потім закриваються. Залежно від природи каналу «ворота» можуть відкриватися у відповідь на зв'язування сигнальних молекул (ліганд-залежні воротні канали), зміну мембранного потенціалу (потенціал-залежні воротні канали) або механічну стимуляцію.

Активним транспортом називається перенесення речовин через мембрану проти їх градієнтів концентрації. Він здійснюється за допомогою білків-переносників і вимагає витрат енергії, основним джерелом якої служить АТФ.

Прикладом активного транспорту, що використовує енергію гідролізу АТФ для перекачування іонів Na^+ і K^+ через мембрану клітини, служить робота натрієво-калієвого насоса, що забезпечує створення мембранного потенціалу на плазматичній мембрані клітин.

Залежно від здатності транспортних білків переносити один або кілька видів молекул та іонів пасивний і активний транспорт підрозділяються на уніпорт і копорт, або сполучений транспорт.

Уніпорт – це транспорт, при якому білок-переносник функціонує тільки щодо молекул або іонів одного виду.

При копорті, або сполученому транспорті, білок-переносник здатний транспортувати одночасно два або більше видів молекул або іонів. Такі білки-переносники отримали назву копортерів, або сполучених переносників. Розрізняють два види копорту: симпорт і антипорт.

У разі симпорту молекули або іони транспортуються в одному напрямку, а при антипорті – в протилежних.

За принципом антипорта працює, наприклад, натрієво-калієвий насос, активно перекачуючи іони Na^+ з клітин, а іони K^+ всередину клітин проти їх електрохімічних градієнтів.

Прикладом симпорта є реабсорбція клітинами ниркових каналців глюкози й амінокислот із первинної сечі.

Транспортні білки, які генерують різницю потенціалів на мембрані,

називаються електрогенними насосами. Натрієво-калієвий насос є головною електрогенною помпою клітин тварин. У клітинах бактерій, грибів і рослин такою помпою є протонний насос, який активно викачує іони водню (протони) з клітини в навколишнє середовище.

Транспорт у мембранній упаковці характеризується тим, що речовини, які транспортуються, на певних стадіях транспорту розташовуються всередині мембранних міхурців, тобто виявляються оточеними мембраною. Залежно від того, в якому напрямку переносяться речовини (в клітину або з неї), транспорт в мембранній упаковці підрозділяється на ендоцитоз і екзоцитоз.

Ендоцитозом називається процес поглинання клітиною макромолекул і більших крупних частинок (вірусів, бактерій, фрагментів клітин). Ендоцитоз здійснюється шляхом фагоцитозу і піноцитозу.

Фагоцитоз – процес активного захоплення і поглинання клітиною твердих мікрочастинок, розмір яких складає більше 1 мкм (бактерій, фрагментів клітин і ін.). Під час фагоцитозу клітина за допомогою спеціальних рецепторів розпізнає специфічні молекулярні угруповання частки, що фагоцитується. Потім у місці контакту частинки з мембраною клітини утворюються вирости плазмалеми – псевдоподії, які оточують мікрочастинку з усіх боків. В результаті злиття псевдоподій така частинка виявляється розміщеною усередині міхурця, оточеного мембраною, який називається фагосоною. Утворення фагосом – енергозалежний процес і протікає за участю актоміозинової системи. Фагосома, занурюючись у цитоплазму, може зливатися з пізньою ендосоною або лізосоною, в результаті чого поглинута клітиною органічна мікрочастинка, наприклад бактеріальна клітина, перетравлюється. Шляхом фагоцитозу живляться амеби і ряд інших найпростіших. У багатоклітинних тварин і людини до фагоцитозу здатні лише окремі клітини: наприклад, макрофаги сполучної тканини і лейкоцити крові. Ці клітини поглинають бактерії, а також різноманітні тверді частинки, що потрапили в організм, і тим самим захищають його від хвороботворних мікроорганізмів і сторонніх часток.

Піноцитоз – поглинання клітиною рідини у вигляді справжніх і колоїдних розчинів і суспензій. Цей процес в загальних рисах схожий з фагоцитозом: крапля рідини занурюється в утворене поглиблення клітинної мембрани, оточується нею і виявляється укладеною в міхурець діаметром 0,07-0,02 мкм, занурений в гіалоплазму клітини.

Механізм піноцитозу вельми складний. Цей процес здійснюється в спеціалізованих областях поверхневого апарату клітини, які називаються облямованими ямками, які займають близько 2% клітинної поверхні. Облямовані ямки є невеликими **впячиваннями** плазмалеми, поруч з якими в периферичній гіалоплазмі знаходиться велика кількість білка клатріна.

Піноцитоз, завдяки високій концентрації рецепторів в облямованих ямках, забезпечує вибірковість і ефективність транспорту специфічних молекул. Наприклад, концентрація молекул речовин, що транспортуються в облямованих ямках в 1000 разів перевищує концентрацію їх у навколишньому середовищі.

Піноцитоз – основний спосіб транспорту в клітину білків, ліпідів і глікопротеїнів. За допомогою піноцитозу клітина поглинає за добу кількість рідини, що дорівнює своєму об'єму.

Екзоцитоз – процес виведення речовин з клітини. Речовини, що підлягають виведенню з клітини, спочатку розміщуються в транспортні міхурці, зовнішня поверхня яких, як правило, покрита білком клатріном, потім такі міхурці спрямовуються до клітинної мембрани. Тут мембрана міхурців зливається з плазмалею, а вміст їх виливається за межі клітини або, зберігаючи зв'язок з плазмалею, включається в глікокалікс.

Існують два типи екзоцитозу: конститутивний (основний) і регульований.

Конститутивний екзоцитоз безперервно протікає в усіх клітинах організму. Він є основним механізмом виведення з клітини продуктів метаболізму і постійного відновлення клітинної мембрани.

Регульований екзоцитоз здійснюється лише в спеціальних клітинах, що виконують секреторну функцію. Виділяється секрет накопичується в

секреторних міхурцях, а екзоцитоз відбувається тільки після отримання клітиною відповідного хімічного або електричного сигналу. Наприклад, β -клітини острівців Лангерганса підшлункової залози виділяють свій секрет в кров лише при підвищенні в крові концентрації глюкози.

При індукованому екзоцитозі енергія потрібна не лише для транспорту секреторних пухирців до плазмалеми, але і для процесу секреції.

Трансцитоз, або рекреція – це транспорт, при якому відбувається перенесення окремих молекул через клітину. Зазначений вид транспорту досягається за рахунок поєднання ендо- та екзоцитозу.

Прикладом трансцитозу є транспорт речовин через клітини судинних стінок капілярів людини, який може здійснюватися як в одному, так і в іншому напрямках.

ЦИТОПЛАЗМА, ОРГАНОЇДИ ТА ВКЛЮЧЕННЯ (CYTOPLASM, ORGANOIDS AND INCLUSION)

- 1. Загальна характеристика цитоплазми, органоїдів та включень**
- 2. Система синтезу, сегрегації та внутрішньоклітинного транспорту біополімерів**
- 3. Лізосомальна система і пероксисоми**
- 4. Система енергозабезпечення**
- 5. Каркасно-рухова система і її біологічне значення**
- 6. Клітинний центр, або центросома**
- 7. Органели спеціального призначення**

1. Загальна характеристика цитоплазми, органоїдів та включень

Цитоплазма – частина клітини, яка знаходиться між плазматичною мембраною і ядром. Вона складається з гіалоплазми і різноманітних цитоплазматичних структур, які знаходяться в ній.

Гіалоплазма (цитозоль, цитоплазматичний матрикс) – частина цитоплазми, що займає простір між плазмалемою, ядерною оболонкою і іншими внутрішньоклітинними структурами. Вона становить зазвичай близько половини об'єму клітини. Гіалоплазму досить просто отримати у вигляді фракції. Для цього шляхом диференціального центрифугування осаджують із гомогенатів клітин всі важкі компоненти аж до рибосом. Надосадова рідина, яка утворюється при цьому, є розчинним компонентом цитоплазми.

Гіалоплазма являє собою складний колоїдний розчин неорганічних і органічних речовин, здатний до оборотних переходів з менш структурованого стану золь в більш структуроване – гель.

У гіалоплазмі містяться різноманітні хімічні речовини: іони (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Cl^- , PO_4^{3-} і ін.), органічні молекули мономерів (амінокислоти, глюкоза, нуклеотиди та ін.) та полімерів (білки, вуглеводи, різні види рибонуклеїнової кислоти (РНК), гліколіпіди, глікопротеїни, ліпопротеїни та ін.). Колоїд

гіалоплазми володіє буферними властивостями, що створює сприятливі умови для перебігу різноманітних біохімічних реакцій.

При використанні електронного мікроскопа з дуже великою роздільною здатністю в гіалоплазмі вдається розрізнити тонкі фібрили 2-3 нм завтовшки, що перетинають її в різних напрямках і утворюють мікротрабекулярну мережу. Ця мережа пов'язує між собою всі внутрішньоклітинні структури: субмембранний комплекс поверхневого апарату, мембранні органели, мікротрубочки, мікрофіламенти і проміжні філаменти цитоскелету. У точках перетину або з'єднання кінців трабекул мережі розташовуються групи рибосом. Функціональна роль мікротрабекулярної мережі полягає в організації ферментативних комплексів гіалоплазми, що забезпечують ефективну роботу «ферментативних конвеєрів» клітини.

У цитозолі одночасно протікають тисячі різноманітних метаболічних реакцій: гліколізу, синтезу білків, багатьох амінокислот, жирних кислот, нуклеотидів та інших органічних молекул. Вважається, що близько 70% реакцій клітинного метаболізму здійснюється в цитозолі.

Постійний рух гіалоплазми (циклоз) сприяє безперервному переміщенню внутрішньоклітинних структур і речовин.

Цитоплазматичні структури цитоплазми поділяються на включення і органели.

Включення — компоненти цитоплазми, що представляють собою відкладення речовин, тимчасово виведених з обміну або кінцевих його продуктів. У тваринних клітинах до них відносяться запасні поживні речовини: краплі жиру, гранули глікогену та ін. До включень відносять також секреторні гранули в клітинах тварин. Особливий вид включень — залишкові тільця — продукти діяльності лізосом. Включення не грають активну роль в життєдіяльності клітини. Багато з них можуть з'являтися і зникати в залежності від функціонального стану клітини.

Органойди або органели — постійні специфічні структури цитоплазми, що виконують певні функції, необхідні для підтримки життєдіяльності клітини. Їх

поділяють на дві групи: органели загального значення і спеціальні органели.

Органели загального значення є у всіх клітинах і виконують функції, загальні для всіх клітин. До них належать мітохондрії, рибосоми, ендоплазматична сітка, комплекс Гольджі, лізосоми, пероксисоми, цитоскелет і клітинний центр.

Органели спеціального значення є тільки в клітинах якогось певного типу і забезпечують виконання функцій, властивих тільки цим клітинам.

Залежно від того, оточені органели мембраною чи ні, їх поділяють на мембранні і немембранні органели. До мембранних органел належать ендоплазматична сітка, або ендоплазматичний ретикулум; апарат Гольджі, лізосоми і пероксисоми. До немембранних – рибосоми, клітинний центр та цитоскелет.

Подібно органам багатоклітинного організму, органели утворюють функціональні системи, які забезпечують виконання найважливіших функцій клітини. В даний час прийнято виділяти систему синтезу, сегрегації та внутрішньоклітинного транспорту біополімерів, лізосомальну систему, систему енергозабезпечення і опорно-рухову систему.

2. Система синтезу, сегрегації та внутрішньоклітинного транспорту біополімерів

Дана система включає тісно пов'язані між собою в функціональному відношенні органели, до яких відносяться рибосоми, ендоплазматична сітка (ЕПС), апарат Гольджі, секреторні вакуолі і транспортні міхурці. Вона виконує функцію синтезу, перебудови (модифікації), сегрегації (поділу і сортування) і виведення (експорту) з клітини біополімерів, головним чином білків, а також синтезу клітинних мембран.

Рибосоми – дрібні (15-30 нм) немембранні органели, що зустрічаються в клітинах всіх живих організмів. Кількість рибосом в клітині може досягати декількох мільйонів. У рибосомах здійснюється синтез білка. Рибосома, яка активно працює, має округлу або грибоподібну форму і складається з двох

субодиниць: малої субодиниці, що зв'язує інформаційну РНК (мРНК), і великої субодиниці, що каталізує утворення пептидних зв'язків між амінокислотами. Всього до складу рибосом еукаріотичного типу входить близько 80 молекул білка і 4 молекули рибосомальної РНК (рРНК). Рибосомальна РНК синтезується на дезоксирибонуклеїновій кислоті (ДНК) ядерця, а рибосомні білки – в цитоплазмі, звідки вони транспортуються через ядерні пори в ядро. В ядерці рибосомальні білки зв'язуються з рРНК, утворюючи малі і великі субодиниці рибосом, які потім окремо переносяться через ядерні пори з ядра в цитоплазму, де відбувається формування функціонально зрілих рибосом.

Більша частина рибосом (полісом), що активно функціонують, знаходиться в цитоплазмі у вільному стані, інша ж їх частина пов'язана з мембранами ендоплазматичної сітки. Будова тих і інших рибосом ідентична, і вони можуть мінятися місцями залежно від функціональної активності клітини.

Рибосоми, що знаходяться в цитоплазмі у вільному стані, виробляють білки для потреб самої клітини. Тут синтезуються білки цитозоля, ядерні білки, більшість мітохондріальних білків, білки цитоскелета і пероксисом. Синтез усіх перерахованих типів білків починається і закінчується в цитоплазмі, і потім вони посттрансляційно за допомогою внутрішньоклітинних білкових комплексів переносяться «за адресами». Така адресність транспорту білків, синтезованих вільними рибосомами, досягається завдяки тому, що всі вони мають в своєму складі специфічні «сигнальні» послідовності амінокислот, відповідно до яких вони розподіляються в клітині.

Рибосоми, пов'язані з мембранами ендоплазматичної сітки, синтезують мембранні білки клітини, ферменти лізосом, а також білки, які призначені на експорт, в тому числі білки позаклітинного матриксу.

Ендоплазматична сітка (ендоплазматичний ретикулум) – розгалужена система з'єднаних між собою мембранних цистерн, трубочок і везикулярних утворень, що являють собою єдиний безперервний компартмент (від англ. compartment – комірка, кімната, обмежений простір), відокремлений від гіалоплазми одинарною мембраною (рис. 3).

На частку ЕПС припадає понад 50% площі всіх клітинних мембран.

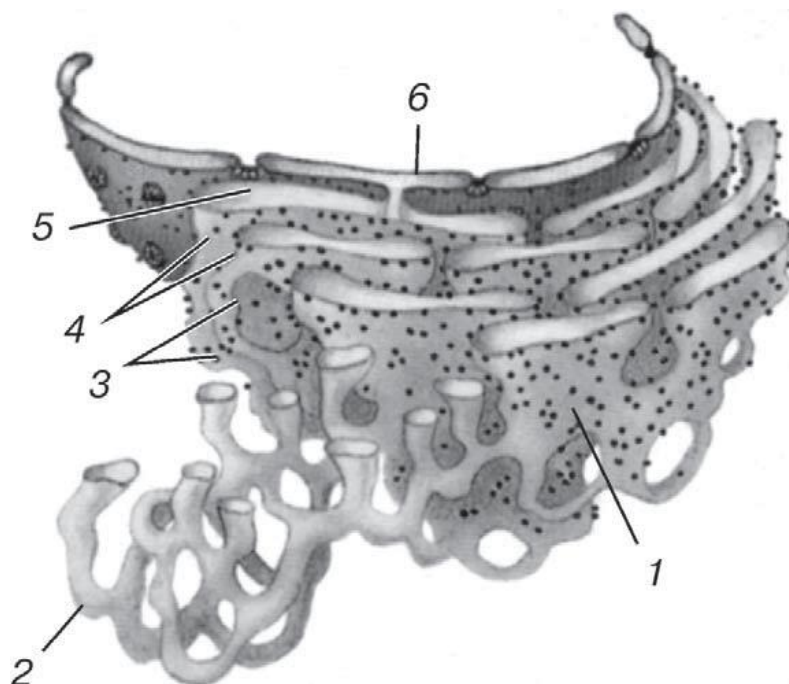


Рис. 3. Схема будови ендоплазматичної сітки:

1 – гранулярна ЕПС; 2 – гладка ЕПС; 3 – рибосоми; 4 – цистерни;

5 – порожнина цистерни; 6 – ядерна мембрана

ЕПС розділяє цитоплазму на окремі відсіки (компарменти), в яких одночасно можуть протікати не сумісні один з одним хімічні процеси.

По каналах ЕПС здійснюється упорядкований транспорт речовин між різними компарментами клітини, завдяки чому клітина функціонує як єдина система. Форма і розміри ЕПС постійно змінюються в залежності від функціонального стану клітини.

Існують два типи ЕПС – гранулярна (зерниста, шорстка) і гладка, які утворюють єдину структуру.

Гранулярна ендоплазматична сітка (грЕПС) відрізняється наявністю на зовнішній стороні мембрани, зверненої до гіалоплазми, рибосом і полісом.

Порожнина грЕПС сполучається з перинуклеарним простором, а мембрана її безпосередньо пов'язана з зовнішньою мембраною ядра (рис. 4).

На рибосомах грЕПС синтезуються секреторні білки, призначені для виведення з клітини, а також білки лізосом і позаклітинного матриксу.

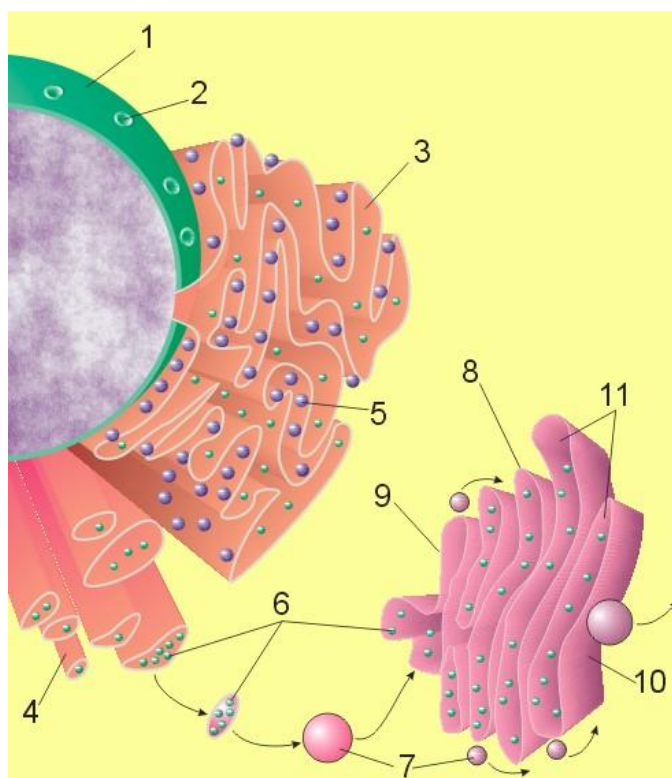


Рис. 4. Схематичне представлення клітинного ядра, ЕПС і комплексу

Гольджі: 1 – ядро клітини, 2 – пори ядерної мембрани, 3 – шорсткий (гранулярний) ендоплазматичний ретикулум, 4 – гладкий (агранулярний) ендоплазматичний ретикулум, 5 – рибосоми на поверхні шорсткого ендоплазматичного ретикулума, 6 Білки, що транспортуються. (7) Транспортні везикули. (8) Комплекс Гольджі.

У порожнині ЕПС синтезовані водорозчинні білки піддаються фолдингу³ і глікозилюванню шляхом приєднання до білків бічних одотипних олігосахаридних ланцюжків.

У результаті фолдингу білки набувають специфічну конформацію і в складі транспортних міхурців, що відділяються від мембрани ЕПС, транспортуються в комплекс Гольджі, де піддаються подальшим модифікаціям і сортуванню.

Поряд з секреторними білками на грЕПС синтезується велика частка інтегральних та напівінтегральних мембранних білків. В ЕПС відбувається

³ **фóлдингом білка** (від [англ.](#) *folding*) називають процес спонтанного згортання поліпептидного ланцюга в унікальну нативну просторову структуру (так звана третинна структура)

також синтез мембранних ліпідів і здійснюється «збірка» компонентів мембрани.

Агранулярна (гладка) ЕПС являє собою замкнуту мережу трубочок, каналців, цистерн і везикулярних утворень розміром 50-100 нм і утворюється, очевидно, з гранулярної ЕПС.

На цитоплазматичній поверхні гладкої ЕПС синтезуються жирні кислоти, холестерол і велика частка ліпідів клітини, в тому числі майже всі ліпіди, необхідні для побудови клітинних мембран. Тому гладку ЕПС нерідко називають «фабрикою ліпідів».

Комплекс Гольджі (КГ) або апарат Гольджі – пластинчастий комплекс, розташований поблизу ядра, між ЕПС і плазмалею. Його структурно-функціональна одиниця – діктіосома являє собою стопку з 5-20 плоских одномембранних мішечків (цистерн), що мають діаметр близько 1 мкм, внутрішні порожнини яких не сполучаються одна з одною. Кількість таких мішечків в стосі зазвичай не перевищує 5-10, а відстань між ними складає 20-25 нм. У тваринних клітинах діктіосоми зазвичай пов'язані в загальну сітку, а в рослинних клітинах вони розташовані окремо.

У кожній діктіосомі розрізняють три частини: проксимальну (cis-полюс), звернену до ЕПС, медіальну і дистальну (trans-полюс), звернену до плазмалеми.

До дистальної цистерни транс-полюса примикають численні трубочки і міхурці, що утворюють транс-мережу апарату Гольджі.

В КГ здійснюється хімічна модифікація білків, що транспортуються. Цей процес відбувається поетапно у міру транспорту білків від цис- до транс-полюсу КГ, кожна цистерна якого містить характерний для неї набір ферментів.

У транс-мережі здійснюється сортування білків і упаковка їх в мембранні міхурці, вкриті клатріном.

Білки, призначені для експорту, поміщаються в одні міхурці, лізосомні білки – в інші, мембранні білки – в треті. В спеціальні міхурці упаковуються також білки, властиві ЕПС, наприклад ферменти фолдингу, які випадково опинилися в КГ.

Сортування білків здійснюється за допомогою вбудованих у мембрану транс-мережі КГ особливих білків-рецепторів, здатних специфічно взаємодіяти з певними хімічними угрупованнями – маркерами молекул білків, що відбираються.

3. Лізосомальна система і пероксисоми

Лізосоми – мембранні органели клітин тварин і грибів, що містять гідролітичні ферменти і здійснюють гідролітичні розщеплення макромолекул (внутрішньоклітинне травлення). Лізосоми являють собою оточені одинарною мембраною міхурці, розміри яких в клітинах тварин коливаються від 0,2 до 0,5 мкм. У лізосомах міститься не менше 60 гідролітичних ферментів: протеаз, глікозидаз, ліпаз, нуклеаз і ін., які розщеплюють всі основні класи органічних макромолекул.

Завдяки наявності в мембрані органел білків-переносників, низькомолекулярні сполуки, які утворюються в процесі перетравлення, з лізосом переносяться в гіалоплазму. Кількість лізосом у різних клітинах варіює від одиниць до декількох сотень, як наприклад у фагоцитах.

Відповідно до сучасних уявлень, формування лізосом тісно пов'язане з процесами ендоцитозу. Процес перетравлення лізосомами позаклітинних речовин, захоплених шляхом ендоцитозу, називається гетерофагією.

Крім гетерофагії, в лізосомах протікають процеси аутофагії, в ході яких білки клітин, а також клітинні структури, що використали свій ресурс, або продукти їх розпаду руйнуються до найпростіших органічних сполук, здатних вступати в різноманітні реакції обміну речовин.

Лізосоми за допомогою своїх ферментів можуть руйнувати не тільки окремі органели або клітини, а й цілі органи (автоліз). Наприклад, у процесі онтогенезу жаби за допомогою ферментів лізосом лізуються хвіст і зябра пуголовка, а продукти розпаду, які при цьому утворюються, використовуються для формування органів дорослої тварини.

Пероксисоми за своєю будовою схожі з лізосомами, однак відрізняються

від них за виконуваними функціями і способом утворення. Пероксисоми являють собою мембранні сферичні або подовжені міхурці діаметром 0,05-1,5 мкм, у внутрішньому вмісті (матриксі) яких за допомогою електронного мікроскопа виявляється більш щільна серцевина (нуклеоїд), що має кристалічну будову і складається з фібрил і трубочок.

Кількість пероксисом в клітинах різного типу широко варіює.

Матрикс пероксисом містить близько 50 ферментів, склад яких у клітинах різного типу значно відрізняється. Найбільше значення з вказаних ферментів мають оксидази амінокислот та інших органічних сполук, пероксидаза, каталаза.

Пероксисоми отримали свою назву завдяки тому, що оксидази, які входять до їх складу, використовують молекулярний кисень для відщеплення атомів водню від деяких органічних субстратів з утворенням перекису водню (H_2O_2). З цієї причини пероксисоми, поряд з мітохондріями, є головними споживачами O_2 в клітині.

Пероксид, що виділяється в ході зазначеної реакції, каталаза використовує для окислення органічних речовин.

У пероксисомах руйнується також пероксид, що утворюється в мітохондріях та інших компартментах клітини, де протікають окислювальні реакції.

Таким чином, нейтралізація пероксиду є однією з найважливіших функцій пероксисом.

Утворення пероксисом відбувається в ЕПС шляхом відбруньковування цих органел від елементів гладкої ЕПС.

4. Система енергозабезпечення

Мітохондрії – великі мембранні органели клітини, які можна розрізнити в світловий мікроскоп (рис. 5). Мітохондрії присутні у всіх еукаріотичних клітинах людини, крім еритроцитів і кератиноцитів. Вони мають зазвичай округлу, подовжену або ниткоподібну форми. Іноді, наприклад в м'язових

волокнах, мітохондрії розгалужуються, утворюючи складні тривимірні структури. Кількість мітохондрій у клітині коливається в широких межах (від 1 до 100 тис. і більше) і залежить від потреб клітини в енергії. Мітохондрії мають зовнішню і внутрішню мембрани, між якими розташовується вузький (10-20 нм) перимітохондріальний (міжмембранний) простір.

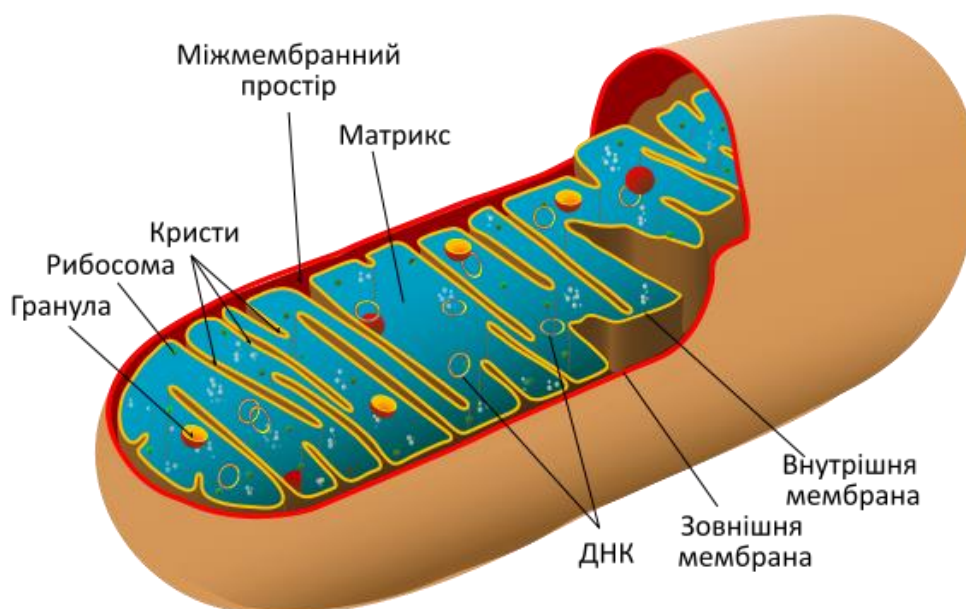


Рис. 5. Будова мітохондрії

Мембрани складаються з подвійного шару фосфоліпідів і білків. Ці дві мембрани схожі, проте, мають різні властивості. Зовнішня мембрана гладенька, вона не утворює ніяких складок і виростів, товщиною 7 нм. Внутрішня мембрана утворює численні складки, спрямовані в порожнину мітохондрії, товщиною 7 нм. Через цю двомембранну організацію мітохондрія фізично розділена на 5 відділів. Це зовнішня мембрана, міжмембранний простір (простір між зовнішньою і внутрішньою мембранами, 10 нм), внутрішня мембрана, криста (сформована складками внутрішньої мембрани) і матрикс (простір в межах внутрішньої мембрани). Мітохондрія має розмір від 1 до 10 мікрон.

Зовнішня мітохондріальна мембрана, що оточує всю органелу, має співвідношення фосфоліпідів до білків подібне до плазматичної мембрани еукаріот (близько 1:1 за вагою). Вона містить численні інтегральні білки — порини, які мають відносно великий внутрішній канал (близько 2-3 нм), що

пропускає всі молекули від 5000 Да (а.о.м.) та менше. Більші молекули можуть перетнути зовнішню мембрану тільки за допомогою активного транспорту. Зовнішня мембрана також містить ферменти, залучені в такі різноманітні процеси як подовження жирних кислот, окиснення адреналіну і біодеградація триптофану.

Міжмембранний простір – це простір між зовнішньою та внутрішньою мембраною мітохондрії. Оскільки зовнішня мембрана мітохондрії проникна для невеликих молекул та іонів, їх концентрація в периплазматичному просторі мало відрізняється від їхньої концентрації в цитоплазмі. Для транспортування великих білків, навпаки, необхідні специфічні сигнальні пептиди; тому білкові компоненти периплазматичного простору та цитоплазми відрізняються. Одним із білків, що містяться у периплазматичному просторі, є цитохром с – один з компонентів дихального ланцюга мітохондрій.

Внутрішня мітохондріальна мембрана містить білки з чотирма видами функцій:

- Білки, що проводять окиснювальні реакції респіраторного ланцюжка.
- АТФ-синтаза, яка виробляє в матриці АТФ.
- Специфічні транспортні білки, які регулюють проходження метаболітів між матрицею і цитоплазмою.
- Системи імпорту білків.

Внутрішня мембрана містить більш ніж 100 різних поліпептидів і має дуже високе співвідношення фосфоліпідів до білків (більш ніж 3:1 за вагою, тобто приблизно 1 білок на 15 молекул фосфоліпідів). Додатково, внутрішня мембрана багата на незвичайний фосфоліпід кардіоліпін, який є зазвичай характеристикою бактерійних плазматичних мембран. На відміну від зовнішньої мембрани, внутрішня мембрана не містить поринів і тому надзвичайно непроникна; майже всі іони і молекули вимагають спеціальних мембранних транспортних білків для проникнення до та з матриксу. Крім того, через внутрішню мембрану підтримується мембранний потенціал.

Внутрішня мембрана розділяється на численні кристи, які розширюють

зовнішню область внутрішньої мітохондріальної мембрани, збільшуючи її здатність виробляти АТФ. У типовій мітохондрії печінки, наприклад, зовнішня область, зокрема кристи, приблизно у п'ять разів перевищує площу зовнішньої мембрани. Мітохондрії клітин які мають вищі потреби в АТФ, наприклад, м'язові клітини, містять більше крист, ніж типова мітохондрія печінки.

Матрикс – простір, обмежений внутрішньою мембраною. Матрикс містить надзвичайно сконцентровану суміш сотень ферментів, на додаток до спеціальних мітохондріальних рибосом, тРНК і декількох копій мітохондріальної ДНК. Головні функції ферментів включають окиснення пірувата і жирних кислот, та цикл трикарбонових кислот.

Мітохондрії мають свій власний генетичний матеріал і системи для виробництва власної РНК і білків. Ця нехромосомна ДНК кодує нечисленні мітохондріальні пептиди (13 у людини), що використовуються у внутрішній мітохондріальній мембрані разом з білками, що кодуються генами клітинного ядра.

Мітохондріальна ДНК має не лінійну, як в хромосомах ядра, а кільцеву форму. Вона кодує приблизно 5% всіх білків мітохондрій. Решта 95% мітохондріальних білків кодуються ядерною ДНК і синтезуються на вільних рибосомах в цитоплазмі клітини.

Головна функція мітохондрій – синтез АТФ, основного джерела енергії для забезпечення життєдіяльності клітини. Тому мітохондрії називають «енергетичними станціями» клітини. До побічних функцій мітохондрій відносяться синтез деяких амінокислот (глутамінової амінокислоти, цитруліна), стероїдних гормонів, а також активне накопичення іонів Ca^{2+} . Велику роль мітохондрії грають у процесах апоптозу.

Утворюються мітохондрії шляхом ділення надвоє, внутрішнього і зовнішнього брунькування.

5. Каркасно-рухова система і її біологічне значення

Каркасно-рухова система (цитоскелет) клітини, подібно скелету і м'язовій

системі організму, здійснює фіксацію складових частин клітини в певному положенні і забезпечує клітинні форми руху. Велику роль ця система відіграє також в процесах, пов'язаних з поділом клітини. Опорно-рухова система клітини утворена трьома основними елементами: мікотрубочками, мікрофіламентами і проміжними філаментами.

Зазначені елементи входять також до складу ряду інших більш складно організованих органел (війок, джгутиків, мікворосинок, клітинного центру) і клітинних з'єднань (десмосом і ін.).

Мікотрубочки – порожнисті циліндри діаметром 22-28 нм, довжина яких широко варіює. Їх стінка складається зі спіралеподібно укладених ниток – протофіламентів товщиною 5 нм, утворених глобулярними білками – тубулінами.

Мікотрубочки дуже лабільні структури, які постійно перебувають у стані полімеризації та деполімеризації їх кінцевих ділянок.

Мікотрубочки забезпечують внутрішньоклітинний транспорт і спрямоване переміщення секреторних, транспортних міхурців, органел та інших структур клітини. У клітинах тварин мікотрубочки беруть участь в утворенні центріолей, базальних тілець, аксонів, війок і джгутиків. У клітинах, що діляться вони утворюють веретено поділу.

Мікрофіламенти являють собою тонкі білкові нитки діаметром 5-7 нм, що складаються з двох спіралью закручених ниток, утворених глобулярним білком – актином. На частку цього білка припадає понад 10% всіх білків клітини.

Мікрофіламенти забезпечують скоротливі функції. Беруть участь в утворенні псевдоподій, скорочувального кільця при діленні клітини.

Беруть участь у формуванні мікворосинок і структур, що забезпечують міжклітинні контакти.

Проміжні філаменти утворені жорсткими і міцними білковими волокнами, перевитими попарно або по троє між собою, які з'єднуються бічними сшивками в довгий тяж, схожий на канат. За своїм діаметром (8-10 нм)

займають проміжне положення між мікрофіламентами і мікротрубочками. На відміну від мікротрубочок і мікрофіламентів, полімерні молекули яких побудовані з одного типу мономерів, проміжні філаменти складаються з різних білків, специфічних для різних типів клітин.

Проміжні філаменти, порівняно з мікротрубочками і мікрофіламентами, відрізняються великою стабільністю і стійкістю. Розташовуються проміжні філаменти в цитоплазмі клітин зазвичай паралельно поверхні клітинного ядра.

Проміжні філаменти підтримують форму клітини і протистоять розтягуючим механічним впливам. Крім того, вони утримують, «заякорюють» ядро і деякі органели в клітині.

6. Клітинний центр, або centrosома

Клітинний центр – немембранний органоїд, утворений двома центріолями і центросферою. Кожна центріоль має форму порожнистого циліндра довжиною близько 0,3-0,5 мкм і шириною 0,15 мкм, в стінці якого по колу розташовані дев'ять триплетів мікротрубочок (рис. 6).

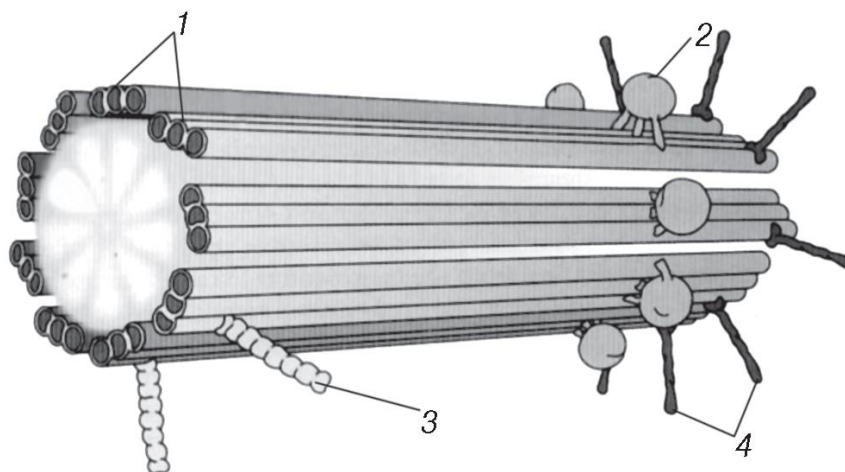


Рис. 6. Схема будови центріолі: 1 – триплети мікротрубочок, 2 – сателіти, 3 – центринова нитка, 4 – придатки

У центральній частині центріолі знаходиться однорідна речовина, мікротрубочки відсутні. Кожен триплет центріолі пов'язаний зі сферичними тільцями діаметром 75 нм – сателітами і придатками.

Від сателітів радіально у вигляді променів, що розходяться йдуть численні мікротрубочки цитоскелета. Вони утворюють зону, що позначається як центросфера.

На одному з кінців центріолей розташовуються нитки, що складаються з білка центріна, за допомогою яких центріолі зв'язуються одна з одною.

У клітині, що не ділиться є одна пара центріолей (диплосома), яка зазвичай розташовується поблизу ядра. При підготовці клітини до поділу в синтетичний період інтерфази відбувається дуплікація (подвоєння) центріолей.

Нова дочірня центріоль утворюється шляхом полімеризації тубулінів і розташовується перпендикулярно до материнської центріолі. Дочірня центріоль спочатку містить 9 одиничних мікротрубочок, і лише пізніше формуються характерні для неї триплетні структури. У профазу мітозу диплосоми розходяться до полюсів клітини, де вони служать центрами утворення мікротрубочок ахроматинового веретена поділу. Основна функція центріолей – формування веретена поділу.

Клітинний центр відсутній у вищих рослин, нижчих грибів і деяких найпростіших.

Експерименти по руйнуванню центросоми лазерним променем показують, що її наявність може бути не обов'язковою для нормальної життєдіяльності клітини. Багато клітин можуть повністю проходити інтерфазу без центросоми. Більш того, є дані про те, що при руйнуванні центросоми клітина може формувати нормальне веретено поділу і завершувати мітоз.

7. Органели спеціального призначення

Органели спеціального призначення, наприклад війки та джгутики, є не у всіх, а лише у деяких типів клітин.

Війки – органели руху, довжина яких становить 2-10 мкм, а товщина – 0,25 мкм. Війка – це покритий плазмалеомою виріст цитоплазми клітини, основу якого складає каркас з мікротрубочок, який називається осьюовою ниткою або аксонемою.

Аксонема являє собою циліндр, стінка якого побудована з 9 пар периферичних мікротрубочок, пов'язаних між собою на різних рівнях

«ручками», що складаються з білка динеїна. У центрі аксоними розташовуються дві мікротрубочки, оточені центральною оболонкою.

В основі кожної війки лежить базальне тільце, за своєю будовою схоже на центріолі.

Війки зазвичай численні (до декількох сотень і тисяч на клітину) і розташовуються паралельними рядами, але зустрічаються клітини, що мають одиничні війки.

Координовані коливальні рухи рядів війок викликають переміщення клітини в навколишній рідині або, якщо клітина фіксована, створюють потік рідини уздовж поверхні клітини.

У хребетних (у тому числі людини) в багатьох органах теж є клітини з рухомими війками. У людини війчастим епітелієм вистелені, наприклад, дихальні шляхи.

Джгутики зазвичай довші війок (до 150 мкм). Будова джгутиків і війок схожа, оскільки вони мають загальне походження. На відміну від війок, джгутики здійснюють хвилеподібні або обертальні рухи на зразок пропелера.

Джгутики прокаріотів і еукаріотів різко відрізняються за своєю будовою, наприклад, бактеріальний джгутик має товщину 10-20 нм і довжину 3-15 $\mu\text{м}$, він пасивно обертається розташованим в мембрані мотором; тоді як джгутики еукаріотів мають товщину до 200 нм і довжину до 200 мкм, вони можуть самостійно згинатися на всій довжині.

Сферосоми – це мембранні пухирці, що зустрічаються в клітинах рослин. Вони фарбуються ліпофільними барвниками, мають високий коефіцієнт заломлення і тому їх добре видно під світловим мікроскопом.

Сферосоми утворюються з елементів ЕПР. На кінці цистерни ЕПР починає накопичуватися осміофільний⁴ матеріал, потім від цієї ділянки відшнуровується і починає рости невеликий пухирець, що досягає діаметра 0,1-0,5 мкм. Це «просферосома», оточена одинарною мембраною. Ріст сферосом і

⁴ даний термін застосовується для характеристики тканин, які легко фарбуються за допомогою тетраоксиду осмію

перебудова їх вмісту пов'язані з накопиченням у них масла, так що сферосома поступово перетворюється в масляну краплю. Відкладення ліпідів починається між осміофільними шарами мембрани. Крім жирів у складі сферосом виявляють білки і серед них фермент ліпазу, що розщеплює ліпіди.

Вакуолі рослинних клітин. Клітини як нижчих, так і вищих рослинних організмів містять в цитоплазмі вакуолі, що несуть ряд важливих фізіологічних навантажень. У молодих клітин може бути кілька дрібних вакуолей, які в міру зростання і диференціювання клітини зливаються одна з одною і утворюють одну або кілька великих вакуолей, що займають до 90% об'єму всієї клітини. Ці центральні вакуолі відокремлені від цитоплазми одинарною мембраною, схожою по товщині з плазмалемою. Мембрана, що обмежує центральні вакуолі, називається *тонопласт*. Центральні вакуолі утворюються з дрібних бульбашок, що відщепилися від апарату Гольджі.

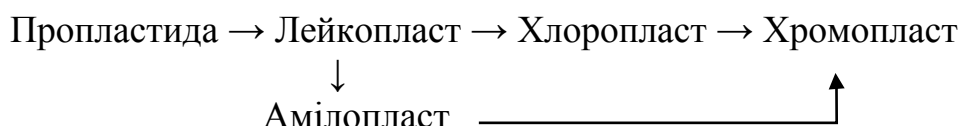
Такі первинні вакуолі збільшуються в об'ємі, зливаються одна з одною і в кінці кінців утворюють одну або кілька великих вакуолей, відтісняють цитоплазму з ядром і органоїдами до периферії клітини. Порожнина вакуолі заповнена так званим клітинним соком, що представляє собою водний розчин, в який входять різні неорганічні солі, цукри, органічні кислоти і їх солі та інші низькомолекулярні сполуки, а також деякі високомолекулярні речовини (наприклад, білки).

Центральні вакуолі рослин виконують різноманітні і важливі функції. Однією з головних їх функцій є підтримка тургорного тиску клітин. Розчинені в соку вакуолей молекули визначають його осмотичну концентрацію.

Інша функція визначається тим, що вакуоль являє собою велику порожнину, відокремлену від гіалоплазми мембраною (тонопластом), що володіє властивостями напівпроникності. Тому вакуолі можуть використовуватися клітинами в якості накопичувальних резервуарів, де не тільки відкладаються запасні речовини, але і збираються метаболіти, призначені для екскреції. Так виводяться (секретуються) з клітини всі водорозчинні метаболіти.

Інший великий ряд функцій вакуолей пов'язаний із накопиченням запасних речовин, таких як цукри та білки.

Пластиди – це мембранні органели, що зустрічаються в еукаріотичних організмів, здатних до фотосинтезу (вищі рослини, нижчі водорості, деякі одноклітинні організми). Подібно до мітохондрій, пластиди оточені двома мембранами, в їх матриксі є власна геномна система, функції пластид пов'язані з енергозабезпеченням клітини, що йде на потреби фотосинтезу. У вищих рослин знайдено цілий набір різних пластид (хлоропласт, лейкопласт, амілопласт, хромопласт), що являють собою ряд взаємних перетворень одного виду пластиди в інший. Основною структурою, яка здійснює фотосинтетичні процеси, є хлоропласт.



Хлоропласт. Будова хлоропласта в принципі нагадує будову мітохондрії. Зазвичай це структури подовженої форми з шириною 2-4 мкм і довжиною 5-10 мкм. У зелених водоростей зустрічаються гігантські хлоропласти (хроматофори), що досягають довжини 50 мкм. Кількість хлоропластів в клітинах різних рослин не стандартна. Так, у зелених водоростей може бути по одному хлоропласту на клітину. Зазвичай на клітину вищих рослин доводиться в середньому 10-30 хлоропластів. Зустрічаються клітини з величезною кількістю хлоропластів. Наприклад, в гігантських клітинах тканини махорки виявлено близько 1000 хлоропластів.

Хлоропласти являють собою структури, обмежені двома мембранами – внутрішньою і зовнішньою. Зовнішня мембрана, як і внутрішня, має товщину близько 7 мкм, вони відокремлені одна від одної міжмембранним простором близько 20-30 нм. Внутрішня мембрана хлоропластів відокремлює строму пластиди, аналогічну матриксу мітохондрій. В стромі зрілого хлоропласта вищих рослин видно два типи внутрішніх мембран. Це мембрани, що

утворюють плоскі, протяжні ламелли строми, і мембрани тилакоїдів – плоских дископодібних вакуолей, або мішків.

У матриксі (стромі) хлоропластів виявляються молекули ДНК, рибосоми; там же відбувається первинне відкладення запасного полісахариду – крохмалю, у вигляді крохмальних зерен.

Хлоропласти – це структури, в яких здійснюються фотосинтетичні процеси, що призводять у кінцевому підсумку до зв'язування вуглекислоти, до виділення кисню і синтезу цукрів.

Характерним для хлоропластів є наявність у них пігментів хлорофілів, які і надають забарвлення зеленим рослинам. За допомогою хлорофілу зелені рослини поглинають енергію сонячного світла і перетворюють її в хімічну.

Подібно до мітохондрій, хлоропласти мають власну генетичну систему, що забезпечує синтез ряду білків усередині самих пластид. У матриксі хлоропластів виявляються ДНК, різні РНК і рибосоми.

СИСТЕМА ЗБЕРЕЖЕННЯ, ВІДТВОРЕННЯ І РЕАЛІЗАЦІЇ ГЕНЕТИЧНОЇ ІНФОРМАЦІЇ

(SYSTEM OF PRESERVATION, REPRODUCTION AND IMPLEMENTATION OF GENETIC INFORMATION)

1. Будова ядра

2. Хроматин

1. Будова ядра

Система збереження, відтворення і реалізації генетичної інформації представлена ядром. Ядро – найбільша структура еукаріотичної клітини – має, як правило, округлу або овальну форму. У клітинах з високою фізіологічною активністю (залозисті клітини, деякі лейкоцити) ядра приймають лопатеву або ще більш складну сегментовану форму, що збільшує відношення площі поверхні цієї структури до її об'єму.

Розміри ядра коливаються від 1 мкм (у деяких найпростіших) до 1 мм (в яйцях деяких риб і земноводних). У клітинах більшості еукаріот міститься одне ядро. Однак зустрічаються і багатоядерні клітини, які утворюються внаслідок поділу клітин, що не супроводжується цитотомією, або злиття декількох одноядерних клітин. Такі структури називають симпластами. Деякі клітини, як, наприклад, еритроцити, зовсім не мають ядер.

До складу ядра входять поверхневий апарат, каріоплазма, ядерний матрикс і генетичний матеріал, представлений у клітинах, які не діляться, еухроматином і гетерохроматином.

У свою чергу, **поверхневий апарат ядра** включає ядерну оболонку, ядерний поровий комплекс і периферичну щільну пластинку, або ламіну (рис. 7).

Ядерна оболонка, або каріолема, складається з двох мембран, розділених перинуклеарним простором розміром 20-40 нм. Зовнішня ядерна мембрана

пов'язана з мембранами шорсткого ендоплазматичного ретикулума і всіяна рибосомами, які беруть участь у синтезі білків.

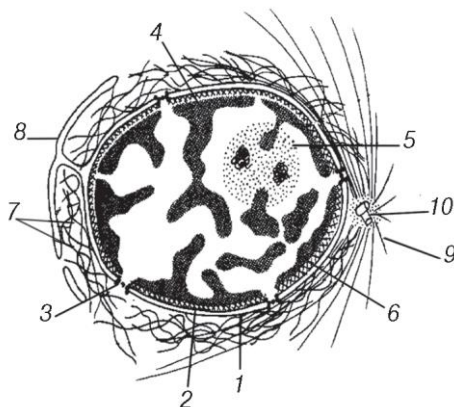


Рис. 7. Схема будови ядра еукаріотичної клітини:

1 – зовнішня ядерна мембрана; 2 – внутрішня ядерна мембрана; 3 – ядерна пора; 4 – гетерохроматин; 5 – ядерце; 6 – ламіна; 7 – проміжні філаменти; 8 – ендоплазматична сітка; 9 – мікротрубочка; 10 – центріолі

Перинуклеарний простір сполучається з порожниною шорсткої ендоплазматичної сітки. У мембранах ядерної оболонки є велика кількість різних ферментів, що свідчить про її активну метаболічну функцію. По всій поверхні ядерної мембрани розташовані ядерні пори, кількість яких може досягати 2000-4000. В області країв пори зовнішня і внутрішня мембрани зливаються з утворенням округлого отвору діаметром 120 нм. У порах розташовуються складні білкові структури, які називаються ядерними поровими комплексами.

Ядерний поровий комплекс являє собою супрамолекулярну структуру, що включає близько 1000 білків-нуклеопорінов, маса якої в 30 разів більша за масу рибосоми.

Через ядерні пори з цитоплазми в ядро транспортуються молекули гістонів, білкові фактори транскрипції, ДНК, РНК-полімерази та інші ферменти, що беруть участь у синтезі ДНК і РНК. З ядра в цитоплазму експортуються різні види РНК, а також малі та великі субодиниці рибосом.

Іони і малі нейтральні білки проникають через ядерний поровий комплекс за допомогою дифузії. Великі молекули білків (ДНК і РНК-полімерази та ін.) переносяться через центральний канал ядерної пори тільки в складі транспортних комплексів і з витратою енергії.

Периферична щільна пластинка, або ядерна ламіна, пов'язана з внутрішньою поверхнею внутрішньої ядерної мембрани за допомогою спеціальних білків на всій її довжині, за виключенням пор.

До ламіни приєднуються своїми центромерними і тіломерними ділянками нитки хроматину (хромосом), що забезпечує впорядковане розташування їх в ядрі. З ламіною з'єднуються також тонкі ламінові фібрили, товщиною 2-3 нм, які пронизують каріоплазму ядра і утворюють ядерний матрикс. Ламіна – лабільна структура. У профазі мітозу під дією ферментів ламіна руйнується. На завершальному етапі мітозу вихідна структура ламіни відновлюється.

Ламіна разом з ядерним матриксом формують єдину систему каріоскелета. Каріоскелет підтримує форму ядра і забезпечує певне розташування хромосом в просторі.

Таким чином, поверхневий апарат ядра, або каріотека, забезпечує ізоляцію вмісту ядра від гіалоплазми, завдяки чому досягається розділення в просторі і часі процесів транскрипції і трансляції, а також здійснює регульований обмін речовинами між ядром і цитоплазмою. Розділення у часі і просторі транскрипції і трансляції служить основою для протікання складних процесів дозрівання РНК і грає велику роль у регуляції експресії еукаріотичних генів. Крім того, поверхневий апарат оберігає ядерну ДНК від впливу на неї жорстких структур цитоскелету і руйнівних ферментних систем цитоплазми.

Каріоплазма (нуклеоплазма або ядерний сік), являє собою желеподібний розчин, в якому знаходяться різноманітні білки, нуклеотиди і іони. Хімічний склад її в основному схожий зі складом гіалоплазми, хоча є і деякі відмінності.

У каріоплазму занурені хроматин і ядерце, в ній розташовується також ядерний матрикс.

Ядерце – структурний елемент ядра, що не ділиться, який складається з субодиниць рибосом, що дозрівають і фібрил ядерного матриксу, з'єднаних з центромерними ділянками хромосом, що несуть безліч копій генів рРНК. Такі ділянки хромосом називаються ядерцевими організаторами.

Ядерце виявляється тільки в період інтерфази і зникає в профазі мітозу, коли ядерцеві організатори «розтягуються» в ході конденсації відповідних хромосом; знову формування ядерця відбувається в телофазі мітозу.

Основна функція ядерця – синтез і процесинг рРНК та збирання субодиниць рибосом.

Розміри і кількість ядерця збільшуються при підвищенні функціональної активності клітини. Особливо великі ядерця характерні для клітин, що активно синтезують білки.

2. Хроматин

Генетичний матеріал ядра являє собою хроматин.

Хроматин складається з дезоксирибонуклеопротейнів (комплексу ДНК з білками) і являє собою сукупність всіх хромосом інтерфазного ядра клітини. Білки хроматину за фізико-хімічними властивостями і біологічною активністю поділяють на дві групи: основні (гістонові) білки, на їх частку припадає 60-80% маси всіх хромосомних білків, і кислі (негістонові) білки.

Гістонові білки включають 5 головних видів білків (Н1, Н2А, Н2В, Н3 і Н4), що містять велику кількість позитивно заряджених амінокислотних залишків, і характеризуються основними (лужними) властивостями. Завдяки цьому вони утворюють стійкі комплекси з молекулами ДНК, фосфатні групи яких несуть негативний заряд.

Гістонові білки забезпечують просторову організацію (компактизацію) хроматину. Вони беруть участь також у регуляції активності генів.

Негістонові білки досить різноманітні. Їх якісний і кількісний склад залежать від типу і функціонального стану клітини. Негістонові білки беруть

участь в реплікації і репарації ДНК, синтезі РНК, регуляції активності генів та ін.

Хроматин ядра має певну просторову організацію, що характеризується його компактизацією, або спіралізацією. Необхідність компактизації хроматину визначається великою довжиною молекул ДНК.

Виділяють кілька рівнів спіралізації (компактизації) хроматину: нуклеосомний, нуклеомірний, хромомірний і хромонемний.

Нуклеосомний рівень організації хроматину характеризується утворенням нуклеосом. Зазначений рівень організації хроматину забезпечується чотирма видами білків гістонів (H2A, H2B, H3, H4), що утворюють дископодібні білкові частинки – кори, що складаються з 8 молекул гістонів (по дві молекули кожного виду гістонів).

Молекула ДНК, спіралью накручуючись на кори, комплексується з ними і утворює структуру, що нагадує нитку бус. При цьому тісно контактує з кожним кором відрізок ДНК довжиною 146 пар нуклеотидів (корова ДНК).

Ділянки ДНК, розташовані між сусідніми коровими частинками, називають сполучними або лінкерними.

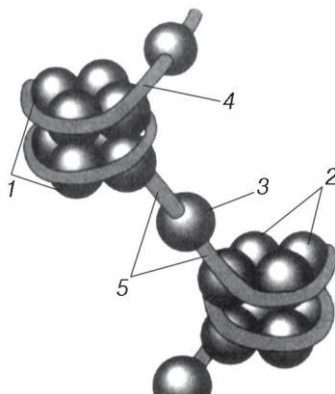


Рис. 8. Схема будови нуклеосом:

1 – корова частка; 2 – гістонові білки; 3 – гістоновий білок H1; 4 – ДНК, пов'язана з кором; 5 – лінкерна ДНК.

З кожною лінкерною ділянкою, що нараховує в середньому 60 пар нуклеотидів, пов'язана одна молекула білка гістона H1. Відрізок молекули ДНК

довжиною приблизно 200 пар нуклеотидів, що складається з корової та лінкерної ДНК, разом з білковим кором становить нуклесому (рис. 9). Діаметр нуклеосоми дорівнює 11 нм. Таким чином, в основі нуклеосомного рівня організації хроматину лежить нитка – нуклеосомна фібрила, що складається з ланцюжка повторюваних одиниць – нуклеосом. Молекула ДНК у складі нуклеосомної нитки бере участь у процесах транскрипції.

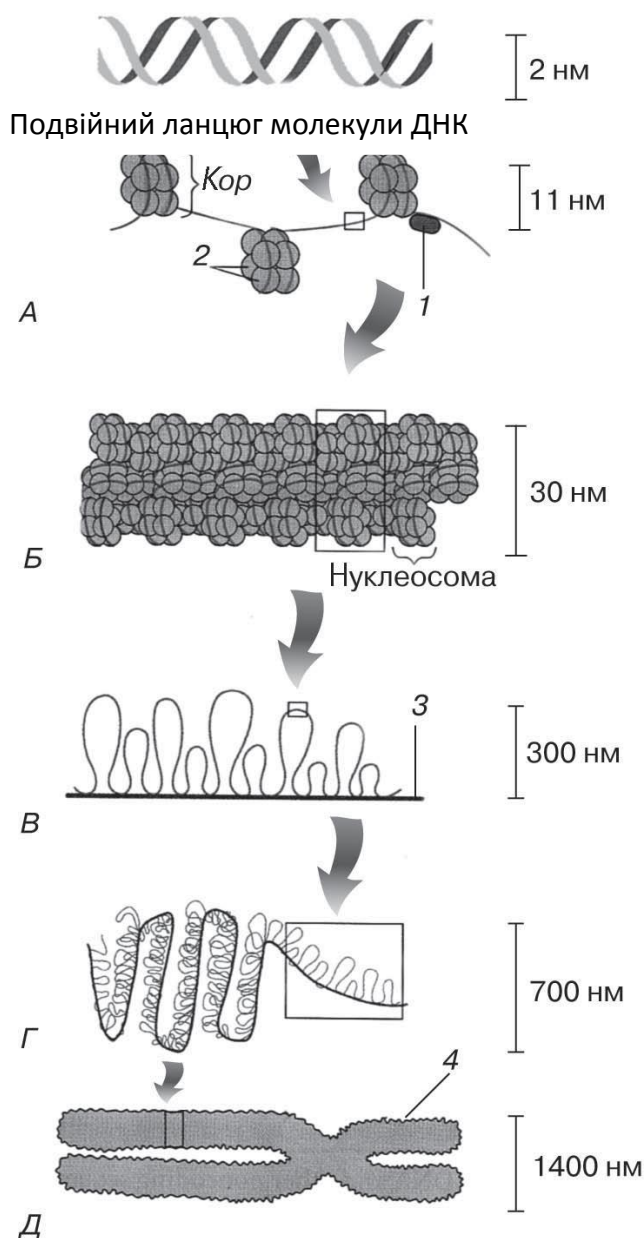


Рис. 9. Рівні спіралізації (компактизації) хроматину:

А – нуклеосомна нитка; Б – елементарна хроматинова фібрила; В – хромонема;

Г - хроматида; Д – метафазна хромосома; 1 – гістон Н1; 2 – гістонові білки нуклеосомної кори; 3 – білковий «скелет»; 4 – хроматида.

Нуклеомірний рівень організації хроматину досягається завдяки взаємодії гістона Н1 однієї нуклеосом з гістонами Н1 інших нуклеосом, що призводить до утворення комплексу, що складається з трьох нуклеосом. Такий комплекс називається нуклеомірою або надбусиною.

В результаті утворюється нуклеомірна нитка хроматину, або елементарна хроматинова фібрила, товщиною приблизно 30 нм. Утворення нуклеомірної нитки призводить до того, що ділянка ДНК, що входить до її складу, втрачає здатність до реплікації і транскрипції.

У формуванні нуклеосомної фібрили і елементарної хроматинової фібрили основну роль мають гістонові білки. Інші рівні компактизації хроматину зумовлені іншим типом укладання молекул ДНК (у вигляді петель) і пов'язані з негістоновими білками.

Хромомірний, або доменно-петлевий, рівень організації хроматину досягається укладанням хроматинової фібрили в петлі, так звані петльові домени, які прикріплюються до негістонових білків ядерного матриксу, який виконує роль «скелета». Кілька сусідніх петель, прикріплюючись своїми основами до загального білкового центру, утворюють «розетку», яка називається хромоміром, товщиною 120 нм.

Подальша компактизація ДНК відбувається тільки при вступі клітини в мітоз. В результаті більш тісного прилягання петель у хромомірах і самих хромомір одна до одної утворюються хроматинові фібрили – хромонеми товщиною 300 нм. Хромонеми, в свою чергу, завдяки ще більш компактному укладанню, формують добре помітні в світловий мікроскоп хроматинові фібрили – хроматиди товщиною 700 нм. Сестринські хроматиди, з'єднуючись одна з одною в області центроміри, утворюють хромосоми. В результаті довжина молекули ДНК в результаті всіх рівнів її укладання скорочується приблизно в 10 000 разів.

Ділянки від центроміри до кінців хромосоми називаються плечами. Залежно від місця розташування центроміри розрізняють три типи хромосом: метацентричні (рівноплечі), субметацентричні (нерівноплечі) і акроцентричні,

які мають паличкоподібну форму з дуже коротким, майже непомітним придатком (другим плечем).

Деякі хромосоми мають глибокі вторинні перетяжки, що відокремлюють невеликі ділянки хромосом, які називаються супутниками.

У клітинах, що не діляться ступінь спіралізації хроматинових ниток на всій їх довжині неоднакова.

Виділяють два різновиди хроматину – деконденсований (деспіралізований) еухроматин, помітний лише під електронним мікроскопом, і конденсований – гетерохроматин, що виявляється у вигляді грудочок під світловим мікроскопом.

Еухроматин містить транскрибуємі ділянки ДНК, тоді як гетерохроматин не транскрибується.

Залежно від функціонального стану клітини можливий перехід гетерохроматину в еухроматин і навпаки.

У зв'язку з цим, гетерохроматин поділяють на два види: факультативний і конститутивний.

Факультативний гетерохроматин при певних умовах може перетворюватися в еухроматин, конститутивний гетерохроматин ніколи не перетворюється в еухроматин.

Таким чином, при посиленні синтезу білка в клітині вміст еухроматину по відношенню до гетерохроматину зростає, при зниженні, навпаки, зростає вміст гетерохроматину.

ОБМІН РЕЧОВИН І ПЕРЕТВОРЕННЯ ЕНЕРГІЇ В КЛІТИНІ **(MATERIAL EXCHANGE AND ENERGY CONVERSION IN THE CELL)**

- 1. Загальна характеристика обміну речовин і перетворення енергії в клітині**
- 2. Різноманіття способів обміну речовин у клітинах**

1. Загальна характеристика обміну речовин і перетворення енергії в клітині

Всі клітини є відкритими біологічними системами. Їх існування можливе лише до тих пір, поки між клітинами і навколишнім середовищем відбувається постійний обмін речовинами і енергією. Процеси перетворення речовин, що включають сукупність всіх хімічних реакцій, що протікають в клітині, в результаті яких здійснюється зв'язок її з зовнішнім середовищем, називаються обміном речовин або метаболізмом.

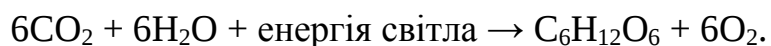
Хімічні реакції, що протікають в клітині, відрізняються винятковою організованістю: кожна реакція протікає в строго визначеній послідовності і в певному місці. Це забезпечується наявністю в клітині різноманітних ферментів і їх строго впорядкованим розташуванням у клітинних мембранах. Хімічні реакції, що відбуваються у клітині, в ході яких здійснюється послідовне перетворення одних речовин в інші, утворюють метаболічні шляхи. У таких шляхах продукт першої реакції служить субстратом для другої і так далі до формування кінцевого продукту.

Метаболізм у різних типах клітин, незважаючи на відмінність хімічних реакцій, які в них протікають, має багато спільного і включає два взаємопов'язаних і взаємозумовлених процеси – асиміляцію, або пластичний обмін, і дисиміляцію, або енергетичний обмін.

Асиміляція, або анаболізм, включає реакції синтезу складних органічних сполук із простіших.

Прикладом анаболічної реакції є утворення глюкози з вуглекислого газу

та води в процесі фотосинтезу:



Синтетичні реакції особливо інтенсивно протікають у молодих ростучих клітинах, однак і у цілком зрілих клітин синтез різних сполук триває. Це необхідно для заміни молекул і структур клітини, які витратили свій ресурс або зруйнованих при пошкодженні. В результаті хімічний склад і структури клітини протягом її життя постійно оновлюються. Наприклад, період існування багатьох білкових молекул коливається від 2-3 год. до декількох днів, після чого вони замінюються знову синтезованими.

Таким шляхом клітина зберігає постійним свій хімічний склад, а також свою структурну і функціональну цілісність, незважаючи на безперервні їх зміни в процесі життєдіяльності.

Основу **дисиміляції**, або катаболізму, становлять реакції розщеплення складних органічних сполук, які розпадаються на більш прості.

Катаболічні реакції в більшості випадків супроводжуються звільненням енергії. Вони постачають енергію і «сировину» для синтетичних реакцій і виконання всіх видів робіт у процесі життєдіяльності клітини.

Багато катаболічних реакцій, що проходять у клітині, є окислювально-відновними і пов'язані з перенесенням електронів з молекули відновника (донора електронів) на молекулу окислювача (акцептора електронів).

У біохімічних реакціях енергетичного обміну основним способом окислення органічних молекул є дегідрування, в процесі якого вони втрачають як електрони, так і протони, як це відбувається, наприклад, при окисленні глюкози:



Процеси пластичного і енергетичного обміну тісно пов'язані між собою. Всі синтетичні процеси потребують енергії, яка постачається в ході реакцій дисиміляції. Самі ж реакції розщеплення протікають лише за участю ферментів, які синтезуються в процесі асиміляції.

2. Різноманіття способів обміну речовин у клітинах

Живі клітини поділяють на дві великі групи залежно від виду енергії, яку вони отримують із зовнішнього середовища.

Фототрофні клітини, або фототрофи, використовують як джерело енергії сонячне світло. Вони поглинають променисту енергію Сонця за допомогою хлорофілу або інших пігментів і перетворюють її в енергію хімічних зв'язків.

Хемотрофні клітини, або хемотрофи, використовують енергію хімічних зв'язків речовин, одержуваних із зовнішнього середовища.

Всі клітини поділяють також на дві великі групи за їхньою здатністю синтезувати органічні сполуки з різних джерел вуглецю.

Автотрофні клітини, або автотрофи, здатні синтезувати органічні сполуки з неорганічних.

Гетеротрофні клітини, або гетеротрофи, використовують для синтезу органічних сполук тільки вуглець органічних сполук. Вони потребують для своєї життєдіяльності надходження органічних сполук із зовнішнього середовища. Відповідно до зазначених критеріїв виділяють чотири типи клітин: фотоавтотрофи, фотогетеротрофи, хемоавтотрофи, хемогетеротрофи (табл. 1).

Таблиця 1

Класифікація клітин залежно від різних джерел енергії та вуглецю, які вони використовують у процесі метаболізму

Тип клітин	Джерело енергії	Джерело вуглецю, який використовується для синтезу органічних сполук	Приклади
1	2	3	4
Фотоавтотрофи	Світло	Неорганічні сполуки (CO ₂)	Зелені клітини вищих рослин, синьо-зелені водорості, фотосинтезуючі бактерії
Фотогетеротрофи	Світло	Органічні сполуки	Несірчані пурпурні бактерії

Продовження табл. 1

1	2	3	4
Хемоавтотрофи	Реакції окислення	Неорганічні сполуки (CO ₂)	Водневі, сірчані, нітрифікуючі бактерії, залізобактерії
Хемотротрофи	Реакції окислення	Органічні сполуки	Клітини тварин, грибів, більшість мікроорганізмів, нефотосинтезуючі клітини рослин

Крім цих основних типів клітин, виділяють також міксотрофні клітини. Залежно від умов існування вони поведуть себе або як фотоавтотрофи, або як хемотротрофи. Наприклад, одноклітинний організм евглена зелена в темряві харчується готовими органічними речовинами, а на сонячному світлі, завдяки наявному в неї хлорофілу, синтезує органічні речовини з неорганічних.

ПОТІК ІНФОРМАЦІЇ У КЛІТИНІ (INFORMATION FLOW IN CELL)

- 1. Загальна характеристика потоку інформації в клітині**
- 2. Реплікація ДНК**
- 3. Роль молекул РНК в реалізації спадкової інформації**
- 4. Транскрипція**
- 5. Трансляція**

1. Загальна характеристика потоку інформації в клітині

У процесі реалізації генетичної інформації в клітині виділяють два інформаційних потоки. Один з них пов'язаний з реплікацією ДНК і наступною передачею її від материнської до дочірніх клітин, завдяки чому досягається успадкування структурної та функціональної організації клітин у ряді поколінь.

Інший потік здійснюється впродовж всього життєвого циклу клітини і полягає в експресії генів: перенесенні генетичної інформації від ДНК через мРНК до поліпептидів і білків. Така послідовність реалізації генетичної інформації отримала назву «центральної догми молекулярної біології». Вона характерна для всіх організмів, які живуть на Землі, за винятком деяких РНК-вірусів. Біохімічну сутність експресії генів становлять процеси, які послідовно протікають: транскрипції – синтезу мРНК на матриці ДНК гена, трансляції – синтезу білка на матриці мРНК і посттрансляційних перетворень білків. Завдяки матричній природі синтезу нуклеїнових кислот і білків забезпечується висока точність відтворення і реалізації генетичної інформації.

2. Реплікація ДНК

Реплікація ДНК багато в чому визначається особливостями хімічної організації цієї молекули. ДНК являє собою природний високомолекулярний полінуклеотид, мономерами якого є нуклеотиди. Азотисті основи нуклеотидів

ДНК представлені похідними пурину (аденіном (А) і гуаніном (Г)) і піримідину (тиміном (Т), цитозином (Ц)).

Реплікація – процес подвоєння молекул ДНК, під час якого з наявних у середовищі дезоксирибонуклеозидтрифосфатів (дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ) комплементарно до материнських ланцюгів синтезуються дочірні ланцюги ДНК.

Нуклеотиди одноланцюгової ДНК пов'язані між собою ковалентними фосфоефірними зв'язками, що з'єднують 5'-атом вуглецю пентози одного нуклеотиду з 3'-атомом вуглецю пентози сусіднього нуклеотиду.

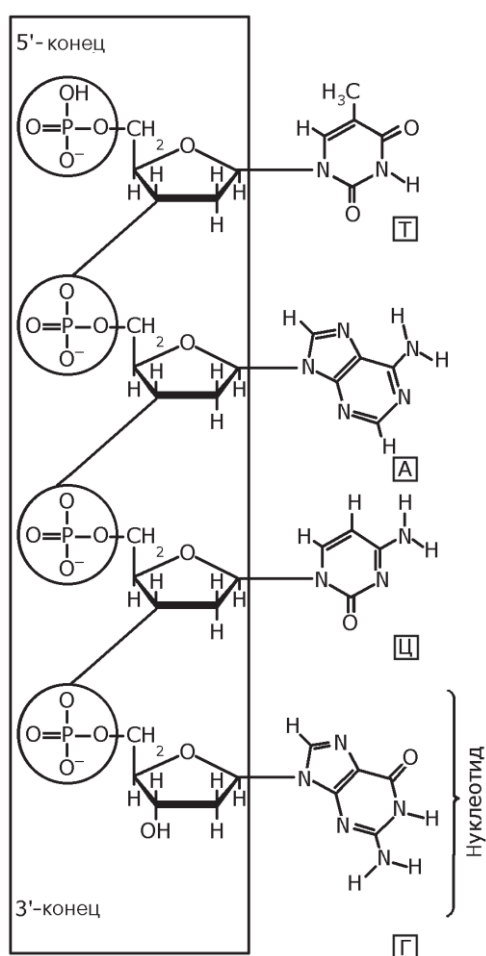


Рис. 10. Фрагмент ланцюжка ДНК, що містить залишки гуаніну (Г), цитозину (Ц), аденіну (А) і тиміну (Т)

Таким чином, кінці полінуклеотидних ланцюгів ДНК неоднакові. На одному кінці полінуклеотидного ланцюга розташовується мономер, що містить залишок фосфорної кислоти (його називають 5'-кінець), а на іншому кінці - мономер, що містить неетерифіковану 3'-гідроксильну групу (3'-кінець).

Формування двохланцюгової молекули ДНК здійснюється за допомогою утворення водневих зв'язків між азотистими основами різних одноланцюгових ДНК за правилом комплементарності: аденін двома водневими зв'язками з'єднується тільки з тиміном, а цитозин за допомогою трьох водневих зв'язків пов'язується тільки з гуаніном. Таким чином, одноланцюгові ДНК в молекулі двохланцюгової ДНК виявляються комплементарними і мають зустрічний напрямок: 3'-кінець одного ланцюга відповідає 5'-кінцю іншого.

Реплікація здійснюється за допомогою різноманітних ферментів та інших регуляторних білків, які утворюють в функціональному відношенні єдине утворення – реплікативний комплекс.

Реплікація ДНК починається в особливих ділянках зі специфічною послідовністю нуклеотидів, які називаються *сайтами ініціації реплікації*, або *оріджінами* (від англ. origin – початок). З нуклеотидами сайту ініціації зв'язуються ініціаторні білки (15-20 ферментів, які називаються реплісомою, ключовим ферментом є ДНК-полімераза), під дією яких ланцюги ДНК розкручуються і розходяться, утворюючи фігуру, яка називається *реплікаційна вилка*. Після чого здійснюється синтез дочірніх ланцюгів ДНК відразу в двох напрямках.

В еукаріот нараховується більше 11 різних ДНК-полімераз. Реплікаційна вилка рухається зі швидкістю близько 100000 пар нуклеотидів за хвилину у прокаріот і 500-5000 – у еукаріот.

Одиницею реплікації є реплікон – ділянка між двома оріджінами.

В еукаріот у ході реплікації утворюється велика кількість репліконів, завдяки чому еукаріотичні молекули ДНК, незважаючи на їх великі розміри, реплікуються досить швидко. Кільцеві молекули ДНК прокаріотичних клітин мають один сайт початку реплікації і являють собою повністю окремі реплікони.

Реплікація ДНК у про- і еукаріот характеризується великою схожістю.

Спочатку до нуклеотидів сайту початку реплікації приєднується фермент геліказа, дія якого призводить до розриву водневих зв'язків між азотистими основами ДНК, в результаті чого складові її нитки розкручуються в протилежних напрямках і подвійна спіраль розплітається. Утворені одноланцюгові ділянки материнського ланцюга ДНК стають доступними для використання їх в якості матриці для синтезу дочірніх ланцюгів ДНК шляхом ферментативного приєднання вільних дезоксирибонуклеозидтрифосфатів. З утвореними під дією ферменту гелікази одноланцюговими ділянками ДНК зв'язуються SSB-білки (від англ. Single strand binding – дестабілізуючі білки),

перешкоджаючи таким чином відновленню водневих зв'язків між комплементарними основами обох ланцюгів. Області розбіжності полінуклеотидних ланцюгів в зонах реплікації називаються реплікативного вилками. Кожна вилка включає дві одноланцюгових ділянки і одну дволанцюгову полінуклеотидну ділянку. В ході реплікації вилка переміщається уздовж материнської молекули ДНК, розплітаючи все нові її ділянки. При цьому в вилці виникає торсійна напруга, яка знімається ферментом топоізомеразою.

Синтез дочірніх ланцюгів починається з приєднання до материнського ланцюга під дією ферменту праймази праймерів – коротких рибонуклеотидних послідовностей, які налічують 8-10 нуклеотидів. Праймери виконують роль затравки для ДНК-полімерази, оскільки цей фермент здатний додавати нові нуклеозидтрифосфати лише до вільного 3'-кінця вже наявної будь-якої «затравочної» полінуклеотидної послідовності, пов'язаної з матричною одноланцюговою ДНК.

Подальша збірка дочірніх ланцюгів на материнських ланцюгах ДНК протікає по-різному (лідуючий ланцюг та ланцюг, що запізнюється).

3. Роль молекул РНК в реалізації спадкової інформації

Ген як ділянка молекули ДНК, що містить інформацію про первинну структуру одного поліпептидного ланцюга, безпосередньої участі в синтезі білка не бере. Роль посередника, функцією якого є переведення спадкової інформації, що зберігається в ДНК, у специфічну послідовність амінокислот в молекулі білка, грають РНК.

РНК, на відміну від молекул ДНК, представлені одним полінуклеотидним ланцюгом, який побудований з чотирьох видів нуклеотидів.

Основною функцією РНК є реалізація програми синтезу білків, закладеної в ДНК клітини. Цей процес складається з декількох етапів, кожен з яких здійснюється різними молекулами РНК. Відповідно до виконуваних функцій розрізняють кілька видів РНК.

Інформаційна РНК (іРНК), або матрична РНК (мРНК) – носій генетичної інформації про первинну структуру білка. Міститься в ядрі, цитоплазмі, в мітохондріях і пластидах. Її друга назва – матрична (мРНК) – пояснюється тим, що в синтезі білка вона грає роль, аналогічну друкарській матриці.

Молекули мРНК містять від 100 до кількох тисяч нуклеотидів. На частку мРНК припадає до 5% загального вмісту РНК в клітині. У зв'язку з тим, що кожна окремо взята молекула мРНК містить інформацію про склад того чи іншого поліпептидного ланцюга, кількість різних мРНК у будь-якій клітині дуже велика. Всі зрілі молекули мРНК у еукаріот мають схожу будову і складаються з декількох ділянок, що виконують різні функції.

На 5'-кінці зрілої молекули мРНК знаходиться «ковпачок» (*кеп*) – ділянка, що включає один модифікований нуклеотид. Ця ділянка завжди починається 7-метілгуанозинтрифосфатом, який з'єднується з сусіднім нуклеотидом пірофосфатним зв'язком. Ковпачок захищає мРНК від руйнування їх 5'-екзонуклеазою.

Безпосередньо за ковпачком розташовується *лідерна ділянка* (5'- ділянка, що не транлюється), довжина якої зазвичай становить від 40 до 80 нуклеотидів. У складі цієї ділянки є нуклеотидні послідовності, комплементарні послідовностям рРНК малої субодиниці рибосоми. Зазначені послідовності лідерної ділянки служать для зв'язування мРНК з рибосомою в процесі трансляції.

За лідерною ділянкою слідує ініціюючий кодон АУГ, який кодує у еукаріот амінокислоту метіонін (у прокаріот – формілметіонін). Після завершення трансляції зазначені амінокислоти зазвичай відщеплюються від N-кінця синтезованого поліпептидного ланцюга. Ініціюючий (АУГ) і термінуючий (УАА, УАГ і УГА) кодони обмежують *кодуючу* ділянку мРНК, в якій міститься інформація про послідовність амінокислот в молекулі поліпептиду.

За ділянкою, що кодує слідує 3'-*нетрансльована* ділянка, або трейлер,

значно перевищує за розміром лідерну область.

Безпосередньо за трейлерною ділянкою розташовується *полі(А)-фрагмент*, або *поліаденілової «хвіст»*, що складається з 150-200 аденілових нуклеотидів. Особливості будови трейлерної ділянки та полі(А)-фрагмента багато в чому визначають тривалість функціонування зрілих молекул мРНК у клітинах еукаріот.

У гіалоплазмі клітин молекули мРНК зазвичай пов'язані з білками. Такі комплекси мРНК з білками називають інформосоми.

Прокаріотичні мРНК мають в основному таку саму будову, як і мРНК еукаріот. Відмінності полягають лише у відсутності у мРНК прокаріотів нетрансльованих ділянок, кепи і поліаденілового «хвоста».

Транспортна РНК (тРНК) має короткі ланцюги, що складаються з 70-100 нуклеотидів. Вона міститься в гіалоплазмі клітини, в мітохондріях і пластидах. На 5'-кінці молекули тРНК завжди знаходиться гуанін, а на 3'-кінці – угруповання з трьох нуклеотидів ЦЦА. Всі тРНК внаслідок утворення водневих зв'язків між комплементарними основами різних ділянок ланцюга набувають вторинну структуру, яка в двомірному зображенні нагадує лист конюшини.

У структурі тРНК виділяють акцепторне «стебло» і три петлі – центральну (антикодонова) і бічні. До 3'-кінця «стебла», який закінчується послідовністю ЦЦА з вільною -ОН-групою, приєднується амінокислота, що транспортується. На центральній петлі тРНК розташовується антикодон, що складається з трьох розташованих поруч нуклеотидів, які комплементарні нуклеотидам відповідного кодону мРНК.

У клітині є лише 45 видів молекул тРНК, що несуть різні антикодони, а не 61, як можна було б очікувати, виходячи з кількості кодонів мРНК, що кодують амінокислоти. Це пояснюється тим, що деякі антикодони тРНК можуть зв'язуватися з декількома кодонами мРНК.

Функція тРНК полягає в перенесенні амінокислот до місця синтезу білка в рибосомах. На частку тРНК припадає приблизно 15% всієї РНК, що міститься в клітині.

Рибосомна РНК (рРНК) має найбільші молекули з усіх видів РНК: в її склад входять від 3 до 5 тис. нуклеотидів. Рибосомна РНК синтезується в ядерці і бере участь в утворенні великої і малої субодиниці рибосом. У складі рибосом рРНК виконує структурну і каталітичну функції. На частку рРНК доводиться до 80% всієї РНК клітини.

В останні десятиліття відкриті нові види некодуючих молекул РНК, істотна особливість яких полягає в тому, що більшість з них мають невеликі розміри.

Малі ядерні РНК (мяРНК) – не кодуєчі молекули РНК – зустрічаються тільки в ядрах еукаріот. Вони беруть участь у процесах сплайсингу і підтримці цілісності теломір.

МікроРНК, або міРНК, мають розмір 21-22 нуклеотида. У людини виявлено понад 700 різних видів міРНК. Молекули міРНК грають велику роль в процесі трансфекції і регуляції експресії генів.

Маленькі РНК, що інтерферують, або сіРНК, мають довжину 20-15 нуклеотидів. Виконують подібні до міРНК функції і відрізняються від них лише своїм біогенезом.

4. Транскрипція

Транскрипція – процес переведення генетичної інформації у вигляді послідовності нуклеотидів молекули ДНК у послідовність нуклеотидів молекули мРНК. Іншими словами, транскрипція – це процес синтезу мРНК на матриці ДНК.

Транскрипція здійснюється за участю ряду ферментів, а також різних білкових факторів транскрипції.

У процесі транскрипції виділяють три стадії: ініціації, елонгації та термінації.

На **стадії ініціації** транскрипції фермент РНК-полімераза приєднується до особливого ділянки в молекулі ДНК – промотора. Після приєднання до промотора РНК-полімераза розриває водневі зв'язки між ланцюгами ДНК і

розкручує прилеглий виток спіралі, експонуючи 10-20 нуклеотидів ДНК для подальшого з'єднання з ними комплементарних рибонуклеотидів.

У результаті два ланцюги ДНК розходяться, і на одному з них, який називається кодогенний, здійснюється синтез мРНК шляхом включення рибонуклеозидтрифосфатів у ланцюг мРНК, що синтезується.

На **стадії елонгації** (послідовного подовження ланцюга РНК, що синтезується) фермент РНК-полімераза, просуваючись уздовж ланцюга ДНК, розкручує подвійну спіраль молекули ДНК, одночасно експонуючи на її кодогенному ланцюзі відрізок довжиною близько 18 основ для з'єднання з рибонуклеозидтрифосфатами. Пройдені РНК-полімеразаю одноланцюгові ділянки ДНК знову об'єднуються у подвійну спіраль.

Ланцюг мРНК, що синтезується, подовжується в напрямку $3' \rightarrow 5'$, тобто антипаралельно по відношенню до кодогенного ланцюга ДНК.

На **стадії термінації** здійснюється закінчення транскрипції.

У прокаріот сигналом для закінчення транскрипції є специфічна паліндромна послідовність, що отримала назву термінатора. Після транскрипції термінатора РНК полімеразаю знову синтезований ланцюг мРНК і РНК-полімераза відокремлюються від матриці ДНК.

У еукаріот зупинка транскрипції відбувається, коли РНК-полімераза транскрибує послідовність ДНК, яка кодує сигнал поліаденілювання (AAUAAA) в молекулі пре-мРНК, і наступні за нею 10-35 нуклеотидів.

Після цього зі зростаючим ланцюгом РНК-транскрипта зв'язується спеціальний білок і розрізає його, звільняючи знову синтезовану пре-мРНК від ферменту і молекули ДНК.

Швидкість транскрипції у прокаріот складає 50-100 нуклеотидів в секунду, а у еукаріот – 20-30 нуклеотидів в секунду.

У прокаріот молекули мРНК здатні виконувати функцію матриць для трансляції одразу після їх синтезу.

В еукаріот утворена незріла мРНК, або пре-мРНК, відразу ж, ще до її транспорту з ядра в цитоплазму, піддається складним перетворенням, так

званому процесингу, або дозріванню.

Під час процесингу здійснюється також сплайсинг – процес, що супроводжується видаленням інтронів і зшиванням між собою екзонів з утворенням зрілої мРНК.

Сплайсинг однієї і тієї ж послідовності пре-мРНК у різних умовах (наприклад, у клітинах різних тканин багатоклітинного організму) може здійснюватися неоднаково. В результаті з однієї і тієї ж пре-РНК можуть видалятися різні нуклеотидні послідовності інтронів (до складу інтронів в цьому випадку можуть входити і деякі екзони) і утворюватися різні зрілі мРНК. Цей феномен отримав назву альтернативного сплайсингу.

5. Трансляція

Трансляція – процес, за допомогою якого генетична інформація у вигляді послідовності нуклеотидів молекули мРНК перекладається з нуклеотидного коду в послідовність амінокислот у молекулі білка. Іншими словами, трансляція – це процес синтезу білка на матриці мРНК.

Ключем для перекладу послідовності нуклеотидів мРНК у послідовність амінокислот молекули білка є генетичний код.

Генетичний код – принцип запису інформації про послідовність амінокислот у поліпептиді у вигляді послідовності нуклеотидів молекули мРНК. Генетичний код триплетний. Триплет включає три поруч розміщених нуклеотиди, що кодують ті або інші амінокислоти та знаки пунктуації в процесах білкового синтезу. Триплети в молекулі мРНК називають кодонами, а комплементарні їм триплети в молекулі тРНК – антикодонами.

Синтез білка здійснюється в результаті складної взаємодії різних типів молекул РНК (мРНК, рРНК, тРНК, мяРНК), ферментів і багатьох білкових факторів і протікає з витратою енергії.

Велику роль в процесі білкового синтезу відіграють рибосоми.

Процес трансляції складається з чотирьох стадій: активації, ініціації, елонгації та термінації. Всі стадії трансляції вимагають витрат енергії,

джерелом якої служить гідроліз гуанозинтрифосфата (ГТФ) - сполуки, подібної до АТФ.

В основних рисах процес трансляції у про- і еукаріот схожий. Однак є і ряд відмінностей.

У прокаріотичних клітинах процеси транскрипції і трансляції пов'язані в часі і просторі. Нерідко трансляція у них починається ще до завершення синтезу мРНК, що пов'язано з відсутністю у прокаріот оформленого ядра, а також швидким розпадом бактеріальної мРНК під дією рестриктаз.

В еукаріот, на відміну від прокаріот, трансляція відбувається в цитоплазмі, куди молекули зрілої мРНК потрапляють з ядра і де багато яких із них, завдяки високій стабільності, можуть тривалий час і багаторазово використовуватися для біосинтезу білка. Цьому сприяють хімічна модифікація 5'- і 3'-кінців еукаріотичної мРНК у ході процесингу пре-РНК, а також приєднання до молекули мРНК після її транспорту з ядра в цитоплазму цитоплазматичних білків з утворенням інформосом, що захищає молекули мРНК від руйнування їх ферментами екзо і ендонуклеазами.

КЛІТИННА СИГНАЛІЗАЦІЯ (CELL SIGNALING)

- 1. Загальна характеристика клітинної сигналізації**
- 2. Види клітинної сигналізації у багатоклітинних тварин**
- 3. Механізми клітинної сигналізації**

1. Загальна характеристика клітинної сигналізації

Клітинна сигналізація – це процес отримання та обробки клітиною інформації, що надходить з навколишнього середовища у вигляді різноманітних сигналів фізичної або хімічної природи, результатом чого є специфічна відповідь клітини на дію сигналу.

Клітинна сигналізація здійснюється сигнальними системами, матеріальну основу яких на молекулярному рівні складають рецептори, елементи сигнал-передавальних шляхів і ефекторні білки, які реалізують відповідь клітини на дію сигналу. Загальний принцип функціонування сигнальних систем полягає в тому, що зовнішній сигнал, взаємодіючи з рецептором клітин-мішеней, викликає зміну конформації рецептора і його активацію, результатом чого служить передача отриманої рецептором інформації до ефекторних білків, які забезпечують відповідь клітини на дію сигналу. Клітинна сигналізація грає велику роль у формуванні адаптивних реакцій про- і еукаріотичних організмів на дію чинників навколишнього середовища.

Особливе значення клітинна сигналізація має для вищих багатоклітинних тварин, включаючи людину, в зв'язку з необхідністю тісної координації й інтеграції діяльності їх клітин у складі цілісного організму.

2. Види клітинної сигналізації у багатоклітинних тварин

У процесі еволюції у багатоклітинних тварин з'явилося кілька видів клітинної сигналізації з використанням хімічних сигнальних молекул, які називаються первинними посередниками, або первинними месенджерами:

паракринна, аутокринна, юкстакринна, ендокринна і синаптична. Зазначені види сигналізації розрізняються за способом доставки хімічних молекул до клітин, а також за відстанню, на яку діють сигнальні механізми.

Паракринна сигналізація характеризується виділенням клітиною хімічних медіаторів, які чинять вплив лише на клітини найближчого оточення. Паракринна сигналізація грає велику роль у процесах розвитку організму, диференціювання клітин, репарації тканин після їх пошкодження та ін.

При *аутокринній* сигналізації клітина виділяє речовини, які діють на ту ж саму клітину. Цей вид сигналізації широко використовують клітини імунної системи.

Юкстакринна сигналізація характеризується передачею сигналу від однієї клітини іншій в результаті їх адгезії, тобто безпосереднього фізичного контакту. При цьому молекула ліганда не відщеплюється від клітини, яка сигналізує, а залишається на зовнішній поверхні клітинної мембрани. Завдяки юкстакринній сигналізації здійснюється розпізнавання клітинами одна одної, а також зв'язування їх з позаклітинним матриксом.

Синаптична сигналізація зустрічається лише у тварин, які мають нервову систему. Вона характеризується секрецією нейронами сигнальних молекул нейромедіаторів у синаптичну щілину – вузький, близько 50 нм, простір, що розділяє мембрани нервової клітини, що передає сигнал і клітини-мішені, наприклад м'язової або нервової. При цьому, завдяки тісному контакту пресинаптичної і постсинаптичної клітин, досягається швидке адресне розповсюдження сигналу лише до клітини-мішені. Весь процес триває менше мілісекунди, оскільки відстань, на яку дифундує нейромедіатор, дуже мала.

Ендокринна сигналізація характеризується секрецією клітинами ендокринних залоз біологічно активних сполук – гормонів - у кровоносне русло або в тканинну рідину, які потім разносяться з потоком крові до клітин-мішеней по всьому організму. Гормони діють на клітини-мішені в надзвичайно низьких концентраціях, оскільки в крові і інтерстиціальній рідині вони дуже

розбавляються. За допомогою гормонів здійснюється міжклітинна сигналізація на великі відстані.

3. Механізми клітинної сигналізації

Сучасні уявлення про механізми клітинної сигналізації були закладені в 70-х роках минулого століття. Виділяють три стадії клітинної сигналізації: рецепція, проведення сигналу до ефекторних молекул і відповідь клітини на дію сигнальних молекул.

Клітинна рецепція і ініціація проведення сигналу

Клітини-мішені розпізнають сигнальні молекули, або первинні месенджери, за допомогою спеціальних молекулярних структур – рецепторів, що мають білкову природу.

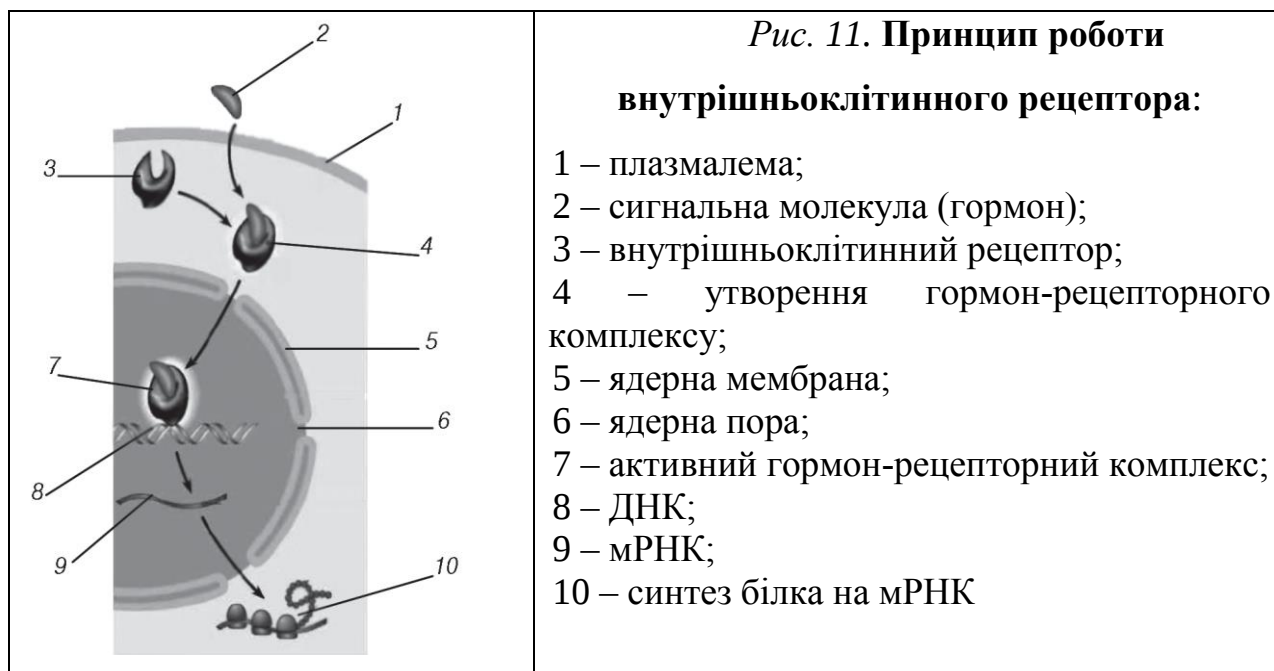
У механізмі розпізнавання сигналів істотне значення має конформаційна відповідність молекул ліганда і рецептора, які «підходять» один до одного так само, як ключ підходить до замка. Приєднання ліганда до рецептора зумовлює аллостеричну зміну конформації рецепторного білка (процес, званий активацією рецептора), в результаті чого змінюється функціональна активність рецептора.

Як правило, рецептори здатні зв'язуватися не тільки з ендogenousними лігандами, а й з іншими структурно подібними молекулами. Це дозволяє використовувати екзогенні речовини, що взаємодіють з рецепторами і змінюють їх стан, у якості лікарських препаратів. В даний час більше 60% лікарських засобів, що застосовуються для лікування хворих людей, діють на сигнальні системи клітини.

Всі рецептори по їх локалізації в клітині поділяються на дві великі групи: внутрішньоклітинні рецептори і рецептори, розташовані в плазматичній мембрані.

Внутрішньоклітинні рецептори розташовуються в цитоплазмі або в ядрі клітини. Неактивні рецептори зазвичай знаходяться в складі комплексів з іншими білками – шаперонами, і лише після зв'язування ліганда рецептором

ліганд-рецепторний комплекс звільняється від зазначених білків і активується. Хімічними сигналами для внутрішньоклітинних рецепторів служать молекули, які переносяться через плазматичну мембрану шляхом простої дифузії. До них, наприклад, відносяться стероїдні гормони, гормони щитовидної залози і простагландини (рис. 11).



Рецептори, розташовані в плазматичній мембрані (їх називають також рецепторами клітинної поверхні), відносяться до інтегральних мембранних білків. Рецептори клітинної поверхні взаємодіють з різноманітними сигнальними молекулами, загальною ознакою яких служить гідрофільність і, отже, неможливість прямого перенесення через ліпідний бішар плазматичної мембрани всередину клітини. Виділяють три основних типи рецепторів клітинної поверхні: рецептори іонних каналів, рецептори, пов'язані з G-білками, і каталітичні рецептори.

Рецептори іонних каналів є регульовані лігандами іонні канали, які розташовуються в мембрані постсинаптичної клітини. Специфічні сигнальні молекули, зв'язуючись з білком-рецептором, змінюють його конформацію, в результаті чого іонні канали відкриваються або закриваються.

Рецептори, пов'язані з G-білками, відносяться до одного з найбільш поширених типів клітинних рецепторів і функціонують в тісній кооперації з

регуляторними G-білками. G-білки названі так, оскільки в своєму сигнальному механізмі вони використовують заміну ГДФ на ГТФ як молекулярний функціональний «вимикач» для регулювання клітинних процесів. Вони зустрічаються у всіх представників еукаріот і відрізняються широкою функціональною спеціалізацією. Наприклад, в організмі людини з ними взаємодіють нейромедіатори, гормони, фактори росту та інші біологічно активні сполуки.

Незважаючи на велике функціональне розмаїття рецепторів, сполучених з G-білками, всі вони мають подібну структуру (рис. 12). Типовий рецептор являє собою інтегральний білок, який складається з одного поліпептидного ланцюга, що пронизує ліпідний бішар плазматичної мембрани сім разів. Такі білки називають «серпантинними».

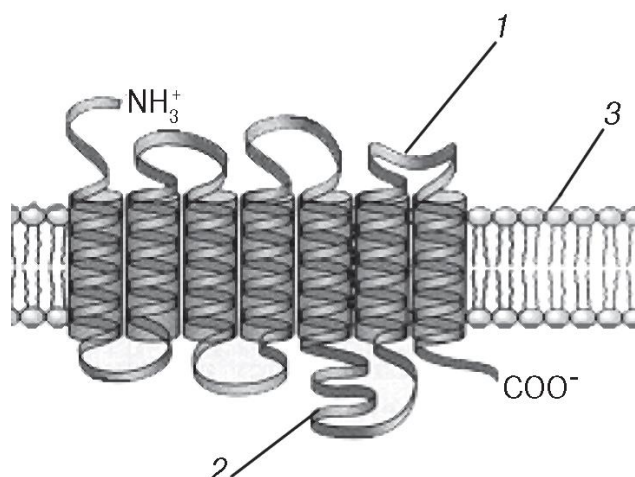


Рис. 12. Структура рецептора, сполученого з G-білками:

1 – сигнал-зв'язуюча ділянка; 2 – ділянка, що взаємодіє з G-білком; 3 – плазмалема

Каталітичні рецептори на відміну від рецепторів, сполучених з G-білками, володіють власною ферментативною активністю. До найбільш вивчених каталітичних рецепторів відносяться тирозинкіназні рецептори.

Сигнальні системи за участю цих рецепторів відіграють важливу роль у регуляції метаболізму, росту, ділення і диференціювання клітин. Наприклад, в організмі людини з тирозинкіназними рецепторами пов'язуються численні фактори росту, гормон інсулін, цитокіни та інші біологічно активні сполуки.

Передача сигналу від рецепторів клітинної поверхні до ефекторних молекул

Передача сигналу від рецепторів клітинної поверхні, як правило, здійснюється за участю кількох релейних білкових молекул, що складають основу сигнал-передавальних шляхів.

У багатоступеневому процесі передачі сигналу активований рецептор змінює конформацію і біологічну активність взаємодіючих з ним білків-посередників, і далі сигнал, подібно падаючому доміно, передається іншим релейним молекулам, послідовно активуючи їх і досягаючи, врешті-решт, ефекторних білків, що реалізують відповідну реакцію клітини.

Багато релейних білків, що беруть участь у проведенні сигналу від рецепторів клітинної поверхні до ефекторних білків, являють собою протеїнкінази – ферменти, які переносять фосфатну групу від молекул АТФ на інші білкові молекули, в результаті чого біологічна активність фосфорильованих білків змінюється.

У багатьох сигнальних шляхах, що йдуть від рецепторів клітинної поверхні, в проведенні сигналу, поряд з білками, беруть участь малі небілкові молекули і іони, які отримали назву вторинних посередників або вторинних месенджерів. До найбільш поширених вторинних посередників належать циклічний аденозин монофосфат (цАМФ) і іони Ca^{2+} .

Механізм проведення сигналу від поверхневих рецепторів, що реалізується декількома релейними молекулами, забезпечує більш досконалу регуляцію реакцій клітин на дію різних сигнальних молекул, ніж проста передача сигналу без посередників.

Реакції клітин у відповідь на дію сигнальних молекул і їх характеристика

Реакції клітин у відповідь на дію сигнальних молекул відрізняються високою специфічністю. Це означає, що навіть одні й ті ж сигнальні молекули, зв'язуючись з рецепторами клітин різних типів, викликають у них, як правило, різні відповіді. Зазначений феномен пояснюється, по-перше, здатністю одних і тих же сигнальних молекул зв'язуватися з різними рецепторами і, по-друге,

специфікою набору ефекторних білків, властивого кожному типу клітин.

Зміни, що виникають на всіх етапах сигналізації, носять локальний, короткочасний і зворотній характер, завдяки чому клітини повертаються в початковий стан і набувають здатність відповідати на нові сигнали. Так, рецептори повертаються в початковий стан після того, як їх залишають сигнальні молекули.

До вихідного стану повертаються також молекули релейних білків і вторинних посередників, що беруть участь в проведенні сигналу, а також ефекторні молекули.

ЖИТТЄВИЙ ЦИКЛ ЕУКАРІОТИЧНОЇ КЛІТИНИ (EUKARYOTIC CELL CYCLE)

1. Поняття життєвого циклу еукаріотичної клітини

2. Структурно-функціональні зміни клітини в мітотичному циклі

3. Регуляція клітинного циклу

4. Контроль стану спадкового матеріалу при проходженні клітиною мітотичного циклу

1. Поняття життєвого циклу еукаріотичної клітини

Період існування клітини від моменту утворення її в результаті поділу материнської клітини до закінчення наступного поділу або до загибелі називається життєвим циклом клітини, або клітинним циклом. У різних клітин багатоклітинних організмів життєві цикли мають суттєві особливості.

Це пов'язано з диференціацією і спеціалізацією клітин багатоклітинних організмів, в результаті чого клітини набувають різну здатність до поділу. За цією ознакою клітини багатоклітинних поділяють на три групи:

- ті, що безперервно діляться (ембріональні клітини на ранніх стадіях розвитку, камбіальні епітеліальні клітини кишечника, клітини базального росткового шару шкіри, стовбурові клітини крові та ін.);
- ті, які зберегли здатність до поділу, але реалізують її лише під впливом певних чинників (гепатоцити, лімфоцити, епітеліальні клітини нирок, легень, підшлункової та щитовидної залози та ін.);
- ті, що незворотно втратили здатність до поділу (нейрони, кардіоміоцити, клітини кришталика).

Найважливішою частиною життєвого циклу клітин, що зберегли здатність до поділу, служить мітотичний цикл, або проліферативний цикл.

Протягом мітотичного циклу протікають процеси, в результаті яких з однієї клітини утворюються дві нові.

У мітотичному циклі виділяють два тісно пов'язаних між собою періоди: період підготовки клітини до поділу (інтерфаза) і період ділення (мітоз).

Найважливішою подією періоду підготовки клітини до поділу є реплікація ДНК. У зв'язку з цим зазначений період підрозділяється на три періоди:

- G_1 (від англ. gap – проміжок) – постмітотичний, або пресинтетичний;
- S – синтетичний;
- G_2 – постсинтетичний, або премітотичний.

Тривалість синтетичного і постсинтетичного періодів, а також мітозу для різних клітин відрізняється великою постійністю, яким би не був інтервал між їх поділами. Наприклад, у ссавців тривалість S-періоду інтерфази становить 6-10 год., G_2 -періоду – 2-5 год., мітозу – 1-1,5 год.

У той же час тривалість пресинтетичного періоду у різних типів клітин варіює в дуже широких межах: від декількох хвилин і годин до року і більше.

У цей період клітиною «приймається рішення» про продовження чергового мітотичного циклу або про вихід з нього і вступ у період проліферативного спокою, або G_0 . Зазвичай вихід клітини, яка безперервно ділиться з мітотичного циклу пов'язаний або зі вступом її на шлях диференціації і спеціалізації, або з переходом такої клітини у «неактивний» стан, коли вона припиняє ділитися протягом тривалого терміну. Конкретні причини виходу клітини з мітотичного циклу відрізняються великою різноманітністю, і багато які з них невідомі.

Для клітин, що зберегли здатність до розмноження, вихід з мітотичного циклу зворотний, оскільки під дією зовнішніх сигналів вони можуть входити в нього знову.

2. Структурно-функціональні зміни клітини в мітотичному циклі

У різні періоди інтерфази в клітині відбуваються суттєві зміни її структури і функціональної активності, характеристика яких представлена в табл. 2.

Характеристика структурно-функціональних змін клітини в різні періоди інтерфази

Період інтерфази	Структурно-функціональні зміни
Пресинтетичний (G ₁)	Завершення формування ядерця; інтенсивний синтез РНК і білків; відновлення набору клітинних органел, що був у материнській клітині до її поділу; синтез холестеролу; утворення хімічних попередників ДНК; синтез ферментів, які беруть участь у реплікації; ріст клітин за рахунок збільшення об'єму цитоплазми до досягнення ними нормальних розмірів
Синтетичний (S)	Ріст клітини в основному за рахунок росту ядра; реплікація ДНК, яка запускається білками - активаторами S-фази, які надходять в ядро з цитоплазми, здійснюється відразу в багатьох точках, проте в жодній з них цей процес не ініціюється більше одного разу; інтенсивний синтез білків-гістонів, необхідних для побудови хроматину, в результаті чого їх кількість подвоюється; подвоєння кінетохорних білків; подвоєння центріолі клітинного центру і утворення двох диплосом.
Постсинтетичний (G ₂)	Інтенсивний синтез РНК, АТФ і білків, особливо тубулінів, які беруть участь у формуванні веретена поділу; збільшення маси цитоплазми і зростання об'єму ядра; трансформація центру організації мікротрубочок: зникнення сателітів на материнській диплосомі, покриття центріолей в обох диплосомах фібрилярним гало, від якого в профазі почнуть відростати мітотичні мікротрубочки; зникнення цитоплазматичних мікротрубочок; посилення поділу мітохондрій; накопичення і активація мітозстимулюючого фактора

Мітоз поділяють на чотири стадії, що послідовно переходять одна в одну і позначаються як профаза, метафаза, анафаза і телофаза (табл. 3).

Таблиця 3

Характеристика структурно-функціональних змін клітини в різні стадії мітозу

Стадія мітозу	Структурно-функціональні зміни
Профаза	• утворення кінетохорів – спеціальних білкових структур, що мають вигляд пластинок або дисків, розташованих у зонах центромір хромосом. На кожну сестринську хроматиду доводиться по одному кінетохору. У ході мітозу кінетохори сестринських хроматид розташовуються опозитно, при цьому кожен з них пов'язується зі своїм пучком мікротрубочок; • конденсація хромосом, які коротшають, товщають і стають видимими в світловий мікроскоп. На початку профазі сестринські хроматиди пов'язані одна з одною по всій довжині за допомогою білків-когезинів, а в кінці – лише в ділянці центроміри (кінетохорів); • припинення синтезу РНК і розпад ядерець, що пов'язано з інактивацією всіх генів ядерного генома; • різке зниження синтезу білка; • руйнування ядерної ламіни в результаті деполімеризації білків ламінів, фрагментація ядерної мембрани з утворенням мікропухирців, зникнення порових комплексів; • розпад мембран ЕПР і дезінтеграція апарату Гольджі; руйнування цитоплазматичних мікротрубочок, складової частини інтерфазного цитоскелета; • утворення апарату поділу, або веретена поділу. В утворенні веретена поділу беруть участь: полярні тільця і кінетохор

	хромосом. Ще до руйнування ядра відбувається поділ центросоми і розходження центросом, що утворилися з розташованими в них диплосомами до полюсів клітини, при цьому кожна центросома стає полюсом, або полярним тільцем, утворюваного веретена поділу. Від полюсів, які є центрами організації мікротрубочок, своїми «+» - кінцями відростають мікротрубочки. Спочатку від полюсів відростають радіальні або астральні мікротрубочки, утворюючи навколо них фігуру, яка отримала назву «променисте сядво». Після руйнування ядра частина мікротрубочок від полюсів росте у напрямку центромір хромосом, де зв'язується з кінетохорами (кінетохорні мікротрубочки). Інша частина мікротрубочок (міжполюсні мікротрубочки) ростуть до полюсів клітини, але до них не доходять. Ріст мікротрубочок, що відходять від центросом, обумовлений полімеризацією білка тубуліну; • активне переміщення хромосом і їх розташування по екватору клітини. Механізм руху хромосом пов'язаний з безперервною зміною довжини кінетохорних мікротрубочок, що йдуть у протилежних напрямках від сестринських хроматид кожної хромосоми і тягнуть їх у різні боки.
Метафаза	Завершення формування веретена поділу і вибудовування хромосом в екваторіальній площині клітини таким чином, що їх центромірні ділянки виявляються зверненими до центру веретена, а плечі – до периферії. Таке розташування хромосом носить назву «материнської зірки» (характерно тільки для клітин тварин). Утримання хромосом в екваторіальній площині забезпечується рівним натягом кінетохорних мікротрубочок, що відходять від кінетохорів сестринських хроматид до протилежних полюсів веретена

Анафаза	Руйнування білків-когезинів, що з'єднують сестринські хроматиди, і швидке, «як по команді», розходження хромосом до полюсів клітини. При русі хромосоми приймають V-подібну форму. Вершина їх спрямована в бік полюсів ділення, а плечі – до центру веретена. Рух хромосом здійснюється головним чином за рахунок енергії, що виділяється при деполімеризації кінетохорних мікротрубочок. Додаткове розходження хромосом досягається за рахунок віддалення полюсів один від одного в результаті подовження полярних мікротрубочок
Телофаза	• деконденсація хромосом і збільшення їх об'єму; • утворення навколо хромосом на кожному з полюсів клітини ядерної мембрани. Цей процес починається в місцях контактів хромосом з мембранними міхурцями, в стінки яких вбудовуються білкові комплекси ядерних пор. Через ядерні пори всередину міхурців проникають білки ламіни, що утворюють ядерну ламіну. Зливаючись між собою, такі міхурці утворюють двохмембранні компартменти, що оточують кожен хромосом, які отримали назву мікроядер, або каріомер. В результаті злиття каріомер один з одним в клітині утворюються два дочірніх ядра; • формування ядерця. Цей процес протікає після утворення ядерної мембрани; • відновлення мембранних структур клітини: ЕПР і комплексу Гольджі; • руйнування мітотичного апарату, розпад астральних і полюсних мікротрубочок; • поділ тіла клітини, або цитокінез. зазначений процес здійснюється шляхом вгинання плазматичної мембрани

всередину клітини з утворенням борозни ділення. Спочатку з'являється кортикальне скупчення мікрофіламентів, які формують актоміозинове скоротливе кільце. Потім взаємне ковзання актинових і міозинових компонентів кільця призводить до прогресуючого вдавнення плазматичної мембрани і до перетяжки клітини надвоє.

Структурно-функціональні зміни клітини в різні стадії мітозу представлені на рис. 13.

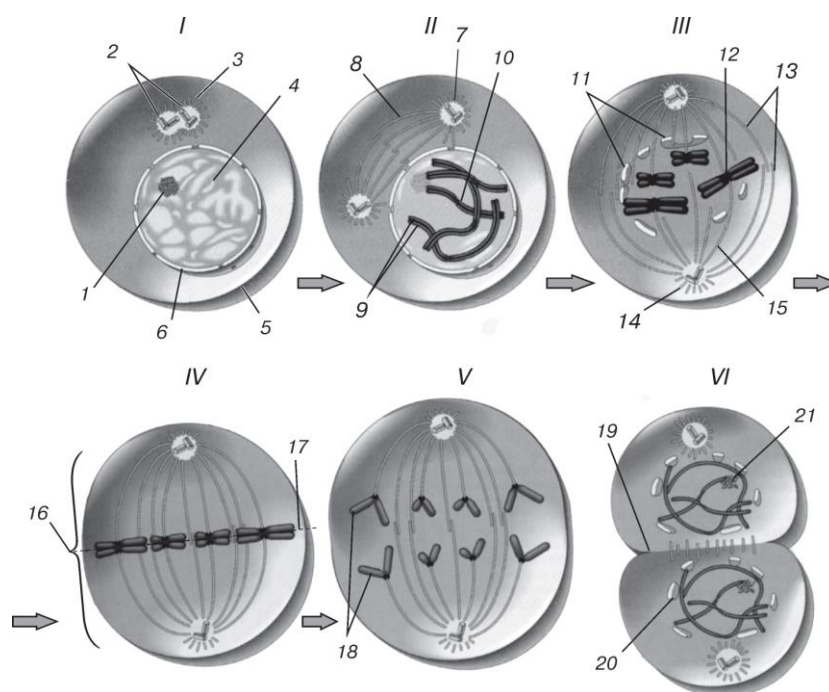


Рис. 13. Стадії мітозу: I – інтерфаза; II – рання профаза; III – пізня профаза; IV – метафаза; V – анафаза; VI – телофаза;

1 – ядрце; 2 – центросоми; 3 – центріолі; 4 – хроматин; 5 – плазматична мембрана; 6 – ядерна мембрана; 7 – полярне тільце; 8 – трубочки утворюваного веретена поділу; 9 – хромосоми, що складаються з двох сестринських хроматид; 10 – центроміри; 11 – фрагменти ядерної мембрани; 12 – кінетохор; 13 – міжполюсні мікротрубочки; 14 – астральні мікротрубочки; 15 – кінетохорні мікротрубочки; 16 – веретено поділу; 17 – метафазна пластинка; 18 – дочірні хромосоми; 19 – борозна ділення; 20 – ядерна мембрана, що формується; 21 – ядрце, що формується.

Біологічне значення мітотичного циклу полягає в тому, що він забезпечує утворення дочірніх клітин, спадкова інформація яких повністю ідентична інформації материнської клітини. Це досягається шляхом реплікації ДНК і подвоєння хромосом в інтерфазі мітотичного циклу, а також за допомогою рівномірного розподілу їх у процесі мітозу. Завдяки мітотичному циклу в багатоклітинних організмів здійснюються процеси росту, відновлення тканин, регенерації та вегетативного розмноження.

3. Регуляція клітинного циклу

Закономірне проходження клітиною фаз мітотичного циклу контролюється регуляторними молекулярними механізмами, які сформувалися на ранніх стадіях еволюції і відрізняються великою схожістю у всіх відомих еукаріот.

Провідну роль у послідовній зміні фаз клітинного циклу відіграють специфічні ферменти – циклінзалежні протеїнкінази, або CDK (cyclin-dependent kinases). Ідентифіковано кілька ізоформ кіназ, кожна з яких позначається відповідними арабськими цифрами, наприклад CDK1, CDK2, CDK3 і ін. Основна функція кіназ полягає у фосфорилуванні і, як наслідок цього, в зміні біологічної активності білків, що забезпечують проходження клітиною мітотичного циклу. Молекули циклінзалежних кіназ постійно присутні в клітині і самі по собі неактивні. Їх активація відбувається лише при зв'язуванні з ними спеціальних білків – циклінів. Свою назву зазначені білки отримали у зв'язку з тим, що вміст їх протягом клітинного циклу змінюється циклічно. Це означає, що зміни вмісту циклінів у межах одного мітотичного циклу закономірно повторюються і в наступних циклах.

Цикліни, так само як CDK, представлені різними формами, які позначаються відповідними латинськими літерами, наприклад циклін А, циклін D, циклін Е і т. д. Важлива властивість білків-циклінів полягає в тому, що кожен з них здатний зв'язуватися і утворювати комплекси лише з певними «своїми» CDK. Наприклад, циклін В утворює комплекси з CDK 2, циклін D – з

CDK4 і CDK6 і т. п.

Саме закономірні зміни комбінацій циклінів і циклінзалежних кіназ у складі комплексів у різні стадії періоду підготовки клітини до поділу і в ході мітозу визначають послідовність проходження клітиною мітотичного циклу.

Додатково до циклінів ферментативна активність циклінзалежних протеїнкіназ регулюється специфічними по відношенню до них протеїнкіназами і фосфатазами, а також білками, що є інгібіторами комплексів циклін-CDK. По мірі необхідності білки-інгібітори можуть активуватися та блокувати взаємодію CDK зі «своїми» циклінами, пригнічуючи тим самим ферментативну активність кіназ.

Таким чином, загальний принцип дії молекулярних механізмів, що регулюють мітотичний цикл клітини, полягає в стимуляції комплексами циклін-CDK процесів, властивих «своїй» фазі, інгібуванні активності комплексів циклін-CDK попередньої фази і утворенні або активації комплексів наступної фази.

4. Контроль стану спадкового матеріалу при проходженні клітиною мітотичного циклу

У процесі клітинного циклу забезпечується постійний контроль стану спадкового матеріалу клітини: ДНК і хромосом. Велику роль у цьому відіграє білок p53, який служить транскрипційним фактором генів, що відповідають за зупинку клітинного ділення (наприклад гена білка p21, що є інгібітором всіх комплексів циклін-CDK), а також генів, що запускають апоптоз.

Білок p53 синтезується постійно, але в звичайних умовах його активність виявляється низькою. При порушеннях структури ДНК і хромосом активність зазначеного білка значно зростає, в результаті чого настає тривала затримка клітинного циклу для усунення наявних ушкоджень. Якщо усунути пошкодження клітині не вдається, то білок p53 призводить в дію механізми апоптозу (генетично запрограмованої загибелі клітини) і така клітина гине.

ЗАГИБЕЛЬ КЛІТИН (DEATH OF CELLS)

1. Некроз

2. Апоптоз

3. Молекулярні механізми апоптозу

Загибель (смерть) окремих клітин або цілих їх груп постійно зустрічається у багатоклітинних організмів, так само як загибель одноклітинних організмів. Причини загибелі, процеси морфологічного і біохімічного характеру розвитку клітинної смерті можуть бути різними.

У сучасній класифікації програмованої клітинної смерті розрізняють як мінімум чотири основні форми програмованої клітинної смерті (ПКС):

- апоптоз – «ПКС I типу»;
- аутофагія – «ПКС II типу»;
- некроз – «ПКС III типу» (може використовуватися синонім «онкоз»);
- аноікіс – «ПКС IV типу» – смерть клітини, викликана відділенням її від навколишнього позаклітинного матриксу.

Одним із видів програмованого некрозу визначають некроптоз.

В якості окремих форм загибелі клітини також розглядаються мітотична катастрофа, сенесценс (клітинне старіння), параптоз.

1. Некроз

Некроз (від грецького νεκρωσις «смерть, стадія вмирання, акт вбивства» від νεκρός «мертвий») – це форма ураження клітин, що призводить до передчасної загибелі клітин у живій тканині шляхом автолізу.

Цей вид клітинної смерті зазвичай пов'язується з порушенням внутрішньоклітинного гомеостазу в результаті порушення проникності клітинних мембран, що призводить до зміни концентрації іонів в клітині, з

незворотними змінами мітохондрій, що відразу призводить до припинення всіх життєвих функцій, включаючи синтез макромолекул. Некроз викликають пошкодження плазматичної мембрани, придушення активності мембранних насосів під дією багатьох отрут, а також незворотні зміни енергетики при нестачі кисню (при ішемії відбувається закупорка кровоносної судини) або отруєнні мітохондріальних ферментів (дія ціанідів). При цьому при підвищенні проникності плазматичної мембрани клітина набухає за рахунок її обводнення, в цитоплазмі відбувається збільшення концентрації іонів Na^+ і Ca^{2+} , закислення цитоплазми, набухання вакуолярних компонентів і розрив їх мембран, припинення синтезу білків у цитоплазмі, звільнення лізосомних гідролаз і лізис клітини. Одночасно з цими змінами в цитоплазмі змінюються і клітинні ядра: спочатку вони компактизуються (пікноз ядер), але в міру набухання ядра і розриву його оболонки прилеглий шар хроматину розпадається на дрібні маси (каріорексис), а потім настає каріолізис – розчинення ядра.

На завершальному етапі некрозу відбувається порушення цілісності плазматичної мембрани, в результаті чого продукти самоперетравлювання вивільняються в навколишнє середовище, викликаючи запальну реакцію і пошкодження сусідніх клітин. Слід зазначити, що некроз – це неконтрольований і пасивний процес.

Особливістю некрозу є те, що такій загибелі піддаються великі групи клітин (наприклад, при інфаркті міокарда через припинення постачання киснем ділянки серцевого м'яза).

2. Апоптоз

Апоптоз (від грец. *Απόπτωσης*, що означає опадання листя з дерева або пелюсток із квітки) – регульований процес програмованої клітинної загибелі, в результаті якого клітина розпадається на окремі апоптотичні тільця, обмежені мембраною. Фрагменти загиблої клітини зазвичай дуже швидко (в середньому за 90 хвилин) фагоцитуються макрофагами або сусідніми клітинами, минаючи

розвиток запальної реакції. Морфологічно реєстрований процес апоптозу триває 1-3 години.

Дослідження програмованої клітинної смерті ведуться з кінця 1960-х років. Термін «апоптоз» був вперше використаний в 1972 році в роботі британських вчених – Дж. Керра, Е. Уайлі і А. Керрі. Одними з перших до вивчення генетики і молекулярних механізмів апоптозу приступили С. Бреннер, Дж. Салстон і Р. Хорвіц, всі троє в 2002 році були удостоєні Нобелівської премії з фізіології або медицини за досягнення в дослідженнях програмованої клітинної смерті. В даний час встановлено основні механізми реалізації апоптозу в клітині, активно ведуться дослідження регуляторів і активаторів апоптозу.

Однією з основних функцій апоптозу є знищення дефектних (пошкоджених, мутантних, інфікованих) клітин. У багатоклітинних організмах апоптоз до того ж задіяний у процесах диференціації та морфогенезу, в підтримці клітинного гомеостазу, в забезпеченні важливих аспектів розвитку і функціонування імунної системи. Апоптоз спостерігається у всіх еукаріотів, починаючи від одноклітинних найпростіших і аж до вищих організмів.

В організмі середньостатистичної дорослої людини в результаті апоптозу гине щодня близько 50-70 мільярдів клітин.

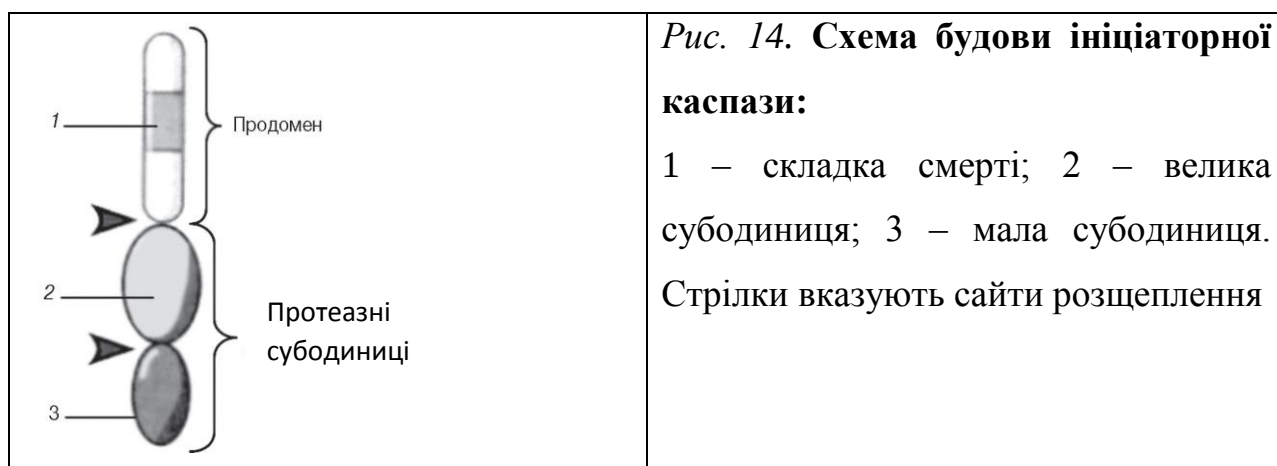
У програмованій смерті прокаріот беруть участь функціональні аналоги еукаріотичних білків апоптозу. Прокаріотичним аналогом апоптозу також вважається загибель частини бактерій в умовах стазису – зупинки росту бактеріальної популяції (при вичерпанні поживного субстрату або під впливом стресових факторів). Наприклад, голодуюча популяція *E. coli* розділяється на дві субпопуляції, одна з яких гине і піддається автолізу. Популяція, яка вижила, в результаті використовує продукти автолізу в якості поживного субстрату і продовжує рости.

3. Молекулярні механізми апоптозу

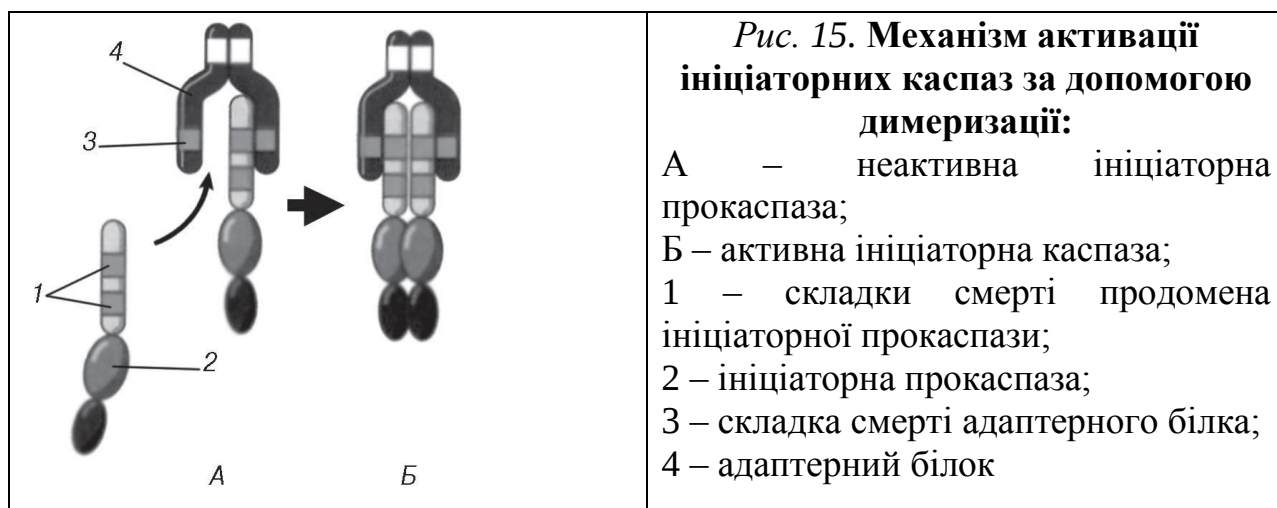
Структурно-функціональні зміни клітин під час апоптозу багато в чому зумовлюються дією цитоплазматичних ферментів – каспаз на відповідні білки-

мішені. Зазначені ферменти належать до сімейства протеаз, що зумовлюють розрив пептидних зв'язків, утворених за участю аспарагінової амінокислоти. Наприклад, у людини є 12 різних каспаз. Вони позначаються арабськими цифрами (1, 2, 3 і т. д.) відповідно до хронології їх відкриття. За структурно-функціональними особливостями каспази, які беруть участь у апоптозі, підрозділяють на дві групи: ініціаторні та ефекторні.

Ініціаторні каспази знаходяться в клітині у вигляді неактивних мономерів прокаспаз, що містять у своєму складі три ділянки, які функціонально відрізняються: продомен, а також велику і малу субодиниці. Продомен містить специфічні амінокислотні послідовності (складки, або домени смерті) для взаємодії з адаптерними білками. Велика і мала субодиниці визначають протеазну активність каспаз щодо певних білків (рис. 14).



Активация ініціаторних каспаз здійснюється за допомогою димеризації за участю адаптерних білків, що мають специфічні домени «складки смерті» для взаємодії з каспазами (рис. 15).



Ефекторні каспази є неактивними димерами-прокаспазами, які активуються в результаті їх розщеплення ініціаторними каспазами. Мішенями ефекторних каспаз є більше, ніж 500 різних клітинних білків, зі зміною біологічної активності деяких з них пов'язані структурні і функціональні зміни клітин, що спостерігаються при апоптозі.

Наприклад, характерна для апоптозу фрагментація ДНК обумовлена активацією специфічної ДНКаз в результаті розщеплення ефекторними каспазами білка-інгібітора зазначеного ферменту.

У хребетних виділяють два шляхи індукції апоптозу: зовнішній, (рецепторно-опосередкований) і внутрішній (мітохондріальний) за участю мітохондрій.

Кожен із зазначених шляхів включає активацію ініціюючих каспаз із наступною активацією ефекторних каспаз. Рецепторно-опосередкований шлях може також включати елементи мітохондріального шляху.

Крім цього, існує ряд менш поширених механізмів ініціації апоптозу.

Зовнішній (рецепторно-опосередкований) шлях індукції апоптозу реалізується, коли білкові молекули, що відносяться до сімейства білкових факторів некрозу пухлин, або ліганди смерті TNFL (від англ. tumor necrosis factor ligandes), зв'язуються зі своїми рецепторами клітинної загибелі TNFR (від англ. tumor necrosis factor receptors).

Фактори некрозу пухлин, або ліганди смерті TNFL, продукуються головним чином клітинами імунної системи і можуть перебувати як у вільному, так і у зв'язаному з мембранами клітин стані.

Рецептори клітинної загибелі являють собою трансмембранні білки, які характеризуються наявністю загальної послідовності з 80 амінокислот у цитоплазматичному домені. Дана послідовність називається доменом смерті. Активовані після зв'язування з лігандами смерті рецептори смерті взаємодіють з адаптерними білками, які, в свою чергу, зв'язуються з ініціаторною прокаспазою-8. Результатом зазначених білок-білкових взаємодій служить

утворення апоптосоми (апоптозного шаперона, сигнального комплексу індукції клітинної загибелі DISC (death inducing signaling complex)).

Потім каспаза-8 активує ефекторні каспази, які розщеплюють відповідні білки, що індукують характерні для апоптозу структурні і функціональні зміни клітини.

Таким чином, зовнішній шлях апоптозу реалізується за наступною схемою: сигнал клітинної загибелі → рецептор клітинної загибелі → адаптерний білок → ініціаторна прокаспаза → DISC → ініціаторна каспаза → ефекторна прокаспаза → ефекторна каспаза → ефекторні білки → апоптоз.

У більшості випадків у клітинах ссавців апоптоз індукується по внутрішньому (мітохондріальному) шляху за участю мітохондрій. Ключове значення при запуску апоптозу цим шляхом має підвищення проникності зовнішньої мембрани мітохондрій. Підвищення проникності зовнішньої мембрани мітохондрій супроводжується звільненням цитохрому *c* та інших білків з перимітохондріального простору в цитозоль.

Таким чином, розвиток апоптозу залежить від взаємодії великої групи білків. При цьому роль сенсорів, що сприймають специфічні сигнали і запускають процес апоптозу, грають білки-активатори. Активність зазначених білків регулюється за допомогою різних механізмів: зміни швидкості транскрипції відповідних генів, хімічної модифікації зазначених білків і ін.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Биология клетки : учебное пособие / А. Ф. Никитин, Е. Я. Адоева, Ю. Ф. Захаркив [и др.] ; под ред. А. Ф. Никитина. – 2-е изд. Санкт-Петербург : СпецЛит, 2015. – 166 с.
2. Молекулярная биология клетки / Альбертс Б. и др. – М.–Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований, 2012. – 2000 с.
3. Морфологія сільськогосподарських тварин / В. Т. Хомич, С. К. Рудик, В. С. Левчук та ін.; за ред. В. Т. Хомича. – К. : Вища освіта, 2003. – 527 с.
4. Ченцов Ю.С. Введение в клеточную биологию: Учебник для вузов. 4-е изд., перераб. и доп. / Ю.С. Ченцов. – М. : ИКЦ «Академкнига», 2004. – 495 с.

Навчальне видання

БІОЛОГІЯ КЛІТИНИ

Конспект лекцій
для здобувачів вищої освіти СВО «Бакалавр»
освітньої спеціальності 162 – «Біотехнології та біоінженерія»

Укладач: **Луговий** Сергій Іванович

Підписано до друку 24.03.2020 р. Формат 60×84/16. Папір офсетн.

Гарнітура Times New Roman.

Друк офс. Умовн. друк. арк. 6,4. Облік видавн. арк. 6,4

Умов. фарбовід. 0,9. Зам. № 612, тир. 20.

Надруковано у видавничому відділі
Миколаївського національного аграрного університету
54020, м. Миколаїв, вул. Георгія Гонгадзе, 9

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4490 від 20.02.2013 р.