

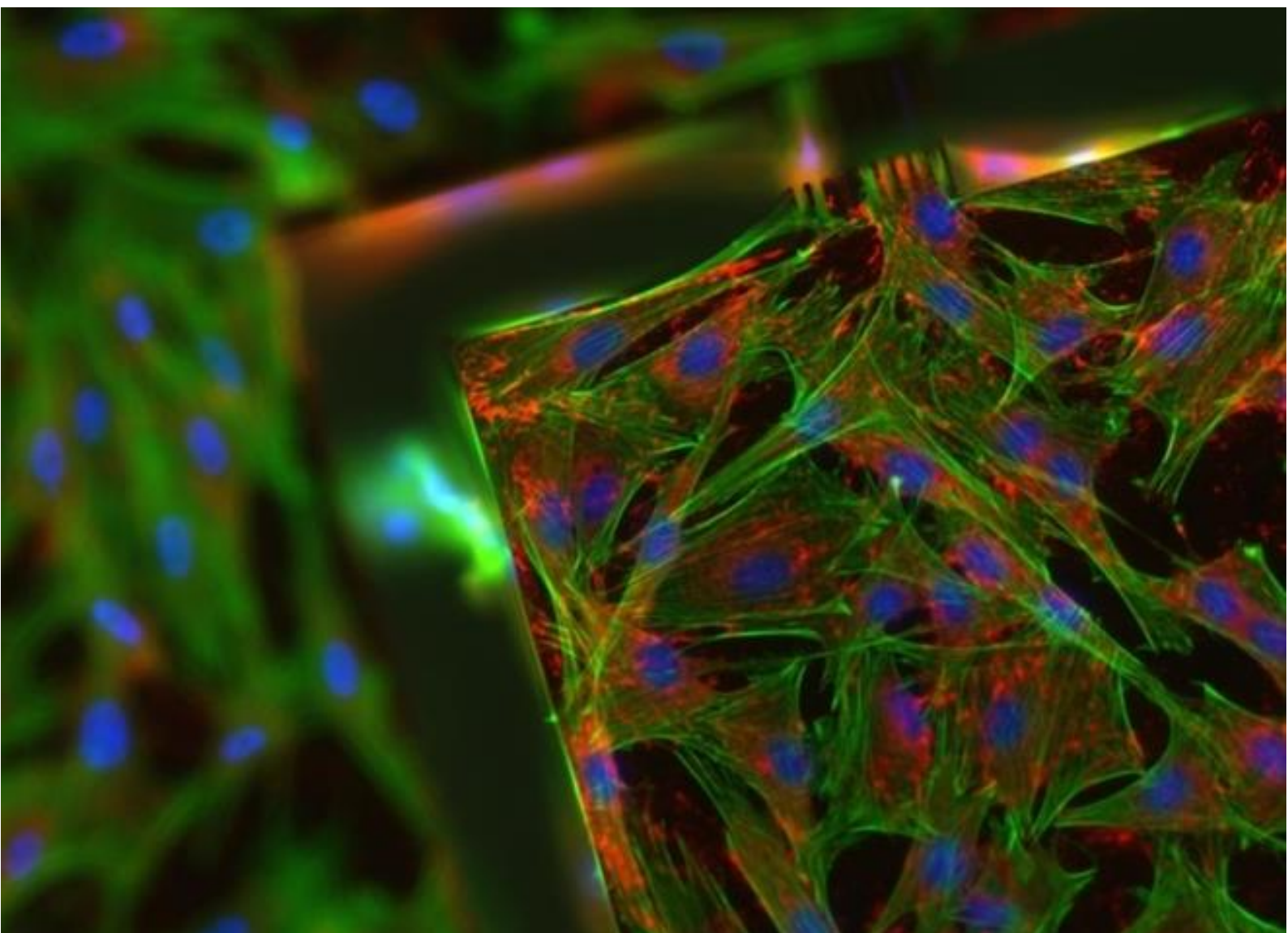
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій  
імені С. З. Гжицького*

*Кафедра біотехнології та радіології*

*Наталія Шемедюк*

# Біологія клітини



**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
*Львівський національний університет ветеринарної медицини та  
біотехнологій імені С.З. Гжицького*

*Кафедра біотехнології та радіології*

**Наталія Шемедюк**

**Біологія клітини**  
**навчальний посібник**  
**для студентів спеціальності**  
**162 «Біотехнології та біоінженерія»**

**Львів – 2020**

УДК: 577.2 (075)

Навчальний посібник затверджено на засіданні кафедри біотехнології та радіології, протокол № 5-1 від 20. 05. 20 р. та на засіданні науково-методичної ради факультету харчових технологій та біотехнології, протокол №5 від 25.06.20р.

Рецензенти:

д. вет. н., професорка кафедри нормальної та паталогічної морфології і судової ветеринарії ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького Г. І. Коцюмбас

к. с.-г. н., доцентка кафедри садово-паркового господарства Хортицької національної академії Н. П. Дерев'яно

к. х. н., доцентка кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» О. З. Комаровська-Порохнявець

Рекомендовано Львівським національним університетом ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького як навчальний посібник для студентів спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія».

Біологія клітини: навчальний посібник / [авт.-уклад. Шемедюк Н. П.] – Львів: Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, 2020. – 255 с.

Навчальний посібник укладено для студентів спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія». У посібнику викладено та проілюстровано теоретичний матеріал з дисципліни «Біологія клітини», у якому охарактеризовано клітину як цілісну, відкриту біологічну систему, описано структурні елементи клітини, методи цитології та суть їх виконання. Зокрема, методи мікроскопії, гістології, які характеризують хімічний склад, функціональні особливості клітини. Розглянуто сучасні досягнення природничої науки у керунку регуляції клітинного циклу, транспорту речовин, диференціації, смерті та старіння клітини, особливості стовбурових та пухлинних клітин. Підібраний матеріал відповідає робочій програмі з дисципліни «Біологія клітини» для студентів факультету харчових технологій та біотехнологій ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія».

УДК: 577.2 (075)

© Шемедюк Н.П., 2020 рік

© Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, 2020 рік

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП.....</b>	<b>6</b>
<b>ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....</b>	<b>8</b>
<b>РОЗДІЛ 1: КЛІТИНА ЯК ВІДКРИТА, ДИНАМІЧНА, ЦІЛІСНА СИСТЕМА, ЩО ЕВОЛЮЦІОНУЄ.....</b>	<b>9</b>
<b>РОЗДІЛ 2. ЦИТОЛОГІЯ ЯК НАУКА. МЕТОДИ ЦИТОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....</b>	<b>34</b>
<b>РОЗДІЛ 3. ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНИХ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПРО- ТА ЕУКАРІОТ.....</b>	<b>73</b>
<b>РОЗДІЛ 4. СТРУКТУРА І ФУНКЦІЇ БІОЛОГІЧНИХ МЕМБРАН.....</b>	<b>92</b>
<b>РОЗДІЛ 5. ОРГАНОН КЛІТИНИ. ДВОМЕМБРАННІ ОРГАНЕЛИ.....</b>	<b>113</b>
<b>РОЗДІЛ 6. ОДНОМЕМБРАННІ ОРГАНОЇДИ.....</b>	<b>128</b>
<b>РОЗДІЛ 7. СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ЯДРА У ЖИТТЄВОМУ ЦИКЛІ КЛІТИНИ.....</b>	<b>140</b>
<b>РОЗДІЛ 8. ЗАГАЛЬНІ ПРИНЦИПИ РЕАЛІЗАЦІЇ ГЕНЕТИЧНОЇ ІНФОРМАЦІЇ, ЇЇ МАТЕРІАЛЬНІ СУБСТАНЦІЇ.....</b>	<b>159</b>
<b>РОЗДІЛ 9. ГЕНЕТИЧНІ РЕКОМБІНАЦІЇ КЛІТИН. БІОЛОГІЧНІ ОБ'ЄКТИ ЯК ЧИННИКИ МІНЛИВОСТІ ЖИВИХ СИСТЕМ. ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ У БІОТЕХНОЛОГІЇ.....</b>	<b>174</b>
<b>РОЗДІЛ 10. МОРФОЛОГІЧНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ДИФЕРЕНЦІЙОВАНИХ КЛІТИН. ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ, РЕГЕНЕРАЦІЯ ТА СТАРІННЯ.....</b>	<b>190</b>
<b>РОЗДІЛ 11. МЕХАНІЗМИ КЛІТИННОЇ ЗАГИБЕЛІ.....</b>	<b>198</b>

<b>РОЗДІЛ 12. ОСОБЛИВОСТІ СТОВБУРОВИХ ТА ПУХЛИННИХ КЛІТИН. КУЛЬТИВУВАННЯ КЛІТИН.....</b>	<b>207</b>
<b>ПРЕДМЕТНИЙ ПОКАЖЧИК.....</b>	<b>218</b>
<b>ТЕРМІНОЛОГІЧНИЙ СЛОВНИК.....</b>	<b>224</b>
<b>РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА.....</b>	<b>251</b>

## ВСТУП

Здавна людей тривожить одвічне питання: що таке життя чи наш розум здатен осягнути складність організації, функціонування живого, можливість відтворити живе. Над цим роздумують біологи, хіміки, фізики, кібернетики, філософи і кожен з них намагається докласти своє розуміння у пояснення механізмів, які забезпечують життя. Ми вже давно розуміємо, що наявність структури завжди пов'язана з виконанням певної функції, що живе – це складний хімічний процес, «це сукупність функцій, які опираються смерті»... Водночас живе на сьогодні не розглядається лише у площині структура-функція. Більш вагомими питаннями є регуляція, експресія, інформаційні системи живого, взаємодія живої системи з навколишнім світом. То у чому ж сенс життя? З біологічної точки зору, сенсом життя – є можливість підтримувати упорядкованість живої системи (структур та їх функцій), що можливе завдяки постійному надходженню і виділенню речовин та енергії.

Щороку світ дивують відкриття новосинтезованих фармацевтичних засобів, нових можливостей маніпулювання геномом задля конструювання «біотехнологічних біофабрик», редагування геному задля уникнення спадкових захворювань і збереження генофонду популяції. По-новому науковці розглядають некодуючу ДНК, ширше використовують методи електронної, конфокальної мікроскопії для аналізу наноструктур, обертів набирає синтетична біологія. «Кожен наш вчинок продовжує створювати нас самих» (Фрідріх Ніцше). Тому клітина як динамічна жива система і біотехнологічний об'єкт завжди буде актуальною, цікавою для вивчення, розуміння і глибокого дослідження.

У навчальному посібнику описано методи цитології та їх теоретичні основи. Наприклад, гістологічні методи, сучасні методи оптичної та електронної мікроскопії, метод проточної цитофлуориметрії. Наведено теоретичні відомості щодо принципів хімічного складу, структури і функціонування клітини, клітинного органону. У посібнику містяться найважливіші елементи лекційного матеріалу з дисципліни «Біологія клітини» та ілюстраційні пояснення до нього.

Вивчення дисципліни спрямоване на формування наступних компетентностей студента:

- вміння характеризувати особливості будови і властивості макромолекул, які є складовою частиною живої клітини;

- знання основних концепцій структурної організації органоїдів;
- вміння аналізувати структурно-функціональну організацію клітин;
- володіння теоретичними основами експериментальних цитологічних методів;
- вміння застосовувати вивчені методи;
- розуміння основ функціонування живих систем, гіпотези формування в ході еволюції;
- володіння культурою мислення;
- здатність до узагальнення, аналізу, сприйняття інформації, визначення мети і вибір шляхів її досягнення;
- прагнення до саморозвитку, підвищення кваліфікації і професійної майстерності, набуття нових методологічних, технічних, технологічних знань, умінь, прийомів у проведенні експериментальних досліджень.

Навчальний посібник буде корисним під час виконання курсових та дипломних робіт.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

**GFP** – зелений флуоресцентний протеїн

**АДФ** – аденозиндифосфатна кислота

**АМФ** – аденозинмонофосфатна кислота

**АТФ** – аденозинтрифосфатна кислота

**АТФаза** – аденозинтрифосфатаза

**АТФ-синтаза** – аденозинтрифосфатсинтаза

**ГТФ** – гуанозинтрифосфат

**Да** – [дальтон] – одиниці вимірювання молекулярної маси

**ДНК** – дезоксирибонуклеїнова кислота

**ЕПС** – ендоплазматична сітка

**мРНК (іРНК)** – матрична РНК (інформаційна РНК)

**мтДНК** – мітохондріальна ДНК

**НАД** – нікотинамідаденіндинуклеотид

**НАДФ** – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат

**рН** – водневий показник – число, яке характеризує кислотність середовища

**РНК** – рибонуклеїнова кислота

**рРНК** – рибосомальна РНК

**т. п. н.** – тисяч пар нуклеотидів

**тРНК** – транспортна РНК

**УФ** – ультрафіолетовий (-ова, -ові, -ве)

**ЦЛК** – цикл лимонної кислоти

**ЦМП** – цитоплазматична мембрана

**ЦТК** – цикл трикарбонових кислот



## РОЗДІЛ 1: КЛІТИНА ЯК ВІДКРИТА, ДИНАМІЧНА, ЦІЛІСНА СИСТЕМА, ЩО ЕВОЛЮЦІОНУЄ

### 1. 1. Клітина як цілісна біологічна система

Клітина – це біологічна система зі структурно-функціональною організацією взаємозалежних елементів – підсистем, зокрема органел. *Підсистемою* називають сукупність елементів, об'єднаних спільним процесом функціонування, які, взаємодіючи, реалізують певну операцію, необхідну для досягнення поставленої перед системою в цілому мети.

Кожна з органел складається з великої кількості чітко упорядкованих молекулярних комплексів, складовими яких є атоми. Таким чином, прості системи організовані у системи вищого порядку, що відображає порівневу складність організації матерії.

атом → молекула → надмолекулярні комплекси → органоїди → клітина → тканина → орган → організм → популяція → екосистема → біосфера

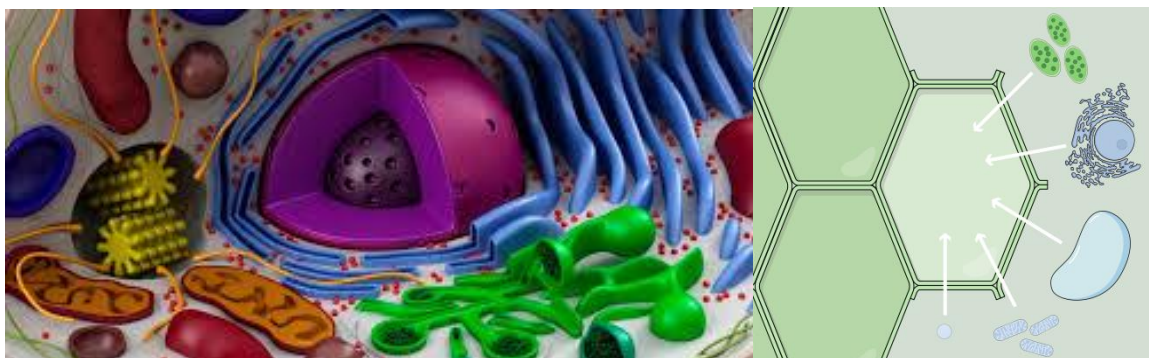


Рис. 1. 1. Органоїдний рівень системи. Підсистемою біологічної системи «клітина» є органоїд

При цьому кожен рівень, кожна підсистема є якісно новим цілісним угрупованням, що виявляють емерджентність. Наприклад, емерджентність молекул полягає у тім, що вони характеризуються новими властивостями порівняно з властивостями окремих атомів. Зокрема, молекула нуклеїнової кислоти здатна зберігати і реалізувати генетичну інформацію, що не є властивим для її поокремих мономерів – нуклеотидів чи атомів, з яких вони утворені.

Отже, *емерджентність системи* – важлива властивість, яка полягає у тім, що сукупне функціонування взаємопов'язаних елементів породжує якісно нові функціональні властивості системи. Емерджентність визначає, що сума властивостей елементів системи

не дорівнює властивостям системи в цілому або ціле більше, ніж сума його частин. Ще один приклад: властивостями Натрій хлориду не володіють ні Натрій, ні Хлор; не можна передбачити на основі властивостей складових глікогену властивості самого глікогену.

Звідси висновок:

- система не зводиться до простої сукупності елементів;
- поділяючи її на частини, досліджуючи кожную з них окремо, не можливо пізнати всі властивості системи в цілому;
- досліджуючи живе, до уваги беремо клітину як окрему елементарну його одиницю, відкриту, динамічну систему.

**Цілісність системи** – властивість, яка полягає у тому, що система, з одного боку, – це цілісне утворення, а з іншого – у її складі чітко можна виділити окремі цілісні об'єкти (компоненти). Але не компоненти складають ціле (систему), а навпаки, ціле породжує під час свого поділу компоненти системи.

**Клітина** – це біологічна система, яка є елементарною одиницею будови живих організмів. На рівні клітини зберігається, забезпечується сукупність усіх проявів життєдіяльності:

- обмін речовин;
- ріст;
- розвиток;
- рух;
- адаптація;
- самовідтворення;
- структурна впорядкованість;
- компактність будови;
- оптимальне використання енергії.

Визначення поняття «клітина» для еукаріотичних організмів наступне:

**Клітина (cellula)** — це обмежена активною мембраною, структурно впорядкована система біополімерів, які утворюють ядро і цитоплазму, беруть участь у єдиній сукупності процесів метаболізму і забезпечують підтримання та відтворення системи в цілому.

## 1. 2. Хімічний склад клітини

Розвиток і вдосконалення мікроскопічної техніки уможливили вивчення клітинних структур не лише мертвих фіксованих препаратів, але й живих тканин. Біохімічні дослідження довели, що продукти живої матерії, як і сама матерія, складаються з неорганічних сполук. До складу клітини входять неорганічні сполуки і складні

молекули – протеїни, ліпіди, поліцукориди, нуклеїнові кислоти. Цей субмікроскопічний рівень має важливе значення, оскільки макромолекули, ензими, субстрати, метаболіти беруть участь у всіх хімічних та енергетичних обмінах, що забезпечують життєдіяльність клітини.

Основними хімічними елементами органічних макромолекул клітини є Карбон, Гідроген, Оксиген, Нітроген. Ці елементи ідеально пристосовані до виконання біологічних функцій, оскільки усі вони утворюють ковалентні зв'язки, які здійснюються спільною парою електронів, що утворюється внаслідок перекивання електронних орбіталей атомів при їх взаємодії. Для того, щоб заповнити свої зовнішні електронні орбіталі і утворити стабільні ковалентні зв'язки, Оксигену потрібно два електрони, Нітрогену – три, Карбону – чотири, а Гідроген є донором свого одного електрона. Крім цього, Оксиген, Нітроген, Карбон утворюють одинарні і подвійні зв'язки, тому здатні до формування широкого спектру хімічних структур. Серед елементів, які утворюють ковалентні зв'язки, вони є найлегшими, а міцність ковалентних зв'язків обернено пропорційна масі атомів, що взаємодіють. Усі наведені обґрунтування визначають факт, що для свого матеріального існування природа обирає найменш енергетично затратні, найоптимальніші елементи.

Разом з Оксигеном, Нітрогеном, Карбоном, Гідрогеном життєво необхідними є Сульфур, Натрій, Хлор, Кальцій, Калій, Магній, Фосфор – це **макроелементи**, які є в організмі у високих концентраціях відносно загального відсотка вмісту речовин (вище 0,001%). **Мікроелементи** – елементи, кількість яких у клітині становить від 0,001% до 0,000001% (Купрум, Цинк, Манган, Молібден тощо). **Ультрамикроелементи** – елементи, вміст яких у клітині не перевищує 0,000001% (Аргентум, Гідраргіум, Селен тощо).

Гіалоплазма клітини містить воду (70 – 90%), у якій розчинені йони мінеральних солей, що мають важливе значення для створення осмотичного тиску. Вода – необхідна умова метаболізму клітини, оскільки усі фізіологічні процеси відбуваються у водному середовищі. Молекули води беруть участь у ферментативних реакціях клітини і можуть утворюватись у результаті метаболізму. Вода – є джерелом протонів Гідрогену під час фотосинтезу. Також вода використовується для виведення надлишку речовин з клітини і завдяки високій теплоємності здатна поглинати тепло та попереджувати різкі коливання температури у клітині. Вода

знаходиться у вільній формі (95%), так вона виконує функцію розчинника і дисперсійного середовища колоїдної системи протоплазми. Зв'язана вода (4-5%) асоційована з протеїнами водневими та іншими зв'язками, до такої форми води відноситься іммобілізована вода, що входить до складу фібрилярних структур макромолекул.

Хімічний склад усіх живих організмів відносно подібний.

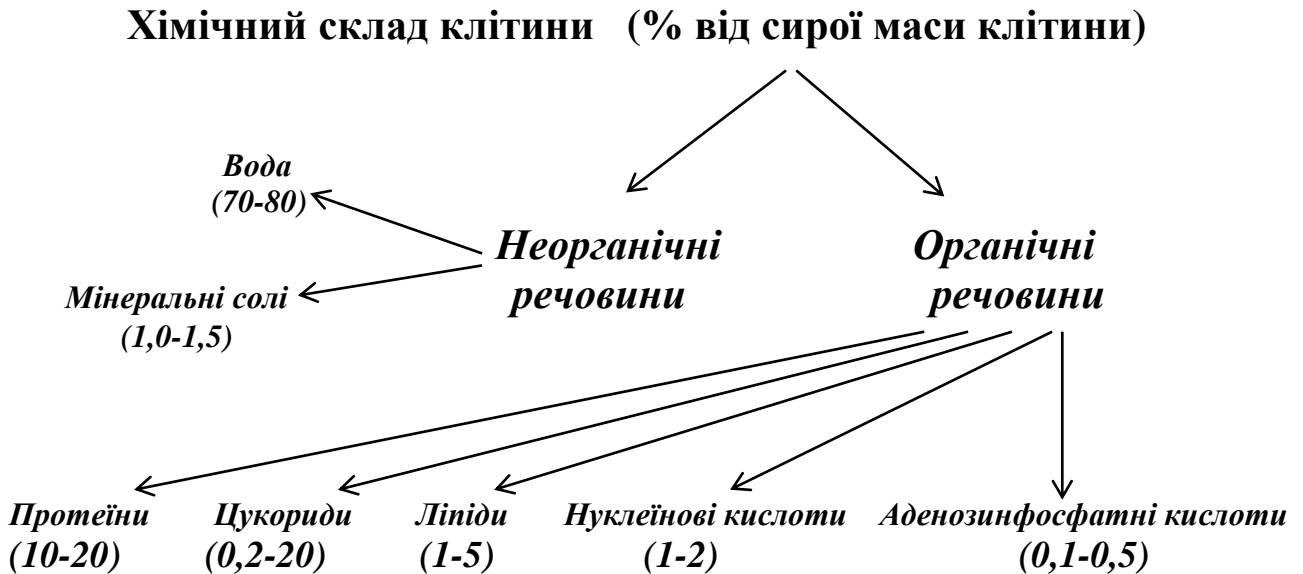


Рис. 1. 2. Хімічний склад клітини

Органічні сполуки складають близько 20 – 30 % маси живих клітин – це біологічні полімери – протеїни, нуклеїнові кислоти (РНК (рибонуклеїнова кислота), ДНК (дезоксирибонуклеїнова кислота) і поліцукориди, ліпіди, гормони.

ДНК – це макромолекула – носій генетичної інформації, місце локалізації генів, продуктами яких є протеїни, РНК. Вона є найменш мінливим клітинним компонентом. Зміни ДНК – причина зміни процесів життєдіяльності клітини. Кількість ДНК фіксована для кожної клітини. Тому кількість усіх інших молекул можна співставити, розрахувати на одну молекулу ДНК. Наприклад, на одну молекулу ДНК у живій біологічній системі припадає 44 молекули РНК, 700 молекул протеїнів, 7000 молекул ліпідів. Нуклеїнові кислоти складають лише 1-2% сирової маси клітини та є життєво необхідними для неї.

**Конституційними** називають сполуки живої клітини, що беруть участь у обміні речовин. Основними класами конституційних органічних речовин є протеїни, нуклеїнові кислоти, ліпіди і цукориди.

## Значення та вміст деяких макро-, мікроелементів клітини

Елемент	Вміст у клітині, %	Значення
Оксиген	65-75	Входить до складу молекул води і органічних сполук; забезпечує реакції окиснення, під час яких синтезується АТФ (аденозинтрифосфатна кислота)
Карбон	15-18	Входить до складу молекул органічних сполук; карбонати, бікарбонати підтримують <b>гомеостаз</b> (лат. <i>homeostasis</i> < грец. <i>homoios</i> – однаковий, подібний + <i>stasis</i> – стан) – відносна динамічна сталість внутрішнього середовища клітини та її фізіологічних функцій
Гідроген	8-10	Входить до складу молекул води і органічних сполук; підтримання кислотно-основної рівноваги (рН)
Нітроген	1,5-3	Структурний компонент протеїнів, нуклеїнових кислот, АТФ та деяких інших біомолекул
Фосфор	0,2-1,0	Один з основних аніонів внутрішнього середовища клітини; підтримання гомеостазу; входить до складу протеїнів, нуклеїнових кислот, АТФ (участь в утворенні макроергічних зв'язків), фосфоліпідів, коензимів НАДФ (нікотинаденіндинуклеотидфосфат)
Калій	0,15-0,4	Один із основних катіонів внутрішнього середовища клітини, зумовлює виникнення мембранного потенціалу клітин; забезпечує підтримання осмотичного тиску; на конкурентній взаємодії йонів $K^+$ і $Na^+$ та $K^+$ і $H^+$ базується участь Калію у регуляції рН і транспорт речовин
Сульфур	0,15-0,2	У структурі протеїнів та інших біомолекул, сульфати підтримують гомеостаз

<i>Продовження табл. 1. 1.</i>		
Хлор	0,05-0,1	Один із основних аніонів у міжклітинному середовищі; входить до складу хлоридної кислоти; забезпечує підтримання осмотичного тиску і надходження води; підтримання рН
Кальцій	0,04-2,0	Найвищою є його концентрація у клітинному ядрі, апараті Гольджі, гладенькій ендоплазматичній сітці (ЕПС) та міжклітинній рідині. Бере участь у регуляції метаболічних процесів, детоксикації, підтриманні рН, обміні Феруму
Магній	0,02-0,03	Один із основних позитивно заряджених йонів у середині клітини; активізує діяльність ензимів, структурний компонент хлорофілу, ензимів
Натрій	0,02-0,03	Один із основних позитивно заряджених йонів у міжклітинному середовищі, зумовлює виникнення мембранного потенціалу клітин; забезпечує транспорт речовин через клітинні мембрани; забезпечує підтримання осмотичного тиску і надходження води
Ферум	0,01-0,015	Входить до складу протеїнів та інших біомолекул, зокрема гемоглобіну, ферритину, цитохромів, ензимів (каталази, цитохромоксидази)
Цинк	0,0003	У структурі ензимів, гормонів
Купрум	0,0002	Входить до складу деяких ензимів, що беруть участь у реакціях окиснення, також дихальних пігментів
Йод	0,0001	Входить до складу гормонів. Інгібітор ензимів гліколізу

### **Функції протеїнів:**

– **структурна:** входять до складу клітинних мембран, цитоскелету гіалоплазми, органоїдів, ламіни ядра, хромосом і ядерця;

– **каталітична:** протеїни – ензими каталізують перебіг біохімічних реакцій. В основі їхньої ферментативної функції механізм пізнання ензимом визначеного субстрату. Ензим володіє високоспецифічною, унікальною третинною структурою, що відповідає структурі субстрату і здатністю до зворотної денатурації комплексу ензим-субстрат після завершення реакції;

– **транспортна:** перенесення речовин транспортними протеїнами, наприклад Оксигену гемоглобіном, міоглобіном. Протеїни плазми крові: низькомолекулярні глобуліни, тироксинзв'язуючий протеїн, транспортин транспортують кортикостероїди; альбуміни транспортують котехоламіни. Каналоутворюючі і транспортні протеїни мембран (транслокази) беруть участь у мембранному транспорті речовин, зокрема, високомолекулярних, заряджених сполук, йонів;

– **рухова:** забезпечується скоротливим протеїном – актином. Нитки війок і джгутиків здатні скорочуватися з використанням енергії АТФ. Рухова функція протеїнів тубуліну, актину пов'язана з так званим тредмілінгом – переміщенням внутрішньоклітинних компонентів за рахунок збирання одного кінця структури цитоскелету і розбирання іншого;

– **захисна:** пов'язана з синтезом лейкоцитами антитіл. Прикладом захисної функції протеїнів може бути перетворення фібриногену у фібрин при згортанні крові;

– **сигнальна (рецепторна):** здійснюється протеїнами мембран – рецепторами. Молекули рецепторів здатні змінювати свою структуру під впливом хімічних і фізичних чинників, унаслідок чого клітина реагує на ці зміни;

– **регулююча:** здійснюється протеїнами гормонами (інсулін), циклінами, факторами росту. Завдяки цим протеїнам у клітині регульованими є процеси ділення, росту, клітинний, життєвий цикли;

– **енергетична** функція полягає у здатності протеїнів бути джерелом енергії у клітині (як правило, за відсутності інших). При повному ферментативному розщеплюванні 1 г протеїну виділяється 17,6 кДж енергії.

#### **Функції цукоридів:**

– **структурна:** входять до складу клітинних стінок рослин (крохмаль, целюлоза, ксилан, альгінові кислоти, пектинова кислота), грибів (хітин); клітин тварин (глікоген). Пентози – рибоза і дезоксирибоза – входять до складу нуклеїнових кислот і АТФ;

- **енергетична:** в їх здатності бути основним джерелом енергії у клітині. Під час окиснення 1 г цукоридів вивільняється 17,6 кДж енергії;

- **запасаюча:** крохмаль у рослин і глікоген у тварин, відкладаючись у клітинах, служать енергетичним резервом.

#### **Функції ліпідів:**

- **структурна, захисна:** входять до складу клітинних мембран, гіалоплазми, органодів, ядерного соку. Бімолекулярний шар ліпідів (переважно фосфоліпиди) утворює основу всіх біологічних мембран клітин;

- **рецепторна:** наприклад, гангліозиди є рецепторами вірусів на клітинних мембранах;

- **транспортна:** транспорт жиророзчинних сполук через мембрану;

- **запасаюча:** вони є джерелом води, що утворюється при їх окисненні;

- **енергетична:** в їх здатності бути запасним джерелом енергії у клітині. При повному розщеплюванні 1 г ліпідів вивільняється 38,9 кДж енергії.

#### **Функції нуклеїнових кислот:**

- **структурна:** входять до складу хроматину, рибосом;

- **інформаційна:** відповідають за збереження, передавання і реалізацію генетичної інформації;

- **каталітична:** специфічний каталіз хімічних реакцій рибозимами – ензимами, які здатні вносити розриви в інші молекули РНК або, навпаки, «склеювати» два РНК-фрагменти під час сплайсингу. Активні центри рибосомальної РНК каталізують утворення пептидного зв'язку під час трансляції у пептидилтрансферазному центрі рибосоми. Молекули РНК входять до складу деяких ензимів, наприклад, теломерази. Теломераза – ензим пухлинних клітин, що забезпечує відновлення структури теломер – кінцевих ділянок хромосом, які перешкоджають злипанню хромосом, підтримують стабільність геному і безмежне ділення клітини;

- **регулююча:** здатні регулювати активність генів, деградуючи матричну РНК, припиняють реалізацію генетичної інформації.

### **1.2.1. Нуклеотиди – універсальні компоненти обміну речовин.**

**Аденозинтрифосфатна кислота (АТФ)** – нуклеотид складається з рибози, аденіну і трьох фосфатних залишків. АТФ



вперше досліджено у екстрактах м'язевих тканин німецьким дослідником К. Ломаном. Майже одночасно, у 1929 р. американські дослідники С. Фіске і Й. Суббароу виділили цю сполуку. Спочатку вважали, що АТФ приймає участь лише у м'язевих скороченнях. У 1941 р. Ф. Ліпман висунув гіпотезу, за якою АТФ у клітинах відіграє роль головного і універсального перетворювача енергії. Крім енергетичної функції, АТФ у клітинах є універсальним джерелом фосфатних груп, забезпечує транспорт протонів  $H^+$  і деяких інших катіонів через мембрани проти градієнта концентрації. У випадку приєднання до залишку фосфатної кислоти активних груп, наприклад, вітамінів, утворюються більш складні нуклеотиди. Всі вони відіграють значну роль в обміні речовин клітини. Прикладом є нікотинамідаденіндинуклеотид та нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (відповідно, НАД і НАДФ). Вони, подібно до АТФ, приймають участь у енергетичних процесах. До складу НАД і НАДФ входять аденін, дві молекули рибози, з'єднані двома фосфатними залишками і вітамін  $B_5$ . Ці сполуки є активаторами (коензимами) майже 150-ти біохімічних реакцій, пов'язаних з утворенням енергії та іншими важливими перетвореннями у клітинах як прокариотів, так і еукаріотів. Відкрили НАД і НАДФ німецькі дослідники Р. Кун і О. Варбург. Крім названих, у клітині є й інші енергетичні нуклеотиди, зокрема гуанозинтрифосфат (ГТФ). За своєю будовою вони подібні або до АТФ, або до НАДФ. Таким чином, нуклеотиди є універсальними компонентами обміну речовин і перетворення енергії у біологічних об'єктах.

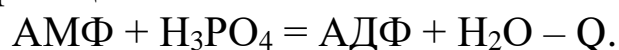
АТФ – це аденіловий нуклеотид, що акумулює та транспортує енергію у клітині. До аденілових нуклеотидів відносяться АМФ (аденозинмонофосфатна кислота), АДФ (аденозиндифосфатна кислота) і АТФ.

**АТФ** – аденін, рибоза, три залишки ортофосфатної кислоти.

**АДФ** – аденін, рибоза, два залишки ортофосфатної кислоти.

**АМФ** – аденін, рибоза, залишок ортофосфатної кислоти.

На приєднання залишку ортофосфатної кислоти до АМФ і утворення АДФ під час фосфорилування затрачається 40 кДж енергії, каталізує реакцію ензим АТФ-синтаза:



У зворотному процесі (дефосфорилування) енергія вивільняється, каталізує реакцію ензим АТФаза:



Відщеплення одного фосфатного залишку супроводжується виділенням майже 40 кДж енергії. Зруйнований зв'язок називають **макроергічним** (від *makro* – великий), а АТФ – **макроергічною сполукою**. Під час реакцій катаболізму відбувається виділення енергії, вона акумулюється (накопичується) у вигляді макроергічних зв'язків АТФ та АДФ. Енергія у формі хімічного зв'язку зберігається, переноситься у те місце, де, наприклад, протікають реакції анаболізму, і вивільняється. Завдяки таким властивостям АТФ виконує роль акумулятора енергії. Енергія, яка вивільняється у процесі дефосфорилування АТФ, використовується для реакцій синтезу, активного транспорту речовин, забезпечення інших процесів життєдіяльності.

## 1. 2. 2. Ензими і їх роль у метаболізмі клітини, енергетична функція цукоридів

**Ензими** – це біологічні каталізатори. Всі ензими – протеїни, синтезовані живими клітинами. За участі ензимів прискорюються у тисячі разів численні біохімічні реакції.

Властивості ензимів:

- усі вони глобулярні протеїни;
- прискорюють реакцію, але самі у цій реакції не витрачаються;
- досить мала кількість протеїну спричиняє перетворення великої кількості субстрату;
- активність ензиму залежить від рН середовища, температури, тиску, від концентрації субстрату та самого ензиму;
- дія ензимів вибіркова, тобто один ензим майже завжди каталізує тільки одну реакцію.

Ензими, діючи як каталізатори, зменшують енергію активації, необхідну для початку реакції.

Речовина, перетворення якої каталізує ензим, має назву **субстрат**. Кожному ензиму відповідає свій власний субстрат. З'єднуючись зі субстратом, ензим утворює ензим-субстратний комплекс (ES), імовірність перебігу реакції у якому значно зростає. Після закінчення реакції ензим вивільняється і знову може вступати у реакцію:



де S – субстрат; E – ензим; ES – ензим-субстратний комплекс; EP – комплекс ензим-продукт; P – продукт (продукти).

Швидкість ферментативної реакції – кількість перетвореного субстрату або кількість продукту, утвореного за одиницю часу.

Ензими у клітині розподілені не хаотично, а локалізовані у певних компартментах, упорядковані усередині макромолекулярного цитоскелету і клітинних органоїдів, утворюючи *поліферментну систему*.

Ензими, які перетворюють субстрат протеїни, називають протеїназами; відщеплюють Гідроген від субстрату – дегідрогеназами (сукцинатдегідрогенази, глутаматдегідрогенази); фосфатні групи – фосфатазами; гідролази розщеплюють субстрат, приєднуючи у місці кожного зі зруйнованих зв'язків молекулу води; ДНК-залежні-ДНК-полімерази синтезують ДНК на матриці ДНК (субстрат); ДНК-залежні-РНК-полімерази синтезують РНК на матриці ДНК (субстрат); РНК-залежні-ДНК-полімерази синтезують ДНК на матриці РНК (субстрат).

Деякі ензими є складними протеїнами, залежними від коензимів, йонів металів. Коензимами можуть бути вітаміни, НАД та НАДФ.

Кожен ензим діє тільки на один тип субстрату, у цьому є його специфічність і тлумачиться механізм дії. Ензими можна виділити з клітини і вивчати кожен окремо та у більшості випадків у клітині еволюційно сформувались ланцюги хімічних реакцій, що каталізуються певним набором ензимів. У таких ланцюгах продукт одної реакції є субстратом для наступної. Також реакції одного ланцюга можуть бути спряженими з іншим. Наприклад, ланцюг ферментативних реакцій циклу Кребса у матриксі мітохондрій спряжений з дихальним ланцюгом транспорту електронів, що локалізується на внутрішній мембрані мітохондрій. Дихальний ланцюг – це система протеїнів-переносників електронів, які створюють умови для синтезу АТФ у циклі Кребса (рис. 1.3).

**Цикл Кребса** (цикл лимонної кислоти – ЦЛК, цикл трикарбонових кислот – ЦТК, цитратний цикл) – це загальний кінцевий шлях розпаду головних молекул (цукоридів, ліпідів, протеїнів) до  $\text{CO}_2$  і води за участю молекулярного Оксигену. Майже всі ензими, які каталізують реакції ЦТК знаходяться у матриксі мітохондрій у вільному стані, лише один зв'язаний з внутрішньою мембраною, інтегрований у біліпідний шар, – це сукцинатдегідрогеназа. У прокаріот реакції ЦЛК відбуваються у цитозолі. На важливість цього процесу вказує той факт, що не існує

спадкових захворювань, причиною яких є дефіцит ензимів ЦЛК. Будь-які зміни у ланцюгу реакцій цього циклу несумісні з життям.

Цикл забезпечує:

1. Інтегративну функцію – ЦЛК поєднує шляхи метаболічних перетворень ліпідів, цукоридів, протеїнів;
2. Енергетичну функцію – синтез АТФ;
3. Гідроген генеруючу функцію – цикл є головним генератором  $H^+$  для роботи дихального ланцюга;
4. Амфіболічну функцію – інтермедіати цього катаболічного процесу можуть бути використані для синтезу інших сполук.

Ензимами циклу Кребса є: цитратсинтаза, аконітаза, ізоцитратдегідрогеназа, сукцинаттіюкіназа, сукцинатдегідрогеназа, фумараза, малатдегідрогеназа, які перетворюють відповідні субстрати.

У аеробних організмів з циклом Кребса, дихальним ланцюгом транспорту електронів спряженим є гліколіз (рис. 1. 3.). **Гліколіз** – це сукупність ферментативних реакцій, які забезпечують безкисневе розщеплення глюкози з утворенням молочної кислоти з піровиноградної і АТФ. Філогенетично це найстаріший механізм енергетичного обміну властивий анаеробам. В аеробів унаслідок гліколізу синтезується піровиноградна кислота, яка проникає у мітохондрії і включається у реакції перетворень циклу Кребса. Незважаючи на низьку ефективність, гліколіз має велике фізіологічне значення. Завдяки ньому організми забезпечуються енергією в умовах дефіциту Оксигену.

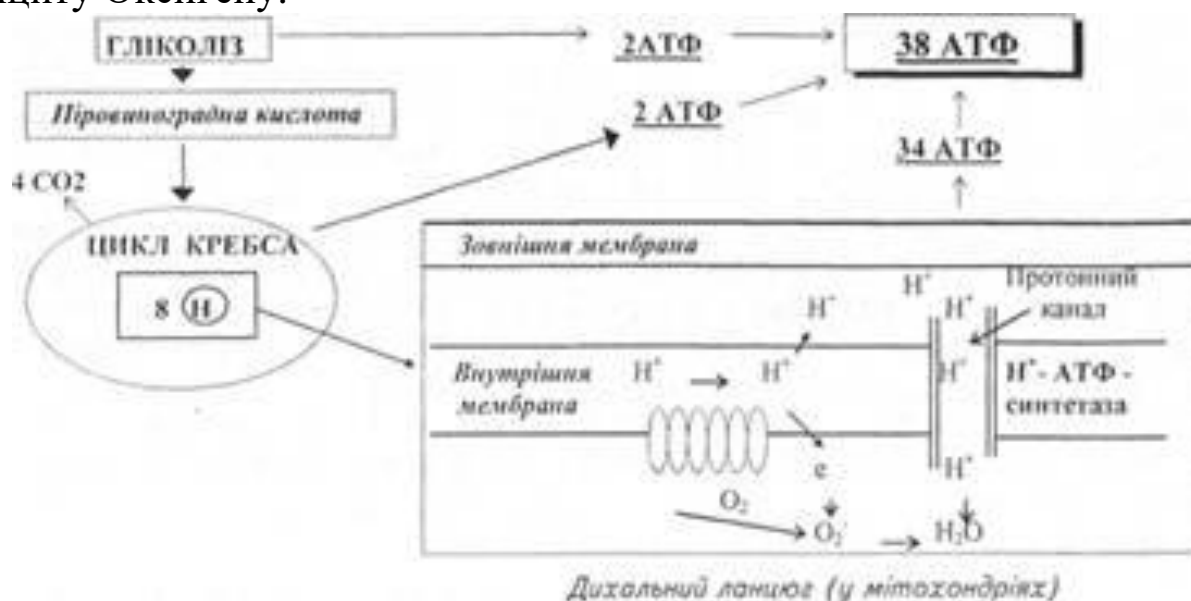


Рис. 1. 3. Спряженість циклу Кребса з дихальним ланцюгом транспорту електронів. Цикл Кребса є донором протонів Гідрогену для функціонування дихального ланцюга транспорту електронів

### 1.3. Клітина як динамічна, відкрита система

Неорганічній речовині властиве намагання досягнути стану термодинамічної рівноваги, який характеризується випадковим розподіленням речовин і енергії. Для існування живої біологічної системи досягнення стану *термодинамічної рівноваги* – стан системи, коли градієнти різних видів енергії (хімічної, електричної) вирівняні, і здатність системи здійснювати роботу дорівнює нулю, а ентропія максимальна, означає загинути.

*Ентропія* – це витрати енергії, яка вже не може бути використана на процеси життєдіяльності.

Усі процеси, які протікають у клітині, носять необернений характер. Тому ентропія у системі «клітина» могла б збільшуватися. Оскільки клітина – відкрита система, отримуючи енергію зовні, вона запасається нею у вигляді сполук АТФ. Частина енергії виділяється у довкілля у тепловій формі або у формі кінцевих продуктів метаболізму, що призводить до зниження ентропії системи. Енергія АТФ використовується для здійснення корисної роботи. Якщо потік енергії і поживних речовин до клітини переривається, жива система стає нездатною підтримувати своє існування і гине. Після чого система веде себе як нездатне до самоорганізації утворення: відбувається швидка дезорганізація, що супроводжується розсіюванням речовини і енергії у навколишнє середовище.

Отже, жива біологічна система підтримує упорядкованість підсистем (наявність структур та їх функцій). Це можливе завдяки енергетичному обміну, в основі якого постійне надходження і виділення речовин та енергії.

У біосистемах протікають такі енергетичні процеси: дихання, фотосинтез, транспорт речовин, згадані вище: гліколіз, цикл Кребса. Власне ці процеси забезпечують упорядкований у часі та просторі, координований перебіг усіх метаболічних і фізіологічних процесів.

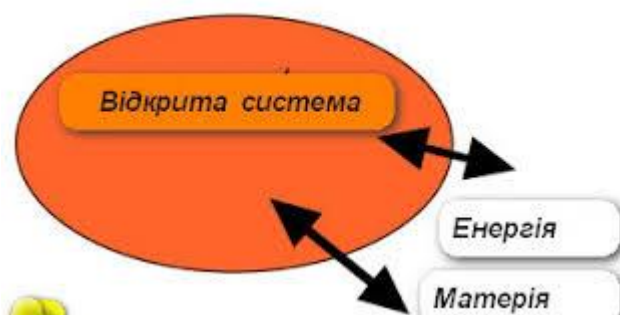


Рис. 1. 4. Клітина як відкрита система здійснює обмін матерією і енергією з навколишнім середовищем

Ці процеси виникли еволюційно і скеровані на те, що будь-яка

жива клітина здатна сприймати зовнішню енергію і трансформувати її у енергію хімічних зв'язків молекул. У процесі життєдіяльності складні сполуки розпадаються з виділенням енергії. Процеси життєдіяльності забезпечують колообіг енергії, а це – перша фундаментальна властивість живого. Коли колообіг завершується, настає смерть.

Обмін речовин і енергії у клітині називають *метаболізмом*. В результаті метаболізму безперервно утворюються, оновлюються, деградують клітинні структури, синтезуються і деградують хімічні сполуки. У клітині динамічно урівноважені два напрямки метаболізму:

- *анаболізм* – біосинтез органічних сполук;
- *катаболізм* – деградація складних молекул до простих.

Залежно від напрямку хімічних процесів та їх результату розрізняють також пластичний та енергетичний типи метаболізму.

*Пластичний метаболізм* – це сукупність хімічних реакцій, спрямованих на будову структур клітини. В його основі біосинтез речовин, відбувається з поглинанням енергії.

*Енергетичний метаболізм* – це сукупність реакцій спрямованих на запасання енергії, необхідної для здійснення усіх видів роботи, а також для можливості пластичного метаболізму. Енергія зберігається у АТФ або надходить зовні, наприклад, сонячна енергія.

Як відкрита система клітина еволюціонує. В основі еволюції є мінливість, природній добір, адаптація до умов середовища.

Зміни на молекулярному рівні клітини провокують дві основні причини:

- помилки реплікації;
- мутагенний вплив різної природи.

У кожній клітині нормальна метаболічна активність і зовнішні фактори, такі як фізичні чинники, зокрема ультрафіолетове випромінювання; хімічні речовини, зокрема канцерогени; біологічні агенти можуть спричинити пошкодження ДНК, метаболізму клітини. Це призводить до постійної активності клітини у керунку редагування змін. До 1 мільйона молекулярних пошкоджень на ДНК у день може відбуватись у клітині. Зусиль систем репарації стає недостатньо у стресових ситуаціях, коли організм піддається масовому мутагенному впливу.

Багато пошкоджень неможливо репарувати. У такому випадку,

наприклад, структурні пошкодження молекули ДНК впливають на транскрипцію генів клітини, виключають деякі гени або призводять до надсинтезу сполуки внаслідок надекспресії певного гена. Це, у свою чергу, призводить до змін метаболізму, фенотипу клітини, що може бути як адаптивною зміною, так і летальною. Деякі пошкодження можуть спричиняти нейтральні мутації, які не матимуть наслідків для клітини.

Навіть присутність незначної кількості мутагенів у навколишньому середовищі спричиняє безперервне накопичення мутацій у геномі соматичних клітин. Процес накопичення мутацій, які уникли корекції системами репарації, є *кумулятивним* – до раніше існуючих мутацій неухильно додаються нові, і сумарна кількість мутацій у геномі (генетичний вантаж) зростає. Мутації успадкуються, а з часом при виникненні у геномі дочірньої клітини нових змін, така клітина може:

- загинути внаслідок провокування летальних мутацій;
- стати адаптованою до умов середовища;
- трансформуватись, зокрема у злоякісну.

Тому постійне надходження інформації, впливи зовні є чинниками прогресивних або регресивних змін, обміном інформацією, енергією, що забезпечує життєдіяльність, динамічність живої системи. Численні мутагени екзогенного і ендогенного походження створюють навколо і всередині будь-якої клітини той мутагенний фон, до якого вона змушена пристосовуватися у процесі еволюції.

#### **1.4. Клітина як інформаційна, самовідтворююча система**

Потік інформації надходить у клітину ззовні за допомогою рецепторів. У клітинах кожного конкретного типу є характерний набір рецепторів, розташованих або на клітинній поверхні, або у цитозолі, або безпосередньо у ядрі. Рецептори слугують для отримання специфічного сигналу та запуску каскаду ферментативних реакцій, що й спричиняє клітинну відповідь. Клітина, яка має рецептор для сприйняття сигналу, називається «клітиною-мішенню». «Клітина-мішень» може мати одночасно рецептори для багатьох регуляторів і перебувати під множинним контролем. Завдяки широкому спектру рецепторів клітина може пристосовуватися до мінливих умов існування. Це забезпечується утворенням нових, потрібних у даних умовах, ензимів та інших макромолекул.

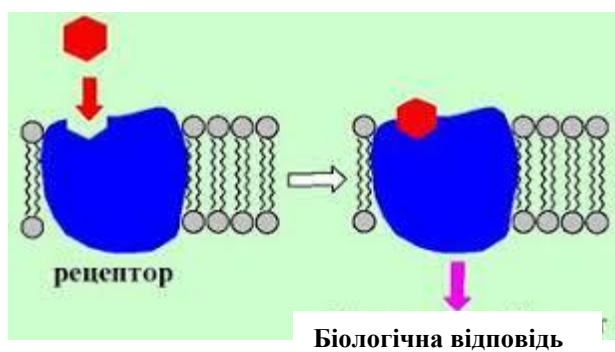


Рис. 1. 5. Рецептор на цитоплазматичній мембрані клітини

Пристаювальні внутрішньоклітинні процеси можуть призводити до змін форми, розмірів і функціонування клітин. У підсумку, адекватна реакція на сигнали зовнішнього середовища дозволяє клітині вижити в умовах, що змінюються.

Іншим результатом відтворення інформації у клітині є синтез протеїнів. Протеїни виконують майже усі важливі функції клітини і є структурно-функціональною основою життя. Водночас, це молекули, які здатні швидко деградувати, втрачати активність. Також у клітині може бути потреба синтезу конкретного протеїну, наприклад, у зв'язку зі зміною функціонального стану у конкретний час. Тому поновлення протеїнів у клітині відбувається постійно. Інформація про первинну структуру протеїнів міститься на ДНК як послідовність нуклеотидів. *Ген* – це ділянка ДНК, яка є одиницею спадкової інформації і відповідає за синтез одного протеїна та формування одної ознаки.

Біологічна інформація записана у генах таким чином, що здатна безпомилково копіюватись і передаватись успадок. Генетична інформація записана на двох комплементарних, ідентичних ланцюгах ДНК. Кожен з ланцюгів може бути комплементарно досинтезований ДНК-залежною-ДНК-полімеразою у результаті реплікації, що призводить до подвоєння генетичної інформації і можливості її розподілу по обох дочірніх клітинах. Таким чином, відбувається передавання генетичної інформації від клітини до клітини.

У реалізації генетичної інформації беруть участь РНК: рибосомальні РНК (рРНК), транспортні РНК (тРНК), інформаційні РНК (іРНК). У результаті транскрипції генетична інформація переписується на мобільну іРНК, яка у цитоплазмі входить до трансляційного комплексу. Під час трансляції відбувається декодування генетичної інформації і синтез поліпептидних ланцюгів. Послідовність нуклеотидів гена визначає послідовність амінокислот протеїнів.





Рис. 1. 6. Центральна догма молекулярної біології

Правило перекладу послідовності триплету нуклеотидів у послідовність амінокислот називають **генетичним кодом**. Генетичний код і механізми реплікації та реалізації генетичної інформації є універсальними для усіх живих організмів.

Випадки помилок реплікації змінюють кодони. Тому реплікація є конваріантною, тобто такою, що призводить до змін. У кожній клітині є механізм виправлення помилок реплікації – **репарація**.

Усі клітини одного організму походять від одної – зиготи. Отже, кожна з них містить однаковий набір генів, забезпечений механізмами реплікації. Клітини живих організмів володіють здатністю синтезувати величезну кількість різноманітних протеїнів. Проте вони ніколи не синтезують усі протеїни одночасно. Кількість і спектр синтезованих протеїнів визначаються їх потребою у даний час і спеціалізацією клітини. Спеціалізації клітини набувають під час диференціювання задля виконання певних функцій. В основі спеціалізації лежить не втрата чи набуття генів, а експресія генів. **Експресія генів** – процес, при якому спадкова інформація використовується для синтезу функціонального продукту: протеїнів або РНК і регулюється регуляторними генами, внутрішніми та зовнішніми чинниками.

Таким чином, життя клітин підтримується завдяки постійним потокам речовин, енергії й інформації. Спільними є такі ознаки живого:

- усе живе побудоване з клітин;
- хімічний склад усіх клітин є універсальним;
- всі клітини характеризуються подібними реакціями метаболізму;
- універсальними є механізми збереження і реалізації, декодування генетичної інформації;
- однакові принципи функціонування різних клітин.

### 1.5. Роль нуклеїнових кислот в еволюції живого, гіпотеза виникнення біологічного замкнутого простору

Існує кілька гіпотез походження живого. І надалі немає єдиного, доведеного факту про те, внаслідок чого, за яких умов виникло життя на Землі. Певні, спільні ознаки живого, про які уже сказано і буде наведено далі, гіпотетично доводять існування спільного предка живих організмів. Гіпотетичний розгляд проблеми у розрізі еволюції є досить цікавим способом проаналізувати і узагальнити, порівняти доведені закономірності, механізми біологічних процесів, структурну організацію живого. Вивчення функціонування примітивніших істот дає можливість встановити логічну послідовність стадій розвитку і організацію складніше організованих.

Відповідно до *теорії абіогенезу* (життя виникло у результаті сприятливої сукупності фізичних і хімічних умов) першою молекулою нуклеїнової кислоти, яка виникла у ході еволюції органічних сполук, була РНК. Молекула РНК має дві важливі властивості:

- закодована у її нуклеотидній послідовності інформація успадковується (наприклад, РНК віруса);
- унікальна просторова структура зумовлює характер взаємодії з іншими молекулами.

Обидві ці властивості: інформаційна та функціональна є необхідними передумовами еволюційного процесу. У процесі еволюції молекула РНК набуває здатності реплікуватися. Для молекули РНК, що реплікується, критичним компонентом середовища є набір інших молекул РНК у середовищі, зокрема ензимів реплікації РНК, тому відбувається природний добір самореплікуючих молекул, в основі якого є конкуренція за наявність нуклеотидів у середовищі і швидкість реплікації. Крім того, що РНК є матрицями у процесі власної реплікації, вони можуть каталізувати руйнування та утворення ковалентних зв'язків між нуклеотидами. Отже, є РНК, які можуть фрагментувати інші РНК, також ці рибозими задіяні у механізмі сплайсингу «зшивають» екзони.

Таким чином, досить імовірно, що 3,5–4 млрд. років тому самореплікація молекул РНК започаткувала еволюційний процес живого.

На сьогодні імовірним підтвердженням гіпотези, що РНК – це перша молекула, яка володіла здатністю зберігати та реалізувати

генетичну інформацію є наступне: синтез протеїнів у клітині відбувається за участю рибосом, що містять декілька молекул РНК і понад 50 різних типів протеїнів. Але саме рибосомальній РНК належить роль головного каталізатора у процесі синтезу протеїнів: ензиматично компетентні ділянки рибосомальної РНК мають пептидилтрансферазну активність і здатні каталізувати реакції транспептидації (нарощування поліпептидного ланцюга амінокислот) у процесі трансляції.

Синтез специфічних протеїнів «під контролем РНК» вимагав створення певного коду, за допомогою якого полінуклеотидна послідовність зумовлювала б послідовність амінокислот у протеїні. Цей генетичний код, вибраний, найімовірніше, випадково, залишається практично однаковим у всіх живих організмів. Тому існує думка, що усі сучасні клітини є нащадками однієї примітивної лінії клітин, що зуміла «розробити» ефективний механізм синтезу протеїнів.

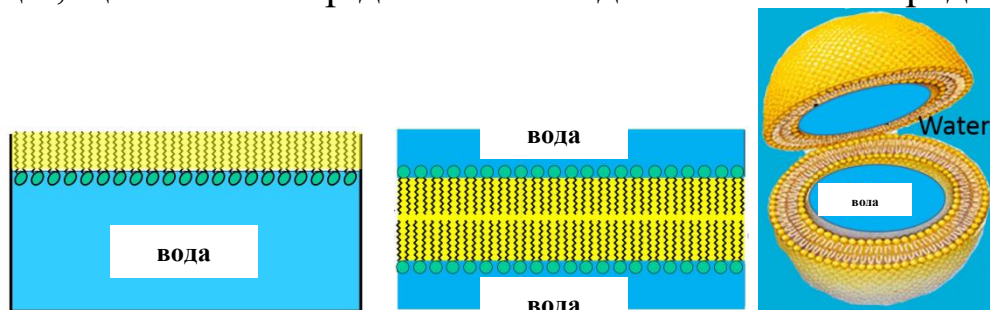
Після виникнення ефективного синтезу протеїнів ДНК перейняла на себе генетичну функцію, протеїни стали основними каталізаторами, а РНК залишилась, головним чином, як проміжний ланцюг між ними. ДНК стала необхідною тоді, коли будова клітини ускладнилася й зростає кількість необхідної для неї генетичної інформації. Таку кількість генетичної інформації невзможливо стабільно підтримувати РНК.

Отже, у процесі виникнення життя на Землі відбувалися наступні події:

- виникнення процесу *самовідтворення* (реплікація) молекул нуклеїнових кислот, що не кодують амінокислот для збереження молекул у часі;
- деякі ділянки РНК, ДНК придбали *функцію кодування*, тобто стали структурними генами, сукупність яких на певному етапі еволюції склала первинний генотип;
- *експресія кодуючих послідовностей* РНК, ДНК призвела до формування первинного фенотипу, який оцінювався природним відбором на здатність виживати у конкретному середовищі.

Однією з вирішальних подій, які призвели до формування першої клітини, вважають формування зовнішньої мембрани. І найважливіша роль в еволюції клітинних мембран належить, очевидно, класу *амфінатичних молекул*, які мають одну гідрофобну (нерозчинну у воді), а іншу гідрофільну (розчинну у воді) частини.

Коли такі молекули потрапляють у воду, вони розташовуються так, що їхні гідрофобні частини тісно контактують одна з одною, а гідрофільні – з водою. Амфipатичні молекули здатні спонтанно агрегувати, утворюючи двошарові структури у вигляді замкнених пухирців, що ізолюють рідкий вміст від зовнішнього середовища.



**Рис. 1. 7. Формування цитоплазматичної мембрани у ході еволюції:**  
 а) амфipатичні молекули скеровані гідрофільною частиною до води;  
 б) гідрофобні частини амфipатичних молекул у воді контактують між собою;  
 в) амфipатичні молекули спонтанно агрегують, утворюючи двошарові структури, подібні до замкнених міхурців

За своєю просторовою організацією така замкнута сферична форма мембрани, основу якої складають ліпіди, є термодинамічно вигідною, порівняно з іншими можливими варіантами розташування молекул.

На думку науковців, у незамкнутому просторі не відбувався б природний добір, який призвів до відбору і вдосконалення механізмів зберігання і реалізації генетичної інформації. Адже лише у замкнутому просторі є можливість шляхом природного добору системі відібрати ті механізми, молекули, зокрема протеїни, які будуть її вдосконалювати. Протеїни, які синтезувалися під контролем певного типу РНК, водночас зворотньо контролюють синтез цих РНК, сприяють їх відбору і мають утримувалися поблизу них. Інакше, вони однаково сприяли б розмноженню будь-якого з конкуруючих видів РНК і еволюція не відбувалася б.

Отже, відбір молекул РНК за якістю протеїнів, які вони кодують, не міг розпочатися раніше, ніж з'явився замкнутий об'єм (компаратмент), що замкнув у собі протеїни, утворені цією ж молекулою РНК.

Конформаційна специфіка бішарової ліпідної мембрани передбачає автономність щодо зовнішнього середовища та одночасно селективний і контрольований зв'язок з ним. Зрозуміло, що утворена вдала форма закріпилася у процесі еволюції та створила передумови для формування механізмів гомеостазу, що стали одним з ключових

принципів феномену життя. Усі нині існуючі клітини оточені плазматичною мембраною, яка складається з амфіпатичних молекул, головним чином фосфоліпідів і протеїнів.

Фосфоліпіди – одна з груп ліпідів, що є похідними жирних кислот, спиртів і альдегідів. Гідрофобні властивості сполук цієї групи (як і класу ліпідів у цілому) зумовлені, здебільшого, наявністю в їхніх молекулах залишків вищих жирних кислот. До складу природних жирів, як правило, входять жирні кислоти з парним числом атомів Карбону. Ланцюг може бути насиченим (не мати подвійних зв'язків) і ненасиченим (містити один чи більше подвійних зв'язків).

Молекули фосфоліпідів (або фосфогліцеридів) є похідними гліцеролу і містять, крім гідрофобних залишків, гідрофільні компоненти, до яких належать фосфатна кислота та спирти (холін, етаноламін), амінокислоти й багатоатомні спирти. Саме гідрофільні компоненти визначають структурну різноманітність природних гліцерофосфоліпідів. Крім того, полярні угруповання надають молекулам фосфоліпідів здатності до взаємодії з водними розчинами електролітів.

Як тільки молекули РНК опинились у мембранному оточенні, вони почали еволюціонувати не лише на основі своєї власної структури: нуклеотидні послідовності РНК могли тепер детермінувати ознаки цілої клітини, впливаючи на інші молекули у цьому ж компартменті, які, у свою чергу, «редагували» вихідні послідовності РНК. З часом ДНК починає виконувати функцію збереження генетичної інформації, оскільки її молекула більш стабільна. Частково це зумовлюється тим, що у ДНК відсутня гідроксильна група. Крім того, ДНК існує переважно у дволанцюговій формі, що дозволяє їй легко реплікувати та репарувати.

### **1. 6. Еволюція клітини**

Першою клітинною формою, що сформувалася у процесі еволюції, була прокаріотична. Цитоплазматична мембрана (ЦПМ) такої клітини оточувала один цитоплазматичний компартмент, що містив ДНК, РНК, рибосоми, протеїни та інші складові. Деякі ділянки ЦПМ, виступаючи всередину, утворювали мезосоми. Трансформація поживних речовин відбувалася у цитозолі, часто за участю мезосом.

Сучасні прокаріоти дають нам сьогодні практично повне уявлення стосовно структурно-функціональних особливостей своїх предків. Розмноження відбувалося шляхом бінарного ділення з

частотою 1 ділення у 20 хв. Висока швидкість ділення сприяла надзвичайно високій адаптивній спроможності прокаріотичних форм до змін довкілля. Виникали форми, що використовували практично будь-які органічні молекули – поліпептиди, поліцукориди, ліпіди й амінокислоти для отримання хімічної енергії та Карбону. Енергія і Карбон необхідні для синтезу власних органічних сполук. Процес синтезу власних органічних сполук у клітині є комплексом складних ланцюгових ферментативних перетворень. Завдяки тому, що відбувалося постійне ускладнення і вдосконалення ферментативних перетворень у зв'язку з адаптацією до змін умов середовища, клітинна форма життя прогресувала.

Еволюція метаболічних шляхів, як вважають, відбувалася через послідовне додавання нових ферментативних реакцій до тих, що вже існували. А це означає, що реакції, які є найпоширенішими, фундаментальними, є найдавнішими. Таку прадавню позицію в історії біохімії клітини посідають реакції за участю фосфатів цукрів, реакції гліколізу. Найдавніші з метаболічних перетворень мали бути анаеробними, оскільки вони формувалися у середовищі без Оксигену. На користь такої думки слугує той факт, що практично в усіх клітинах відбувається гліколіз, який супроводжується утворенням АТФ.

Ензими, що каталізують основні метаболічні реакції, з дивергенцією організмів поступово модифікувалися, але не змінили своєї головної функції. Тому тотожність амінокислотних послідовностей одного й того самого типу ензимів у різних сучасних організмах є свідченням спільного походження, подібності організмів.

Одними з найбільш автономних організмів, що існують нині, є ціанобактерії, які здатні фіксувати  $\text{CO}_2$  і  $\text{N}_2$  та існувати лише за рахунок води, повітря й сонячного світла. За одним із припущень, саме вони (за участю деяких інших форм бактерій) створили умови, у яких змогли розвинутися більш складні типи організмів. Як тільки певна група організмів стала здатна синтезувати весь діапазон органічних компонентів клітини з неорганічних речовин, інші організми отримали можливість існувати за рахунок первинних продуцентів.

Ураховуючи високу хімічну активність Оксигену та його здатність реагувати з більшістю компонентів цитоплазми, можна дійти висновку, що для ранніх організмів він був токсичним (як і для

більшості сучасних анаеробних бактерій). Однак саме завдяки своїй високій реакційній здатності Оксиген став постачальником хімічної енергії, здійснюючи процес окиснення хімічних сполук.

Живі організми еволюціонують далі, пристосовуючись до існування у оксигенному середовищі. Вони, або розвивають здатність дихати, стають аеробами, або знаходять анаеробні екологічні ніші. Деякі, вступивши у симбіоз з аеробними клітинами, утворили міцну асоціацію. Це найприйнятніше пояснення походження мітохондрій і хлоропластів еукаріотичної клітини (*симбіотична гіпотеза*). Хлоропласти здійснюють фотосинтез як прокаріоти – ціанобактерії, вони схожі за будовою. Існує припущення, що хлоропласти й ціанобактерії мають спільного предка, а мітохондрії походять від аеробних прокаріотів, «захоплених» колись анаеробною клітиною.

Мітохондрії та хлоропласти відрізняються від інших оточених мембраною органел тим, що мають свої власні геноми. Природа цих геномів і подібність протеїнів мітохондрій і хлоропластів до протеїнів деяких сучасних бактерій слугують на користь припущення, що ці органели є похідними бактерій, які були захоплені іншими клітинами і спочатку існували у симбіозі з ними. За цим припущенням, внутрішня мембрана мітохондрій і хлоропластів відповідає вихідній плазматичній мембрані бактерій, а матрикс цих органел є похідним бактеріальної цитоплазми.

Отже, існує думка, що попередниками еукаріотичних клітин були аеробні бактерії, здатні до амебоїдного руху. У бактерій, як правило, відсутні внутрішні мембрани, а відповідні функції (транспорт йонів, синтез АТФ, синтез ліпідів) у них виконує плазматична мембрана. Розміри сучасних еукаріотичних клітин перевищують розмір типової бактеріальної клітини у 10–30 разів. Тому збільшення кількості внутрішніх мембран у клітині еукаріотів пов'язано із збільшенням розмірів.

Еволюція внутрішніх мембран відбувалась, очевидно, паралельно зі спеціалізацією їхніх функцій. У деяких сучасних бактерій є певні ділянки ЦПМ, на яких мембранні протеїни зібрані разом для виконання взаємопов'язаних функцій. Як приклад, можна згадати «пурпурні мембрани» *Halobacterium*, які містять бактеріородопсин (рис. 1. 8). Інший приклад – хроматофори фотосинтезуючих бактерій. І перші, і другі комплекси можна вважати примітивними органелами. У деяких фотосинтезуючих бактерій ці

ділянки перетворюються на глибокі впинання ЦПМ, а у інших випадках, ці впинання повністю відокремлюються та перетворюються на замкнуті мембранні пухирці (мезосоми), призначені для фотосинтезу. Внутрішня поверхня таких пухирців топологічно еквівалентна зовнішній поверхні мембрани клітини.



Рис. 1. 8. Archaeobacteria – *Halobacterium salinarum*

Можна припустити, що еукаріотична органела, яка виникла у результаті впинання й відокремлення (*інвагінаційна гіпотеза*), також буде мати внутрішню поверхню, топологічно еквівалентну зовнішній поверхні клітини.

Саме так відбулося у випадку ендоплазматичної сітки (ЕПС), апарату Гольджі, ендосом і лізосом, а також багатьох проміжних міхурців, що беруть участь у ендоцитозі й секреції.

Походження клітинного ядра з подвійною мембраною є більш загадковим. Відомо, що єдина бактеріальна хромосома прикріплена до специфічних ділянок з внутрішнього боку прокаріотичної ЦПМ за допомогою певних інтегральних протеїнових комплексів мембрани. Припускають, що подвійна ядерна мембрана могла утворитися шляхом глибокого подвійного впинання плазматичної мембрани. Ця гіпотеза пояснює, чому внутрішній вміст ядра є еквівалентний цитозолю. І справді, під час мітозу у вищих еукаріотів ядерна мембрана руйнується, і вміст ядра повністю змішується з цитозолем, чого ніколи не відбувається з іншими мембранними органелами. Таким чином, під час мітозу клітина тимчасово повертається до прокаріотичного стану, коли хромосоми не мають окремого компартмента.

### Контрольні питання:

1. Поняття про клітину як живу систему, ємерджентність.
2. Які характеристики живої системи вам відомі?
3. Хімічний склад клітини.
4. Функції основних органічних сполук.



5. Характеристика нуклеотидів як макроергічних сполук.
6. Ензими, функції ензимів.
7. Приклади спряженості енергетичних процесів у клітині.
8. Поняття «метаболізм».
9. Клітина як динамічна, відкрита система.
10. Клітина як інформаційна, самовідтворююча система.
11. Роль нуклеїнових кислот у еволюції живого.
12. Ймовірні причини еволюції РНК.
13. Які переваги ДНК відносно РНК щодо виконання функції збереження генетичної інформації?
14. Гіпотеза виникнення клітинної форми життя.
15. Виникнення замкнутого компартменту.
16. Чи можна вважати елементарною живою системою хлоропласт? Чому?
17. Чи можна вважати елементарною живою системою мітохондрію? Чому?
18. Гіпотеза виникнення ядра клітини.

## РОЗДІЛ 2. ЦИТОЛОГІЯ ЯК НАУКА. МЕТОДИ ЦИТОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 2. 1. Цитологія. Практичне значення цитології

**Цитологія** (від грец. “*kytos*”, у латинській транскрипції *cytos* – клітина, *logos* – наука) – це вчення про клітину, елементарну живу систему, її будову, життєдіяльність, функції та відтворення.

Сучасна цитологія **вивчає**:

- будову клітини, її функціонування як елементарної живої системи;
- хімічний склад клітини;
- функції внутрішньоклітинних структур;
- функції клітин у живих організмах;
- процеси відтворення клітин, їх репарацію;
- пристосування до умов середовища;
- регуляцію процесів загибелі та проліферації клітин;
- процеси диференціації, старіння, репрограмування клітин;
- особливості пухлинної клітини.

Цитологія розглядає також особливості спеціалізованих клітин, етапи становлення їх особливих функцій і розвиток специфічних клітинних структур.

Вивчення клітини має важливе значення для розвитку інших біологічних наук, таких як фізіологія, генетика, молекулярна біологія, оскільки процеси, структури клітини є об'єктами, предметами для вивчення цими науками. Не можна перебільшити значення цитології для розвитку медицини. В основі будь-якого захворювання людини лежить патологія клітини, аналіз якої є важливим для прогнозування розвитку захворювання, діагностики, лікування, профілактики.

Освоївши методи цитології, можна створювати біологічні, живі тест-системи, наприклад, культури клітин *in vitro*, для дослідження токсичності, гено-, цитотоксичного ефекту новосинтезованих речовин. За використання культури клітин як тест-системи зменшується кількість піддослідних тварин, на утримання яких затрачаються додаткові кошти, персонал, створюються умови.

Методи цитології застосовують у онкології для розпізнавання злоякісних і доброякісних пухлин (наприклад, цитологічні дослідження біопсійного матеріалу); при масових профілактичних оглядах з метою діагностування ранніх стадій канцерогенезу і передракових захворювань; під час спостереження за ходом

протипухлинного лікування. Аналогічні методи застосовують у гінекології для діагностики захворювань і оцінки ефективності їх лікування, для визначення вагітності, гормональних порушень.

У гематологічному дослідженні мікроскопію застосовують для:

- перегляду препаратів крові і кісткового мозку;
- віддиференціювання клітин крові за формою, структурою ядра і цитоплазми;
- ідентифікування нормальних і патологічних еритроцитів;
- ідентифікування малодиференційованих і атипичних клітин;
- оцінки кількості формених елементів крові;
- визначення лейкоцитарної формули.

У результаті тривалого вивчення клітини М. Шлейденом і Т. Шванном сформульовано постулати клітинної теорії, що має загальнобіологічне значення.

#### **Постулати сучасної клітинної теорії:**

- клітина – елементарна структурно-функціональна одиниця та одиниця розвитку усіх живих організмів;
- клітини усіх одноклітинних і багатоклітинних організмів подібні за походженням (гомологічні), будовою, хімічним складом, основними ознаками життєдіяльності;
- кожна нова клітина утворюється внаслідок ділення материнської клітини. Не всі клітини проліферують: багато клітин, що виконують складні функції, у процесі свого дозрівання втратили здатність ділитись. Сучасній науці не відомі інші шляхи утворення клітин. Цим третім постулатом клітинної теорії виключається можливість утворення клітин з неклітинного матеріалу;
- у багатоклітинних організмів, які розвиваються з однієї клітини, – зиготи, спори – різні типи клітин формуються завдяки диференціації упродовж індивідуального розвитку особини. Клітини утворюють тканини;
- з тканин складаються органи, які тісно пов'язані між собою і підпорядковуються нейрогуморальній та імунній системам регуляції.

Особливу увагу варто звернути на ряд винятків. Ці винятки демонструють відхилення від класичної клітинної будови:

1. Клітини еритропоезу на певній стадії розвитку втрачають ядро, що призводить до формування без'ядерних еритроцитів;
2. Симпласт – це великі утворення, що містять безліч ядер, виникають під час злиття клітин або ділення лише ядер;

3. Синцитій – структура, у якій після ділення клітини між дочірніми клітинами залишаються цитоплазматичні містки. Якщо число неповних поділів досить велике, синцитій може поєднувати кілька тисяч клітин. Так, наприклад, розвиваються сперматогенні клітини – попередники сперматозоонів.

### **2. 1. 1. Масштаби об'єктів клітинної біології.**

Розміри об'єктів та їх деталей, невидимих для неозброєного ока, вивчаються з використанням цитологічних методів. Для визначення розмірів використовують зазвичай мікрометри (мкм, або  $\mu\text{m}$ ), а також нанометри (нм, або nm). Раніше широко використовувалась одиниця Ангстрем ( $\text{\AA}$ ), що дорівнює  $10^{-1}$  нм, зараз вона використовується рідко.

#### ***Співвідношення лінійних одиниць виміру, які найчастіше використовуються у цитології:***

1 міліметр (1 мм) =  $10^{-3}$  м =  $10^3$  мкм =  $10^6$  нм =  $10^7$   $\text{\AA}$ ;

1 мікрометр (1 мкм) =  $10^{-6}$  м =  $10^{-3}$  мм =  $10^3$  нм =  $10^4$   $\text{\AA}$ ;

1 нанометр (1 нм) =  $10^{-9}$  м =  $10^{-6}$  мм =  $10^{-3}$  мкм =  $10$   $\text{\AA}$ ;

1 ангстрем (1  $\text{\AA}$ ) =  $10^{-10}$  м =  $10^{-7}$  мм =  $10^{-4}$  мкм =  $10^{-1}$  нм.

### **2.2. Історичний нарис розвитку досягнень біологів у вивченні клітини**

1665 р. – англійський фізик, метеоролог, біолог, інженер, архітектор Роберт Гук ввів поняття «клітина», спостерігаючи порожнисті утворення коркового дерева. Опублікував альбом малюнків під назвою «Мікрографія», що відтворюють його спостереження у мікроскоп.

1675 р. – А. ван Левенгук власноручно виготовив близько 200 однолінзових мікроскопів. Кращі з них збільшували у 275 разів з високою роздільною здатністю: у них було видно об'єкти розміром до 1,4 мкм. Вперше описав мікроскопічну будову інфузорій, сперматозоонів тварин, еритроцитів крові. Він досліджував тканини м'яза кита і серця жаби, описав поперечну посмугованість їхніх волокон. Побачив одноклітинних тварин у рослинному настої – інфузумі (звідси й назва цілого типу одноклітинних організмів), у краплинах застоюваної води, у кишечнику жаби, у кінському гної, у власних випорожненнях. Відзначив, що «анімалькулей» (з лат. «звірки») було набагато більше, коли він «бував стурбований проносом». Відкрив бактерії та описав форму спірил, спірохет, паличок і коків.

1802 р. – французький учений Ш. Брісс-Мірбе встановив, що усі рослинні організми утворені тканинами, які складаються з клітин.

1807 р. – Я. ван Дейл сконструював мікроскоп з ахроматичними лінзами.

1808 р. – французький учений Ж.-Б. Ламарк поширив ідею Ш. Брісс-Мірбе про клітинну будову рослин на тваринні організми.

1813 р. – Р. Браун – англійський учений, ботанік, один із засновників ембріології рослин – уперше описав ядро рослинних клітин.

1825 р. – Ф. Распайль започаткував використання методів мікроскопічної хімії для вивчення тканин. Цей комплекс методів пізніше стали називати гістохімією, а на клітинному рівні – цитохімією.

Чеський учений, гістолог, засновник мікроскопічної анатомії та мікроскопічної техніки Я. Пуркінє відкрив ядро у яйцеклітині птахів.

1827 р – російський природодослідник К. Бер відкрив яйцеклітину ссавців; установив, що всі багатоклітинні організми починають свій розвиток з однієї клітини.

1834 р. – російський учений П. Ф. Горянінов висловив припущення про єдність рослин і тварин на підставі спільності для них клітинної будови.

1839 р. – М. Шлейден, німецький учений ботанік, Т. Шванн, німецький учений, зоолог – основоположники клітинної теорії.

1850 р. – Д. Амачі запропонував принцип імерсії для мікроскопії.

1859 р. – Р. Вірхов у статті «Целюлярна патологія» розширив клітинну теорію до поняття «Будь-яка клітина від клітини», підвів ризику під уже сформованим ученням про те, що у тварин і рослин нові клітин завжди утворюються шляхом ділення.

1857 р. – Л. Пастер довів, що навіть мікроорганізми не здатні до самозародження.

1870 р. – В. Гіс запровадив мікротом (прилад для виготовлення тонких зрізів тканин).

1875 р. – О. Гертвіг описав процес запліднення.

1878 р. – Е. Аббе запропонував масляну імерсію у мікроскопії.

1882 р. – В. Флемінгу вдалося встановити головні особливості мітозу – формування у ядрі хромосом і їх рівномірний розподіл між дочірніми клітинами.

1884 р. – О. Гертвіг, Е. Страсбургер формують уявлення про те, що хроматин є носієм спадкової інформації.

І. І. Мечников відкрив явище фагоцитозу.

1887 р. – Е. ван Бенеден і Т. Бовері описали клітинний центр (поняття центросома запропоновано Бовері).

1890 р. – Р. Альтман описав гранули у цитоплазмі (згодом їх назвали мітохондріями), які відображають інтенсивність обміну речовин у клітині.

1898 р. – К. Гольджі виявив внутрішньоклітинний сітчастий апарат.

1898 р. – С. Г. Навашин, українець, відкрив процес подвійного запліднення у квіткових рослин. Виявив супутників хромосом (1912 р.), у 1914 р. дослідив наявність перетяжок у хромосомах.

1910 р. – Г. Зідентопф застосував метод темного поля у цитології.

1911 р. – Т. Морган картував хромосоми.

1912 р. – Е. Гейтц визначив структурну відмінність між еухроматином і гетерохроматином.

1913 р. – О. Варбург розробив методи для вивчення поглинання клітиною Оксигену та встановив, що процес дихання пов'язаний з мітохондріями.

1918 р. – Д. Н. Насонов довів участь апарату Гольджі у видільній і сегрегаційній функціях клітини.

1930 р. – Е. Руска, М. Кноль сконструювали електронний мікроскоп.

1935 р. – Г. Кребс відкрив цикл лимонної кислоти.

1937 р. – С. Дарлінгтон описав кінетохор у хромосомах.

1940 р. – А. Клод запровадив методи розділення клітинних компонентів шляхом центрифугування.

1951 р. – Крістіан де Дюв здійснив науковий опис лізосом, пероксисом, удостоєний Нобелівської премії.

1953 р. – Ф. Церніке розробив принцип фазового контрасту. Отримав Нобелівську премію.

1955 р. – Г. Паллад виявив на цитомембранах рибосоми (гранули Паллада).

1961 р. – М. Мінські винайшов конфокальний мікроскоп.

1971 р. – Ерл Уїлбур Сазерленд, американський біохімік, отримав Нобелівську премію за вивчення особливостей впливу на процес утворення лізосом.

1972 р. – С. Дж. Стінгер і Г. Ніколсон описали рідинно-мозаїчну модель мембрани.

1974 р. – Ф. Ріттоза дослідив дію шаперонів.

1978 р. – Розроблено техніку запліднення яйцеклітини *in vitro*.

1985 р. – К. Мюлліс винайшов метод полімеразної ланцюгової реакції.

1982 р. – Г. Бінніг і Г. Рорер винайшли скануючий тунельний мікроскоп, за що у 1986 р. їм була присуджена Нобелівська премія з фізики.




1986 р. – Г. Бінніг створив атомно-силовий мікроскоп, який дозволив розглядати біологічні об'єкти з роздільною здатністю від десятків ангстрем до розмірів окремих атомів.

2017 р. – Ж. Дубочету (Швейцарія), Х. Франку (США) та Р. Хендерсону (Британія) присуджено Нобелівську премію з хімії за розробку криоелектронної мікроскопії для визначення структури біомолекул з високою роздільною здатністю у розчині.










*Таблиця 2. 1.*

### **Нобелівські лауреати, відкриття яких пов'язані з дослідженням клітини, на клітинному рівні**

*Практичне значення таких відкриттів: лікування захворювань, зокрема пухлинних, розуміння механізмів біологічних процесів*

Ім'я лауреата	Рік, наукова розробка
 <p><b>А. Коссель</b> – німецький біохімік і фізіолог.</p>	<p><b>1910 р.</b> – премія з фізіології або медицини за значний внесок у розуміння хімічного складу протеїнів та нуклеїнових кислот.</p>
 <p><b>Ріхард Мартін Вільштеттер</b> – німецький хімік-органік.</p>	<p><b>1915 р.</b> – премія з хімії за дослідження природних рослинних барвників, зокрема хлорофілу.</p>
 <p><b>Томас Гант Морган</b> – американський біолог, один з основоположників генетики, іноземний член-кореспондент РАН (1923) та іноземний почесний член АН СРСР.</p>	<p><b>1933 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття, пов'язані з роллю хромосом у спадковості.</p>

## Продовження табл. 2. 1

	<p><b>Герман Джозеф Мюллер</b> – американський генетик, учень Томаса Ганта Моргана.</p>	<p><b>1946 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття індукування мутацій рентгенівським випромінюванням.</p>
	<p><b>Александр Робертус Тодд</b> – шотландський хімік-органік, член Лондонського королівського товариства.</p>	<p><b>1957 р.</b> – премія з хімії за дослідження нуклеотидів та нуклеотидних коензимів.</p>
	<p><b>Едуард Тейтем</b> – американський біохімік і генетик, член Національної академії наук США (1952).</p>	<p><b>1958 р.</b> – премія з фізіології або медицини за дослідження з генетики мікроорганізмів.</p>
<p><b>Джордж Велс Бідл</b> – американський генетик.</p>		
	<p><b>Френсіс Гаррі Комптон Крік</b> – британський молекулярний біолог, фізик і нейробіолог.</p>	<p><b>1962 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття вторинної структури нуклеїнових кислот (ДНК).</p>
	<p><b>Джеймс Дьюї Вотсон</b> – американський молекулярний біолог.</p>	
	<p><b>Моріс Г'ю Фредерік Вілкінс</b> – британський фізик, кристалограф і молекулярний біолог.</p>	
	<p><b>Макс Фердинанд Перуц</b> – англійський біохімік австрійського походження.</p>	<p><b>1962 р.</b> – премія з хімії за дослідження структури глобулінових протеїнів.</p>
	<p><b>Джон Коудрі Кендрю</b> – англійський біохімік, фахівець з молекулярної біології і кристалографії.</p>	
	<p><b>Чарлз Brenton Гаггінс</b> – американський фізіолог і онколог канадського походження.</p>	<p><b>1966 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття онкогенних вірусів.</p>
<p><b>Френсіс Пейтон Рау</b> – американський патолог.</p>		



## Продовження табл. 2. 1

	<p><b>Альбер Клод</b> – бельгійський та американський учений-біохімік.</p>	<p><b>1974 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття, що стосуються структурної і функціональної організації клітин.</p>
	<p><b>Крістіан Рене де Дюв</b> – бельгійський цитолог та біохімік, першовідкривач лізосом і пероксисом.</p>	
	<p><b>Джордж Еміль Паладе</b> – американський фахівець з клітинної біології. Премію отримав за свої інновації в електронній мікроскопії, основоположник сучасної молекулярної клітинної біології.</p>	
	<p><b>Розалін Сасмен Ялоу</b> – американська біофізикиня.</p>	<p><b>1977 р.</b> – премія з фізіології або медицини за розвиток радіоімунологічних методів визначення пептидних гормонів.</p>
	<p><b>Волтер Гілберт</b> – американський фізик, біохімік і молекулярний біолог.</p>	<p><b>1980 р.</b> – премія з хімії за внесок щодо визначення послідовності основ нуклеїнових кислот – секвенування ДНК.</p>
	<p><b>Фредерік Сенгер</b> – британський біохімік, двічі лауреат Нобелівської премії з хімії – у 1958 і 1980 роках.</p>	
	<p><b>Пол Наїм Берг</b> – американський біохімік, почесний професор Стенфордського університету.</p>	<p><b>1980 р.</b> – премія з хімії за фундаментальні дослідження біохімічних властивостей нуклеїнових кислот, зокрема рекомбінантних ДНК.</p>
	<p><b>Барух Бенасерраф</b> – американський лікар-імунолог.</p>	<p><b>1980 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття головного комплексу гістосумісності, групи генів, що відповідають за розпізнавання чужорідних речовин та розвиток імунної відповіді.</p>
	<p><b>Жан Доссе</b> – французький імунолог.</p>	
	<p><b>Джордж Дейвіс Снелл</b> – американський генетик та імунолог.</p>	









		<i>Продовження табл. 2. 1</i>
	<b>Стенлі Коен</b> – американський біохімік.	<b>1986 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття факторів росту нервової тканини та епідермального фактору росту.
	<b>Рита Леві-Монтальчині</b> – італійська нейробиологиня.	
	<b>Сідні Олтмен</b> – канадський молекулярний біолог.	<b>1980 р.</b> – премія з хімії за відкриття каталітичних властивостей рибонуклеїнових кислот.
	<b>Томас Роберт Чек</b> – американський молекулярний біолог.	
	<b>Кері Бенкс Малліс</b> – американський біохімік.	<b>1993 р.</b> – премія з хімії за винахід методу полімеразної ланцюгової реакції.
	<b>Майкл Сміт</b> – канадський біохімік.	
	<b>Філіп Аллен Шарп</b> – американський генетик та молекулярний біолог.	<b>1993 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття посмугованої структури генів.
	<b>Річард Джон Робертс</b> – британський біохімік та молекулярний біолог. Відкрив інтрони і механізм сплайсингу.	
	<b>Ервін Неєр</b> – німецький біофізик.	<b>1996 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття, що стосуються функцій поодиноких йонних каналів у клітинах і розробку методу локальної фіксації потенціалу.
	<b>Берт Закман</b> – німецький фізіолог.	
	<b>Єнс Крістіан Скоу</b> – датський хімік.	<b>1997 р.</b> – премія з хімії за відкриття першого транспортного ензиму $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -АТФази.
	<b>Стенлі Прузінер</b> – американський біохімік.	<b>1997 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття пріонів.
	<b>Гюнтер Блобель</b> – американський біолог німецького походження.	<b>1997 р.</b> – премія з фізіології або медицини за виявлення в протеїнових молекулах сигнальних амінокислотних послідовностей, відповідальних за адресний транспорт протеїнів у клітині.

<i>Продовження табл. 2. 1</i>	
 <p><b>Ліланд (Лі) Гартвелл</b> – американський учений.</p>  <p><b>Сер Річард Тімоті (Тім) Гант</b> – британський біохімік. Нагороджений за відкриття регулювання клітинного циклу еукаріотів циклінами і циклінзалежним кінзамаи.</p> <p><b>Сер Пол Нерс</b> – британський біохімік.</p>	<p><b>2001 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття генів, що беруть участь у регуляції клітинного циклу і внесок у його дослідження.</p>
 <p><b>Сідні Бреннер</b> – південно-африканський біолог.</p>  <p><b>Джон Едвард Салстон</b> – британський біолог.</p> <p><b>Роберт Горвіц</b> – американський біолог. Основний науковий внесок Горвіца – дослідження нематоди <i>Caenorhabditis elegans</i>, відкриття генів-регуляторів апоптозу.</p>	<p><b>2002 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття, що стосуються генетичної регуляції розвитку людських органів і апоптозу.</p>
<p><b>Пітер Егр</b> – американський біолог.</p>	<p><b>2003 р.</b> – премія з хімії за відкриття йонного каналу аквапорину.</p>
 <p><b>Родерік Маккінон</b> – американський біохімік і кристалограф.</p>	<p><b>2003 р.</b> – премія з хімії за вивчення структури і механізму йонних каналів.</p>
 <p><b>Агарон Чехановер</b> – ізраїльський біохімік.</p>  <p><b>Аврагам Гершко</b> – ізраїльський біохімік.</p>  <p><b>Ірвін Роуз</b> – американський біолог.</p>	<p><b>2004 р.</b> – премія з хімії за відкриття убіквітин опосередкованої деградації протеїнів.</p>
 <p><b>Ендрю Фаср</b> – американський учений, молекулярний генетик.</p>  <p><b>Крейг Мелло</b> – американський учений, молекулярний генетик.</p>	<p><b>2006 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття РНК-інтерференції – пригнічення експресії генів дволанцюговими РНК.</p>

*Продовження табл. 2. 1*

	<b>Роджер Девід Корнберг</b> – американський біохімік.	<b>2006 р.</b> – премія з хімії за дослідження копіювання клітинами генетичної інформації.
	<b>Осаму Сімомура</b> – японський та американський хімік-органік, біохімік та біолог.	<b>2006 р.</b> – премія з хімії за відкриття зеленого флуоресцентного протеїну GFP.
	<b>Роджер Цянь</b> – американський біохімік.	
	<b>Мартін Чалфі</b> – американський учений.	
	<b>Елізабет Блекберн Елен</b> – американська учена, цитогенетик.	<b>2006 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття механізмів захисту хромосом теломерами та теломеразою.
	<b>Керол Грейдер</b> – американська учена, молекулярна біологиня.	
	<b>Джек Вільям Шостак</b> – американський генетик.	
	<b>Венкатраман Рамакрішнан</b> – американський та англійський біохімік.	<b>2009 р.</b> – премія з хімії за дослідження структури і функції рибосоми.
	<b>Томас Стейц</b> – американський учений-кристалограф.	
	<b>Ада Йонат</b> – ізраїльська учена, фахівчиня з кристалографії.	
	<b>Роберт Лефковіц</b> – американський біохімік.	<b>2012 р.</b> – премія з хімії за дослідження рецепторів G-протеїнів.
	<b>Браян Кобилка</b> – американський учений-біохімік.	
	<b>Сер Джон Гердон</b> – британський біолог.	<b>2012 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття репрограмування зрілих клітин у плюрипотентні стовбурові.
	<b>Яманака Сін'я</b> – японський науковець.	



## Продовження табл. 2. 1

	<b>Ренді Шекман</b> – американський цитолог.	<b>2012 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття механізму, який регулює везикулярний транспорт – важливу транспортну систему у клітинах.
	<b>Томас Крістіан Зюдгоф</b> – німецько-американський біохімік та нейробіолог.	
	<b>Джеймс Ротман</b> – американський біохімік.	
	<b>Вільям Мернер</b> – американський фізик.	<b>2014 р.</b> – премія з хімії за розвиток флуоресцентної мікроскопії суперроздільної здатності.
	<b>Штефан Гелль</b> – німецький фізик, винахідник 4-пі мікроскопії.	
	<b>Томас Роберт Ліндаль</b> – шведський біохімік, дослідник раку. Відомий дослідженнями процесів репарації ДНК.	<b>2015 р.</b> – премія з хімії за дослідження у сфері вивчення методів відновлення ДНК.
	<b>Пол Модрич</b> – американський учений-біохімік.	
	<b>Азіз Санджар</b> – турецький біохімік, відомий за своїми роботами з репарації ДНК та регуляції циркадного годинника.	
	<b>Йосінорі Осумі</b> – японський учений.	<b>2016 р.</b> – премія з фізіології або медицини за вивчення механізму аутофагії.
	<b>Жан-П'єр Соваж</b> – французький хімік, що спеціалізується на координаційній хімії.	<b>2016 р.</b> – премія з хімії за дизайн і синтез молекулярних машин.
	<b>Фрейзер Стодарт</b> – британсько-американський хімік.	
	<b>Бернард Ферінга</b> – нідерландський хімік-органік, відомий роботами у стереохімії, органічного каталізу та молекулярних систем.	

*Продовження табл. 2. 1*

	<p><b>Жак Дюбоше</b> – швейцарський біофізик.</p>	<p><b>2017 р.</b> – премія з хімії за розвиток кріоелектронної мікроскопії з високою роздільною здатністю для визначення структури біомолекул в розчині.</p>
	<p><b>Йоахім Франк</b> – американський біофізик німецького походження.</p>	
	<p><b>Річард Гендерсон</b> – шотландський біофізик і молекулярний біолог.</p>	
	<p><b>Френсіс Гамільтон Арнольд</b> – американська науковиця у сфері біохімії та інженерії. Винахідниця методів молекулярної керованої еволюції ензимів і протеїну, що синтезує силіційорганічні сполуки у бактеріях. Вона співзасновник компаній з виробництва біопалива, захисту рослин.</p>	<p><b>2018 р.</b> – премія з хімії за розробку протеїнів, які вирішують проблеми людства.</p>
	<p><b>Джордж Сміт</b> – американський хімік, розробив методи синтезу нових протеїнів.</p>	
	<p><b>Сер Грегорі Пол Вінтер</b> – британський біохімік, найбільш відомий завдяки терапевтичному використанню моноклональних антитіл.</p>	
	<p><b>Джеймс Еллісон і Тасуку Хондзьо</b> Розробили методи імунотерапії ракових захворювань з використанням Т-клітин, відмінні від радіо- та хіміотерапії.</p>	<p><b>2018 р.</b> – премія з фізіології або медицини за відкриття терапії раку шляхом гальмування негативного імунного регулювання.</p>

## Продовження табл. 2. 1

	<p><b>Вільям Келін-молодший</b> – американський учений-медик, онколог.</p>	<p><b>2019 р.</b> – премія з фізіології або медицини за дослідження адаптації клітин до нестачі Оксигену. Їхні відкриття дали поштовх новим стратегіям у боротьбі з анемією, раком та багатьма іншими захворюваннями.</p>
	<p><b>Пітер Реткліфф</b> – британський учений-медик та молекулярний біолог, фахівець зі споживання клітинами організму людини Оксигену, фахівець з гіпоксії.</p>	
<p><b>Грег Семенза</b> – американський фізіолог та молекулярний біолог, відомий дослідженнями у галузі фізіології гіпоксії, зокрема відкриттям фактора, індукованого гіпоксією (HIF1A).</p>		

## 2. 3. Методи цитологічних досліджень


	<p><b>Мікроскопія</b></p>		<p><b>Інші методи цитології</b></p>
<p><b>Світлова</b></p>		<p><b>Гістохімічні</b></p>	
<p>(взаємодія світла і тканинних компонентів)</p>		<p><b>Цитоспектрофотометрія</b></p>	
<p>Світлопольна</p>		<p><b>Проточна цитофлуориметрія</b></p>	
<p>Темнопольна</p>		<p><b>Радіоавтографія</b></p>	
<p>Фазово-контрастна</p>		<p><b>Фракціонування клітин</b></p>	
<p>Ультрафіолетова</p>		<p><b>Рентгеноструктурний аналіз</b></p>	
<p>Флуоресцентна</p>		<p><i>in vitro</i></p>	
<p>Конфокальна</p>		<p><b>Приготування гістологічних</b></p>	
<p><b>Електронна</b></p>		<p><b>препаратів</b></p>	
<p>Трансмійсна</p>			
<p>(просвічуюча)</p>			
<p>Растрова (скануюча)</p>			

Рис. 2. 1. Методи цитологічних досліджень

Залежно від стану експериментальних об'єктів методи цитологічних досліджень поділяються на дві групи:

- вітальні (суправітальні, прижиттєві);
- поствітальні (посмертні).

Залежно від завдання, особливостей виконання, обраного об'єкту у цитології використовують різні методи, зокрема:

- мікроскопію;
- цитоспектрофотометрію;
- радіоавтографію;
- гістохімічний;
- імуногістохімічний;
- метод диференціального центрифугування;
- метод культури клітин *in vitro*.

### 2. 3. 1. Мікроскопічні методи цитологічних досліджень.

Серед мікроскопічних методів розрізняють:

- методи світлової мікроскопії;
- методи електронної мікроскопії.

**Мікроскопія** (від грец. *mikros* – малий та *skopeo* – спостерігаю)

– вивчення за допомогою мікроскопа – це основний метод цитологічних досліджень.



Рис. 2. 2. Розвиток методів мікроскопії



Таблиця 2. 2

## Порівняння можливостей методів мікроскопії

Назва біологічного об'єкту	Методи вивчення	Розміри	
	<i>Межа чутливості неозброєного ока</i>	1 мм - 100 мкм	$10^{-3} - 10^{-4}$ м
<b>Великі клітини</b>	Світлова мікроскопія	100 мкм - 10 мкм	$10^{-4} - 10^{-5}$ м
<b>Еритроцити крові</b>	- “ -	10 мкм - 1 мкм	$10^{-5} - 10^{-6}$ м
<b>Бактерії</b>	- “ -	1 мкм - 1000 Å	$10^{-6} - 10^{-7}$ м
	<i>Межа чутливості світлового мікроскопа</i>	100 мкм – 1000 Å	$10^{-4} - 10^{-7}$ м
<b>Віруси</b>	Електронна мікроскопія	1000 Å - 100 Å	$10^{-7} - 10^{-8}$ м
<b>Протеїни</b>	- “ -	100 Å - 10 Å	$10^{-8} - 10^{-9}$ м
	<i>Межа чутливості електронного мікроскопа</i>	1000 Å- 10 Å	$10^{-9} - 10^{-10}$ м
<b>Амінокислоти</b>	Методи структурного аналізу	менше 10 Å	$> 10^{-10}$ м
<b>Атоми</b>	- “ -	менше 10 Å	$> 10^{-10}$ м

**Світлова мікроскопія.**

Під час використання світлового мікроскопа препарат досліджують за допомогою світла, що проходить через зразок тканини. Найчастіше застосовують стандартні світлові мікроскопи, які дають можливість отримувати збільшення у 2500 – 3000 разів. Критичним фактором в отриманні чіткого детального зображення мікроскопа є його *роздільна здатність*, тобто найменша відстань між двома об'єктами, за якої вони відображаються як окремі об'єкти.

Роздільна здатність світлового мікроскопа дорівнює приблизно 0,2 мкм.

Об'єкти, менші, ніж 0,2 мкм (такі, як мембрана або актиновий філамент) при використанні світлового мікроскопа розрізнити не можна. Аналогічним чином, дві структури, такі, як дві мітохондрії

або дві лізосоми, будуть виглядати як одна, якщо відстань між ними менша, ніж 0,2 мкм. **Якість зображення** – його виразність і деталізація – залежить від роздільної здатності мікроскопа.

**Збільшення** має цінність тільки у поєднанні з високою роздільною здатністю. Роздільна здатність мікроскопа залежить від якості лінз його об'єктива. Лінзи окуляра лише збільшують зображення, отримане за допомогою об'єктива, не покращують роздільну здатність.

Таблиця 2.3

### Характерні ознаки світлопольного мікроскопа

Характерні ознаки	Обмеження у застосуванні
Об'єктом спостереження є мікропрепарат, виготовлення якого залежить від методу мікроскопування.	Товщина об'єкта спостереження обмежена – максимальна товщина препарату 0,5 мм (разом із покривним скельцем).
Об'єктиви розташовані над препаратом.	Робоча відстань об'єктива: - малого збільшення – до 10 мм (до х10); - середнього збільшення – до 2 мм, (до х40); - великого збільшення – до 0,07 мм (до х100).
Джерело світла розташоване під препаратом.	Великі числові апертури об'єктивів обмежують глибину огляду.
Об'єктиви розраховані на роботу із покривним та/або без покривного скельця товщиною 0,17 мм.	

У світловому мікроскопі використовується видимий світловий спектр (380 – 750 нм) (рис. 2. 4).

*Із застосуванням короткохвильових діапазонів світла, збільшується роздільна здатність мікроскопа:*

- чим меншою є застосована довжина хвилі світла, тим дрібніший об'єкт можна розглядати у мікроскоп;

- ультрафіолетова ділянка світлового спектру для світлової мікроскопії характеризується довжиною хвиль  $\approx 100 - 380$  нм;
- максимальна роздільна здатність мікроскопа за застосування УФ світла – 0,13 мкм.

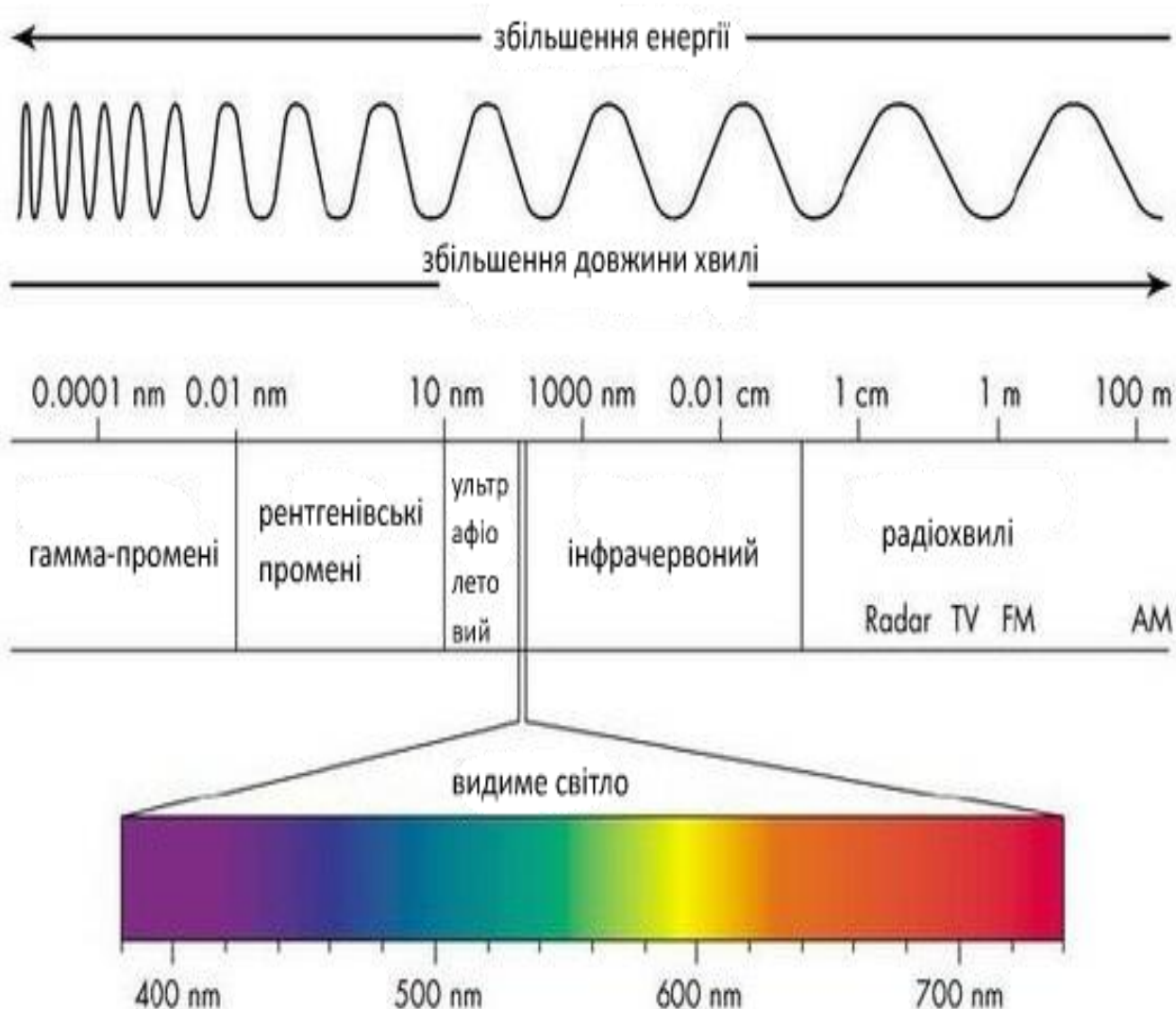
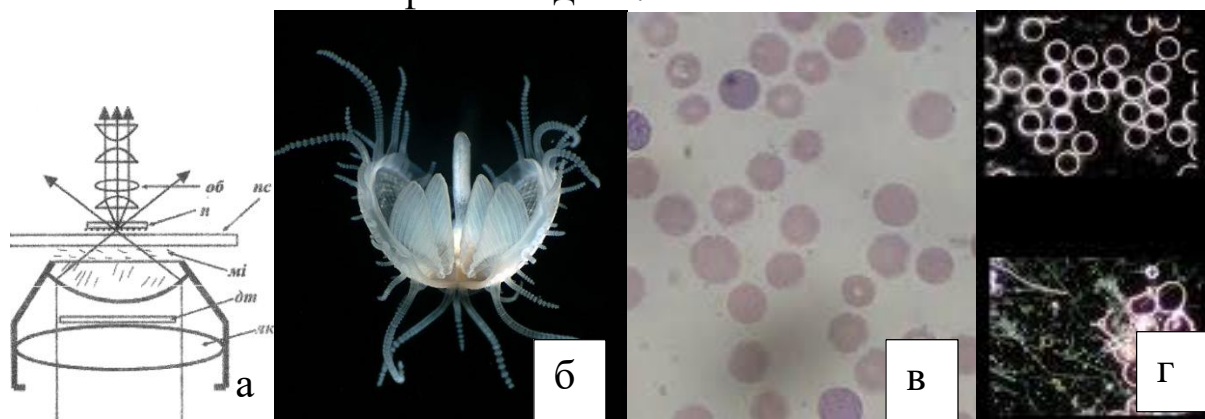


Рис. 2. 4. Шкала електромагнітних хвиль і видимий спектр

### Темнопольна мікроскопія.

У світловий мікроскоп можна побачити об'єкти за розміром менші, ніж 0,2 мкм з допомогою мікроскопувального методу *«темного поля»*. За темнопольної мікроскопії у об'єктив потрапляє тільки розсіяний пучок світла, а інтенсивний опорний пучок відсікається. Як наслідок, зображення зразків виходить світлим на темному полі. Водночас, використання гірше сфокусованого розсіяного пучка *зменшує роздільну здатність*. Отже, в основі темнопольної мікроскопії – явище дифракції світла за потужного

бокового освітлення – ефект Тіндалля.



Застосування темнопольної мікроскопії для вивчення живих об'єктів без їх фіксації та фарбування:

а) хід променів при мікроскопії у темному полі: об – об'єктив; п – препарат; мі – масляна імерсія; лк – лінза конденсора; дт – діафрагма темного поля; пс – предметне скельце;

б) темнопольна мікроскопія: частинки об'єкта світяться і яскраво виділяються на темному фоні (темному полі). Цей метод успішно застосовується для вивчення спірохет, лептоспир та інших мікроорганізмів. Порівняння побаченого у полі зору (мазок крові) за світлопольної (в), темнопольної (г) мікроскопії

### Фазово-контрастна мікроскопія.

За допомогою світлопольної мікроскопії можна досліджувати оптично контрастні мікрооб'єкти, які називають *амплітудними*.

При проходженні світла через живу клітину фаза світлової хвилі змінюється відповідно до коефіцієнту рефракції клітини: світло, що проходить через відносно товсті ділянки клітини (наприклад, ядро), затримується і його фаза відповідно зсувається відносно фази світла, що проходить через відносно тонкі ділянки цитоплазми. Фаза товстіших ділянок темніша на світлому фоні тонших. Оптична система ока людини здатна сприймати зміни інтенсивності світлової хвилі, але не здатна розрізняти зміни фази світлової хвилі.

Оптична система, яка використовується для одержання фазового контрасту, підсилює контрастність зображення. Вона складається з фазової пластинки в одній із лінз об'єктива, що має форму кільця, і кільцевої діафрагми у спеціальному конденсорному пристрої.

Фазово-контрастна мікроскопія не вимагає попереднього забарвлення клітини, яке може її пошкодити. Розглядаються живі об'єкти. Недолік: не можливо досліджувати внутрішню структуру клітини.

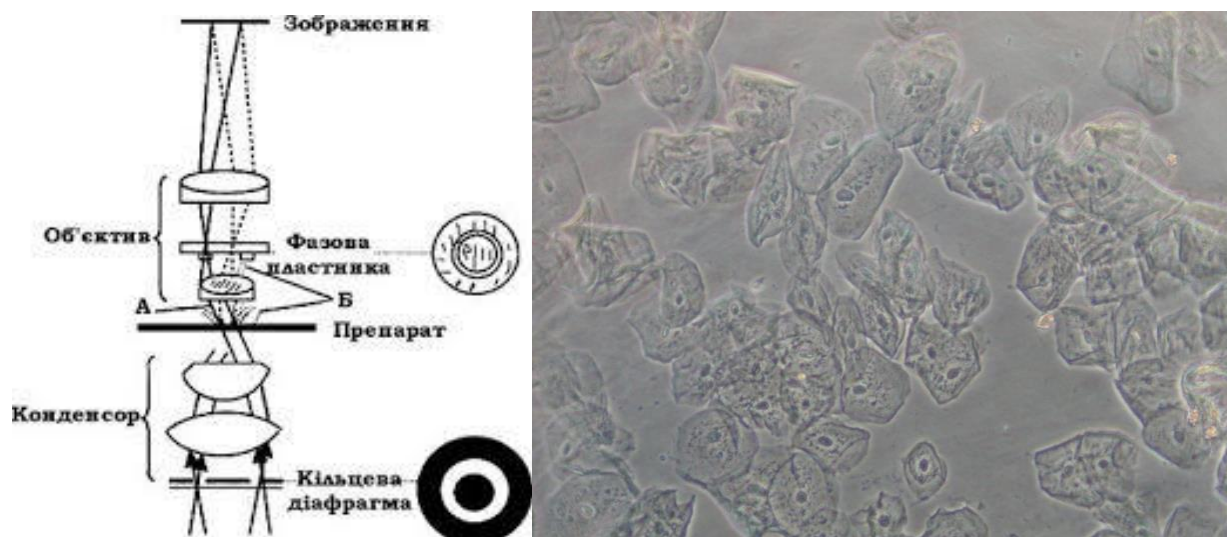


Рис. 2. 6. Схема фазово-контрастного мікроскопа (зліва). Справа – зображення об'єкта при фазово-контрастній мікроскопії

### Ультрафіолетова (УФ) мікроскопія.

УФ мікроскопія ґрунтується на здатності деяких речовин, що входять до складу живих клітин та є прозорими у видимому світлі, поглинати ультрафіолетове випромінювання з довжиною хвиль 250–400 нм. Ця властивість притаманна високомолекулярним сполукам: нуклеїновим кислотам, протеїнам, ароматичним кислотам (тирозину, триптофану, метилаланіну), пуриновим та піримідиновим основам тощо.

За допомогою УФ мікроскопії визначають локалізацію та кількість певних речовин, а при дослідженні живих об'єктів – їхні зміни у процесі життєдіяльності.

Роздільна здатність такого мікроскопа менша, ніж у звичайного світлового, і становить 0,13 мкм. Отримане в УФ променях зображення перетворюється на видиме за допомогою реєстрації на фотоплівці чи люмінесцентному екрані.

Для спостереження за об'єктом потрібна спеціальна апаратура – електронно-оптичний перетворювач, який вберігає орган зору від дії УФ променів.

### Флуоресцентна (люмінесцентна) мікроскопія.

Люмінесцентну мікроскопію винайдено у 1910 році.

*Люмінесцентна, або флуоресцентна мікроскопія* – метод аналізу за допомогою люмінесцентного мікроскопа, у якому використовується явище *люмінесценції (світіння)* речовин при дії на них короткохвильовими променями (УФ світла, рентгенівськими променями).

Сутність флуоресценції полягає у тому, що атоми та молекули деяких речовин, поглинаючи короткохвильові промені, переходять у збуджений стан (рис. 2. 7). Зворотний перехід із збудженого стану до нормального супроводжується випромінюванням світла, але з більшою інтенсивністю, що виявляється яскравим, кольоровим зображенням у полі зору мікроскопа чи на екрані.

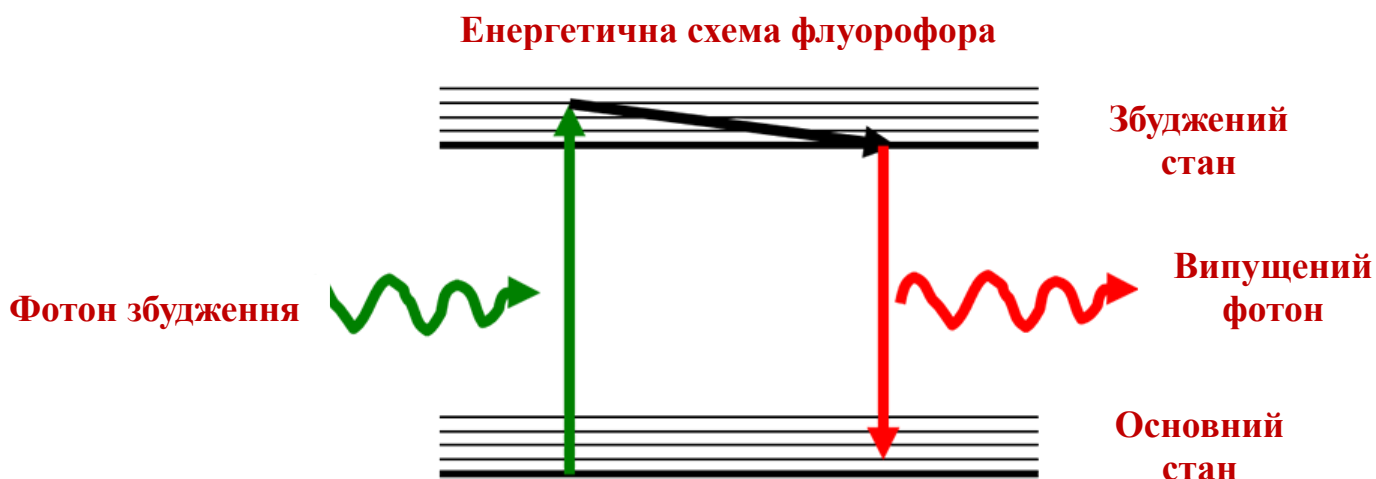


Рис. 2. 7. Енергетична схема флуорохромів

Деякі біологічні сполуки, присутні у клітинах, характеризуються спонтанною флуоресценцією під дією УФ променів. Наприклад, включення вітамінів А і В<sub>2</sub>, ліпідів, пігменту порфірину, хлорофілу. Вони мають власну (первинну) флуоресценцію без додаткової обробки. GFP (зелений флуоресцентний протеїн), уперше досліджений Шимомурі у 1962 році у медузи *Aequorea Victoria* флуоресцює спонтанно. Отримано Нобелівську премію з хімії у 2008 році за відкриття цього протеїну.

Більшість сполук у клітині спонтанно не флуоресціюють. Тому для вивчення структур клітини обробляються спеціальними

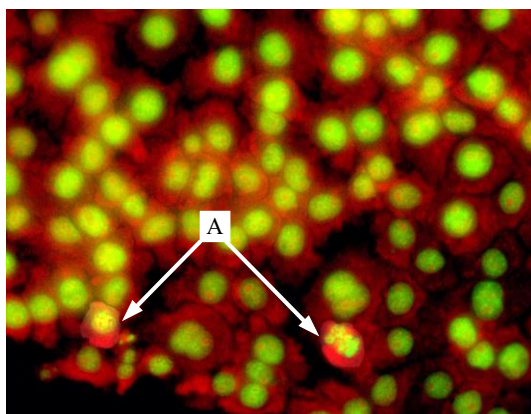


Рис. 2. 8. Використання акридинового оранжевого для флуоресцентної мікроскопії. А – апоптичні клітини

**флуорохромами (флуорофорами)** – барвниками, що не виявляють забарвлення препаратів у видимому світі, але флуоресціюють при опроміненні УФ. Наприклад, за обробки препарату акридиновим оранжевим ДНК флуоресцює яскраво-зеленим, а РНК – червоно-оранжевим кольором (рис. 2. 8). Коротка характеристика деяких флуорохромів подана у таблиці 2. 4.

Таблиця 2. 4.

## Характеристика кількох флуорохромів

Назва	Структурна формула	Колір флуоресценції	Афінність до
<b>DAPI</b> 4',6-діамідино-2-феніліндол		синій	ядерна ДНК
<b>Hoechst 33342</b>		синій	ядерна ДНК
<b>Ніл червоний (Nile Red)</b>		червоний	Ліпофільні елементи клітин (мембрани, ліпосоми)
<b>MitoRed</b>		червоний	мітохондрії

Варіант методу флуоресцентної мікроскопії, за якого збудження та випромінювання флуоресценції відбуваються в УФ частині спектра, називають **ультрафіолетовою флуоресцентною мікроскопією**.

За допомогою флуоресцентної мікроскопії можна:

- вивчати морфологію живих та мертвих клітин мікроорганізмів у поживному середовищі і тканинах тварин та рослин;
- досліджувати клітинні мікроструктури, підбираючи маркерні флуорохроми;
- визначати функціонально-морфологічні зміни клітин;
- використовувати флуорохроми при імунологічних реакціях та підрахунку бактерій.

Недолік флуоресцентної мікроскопії – сумація світіння у одній площині зі всього зрізу. Тому ми маємо уявлення про локалізацію усієї глибини шару в одній точці. Цю проблему вирішила конфокальна мікроскопія.

### Конфокальна мікроскопія.

Винайшов Марвін Мінскі у 1961 р. Ця ідея отримала

практичне втілення у 1979 році з розробкою датським фізиком Ф. Бракендорфом лазерного скануючого конфокального мікроскопа й формулюванням К. Шепардом основ теорії формування зображень. У 1985 році продемонстровано можливість використання конфокальної мікроскопії для флуоресцентних препаратів. Упродовж 1990-х років відбулось стрімке вдосконалення волоконної оптики, винайдення нових фізичних та хімічних методів просвітлення лінз, тонких діелектричних покриттів, детекторів з низьким рівнем шуму, а «коеволюція» конфокальних мікроскопів та флуоресцентних барвників призвела до появи і вдосконалення синтетичних молекулярних маркерів та барвників природного походження.

Конфокальна мікроскопія – це сучасний метод і незамінний інструмент для візуалізації та дослідження внутрішньо- і позаклітинних структур, аналізу клітинних процесів.

Для конфокальної мікроскопії характерна просторова роздільна здатність та отримання тривимірного зображення об'єкта (так звана 3D-реконструкція), отримання «оптичних зрізів» живих та фіксованих препаратів завтовшки до 100 мкм і з інтервалом 0,3–0,5 мкм.

Конфокальна мікроскопія у своїй основі має люмінесцентний мікроскоп. Всією системою формування і збереження зображень, обробки результатів керують комп'ютери.

#### ***Можливості конфокального мікроскопа:***

- дослідження структури клітин та її органоїдів, цитоскелету, хромосом, навіть локалізації окремих генів;
- дослідження колокалізації двох і більше речовин, наприклад, протеїнів. Це дозволяє зрозуміти чи існують між такими речовинами причинно-наслідкові зв'язки, як вони одна відносно одної розташовані. За допомогою звичайного мікроскопа важко сказати знаходяться вони у одній площині чи різних, а зробивши серію зрізів, можна відтворити тривимірне зображення;
- дослідження динамічних процесів: рух йонів Кальцію через мембрану, переміщення протеїнів, поглинання протеїнів крові біоматеріалами, адгезії клітин до різних поверхонь, динаміки вивільнення нейромедіатора;
- можна отримувати нанометрові зображення молекул, найменших структур;
- використовується для вивчення груп наночастинок, переносу електронів на мітохондріальних і фотосинтетичних мембранах.



Зазвичай сучасні конфокальні сканувальні мікроскопи обладнані трьома-п'ятьма лазерними системами, які контролюються акустично-оптичними фільтрами для точного регулювання довжини хвилі та інтенсивності лазерного випромінювання – кофокальними діафрагмами.

З практичною метою у більшості конфокальних мікроскопів використовується наступна схема:

- 1) освітлення забезпечується лазерним джерелом;
- 2) оскільки лазерне джерело дає дуже маленьку точку, вона має переміщуватись по всьому зразку (сканування), щоб забезпечити спостереження значної його частини;
- 3) компонент зразка, що вивчається, має бути помічений флуоресцентною молекулою (що вказує на неможливість вивчення звичайних зрізів). В основі STED мікроскопії (від англ. *stimulated emission depletion*) – одного з різновидів конфокальної мікроскопії – є взаємодія флуорофорів, збуджених звичайним лазерним імпульсом із наступним STED-імпульсом.
- 4) для створення зображення використовують світло, яке відбивається від зразка;
- 5) відображене світло захоплюється детектором, тому сигнал можна підсилити електронним шляхом, щоб його можна було бачити на моніторі.

Оскільки лише дуже тонка площина фокусування виявляється в кожен момент часу, можна об'єднати кілька площин фокусування одного зразка й реконструювати їх, перетворивши у тривимірне зображення. Для створення такої реконструкції конфокальний мікроскоп потребує потужного комп'ютерного забезпечення.

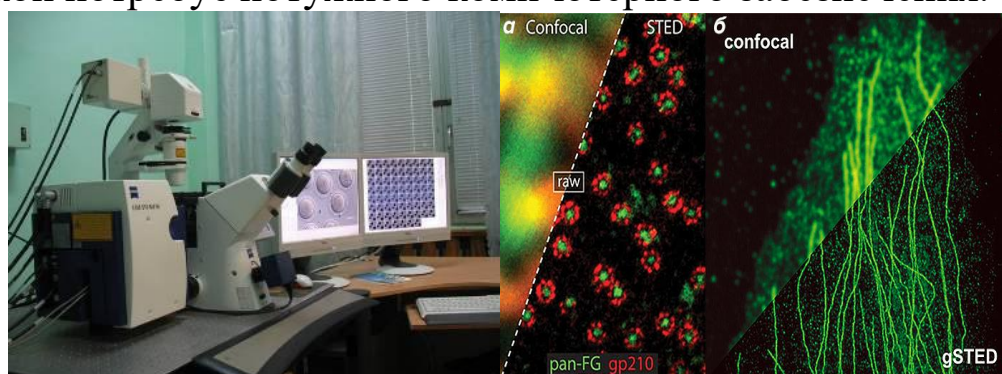


Рис. 2. 9. Загальний вигляд конфокального мікроскопа (зліва), дослідження ядерних пор і цитоскелету (справа): *а* – ядерна пор, *б* – цитоскелет.

## Методи електронної мікроскопії.

*Електронний мікроскоп* дає можливість отримати зображення

об'єктів, величина яких близько 0,1 – 0,7 нм. У електронних мікроскопах використовують пучок електронів (функціональний аналог у світловому мікроскопі – фотони світла), довжина електромагнітної хвилі яких у 100 000 разів коротша довжини хвилі видимого світла. Роздільна здатність електронного мікроскопа у сотні і тисячі разів перевищує звичайні оптичні прилади і дорівнює 0,5-1 нм, а сучасні мегавольтні електронні мікроскопи дають збільшення до 1000000 разів. За допомогою електронних мікроскопів вивчено ультраструктуру клітин, досліджують *лише мертві об'єкти*.

Розрізняють:

- трансмісійну (просвічувальну);
- растрову (скануючу) електронну мікроскопію.

Відповідно є трансмісійний (просвічувальний) та растровий (скануючий) електронні мікроскопи.

**Електронний трансмісійний мікроскоп** має вигляд металевого циліндра (колона мікроскопа (рис. 2. 10), у якому розміщені електронна гармата і система електромагнітних лінз (функціональний аналог у світловому мікроскопі – оптичні лінзи). Джерело електронів – вольфрамова нитка. У середині колони створюють вакуум. Пучок електронів, сфокусований конденсорною лінзою (рис. 2. 10), проходить через досліджуваний об'єкт, і начебто просвічує останній, взаємодіючи з атомами його речовини. При цьому електрони змінюють свої траєкторії – розсіюються і потрапляють у магнітне поле об'єктивної лінзи (рис. 2. 10). Як лінзи використовуються *електромагнітні котушки*.

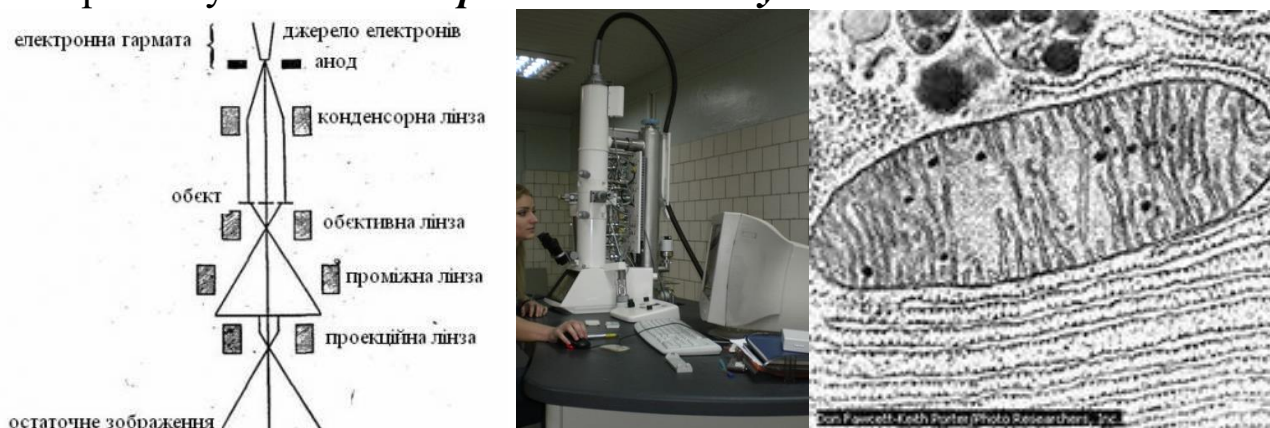


Рис. 2. 10. Схема будови електронного мікроскопа (зліва), зовнішній вигляд електронного мікроскопа (у центрі), мікрофотографія клітинних структур, отримана у результаті електронної мікроскопії (справа)

Об'єктивна лінза – найважливіша частина мікроскопа – формує перше збільшене зображення об'єкта. Існує ще проміжна та проєкційна лінзи (рис. 2. 10), які формують остаточне збільшення

зображення об'єкта, видиме на флуоресціюючому екрані електронного мікроскопа.

Для дослідження у електронний мікроскоп біологічні об'єкти розміщуються на тоненьких плівках-підкладках, які, у свою чергу, розміщені на металевих сітках.

Недоліком просвічувальної електронної мікроскопії є необхідність отримання дуже тонкого зразка – ультратонкого зрізу товщиною близько 100 нм. При проходженні пучка електронів крізь об'єкт частина їх поглинається, а зразок нагрівається і швидко деградує.

Таблиця 2. 5

**Порівняльна характеристика світлової та електронної видів мікроскопії**

<b>Характеристика</b>	<b>Трансмісійний електронний мікроскоп</b>	<b>Світлопольний мікроскоп</b>
Джерело випромінювання	Електрони	Фотони світла
Довжина хвилі	Залежить від напруги Наприклад: 0,005 нм при 50 кВ	400 – 700 нм
Максимальне збільшення	x250 000 (на екрані)	x1500
Максимальна роздільна здатність: – практична, – теоретична	0,5 нм 0,2 нм	200 – 500 нм 200 нм
Лінзи	Електромагніти	Скляні
Об'єкти	Неживий, обезводнений, відносно маленький або ультратонкий, утримується на спеціальній сітці у вакуумі	Живий чи неживий, зазвичай розташований на предметному скельці
Барвники	Містять важкі метали, які відбивають електрони	Кольорові барвники
Зображення	Чорно-біле	Кольорове

Об'єкт (клітини і тканини) для розгляду у електронний мікроскоп спочатку фіксують за допомогою специфічних фіксаторів:

глутарового альдегіду або Осмію чотириоксиду, які контрастують клітинні структури. Після зневоднення зразок просочують епоксидними смолами у рідкій мономерній формі. Після того, як такі пластмаси полімеризуються, просочений ними об'єкт набуває вигляду твердих блоків, які можна різати, отримуючи ультратонкі зрізи.

Для ультрамікроскопічних досліджень застосовують *растровий (скануючий) електронний мікроскоп* (РЕМ). Він дозволяє отримати інформацію, аналізуючи пучок електронів, відбитих від поверхні досліджуваного зразка. РЕМ сконструйовано у 1952 році Ч. Отлі.

За допомогою скануючого (растрового) мікроскопа можна отримати мікрофотографії поверхні досліджуваного зразка.

У такому мікроскопі тонкий пучок електронів з діаметром близько 10 нм сканує зразок точка за точкою та синхронно передає сигнал на кінескоп. Джерелом електронів слугує метал, зазвичай вольфрам.

При взаємодії пучка електронів з об'єктом виникає кілька видів випромінювання – вторинні і відбиті електрони; електрони, що пройшли через об'єкт (якщо він тонкий); рентгенівське випромінювання тощо. Будь-яке з цих випромінювань може реєструватися відповідним детектором, що перетворює випромінювання в електричні сигнали, які після підсилення модулюють пучок електронно-променевої трубки. Всі ці процеси реєструються спеціальними детекторами і виводяться на екран монітору, створюючи картинку досліджуваного об'єкта. Завдяки тому, що довжина хвилі електрона набагато менша, ніж фотона, у сучасних РЕМ збільшення досягає 15 мільйонів разів. Це дозволяє візуалізувати молекули та атоми на нанорівні.

Різноманіття галузей застосування РЕМ пов'язано з різними механізмами взаємодії електронів з кристалічними твердими тілами. Реєстрована детектором інтенсивність потоку розсіяних електронів залежить від того, у яке місце щодо нерівностей поверхні зразка падає пучок у процесі сканування.

Для розгляду у скануючий електронний мікроскоп об'єкт фіксують, як описано вище, і висушують. Після цього зріз покривають тонким шаром випареного металу (найчастіше Ауруму). Електрони, які відбиваються від його поверхні, потрапляють у приймальний пристрій, який передає сигнал на електронно-

променеву трубку. Фокус сканувального мікроскопа має величезну глибину, набагато більшу, ніж у просвічувального.

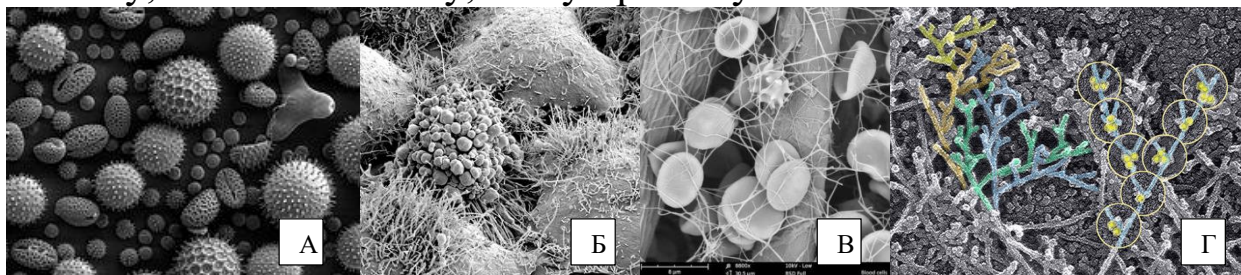


Рис. 2. 11. Мікрофотографії отримані за допомогою скануючого (растрового) електронного мікроскопа: А – пилок рослин; Б – апоптоз лейкоцита; В – форменні елементи крові; Г - цитоскелет

### *Кріоелектронна мікроскопія.*

Нобелівську премію з хімії у 2017 році присуджено Жаку Дубочету (Швейцарія), Хоакіму Франку (США) та Річарду Хендерсону (Британія) за розробку кріоелектронної мікроскопії (кріо-

ЕМ) для визначення структури біомолекул з високою роздільною здатністю у розчині.

Завдяки цьому відкриттю дослідники можуть кріоконсервувати біомолекули у русі й візуалізувати механізми біохімічних процесів.

Жак Дюбоше розробив метод склування води: він охолоджував (до  $-196^{\circ}\text{C}$ ) її настільки швидко, що при затвердінні вода навколо ультрамікророззка зберігала структуру, яку мала у рідкому стані. Біологічна молекула, укладена у таку «скляну льодинку», зберігала свою природну форму навіть в умовах вакууму. Тонкий шар

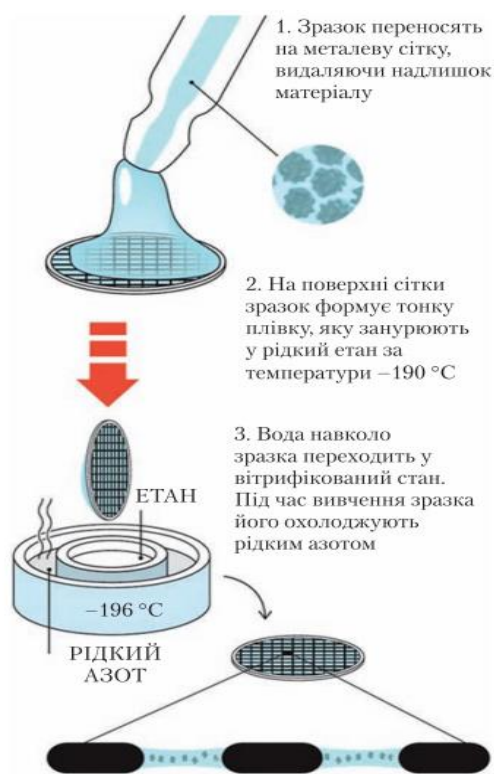


Рис. 2. 12. Схема методу Ж. Дюбоше швидкого охолодження водних розчинів зразків біологічних об'єктів (схема з сайту nobelprize.org)

вітрифікованої води може майже однорідно поглинати електрони у кріо-ЕМ. Метод вітрифікації (склування) середовища, у якому міститься біологічний об'єкт дає змогу бачити не лише структуру (скелет) самої молекули протеїну, але й його амінокислотні залишки, які є необхідним компонентом для реалізації хімічних процесів за

участі протеїнів.

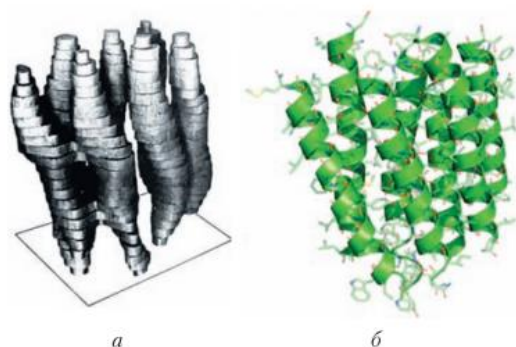


Рис. 2. 13. Структура молекули бактеріородопсину: а – перша, доволі груба модель, опублікована Р. Гендерсоном у 1975 р. у журналі *Nature*. 257: 28; б – модель Р. Гендерсона з атомарною роздільною здатністю, опублікована у 1990 р.

За допомогою цього методу є можливість візуалізувати, відслідковувати біохімічний процес у динаміці. Останні вдосконалення методики дозволяють реєструвати розвиток біохімічних процесів поетапно, наприклад вивчати інтегральні мембранні протеїни за виконання функції. Тобто, ті чи інші молекули можна зафіксувати у стані структурних змін або навіть під час дії, наприклад, у момент, коли ензим каталізує хімічну реакцію.

Роблячи знімки однієї й тієї ж системи у різні моменти часу, можна відслідкувати динаміку. Складаючи знімки послідовно, відображаються біологічні процеси у вигляді фільму.

Використовуючи високу роздільну здатність цього методу, у майбутньому дослідники зможуть не лише отримувати інформацію про структуру молекул, а й спостерігати особливості їх взаємодії і за потреби – коригувати розвиток процесів, що відбуваються усередині клітин або органел.

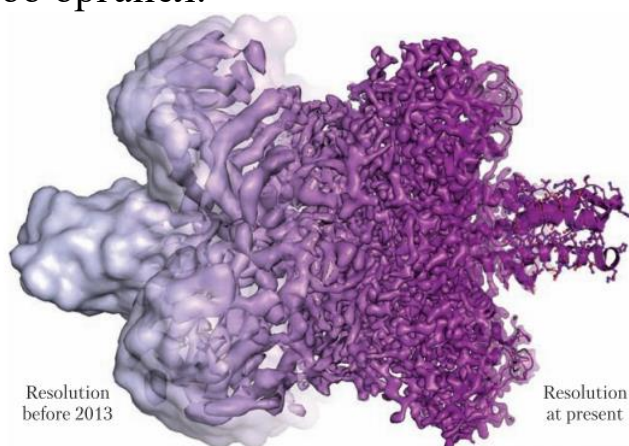


Рис. 2. 14. Порівняння роздільної здатності електронного мікроскопа 2013-го та 2017-го років: зображення безформних плям (ліворуч) – 2013 рік, візуалізація протеїнів на атомарному рівні (праворуч) – 2017 рік (схема з сайту [nobelprize.org](http://nobelprize.org))

### Скануюча зондова мікроскопія.

Інший керунок щодо дослідження наноб'єктів – створення скануючої зондової мікроскопії.

Дослідження відбувається за допомогою зонда – тоненької голки, на вістрі якої один атом. Між цим атомом і атомами

досліджуваного об'єкта на відстані близько до 1 ангстрема пропускається тунельний струм (тунельна мікроскопія) або виникають сили взаємодії у атомно-силовій мікроскопії, які можна реєструвати.

Невеликий квантово-механічний тунельний струм спричиняється напругою для подолання енергетичної щілини між кінчиком голки та поверхнею об'єкта. Тунельний ефект – процес подолання елементарною частинкою якогось потенційного бар'єру за тієї умови, що її енергія менша від висоти перешкоди (явище, яке пояснює квантова фізика). При скануванні зондом усієї поверхні об'єкта, атом за атомом, маючи показники напруги тунельного струму або сил взаємодії зонда з поверхнею, отримують нанорівневе зображення об'єкта. Перехід від «мікро» до «нано» – не кількісний, а якісний і означає стрибок від маніпуляції з речовиною до маніпуляції окремими атомами. Власне, скануюча мікроскопія уможливила маніпуляції з атомами.

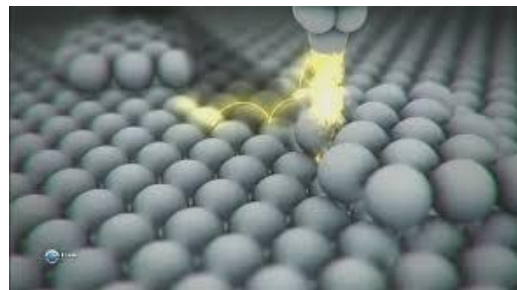


Рис. 2. 15. Зонд та виникнення сил взаємодії між ним і атомами досліджуваного об'єкта

У 1981 році Герд Бінніг і Хайнріх Рорер створили *скануючий тунельний мікроскоп*. За допомогою тунельного мікроскопа стало можливим «підчепити» атом і помістити його у потрібне місце, тобто, маніпулювати атомами і, теоретично, збирати з них будь-яку речовину. У 1986 році ученим було присуджено Нобелівську премію.

Тунельний мікроскоп дає можливість роздивитися поверхню речовини з великою роздільною здатністю – атом за атомом. Проте у скануючого тунельного мікроскопа є недоліки: з його допомогою можна вивчати тільки матеріали, що добре проводять електричний струм.

У 1986 році винайдено *атомно-силовий мікроскоп*. За допомогою цього методу можна досліджувати фізичні об'єкти (поверхні твердих тіл), віруси, бактерії, атоми, молекули. Можна вимірювати силу тертя, пружність, перемішувати окремі атоми, видаляти їх чи осаджувати на поверхні.

Метод атомно-силової мікроскопії є зручним інструментом вивчення мембранних протеїнів:

- нативної структури на поверхні мембрани;

- надмолекулярної організації;
- конформаційних змін;
- динаміки вбудованих у мембрану протеїнів в умовах, що наближаються до фізіологічних.

Атомно-силовий мікроскоп створює зображення мембранних протеїнів із субнанометровою роздільною здатністю та на рівні окремих молекул. З його допомогою вивчають як реконструйовані, так і нативні мембранні протеїни. В останні роки даний метод застосовують також для вивчення мікрофаліментів, із функціонуванням яких пов'язані механічні властивості та динаміка клітин. На користь застосування методу атомно-силової мікроскопії для вивчення мембранних протеїнів свідчить також те, що він не потребує попереднього оброблення матеріалу. Тому зразки мембранних протеїнів не руйнуються детергентами, їх не потрібно фіксувати на поверхні та забарвлювати.

Атомно-силова мікроскопія застосовується для вивчення йонних каналів. Наприклад, за отриманими двовимірними зображеннями поринів OmpF *Escherichia coli* встановлено потенціал- та рН-залежний ворітний механізм цього каналу, який забезпечує проникнення крізь бактеріальну мембрану малих розчинених молекул.

Японські дослідники перетворили атомно-силовий мікроскоп у хірургічний інструмент, за допомогою якого можна прооперувати одну клітину. Вони використали йонний промінь, щоб загострити стандартний кремнієвий наконечник силового мікроскопа і перетворити його у голку довжиною 8 мкм і товщиною 200 нм. При проникненні такої голки у людську ембріональну клітину, на стінці клітини залишається «прокол» діаметром 1 мкм. Нова технологія дозволяє вносити молекули у клітини, зокрема, ДНК у ядро. Також атомно-силова мікроскопія застосовується у генній терапії.

### **2. 3. 2. Гістохімічні методи досліджень (імуногістохімія)**

Гістохімічні методи дослідження ґрунтуються на застосуванні якісних хімічних реакцій для виявлення розподілу хімічних речовин у структурах клітин, тканин і органів. Сучасні гістохімічні методи дозволяють ідентифікувати амінокислоти, протеїни, нуклеїнові кислоти, різні види цукоридів, ліпідів. Наприклад, для дослідження Ферум (111) тканину обробляють свіжоприготованою сумішшю: 2%-вим розчином Калію фероціанідом (жовта кров'яна сіль) і 2%-вим



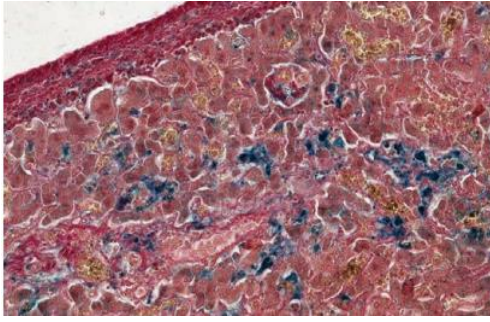
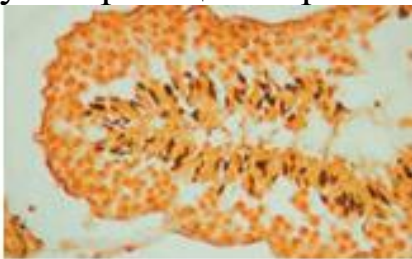


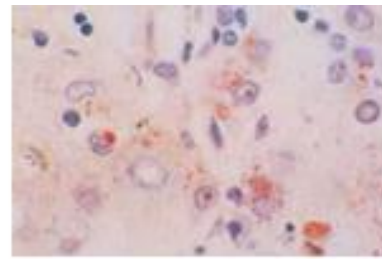
Рис. 2. 16. Ділянки гістологічного зрізу забарвлені у синій колір – локалізація Ферум (111)

розчином хлоридної кислоти. Ділянки, у яких локалізується Ферум (111), забарвлюються у синій колір (берлінська блакить) (рис. 2. 16). Якісною реакцією для ідентифікації глікозаміногліканів (ГАГ) є реакція метакромазії – зміна основного кольору барвника при взаємодії його з речовиною, яку досліджують. При фарбуванні толуїдиновим синім,

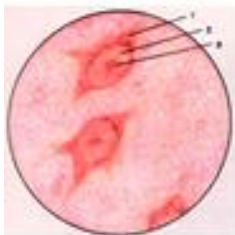
тионіном (барвники синього кольору) ГАГ проявляються вишнево-червоним забарвленням. Якісною на ДНК є реакція Фельгена, РНК досліджують реакцією Браше.



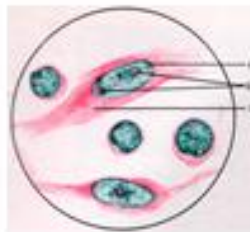
Виявлення спірохет. Якісною реакцією на наявність спірохет є обробка зразка сполуками з Аргентумом. Клітинна стінка спірохет зв'язує йони Аргентуму, про що свідчить чорне забарвлення ділянок клітин.



Виявлення Купруму. Роданін зв'язує Купрум у лізосомах, зафарбовуючи їх у оранжево-червоний колір.



Про наявність гістидину свідчить жовто-коричневе забарвлення (методом Брусвіца).



Фарбування метиловим зеленим – піроніном - РНК у вишневий колір



У результаті реакції Фельгена ДНК ідентифікується як червоно-фіолетове забарвлення у клітині



Гранули глікогену зафарбовані метомом Беста. Вишневий колір

Рис. 2. 17. Приклади гістохімічного дослідження зразків тканини

**Цитохімія** – поєднання гістохімічних методів з методом електронної мікроскопії – дозволяє вивчати локалізацію хімічних речовин на субклітинному і молекулярному рівнях.

Для виявлення специфічних протеїнів використовують **імуноцитохімічні реакції**. Для цього отримують специфічні сироватки, що містять антитіла (наприклад, до тубуліну). Далі хімічним шляхом поєднують ці антитіла з флуорохромом. Якщо мічені антитіла нанести на гістологічний зріз чи культуру клітин,

вони взаємодіють з відповідними протеїнами клітини і виникає специфічне світіння, видиме у люмінесцентний мікроскоп.

### **2. 3. 3. Цитоспектрофотометрія.**

**Цитоспектрофотометрія** – метод вивчення хімічного складу клітини, ґрунтується на вибірковому поглинанні тими чи іншими речовинами певної довжини світлової хвилі. За інтенсивністю поглинання світла, що залежить від концентрації речовини, проводиться кількісне визначення її вмісту у клітині.

### **2. 3. 4. Проточна цитометрія.**

**Проточна цитометрія** – метод дослідження дисперсних середовищ у режимі поштучного аналізу елементів дисперсної фази за сигналом світлорозсіювання і флуоресценції.

Метод базується на:

1. Використанні системи гідрофокусування, яка забезпечує проходження у потоці клітин поодинці.
2. Опромінення клітин лазерним випромінюванням.
3. Реєстрація сигналів світлорозсіювання і флуоресценції від кожної окремо взятої клітини у клітинній суспензії зі швидкістю до 3000 клітин у секунду.

За фізичними властивостями (розмір і цитоплазматична неоднорідність) може бути оцінена будь-яка клітина. Клітини можуть бути помічені специфічними барвниками, що зафарбовують ДНК, РНК, протеїни, або антитілами спрямованими до мембранних і внутрішньоклітинних компонентів клітини.

Суспензію попередньо забарвлених флуоресціюючими барвниками клітин пропускають через капіляр під тиском. Клітини, підхоплені потоком води, шикуються одна за одною ланцюжком. Коли такий струмінь пересікає сфокусований лазерний промінь, то у точці перетину потоку і променя одночасно виявляється, як правило, тільки одна клітина.

У вимірювальній камері приладу молекули деяких клітинних структур, перетинаючи промінь монохромного лазера, поглинають світло певної довжини хвилі і переходять у збуджений стан. Повертаючись через короткий час, у початковий стан, клітини випромінюють кванти світла з іншими довжинами хвиль. Це вторинне випромінювання, що має чітко визначені для кожного виду клітин або їх структур довжини хвиль, проходячи через оптичну

систему приладу, реєструється фотоелектронним помножувачем, який перетворює його і електричні сигнали, зручні для обробки та зберігання інформації.

У момент перетину клітиною лазерного променя детектори фіксують:

- розсіювання світла під малими кутами ( $1^{\circ}$ – $10^{\circ}$ ). Характеристика використовується для визначення розмірів клітини;
- розсіювання світла під кутом  $90^{\circ}$ , що дозволяє робити висновки про співвідношення ядро/цитоплазма, а також про неоднорідність цитоплазми клітин;
- інтенсивність флуоресценції по декількох каналах флуоресценції (від 2 до 18 – 20) – дозволяє визначити субпопуляційний склад клітинної суспензії;
- поляризацію флуоресценції і час прольоту клітини, що дозволяє оцінити ступінь в'язкості клітинних мембран, яка змінюється залежно від їх функціонального стану, а також ступінь асиметричності клітини чи досліджуваних органел.

За допомогою проточної цитофлуориметрії можна виконати «поштучний» аналіз клітин у швидкому тоці суспензії.

Можна посортувати клітини за:

- типами;
- фазами клітинного циклу;
- відібрати злоякісні і нормальні;
- оцінити клітинну цитотоксичність;
- визначити специфічні маркери у клітині;
- визначити і відібрати клітини анеуплоїдні, поліплоїдні, диплоїдні, гаплоїдні.

Цим методом можна:

- визначити активність клітинних ензимів;
- у рідких зразках аналізувати наявність бактерій, грибків;
- аналізувати склад рідин для екологічного контролю.

### **2. 3. 5. Метод радіоавтографії.**

**Радіоавтографія** – важливий інформативний метод, що дозволяє вивчати розподіл у клітинах і тканинах речовин, до складу яких введено радіоактивні ізотопи – **радіоактивну мітку**. У цитології використовуються ізотопи Гідрогену – тритій  $^3\text{H}$ , ізотоп Карбону –  $^{14}\text{C}$ , Фосфору  $^{32}\text{P}$ , Сульфору  $^{35}\text{S}$  та інші, які входять до складу органічних сполук.

Мічені атоми широко використовуються у цитології для вивчення хімічних процесів у клітині. Наприклад:

- для вивчення проникності цитоплазми;
- для вивчення локалізації речовин у клітині;
- використовуючи мічені амінокислоти, можна дослідити у якій клітині інтенсивніше синтезується протеїн, яким шляхом він мігрує у клітині, за який час;
- мічені ДНК вказують інтенсивність ділення клітин в організмі;
- застосування мічених тритієм попередників нуклеїнових кислот (тимідину, аденіну, цитидину, уридину) дозволило з'ясувати багато важливих аспектів синтезу ДНК, РНК і клітинних протеїнів.

У молекулі міченої речовини, наприклад, амінокислоти або цукориду, один з атомів заміщений радіоактивним ізотопом. Завдяки тому, що ці заміщені атоми здатні до радіоактивного випромінювання, їх можна легко виявити, застосовуючи фотографічний метод.

Під час експерименту ізотопи вводять в організм тварин з їжею, ін'єкційно або ж у поживне середовище при культивуванні тканин. Доза встановлюється експериментально і не повинна впливати на обмін речовин. Задля отримання результатів через різні проміжки часу після введення мічених речовин відбираються і фіксуються шматочки тканин і органів піддослідних об'єктів. З фіксованого матеріалу готують парафінові зрізи, на поверхню яких після видалення парафіну наносять тонкий шар чутливої фотографічної емульсії, яка містить кристали Аргентуму броміду – мікродетектори радіоактивності.

За дії радіоактивних частинок кристали Аргентуму броміду у вигляді чорних зерен металічного Аргентуму (треків) служать свого роду автографами, за локалізацією яких роблять висновок про біохімічні процеси. Зразки тканин переносять на плівку, на якій темніють місця треки.

### **2. 3. 6. Метод фракціонування клітин.**

Метод фракціонування (*диференціального центрифугування*) клітин полягає в отриманні з клітин ізольованих структурних компонентів. Базується на різних швидкостях осадження цих компонентів при обертанні гомогенатів клітин в ультрацентрифугах. Даний метод важливий у вивченні хімічного складу і функціональних властивостей субклітинних елементів – органел.

Центрифуга – механічний пристрій, у якому швидке обертання використовується для розділення частинок суміші за масою. Центрифугування – процес зневоднення і розділення суспензій на рідку і тверду фази під дією відцентрових сил.

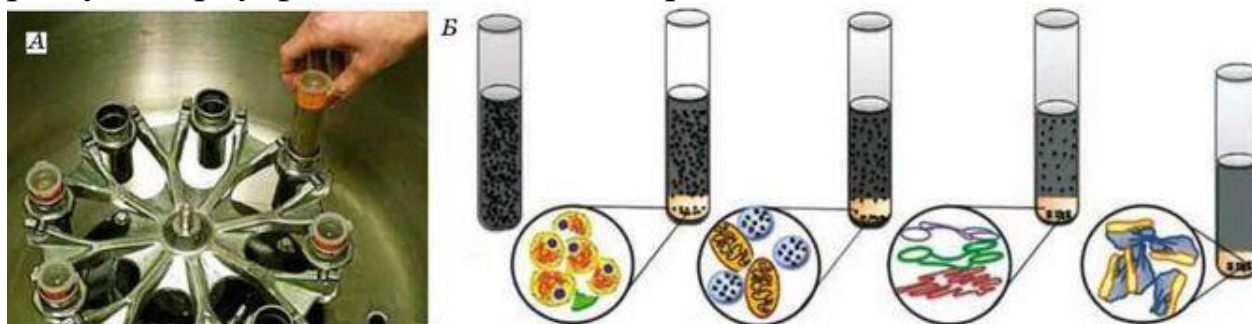


Рис. 2. 18. Послідовність фракціонування (диференціального центрифугування) клітин. А – процес центрифугування. Б – постадійна схема

Оскільки різні клітинні структури мають неоднакову щільність, за дуже швидких обертів центрифуги вони осідатимуть шарами: щільніші структури – швидше і тому опиняться знизу, а менш щільні – зверху.

Таблиця 2. 6

**Показники диференціального центрифугування для можливості фракціонування клітини з наступним дослідженням типових функцій фракції**

Фракція	Відцентрове прискорення для розділення, g	Тривалість центрифугування, хв	Типові функції фракцій, які в основному досліджуються
Клітинні стінки, ядра, мембрани	700 – 1000	10	Синтез нуклеїнових кислот, зберігання і передача спадкової інформації (ядра)
Мітохондрії	10000 – 15000	10	Окиснення кінцевих продуктів протеїнів, ліпідів, цукоридів. Дослідження транспорту електронів, фосфорилування, циклу лимонної кислоти, синтезу сечовини
Лізосоми, фрагменти мікротрубочок, пероксисоми	15000 – 20000	30	Дослідження гідролаз, ензимів, що утворюють і руйнують $H_2O_2$ і радикали Оксигену

Продовження табл. 2. 6			
Мікросоми, мембрани Гольджі	100000	60	Синтез протеїнів, мукополіцукоридів, фосфогліцеридів, триацилгліцеридів, гідролаз, редуктаз, фосфатаз
Розчинна фракція (цитозоль)	100000	60	Гліколітична система, гексозомонофосфатний шлях, глікогенез, катаболізм пуринів і піримідинів, синтез глікогену, амінотрансфераз, жирних кислот

Для одержання субклітинних фракцій гомогенат суспендують у цукрозі й фракціонують багаторазовим центрифугуванням у холоді.

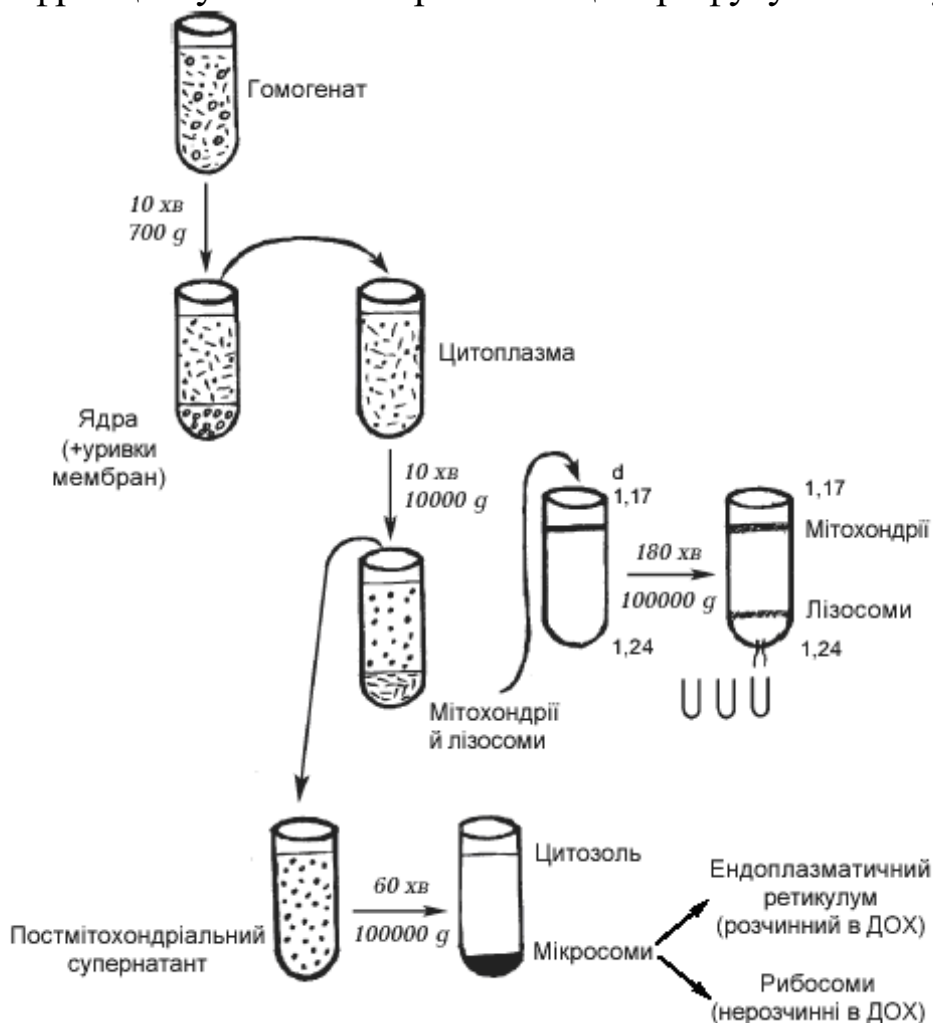


Рис. 2. 18. Схема послідовності операцій для розділення субклітинних фракцій за допомогою ультрацентрифугування. ДОХ – Натрію дезоксихолату

Центрифугування з прискоренням 700 – 1000 g (g – прискорення земного тяжіння,  $\text{cm/s}^2$ ) упродовж 10 хв осаджує фрагменти клітинних мембран і ядра, які є найважчими компонентами клітини.

Надосадкову рідину від першого центрифугування знову центрифугують при 10000 g 10 хв. В осад випадають мітохондрії, а також лізосоми. Із надосадкової рідини від другого центрифугування під дією відцентрової сили у 100 000 g не менше 1 години осаджують мікросоми (фракція ЕПС) і рибосоми. Остання надосадкова рідина містить цитозоль, тобто розчинені компоненти (у даному випадку в розчині цукрози) (рис. 2. 19).

### **Контрольні питання:**

1. Історія вивчення клітини.
2. Яке значення має клітинна теорія, сформульована Т. Шванном для розвитку природничого світогляду?
3. Як пов'язана загальна цитологія з іншими природничими науками: хімією, фізикою, математикою тощо?
4. Як пов'язана загальна цитологія з іншими біологічними науками: біохімією, біофізикою, зоологією, ботанікою, молекулярною біологією, мікробіологією, імунологією, фізіологією, спеціальною цитологією та гістологією тощо?
5. Які практичні завдання біотехнолог може вирішувати у галузі рослинництва й тваринництва, фармакології, використовуючи досягнення сучасної цитології?
6. Які важливі проблеми сучасної медицини можна вирішувати, використовуючи фундаментальні знання цитології?
7. Із яких частин складається оптична система світлового мікроскопа?
8. Із яких частин складається механічна й освітлювальна системи мікроскопа?
9. Основні правила роботи зі світловим мікроскопом.
10. Що таке роздільна здатність мікроскопа, від чого вона залежить?
11. Чому дорівнює роздільна здатність світлового й електронного мікроскопів?
12. Які переваги фазово-контрастної мікроскопії?
13. Методика мікроскопування у темному полі.

14. Особливості флуоресцентної мікроскопії.
15. Потрібно вивчити структури, розміри яких менші 0,2 мкм, але більші, ніж 0,1 мкм. Який метод світлової мікроскопії можна застосувати?
18. Конфокальна мікроскопія.
19. Деякі речовини у клітини мають здатність світитися під дією ультрафіолетових променів. Який мікроскоп можна використати для їхнього вивчення? Чи можливий у цьому випадку кількісний аналіз?
20. Які види мікроскопії потрібно застосувати, якщо необхідно дослідити форму незабарвлених живих клітин?
21. Який світлооптичний метод слід застосувати при визначенні просторової локалізації протеїнів?
22. Який мікроскоп слід використати при вивченні структури ЦПМ товщиною 7–10 нм?
23. Атомно-силова мікроскопія.
24. Гістохімія, гістоімунохімія.
25. Електронна мікроскопія.
26. Радіоавтографія.
27. Проточна цитофлуориметрія.
28. Диференціальне центрифугування.



### РОЗДІЛ 3. ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНИХ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПРО- ТА ЕУКАРІОТ

#### 3. 1. Різноманітність мікроорганізмів, які застосовують у біотехнології

У кінці 90-х років ХХ століття запропоновано класифікацію, за якою живі організми поділяються на три надцарства:

*Акаріоти (без'ядерні);*

*Прокаріоти (доядерні);*

*Еукаріоти (ядерні).*

До надцарства Акаріотів належить царство Віруси, надцарства Прокаріотів – царства Архебактерії, Ціанобактерії та Еубактерії, надцарства Еукаріотів – царства Рослини, Тварини та Гриби.

Усі живі організми є об'єктами, з якими працюють біотехнологи. Структура і функціонування одних цікавить біотехнологів у керунку пізнання їхньої організації для застосування її особливостей з метою одержання нових технологій, інших – для одержання біологічно активних речовин, біотехнологічних продуктів, матеріалів, діагностикумів. Об'єкт людина, зокрема її геном, цікавить біотехнолога задля можливості розробки новітніх технологій діагностування, попередження, лікування захворювань.

Серед технологій, у яких застосовуються мікроорганізми: ДНК-технології, агро-, екобіотехнологія, промислова та фармацевтична біотехнології. Так, вивчивши процеси природнього горизонтального перенесення генетичної інформації у бактерій, людина екстраполювала ці механізми на міжвидовий рівень та на поєднання в одному організмі ознак живого різних надцарств. Вивчивши механізми інфікування еукаріотичної клітини вірусом, дослідники створюють конструкції на основі вірусів для перенесення генів у клітину. Надаючи мікроорганізмам нових властивостей, вдосконалюють технології харчових виробництв.

Найпоширенішими традиційними мікроорганізмами, які застосовують біотехнологи є дріжджі, плісняві гриби, бактерії, ціанобактерії, мікроскопічні водорості. Добре вивчено особливості структури, функціонування цих мікроорганізмів, розшифровано їхній геном.

Традиційно у біотехнологічному процесі застосовують чисті культури мікроорганізмів із заданими властивостями – «культуральні

раси» або одержані шляхом селекції чи генетично змінені. Кінцевим продуктом біотехнологічного процесу є:

- змінений мікроорганізми субстрат;
- продукти метаболізму мікроорганізмів;
- власне клітини мікроорганізмів.

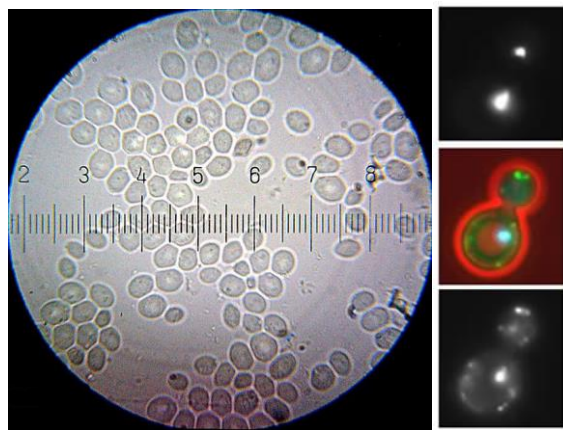


Рис. 3. 1. Морфологія *Saccharomyces cerevisiae* за різного способу мікроскопування

Серед **дріжджів** у біотехнологічних процесах широко застосовують *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces carlsbergensis*. Їх використовують у хлібопекарстві, пивоварінні, виробництві вин, отриманні соків, кормового протеїну, поживних середовищ для вирощування бактерій і культур еукаріот. Сконструйовано штучні хромосоми дріжджів, які функціонально активні у клітині,

також використовуються для створення біотехнологічних конструкцій, за допомогою яких можна переносити гени у еукаріотичні клітини.

У виробництві кисломолочних продуктів застосовують різні раси молочнокислих стрептококів, лактобактерій (молочнокислих бактерій), біфідобактерій і грибів.

У виробництві хліба і хлібобулочних виробів, для одержання кисломолочних продуктів, у виробництві молочної кислоти, спиртовому виробництві застосовуються такі види **молочнокислих бактерій** (рід *Lactobacillus*):

- *L. casei*;
- *L. acidophilum*;
- *L. delbrueckii*;
- *L. plantarum*.

Молочнокислі бактерії роду *Lactobacillus* зустрічаються поодинокі, інколи формують ланцюжки, нерухомі. Це грам-позитивні бактерії.



Рис. 3. 2. Молочнокислі стрептококи (справа), лактобактерії (зліва)

**Молочнокислі стрептококи** (*Lactococcus lactis*) спричиняють скисання молока, використовуються для виготовлення кисломолочного сиру, сметани. Також їх знайдено у коров'ячому гної, ґрунті, на рослинах.

Молочнокислі бактерії, біфідобактерії входять до складу препаратів-пробіотиків (препарати для корекції нормальної мікрофлори людського організму).

У біотехнології одержання оцету (ацетатної кислоти) застосовуються бактерії роду *Acetobacter*. **Ацетобактерії** – це грамнегативні палички. Характеризуються високою стійкістю до кислот. У природних умовах вони, як правило, знаходяться на рослинах. Серед *Acetobacter* розрізняють групи *peroxydans* і *euboxydans*. Група *peroxydans* – організми, які накопичують кислоту тільки як проміжний продукт біосинтезу. Типовим представником є *Gluconobacter oxydans*. У організмів групи *euboxydans* ацетатна кислота – кінцевий продукт біосинтезу (*Acetobacter aceti*, *Acetobacter pastorianum*).

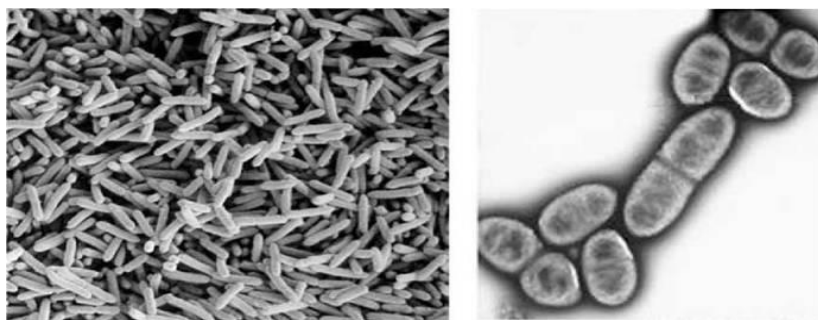


Рис. 3.3. *Acetobacter aceti* (зліва), *Gluconobacter oxydans* (справа)

Між цими двома групами існує багато проміжних форм, які здатні окиснювати оцтову кислоту дуже повільно. Більшість ацетобактерій потребує для росту складних поживних середовищ.

*Acetobacter* – мікроорганізми, які задіяні на одній із стадій біометаногенезу – одержанні біогазу, також *Acetobacter xylinum* – єдиний прокаріот, що синтезує рослинну целюлозу.

Бактерії роду *Bacillus* використовують для одержання ензимів (протеаз, амілаз), поліпептидних антибіотиків, поліцукоридів, засобів захисту рослин; роду *Clostridium* – для зброджування цукоридів до ацетону, етанолу, бутанолу; **псевдомонади** – для одержання вітаміну В<sub>12</sub>; *Corynebacterium glutamicum* – для одержання амінокислот. Бактерії родів *Thermoaerobacter* та *Zymomonas* здатні зброджувати цукориди до етанолу, який застосовується як пальне. За аеробної деградації клітковини метаногенними бактеріями отримують біогаз.

Мікроорганізми застосовують у системах санітарної очистки.

За участю мікроорганізмів «активного мулу» відбувається біотрансформація ксенобіотиків і очищення водойм, каналізаційних стоків. Мікробіологічна трансформація токсичних сполук, що потрапили у водне середовище, може відбуватись у різних напрямках, призводячи до мінералізації, акумуляції чи полімеризації вихідних реагентів. Доведено, що за повторного надходження однотипних ксенобіотиків у водне середовище адаптаційний період мікроорганізмів до субстрату (ксенобіотика) значно вкорочується, і відбувається посилена селекція штамів, здатних трансформувати цей субстрат. У результаті виникають активні щодо трансформації токсикантів мікробні популяції, здатні зберігатися у середовищі упродовж декількох місяців після повної деградації забруднення. За нового надходження токсичної речовини, вони відразу її атакують.

Деякі токсичні сполуки піддаються повній деградації мікроорганізмами (родів *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*), тобто мінералізуються з утворенням діоксиду Карбону (II), води, Амоніаку, сульфатів і фосфатів. Вони використовуються цими мікроорганізмами як ростові субстрати у повному метаболічному циклі. Часткова трансформація токсикантів відбувається, як правило, у процесах кометаболізму або співокиснення й не пов'язана з включенням метаболітів у цикли живлення мікроорганізмів. Правда, деякі ароматичні вуглеводні та синтетичні полімери взагалі не піддаються біологічній трансформації. Роди **бактерій-деструкторів** нафти, нафтопродуктів та інших забруднень: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*. Ці бактерії мають так звані «плазмиди деградації», які відповідають за синтез ензимів деградації ксенобіотиків.

У сільському господарстві застосовують культури бактерій роду *Rhizobium*, *Azotobacter*, здатних фіксувати атмосферний Нітроген.

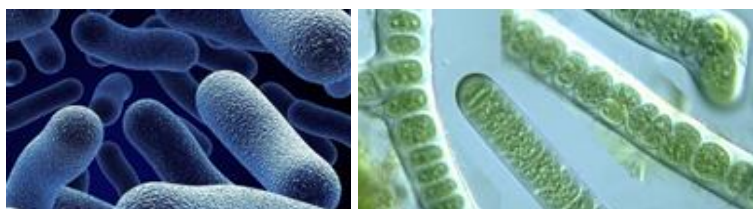


Рис. 3. 4. *Azotobacter* (зліва), ціанобактерії (справа)

Жоден еукаріот не здатний зв'язувати атмосферний Нітроген. До **нітрогенфіксуючих бактерій** належать мікроорганізми родів:

*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Frankia*, *Azospirillum*, *Azotobacter* і ціанобактерії. Фіксацію атмосферного Нітрогену у бактерій здійснює ензим нітрогеназа. Гени фіксації Нітрогену позначають як *nif*-гени,

вони кодують близько 20-ти різних протеїнів, тому створення за допомогою методів генної інженерії рослин, здатних самостійно фіксувати Нітроген, є практично неможливим. За допомогою методів генної інженерії створено бульбочкові бактерії з підвищеною здатністю до фіксації атмосферного Нітрогену. Біотехнологи підвищують Нітрогенфіксуючу здатність бактерій *Rhizobium* шляхом уведення генів ензимів гідрогеназ. Гідрогеназна система:

- підвищує ефективність фіксації Нітрогену;
- підвищує ефективність перетворення і запасання сонячної енергії;
- регенерує кофактори у промислових ферментативних процесах.

Одними із завдань агробіотехнології – одержання бактеріальних добрив на основі бульбочкових бактерій, які збагачують ризосферу рослин корисними мікроорганізмами, що оптимізує структуру ґрунту, сприяє накопиченню у ньому поживних речовин, мінералізацію органічних сполук і, як наслідок, підвищення родючості ґрунту і врожайності рослин. Мікроорганізми бактеріальних добрив забезпечують рослини не тільки мінеральними речовинами, а й фізіологічно активними сполуками: фітогормонами, вітамінами.

Мікробні інсектициди – біотехнологічний засіб захисту рослин. На відміну від хімічних, не мають шкідливого впливу на навколишнє середовище. Інсектициди, що синтезують мікроорганізми, високоспецифічні, діють лише на певні види шкідливих комах. Мікробні інсектициди швидко біодеградують, у комах не виробляється стійкість до біоінсектицидів. Проте широке використання цих сполук обмежується високою вартістю їх одержання. Цю проблему долає гenna інженерія. Для одержання мікробних інсектицидів використовують віруси, гриби, найпростіші, бактерії.

Із застосуванням мікробних біотехнологій одержують інтерферони, імуномодулятори, гормони (інсулін), ензими. Найчастіше у генно-інженерних технологіях використовують *Escherichia coli*. Оскільки ця бактерія невибаглива у культурі, її геном секвеновано повністю, геном легко модифікувати. *Агробактерії* використовуються для створення генетично модифікованих рослин.

Завдяки застосуванню генетичних методів, одержано високоактивні штами бактерій, грибів, актиноміцетів, дріжджів, які у

200 – 1000 разів збільшують синтез антибіотиків, амінокислот, органічних кислот, ензимів, вітамінів, кормового протеїну, порівняно з вихідними.

### 3.2. Будова прокаріотичної клітини

До надцарства Прокаріоти належать Архебактерії, Ціанобактерії та Еубактерії.

Бактеріальна клітина оточена щільною оболонкою – клітинною стінкою. До *зовнішніх утворень* бактеріальної клітини відносять клітинну стінку, капсулу, джгутики, фімбрії, пілі. Усередину від клітинної стінки розміщена цитоплазматична мембрана, яка оточує цитоплазму. У цитоплазмі містяться нуклеоїд, рибосоми, запасуючі речовини та інші бактеріальні структури. У протоплазмі деяких бактерій утворюються спори (ендоспори).

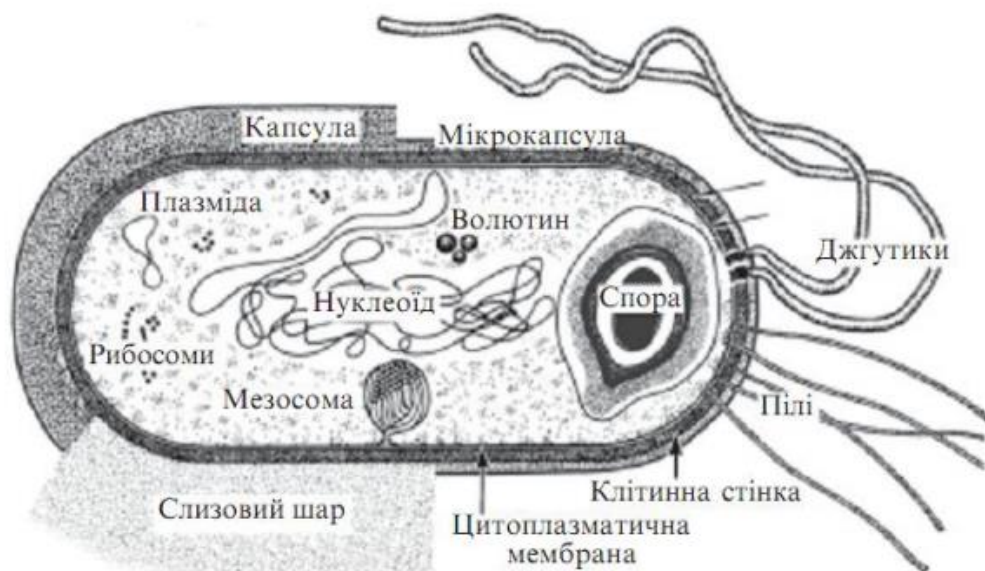


Рис. 3. 5. Схематичне зображення прокаріотичної клітини (за Г. Шлегелем, 1972)

Можна погрупувати структури клітини на *постійні* (цитоплазматична мембрана, рибосоми, нуклеоїд, цитоплазма, джгутик, пілі, капсула, плазмідна, різновиди мембран (фотосинтезуючі, нітрогенфіксуючі, мезосоми, хроматофори, карбоксисоми, аеросоми).

**Мезосоми** – внутрішньоклітинні мембранні утворення бактеріальної клітини. Розрізняють ламелярні (пластинчасті), везикулярні утворення. На мезосомах, які відіграють важливу роль під час ділення клітини, відбуваються окисдно-відновні процеси, вони виконують видільну функцію і забезпечують синтез екзоензимів.

**Хроматофори** – мембранні утворення, які становлять від 40 до 50% маси клітини. У них містяться пігменти фотосинтезу –

бактеріохлорофіл і каротиноїди.

**Карбоксисоми** чи поліедральні тіла, багатогранні включення з ліпопротеїновою мембраною у клітинах ціано- і сіркобактерій. Вони містять важливий ензим фіксації  $\text{CO}_2$  у циклі Кальвіна – рибульозофосфаткарбоксилазу. Функції карбоксисом повністю не з'ясовані.

**Аеросоми** характерні для бактерій, що живуть у водоймах (пурпурні і зелені сіркобактерії). За формою вони нагадують вакуолі, заповнені пухирцями газів. Аеросоми утримують бактерії на поверхні води і дають можливість бактеріям, які не мають джгутиків, здійснювати вертикальні рухи у воді та капілярах ґрунту.



Рис. 3. 6. Загальна схема будови бактеріальної клітини

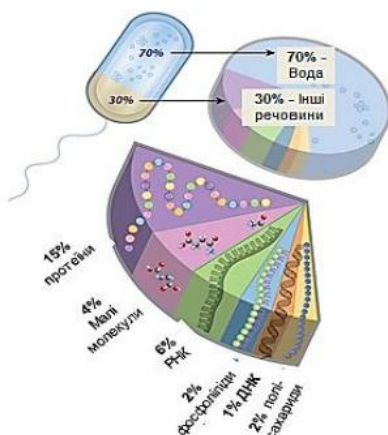


Рис. 3. 7. Хімічний склад клітини *E. coli*

У цитоплазмі багатьох видів бактерій містяться гранули волютину, ліпопротеїди, глікоген, пігменти, Сульфур, Кальцій та інші речовини, що є запасним поживним матеріалом, який використовується бактеріями за несприятливих умов існування.

Хімічний склад бактеріальної клітини у загальних рисах (відсоткове співвідношення) охарактеризовано на

рис. 3. 7. на прикладі клітини *E. coli*.

### 3. 2. 1. Клітинна стінка.

Клітинна стінка є обов'язковою структурою бактеріальної клітини. Винятком є мікоплазми та L-форми бактерій, які позбавлені цієї структури. Вона захищає внутрішній вміст клітини від механічних і осмотичних впливів зовнішнього середовища, відіграє важливу роль у регуляції росту, ділення клітини та розподілі генетичного матеріалу. Клітинна стінка бере участь у транспортуванні метаболітів, має рецептори для бактеріофагів, бактеріоцинів. Її товщина коливається від 10 до 80 нм, а маса складає близько 20 % маси сухої речовини клітини бактерії.

Головним структурним компонентом клітинної стінки більшості бактерій є муреїн (пептидоглікан). Кількість шарів муреїну у різних прокариот різна. Від будови клітинної стінки залежить забарвлення мікроорганізмів за Грамом. Метод Грама ґрунтується на тому, що компоненти клітинної стінки **грампозитивних бактерій**, яка містить багато шарів муреїну і тейхоеву кислоту, створюють стійкий комплекс при фарбуванні з Йодом та генціанвіолетом, який не вимивається спиртом. Тому грампозитивні бактерії зафарбовані у фіолетовий колір (стафілококи, стрептококи, бацили, клостридії, коринебактерії). **Грамнегативні бактерії** зафарбовуються додатковим барвником фуксином у червоний колір (нейсерії, ентеробактерії, вібріони, рикетсії, спірохети, мікоплазми).

**Муреїн** – це гетерополімер, який складається із залишків N-ацетилглюкозаміну і N-ацетилмурамової кислоти, з'єднаних між собою  $\beta$ -1-4 глікозидним зв'язком. Залишки мурамової кислоти з'єднуються пептидними зв'язками із тетрапептидами амінокислот: L- і D-аланіну, D-глутамінової та мезодіамінопімелінової кислот, L-лізину. Це ригідна, складна гратчаста структура, яка є однією ковалентно зшитою макромолекулою, що оточує усю бактеріальну клітину.



Рис. 3. 8. Залишки N-ацетилглюкозаміну (Г) і N-ацетилмурамової кислоти (М), з'єдані між собою у шахматному порядку

До складу клітинної стінки бактеріальних клітин входять також поліцукориди, ліпополіцукориди, ліпопротеїди. У муреїновий каркас



вплетена незначна кількість протеїнів і ліпідів. Пептидоглікан підтримує жорсткість клітинної структури і дозволяє бактерії вижити у середовищі з низьким осмотичним тиском.

Таблиця 3. 1.

**Порівняння хімічного складу грампозитивних та  
грамнегативних бактерій**

Компоненти клітинної оболонки	Грампозитивні еубактерії	Грампозитивні еубактерії	
		Внутрішній (пептидоглікановий) шар	Зовнішній шар (зовнішня клітинна мембрана)
Пептидоглікан	+	+	-
Тейхоєві кислоти	+	-	-
Поліцукориди	+	-	+
Протеїни	±	-	+
Ліпіди	±	-	+
Ліпополіцукориди	-	-	+
Ліпопротеїни	-	±	+

Примітка: + - присутні у малій кількості, ± - присутні у всіх видів, - відсутні.

**Клітинна стінка грампозитивних бактерій одношарова (містить тільки муреїн) з багатошаровим муреїном.** Вміст багатошарового пептидоглікану клітинної стінки грампозитивних бактерій 50 – 90%. З муреїном зв'язані тейхоєві кислоти – вони є тільки у грампозитивних бактерій. В муреїновий каркас вплетена незначна кількість протеїнів і ліпідів. Клітинна стінка має гомогенну губчасту структуру, пронизану порами і щільно прилягає до цитоплазматичної мембрани.

**Клітинна стінка грампозитивних бактерій багатошарова (її складають муреїн і зовнішня мембрана) з одним шаром муреїну,** товщина її 14 – 17 нм. Муреїн є внутрішнім шаром клітинної стінки, складає 1 – 10% її сухої маси. Зовнішній шар клітинної стінки (зовнішня мембрана), утворений фосфоліпідами, ліпополіцукоридами, ліпопротеїдами і протеїнами. Основною фракцією зовнішньої мембрани грампозитивних бактерій є ліпіди, які складають 22% сухої маси клітинної стінки. Під пептидоглікановим шаром міститься внутрішня цитоплазматична мембрана, до складу якої також входять фосфоліпіди, протеїни. Структури клітинної стінки грампозитивних бактерій відділені від внутрішньої

цитоплазматичної мембрани і розділені між собою електронно-прозорим проміжком, який дістав назву периплазматичного простору (*периплазма*).

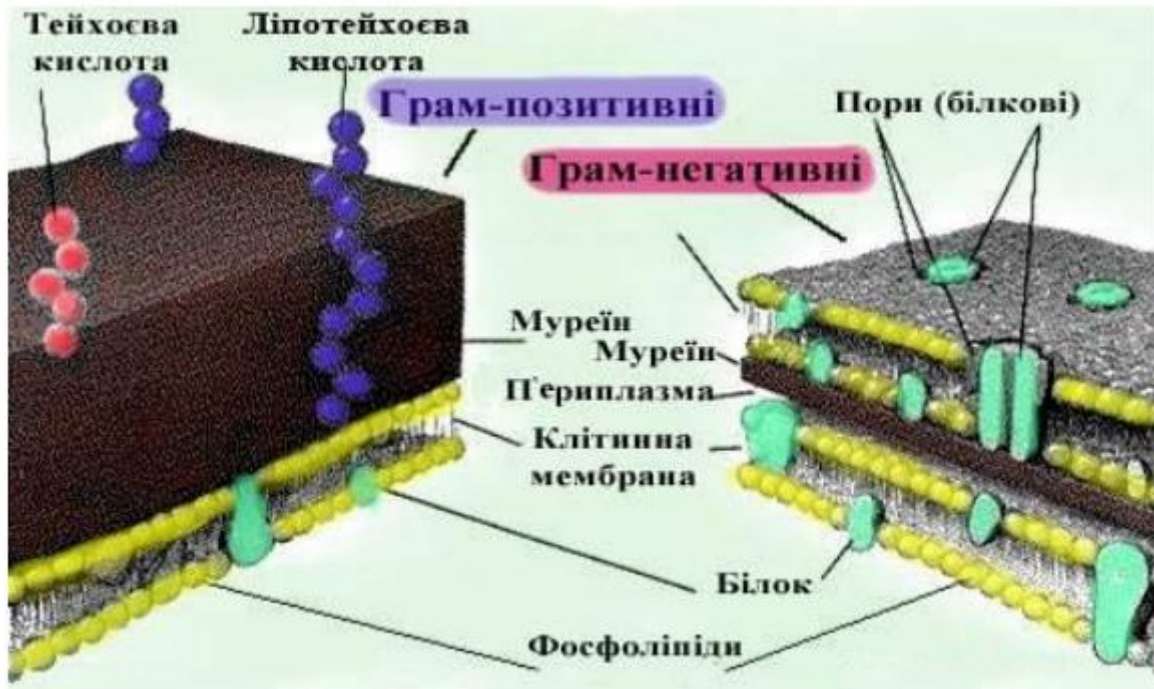


Рис. 3. 9. Схематична будова клітинної стінки грам-позитивних і грам-негативних бактерій

Зовні клітинної стінки усі бактерії оточені слизовим шаром, який має різну товщину і конфігурацію, його межі нечіткі. Якщо слизовий шар досить товстий, міцний із чіткими межами, його називають *капсулою*.

Морфологічно розрізняють два типи капсул: мікрокапсули (товщина менша, ніж 0,2 мкм, можна побачити тільки у електронний мікроскоп як шар мукополіцукоридних фібрил) і макрокапсули (товщина більша, ніж 0,2 мкм, добре помітні у світловий мікроскоп). Основна функція капсули – захисна. Вона захищає бактеріальну клітину від дії несприятливих факторів навколишнього середовища, від механічних пошкоджень, висихання, створює додатковий осмотичний бар'єр, служить перешкодою для проникнення токсичних речовин, фагів. Капсули і слизові шари не є життєво необхідними компонентами бактеріальної клітини. Можуть бути як капсульні, так і безкапсульні штами.

Хімічний склад капсули родо-, видо- і штамоспецифічний. На 98% капсула складається з води. За хімічним складом капсули поділяються на капсули цукоридної природи, які складаються із гомополіцукоридів і гетерополіцукоридів, а також капсули, які складаються із поліпептидів і поліцукоридів. Капсула утримується на

поверхні клітинної стінки в основному за рахунок йонних зв'язків, у деяких бактерій – ковалентними. В утворенні капсули бере участь цитоплазматична мембрана.

Мікроорганізми, які утворюють велику кількість слизу, можуть бути шкідливими для виробництва. Так, зокрема, на цукрових заводах, вони спричиняють ослизнення цукрового сиропу (*Leuconostoc mesenteriodes*), на пивоварних – «тягучість» пива.

Інколи бактерії синтезують настільки багато слизу, що це призводить до злипання їх у групи – зооглеї. Прикладом може бути *Streptococcus mutans*, який, прикріплюючись клейкими речовинами капсули до поверхні зубів, спричиняє карієс.

У деяких видів мікроорганізмів (залізобактерії, сіркобактерії) відбувається затвердіння зовнішніх шарів клітинної стінки, що призводить до утворення чохлів. У залізобактерій в чохлах відкладаються сполуки Феруму, які надають їм особливої міцності.

### **3. 2. 2. Цитоплазматична мембрана.**

У бактерій ЦПМ відіграє основну роль в обміні речовин, є осмотичним бар'єром клітини і контролює надходження речовин усередину клітини, вихід назовні продуктів життєдіяльності бактерій. У мембрані є механізми активного транспорту речовин і системи субстратспецифічних ензимів пермеаз. На ній здійснюється синтез мембранних ліпідів, компонентів клітинної стінки і капсули, а також синтез протеїну на рибосомах. Рідинно-мозаїчна структура ЦПМ прокариот, її хімічний склад подібні до таких у еукариот, будуть характеризуватись у роділі 4.

У аеробних бактерій часто спостерігають інвагінації ЦПМ у вигляді ламел, трубочок чи пухирців. Їх називають мезосомами. Вважають, що мезосоми виконують функцію мітохондрій у прокариотичній клітині, оскільки у них локалізовані окиснювальні ензими і ензими транспорту електронів. Також мезосоми беруть участь у формуванні поперечної перегородки під час ділення клітини.

У фотосинтезуючих бактерій інвагінації ЦПМ можуть містити фотосинтетичний апарат і брати участь у фотосинтезі. Такі структури називають хроматофорами або пластинчастими тилакоїдами.

### **3. 2. 3. Цитоплазма.**

**Цитоплазма** бактерій – це середовище, що пов'язує усі внутрішньоклітинні структури в єдину систему, гомогенна колоїдна система, яка складається із води, протеїнів, ліпідів, цукоридів і різних мінеральних сполук. Для цитоплазми характерний поверхневий

натяг. Внутрішній вміст клітини заповнює цитозоль – напіврідка колоїдна маса, що складається на 70 – 85 % з води, РНК, протеїнів (у тому числі ензими), продуктів і субстратів метаболічних процесів. У цитоплазмі знаходяться структури клітини (рибосоми, нуклеоїд), цитоплазматичні мембранні утвори (газові вакуолі, мезосоми, хроматофори, тилакоїди), включення, оточені протеїновою мембраною (хлоросоми, фікобілісоми), а також структури, позбавлені мембрани, які розглядають як запасні речовини. Також у ній міститься значна кількість ферментативних систем, які виконують надзвичайно важливі функції: регулюють надходження і виділення з клітини різних речовин, здійснюють синтез клітинної стінки та інших компонентів бактеріальної клітини. Цитоплазматична мембрана є обов'язковим структурним елементом клітини. Порушення її цілісності призводить до втрати життєздатності клітини, загибелі. Цитоплазма разом із органоїдами та цитоплазматичною мембраною становить *протопласт*. У протопласті відбуваються усі основні життєво важливі процеси клітини: дихання, синтез протеїнів, нуклеїнових кислот, спорогенез.

### 3. 2. 4. Нуклеоїд.

*Нуклеоїд* – це подвійна, кільцева нитка ДНК складається з  $3 \cdot 10^9$  пар нуклеотидів, не відокремлена від цитоплазми мембраною, довжиною 1,1–1,4 мм. У суперспіралізації беруть участь поліаміни (спермін, спермідин), йони Магнію. У нуклеоїді міститься генетична інформація про спадкові ознаки мікроорганізму.

Нуклеоїд прокариотів не є статичним внутрішньоклітинним утворенням або компартментом, який можна чітко визначати морфологічно, навпаки, під час різних фаз росту клітин нуклеоїд безперервно змінює форму, що, мабуть, пов'язане з транскрипційною активністю певних генів. Кількість генів клітини бактерій  $\approx 4000$ . Гени не мають *інтронів* (неінформативних ділянок).

Крім нуклеоїду до складу генетичного апарату прокариот входять безліч дрібних репліконів – *плазмід* – кільцевих молекул ДНК довжиною у декілька т. п. н. Плазмід такого розміру містять кілька десятків генів. Зазвичай це «гени розкоші», які забезпечують стійкість до антибіотиків, важких металів, температур, кодують специфічні токсини, а також гени кон'югації та обміну генетичним матеріалом з іншими особинами.

Відомі, також, дрібні плазмід довжиною 2-3 т. п. н., які кодують не більше 2-ох протеїнів. У багатьох бактерій досліджено

мегаплазмиди довжиною близько м. п. н.

Плазмиди можуть бути:

- прикріплені до мезосоми;
- перебувати в автономному та у інтегрованому стані з ДНК.

Сьогодні відомо декілька десятків різноманітних плазмід. Серед них найдетальніше вивчено плазмиди *F*, *Col*, *R*, *Ent*, *Hly*, а також плазмиди бактеріоциногенності, біодеградації різних речовин.

### Ознаки бактеріальної клітини, закодовані у плазміді:

- **плазмиди *F*** забезпечують перенесення бактеріальної ДНК під час кон'югації. Необхідною умовою для процесу кон'югації є наявність у клітині-донорі особливого фактору, який називається *F*-фактор (*fertility* – плодючість). Він є кон'югативною плазмідом, що існує автономно у цитоплазмі бактерії. Складається плазмиди з генів транслокації та генів, що кодують певні ознаки клітини. Бактерії з *F*-факторами позначаються як  $F^+$ , а без нього –  $F^-$  клітини. *F*-фактор детермінує утворення статевих ворсинок, отже, здатність клітин до кон'югації. Статеві ворсинки – особливі трубчасті, порожнисті вирости *пілі* на поверхні клітини, довжина їх у декілька разів перевищує величину бактерії;

- ***R*-плазмиди** є факторами множинної резистентності до лікарських засобів. Вони кодують стійкість до 10-ти антибіотиків та солей важких металів (Нікелю, Купруму, Гідраргіуму);

- ***Col*-плазмиди** забезпечують синтез коліцинів – протеїнів з летальною активністю проти коліформних мікроорганізмів;

- ***Hly*-плазмиди** зумовлюють утворення гемолізинів у золотистих стафілококів;

- ***Ent*-плазмиди** забезпечують ентеротоксигенну активність штамів кишкової палички;

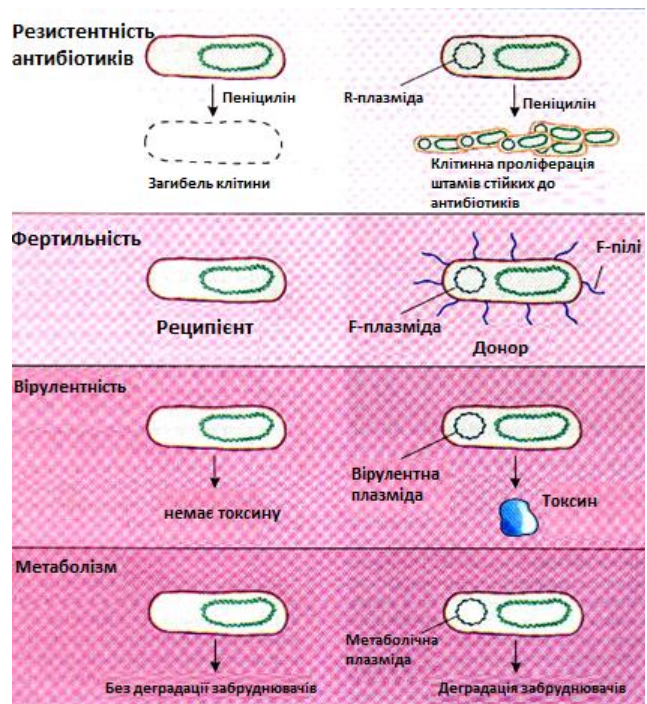
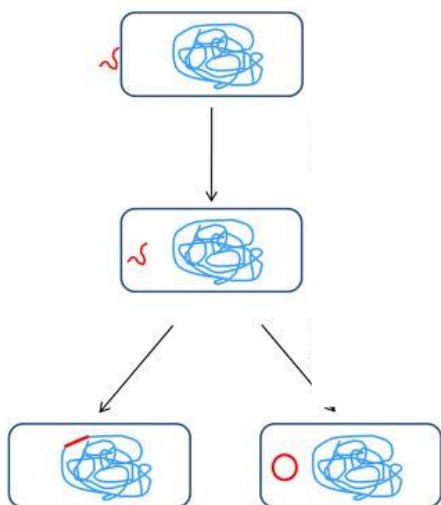


Рис. 3. 10. Ознаки бактеріальної клітини, за які відповідають гени плазмиди

активністю проти коліформних

– **плазмиди біодеградації** надають мікроорганізмам здатність утилізувати незвичні субстрати: *Cam*-плазміда – камфору, *Ost*-плазміда – октан тощо.



**Рис. 3. 11.** Інтегрування чужорідного генетичного матеріалу у клітину

Біотехнологія пов'язана із можливостями трансформації геному бактерій. Компетентні бактеріальні клітини можуть захоплювати чужорідну ДНК і інтегрувати її у свою плазмиду чи нуклеоїд. Плазмідами можуть обмінюватись різні бактеріальні клітини. У цій особливості – компетентності до чужорідного генетичного матеріалу – є певна небезпека використання генетично змінених організмів.

### 3. 2. 5. Рибосоми.

Рибосоми бактерій зв'язані з цитоплазматичною мембраною або з мезосомами чи розташовані вільно у цитоплазмі. Це немембранні органоїди розміром 16 – 18 нм, які складаються із РНК (60 – 65%) і протеїнів (35 – 40%). У них міститься до 85% усієї бактеріальної РНК. Клітини у період інтенсивного росту містять приблизно 15000 рибосом. Рибосоми можуть об'єднуватись у полісоми – структури, які складаються з рибосом, молекул інформаційної і транспортної РНК. Загальна маса їх може становити 1/4 усієї маси клітини. Кількість рибосом визначається швидкістю росту клітин і синтетичною активністю. Основна функція рибосом – синтез протеїнів.

Діаметр бактеріальних рибосом 20 нм, константа седиментації двохсубодиничної рибосоми 70S, що відрізняє їх від таких у еукаріотів. Така відмінність забезпечує можливість антибіотикотерапії, за якої мішенню дії антибіотиків є рибосоми.

Рибосоми є дуже консервативними структурами, їх гени мало змінюються у ході еволюції. Задяки цьому спорідненість за генами рибосомальної РНК є основою систематики мікроорганізмів.

### 3. 2. 6. Адаптація бактерій до несприятливих умов.

За несприятливих умов зовнішнього середовища: підвищена температура, дефіцит вологи або поживних речовин, зміна рівня рН, накопичення шкідливих продуктів обміну бактеріальна клітина

утворює спори. **Спори** – це внутрішньоклітинні утворення круглої або овальної форми. Спора може становити у середньому 1/10 частину об'єму вегетативної клітини. Є пристосуванням організму бактерій до виживання. Спороутворення (спорогенез) може тривати від 4 –8 до 72-ох годин.

Спори обумовлюють підвищену стійкість до температури. Наприклад, неспороносні форми бактерій гинуть за 80°C упродовж 10-ти хвилин, а спороносні – гинуть у автоклаві під дією насиченої пари за 115 – 125°C. Спори витримують кип'ятіння упродовж кількох годин і вплив високих концентрацій дезінфікуючих речовин.

За сприятливих умов спори проростають у вегетативні форми. Спори набрякають, збільшуються їх розміри, підвищується активність ензимів, під впливом яких розчиняється оболонка.

Деякі мікроорганізми у несприятливих умовах середовища утворюють клітини з міцними, щільними оболонками, які не є спорами – **цисти**. Цисти стійкі до висушування, механічних подразнень і менш стійкі до температури. Цисти утворюють бактерії роду *Azotobacter*.

### 3. 2. 5. Зовнішні утворення бактеріальної клітини.

**Пілі** – це ниткоподібні короткі протеїнові трубочки на поверхні клітин. За допомогою них бактерії прикріплюються до об'єкта (найчастіше до слизових оболонок). Вони мають всередині канал, через який при кон'югації передається генетичний матеріал від однієї клітини до іншої.

**Джгутики** – тяжі протеїнової природи, за допомогою яких бактерії рухаються. Товщина джгутиків коливається від 0,02 до 0,05 мкм, довжина – від 6 до 9 мкм. Зважаючи на такі малі розміри, їх можна побачити тільки за допомогою електронного мікроскопа. Джгутики кріпляться до клітини за допомогою двох дисків: зовнішній диск міститься на клітинній стінці, внутрішній – у цитоплазматичній мембрані. Джгутики складаються з протеїну флагеліну, який міститься тільки у складі джгутиків.

Залежно від розташування джгутиків рухливі бактерії поділяють на групи:

- **монотрихи** – мають один джгутик. Прикладом може бути холерний вібріон;

- **лофотрихи** – мають пучок джгутиків на одному із кінців клітини;

– *амфітрихи* – мають один або пучок джгутиків на обох кінцях. Прикладом є спірили;

– *перитрихи* – мають хаотично розташовані джгутики по всій поверхні клітини. Прикладом є *Escherihia coli* та *Salmonela*.

Кількість і розміщення джгутиків визначають характер і швидкість рухів бактерій. За несприятливих умов бактерії можуть втрачати джгутики, а відповідно, і властиву їм рухливість.

### 3. 3. Відмінність клітин про- та еукаріот.

Прокаріотична клітина (від грец. *pro* – до, *karyon* – ядро) не має ядра (у прокаріотів – бактерій і синьо-зелених водоростей), еукаріотична клітина (від грец. *eu* – повністю, добре) має ядро (в усіх інших одно- і багатоклітинних організмів).

Найважливіша особливість еукаріотичних клітин пов'язана з розташуванням генетичного апарату у клітині. Генетичний апарат всіх еукаріот знаходиться у ядрі і захищений ядерною мембраною. У життєвому циклі еукаріот зазвичай присутні дві ядерні фази (гаплофаза і диплофаза). Перша фаза характеризується гаплоїдним (одинарним) набором хромосом, далі, зливаючись, дві гаплоїдні клітини утворюють диплоїдну клітину, що містить подвійний (диплоїдний) набір хромосом. Такий життєвий цикл для прокаріот не характерний. Ще одна відмінність – наявність у еукаріотичних клітин особливих органел, які мають свій генетичний апарат, самовідтворюються і оточені мембраною. Ці органели – мітохондрії і пластиди. За особливостями будови, життєдіяльності вони схожі до бактерій.

Прокаріоти характеризуються меншою кількістю органел, і жодна з них не оточена подвійною мембраною. У клітинах прокаріотів немає ендоплазматичної сітки, апарату Гольджі, лізосом. Не менш важливо, описуючи відмінності між прокаріотами і еукаріотами, сказати про фагоцитоз. Фагоцитоз – це здатність еукаріотичних клітин захоплювати і перетравлювати найрізноманітніші тверді частинки. Цей процес забезпечує в організмі важливу захисну функцію.

Ще одна відмінність – будова джгутиків. У бактерій вони тонкі – всього 15 – 20 нм у діаметрі. Це порожнисті нитки з флагеліну. Будова джгутиків еукаріот набагато складніша: виріст клітини, оточений мембраною, містить цитоскелет з дев'яти пар периферичних мікротрубочок і двох мікротрубочок у центрі.



## Ознаки відмінності еу- та прокариот

Ознака	Прокариоти	Еукариоти
Розмір клітин	1 – 10 мкм	10 – 50 мкм
Ядро	Відсутнє (є нуклеоїд)	Є
Генетичний матеріал	Нуклеоїд – кільцева молекула ДНК, не зв'язана з гістонами.	Лінійні хромосоми – ДНК у комплексі з гістонами. Дві або більше хромосом. Гаплоїдний або диплоїдний набір хромосом
Цитоплазматична ДНК	Не оточена мембраною (плазмід)	У мітохондріях та пластидах
Клітинна стінка	Містить пептидоглікан	Побудована з органічних та неорганічних речовини (целюлоза, хітин)
Наявність стеролів у мембранах	Нема (стабільність забезпечує пептидоглікан)	Є
Двомембранні і одномембранні органели	Нема. Внутрішні мембрани зустрічаються рідко, асоційовані з процесами дихання, фотосинтезу	Є
Константи седиментації рибосом	70 S	80 S
Травні вакуолі	Нема	Є
Клітинний центр	Нема	Присутній у більшості тварин і нижчих рослин

<i>Продовження табл. 3. 2</i>		
Будова джгутиків	Порожністі нитки з флагеліну, фібрил не мають, не оточені плазматичною мембраною, діаметр 20 нм	Складніша: складаються з 20-ти фібрил, зібраних у групи (2×9 + 2) оточені плазматичною мембраною, діаметр 200 нм
Рух цитоплазми	Відсутній	Спостерігається
Спосіб поглинання речовин	Абсорбція через клітинну стінку	Фагоцитоз і піноцитоз (у тваринних клітин)
Дихальна система	Є частиною мембран або мезосом	Розташована у мембранних органелах
Дихання	Анаероби та аероби	Аероби
Процес фотосинтезу	На мембранах. Пігмент бактеріохлорофіл. У бактерій не супроводжується виділенням Оксигену	У хлоропластах. Пігменти: хлорофіл а, b, c, d. Супроводжується виділенням Оксигену
Фіксація Нітрогену	Деякі здатні	Не здатні
Спосіб ділення клітин	Прямий	Мітоз, мейоз
Статеві клітини	Сам організм	Сам організм або спеціалізовані клітини
Особливості	Чутливі до пеніциліну. Стійкі до гама-випромінювання. Верхня температурна межа 75 – 90°C	Нечутливі до пеніциліну. Низька стійкість до гама-випромінювання. Верхня температурна межа 40 – 60° С

Компартменталізація, зокрема наявність ядра, надає еукаріотам здатність розмежувати у просторі процеси транскрипції і трансляції та здійснювати тонкі механізми регуляції експресії генів впродовж клітинного циклу, що недоступно для прокаріотів. Ці переваги, ймовірно, стали можливим завдяки виникненню енергетично більш ефективного аеробного метаболізму.

**Контрольні питання:**

1. Значення мікроорганізмів для біотехнології.
2. Особливості клітинної стінки мікроорганізмів.
3. Фарбування за Грамом.
4. Протоплазма бактеріальних клітин.
5. Будова мікроорганізмів.
6. Нуклеоїд, плазміда.
7. Специфічні утворення бактеріальних клітин.
8. Бактеріальні рибосоми.
9. Адаптація мікроорганізмів до несприятливих умов.
10. Відмінності про- та еукаріот.
11. Які барвники використовуються у мікробіологічній практиці?

## РОЗДІЛ 4. СТРУКТУРА І ФУНКЦІЇ БІОЛОГІЧНИХ МЕМБРАН

### 4. 1. Загальна характеристика структури біологічних мембран

Біологічні мембрани відокремлюють клітину від зовнішнього середовища, їхня цілісність є необхідною умовою існування клітини.

Розрізняють:

- *плазматичну* (зовнішню) *мембрану* (плазмалему), *ЦПМ*;
- *внутрішньоклітинні мембрани* (ендомембрани).

Ендомембрани еукаріотичної клітини:

- ендоплазматичний ретикулум (ендоплазматична сітка);
- апарат Гольджі;
- мембрани клітинних органел (ядер, мітохондрій, лізосом, пероксисом та інших).

Ендомембрани поділяють клітину на відсіки (компарменти), у яких здійснюються специфічні функції, зокрема:

- синтез біомолекул (ендоплазматичний ретикулум);
- збереження, відтворення генетичної інформації (ядро);
- генерація енергії (мітохондрії);
- вивільнення продуктів життєдіяльності (апарат Гольджі).

Компарменталізація є необхідною для забезпечення автономії та контролю за здійсненням функцій клітини.

Плазматична мембрана має селективну (вибіркову) проникність для різних речовин, забезпечує підтримання постійного складу внутрішньоклітинного середовища, захищає клітину від впливу несприятливих факторів зовнішнього середовища.

Цитоплазматична мембрана настільки тонка, що побачити її можна лише у електронний мікроскоп. Але у деяких клітин вона має товстий надмембранний комплекс (глікокалікс, целюлоза), тому обриси її у світловий мікроскоп ми бачимо. Цитоплазматична мембрана, травмована мікроголкою, легко відновлює пошкодження, але за відсутності йонів Кальцію, цитоплазма витече через прокол назовні.

**Основні функції біологічних мембран:**

- *бар'єрна*: за рахунок ліпідного бішару непроникна для багатьох речовин (гідрофільних сполук і йонів), тобто ефективно відмежовує цитоплазму від позаклітинного середовища;
- *інтегральна*: забезпечує зв'язок між окремими внутрішньоклітинними компарментами, а також між клітиною й

навколишнім середовищем (ендоплазматична сітка);

– **опорна**: бере участь у формоутворенні клітини: до неї кріпляться елементи внутрішньоклітинного скелету (мікротрубочки, мікрофіламенти і проміжні філаменти), і як наслідок забезпечення клітинної рухливості;

– **транспортна**: місце локалізації спеціалізованих транспортних систем, наприклад, йонні канали та транспортні протеїни. Завдяки напівпроникності контролює транспорт метаболітів та йонів, підтримуючи гомеостаз. Місце локалізації електронотransпортних ланцюгів, по яких здійснюється транспорт електронів;

– **рецепторна**: з зовнішньої сторони ЦПМ можуть знаходитися специфічні протеїни-рецептори до біологічно активних речовин – гормонів, медіаторів, антигенів;

– **створення трансмембранного потенціалу**: серед транспортних систем ЦПМ –  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -насос і канали для йонів  $\text{K}^+$ . Завдяки діяльності насоса у середині клітин створюється надлишок  $\text{K}^+$ , а зовні –  $\text{Na}^+$ . На зовні насосом транспортується три йони  $\text{Na}^+$ , одночасно у клітину транспортується два йони  $\text{K}^+$ , що створює різницю потенціалів на зовнішній і внутрішній поверхнях мембрани;

– **ендо- та екзоцитоз**;

– **локалізація ферментативних процесів**: на межі між ліпідною та водною фазами локалізовані ензими. Саме тут відбуваються реакції з неполярними сполуками, синтез АТФ;

– **забезпечення міжклітинних взаємодій**.

Таблиця 4. 1.

### Біомембрани і функції клітинних структур

Назва	Діаметр, мкм (діаметр всієї клітини 20 мкм)	Частка об'єму клітини, %	Функція
Ядро (ядерна мембрана)	8	6	Зберігання генетичної інформації
Мітохондріальна мембрана	1-2	16	Накопичення енергії, дихання, метаболічні процеси
Лізосоми	0,5-1	2	Лізис речовин
Пероксисоми	0,5-1	2	Утворення і знешкодження Гідроген пероксиду, метаболізм нуклеїнових кислот
ЕПС	0,05-0,3	10	Біосинтез протеїнів, ліпідів
Апарат Гольджі	0,08-0,3	1	Утворення проензимів, поліцукоридів, ліпопротеїнів
Фаго-, піносоми, везикули	0, 85-3	кілька	Ендоцитоз, транспорт речовин
ЦПМ	-	-	Бар'єр, транспорт речовин, метаболізм, рецепція

Біліпідний шар мембрани забезпечує вибіркове проникнення речовин. Це створює умови для виникнення на мембрані осмотичного тиску. **Осмотичний тиск** – це тиск, який чинить розчинник на напівпроникну мембрану при переході із ділянки з меншою концентрацією розчиненої речовини у ділянку з більшою концентрацією до досягнення рівноваги. Отже, осмотичний тиск створюють лише ті речовини, які крізь мембрану вільно не проходять. Біологічні мембрани володіють порівняно доброю проникністю для води і поганою – для йонів і водорозчинних (гідрофільних) речовин. Тому більша частина водорозчинних речовин у клітині володіє осмотичною активністю. Осмотичний тиск забезпечує тургор клітини, його наявність свідчить про життєздатність клітини, осмос запобігає руйнуванню клітини за неконтрольованого надходження речовин.

Якщо молекула речовини, що транспортується, не має заряду, то напрям пасивного транспорту визначається лише різницею концентрацій цієї речовини по обидва боки мембрани (**градієнтом концентрації**). Та якщо молекула заряджена, то на її транспорт впливають як градієнт концентрації, так і різниця електричних потенціалів по обидві сторони мембрани (мембранний потенціал).

**Мембранний потенціал** (потенціал спокою) – це різниця потенціалів між зовнішньою та внутрішньою сторонами мембрани в умовах, коли клітина не збуджена. Цитоплазма клітини заряджена негативно відносно позаклітинної рідини через нерівномірний розподіл аніонів та катіонів по обидві сторони мембрани. Різниця потенціалів для різних клітин має значення від -50 до -200 мВ (мінус означає, що усередині клітина більш негативно заряджена, ніж зовні). Мембранний потенціал спокою виникає на мембранах усіх клітин. Необхідний для підтримання збудливості клітин, впливає на транспорт заряджених частинок: сприяє пасивному транспорту аніонів із клітини та катіонів у клітину. Утворення та підтримання мембранного потенціалу забезпечують різні типи йонних насосів (зокрема натрій-калієвий насос) та йонних каналів (калієвих, натрієвих, хлору). Це величина постійна для кожного виду клітини. Разом концентраційний і електричний градієнти складають **електрохімічний градієнт**.

У клітині завжди присутні йони  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ , і, власне, швидкість їх дифузії й розподілу у рівноважному стані визначається проникністю мембрани й відмінностями у концентрації йонів по

обидві її сторони, електричним потенціалом, що виникають між внутрішньою і зовнішньою поверхнями мембрани.

При зміні величини мембранного потенціалу виникає потенціал дії. **Потенціал дії** – швидке коливання мембранного потенціалу, пов'язане зі зміною йонної проникності під дією подразника порогової сили, в основі якого лежить короткочасне перезарядження мембрани і подальше відновлення вихідного значення мембранного потенціалу. Потенціал дії відображає активний, або діяльний стан клітини. За допомогою потенціалу дії здійснюється передача інформації від клітини до інших клітин.

Отже, в основі життєдіяльності клітини є **біоелектричні потенціали** – це електричні потенціали, що генеруються живими організмами (мембранний потенціал, потенціал дії). Вони генеруються під дією зовнішніх, внутрішніх чинників. Значна частина енергії обміну речовин витрачається живими клітинами на підтримання мембранного потенціалу та створення потенціалу дії.

#### 4. 2. Будова цитоплазматичної мембрани

«Рідинно-мозаїчна» модель мембрани запропонована Сінджером, Ніколсоном (1972 р.). Із решти запропонованих моделей ця найаргументованіше пояснила функції, що їх виконує мембрана. Залежно від функціонального призначення мембрани її хімічний склад і співвідношення складових суттєво відрізняються у мембран різних компартментів. Проте принцип будови спільний для усіх біомембран. В основі будови мембрани – біліпідний шар. У бішар фосфоліпідів (ліпідний матрикс) занурені численні протеїни, які зумовлюють мозаїчну структуру.

Загальний хімічний склад мембран:

- ліпіди – 25 – 75%;
- протеїни – 20 – 75% (внутрішні мембрани мітохондрій на 75 % складаються із протеїнів);
- цукориди – 5 – 12% (у внутрішніх мембранах їх незначна кількість).

Отже, за сучасними поглядами основними компонентами біологічних мембран є ліпіди (фосфо-, гліколіпіди, холестерол), протеїни і цукориди (останні у вільному стані не зустрічаються, а входять до складу гліколіпідів і глікопротеїнів, наприклад, рецептори є глікозилітованими протеїнами). Цукориди розміщені на зовнішній поверхні ЦПМ, беруть участь у контактах із навколишнім середовищем. Цукоридні компоненти мембрани – це переважно

олігоцукориди, до складу яких найчастіше входять нейтральні моноцукориди (глюкоза, маноза, N-ацетилглюкозамін) та єдиний заряджений моноцукорид – сіалова кислота. В еукаріотичних клітинах цукоридвмісні сполуки беруть участь в утворенні *глікокаліксу* – збагаченої цукоридами периферійної зони на поверхні більшості еукаріотичних клітин. У складі глікокаліксу також глікопротеїни та протеоглікани, які адсорбуються на клітинній поверхні. Цукоридвмісні сполуки відіграють не останню роль у визначенні антигенних властивостей клітин, у формуванні рецепторів гормонів і нейромедіаторів, а також базальної мембрани (специфічного еластичного примембранного шару).

Площа мембранної поверхні: для ліпідної молекули –  $0,5 \text{ нм}^2$ , молекули протеїну –  $20 - 30 \text{ нм}^2$ .

Товщина мембрани визначається повздовжніми розмірами ліпідних молекул. Довжина гідрофобного «хвоста» амфифільного ліпиду 2 нм. Загальна ширина гідрофобної фази бішару вдвічі більша – 4 нм. Загальна товщина ліпідного бішару (з урахуванням двох гідрофільних «головок» ліпідів) – 5,3 нм. За рахунок протеїнів товщина мембрани збільшується до 7 – 10 нм. Товщина клітинної стінки (глікокаліксу) може варіювати у межах 4 – 200 нм, що залежить від виду клітини і різних її ділянок.



Рис. 4. 1. Рідинно-мозаїчна структура плазматичної мембрани

#### 4. 2. 1. Ліпіди мембран.

Як уже зазначалось, молекула ліпиду складається з гідрофільної головки і гідрофобного хвоста – залишків жирних кислот. Ліпіди – низькомолекулярні речовини: молекулярна маса більшості мембранних ліпідів – 740 Да, а холестеролу – удвічі нижча. У



водному середовищі молекули агрегують так, що з водою контактують лише головки. Гідрофобною фазою є хвости молекул.

Молекули фосфоліпідів є рухливими, можуть перестрибувати з одного шару в інший (*фліп-флор*) або у латеральному керунку переміщуватись пластами. Насправді це відбувається нечасто й дуже повільно внаслідок того, що гідрофільна головка фосфоліпиду має перетнути велику гідрофобну ділянку бішару, утворену «хвостами». Тому повний перехід однієї молекули фосфоліпиду з одного моношару в інший становить кілька діб. Проте існує АТФ-залежний ензим *фліпаза*, який полегшує і прискорює фліп-флор переходи (за його дії час переміщення фосфоліпиду зменшується до кількох секунд). Активні фліпази відповідають за створення і підтримку ліпідної *асиметрії мембран*. Активація фліпаз можлива також за низки специфічних процесів, які відбуваються у клітинах – наприклад, таке явище спостерігається, коли клітина гине шляхом апоптозу. У цьому випадку фліпазозалежна поява на зовнішньому боці мембрани залишків фосфатидилсерину є маркерним сигналом для сусідніх клітин і макрофагів, який спричиняє поглинання апоптичної клітини. Крім того, на візуалізації фосфатидилсерину в зовнішньому моношарі мембрани за допомогою флуоресцентних барвників базується один із методів детекції клітин, що стали на шлях запрограмованої смерті клітини.

Молекули фосфоліпідів здатні до обертальних рухів навколо власної осі, а їхні жирнокислотні хвости – до коливальних (сегментарних) рухів (найрухливішими при цьому є дистальні ділянки хвостів).

Гідрофобний шар, утворений жирними кислотами, створює непроникний бар'єр для органічних сполук (цукрів, амінокислот), йонів, мінеральних солей. Тому для транспортування цих речовин необхідні спеціальні транспортні системи, або переносники. Крізь гідрофобний шар легко дифундують незаряджені молекули  $O_2$ ,  $CO_2$ , жиророзчинні сполуки, зокрема стероїдні гормони.

Згідно із сучасною класифікацією, усі фосфоліпіди за наявністю в їхній структурі спирту гліцеролу або сфінгозину поділяються на дві підгрупи – *гліцерофосфоліпіди* й *сфінгофосфоліпіди*. Крім фосфоліпідів, до складу мембрани входять стероїди, а саме *холестерол* і *гліколіпіди*.

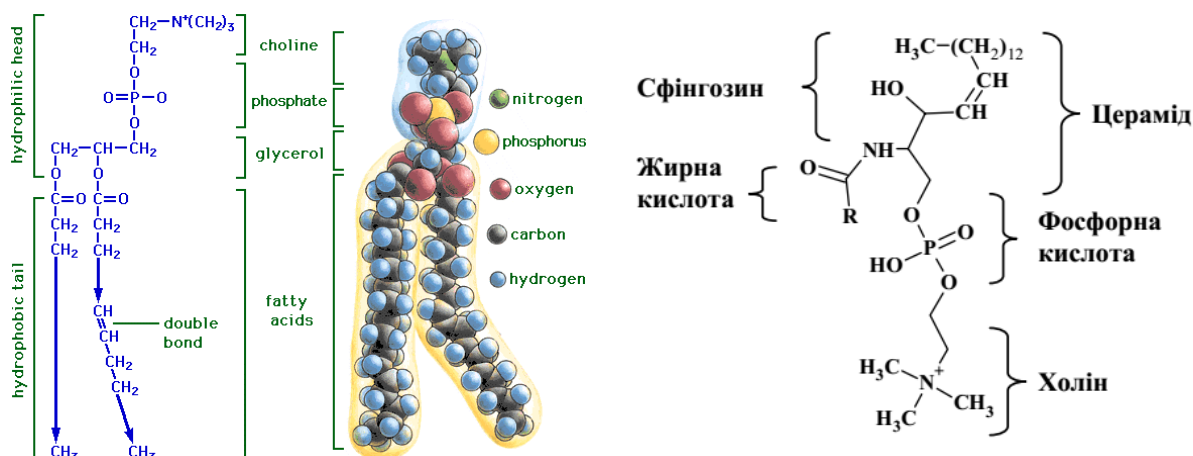


Рис. 4. 2. Структура фосфоліпідів

Холестерол міститься в обох моношарах біологічних мембран – чим більший його вміст, тим жорсткішою буде мембрана.

Із збільшенням вмісту фосфоліпідів зростають показники лабільності мембрани:

- підвищується латеральна дифузія компонентів мембрани (у зв'язку зі зменшенням взаємодії між молекулами);

- збільшується дифузія речовин (наприклад, неполярних сполук) через мембрану (оскільки збільшуються проміжки між «хвостами» ліпідів);

- підвищується здатність мембран до руйнування. Збільшується текучість мембран. Тому фосфоліпіди називають «дестабілізуючими» ліпідами.

Гліколіпіди і холестерол запобігають активному переміщенню ліпідів, стабілізуючи мембрани, тому їх відносять й до «стабілізуючих» мембранних ліпідів. Ці ліпіди переважають у зовнішніх цитоплазматичних мембранах клітин.

#### 4. 2. 2. Протеїни мембрани.

В основу класифікації мембранних протеїнів покладено міцність їх зв'язування та розміщення у біомембранах:

- *інтегральні* (внутрішні);
- *периферичні* (поверхневі).

Інтегральні протеїни, як правило, мають великі гідрофобні ділянки, розташовані всередині мембрани. Такі протеїни можна виділити з мембрани тільки шляхом її руйнування за допомогою екстракції детергентами.

Периферичні протеїни легко відокремлюються від мембран за дії сольових розчинів, зміни рН тощо. Залишки гідрофільних

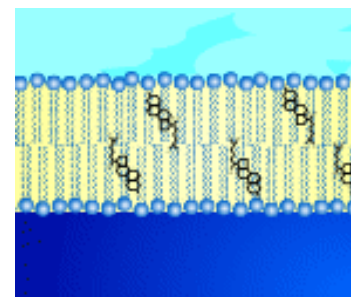


Рис. 4. 3. Молекули холестеролу у моношарах

амінокислот розміщені на поверхні глобули протеїна.

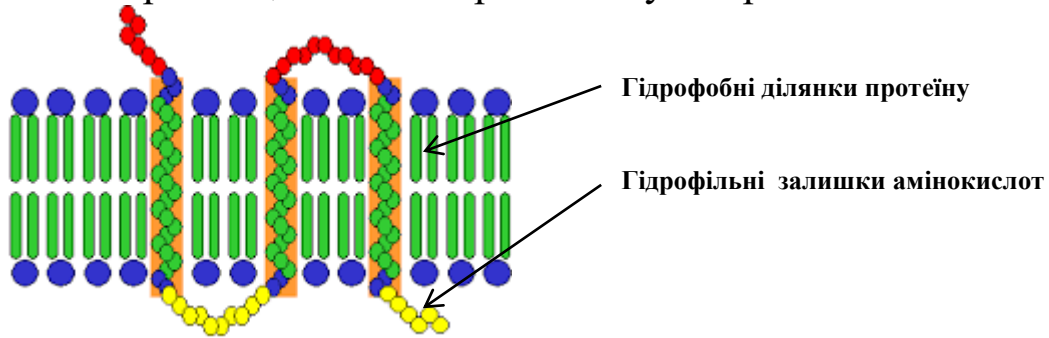


Рис. 4. 4. Розташування інтегрального протеїна у мембрані

Протеїни можуть прикріплюватися до мембрани кількома способами:

1. *Трансмембранні протеїни.* Одні з них перетинають мембрану тільки один раз (глікофорин), інші перетинають мембрану кілька разів – політопні (лактозопермеаза, бактеріородопсин (рис. 4. 4, 4. 6)).

2. *Зв'язування за допомогою гідрофобного «якоря».* Ця структура зазвичай є послідовністю неполярних амінокислотних залишків (цитохром  $b_5$ ). Деякі мембранні протеїни використовують як якір ковалентно зв'язані з ними жирні кислоти, фосfolіпіди.

3. *Зв'язування з протеїнами, зануреними у бішар.* Як приклади можна навести  $F_1$ -субодиницю  $H^+$ -АТФази, що зв'язується із зануреною у мембрану  $F_0$ -субодиницею (рис. 4. 5), а також деякі протеїни цитоскелету (рис. 4. 6), сукцинатдегідрогеназа.

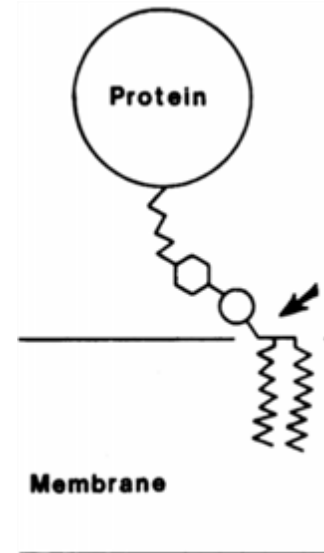


Рис. 4. 5. Схематична будова «якірного» протеїну фосfolіпази С

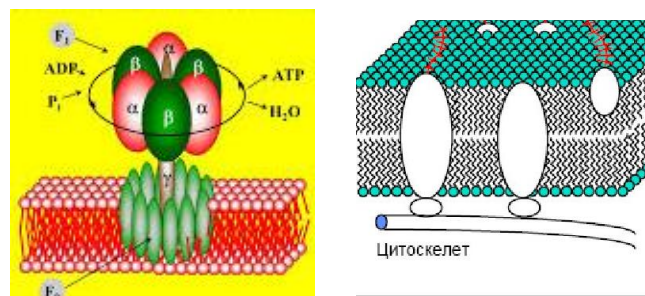


Рис. 4. 6. Зліва: структура  $H^+$ -АТФази – ензиму, що каталізує реакції дефосфорилювання АТФ і вивільнення енергії, яка затрачається на процеси життєдіяльності.  $F_0$ -субодиниця виконує транспортну функцію (забезпечує транспорт протонів  $H^+$  назовні клітини).  $F_1$  – субодиниця забезпечує каталітичну функцію. Справа: протеїни цитоскелету як приклад зв'язування з протеїнами, зануреними у бішар

4. *Зв'язування з поверхнею бішару.* Ця взаємодія має електростатичну природу (наприклад, основний протеїн мієліну) чи гідрофобну (наприклад, поверхневоактивні пептиди й, можливо, фосфоліпази). На поверхні деяких мембранних протеїнів існують гідрофобні домени, що утворюються завдяки особливостям вторинної чи третинної структури. Зазначені поверхневі взаємодії можуть використовуватися як доповнення до інших взаємодій, наприклад, до трансмембранного закорювання.

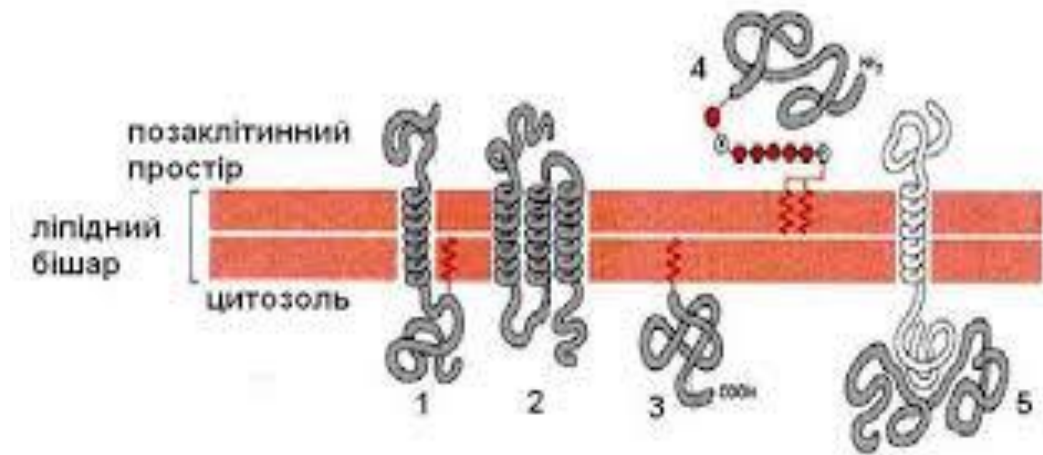


Рис. 4. 7. Способи прикріплення протеїнових молекул до ліпідного бішару: 1-інтегральний монотопний протеїн,  $\alpha$ -спіральний домен якого пронизує мембрану; 2-інтегральний політопний протеїн, що пронизує мембрану кілька разів; 3- «заякорений» протеїн, присднаний до мембрани через жирну кислоту; 4,5-периферичні протеїни, які не мають гідрофобних ділянок, а містять заряджені частини, що взаємодіють з фосфатними групами фосфоліпідів (4) або з іншими протеїнами (5).

**Монотопні протеїни** – протеїни, які мають одну трансмембранну ділянку. Більшість з них є рецепторами, які зовнішньоклітинним доменом розпізнають зовнішньоклітинний сигнал, трансмембранним доменом вбудовані у ліпідний бішар мембрани, внутрішньоклітинний же домен містить каталітичний або «активуючий» центр.

Трансмембранні протеїни, які мають більше, ніж одну трансмембранну ділянку, тобто більше одного разу перетинають ліпідний бішар, називаються **політопними**. Переважна кількість їх належить до групи рецепторів, які активують каскад хімічних реакцій, що забезпечують передачу зовнішньоклітинного сигналу у середину клітини.

Особливо цікавлять дослідників інтегральні протеїни мембран. Вони виконують важливі функції, пов'язані з метаболізмом клітини (йонні насоси, натрієві канали та аденілатциклаза).

### Класифікація протеїнів мембран, залежно від виконуваної ними функції

Функції	Мембранні протеїни
Каталізатори метаболізму	Ензими: оксидоредуктази, трансферази, ізомерази, лігази, ліази Переносники електронів (цитохроми)
Транспорт	Канальні протеїни, порини, селективні фільтри, механізми активного транспорту (насоси)
Рецепція і передача інформації	Рецептори, антитіла
Збереження структури	Колаген

Отже, біомембрана – складний надмолекулярний комплекс протеїнів і полярних ліпідів, що має гетерогенну структурну організацію, яку зумовлено різноманіттям складових компонентів мембрани та утворенням комплексів між ними.

#### 4. 3. Маркерні ензими мембран

Кожна з біологічних мембран клітини має властиві тільки їй ензими – маркерні ензими, що зумовлено функцією структури, яку вона утворює. Такі мембранозв'язані ензими специфічні для даного виду мембран, вони стабільні й мають високу активність, яку можна виміряти. До маркерних ензимів належать, наприклад:

- маркери плазматичних мембран: аденілатциклаза, 5'-нуклеотидаза,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -аденозинтрифосфатаза),  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФаза ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ - аденозинтрифосфатаза);

- маркер ендоплазматичного ретикулуму –  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза ( $\text{Ca}^{2+}$ -аденозинтрифосфатаза);

- внутрішні маркери мітохондріальної мембрани:  $\text{H}^+$ -АТФаза ( $\text{H}^+$ -аденозинтрифосфатаза), цитохромоксидаза, сукцинатдегідрогеназа, НАДН-дегідрогеназа;

- маркер лізосом – кисла фосфатаза.

Ці ензими називають векторними, оскільки вони взаємодіють із субстратом на одній поверхні мембрани, а виділяють продукт на іншій, тобто надають мембранній організації векторний характер. Переважно вони є інтегральними протеїнами, міцно зв'язаними з мембраною.

**Маркерні ензими біомембран**

Структура	Маркерний ензим	Номер за КФ
ЦПМ	Аденілатциклаза,	4.6.1
	Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> -АТФаза,	3.6.1.37
	5'-нуклеотидаза,	3.1.3.5
	Лейцинамінопептидаза,	3.4.11.1
	Глутамілтранспептидаза	2.3.2.12
ЕПС	Глюкозо-6-фосфатаза	3.1.3.9
	Ca <sup>2+</sup> -АТФаза, НАДФН-цитохром с-редуктаза	1.6.2.4
Апарат Гольджі	Галактозилтрансфераза	2.4.1.38
	Сіалілтрансфераза	2.4.99.1
	НАДФН-фосфатаза	3.6.1.22
Мітохондрії	внутрішня мембрана: Сукцинатдегідрогеназа	1.3.99.1
	Цитохромоксидаза;	1.9.3.1
	зовнішня мембрана: моноамінооксидаза	1.4.3.4
Лізосоми	Кисла фосфатаза	3.1.3.2
	β-глюкуронідаза	3.2.1.31
	Арилсульфатаза	3.1.6.1
Пероксисоми	Каталаза	1.11.1.6
	Карнітинпальмітоїлтрансфераза	2.3.1.21
Цитозоль	Лактатдегідрогеназа	1.1.1.22

**4. 4. Трансмембранний транспорт речовин**

**Біологічна мембрана є динамічною за рахунок мембранозв'язаних ензимів, оскільки:**

- активні центри трансмембранних ензимів, що каталізують спряжені реакції на протилежних поверхнях мембрани, беруть участь у генеруванні трансмембранного електричного потенціалу;
- трансмембранними протеїнами є рецептори. Зв'язування ліганду (наприклад, гормону) з доменом, який локалізований із зовнішньої поверхні клітинної мембрани, приводить до змін у цитоплазматичному домені ензиму, який, у свою чергу, ініціює клітинну відповідь. У цьому випадку через мембрану переноситься інформація, а не заряди або певні розчинені молекули;
- трансмембранні ензими забезпечують активний (спряжений з гідролізом АТФ) та пасивний транспорт речовин;
- протеїни є компонентами електронотранспортних ланцюгів, наприклад, компоненти дихального ланцюга мітохондрій.

Транспорт речовин через ЦПМ може здійснюватися шляхом *пасивного транспорту* (простої дифузії або дифузії полегшеної за участю мембранних протеїнів-переносників або специфічних

каналотворювальних протеїнів). Пасивний транспорт здійснюється за градієнтом концентрації речовини, що транспортується, і без витрати енергії. **Активний транспорт** відбувається за участі спеціалізованих протеїнів-транслоказ, які забезпечують перенесення речовини проти градієнту її концентрації із витратою енергії.

#### 4. 4. 1. Пасивний транспорт.

Теоретично будь-яка молекула за достатньо тривалий час здатна перетнути позбавлений протеїнів ліпідний бішар за рахунок дифузії за градієнтом концентрації. Чим меншою є молекула, чим менше у ній водневих зв'язків, тим швидше вона дифундує через бішар мембрани. Клітинні мембрани здатні пропускати воду й малі неполярні молекули за рахунок простої фізичної дифузії.

Заряджені молекули (незалежно від їхнього розміру) не подолають бішар мембрани.

Розрізняють просту й полегшену дифузію. У випадку **простої дифузії** речовина безпосередньо дифундує через мембрану з компартмента з більшою її концентрацією у компартмент з меншою. Дифундувати таким чином здатні низькомолекулярні гідрофобні органічні сполуки (жирні кислоти, сечовина), а також невеликі нейтральні молекули (вода, Оксиген, вуглекислий газ тощо).

Гідрофільні молекули, такі як глюкоза та амінокислоти або йони не розчиняються у ліпідному шарі, тому транспортуються шляхом **полегшеної дифузії** за участю спеціальних протеїнових систем транспорту. Вони є у біологічних мембранах будь-якого типу. Протеїнові системи транспорту специфічні до речовини, яку вони транспортують.

Серед транспортних протеїнів розрізняють: **каналотворювальні протеїни** (порини) та **протеїни-переносники** (транспортери або транслокази), які різняться механізмом перенесення речовин через ліпідний бішар.

Між субодиницями каналотворювальних протеїнів завжди наявний відкритий гідрофільний канал,

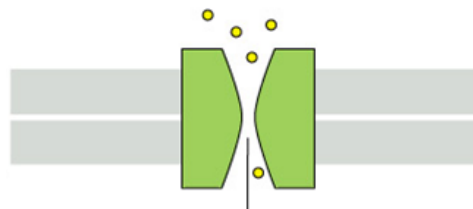


Рис. 4. 8. Механізм роботи аквапори – каналотворювального протеїну. Проникнення речовин за градієнтом концентрації. Канальний протеїн утворює заповнену водою пору, що пронизує бішар, крізь яку можуть дифундувати речовини. Конформаційні зміни канальних протеїнів лише регулюють їхнє відкривання і закривання

доступний лише для речовин певного розміру й заряду. Або канал відкривається лише за умови специфічного зв'язування з одним із його боків специфічного ліганду – речовини, що має транспортуватися.

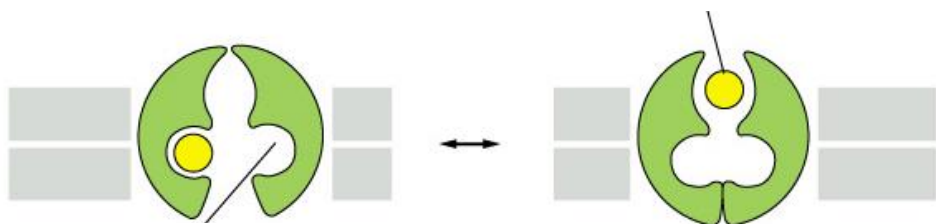
Полегшена дифузія відбувається через каналотворювальні протеїни за градієнтом концентрації (незаряджених сполук), електрохімічним градієнтом (йонів).

Канальні «ворота» відкриваються лише на короткий час і лише у відповідь на специфічні збудження мембрани. Є потенціалзалежними, лігандзалежними, активність може змінюватися під впливом різних факторів, у результаті певних метаболічних реакцій.

**Протеїни-переносники** здійснюють транспорт певного розчинного, специфічно зв'язаного з ними ліганду унаслідок зворотних конформаційних змін, спричинених самим процесом зв'язування ліганду з протеїном-переносником. У результаті таких конформаційних змін розчинений ліганд, що зв'язався з транспортером з одного боку мембрани, вивільняється з іншого. Протеїни-переносники мають специфічність щодо речовини, яку вони переносять, при цьому сам процес перенесення не спричиняє її модифікаційних змін.

Транслокази – інтегральні протеїни. Завдяки інтегральним протеїнам гідрофільні сполуки проходять через мембрану без контакту з гідрофобною середньою частиною бішару ліпідів. Вважають, що транспортери складаються переважно з декількох трансмембранних субодиниць (рис. 4. 6). Каналу не утворюється зовсім, а перенос здійснюється шляхом повороту транслокази (разом зі зв'язаним лігандом) у площині мембрани на  $180^\circ$ . У результаті ліганд, що зв'язався на одному боці мембрани, вивільняється з іншого боку.

Після конформаційних змін протеїна-переносника ліганд вивільняється з іншої сторони мембрани



Зв'язування ліганду з протеїном-переносником

**Рис. 4. 9.** Механізм дії специфічних протеїнів-переносників: протеїн-переносник почергово зазнає 2-ох конформаційних змін і, таким чином, сайт зв'язування почергово опиняється на різних поверхнях бішару



Якщо протеїни-переносники забезпечують перенесення розчинної речовини з одного боку мембрани на інший, таке транспортування називають *уніпортом*. Інші протеїни-переносники працюють як котранспортні системи, у яких перенесення однієї розчинної речовини залежить від одночасного або послідовного перенесення іншої речовини в тому самому напрямку – *симпорт* або у протилежному – *антипорт*.

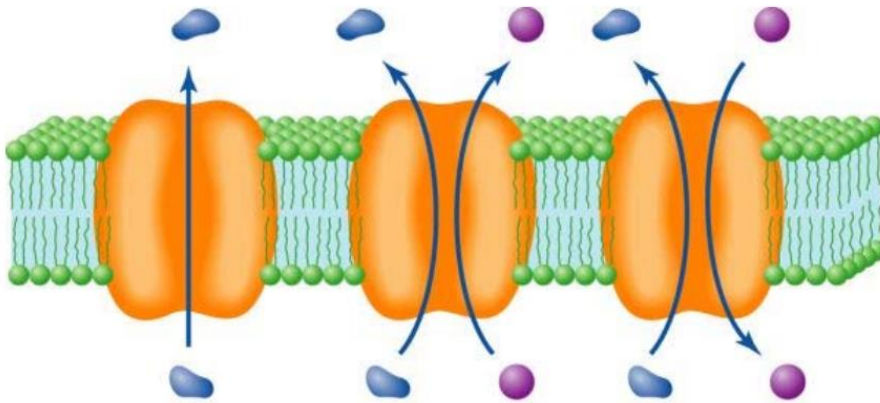


Рис. 4. 10. Транспортні системи: уніпорт, симпорт, антипорт (з ліва на право)

Незалежно від механізму напрямок і швидкість перенесення речовини визначається різницею концентрацій цієї речовини по обидва боки мембрани, а саме перенесення здійснюється за участю спеціальної допоміжної системи протеїнів, *робота якої не вимагає енергетичних затрат*.

Існує група невеликих гідрофобних молекул, розчинних у ліпідних бішарах мембран, здатних підвищувати їхню проникність для йонів. Такі молекули називаються *йонофорами*. Вони синтезуються мікроорганізмами. Йонофором є валіноміцин. Він переносить один йон  $K^+$  (за електрохімічним градієнтом), захоплюючи його з одного боку мембрани, дифундуючи з ним через бішар, і вивільнюючи його з іншого боку. Інший йонофор – А23187 – транспортує двовалентні катіони, такі як йони  $Ca^{2+}$  або  $Mg^{2+}$ . Але на відміну від попереднього, він, як правило, діє як йонобмінник – на кожен двовалентний катіон, що вноситься ним у клітину, він видаляє назовні два йони  $H^+$ .

#### 4. 4. 2. Активний транспорт.

На відміну від полегшеної дифузії, до реалізації якої залучені також специфічні протеїни-транспортери, активний транспорт відбувається *проти градієнта концентрації речовини*, що транспортується, *проти електрохімічного градієнта*. Таке перенесення розчинної молекули через мембрану потребує затрати

енергії. Отже, транспортна система має здійснювати і енергетичне забезпечення.

Проблема енергозабезпечення активного транспорту може вирішуватися декількома шляхами. По-перше, спряженням перенесення речовини з реакцією, що забезпечує виділення енергії, наприклад, гідролізом АТФ. При цьому сама транслоказа може мати АТФазу (аденозинтрифосфатазу) активність. Або ж гідроліз АТФ здійснює більш складна послідовність реакцій, спряжених з перенесенням речовини.

Активний транспорт здійснюють протеїнові комплекси, які називають *насосами*, або *помпами*. Протеїнові комплекси, які забезпечують активний транспорт за рахунок гідролізу АТФ – *це ензими АТФази*. Вони містять каталітичну субодиницю, що здійснює гідроліз АТФ, при цьому вивільняється енергія, яка використовується для транспорту йонів крізь біологічні мембрани. Енергія цієї сполуки використовується на перехід ензиму у конформацію, у якій він має низьку спорідненість до йонів, зв'язаних в йонних центрах. При цьому йони вивільняються, а АТФаза повертається у вихідну конформацію.

Відомо чотири типи АТФаз, які функціонують у еукаріотів.

АТФази *E-типу* є транспортерами на клітинній поверхні, які гідролізують низку нуклеозидтрифосфатів. Їх специфічна активність залежить від йонів  $\text{Ca}^{2+}$  або  $\text{Mg}^{2+}$ , для функціонування використовує позаклітинну АТФ;

*F-тип* АТФаз функціонує у мітохондріях та транспортує йони  $\text{H}^+$ , градієнт яких утворюється на внутрішній мембрані мітохондрій завдяки активності дихального ланцюга, забезпечуючи окисне фосфорилування на внутрішньому боці мембрани. Ці АТФази містять обертальний мотор (ротор) у своєму складі. Ротор позначають  $F_0$  (від «Олігоміцин», який блокує транспорт  $\text{H}^+$ ), а каталітичну субодиницю, що забезпечує синтез АТФ, –  $F_1$ . Відповідно, АТФаза F-типу позначається як  $F_0F_1$ -АТФаза (рис. 4. 11.)

АТФ-ази *P-типу*, які ще називають  $E_1$ - $E_2$  АТФази,

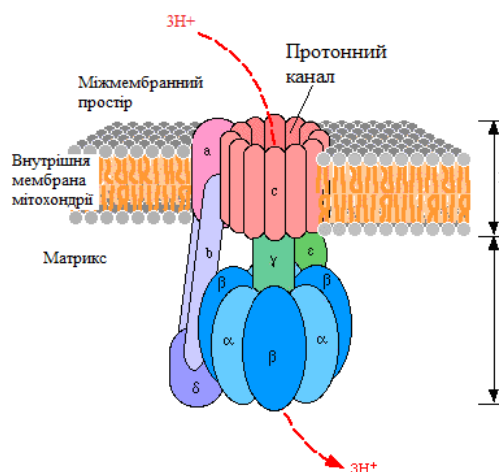


Рис. 4. 11.  $F_0F_1$ -АТФаза

розташовуються переважно у плазматичних мембранах та залучені до транспорту іонів  $H^+$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ag^+$  та  $Zn^{2+}$ ;

АТФази *V-типу* локалізуються у кислих вакуолях (*Vacuoles*) та лізосомах. Вони подібні до АТФаз F-типу – у структурі є роторний мотор. Ці АТФ-ази залучені до вивільнення нейромедіатора, транспорту протеїнів, опосередкованого рецептором ендоцитозу та активного транспорту метаболітів.

У бактерій є також АТФази *A-типу* (*Archaeal*), які функціонують подібно до насосів F-типу.

У розв'язанні проблеми енергозабезпечення активного транспорту через мембрану можна вважати *спряжене перенесення* певної речовини X (проти градієнта концентрації) з пасивним перенесенням іншої речовини Y (за градієнтом її концентрації).

У цьому випадку вивільнення енергії під час переміщення речовини Y повинно переважати затрати енергії на переміщення речовини X. Такий підхід може реалізуватися наступними шляхами.

Шляхом симпорту: обидві речовини переносяться транслоказаю в один бік. Молекули Y дифундують (полегшена дифузія) за градієнтом своєї концентрації й «тягнуть» за собою сполуку X. Прикладам такої транспортної «співдружності» може бути реабсорбція глюкози у каналцях нирок, яка проникає в епітеліальну клітину шляхом симпорту з йонами Натрію. При цьому на перенесення глюкози проти градієнта концентрації витрачається енергія, що генерується при перенесенні Натрію за градієнтом концентрації.

Шляхом антипорту: речовини переносяться транслоказаю у протилежних напрямках (молекула Y обмінюється на молекулу X). Найбільш поширена система, де шляхом антипорту відразу обидві речовини переміщуються проти градієнта своєї концентрації є  $Na^+$ ,  $K^+$ -насос, або  $Na^+$ ,  $K^+$ -залежна-АТФаза, яка є у ЦПМ майже усіх клітин. При цьому задіяна АТФаза Р-типу. АТФаза на кожну молекулу АТФ, що зазнає гідролізу усередині клітини, активно перекачує 3 йони  $Na^+$  і 2 йони  $K^+$ . Третя частина усієї енергії, необхідної для життєдіяльності клітини, витрачається на роботу  $Na^+$ ,  $K^+$ -насосу. Важливою є роль насосу у виникненні мембранного потенціалу на ЦПМ.

$Na^+$ ,  $K^+$ -залежна-АТФаза має дві  $\alpha$ - і дві  $\beta$ -субодиниці. Маленький глікозилований  $\beta$ -поліпептид допомагає новосинтезованій  $\alpha$ -субодиниці прийняти правильну конформацію в

ендоплазматичному ретикулумі, але вірогідно, що ця субодина не задіяна у йонному транспорті. Використовуючи енергію АТФ, pompa переносить йони  $\text{Na}^+$  і  $\text{K}^+$  проти градієнту їхньої концентрації: йони  $\text{Na}^+$  – з клітини, а йони  $\text{K}^+$  – у клітину.

Після гідролізу АТФ, утворюється АДФ і вивільняється один залишок фосфатної кислоти. Фосфатна група за присутності трьох йонів  $\text{Na}^+$  переноситься на залишок аспарагінової кислоти у молекулі АТРази.  $\text{Na}^+$ -залежне фосфорилування залишку аспарагінової кислоти у консервативній ділянці Р-домену  $\alpha$ -субодинаці спряжене зі зміною конформації АТРази, що призводить до видалення Натрію з клітини. Тоді насос зв'язує на зовні два йони  $\text{K}^+$ , що стимулює дефосфорилування  $\alpha$ -субодинаці. Насос повертається до вихідної конформації, у результаті чого йони  $\text{K}^+$  вивільняються всередину клітини. Після цього насос може повторювати цикл.

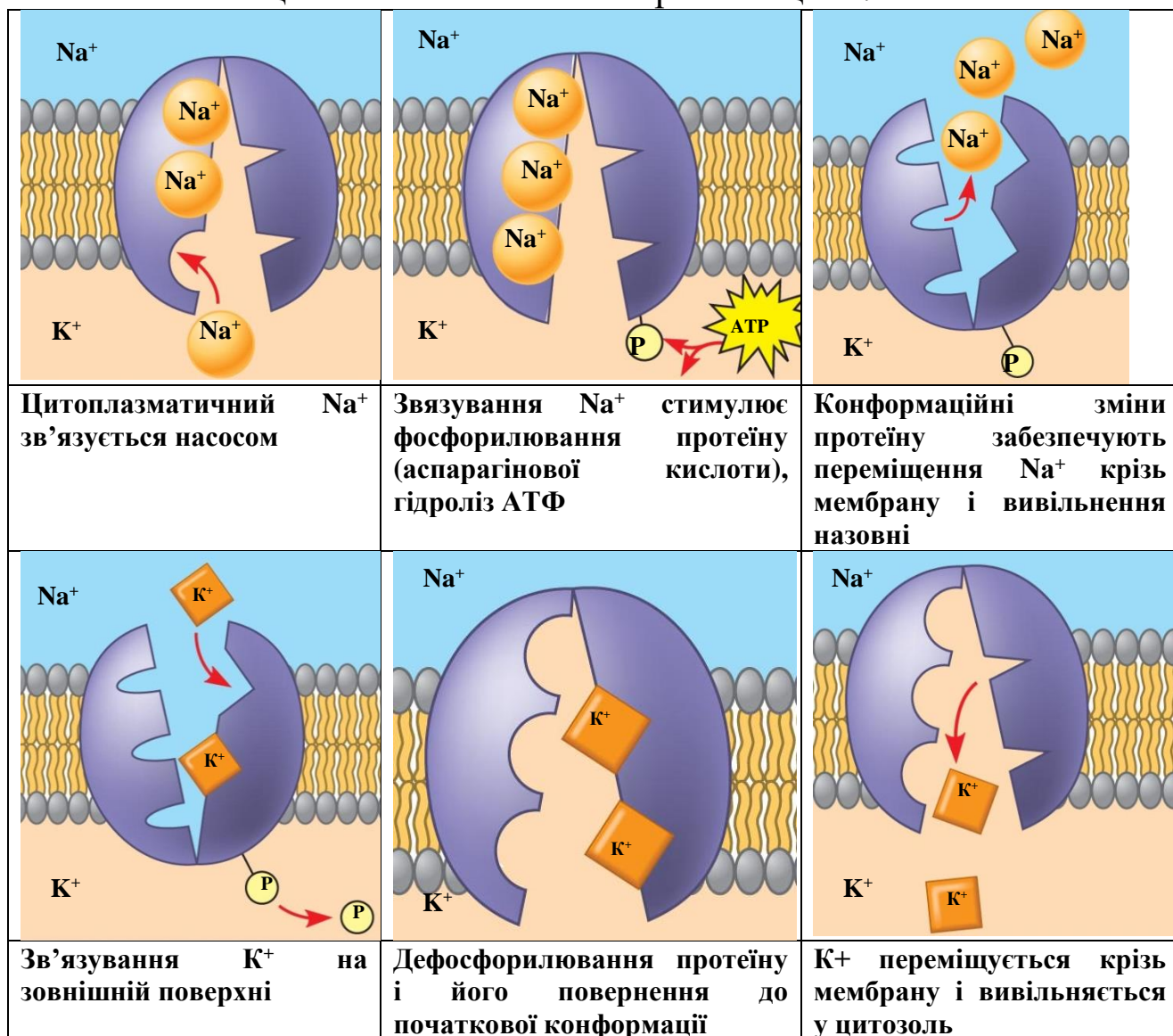


Рис. 4. 12. Послідовність подій за роботи  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -насоу

#### 4. 4. 3. Інші способи активного транспортування речовин.

**Цитоз** – це спосіб трансмембранного перенесення рідини, макромолекул або невеликих часток за участю мембранних везикул.

Розрізняють такі його види:

1) *ендоцитоз* – захоплення речовин із позаклітинного середовища й поглинання їх клітиною (відомо три варіанти ендоцитозу: піноцитоз, фагоцитоз, рецепторно-опосередкований ендоцитоз);

2) *екзоцитоз* – процес, протилежний ендоцитозу, видалення речовин із клітини. У деяких клітинах за участю ЦПМ формуються спеціалізовані клітинні утворення, такі як псевдоподії і мікроборсинки.

#### 4. 5. Міжклітинні взаємодії

Поверхневому апарату клітини, зокрема цукоридним детермінантам її глікокаліксу, належить визначальна роль в утворенні стійких контактів між клітинами. Однією із форм міжклітинних взаємодій є *міжклітинні контакти* (типу клітина-клітина, клітина-матрикс).

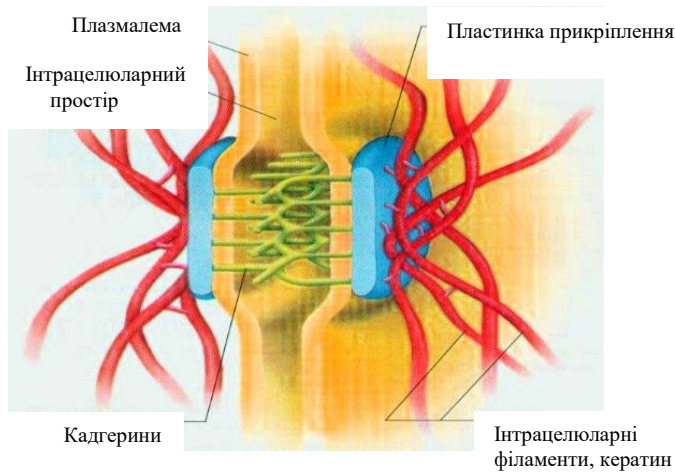
Контакти типу клітина-клітина утворюються між просторово зближеними клітинами, що перебувають у фізичному контакті. Залежно від природи клітин між ними можливі тимчасові контакти, тривала або постійна адгезія або клітини одного типу можуть поєднуватись різними контактами.

Умовно розрізняють три групи міжклітинних контактів:

- адгезивні,
- ізоляційні,
- комунікаційні.

До **адгезивних** належать прості контакти, при яких з'єднання відбувається за допомогою спеціальних протеїнів – *лектинів, кадгеринів і молекул клітинної адгезії, так званих САМ* (від англ. *Cell Adhesia Molecules*). Вони можуть бути зубчастими, пальцеподібними, або утворюватися за типом замка, коли виступ однієї клітини вдається у заглибину сусідньої клітини. Молекули лектинів, зокрема, здатні вибірково «впізнавати» цукоридні детермінанти на поверхні сусідніх клітин і забезпечувати утворення стійких міжклітинних містків. Відстань між ЦПМ суміжних клітин у зоні простого контакту становить близько 10 – 20 нм.

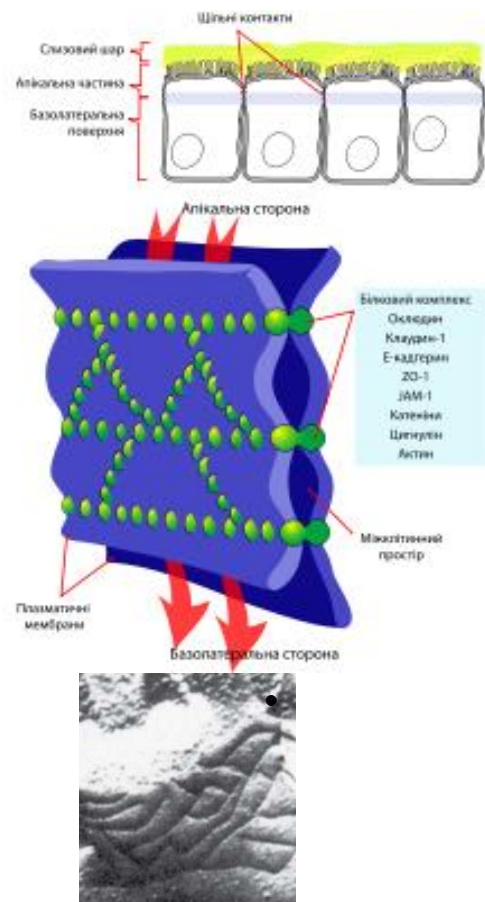
До адгезивних належать *десмосомні контакти* (десмосоми), коли зв'язок між клітинами здійснюється пластинками, з фібрилярними утворами субмембранної системи.



**Рис. 4. 13. Структура десмосоми**

Міжклітинна щілина в ділянці десмосоми заповнена електроннощільною речовиною, у якій розрізняють особливі фібрилярні структури, що стабілізують даний тип контакту. У ділянці десмосомних контактів ширина міжклітинної щілини становить близько 25 – 30 нм, діаметр десмосоми – 0,5 мкм. У місцях контакту епітеліальних клітин з базальною мембраною утворюються структури, які мають назву напівдесмосом (гемідесмосом). Якщо десмосома складається з двох, то напівдесмосома – лише з однієї пластинки прикріплення.

**Ізоляційні контакти** складають щільні замикальні контакти, які відзначаються максимальним зближенням і злиттям між собою ЦПМ, а невеличкий проміжок (шириною 2-3 нм) між клітинами ущільнюється за рахунок фібрил та йонів Кальцію. Кінці інтегральних протеїнів ЦПМ сусідніх клітин, що виступають, взаємодіють між собою. Зовнішні гідрофільні шари і глікокалікс суміжних ЦПМ ніби зливаються при цьому в один суцільний шар



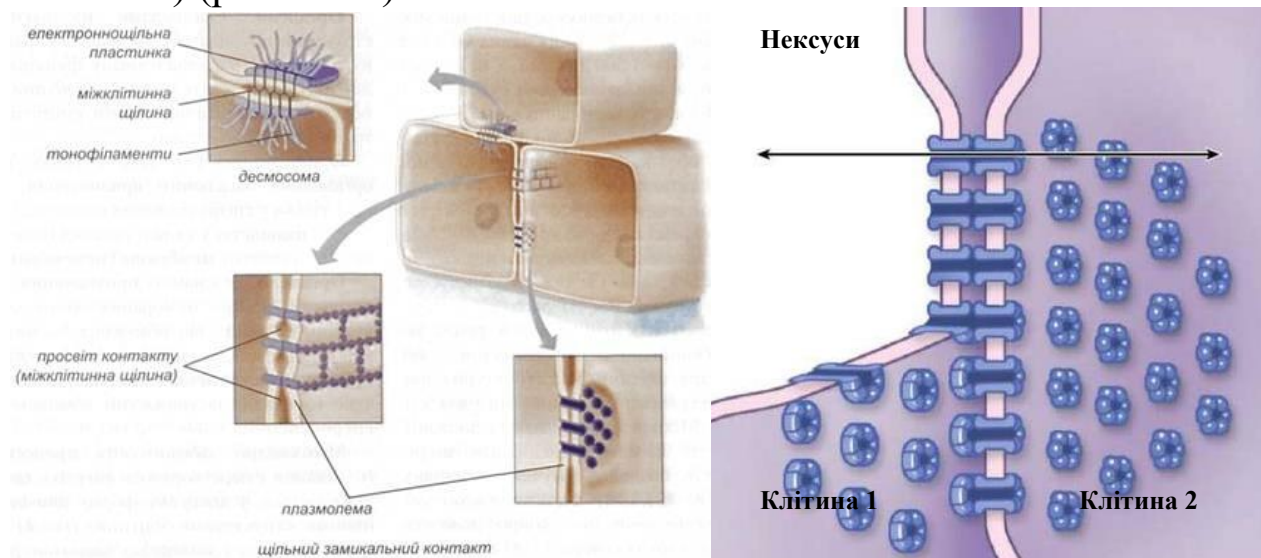
**Рис. 4. 14. Структура щільного контакту (модель – зверху; мікрофотографія електронного мікроскопування – знизу)**

завтовшки 2-3 нм. Через щільний контакт неможливе переміщення речовин з одного боку клітинного шару до іншого.

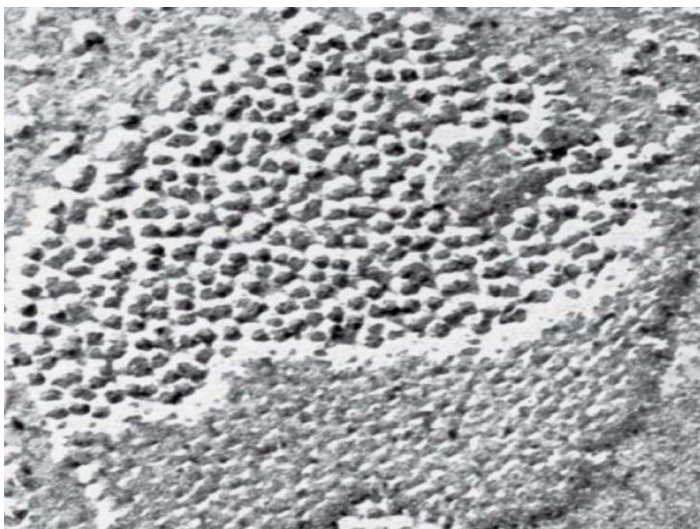
**Комунікаційні контакти (щілинні контакти і синапси).**

**Щілинний контакт (нексус)** здійснюється за допомогою особливих частинок – конексон, які пронизують ЦПМ сусідніх клітин і забезпечують безпосередній хімічний зв'язок між цитоплазмами цих клітин. **Синапси** – це спеціалізовані контакти між нейронами або між нейронами і м'язами.

Щілинні контакти належать до комунікаційних, оскільки дозволяють вільне переміщення йонів і невеликих молекул між суміжними клітинами. У рослин відомий інший тип комунікаційних міжклітинних зв'язків – **плазмодесми** (вузькі цитоплазматичні місточки) (рис. 4. 13).



**Рис. 4. 14. Порівняння різних типів клітинних контактів**



**Рис. 4. 15. Електронна мікроскопія. Нексуси**

**Контрольні питання:**

1. Загальна характеристика біологічних мембран, функції. Відмінність у різних царств організмів.
2. Кількісні характеристики біологічної клітинної мембрани.
3. Основні властивості мембрани.
4. Протеїни мембран.
5. Мембранні ліпіди.
6. Цукориди мембрани.
7. Ензиматична система мембрани, маркерні ензими.
8. Що таке пасивний транспорт? Види пасивного транспорту.
9. Пасивна дифузія речовин через мембрану.
10. Які речовини здатні до пасивного транспорту?
11. Чим відрізняється протеїн-переносник і каналний протеїн?
12. Механізм роботи натрій-калієвої помпи.
13. Порівняння пасивного й активного транспорту.
14. Антипорт.
15. Симпорт.
16. Уніпорт.
17. Міжклітинні контакти.
18. Ендоцитоз.
19. Екзоцитоз.



## РОЗДІЛ 5. ОРГАНОН КЛІТИНИ. ДВОМЕМБРАННІ ОРГАНЕЛИ

### 5.1. Класифікація органел

**Органели** – постійні ультраструктурні компоненти цитоплазми клітини, що забезпечують життєдіяльність та обмін речовин.

**Органела** – метаболічно активний структурний елемент цитоплазми, спеціалізований на виконанні конкретної функції, що необхідна для підтримання життєдіяльності клітини. Наприклад, енергообмін, біосинтетичні процеси, транспорт речовин та інші.

У літературі з цитології використовується поняття **клітинний органон** (від грец. *organon* — зняряддя) на визначення сукупності всіх органел клітини загального значення.

Органели **загального призначення** – органели без яких клітина **Спеціальні органели** – визначають спеціалізацію клітин (м'язевих, нервових).



Рис. 5. 1. Класифікація органел

#### Загальний принцип будови мембранних органел:

- це замкнуті, ізольовані ділянки у гіалоплазмі – компарменти, що мають своє внутрішнє середовище;
- ендомембрани органел за хімічним складом і будовою подібні до цитоплазматичної мембрани.

Особливості ендомембран: товщина біліпідних мембран органел  $\approx 7$  нм, а ЦПМ  $\approx 10$  нм; мембрани відрізняються за кількістю і якістю інтегральних протеїнів.

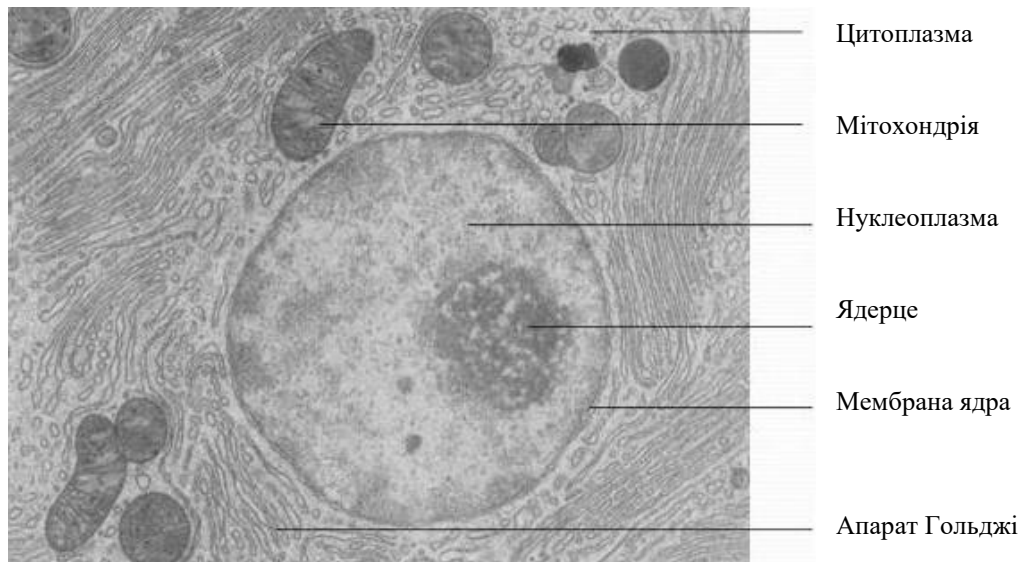


Рис. 5. 2. Мікрофотографія еукаріотичної клітини

## 5. 2. Цитоплазма – локалізація органону клітини

**Цитоплазмою** називають частину клітини, розташовану між ЦПМ та ядром. Цитоплазма клітин різних типів може мати різний об'єм. При цьому у функціонально однорідних клітинах її об'єм, як правило, корелює з об'ємом ядра: при збільшенні об'єму ядра збільшується і об'єм цитоплазми. Співвідношення між об'ємом ядра й об'ємом цитоплазми називають **ядерно-цитоплазматичним співвідношенням (індексом)**.

Цитоплазма є складною системою, компонентами якої є:

- цитозоль;
- цитоскелет;
- органели;

**Цитозоль**, який називають також гіалоплазмою (від гр. *hyalos* речовиною, становить близько 55% від загального об'єму клітини. Він є складною колоїдною системою клітини, її справжнім внутрішнім середовищем.

**Включення** – непостійні утвори, є частинами певної речовини роль їх у клітині пасивна. Вони або служать для забезпечення життєдіяльності клітини, або з'являються у результаті її функціонування. Наприклад, секреторні, екскреторні, трофічні включення.

Включення у цитоплазмі є у вигляді гранул, крапельок чи кристаликів. Немає чіткої класифікації включень. Залежно від природи речовини, яка у них нагромаджується, для зручності вивчення їх традиційно поділяють на такі групи:

**трофічні** – це протеїнові включення. Частіше вони є

компонентом рослинної клітини, наприклад, алейронові зерна у клітинах насіння рослин. Із цукоридних трофічних включень найбільше розповсюдженими є гранули поліцукориду глікогену у печінці. Ліпідні включення мають вигляд крапель, які можуть зливатися у жирових клітинах сполучної тканини;

**пігментні** – це речовини, які мають забарвлення. Це гемоглобін у еритроцитах, гемосидерин – продукт обміну гемоглобіну, який нагромаджується у макрофагах, меланін – чорний пігмент – синтезується і нагромаджується у пігментоцитах шкіри, ліпофусцин («пігмент старіння») збирається у вигляді мембранних гранул у нервових клітинах;

**секреторні** – міхурці, у яких збираються ензими, продукти синтезу залозистих клітин, наприклад, крапельки слини у клітинах слинних залоз, гранули зимогену в клітинах підшлункової залози;

**екскреторні** – шкідливі продукти метаболізму, які потрібно видалити з клітини, наприклад, сечова кислота, жовчні пігменти;

**специфічні** – група включень, які виконують особливу роль у клітинах: вітамін С у сітчастому шарі кори наднирників, кератогіалін – протеїн у зернистому шарі епітелію шкіри, елеїдин – протеїн у блискучому шарі епітелію шкіри;

**неспецифічні** – невластиві живій нормальній клітині (частинки туші при татуюванні, включення вугілля, Ферум оксиду, Силіціуму – у клітинах легень).

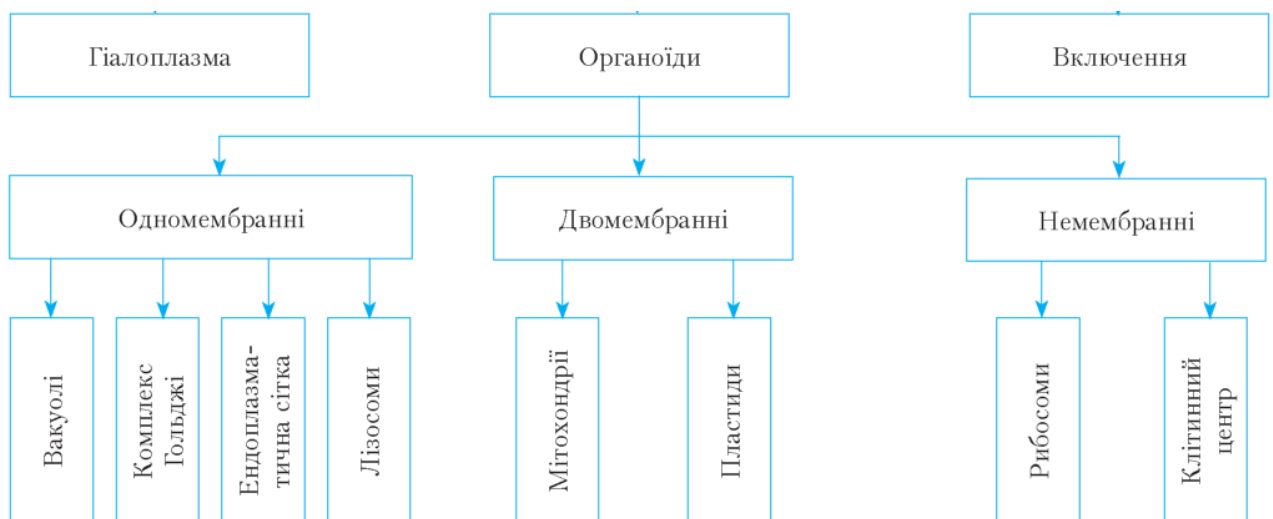


Рис. 5. 3. Склад цитоплазми

В електронному мікроскопі матрикс цитоплазми має вигляд гомогенної або тонкозернистої речовини з низькою електронною щільністю. **Гіалоплазма є складною колоїдною системою**, яку складають різні біополімери: протеїни, нуклеїнові кислоти,

поліцукориди, тощо. Ця система здатна переходити з рідкого стану у гелеподібний і навпаки. В організованій, впорядкованій, багатокomпонентній системі гіалоплазми окремі зони можуть змінювати свій агрегатний стан залежно від умов або функціонування. У гіалоплазмі знаходяться всі будівельні компоненти, необхідні для утворення мембран, мікрофіламентів, мікротрубочок, гранул. До складу цитоплазми входять також нуклеотиди: аденозин- (АТФ), гуанозин- (ГТФ), тимідин- (ТТФ), цитозин- (ЦТФ) і уридин- (УТФ) трифосфати.

До найважливіших ензимів гіалоплазми відносяться ензими метаболізму цукрів (гліколітичні ензими), нітрогенвмісних основ, амінокислот, ліпідів та інших важливих сполук. У гіалоплазмі знаходяться ензими активації амінокислот, транспортні РНК (тРНК). рРНК у цитозолі входить до складу субодиниць рибосом. Найімовірніше, що й тРНК утворює комплекси з протеїнами. Крім ензимів, цитозоль містить протеїни, які зумовлюють процесинг (дозрівання) синтезованих протеїнів, протеїни стресорні, а також шаперони. У гіалоплазмі за участю рибосом і полірибосом (полісом) відбувається синтез протеїнів. У цитозолі на вільних рибосомах або полісомах починається синтез усіх протеїнів клітини. ***Синтез секреторних протеїнів і призначених для позаклітинного матриксу, плазматичної мембрани, елементів вакуолярної системи, починається у цитозолі й завершується на мембранах гранулярної ендоплазматичної сітки. Процес синтезу протеїнів для власних потреб цитозолу (ензимів синтезу й розщеплення амінокислот, нуклеотидів, цукоридів; шаперонів тощо), протеїнів ядра, пероксисом і певної частини мітохондріальних протеїнів повністю відбувається у цитозолі.***

На сьогоднішній день у цитозолі досліджено невеликі кільцеві молекули ДНК, так звані еукаріотичні плазміди. Механізм їхнього утворення та роль досліджується, але незаперечним є той факт, що у великій кількості вони присутні у клітинах злоякісних пухлин, а також у бластомерах на ранніх стадіях ембріогенезу.

Найважливіша функція гіалоплазми – об'єднуюча. Напіврідке середовище об'єднує всі клітинні структури і забезпечує їх хімічну взаємодію. За допомогою гіалоплазми здійснюються внутрішньоклітинні транспортні процеси: перенесення амінокислот, жирних кислот, нуклеотидів, цукрів. У гіалоплазмі відбувається постійний потік йонів до плазматичної

мембрани і від неї до мітохондрій, до ядра і вакуоль. Гіалоплазма є основним вмістилищем і зоною переміщення молекул АТФ. У гіалоплазмі відбувається запасання: глікогену, ліпідних крапель, деяких пігментів.

### **5. 2. 1. Механізми, які забезпечують золь-гель зміни цитозолю.**

Коли цитозоль перебуває у стані гелю, частинки дисперсної фази з'єднані між собою у тривимірну сітку, в основі якої елементи цитоскелету. Дисперсне середовище міститься у порожнинах цієї сітки, таким чином, уся система позбавлена плинності. Коли ж цитозоль перебуває у стані золю, то згадана тривимірна сітка частково руйнується і система в цілому стає більш плинною. Від агрегатного стану цитозолю залежить швидкість біохімічних реакцій. В'язкість цитозолю може змінюватися окремо у різних ділянках клітини.

Золь-гель переходи цитозолю залежать від багатьох факторів: тиску, температури, концентрації деяких йонів (наприклад,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ). Велику роль у таких змінах цитозолю відіграють його протеїни, особливо, актин (протеїн цитоскелету, який входить до складу мікрофіламентів). Його в цитозолі нем'язевих клітин може бути до 10% від загальної кількості протеїнів. Цей глобулярний протеїн може бути у двох формах: глобулярній, фібрилярній (тема 6). До регуляції збирання та розбирання актинових мікрофіламентів залучені цитоплазматичні протеїни. Зокрема, протеїн фібрин стабілізує фібрилярну форму актину, а гелізолін – глобулярну. У процесі переходу цитозолу в стан гелю актин полімеризується й утворює тривимірну сітку фібрил, яка є каркасом гелю, що формується.

Крім полімеризації-деполімеризації актину зміни агрегатного стану цитозолу, ймовірно, залежать і від полімеризації-деполімеризації протеїну тубуліну. Він також існує у вигляді окремих молекул, які при полімеризації утворюють мікротрубочки.

Важливим показником цитозолу є його рН, який у нормі становить близько 6,8. Значення рН у різних ділянках цитозолу визначають уведенням у клітину барвників-індикаторів, які змінюють свій колір залежно від концентрації йонів Гідрогену у середовищі. У цитозолі містяться буферні системи, які підтримують рН. Так, якщо вносити кислоти або луги у

міжклітинне середовище або у клітину, то рН цитозолу спочатку змінюється, але за нормального функціонування клітини, значення рН її цитозолу дуже швидко відновлюється до властивого йому рівня. Підтримка сталого рН є необхідним для нормального перебігу ферментативних реакцій у клітині.

### 5. 3. Енергопродукуюча система клітини

До енергопродукуючої системи клітини належать мітохондрії, хлоропласти.

Без мітохондрій тваринна клітина отримувала б енергію (АТФ) лише завдяки гліколізу. Окиснення глюкози до пірувату енергетично малоефективний спосіб отримання енергії. У мітохондріях піруват і жирні кислоти окиснюються  $O_2$  до  $CO_2$  і  $H_2O$ . На кожну молекулу окисненої глюкози утворюється 36 молекул АТФ.

Хлоропласти теж генерують АТФ, але джерелом енергії для них є сонячне світло. Різниця між цими двома органοїдами досить суттєва, та принципи механізму синтезу АТФ однакові.

Загальний шлях за яким хлоропласти, мітохондрії і бактерії перетворюють енергію базується на хеміосмотичному спряженні. Розпочинається з того, що електрони, «багаті енергією», передаються від сильних донорів по електронотранспортному ланцюгу. Електронотранспортний ланцюг вбудований у внутрішні мембрани мітохондрій, хлоропластів. Під час транспорту по електронотранспортному ланцюгу електрони, які або були збуджені світлом, або є результатом реакцій окиснення поживних речовин, послідовно переходять на нижчі енергетичні рівні. Частина вивільненої енергії використовується для транспортування протонів з одної сторони мембрани на іншу, у результаті чого на мембрані виникає електрохімічний протонний градієнт. За рахунок енергії цього градієнта відбуваються реакції, що каталізуються ензимами, теж вбудованими у ці мембрани.

У мітохондріях і хлоропластах значна частина енергії використовується для фосфорилування АДФ з утворенням АТФ.

У бактерії енергія електрохімічного протонного градієнта використовується для руху джгутиків.

#### 5. 3. 1. Мітохондрії.

Світлооптичний рівень аналізу мікроскопічних препаратів дозволяє лише ідентифікувати мітохондрії, визначити їхню локалізацію та кількість у клітинах. Аналіз же власне структури мітохондрій вимагає застосування електронної мікроскопії.

Кількість, форма, розміри мітохондрій, їхня структура, конформація крист залежать як від типу клітин, так і від їхнього функціонального стану. Так, великі найпростіші містять до 500000 мітохондрій, тоді як у гепатоциті печінки щура може бути до 1000 мітохондрій, а при стимулюванні функціональної активності печінки ця кількість збільшується удвічі.

Розміри мітохондрій хоча й варіюють, однак у більшості клітин товщина цих структур відносно стала (близько 0,5 мкм), а довжина змінюється, досягаючи у деяких організмів десятка мікрометрів. Форма мітохондрій є дуже різноманітною: кулястою, ниткоподібною тощо. Крім того, досить часто мітохондрії галузяться. Необхідно підкреслити, що достовірно оцінювати кількість і розміри мітохондрій у клітині дуже складно. Форма й розміри мітохондрій, їхня структура, особливості будови мітохондріальних крист у клітинах різних тканин і в клітинах одного типу за різних функціональних станів змінюватимуться.

Розміщені мітохондрії у клітинах, як правило, у тих місцях, де виникає особлива потреба в АТФ, наприклад: у скелетних м'язах мітохондрії містяться безпосередньо серед міофібрил, у сперматозоонах і джгутикових найпростіших мітохондрії утворюють скупчення біля основи джгутика – це пов'язано з необхідністю використання АТФ для руху джгутиків і війок.

Мітохондрії здатні до переміщення за допомогою мікротрубочок цитоскелету (швидкість переміщення може бути досить високою – до 0,6 мкм/с).

У прокариотів мітохондрій немає, а вивільнення енергії при окисненні субстратів відбувається на плазматичній мембрані та її структурних утвореннях, або тилакоїдах.

**Ультраструктурні особливості мітохондрій.** Мітохондрія оточена двома мембранами, між якими знаходиться міжмембранний простір. Внутрішній вміст мітохондрії називається *матриksom*.

Зовнішня мітохондріальна мембрана відокремлює мітохондрію від гіалоплазми, її товщина близько 7–10 нм. Вона замкнена сама на себе, оскільки не пов'язана з іншими мембранами клітини, має рівні контури, не утворює складок. Зовнішня мембрана містить багато протеїнів поринів, які утворюють гідрофільні канали, тому вона нагадує сито, проникне для досить великих молекул масою до 10000 Да (йони, амінокислоти, АДФ, АТФ, цукроза, проміжні продукти дихання). Крім того, зовнішня мембрана містить ензими

обміну фосфоліпідів і активації жирних кислот (ацил-СоА-синтетаза), а також моноаміноксидазу.

Внутрішня мітохондріальна мембрана (товщина близько 7 нм) утворює численні вигини – *кристи*, – які збільшують загальну поверхню мембрани. Орієнтація крист щодо довгої осі мітохондрії є різною у різних клітинах.

### Характеристика хімічного складу компонентів мітохондрій:

1. Зовнішня мембрана містить близько 20% мітохондріального протеїну. Містить ензими ліпідного обміну. Має високу проникність для дрібних молекул;

2. Міжмембранний простір (ширина 10 – 20 нм) концентрує йони Гідрогену. Це створює протонний градієнт концентрації з обох сторін внутрішньої мембрани. Енергія цього градієнта використовується для синтезу АТФ і транспорту речовин через внутрішню мембрану;

3. Площа внутрішньої мембрани більша, ніж зовнішньої (іноді в кілька тисяч разів). Має вибірккову проникність. Містить у своєму складі 4 функціонально активних компоненти:

- транспортні системи 3-ох типів: 1) для АТФ, АДФ і фосфату неорганічного; 2) для енергетичних метаболітів (піруват, сукцинат тощо); 3) для неаденозинових фосфатів (ГТФ – гуанозинтрифосфат);
- всі елементи ланцюга переносу електронів;
- сукцинатдегідрогеназу;
- АТФ-синтазу – формує субмітохондріальні частинки у формі білого гриба (4000 на 1 кв. мкм).

4. Мітохондріальний матрикс має дрібнозернисту структуру і містить усі ензими циклу Кребса (крім сукцинатдегідрогенази), ензими окиснювання жирних кислот, гранули з йонами Магнію і Кальцію. У мітохондріальному матриксі зосереджено основні

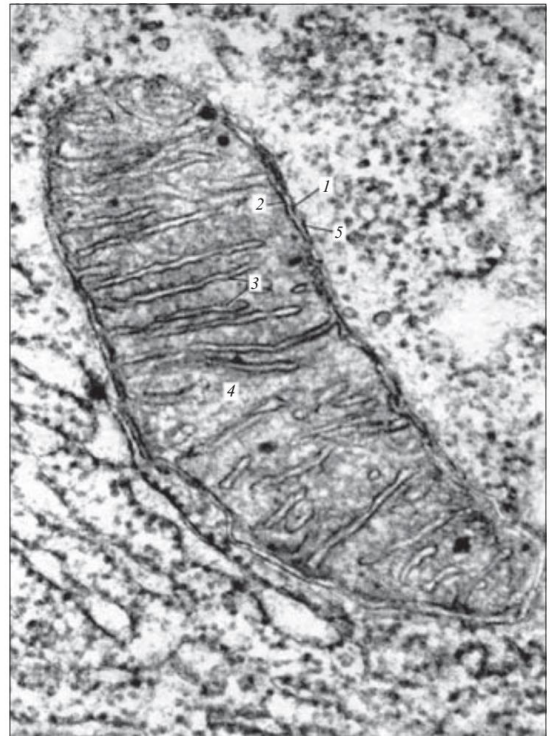


Рис. 5. 4. Електронна мікрофотографія мітохондрії: 1 – зовнішня мітохондріальна мембрана; 2 – внутрішня мітохондріальна мембрана; 3 – кристи; 4 – матрикс; 5 – зовнішня мітохондріальна камера



енергетичні реакції клітини, системи контролю внутрішньоклітинної концентрації йонів Кальцію.

#### **Функції мітохондрій:**

- мітохондрія є своєрідною біохімічною мініфабрикою, яка трансформує (перетворює, а не продукує) енергію органічних сполук;
- мітохондрії постійно рухаються, здійснюючи обертальні рухи, наближаючись до структур, що використовують багато енергії, акумульованої в АТФ;
- електрохімічний потенціал, що виникає у результаті роботи ланцюга переносу електронів, забезпечує транспорт усередину мітохондрії йонів  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ;
- мітохондрії беруть участь у регуляції обміну води, депонуванні йонів Кальцію, продукування попередників стероїдних гормонів.

#### **Особливості мітохондрій:**

- власна мітохондріальна ДНК (мтДНК) – від 1 до 50 невеликих однакових циклічних (кільцевих) молекул. Генетичний код мтДНК, відрізняється від хромосомних ДНК. мтДНК подібна до бактеріальної ДНК;
- мітохондрії можуть використовувати свої власні РНК (усі класи) для синтезу власних протеїнів;
- мітохондрії містять власні рибосоми, що за розміром менші, ніж цитоплазматичні рибосоми і подібні до рибосом бактерій. Дана система синтезу протеїнів (автономного стосовно клітини уцілому) забезпечує утворення приблизно 10 % мітохондріальних протеїнів. Більшість мітохондріальних протеїнів синтезується на рибосомах у цитозолі. Ці протеїни мають спеціальні сигнальні послідовності, які розпізнаються рецепторами на зовнішній мембрані мітохондрій. Вони можуть вбудовуватись у зовнішню мітохондріальну мембрану, після чого переміщуватись на внутрішню. Це перенесення відбувається у точках контакту зовнішньої та внутрішньої мембран. Більшість ліпідів мітохондрій також синтезується у цитоплазмі;
- мітохондріальний геном успадковується від матері;
- мітохондрії живуть декілька днів і розмножуються поперечним діленням або відокремленням, яким передують реплікація ДНК.

### Мітохондріальна ДНК (мтДНК)

не містить гістонів, розміром усередньому 13 – 19 т. п. н. Молекули ДНК пластид і мітохондрій майже не містять некодуючих ділянок. У них зосереджені гени, які продукують речовини, що необхідні для функціонування цих органел. Але не всі гени, продукти яких беруть участь у роботі мітохондрій і пластид, розміщені у позаядерному геномі. Так, мітохондрії людини містять всього 37 генів. Більша частина генів, необхідних для роботи мітохондрій, міститься у ядерній частині геному.



Рис. 5. 5. Мітохондріальна ДНК

Досліджуючи мтДНК, можна робити висновки про генетичні особливості популяції (населення) будь-якої країни. Населення одної країни, усі люди одної нації, в основному, мають подібні мтДНК.

Оскільки успадковується лише материнська мтДНК, мати, передає генетичну інформацію усім нащадкам, а від дочок інформація успадковується наступному поколінню. мтДНК чоловіків не успадковується. Інформація, що зберігається у мтДНК, динамічно змінюється за рахунок накопичення мутацій, що забезпечує її еволюцію. мтДНК не має системи репарації мутацій на відміну від ядерної ДНК. Отже, мутації, що виникли у найпершій людини, можна дослідити й у сучасній людини. У ході еволюції мітохондріальний геном фіксував все більше мутацій, які характеризують умови проживання людини у різних географічних локаціях. Ця особливість мтДНК дозволила ученим реалізувати проєкт походження націй, відслідкувати мітохондріальні геноми людей з найменшою кількістю однотипних мутацій і дізнатись вихідцем якого географічного регіону вони є. Геном з найбільшою кількістю однотипних мутацій – останній, на даний момент, етап еволюції мітохондріальних геномів, вказує на останню географічну локацію популяції. Таким чином, істотно розширено уявлення еволюції людини, її походження і розподіл населення на етнічні групи.

Молекулярно-генетичний аналіз мтДНК допоміг зрозуміти молекулярні аспекти деяких спадкових захворювань і процесів старіння.

#### 5. 3. 2. Пластиди.

**Пластиди** (від грец. *plastos* – утворений, виліплений,

оформлений) – двомембранні органели, характерні для автотрофних еукаріот (рослин). Їхні ознаки: наявність пігментів (хлорофіли, каротиноїди) і здатність синтезувати і накопичувати запасні поживні речовини (крохмаль, ліпіди, протеїни).

**Різновиди пластид.** **Пропластиди** властиві ембріональним клітинам промеристеми і меристеми. За будовою пропластиди нагадують мітохондрії, але відрізняються від них більшими розмірами і паралельним розташуванням внутрішніх мембран. Містять строму і дископодібні грани. Утворюються з недиференційованих зачатків пластид, які можуть інтенсивно ділитися. Спочатку вони круглі, згодом стають овальними. Це безбарвні структури, початкова стадія розвитку усіх типів пластид.

**Етіопласти** – утворюються з пропластид у випадку затримки їх розвитку за відсутності освітлення. Це ламелярні тільця, які містять прохлорофіл. На світлі етіопласти переходять у хлоропласти.

**Лейкопласти** – безбарвні пластиди (грец. *leicos* – білий) клітин більшості рослин. Виникають із пропластид у клітинах підземних органів (корінь, бульби) і у глибше розташованих надземних частинах. Розрізняють: амілопласти, які синтезують і нагромаджують крохмаль; протеїнопласти позбавлені гран, синтезують протеїни і нагромаджують їх у вигляді алейронових зерен (у насінні); олеопласти (від лат. *oleum* – олія), в яких утворюються і запасуються олії (у клітинах насіння конопель, льону, рицини).

**Хромопласти** (грец. *chromos* – забарвлений) пластиди, забарвлені пігментами каротиноїдами (жовтим ксантофілом і червоним колазином). Містяться в коренеплодах моркви, овочах помідорів, пелюстках квітів і пожовклому листі. Форма хромопластів різна: куляста, тригранна, колоподібна, місяцеподібна. Утворюються ці органели з хлоропластів (шляхом руйнування тилакоїдів і хлорофілу й посиленого нагромадження каротиноїдів) або з інших типів пластид. Процеси зміни хлоропластів і їхнє знебарвлення спряжені з поступовим зменшенням кількості мембран у пластиді й зникненням хлорофілу та крохмалю. Таким чином, хромопласти можна вважати дегенеруючою формою пластид, у якій спостерігається ліпофанекроз – розпад ліпопротеїдних комплексів.

**Хлоропласти** (з грец. *chloros* – зелений) містяться у клітинах рослин, які перебувають на світлі: у листі, біля поверхні стебла, у молодих плодах тощо. Ці клітини містять зелені пігменти хлорофіли. У хлоропластах – зелених пластидах відбувається процес

фотосинтезу. Мають вигляд двоопуклої рідше плоскоопуклої лінзи, діаметром 5 – 8 мкм.

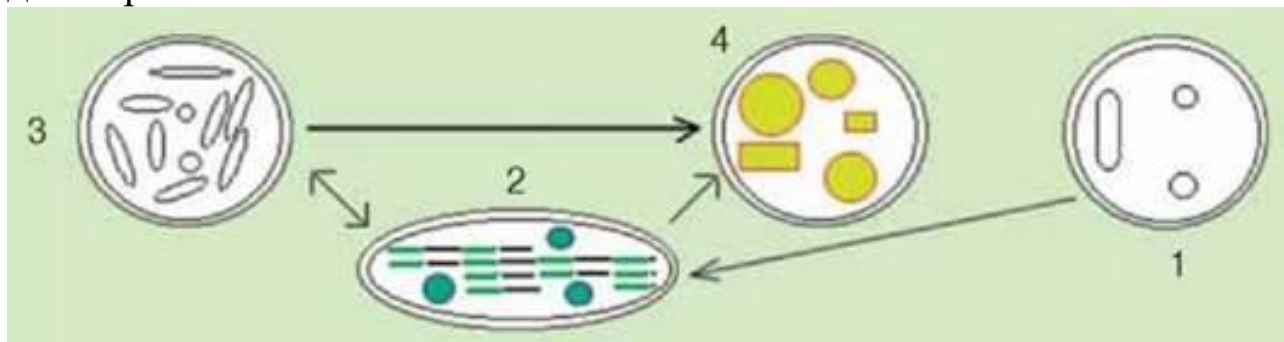


Рис. 5. 6. Схема взаємопереходів одних пластидів в інші: 1 - первинний пластид; 2 - хлоропласт; 3 - лейкопласт; 4 – хромопласт

**Структура хлоропластів.** Як правило, хлоропласти досить численні (десятки й сотні на одну клітину), різної форми, розміром 3 – 10 мкм. У клітинах деяких зелених водоростей зустрічаються поодинокі гігантські хлоропласти (хроматофори), що сягають у довжину 50 мкм.

Хлоропласти, як і мітохондрії, є структурами, які оточені двома мембранами – зовнішньою та внутрішньою, завтовшки близько 7 мкм кожна. Мембрани відділені одна від одної міжмембранним простором, що сягає близько 20 – 30 нм. Зовні хлоропласт оточений гладкою ліпопротеїновою зовнішньою мембраною. Внутрішня мембрана утворює систему паралельних вгинань, містить спеціальні транспортні протеїни. Між вигинами знаходиться строма, у якій містяться **тилакоїди** (від грец. *tylos* – здуття і *eidos* – вигляд) – замкнуті сплюснені мішечки з двох мембран. У вищих рослин частина тилакоїдів має форму дисків, локальні скупчення яких формують **грані** хлоропласта, що з'єднані між собою системою міжгранних тилакоїдів строми. Також у стромі міститься велика кількість ензимів. Крім них, строма хлоропластів містить молекули ДНК, рибосоми; у ній відбувається первинне відкладання основного запасного поліцукориду крохмалю у вигляді крохмальних зерен.

На відміну від мітохондрій, в еукаріотичних клітинах внутрішня мембрана хлоропластів не утворює кристи, на ній нема ланцюга перенесення електронів. Фотосинтезуюча, поглинаюча світло система, електронотransпортний ланцюг і АТФ-синтаза знаходяться у третій мембрані, що формує тилакоїди. Розрізняють тилакоїди строми та тилакоїди гран. Внутрішні порожнини більшості (або навіть усіх) тилакоїдів поєднані між собою, утворюючи третій компартмент хлоропласту – **тилакоїдний простір**.

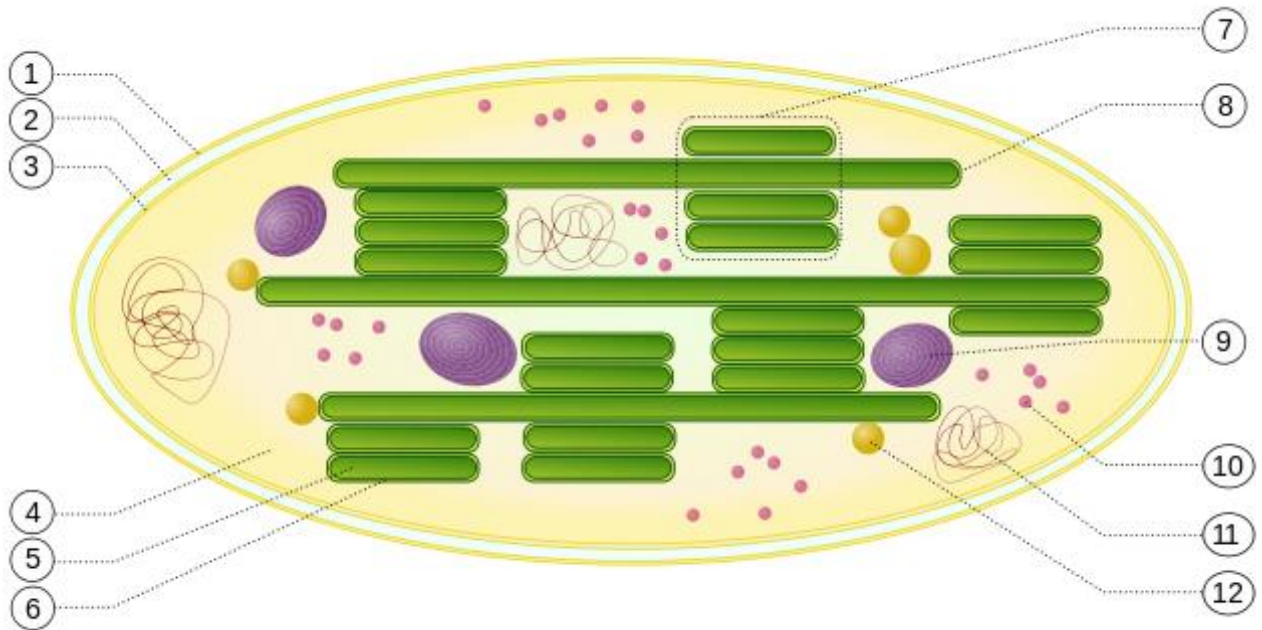


Рис. 5. 7. Ультраструктура хлоропласта: 1 – зовнішня мембрана, 2 – міжмембранний простір, 3 - внутрішня мембрана, 4 – строма, 5 – тилакоїд, 6 – мембрана тилакоїда, 7 – грана, 8 – тилакоїд (ламела), 9 – зерно крохмалю, 10 – рибосома, 11 – пластидна ДНК, 12 – ліпідна краплина.

**Субмікроскопічна будова хлоропласта.** На внутрішній поверхні мембран тилакоїдів гран знаходяться численні грибоподібні утвори – *квантосоми* фотосинтетичного фосфорилування.

На мембранах тилакоїдів відбувається світлова фаза фотосинтезу. Вони містять комплекси пігментів (хлорофіли, каротиноїди), які забезпечують перетворення світлової енергії у хімічну і формують фотосистеми. За хімічною природою хлорофіл – складний естер двоосновної хлорофілової кислоти з двома спиртами (фітолом і метанолом). Розрізняють декілька видів хлорофілу (*a, b, c, d*, бактеріохлорофіл, бактеріовіредин). Крім хлорофілу, у хлоропластах містяться пігменти з групи каротиноїдів, зокрема оранжево-жовтий – каротин, який необхідний для ефективності фотосинтезу. Крім фотосинтетичної системи, на мембранах тилакоїдів локалізуються протеїни ланцюга перенесення електронів.

У стромі хлоропластів відбуваються біохімічні

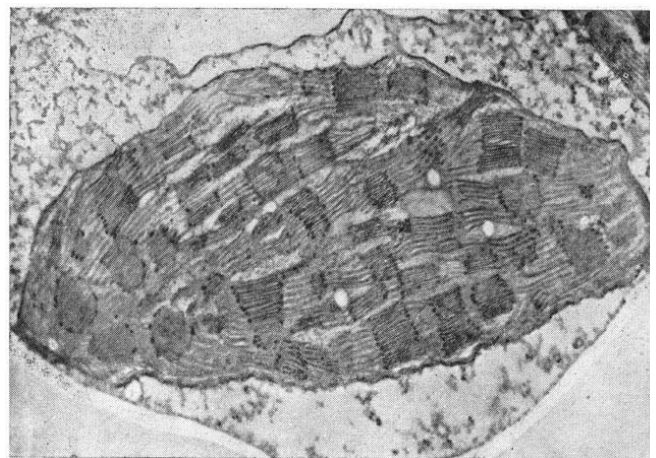


Рис. 5. 8. Хлоропласт. Мікрофотографія електронної мікроскопії

синтези – темнова фаза фотосинтезу, у результаті якої продукується «асиміляційний крохмаль», зерна якого тут і відкладаються прозапас.

**Генетична система пластид:** власні ДНК, РНК і 70S-рибосоми (гомологічні з рибосомами прокариот). У кожному хлоропласті є 3 – 30 ідентичних копій кільцевої ДНК, які більші, ніж мітохондріальні (50 – 150 мкм), вільні від гістонів і негістонових хромосомних протеїнів. ДНК пластид кодують рРНК, тРНК, ДНК- і РНК-полімерази, деякі протеїни рибосом, протеїни АТФ-синтази, цитохроми пластид і більшість ензимів темнових реакцій фотосинтезу. Однак більша частина протеїнів пластид кодується у хромосомах ядра. Тобто, як і у мітохондрій, усі процеси, що відбуваються у хлоропластах, перебувають під чітким контролем ядра.

Розмноження пластид пов'язане з реплікацією їхньої ДНК і наступним діленням органоїда навпіл.

### **Контрольні питання:**

1. Який хімічний склад цитозолю?
2. Назвіть фізико-хімічні властивості цитозолю.
3. Які метаболічні процеси відбуваються у цитозолі?
4. Назвіть функції цитозолю.
5. Типи включень за функціональним призначенням.
6. Охарактеризуйте трофічні включення.
7. Що таке секреторні включення? Наведіть приклади.
8. Які включення можуть виконувати захисну функцію?
9. Яка роль пігментних включень? Наведіть приклади.
10. Ліпідні, протеїнові, цукоридні включення.
11. Охарактеризуйте зовнішню мітохондріальну мембрану. Яка її роль?
12. Мітохондріальний матрикс.
13. Дайте визначення внутрішньої мітохондріальної мембрани. Які процеси відбуваються у ній?
14. Охарактеризуйте протеїн-синтезуючу систему мітохондрій.
15. Про що свідчить наявність великої кількості крист у мітохондріях?
16. Як може змінюватись структура мітохондрій?
17. Охарактеризуйте генетичний апарат мітохондрій.
18. Де синтезуються протеїни для мітохондрій?

19. Функції мітохондрій.
20. Особливості мітохондрій.
21. Хлоропласти. Які процеси здійснюються у стромі хлоропластів?
22. Які процеси відбуваються на мембранах тилакоїдів?
23. Поясніть терміни: тилакоїд, ламела, грани, кристи.
24. Різновиди пластид.

## РОЗДІЛ 6. ОДНОМЕМБРАННІ ОРГАНЕЛИ

Органели, які мають вигляд пухирців, вакуолей, оточених одною мембраною, об'єднують у систему одномембранних органел – *вакуолярну систему клітини*. Це система синтезу, сортування, модифікації, виведення та внутрішньоклітинного транспорту біополімерів (крім нуклеїнових кислот). До вакуолярної системи належать гладенька й гранулярна ендоплазматичні сітки, апарат Гольджі, різні типи лізосом, екзоцитозних міхурців та секреторних гранул. Одномембранними органелами є вакуолі, пероксисоми.

### 6. 1. Ендоплазматична сітка.

*Ендоплазматична сітка* ЕПС (ендоплазматичний ретикулум ЕПР) – це порожниста система у вигляді замкненої сукупності каналців і цистерн, утворених суцільною безперервною мембраною і заповнена матриксом. Діаметр каналців – 50 – 100 нм, цистерн – до 1000 нм і більше. Вони сполучаються між собою. ЕПС відкрито за допомогою електронного мікроскопа у 1945 р. К. Портером. Її немає у сперматозоонів.

Вся ЕПС клітини – один суцільний компартмент. Поокремими частинками ця структура видається лише на зрізі.

Внутрішній простір ЕПС називають порожниною ЕПС, часто займає близько 10 – 16 % загального об'єму клітини. Мембрани ЕПС складають єдине ціле з зовнішньою ядерною мембраною, але не зв'язані з ЦПМ. ЕПС відкривається у перинуклеарний простір – простір між двома мембранами каріолеми – мембрани ядра.

Біохімічний склад мембран ендоплазматичної сітки досліджено шляхом диференціального центрифугування. Встановлено, що сітка містить протеїни і ліпіди, серед яких багато фосфоліпідів, а також ензими: аденозинтрифосфатазу, ензими синтезу мембранних ліпідів.

У світловий мікроскоп ЕПС не видно. При виготовленні мікроскопічних препаратів цитоплазма клітин з добре розвиненою гранулярною ЕПС фарбується основними барвниками за рахунок базofilності гранулярної ЕПС (значна кількість рРНК у рибосомах).

**Формування ЕПС.** Ліпідний компонент мембран органели синтезується ензимами, розташованими у самій сітці, протеїновий – синтезується на рибосомах, що містяться на її мембранах. Гладка ЕПС не має власних факторів для синтезу протеїнів, тому вважається, що ця органела утворюється з гранулярної ЕПС, яка, втрачаючи рибосоми, переходить у агранулярну.



Розрізняють два субкомпартменти ЕПС: *гладеньку* (агранулярну, аЕПС), яку утворюють трубочки (дрібніші цистерни), що анастомозують між собою, і *шорстку* (гранулярну, грЕПС), побудовану з цистерн, також з'єднаних між собою і з рибосомами. Це дві функціонально та морфологічно відмінні частини, які іноді розглядають як дві окремі органели. Деякі автори виділяють ще перехідну, або *транзиторну* (тЕПС) ендоплазматичну сітку, яка знаходиться у ділянці переходу одного різновиду ЕПС в іншу.

Цистерни гладенької та гранулярної сітки безпосередньо сполучаються одна з одною, але мембранні протеїни, які забезпечують функціональні особливості обох видів ЕПС, утримуються у межах субкомпартментів.

### 6. 1. 1. Гранулярна ЕПС.

Гранулярна ЕПС містить рибосоми на поверхні.

Коли ініціюється трансляція протеїнів, рибосоми, які є як окремі субодиниці у цитоплазмі, формують двохсубодиничну структуру. Відбувається процес збирання рибосом.

Синтез протеїнів відбувається як на вільних рибосомах у цитоплазмі, так і на рибосомах, асоційованих з ЕПС. На відміну від вільних рибосом цитозолу, які синтезують, так звані протеїни «домашнього господарства» – протеїни для власних потреб клітини, рибосоми грЕПС синтезують експортні протеїни (зокрема гормони, антитіла), протеїни органел вакуолярної системи та інтегральні протеїни мембран.

Гени «домашнього господарства» розпочинають транслюватися на двохсубодиничних рибосомах у цитозолі. Згодом цей процес припиняється і рибосома разом із іРНК і

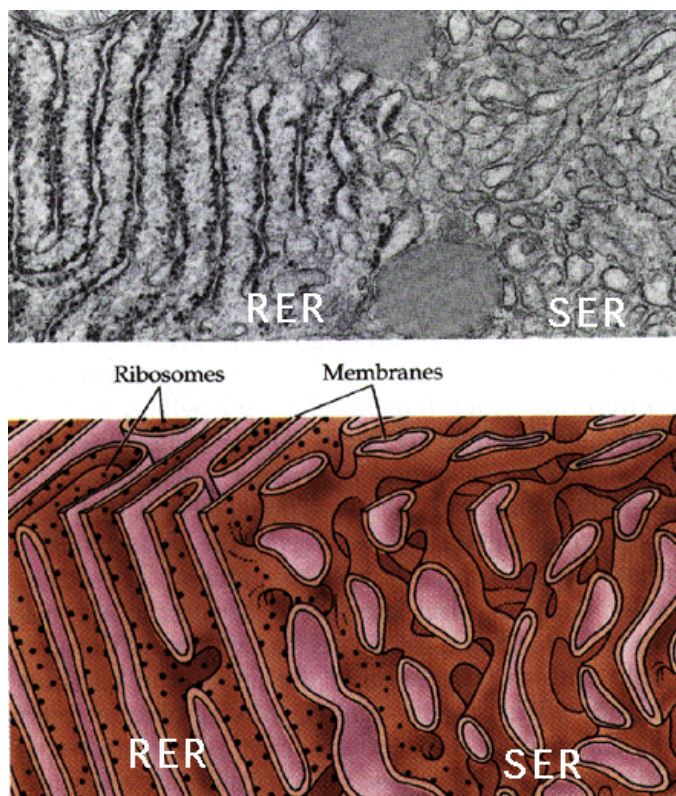


Рис. 6. 2. Електронномікроскопічне (зверху) та схематичне (знизу) зображення гранулярної (RER) та агранулярної (SER) ЕПС із місцем переходу одного виду в інший

новосинтезованим олігопептидом переноситься до цистерни грЕПС, де й продовжує його синтез. Перші пептиди цих протеїнів є **сигнальною послідовністю**, яка пізнається докінг-протеїнами мембрани ЕПС. У цьому місці сигнальна послідовність зв'язується з ЕПС і проникає у середину ЕПС. Всі рибосоми, які містяться на ЕПС у цей час беруть участь у синтезі одного протеїну. Після трансляції рибосома звільняється з ЕПС, трансмембранний канал зникає, сигнальна послідовність відщеплюється від поліпептиду. У матриксі ЕПС відбувається фолдинг (правильне укладання) і модифікація протеїнів.

#### **Функції гранулярної ЕПС:**

- синтез екскреторних протеїнів;
- синтез мембранних протеїнів;
- фолдинг протеїнів за допомогою шаперонів ЕПС – протеїни, які беруть участь у правильному укладанні молекули поліпептидного ланцюга;
- первинна модифікація протеїнів;
- транспорт речовин.

#### **6. 1. 2. Агранулярна ЕПС.**

Гладка ендоплазматична сітка за ультрацентрифугування гомогенату подрібнюється на міхурці, утворюючи фракцію мікросом.

На мембранах агранулярної ЕПС є ензими гідроксилування, тому вона бере участь у синтезі ліпідів, гормонів, цукоридів, знешкодженні отруйних речовин. Слугує внутрішньоклітинним депо (місцем зберігання) йонів Кальцію.

У мембрані глЕПС утворюються майже всі ліпіди, необхідні для будови мембран, зокрема фосфоліпіди й холестерол. Основним фосфоліпідом, який синтезується на глЕПС, є фосфатидилхолін. Деякі молекули ліпідів потребують модифікації, що не відбуваються у глЕПС, проте здійснюються на мітохондріальних мембранах.

Ліпіди формуються на зовнішній поверхні мембрани ЕПС. Перенесення новосинтезованих молекул ліпідів на внутрішній бік мембрани ЕПС має відбуватись завдяки процесу, відомому як фліп-флоп перехід. Цей процес час від часу відбувається у мембрані спонтанно, проте частота подібного спонтанного переходу дуже низька. У мембрані глЕПС цей процес триває зі швидкістю в 100000 разів більшою, ніж можна очікувати при спонтанному перебігу цього процесу. Імовірно, у глЕПС є специфічний транслокатор

фосфоліпідів («ліпаза»), що переносить холіновмісні фосфоліпіди (але не етаноламіно-, серино- чи інозитолвмісні) з однієї поверхні бішару на іншу. Саме цей транслокатор сприяє асиметричному розташуванню фосфоліпідів у бішарі.

Ендоплазматична сітка функціонально пов'язана з комплексом Гольджі. Після синтезу на ЕПС, речовини сортуються у міхурці і транспортуються до апарату Гольджі з метою модифікації, виведення, сортування для транспорту тощо.

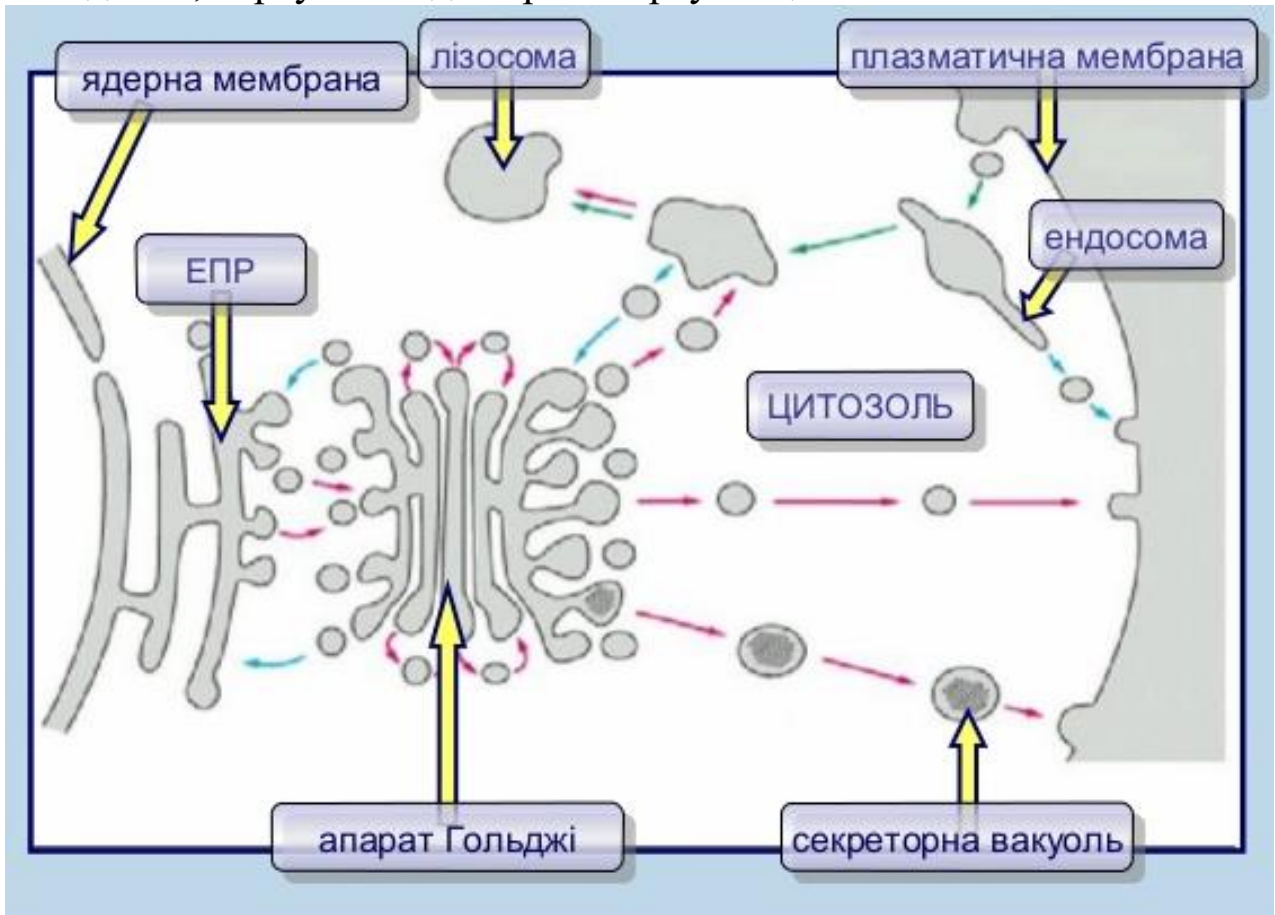


Рис. 6. 3. Зв'язок між ЕПС та апаратом Гольджі

## 6. 2. Апарат Гольджі

**Комплекс, або апарат Гольджі (АГ)** – одна з універсальних органел клітин еукаріотів. АГ розташований біля клітинного центру та ядра. АГ на препараті, пофарбованому сполуками Осмію, можна побачити у світловий мікроскоп. Він утворений стопкою цистерн, проміжки між якими менші за товщину цистерни. *Диктіосома* – це сукупність 5 – 10-ти плоских цистерн розташованих паралельно одна одній, можуть містити міхурці, вакуолі. Містять *проксимальну (цис-)* і *дистальну (транс-) поверхні (полюси)*.

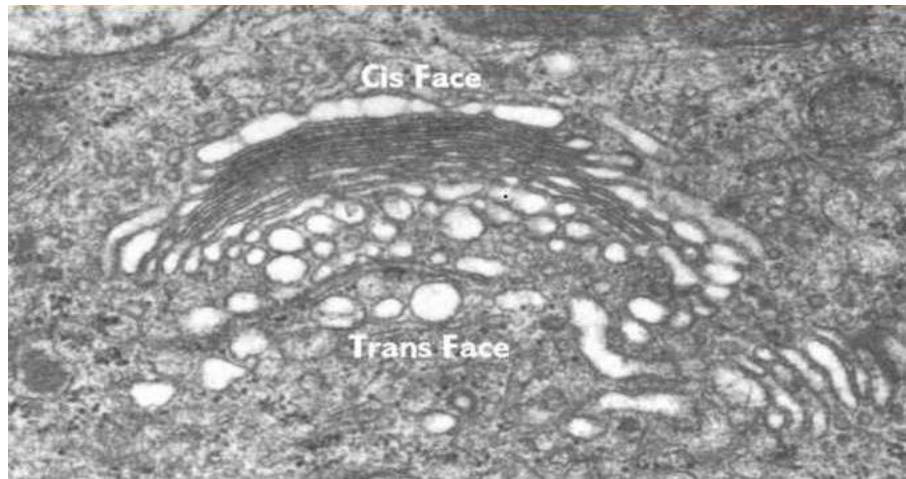


Рис. 6. 4. Мікрофотографія: цис- і транс-поверхні диктіосоми (електронна мікроскопія)

До цис-полюсів кожної із цистерн постійно надходять і зливаються з ними міхурці, які відокремлюються від ЕПС із синтезованими там речовинами. З транс-полюсу цистерн відокремлюються міхурці, наповнені різними речовинами. Один міхурець заповнений одною сполукою. Таким чином, залишаючи АГ, речовини сортуються і транспортуються до відповідного місця призначення у клітині чи експортуються. Транспортування речовин у міхурцях називають *везикулярним транспортом*.

#### Функції комплексу Гольджі:

- модифікація протеїнів, олігоцукоридів (наприклад,– глікозилювання протеїнів, олігоцукоридів, які входять до складу глікопротеїдів; утворення гліколіпідів; глікозилювання та збирання протеогліканів; додавання маннозо-6-фосфату до трансмембранних протеїнів);
- сортування речовин за хімічним складом і призначенням (сегрегація), їх виведення у цитозоль у мембранному міхурці;
- відокремлені міхурці транспортуються за допомогою мікротрубочок до різних частин клітини, де можуть передавати свій вміст іншим органелам або, зливаючись із плазматичною мембраною, видаляють його з клітини (у *кларитиновому міхурці* транспортуються до плазмолемі трансмембранні протеїни);
- утворення лізосом.

#### 6. 3. Лізосоми

*Лізосоми* – субмікроскопічні мембранні органели загального призначення, відкриті у 1955 р. Христіаном де Дювом. Основна функція лізосом – деструкція біополімерів (забезпечують процеси внутрішньоклітинного травлення).

Містять набір гідролітичних ензимів (зараз їх відомо понад 60:

нуклеази, протеази, глікозидази, ліпази, фосфатази, сульфатази, фосфоліпази тощо). Маркерним (визначальним) ензимом лізосом є кисла фосфатаза. Ферментні комплекси матриксу лізосоми знаходяться у замкненому мембранному мішечку діаметром близько 0,2 – 0,4 мкм, який перешкоджає потраплянню лізосомальних ензимів у гіалоплазму і запобігає самоперетравленню клітини. Захист від перетравлення лізосомальними протеазами своїх власних, лізосомальних протеїнів забезпечується високим рівнем глікозильованості останніх. До того ж деякі гідролітичні ензими зв'язані з мембраною лізосоми таким чином, що не можуть досягти своїми активними центрами мембранних протеїнів.

Залежно від ультраструктурних і функціональних особливостей лізосом їх поділяють на:

1. **первинні лізосоми** або гідролазні міхурці (ензими у неактивному стані) вміст гомогенний;
2. **вторинні** або просто лізосоми (активовані ензими):
  - первинна лізосома+фагоцитозний або піноцитозний міхурець (**фаголізосома**). Забезпечує гетерофагоцитоз.
  - первинна лізосома+захоплена органела чи внутріклітинні елементи (**аутолізосоми**). Забезпечує аутофагоцитоз.
3. **третинні**, або залишкові тільця (оточені мембраною нерозщеплені залишки) – телолізосоми.

Недостатність того чи іншого лізосомального ензиму призводить до нагромадження у клітині аномальних біополімерів, що зумовлює розвиток, так званих лізосомальних захворювань нагромадження (тезаурізмозів). До цього часу описано понад 30 різних лізосомальних захворювань нагромадження.

До функцій, пов'язаних з гетерофагічним процесом, відносять участь лізосом у внутрішньоклітинному перетравленні біополімерів, у лізисі мікроорганізмів і вірусів, структур, які втрачають функціональне значення, у тому числі на різних етапах онтогенезу.

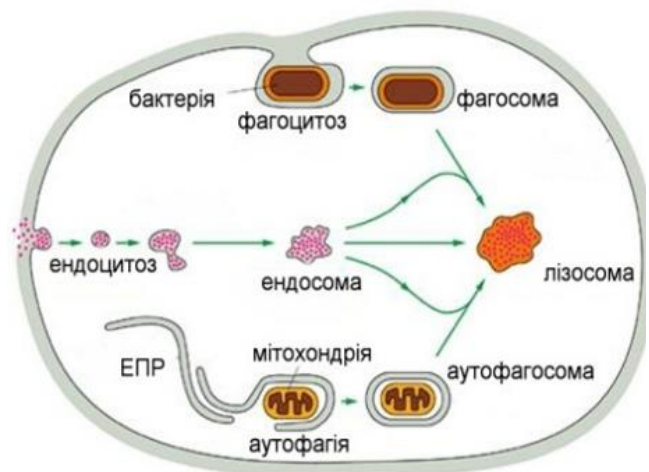


Рис. 6. 5. Схема лізосомального циклу

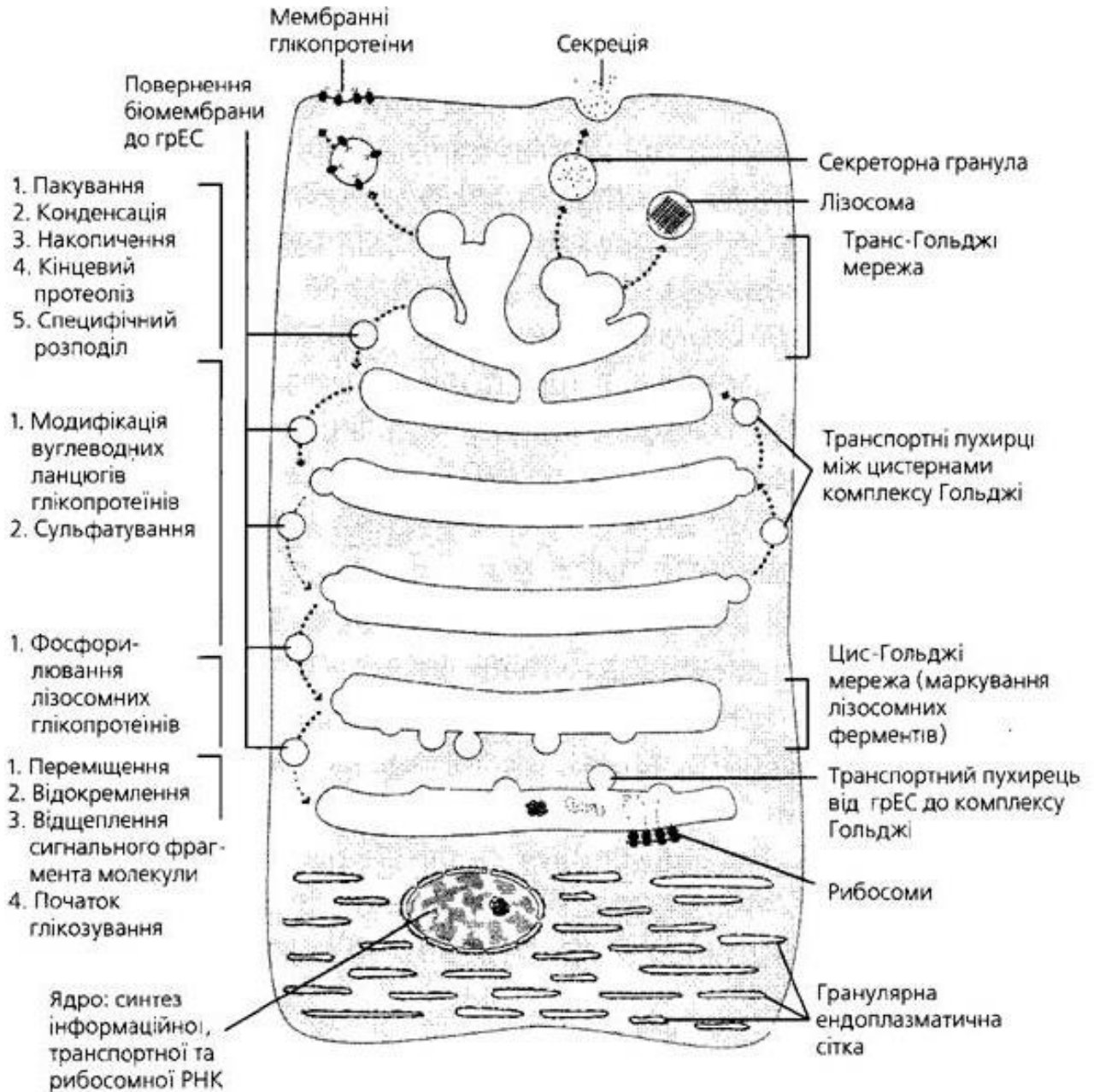


Рис. 6. 6. Функціонування і взаємозв'язок органел вакуолярної системи

### 6. 4. Пероксисоми

#### Пероксисоми

субмікроскопічні мембранні органели загального призначення, відкриті на початку 60-х років. Діаметр близько 0,2 – 0,5 мкм, заповнені ензимами, серед яких маркерним є каталаза. У центрі матриксу пероксисом за допомогою електронного мікроскопа знайдена щільна

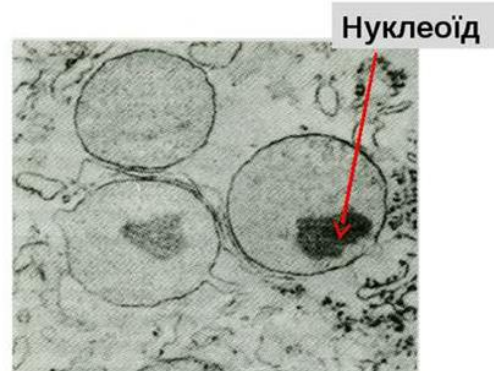


Рис. 6. 7. Кристалічна серцевина – нуклеоїд пероксисом, утворений ензимом уратоксидазою

серцевина (*кристалоїд*), яка містить волокнисті та трубчасті макромолекулярні утвори. Ферментні системи пероксисом спрямовані на утилізацію продуктів пероксидації ліпідів (ліпопероксидів), а також розщеплення Гідрогену пероксиду на воду і молекулярний Оксиген, який може використовуватися у процесах окиснювального фосфорилування у мітохондріях. Також пероксисоми забезпечують окиснення етилового спирту, сечової кислоти, амінокислот, беруть участь у регуляції обміну ліпідів, насамперед поліненасичених жирних кислот.

Різноманітність ензимів пероксисом:

- оксидази;
- пероксидази;
- каталази;
- ензими обміну ліпідів.

Тривалість існування однієї пероксисоми – 5-6 діб. Нові пероксисоми утворюються унаслідок поділу (відшнуровування). Нові ензими надходять у пероксисому унаслідок синтезу рибосомами.

### 6. 5. Вакуолі

*Вакуолі* – органели клітини, які мають вигляд порожнин, оточених мембраною (*тонопластом*) і заповнених рідиною. Розрізняють різні види вакуоль. У тварин є травні вакуолі.

Вакуолі рослинних клітин утворюються з міхурців, які відокремлюються від ендоплазматичної сітки. Згодом дрібні вакуолі зливаються у більші, які у рослин можуть займати майже весь об'єм цитоплазми. Вони заповнені клітинним соком – водним розчином органічних і неорганічних сполук. Вакуолі підтримують певний рівень внутрішньоклітинного тиску (тургору), забезпечуючи збереження форми клітин, містять запасні поживні речовини, кінцеві продукти обміну або пігменти. Червоні, сині, жовті тощо пігменти, розчинені у клітинному соці, зумовлюють забарвлення клітин і частин рослин у цілому (наприклад, плодів вишні, коренеплодів редису, пелюсток квітів тощо). Через мембрани вакуолі речовини переміщуються із цитозолю в їхню порожнину і навпаки.

### 6. 6. Цитоскелет

*Цитоскелет* – це опорно-рухова система клітини. Основними функціями цитоскелету є підтримання форми клітини та забезпечення переміщення як клітини в цілому, так і внутрішньоклітинних компонентів усередині клітини. Цитоскелет складається з трьох

основних компонентів: мікрофіламентів, мікротрубочок і проміжних філаментів.

### 6. 6. 1. Мікрофіламенти.

**Мікрофіламенти** – це довгі нитчасті утворення діаметром приблизно 7 нм. У клітині мікрофіламенти є скрізь у цитоплазмі, але особливо багатий на них кортикальний (периферійний, поверхневий) шар цитоплазми. Складовим компонентом мікрофіламентів є протеїн **актин**. Молекула актину – глобулярний поліпептид, який складається з 375-ти амінокислот. Коли молекули актину формують мікрофіламент, вони об'єднуються одна з одною «голова у хвіст» у волокнисту структуру. Молекули актину упаковані у ній у щільну спіраль, на один виток якої припадає приблизно два мономеру актину. Така будова мікрофіламенту нагадує два взаємно скручені ланцюжки з кроком 37 нм, проте ця подібність помилкова. Процес об'єднання мономерів актину в мікрофіламент називається **полімеризацією актину**. Полімеризується не весь актин, який є у клітині. Певна частина молекул актину завжди перебуває у вільному деполімеризованому стані. Полімеризовану частину актину інколи називають F-актином, або фібрилярним актином, а деполімеризовану (вільну) частину – G-актином, або глобулярним актином.

Два кінці мікрофіламента неоднакові. Розрізняють плюс-кінець («+»-кінець), до якого молекули актину здебільшого приєднуються, і мінус-кінець («-»-кінець), від якого найчастіше від'єднуються. Тому на «+»-кінці йде збирання мікрофіламента, а на «-»-кінці – його розбирання, завдяки чому мікрофіламенти можуть переміщуватись. Це явище називають **тредмілінгом**.

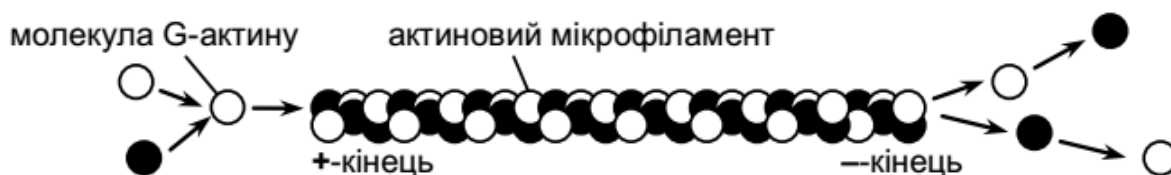


Рис. 6. 9. Схема тредмілінгу

Процес збирання і розбирання мікрофіламентів відбувається безперервно. Це необхідно для постійної перебудови цитоскелету за потреби клітини.

Основними функціями мікрофіламентів є:

- участь у гелі-золь-переходах цитозолі;
- участь у підтриманні форми клітини;
- утворення мікроворсинок;
- участь у формуванні проміжного міжклітинного контакту;



- участь у переміщенні внутрішньоклітинних компонентів;
- формування скоротливого кільця при **цитотомії** (поділі цитоплазми) у ході мітозу тваринної клітини;
- забезпечення скорочення м'язевих клітин.

### 6. 6. 2. Мікротрубочки.

**Мікротрубочки** є ще одним компонентом цитоскелету. Це довгі трубчасті утворення діаметром приблизно 25 нм. У цитоплазмі інтерфазної клітини мікротрубочки, як правило, радіально розходяться від клітинного центру, розміщеного поблизу ядра. Деяка кількість мікротрубочок не зв'язана з клітинним центром і лежить вільно у цитоплазмі. Мікротрубочки складаються з протеїну тубуліну. Мікротрубочки мають подібну будову до мікрофіламентів і здатні до тредмілінгу.

До «+»-кінця молекули тубуліну в основному приєднуються, а від «-»-кінця в основному від'єднуються.



Рис. 6. 10. Схема будови мікротрубочки

**Основними функціями мікротрубочок є:**

- участь у гелі-золь-переходах цитозолю;
- участь у підтриманні форми клітини;
- участь у переміщенні внутрішньоклітинних компонентів:
  - а) за рахунок збирання-розбирання (тредмілінгу);
  - б) за рахунок транспортування по них, як по рейках;



Рис. 6. 11. Тредмілінг мікротрубочок відбувається за кілька хвилин

- закріплення органел та інших внутрішньоклітинних структур у певних місцях клітини;
- участь в утворенні центріоль;
- утворення війок та джгутиків;
- утворення веретена поділу під час мітозу.

### 6. 6. 3. Проміжні філаменти

**Проміжні філаменти** є третім компонентом цитоскелету. Це довгі нитчасті утворення діаметром близько 10-ти нм, які у різних напрямках пронизують цитоплазму. Можуть формувати термінальну сітку по периферії клітини й «корзинку» навколо ядра. Крім того, проміжні філаменти формують ядерну ламіну, яка підтримує цілісність і форму ядра, служить для прикріплення хромосом до поверхневого апарату ядра.

Проміжні філаменти у клітинах різних тканин тваринного організму складаються з різних протеїнів (кератину, віментину, десміну). Усі ці протеїни, на відміну від актину й тубуліну, мають не глобулярну, а фібрилярну будову. У клітинах рослин проміжні філаменти не виявлено. Проміжні філаменти не зазнають постійного збирання-розбирання.

Проміжні філаменти є найстабільнішими компонентами цитоскелету. Саме тому основною функцією проміжних філаментів є механічна, каркасна функція.

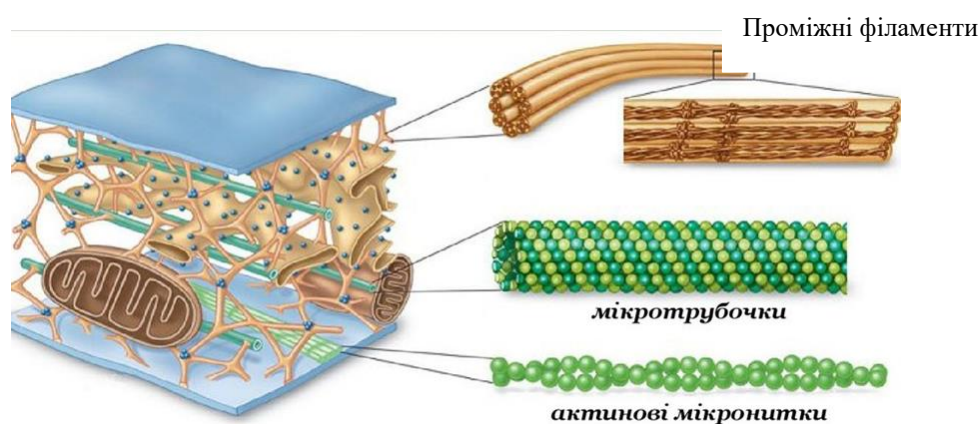


Рис. 6. 12. Порівняння елементів цитоскелету

### Контрольні питання:

1. Дайте порівняльну характеристику гладенької та гранулярної ендоплазматичної сітки.
2. Чим відрізняється синтез протеїнів «на експорт» від синтезу трансмембранних протеїнів ЦПМ?

3. Як відбувається фіксація рибосом на ендоплазматичній сітці?
4. Синтез яких речовин активується у клітині при збільшенні кількості мембран гладенької ендоплазматичної сітки? Відповідь обґрунтуйте.
5. Які види ендоплазматичної сітки Ви знаєте? Які їхні функції?
6. Що таке проміжний ретикулум (проміжна ендоплазматична сітка)?
7. В яких органелах клітини відбувається синтез мембранних протеїнів?
8. Які посттрансляційні модифікації протеїнів відбуваються у гранулярній ендоплазматичній сітці?
9. Які сучасні уявлення про механізм транспорту поліпептидного ланцюга через мембрану гранулярної ендоплазматичної сітки?
10. Що таке цис- та транс-полюси апарату Гольджі? Яка між ними різниця?
11. Будова диктіосоми апарату Гольджі.
12. Які функції виконує комплекс Гольджі?
13. Опишіть механізм сортування у апараті Гольджі.
14. Яка роль клатринових міхурців?
15. Як утворюються аутофагосоми? Яку функцію вони виконують?
16. Класифікація лізосом.
17. Чим відрізняються лізосоми різних типів?
18. Які функції виконують пероксисоми?
19. Як можна на електронограмі відрізнити пероксисоми від лізосом у клітині?
20. Цитоскелет.

## РОЗДІЛ 7. СТРУКТУРИНІ ЗМІНИ ЯДРА У ЖИТТЄВОМУ ЦИКЛІ КЛІТИНИ

### 8. 1. Структура ядра

**Ядро** – обов’язковий компонент еукаріотичної клітини, у якому зберігається основний обсяг генетичної інформації, здійснюються початкові етапи її реалізації.

Форма ядра зазвичай корелює з формою клітини – у кулястих чи близьких до таких клітинах ядра звичайно сферичні – лімфоцити, мультиполярні нейрони; у клітинах, витягнутих уздовж однієї осі (циліндричних чи призматичних) ядра нерідко мають форму еліпсоїда – міоцити, призматичний епітелій. Форма ядра варіює залежно від функціонального стану клітини, часто є вгинання і вирости ядерної мембрани, що сприяють посиленню зв’язку ядерних і цитоплазматичних структур. Розміри ядра також можуть змінюватися на різних етапах функціонування клітини.

Ядро досить складно організоване. Відомо, що під час мітозу, мейозу ядерна мембрана розбирається і збирається за участі ядерних протеїнових фібрил. Тому варто виокремити поняття «*інтерфазне ядро*». Власне, під час інтерфази у ядрі відбуваються основні процеси, за які ця органела відповідає, водночас, – це процеси, які є основою життєдіяльності клітини:

- збереження генетичної інформації, її відтворення у поколіннях;
- переписування генетичної інформації на РНК – початкові етапи реалізації генетичної інформації;
- участь у розподілі генетичного матеріалу дочірнім клітинам при діленні клітини;
- синтез гістонів – ядерних протеїнів, завдяки яким компактно й швидко упаковується ДНК у клітину;
- синтез усіх РНК і дозрівання (процесинг) рРНК, тРНК;
- утворення рибосом.

Продукти генів ядерної ДНК забезпечують усі функціональні процеси клітини, формують ознаки фенотипу. Цікаво, що більшість процесів, які відбуваються у ядрі, регулюються компонентами ядра (доступність хроматину транскрипції, синтез рибосом, дозрівання рРНК).

Ядро певного об’єму може ефективно «обслуговувати» цитоплазму обмеженого об’єму. Від ядерно-цитоплазматичного співвідношення залежить інтенсивність синтетичних процесів у ядрі.

В інтерфазному ядрі розрізняють:

- ядерну мембрану (нуклеолему, каріотеку);
- ядерний матрикс;
- ядерце;
- хроматин (матеріал хромосом).

**Хімічний склад.** У ядрі ядерних протеїнів від загального вмісту сполук – 50 – 90 %, ДНК – 5 – 40 %, РНК – 3 – 20 % невелика кількість ліпідів. Серед протеїнів досліджено гістонові та негістонові (тема 8).

Ядро клітини оточене подвійною **ядерною мембраною**. Зовнішня мембрана є частиною ендоплазматичного ретикулуму, а перинуклеарний простір (простір між зовнішньою і внутрішньою мембранами ядра) сполучений з порожниною ЕПС (рис. 7.1). Внутрішня ядерна мембрана пов'язана з **ядерною пластинкою (ламіною)**, до якої кріпляться кінці всіх хромосом у чітко визначених місцях (рис. 7. 3)

Головною функцією ядерної мембрани є відносна ізоляція центральних генетичних процесів – реплікації ДНК і синтезу РНК – від цитоплазми. Подібний розподіл спричинив виникнення у еукаріотів процесингу РНК.

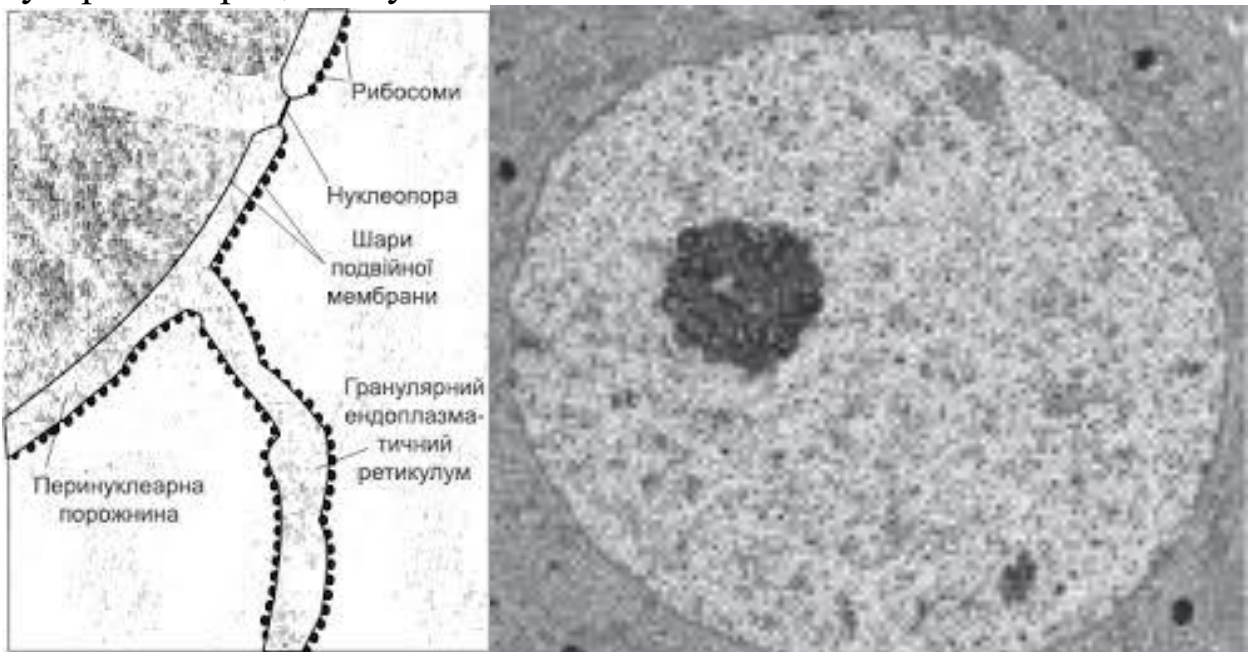
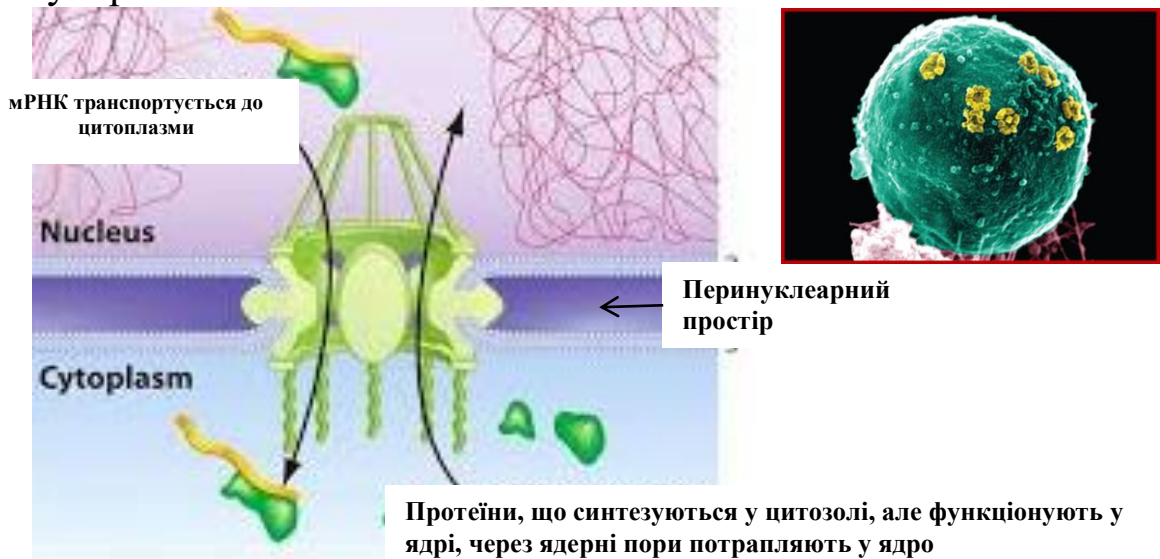


Рис. 7. 1. Мікрофотографія (електронна мікроскопія): з ліва – структура каріолеми, функціональна взаємодія з ЕПС, справа – анатомія ядра

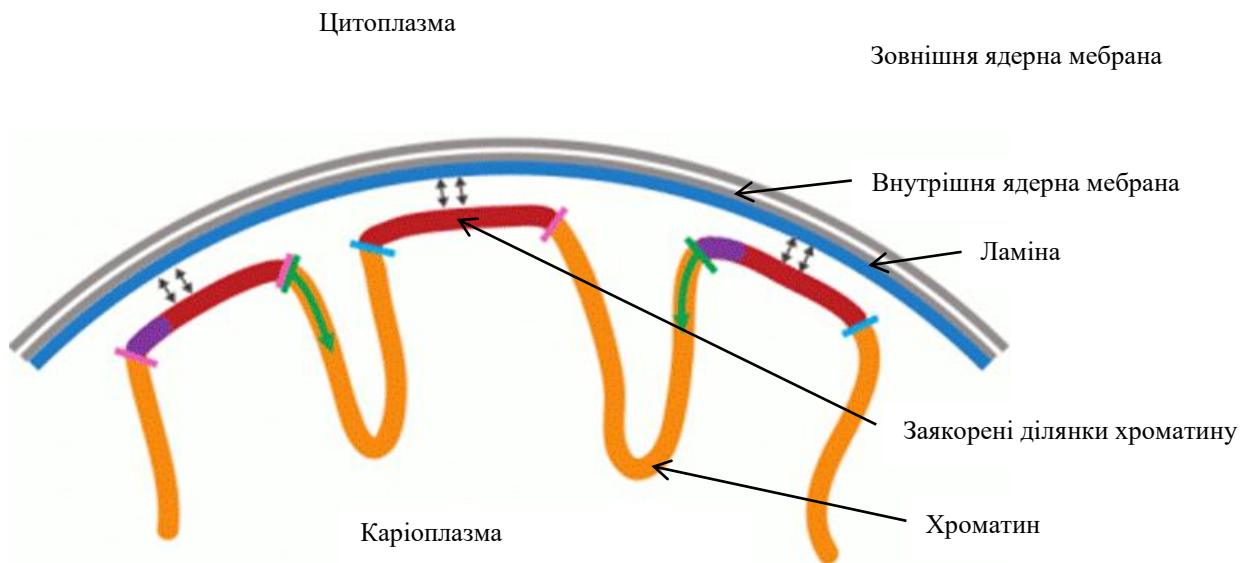
Обмін макромолекулами між ядром і цитоплазмою здійснюється завдяки **ядерним порам** – спеціалізованим каналним утворенням, що формуються у місцях контакту зовнішньої і внутрішньої ядерних мембран. Кількість ядерних пор залежить від

інтенсивності обміну між ядром і цитоплазмою, тобто від функціонального стану клітини. Через ядерні пори у цитоплазму надходить зріла іРНК, що опосередковується відповідними молекулярними сигналами.



**Рис. 7. 2. Функціонування ядерної пори, розташування пор на мембрані**

Ядерна пора – це комплекс протеїнів, що вистилає канали, в організації якого важливу роль відіграє ядерна ламіна. Ядерні пори визначають транспорт протеїнів, які функціонують у ядрі: гістонів, ензимів, факторів транскрипції, протеїнів процесингу до ядра й рибонуклеопротеїнів – до цитозолу. З ядра у цитозоль транспортуються РНК усіх типів, рибосоми, що утворюються у ядрі. Джерелом енергії для роботи ядерних пор є ГТФ.



**Рис. 7. 3. Формування перинуклеарного хроматину**

Ламіна – це щільна сітка протеїнових фібрил, яка вистилає зсередини внутрішню ядерну мембрану (рис. 7. 3). Ядерна ламіна підтримує форму ядра й виконує функцію структурного організатора

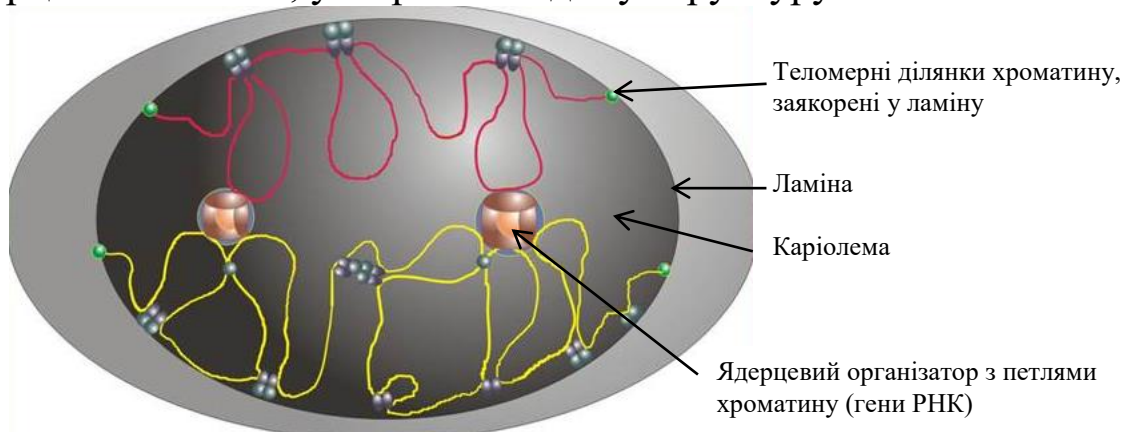
хромосом. Протеїни ламіни відповідають за розбирання та збирання ядерної мембрани під час мітозу. Заякореними у ламіну є нуклеопротейни.

**Каріоплазма** – колоїдна система внутрішнього вмісту ядра (зазвичай гелеподібна). Нею транспортуються молекули: нуклео-, глікопротеїди, ензими. Виконує інтегруючу функцію. Після видалення ДНК, РНК, гістонових протеїнів, мембран, ядра не втрачають своєї цілісності. Під електронним мікроскопом у таких ядрах виявлено поросоми разом з фібрилярним периферичним шаром, фібрили міжхроматинових ділянок. Весь цей комплекс разом з ламіною, каріоплазмою, ядерцями називають ядерним матриксом.

**Ядерний матрикс** – система фібрилярних протеїнів, що виконують структурну та регуляторну функції під час реплікації, транскрипції, процесингу, транспортуванні продуктів синтезу до цитоплазми.

Найщільна структура ядра – це **ядерце** (нуклеола), що зазвичай має округлу форму. У ядрі може міститися кілька ядерець. Ядерце – це не окремий вид хроматину, а його похідна.

Ядерце є центром утворення рибосом. У складі ядерця великі петлі ДНК, що містять гени рибосомальної РНК. Ці петлі називають **ядерцевими організаторами**: вони локалізовані у ділянках вторинних перетяжок деяких мітотичних хромосом. Загальна кількість ядерцевого матеріалу завжди однакова, незалежно від кількості ядерець у ядрі клітини. Однак у клітині з активним синтезом протеїнів ядерце завжди більше за розміром. Часто дрібні ядерця зливаються, утворюючи єдину структуру.



**Рис. 7. 4. Ядерця, ядерцеві організатори**

Отже, кожен ядерцевий організатор містить кілька сотень копій генів рибосомальної РНК. На цих генах активно відбувається синтез попередників рРНК. Останні відразу (у ядрі) дозрівають і,

зв'язуючись з рибосомальними протеїнами, утворюють субодиниці рибосом (які виходять з ядра у цитоплазму). Тому при електронній мікроскопії біля ядерця виявляється зв'язана з ним ділянка хроматину, а у самому ядерці – пре-рРНК і рРНК), а також гранулярні структури (субодиниці рибосом).

На початку мітозу ядерце зменшується у розмірах і під час конденсації хромосом зовсім зникає. У метафазі мітозу воно не виявляється. У телофазі мітозу, коли відновлюється синтез рибосомальної РНК, знову утворюються невеликі ядерця, кількість яких відповідає кількості хромосом, що мають ядерцевий організатор. Пізніше ці ядерця зливаються, утворюючи одне.

## 7. 2. Клітинний цикл, регуляція клітинного циклу

### 7. 2. 1. Клітинний цикл.

У клітин розрізняють життєвий цикл і клітинний цикл. **Життєвий цикл** – період життєдіяльності клітини, під час якого відбуваються усі процеси обміну та ділення. Починається з зиготи, закінчується явищем старіння і смерті клітини. **Клітинний цикл** – послідовність подій, що відбуваються між утворенням клітини та її діленням на дочірні або смертю.

Клітини різних тканин мають властиву тільки їм швидкість ділення. У вищих хребетних ділення регулюється багатьма зовнішніми факторами за принципом зворотних зв'язків.

Зазвичай клітинний цикл триває 12 – 24 години. Його складають інтерфаза і ділення клітини (мейоз, мітоз).

**Інтерфаза** – фаза активного метаболізму – займає більшу частину часу, у ній вирізняють:

- $G_1$  – фаза або постмітотична (пресинтетична);
- $S$  – фаза або синтетична;
- $G_2$  – фаза або постсинтетична (премітотична).

**$G_1$ -фаза** триває найдовше, за цей час клітина, що утворилась росте, збільшується у розмірах, синтезує протеїни, добудовує органоїди. У  $G_1$  відбуваються підготовчі процеси до біосинтезу ДНК, синтез РНК, протеїнів, транспорт глюкози та амінокислот у клітину. У цій фазі хромосомний набір клітини становить  $2n2c$ , де  $n$  – гаплоїдний набір хромосом, а  $c$  – маса ДНК, що відповідає гаплоїдному набору. Наприклад, у людини  $n = 23$ , а  $c = 3 \cdot 10^{-12}$  г.

Наприкінці  $G_1$ -фази є **точка рестрикції** (R). Якщо клітина, що стимулюється до ділення, подолає точку рестрикції, вона неминуче закінчить його зі швидкістю, незалежною від зовнішніх умов. У точці



рестрикції клітина приймає рішення, ділиться їй або ні, зважаючи на умови середовища, мікрооточення, пошкодження ДНК. Подолавши точку рестрикції, клітина переходить до синтетичної фази. Точка рестрикції – це та точка клітинного циклу, після якої клітина стає несприйнятливою до зовнішніх сигналів аж до завершення усього клітинного циклу.

Іноді клітини виходять з циклу у  $G_0$ -фазу – стан клітинного спокою. Під впливом факторів росту або мітогенів вони можуть повертатись до проходження клітинного циклу, ділитись. Клітини деяких тканин можуть довгий час знаходитись у  $G_0$ -фазі, не змінюючи своїх властивостей (стовбурові, камбіальні клітини). Втрачає здатність до ділення і постійно перебуває у фазі  $G_0$  диференційована клітина. У такому випадку йдеться про вихід клітин з циклу, але за умов такі клітини можна повернути до ділення. Наприклад, клітини печінки знаходяться у  $G_0$ -фазі, не реплікують ДНК, не діляться. Якщо частина органа буде втрачена, клітини готуються до мітозу, переходять у  $G_1$ -фазу. Нейрони, після диференціації виходять з циклу назавжди. У зрілому багатоклітинному організмі більшість клітин є у  $G_0$ -фазі клітинного циклу.

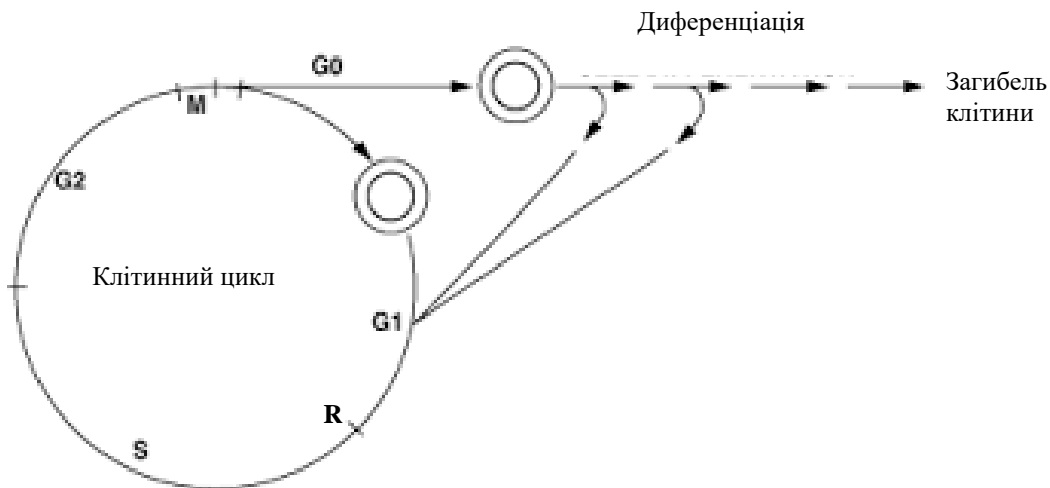


Рис. 7. 5. Схема клітинного циклу

**S-фаза** – це фаза, за якої у клітині відбувається подвоєння ДНК, синтезуються протеїни гістони, що беруть участь у суперспіралізації ДНК. Після S-фази хромосомний набір клітини –  $2n4c$ . Зростає значно синтез РНК, оскільки клітина синтезує ензими реплікації, гістони.

**G<sub>2</sub>-фаза** – це фаза підготовки до ділення, компактизуються хромосоми, клітина запасається АТФ, протеїнами, які мають значення для процесу ділення. Наприклад, ензими, відповідальні за

фосфорилування протеїнів ядерної ламіни (унаслідок чого відбувається розпад ядерної мембрани) і фосфорилування гістону H1 (це зумовлює спіралізацію хромосом). Хромосомний набір клітини –  $2n4c$ .

Після інтерфази, клітина ділиться.

### 7. 2. 2. Регуляція клітинного циклу.

Американець Ліланд Хартвелл і британці Тімоті Хант і Поль Нерс розділили між собою Нобелівську премію з фізіології і медицини за дослідження «ключових регуляторів клітинного циклу» у 2001 році.

Основними регуляторами клітинного циклу є два види протеїнів:

– **цикліни**, збільшення концентрації яких у клітинах здійснюється циклічно (що і дало назву цим протеїнам) відповідно до стадій циклу;

– **циклінзалежні кінрази (Cdk)**, які утворюють комплекси із циклінами, забезпечуючи контроль активності циклінів.

Також клітинний цикл регулюють **протеїни-інгібітори** клітинного циклу: p21, p27, p57, p16, p15, p18, p19.

У тваринних клітинах є різні цикліни і циклінзалежні кінрази. У клітинному циклі основну роль відіграють циклін А, -В, -D, -Е і Cdk 1, -2, -4, -6.

Концентрація циклінів різного типу залежить від фази клітинного циклу і показана на рисунку 7. 6. Наприклад, висока концентрація цикліну В необхідна під час мітозу. Зменшення його концентрації дає можливість клітині завершити мітоз і перейти до інтерфази. Висока концентрація цикліну Е стимулює клітину до реплікації, а цикліну А – до початку мітозу. Низька концентрація цикліну Е необхідна для можливості переходу до мітозу клітини. Зростання концентрації цикліну D важливе для проходження фази G<sub>1</sub>.

Для того, щоб брати участь у регуляції клітинного циклу, кожен циклін активує відповідні Cdk. Молекула будь-якої Cdk складається лише з одної субодиниці. У такому стані вона є неактивною. Для її активації необхідне приєднання цикліну. Отже, в

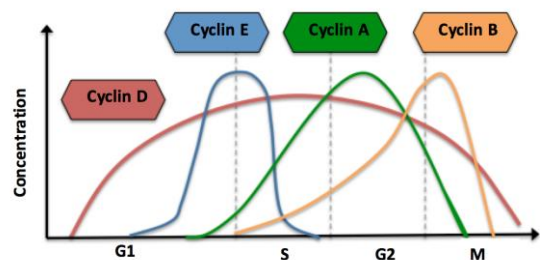


Рис. 7. 6. Мінливість концентрації циклінів від фази клітинного циклу

активній формі Cdk є комплексами «циклін-Cdk», де циклін є активуючою, а Cdk – каталітичною субодиницею. Низьким концентраціям циклінів на рис. 7. 6 відповідають низькі активності відповідних Cdk і навпаки. Рівні кіназ у клітині залишаються достатньо стабільними, але кожна з них повинна зв'язати відповідний циклін для своєї активації.

Отже, перебіг клітинного циклу досягається шляхом послідовної активації та інактивації різних комплексів «циклін-Cdk».

### Комплекси «циклін-Cdk», фази їх активності:

- Cdk4 і Cdk6 беруть участь у регуляції G<sub>1</sub>-фази клітинного циклу. Вони формують комплекс з цикліном D;
- Cdk2 може зв'язуватися з цикліном E і є однією з основних кіназ, що регулюють перехід G<sub>1</sub>/S. активація цикліном A Cdk2 зумовлює проходження S-фази, перехід G<sub>2</sub>/M;
- Cdk1 асоціюється з цикліном A і бере участь у переході G<sub>2</sub>/M. Циклін B також активує Cdk1 і регулює про- і метафазу мітозу. Існує поняття *М-фаза-стимулюючий фактор*. Це комплекс мітотичних циклінів A і B та Cdk1 – циклінзалежної кінази М-фази (Cdk1-циклін A, Cdk1-циклін B). Даний пептидний комплекс ініціює формування мітотичного веретена, руйнування ядерної мембрани, конденсацію хромосом і входження клітини до метафази мітозу. Втрата активності комплексу сприяє переходу до анафази і завершенню мітозу.

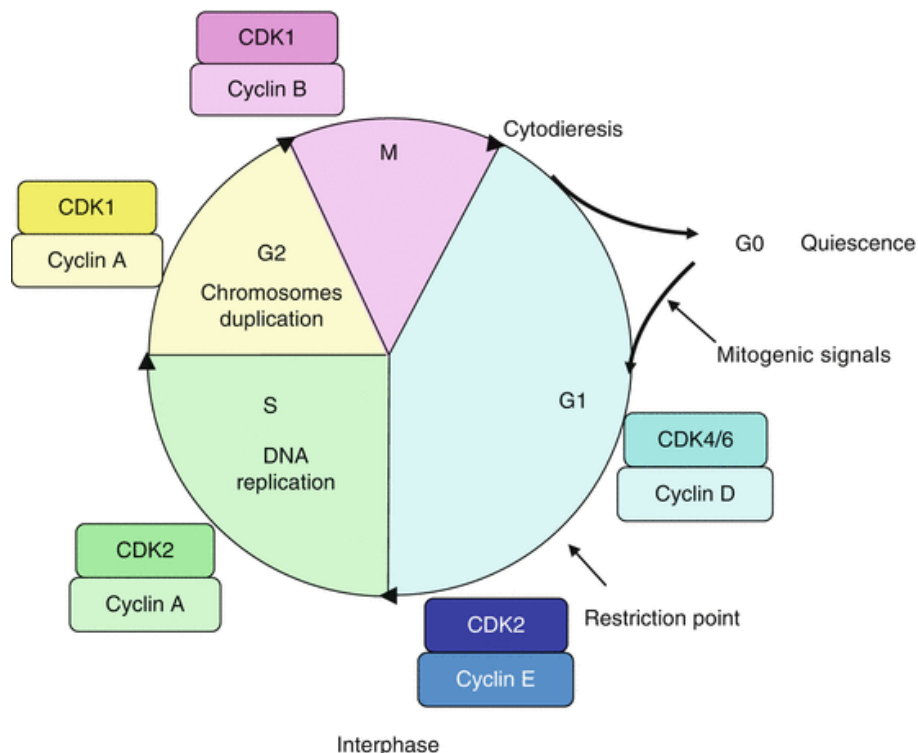


Рис. 7. 7. Відповідність між циклінами та циклінзалежними кіназами

Комплекс, що сприяє анафазі (*APC* – *anaphase-promoting complex*) – це сукупність протеїнів, які запускають події, що призводять до руйнування когезинів (протеїни, що утримують сестринські хроматиди) і забезпечують розділення сестринських хроматид. Цей комплекс руйнує мітотичні цикліни (A і B). Такі події сприяють завершенню ділення. У клітині ініціюється синтез  $G_1$ -циклінів (D) для наступного циклу.

У клітинному циклі є **контрольні точки** (англ. *checkpoints*). Це точки у фазах клітинного циклу, в яких «перевіряється» результативність процесів, що відбулись. Результатом контролю може бути:

- невідкладний перехід до наступної стадії;
- затримка для виправлення дефекту;
- запуск механізму запрограмованої загибелі клітини (апоптозу).

Більшість контролюючих механізмів здійснюється на етапі переходу від  $G_1$ -фази до S-фази. На цьому етапі регулюючими чинниками можуть бути зовнішні фактори. В одноклітинних організмів, наприклад, нестача поживних речовин, або розмір клітин є причиною переходу клітини з  $G_1$ -фази до фази  $G_0$ . За відсутності дії факторів росту клітини тварин переходять до фази  $G_0$ , у якій вони можуть знаходитись довгий період часу без проліферації. У цьому стані вони метаболічно активні, проте мають певні обмеження у синтезі протеїнів.

Виділяють точки контролю (*checkpoints*) клітинного циклу: у  $G_1$ -,  $G_2$ - фазах і в метафазі мітозу. Критичними є переходи між фазами  $G_1/S$  та  $G_2/M$ . Зокрема, у точці перевірки  $G_1$ -фази контролюється стан ДНК (на наявність у ній дволанцюгових розривів), сегрегація хромосом під час попереднього поділу та структура системи мікротрубочок. У метафазі в точці контролю визначається вірне збирання ахроматинового веретена. Якщо результат контролю незадовільний, клітина або затримується у даній фазі циклу (для усунення дефектів), або переходить до апоптозу – процесу запрограмованої загибелі.

На рисунку 7. 8. відмічено точки контролю клітинного циклу – *checkpoints* – і показники клітини, що контролюються чи наявність контролю умов мікрооточення. Проходження через точку контролю можливе лише за умов нормального завершення попередніх етапів та відсутності помилок. Якщо ж у контрольних точках було пропущено помилку структури чи функції клітини, клітина ділиться, а її дочірні

продовжують життєздатність як мутовані, дефектні. Це може запуснути процес канцерогенезу. У багатьох клітинних циклах основні точки контролю пов'язані із перевіркою відсутності неповних або ушкоджених хромосом. Одна з найбільш чітко визначених таких точок знаходиться у G<sub>2</sub>-фазі. У ній не відбувається перехід до мітозу, допоки не завершиться реплікація ДНК.

## Точки контролю клітинного циклу



Рис. 7. 8. Точки контролю клітинного циклу

Негативна контролююча функція клітинного циклу опосередкована дією **протеїнів-інгібіторів**: p21, p27, p57, p16, p15, p18, p19. За виникнення помилок клітинного циклу, ці протеїни реагують на них, зв'язуючись з активним комплексом «циклін-Cdk» та інактивуючи його. Інгібіторні протеїни можуть активуватись **протеїном p53**, який теж є одним із регуляторів клітинного циклу.

Експресія протеїну p53 індукується значними ушкодженням ДНК. Зокрема, p53 розпізнає дволанцюгові розриви ДНК. Якщо ураження значне, p53 може, активуючи p21, p27, запускати процес апоптозу. Таким чином, p53 – це фактор, який запускає транскрипцію групи генів, контролюючи клітинний цикл.

Протеїн **p21** пригнічує активність комплексів циклін-Cdk 2, -Cdk 1, тобто регулює клітинний цикл у фазах G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>, M. Подібно до

p21 діють протеїни p27, 57.

p16, p15, p18, p19 пригнічують активність комплексів циклін D-Cdk 4, -Cdk 6, тобто регулює клітинний цикл у фазах G<sub>1</sub>, G<sub>1</sub>/S.

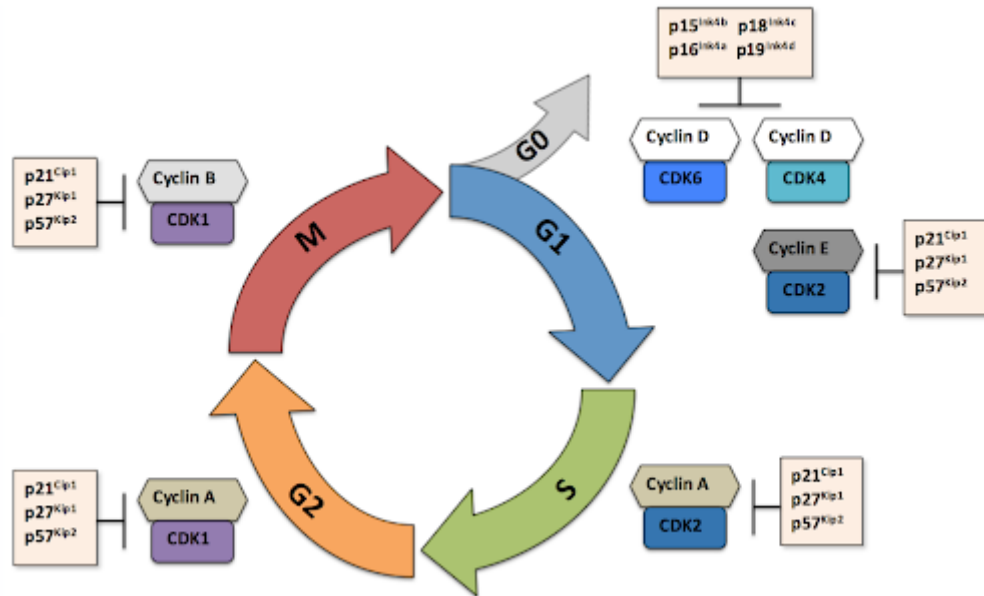


Рис 7. 9. Загальна схема регуляції клітинного циклу протеїнами-інгібіторами. Мутації генів p53, p27, p21, p16, p15, p18, p19 припиняють їхні функції, що є передумовою канцерогенезу.

### 7. 3. Ділення клітини. Мітоз

**Мітоз** (від грецького *μίτος* – нитка; синонім – *каріокінез*), або непрямий поділ клітини, безперервний процес, у результаті якого відбувається спочатку подвоєння, а потім точний рівномірний розподіл спадкового матеріалу, що знаходиться у хромосомах, між двома дочірніми клітинами. Завдяки мітозу дві дочірні клітини мають ядра, що містять ідентичну спадкову інформацію, характерну для даного виду організму. У цьому й полягає біологічне значення мітозу. Мітотичний поділ клітини контролюється генами. Існують гени, що нормалізують і дезорганізують процес мітозу. Поділ ядра сприяє поділу всієї клітини. Цей процес називається **цитокінезом**. Під час мітозу розрізняють чотири послідовні фази: профаза, метафаза, анафаза, телофаза.

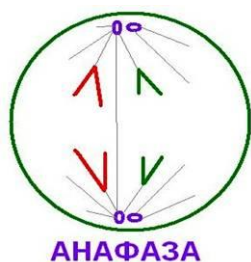
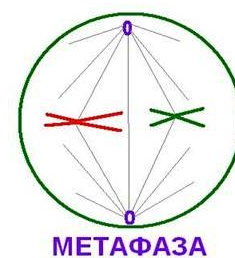
**Профаза (2n4c)** – початкова фаза мітозу. Характеризується тим, що ядро збільшується у розмірах. У результаті спіралізації і вкорочення, хромосоми з довгих, тонких, невидимих ниток наприкінці профазі стають короткими, товстими і розміщуються у вигляді видимого клубка. Хромосоми конденсуються, містять дві хроматиди, які закручуються одна навколо одної, утримуються

попарно у центромері. Профаза завершується зникненням ядерця, центріолі розходяться до полюсів з утворенням фігури веретена. Тубулін формує мікротрубочки – нитки веретена. Внаслідок деорганізації ядерної мембрани хромосоми розміщуються у цитоплазмі. До центромер прикріплюються нитки веретена з обох полюсів. На центромері відбувається утворення складного мультипротеїнового комплексу – **кінетохору**, необхідного для прикріплення мікротрубочок веретена поділу. Довжина центромерної ділянки ДНК варіює (від 125-ти пар основ у дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* до 0,1-4 млн пар основ у людини). У нематоди *Caenorhabditis elegans* та у річкового рака, окремі хромосоми мають дифузну центромеру – мікротрубочки прикріплюються по всій довжині хромосоми (так звані голоцентричні хромосоми).

Найчастіше послідовність ДНК у ділянці центромери містить тандемні АТ-збагачені повтори й не містить активних генів. Гомології між центромерними послідовностями різних організмів немає: провідну роль у визначенні структури центромери відіграють протеїни, які взаємодіють із ДНК у цій ділянці. Центромерні протеїни забезпечують компактизацію центромерної зони хромосоми та рекрутують до цієї зони протеїни кінетохору.

Мітотичний апарат клітини дуже чутливий до зовнішньої дії. Під впливом радіації, хімічних речовин і високої температури (мутагенів) веретено ділення може руйнуватися, тому виникають різні порушення у діленні клітини. Профаза переходить у метафазу.

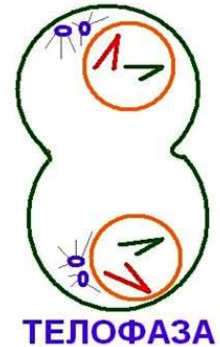
**Метафаза ( $2n4c$ ).** У даній фазі хромосоми дуже конденсовані й набувають характерної для даного виду форми. Дочірні хроматиди у кожній парі розділені добре видимою повздовжньою щілиною. Більшість хромосом стають двоплечими. Центромерою вони прикріплюються до нитки веретена. Всі хромосоми розташовуються у екваторіальній площині ядра, вільні їхні кінці спрямовані до центру ядра, утворюючи зірку. У цей час хромосоми найкраще спостерігати й підраховувати.



**Анафаза ( $4n4c$ ).** Після поділу центромер починається розходження хроматид, які стали тепер окремими дочірніми або сестринськими хромосомами до протилежних полюсів. При цьому хромосоми мають вигляд різноманітних гачків,

обернених своїми кінцями до центру клітини. Біля обох полюсів клітини однакова кількість хромосом, рівна диплоїдному набору вихідної материнської клітини.

**Телофаза ( $2n2c$ ).** У цій фазі розпочинається деспіралізація хромосомних ниток і хромосоми поступово стають тоншими та довшими, нагадуючи стан, у якому вони перебували в профазі. Навколо кожної групи хромосом формується ядерна мембрана та ядерце. У цей час завершується поділ цитоплазми та утворюється клітинна мембрана.



Утворені нові дочірні клітини вступають **інтерфазу**. Весь процес мітозу відбувається, як правило, упродовж 1-2 год. Загалом тривалість його залежить від виду й віку клітин, а також від зовнішніх умов, у яких вони знаходяться (температурний і світловий режим, вологість повітря тощо).

#### **Поділ клітин гальмується дією:**

1. високої температури;
2. підвищених доз радіації;
3. різних наркотиків;
4. рослинних отрут (колхіцин, аценафтен тощо).

У результаті мітозу з однієї материнської клітини утворюються дві дочірні, ідентичні материнській і одна одній. Материнська і дочірні клітини мають диплоїдний набір хромосом ( $2n$ ) і подвійну кількість ДНК –  $2c$ .

Механізми, що сприяють поділу клітин, недостатньо досліджені. Найбільш ймовірно, що фактором індукування мітозу є зміна ядерно-цитоплазматичного співвідношення. При збільшенні об'єму цитоплазми у клітині, яка росте, це відношення зменшується і ядро не може регулювати клітинні процеси. Такий нестійкий стан може бути причиною початку поділу.

#### **7. 5. Ділення клітини. Мейоз**

**Мейоз** – складний тип поділу клітин, що забезпечує рекомбінацію генетичного матеріалу та зменшення (редукцію) числа хромосом удвічі, властивий усім рослинним і тваринним організмам із статевим розмноженням.

Мейоз відбувається лише у певні періоди життя рослин і тварин. У тварин – це процес утворення статевих клітин (гамет), а у квіткових рослин – утворення пилкових зерен і зародкових мішків. У результаті мейозу гамети набувають гаплоїдного набору хромосом і



містять комбіновану генетичну інформацію.

В основі *гаметогенезу* – процесу розвитку статевих клітин – лежать механізми мітозу і мейозу. Гамети утворюються у статевих залозах: яйцеклітини – у яйнику, сперматозоони – у сім'янику. Диплоїдні клітини, з яких утворюються гамети, називають сперматогоніями (вони містяться в сім'янику) та оогоніями (містяться в яйнику). Вони розмножуються шляхом мітозу, ростуть і перетворюються відповідно у сперматоцити та ооцити першого порядку, які вступають у мейоз. З кожного сперматоцита внаслідок двох поділів (редукційного і екваційного) утворюються чотири функціонуючі сперматозоони. Кожен ооцит дає початок також чотирьом гаплоїдним клітинам, але життєздатною залишається лише одна з них – яйцеклітина, а три інші дегенерують, утворюючи так звані полярні тільця.

При статевому розмноженні у процесі запліднення гамети зливаються і утворюють зиготу з диплоїдним набором хромосом. Отже, статеве розмноження веде до подвоєння числа хромосом у клітинах, а мейоз зменшує їх удвічі. Завдяки цьому зберігається постійне число хромосом у поколіннях для кожного виду.

У мейоз вступають *спеціалізовані диплоїдні клітини  $2n4c$*  (сперматоцити та ооцити першого порядку).

При мейозі відбуваються два поділи ядра, які проходять швидко, один за одним. Перший поділ *редукційний*. У результаті редукційного поділу утворюються клітини, що містять у два рази менше хромосом, ніж було у вихідній материнській клітині. Другий поділ – *екваційний* – відбувається подібно до мітозу. В кожному поділі розрізняють *профазу, метафазу, анафазу і телофазу*.

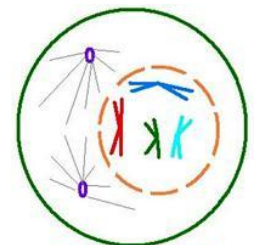
#### Редукційний поділ.

*Профаза I ( $2n4c$ )* є найбільш тривалою і важливою фазою. Вона ділиться на п'ять стадій:

1. *Лептонема* – або стадія букета. На початку лептонема хромосоми мають вигляд довгих, тонких заплутаних ниток. Кожна хромосома складається з двох ідентичних хроматид, які з'єднані центромерою.

Поступово хромосоми вкорочуються і потовщуються, відбувається спіралізація з утворенням хромомер. Число фігур у ній складає  $2n$ , а кількість молекул ДНК за рахунок реплікації в інтерфазі –  $4c$ ;

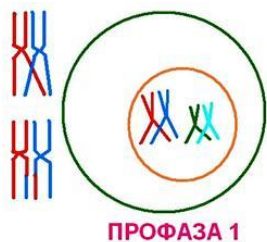
2. *Зигонема*. Фаза, у якій одночасно з продовженням спіралізації починається кон'югація гомологічних хромосом (синапс) з



**ПРОФАЗА I**

утворенням бівалентів (тетрад) і синаптонемного комплексу. Під електронним мікроскопом у кожній хромосомі можна помітити темнозбарвлене осьове протеїнове тіло, яке оточує хромосому.

Осьові тіла гомологічних хромосом зближуються і утворюють синаптонемний комплекс – відбувається кон'югація хромосом. Процес спарювання називають *синапсисом*, а об'єднані пари гомологічних хромосом – *бівалентами*. Кожен бівалент складається з чотирьох хроматид. Біваленти поступово вкорочуються, потовщуються, набувають чітких обрисів. При цьому відбувається компактизація на молекулярному рівні. Зовні помітне закручування хромосом.



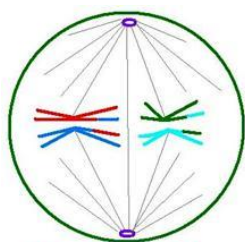
ПРОФАЗА 1

3. *Пахінема* характеризується подальшим вкороченням і потовщенням хромосом; сестринські хроматиди залишаються спареними, а несестринські відштовхуються, залишаючись у деяких місцях сполученими та утворюючи *хіазми*, – фігури, які нагадують букву Х. У хіазмах внаслідок розривів і з'єднань відбувається обмін ділянками несестринських хроматид (*кросинговер*), що призводить до нових поєднань генів у перекомбінованих хроматидах. Кросинговер – процес обміну ідентичними ділянками між несестринськими хроматидами гомологічних хромосом.

4. *Диплонема* – хромосоми роз'єднуються і тільки в деяких точках залишаються з'єднаними між собою (точки зв'язку називаються *хіазмами*). В цей час стає помітним, що кожна з хромосом складається з двох хроматид, а кожен бівалент – з чотирьох ниток.

5. *Діакінез*: під час цієї стадії біваленти вкорочуються, потовщуються, хіазми залишаються лише на кінцях хромосом. Ядерна мембрана руйнується.

Профаза першого поділу мейозу при сперматогенезі (утворення сперматитів першого порядку) продовжується декілька діб, а під час оогенезу (утворення ооцитів першого порядку) – упродовж багатьох років.

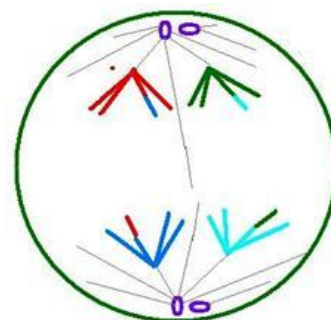


МЕТАФАЗА 1

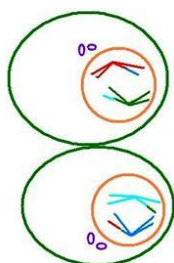
*Метафаза I (2n4c)*. Стає добре помітним веретено ділення. До центромер хромосом кожного бівалента прикріплюються мікротрубочки веретена. Потім пари хромосом переміщуються до екваторіальної площини клітини і, розмістившись у ній, утворюють *метафазну пластинку*. У цей час можна підрахувати кількість бівалентів. Центромери у

метафазі I розміщуються над і під екваторіальною площиною на однаковій відстані від неї. Біваленти розміщуються в екваторіальній площині випадково і взаємонезалежно.

**Анафаза I ( $2n4c$ ).** Починається з розходження гомологічних хромосом і пересування їх у напрямку полюсів. З кожного бівалента до певного полюса відходить одна двохроматидна хромосома. Отже, в анафазі I центромери не діляться, хроматиди залишаються разом. Відбувається розходження гомологічних хромосом до полюсів. Особливо слід відзначити, що розходяться гомологи випадково, тому це призводить до рекомбінації хромосом із різних гомологічних пар.



**АНАФАЗА 1**



**ТЕЛОФАЗА 1**

**Телофаза I ( $n2c$ ).** Хромосоми менш конденсовані, видовжуються і втрачають чіткість обрисів. Поступово виникає ядерна мембрана і формуються два дочірні ядра з гаплоїдним набором хромосом: по одній хромосомі від кожного бівалента, тобто лише половину тієї кількості хромосом, що була у клітині під час про- і метафазі.

Між двома мейотичними поділами – **інтеркінез** (інтерфаза) ( $n2c$ ). Тривалість інтеркінезу може бути різною, найчастіше він триває недовго, і ядра дуже швидко починають ділитися. Синтез ДНК і подвоєння хромосом не відбувається.

#### **Еквацийний поділ.**

Гаплоїдні ядра з двохроматидними хромосомами зазнають другого мейотичного поділу, який відбувається за типом мітозу і має такі самі чотири фази: профаза II, метафаза II, анафаза II, телофаза II. Після їх завершення утворюються чотири клітини з гаплоїдним набором.

Профаза II	$n2c$
Метафаза II	$n2c$
Анафаза II	$2n2c$
Телофаза II	$nc$

Другий мейотичний поділ не відрізняється механізмами від звичайного мітотичного поділу, проте в анафазі II до кожного з полюсів клітини розходиться гаплоїдне число сестринських хроматид ( $nc$ ).

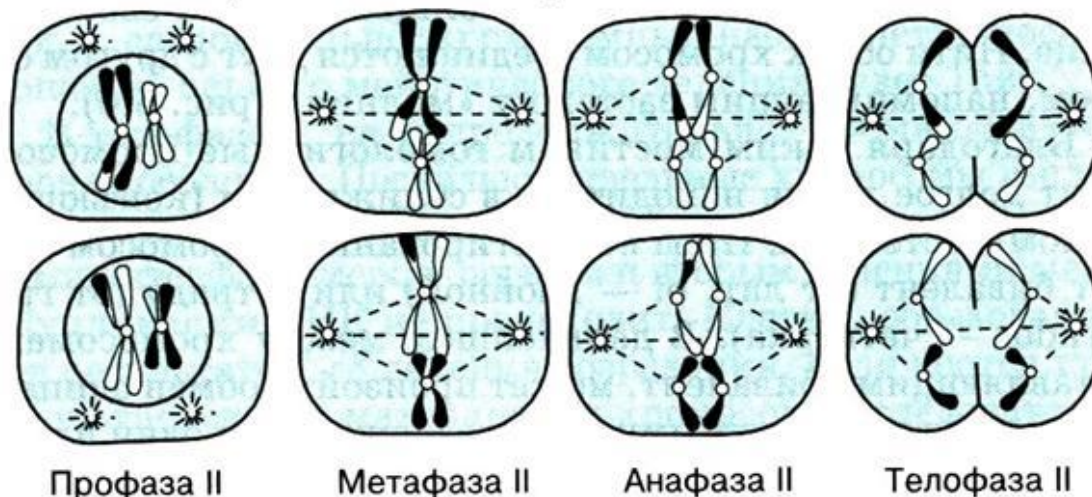


Рис. 7.10. Еквацийний поділ мейозу

Так, з кожної клітини, що вступає до мейозу, після двох послідовних поділів утворюється чотири клітини з половинним числом хромосом. Завдяки кросинговеру на стадії пахінеми та випадковому розходженню їх у анафазі I, утворені клітини неідентичні одна одній.

### 7. 6. Відмінність мітозу і мейозу. Регуляція ділення клітини

Мейоз – спосіб дозрівання і ділення статевих клітин. Він виник у філогенезі з появою статевого розмноження. На відміну від мітозу мейоз проходить у два етапи, тобто складається з двох послідовних поділів, розділених інтеркінезом і включає про-, мета-, ана- і телофази у кожному поділі. Інтеркінез (інтерфаза II) значно коротший ніж інтерфаза, подвоєння ДНК в ній не відбувається. На відміну від мітозу з однієї материнської клітини утворюються 4 дочірні, кожна з гаплоїдним набором хромосом. На відміну від мітозу у мейозі відбувається редукція числа хромосом удвічі ( $n$ ), у зв'язку з чим мейоз називають редукційним поділом. Під час мейозу відбувається випадковий розподіл негомологічних хромосом, що підвищує різноманітність комбінацій хромосом у гаметах. Число комбінацій хромосом в одній гаметі може бути 223, що складає 8 388 608 варіантів. У профазі першого мейотичного поділу на стадії зигонемі відбувається кон'югація гомологічних хромосом, а на стадії пахінеми – кросинговер (взаємний обмін гомологічних ділянок хроматид). Кросинговер відбувається на початку мейозу, коли гомологічні хромосоми кон'югують між собою, що також підвищує різноманітність комбінацій хромосом у гаметах, однак у меншій мірі, ніж випадковий розподіл негомологічних хромосом.

**Рекомбінація** – це утворення нових комбінацій хромосом у

гаплоїдних продуктах мейозу. Існують чотири можливих варіанти розміщення бівалентів у метафазі I і відповідні їм набори хромосом у гаплоїдних клітинах. Рекомбінація материнських і батьківських хромосом відбувається на основі взаємозалежної орієнтації бівалентів. Завдяки цьому утворюються клітини з різними поєднаннями материнських і батьківських хромосом.

**Причини, які можуть спричинити порушення розходження хромосом у мейозі:**

1. Вплив йонізуючої радіації;
2. Негативна дія на статеві залози рентгенівського проміння;
3. Вплив хімічних мутагенів;
4. Перенесені під час вагітності вірусні інфекції (віспа, кір, паротит, грип).

**Регуляція ділення.**

Для проходження раннього мітозу потрібна активність цикліну А. Проте, основним регулюючим цикліном, як і на попередній стадії, є циклін В у комплексі з Cdk1. Активність комплексу циклін В-Cdk1 призводить до деградації ядерної мембрани, конденсації хроматину і формування з конденсованих хромосом метафазної пластинки.

При переході з метафазу в анафазу, відбувається деградація цикліну В. Втрата активності комплексу циклін В-Cdk1 індукує міграцію хромосом до полюсів і ділення клітини. У профазі активований комплекс циклін В-Cdk1 гарантує, що перехід з інтерфазу у мітоз незворотний за рахунок фосфорилування ензимів родини Cdc 25.

**Контрольні питання:**

1. Загальна характеристика ядра.
2. Чому ядерна мембрана має пори? У чому полягає функціональна специфіка ядерної мембрани?
3. Поверхневий апарат ядра.
4. Ядерця.
5. Ядерний сік.
6. Особливості поведінки деяких структур ядра за ділення клітини.
7. Клітинний цикл.
8. Регулятори клітинного циклу.
9. Мітоз.

10. У чому полягають функції ядерної ламіни?
11. Що таке кінетохор?
12. Що таке центромера? Характеристика.
13. Що таке цитокінез? Коли він відбувається?
14. Яке біологічне значення мітозу?
15. Мейоз.
16. Що таке біваленти?
17. На якому етапі мейозу утворюються біваленти?
18. На якому етапі мейозу відбувається розходження гомологічних хромосом?
19. На якому етапі мейозу в екваторіальній площині клітини розташована гаплоїдна кількість двохроматидних хромосом?
20. На якому етапі мейозу відбувається розходження однохроматидних хромосом?
21. Вкажіть на властиві мейозу процеси, в яких беруть участь хромосоми під час профазі I.
22. У чому полягає біологічне значення мейозу?
23. Чим відрізняється мейоз від мітозу? Відповідь обґрунтуйте.
24. Як підтримується постійне число хромосом і постійна кількість ДНК кожного виду в поколіннях?
25. Назвіть фази першого та другого поділу мейозу. Чим характеризується кожна фаза?
26. Назвіть стадії профазі I, охарактеризуйте кожен з них.

## РОЗДІЛ 8. ЗАГАЛЬНІ ПРИНЦИПИ РЕАЛІЗАЦІЇ ГЕНЕТИЧНОЇ ІНФОРМАЦІЇ, ЇЇ МАТЕРІАЛЬНІ СУБСТАНЦІЇ

### 8. 1. Реалізація генетичної інформації

У 1865 році, ще до публікації дарвінівської гіпотези пангенезису вийшла у світ праця Г. Менделя «Досліди над рослинними гібридами». У ній Мендель сформулював принципи гібридологічного аналізу й базові закономірності передачі дискретних (*таких, що перериваються*) спадкових факторів у поколіннях. Він розумів, що існує матеріальна субстанція здатна передавати інформацію про ознаки від батьків нащадкам. Оскільки природа гена була невідомою, то історично генетика як наука ще досить довгий час носила характер формальної дисципліни. Проте це не завадило застосовувати встановлені Г. Менделем важливі генетичні закономірності.

У 20 роках ХХ ст., на підставі поняття «ген», «генотип», «фенотип» Т. Морганом сформульовано теорію спадковості, основними положеннями якої були:

- гени (цистриони) знаходяться у хромосомах;
- кожна хромосома є групою зчеплення генів;
- кожен ген у хромосомі займає певне місце (*локус*);
- гени в хромосомах розміщені лінійно;
- між гомологічними хромосомами може відбуватися обмін алельними генами (*кросинговер*);
- відстань між генами в хромосомі прямопропорційна частоті кросинговеру;
- ген – частина молекули ДНК;
- кількість нуклеотидів, що входять до складу різних генів, неоднакова;
- усередині гена можуть відбуватися рекомбінації та мутації.

Центральна догма молекулярної біології пояснює, що спадкова інформація, яка записана послідовністю нуклеотидів ділянки ДНК, є інформацією про послідовність амінокислот у складі протеїну. Отже, *ген* – це окрема змістовна ділянка ДНК, у послідовності якої закодована амінокислотна послідовність протеїну.

Еукаріотична ДНК знаходиться у клітинному ядрі у складі хромосом, кожна хромосома містить одну гігантську лінійну молекулу ДНК.

Молекула нуклеїнової кислоти – полімер, мономерними

одинацями якого є нуклеотиди. **Нуклеотид**, у свою чергу, містить три хімічні компоненти – нітрогенвмісну основу, залишок пентози, залишок фосфатної кислоти. Ковалентний зв'язок між певними групами пентози та фосфатного залишку з'єднує сусідні нуклеотиди (які розрізняються між собою за типом нітрогенвмісної основи) у складі полімерного ланцюга. У молекулі ДНК зазвичай два такі полінуклеотидні ланцюги об'єднуються у подвійну спіраль – дволанцюгову структуру (дуплекс), стабільність якої визначається нековалентними взаємодіями між нітрогенвмісними основами. Просторова структура подвійної спіралі залежить від послідовності нуклеотидів.

До складу ДНК входять два типи нітрогенвмісних основ: пурини – аденін (А) і гуанін (Г); та піримідини – тимін (Т) і цитозин (Ц). Крім стандартних основ, у складі природних ДНК зустрічаються також ковалентно модифіковані: 5-метилцитозин, N4-метилцитозин; N6-метиладенін. Молекули РНК замість тиміну містять урацил (У), що відрізняється від свого аналогу у ДНК відсутністю метильної групи при п'ятому атомі Карбону.

Фосфатна група

Нітрогенвмісна основа

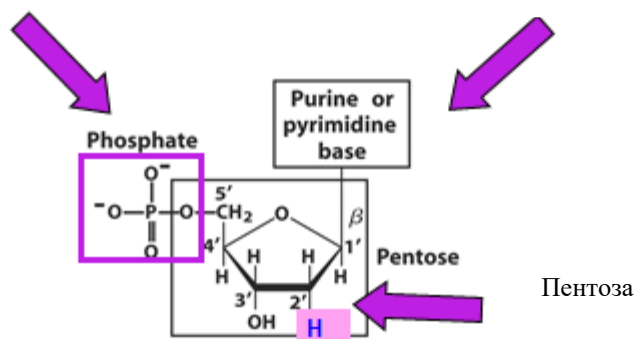


Рис. 8. 1. Структура нуклеотиду

Згідно з моделлю Уотсона - Кріка ДНК є правильною правозакрученою спіраллю, що утворена двома полінуклеотидними, антипаралельними ланцюгами. Принцип комплементарності, сформульовано І. Чаргаффом, зумовлений утворенням специфічних водневих зв'язків між названими основами: два зв'язки між А-Т, три між Г-Ц. Два ланцюги дуплекса спрямовані у різні боки (є антипаралельними), спіралью закручені один навколо одного цукрофосфатні частини розташовані зовні, пари основ – щільно упаковані усередині цієї структури.

**Нуклеїнові кислоти** – природні високомолекулярні полімери,



що здійснюють збереження та перенесення генетичної інформації у клітині.

Для можливості упакування у клітину на основі первинної структури ДНК формується вторинна і третинна.

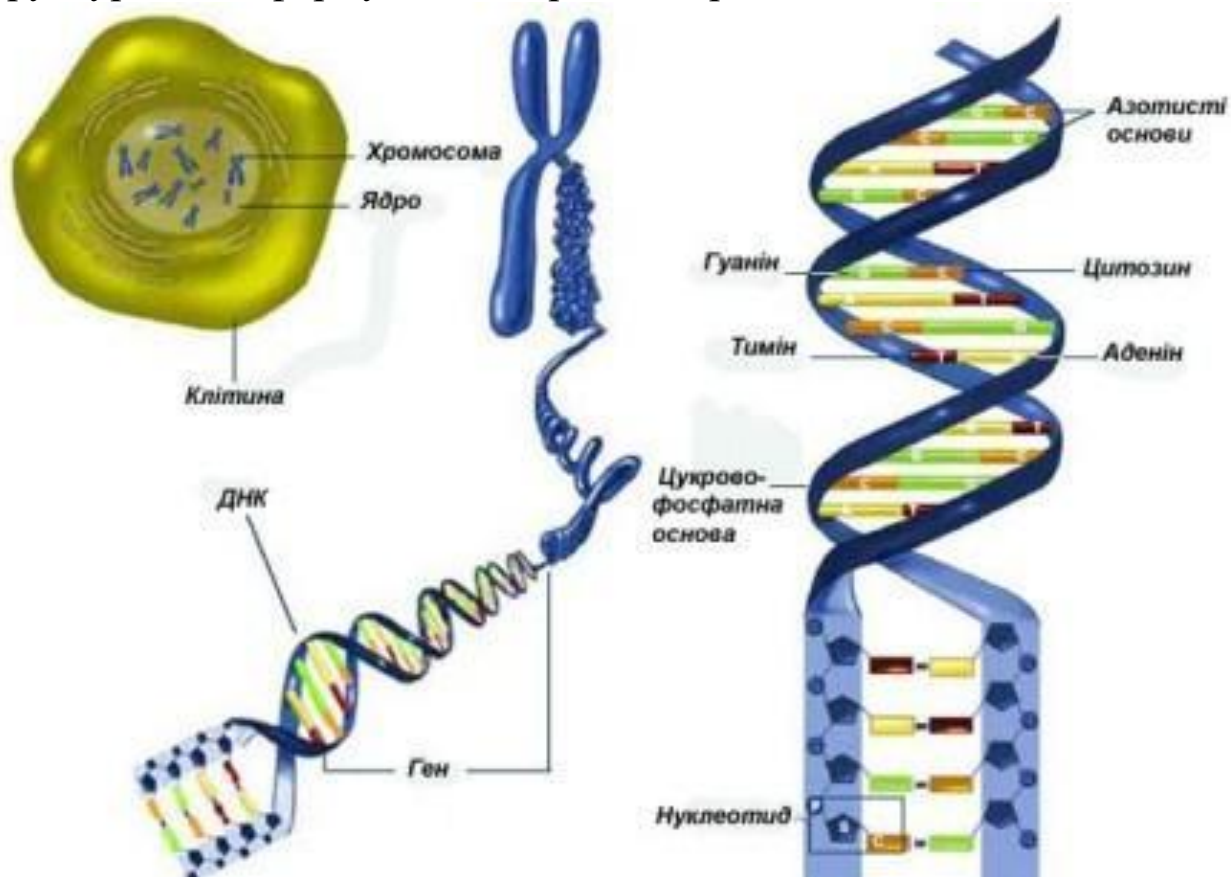


Рис. 8. 2. Організація ДНК у клітині

Ланцюг нуклеотидів, поєднаних фосфодіестерними зв'язками є **первинною структурою** ДНК. Подвійна (3'-ланцюг і 5'-ланцюг) закручена у спіраль молекула ДНК – **вторинна структура**. Під **третинною структурою** розуміють загальну форму молекул. ДНК може мати лінійну чи кільцеву форми. ДНК еукаріот є лінійною молекулою, у прокариот – кільцевою.

Для третинної структури ДНК характерною рисою є суперспіралізація (багаторівнева спіралізація, упакування, укладання). Є чотири рівні укладання ДНК:

- нуклеосомний (вкорочення ДНК вторинної структури у 6 разів);
- соленоїдний (вкорочення у 40 разів);
- хромомерний (петлевий) (вкорочення у 700 разів);
- хромонемний.

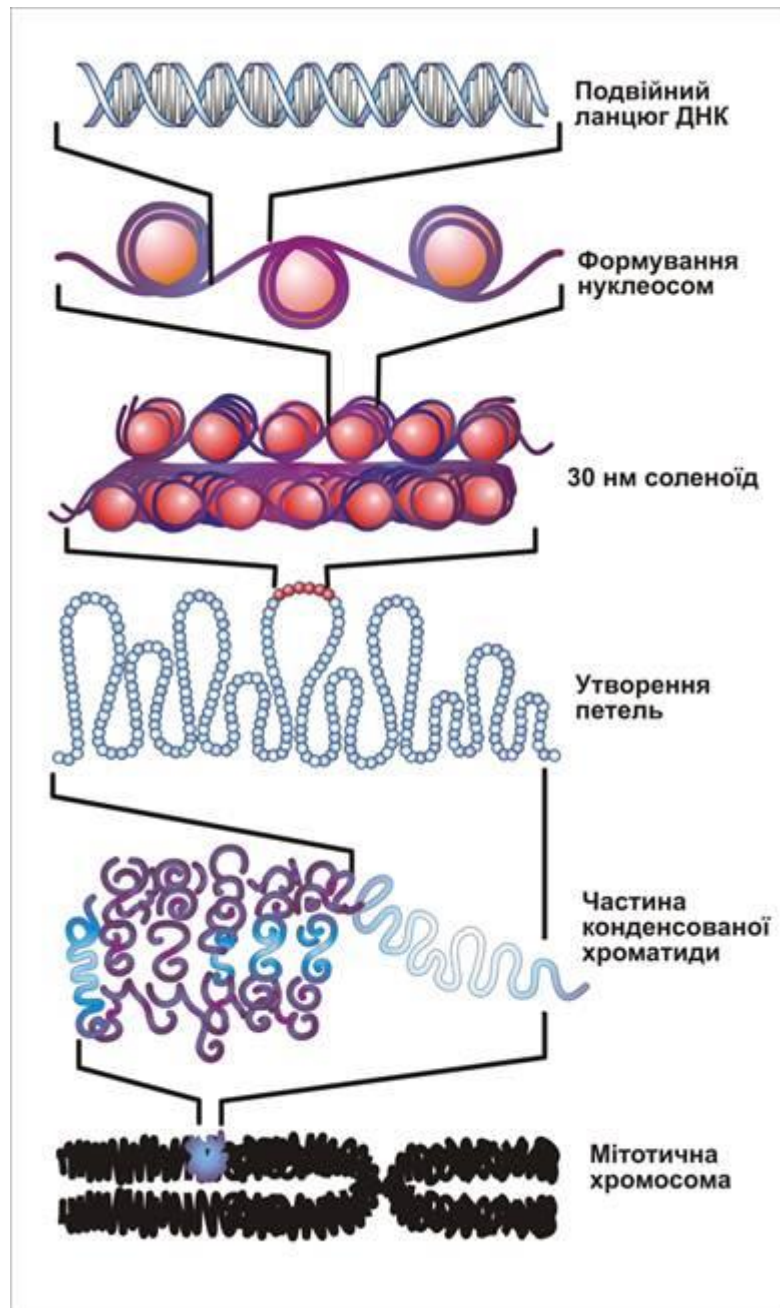


Рис. 8. 3. Рівні упакування ДНК

ДНК міститься у клітинному ядрі у вигляді складного нуклеопротейінового комплексу – хроматину. *Хромосома* – (від. грец. «зафарбоване тіло») – структура ядра, комплекс молекул ДНК з протеїнами (гістоновими та негістоновими). Нуклеопротейіновий матеріал, з якого побудовані хромосоми, називають *хроматином*. Головними структурними протеїнами хроматину є *гістони* – протеїни збагачені позитивно зарядженими амінокислотними залишками (загальна маса гістонів приблизно дорівнює масі ДНК). Власне на нуклеосомному рівні упакування ДНК (рис. 8. 3) утворює комплекс з гістоновими протеїнами. Компонентами нуклеосоми є кор, який складається з 8-ми молекул корових гістонів Н2А, Н2В, Н3 та Н4 – по дві молекули кожного типу і намотаний на нього

подвійний спіралізований ланцюг ДНК. Сусідні нуклеосоми з'єднані міжнуклеосомними лінкерними ділянками. Нуклеосоми утворюються вздовж усієї ДНК. Крім гістонів до складу хроматину входять також численні *негістонові протеїни* (загальна маса яких приблизно дорівнює масі гістонів) – транскрипційні фактори, різноманітні ензими, протеїни, що виконують специфічну структурну функцію.

Кінцеві неупорядковані ділянки корових гістонів (хвости) виходять за межі нуклеосоми. Завдяки своїй структурній лабільності вони беруть участь в організації хроматину на соленоїдному рівні (рис. 8. 3), а також відіграють важливу роль платформи для зв'язування різноманітних негістонових протеїнів. Така взаємодія гістонових хвостів з протеїнами має важливі функціональні наслідки для регуляції генної активності. Соленоїд, фібрила є основною формою існування хроматину та хромосом під час інтерфази. Частина хроматину, що зберігає стан підвищеної компактизації впродовж інтерфази, називається *гетерохроматином* (решта хроматину, де в принципі може відбуватися активація транскрипції, позначається як *еухроматин*). З ділянок гетерохроматину генетична інформація не експресується (не транскрибується), лише з ділянок еухроматину.



Рис. 8. 4. Залежність активності генів від стану хроматину

На наступному рівні структурної організації хроматинова

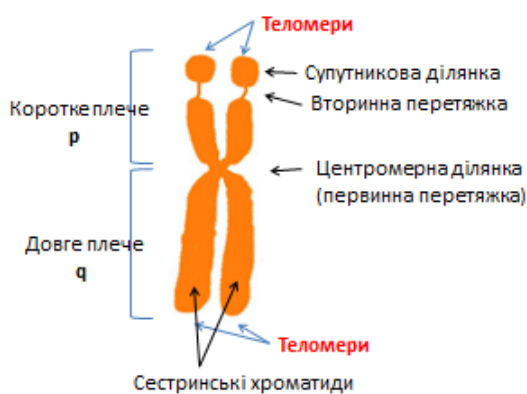


Рис. 8. 5. Морфологія хромосом

**Мітотична хромосома**

фібрила (соленоїд) формує петлі (хромомерний рівень (рис. 8. 3), кінці яких є жорстко закріплені на ламіні.

*Мітотичні хромосоми* – останній рівень упакування хроматину – сильно конденсовану ДНК добре видно у світловий

мікроскоп під час мітозу.

Під час метафази хромосому складають дві хроматиди (дві молекули ДНК). Подвоєні хромосоми (з двома хроматидами) утримуються разом у ділянці центромери. Хроматиди хромосом мають назву *сестринські хроматиди*. У ділянці центромери є кінетохор – це комплекс протеїнів, що формуються у центромері й беруть участь у розділенні сестринських хроматид у анафазі мітозу. Короткі плечі позначаються як р плечі, довгі – як q плечі. Забарвлення за допомогою барвника Гімза виявляє смуги, які називаються G смугами (темні і світлі). G смуги нумеруються і використовуються як адреси локусів генів.

Як уже зазначалось у клітині різні хромосоми та ділянки хромосом перебувають у різному стані активності. Цей стан активності залежить від конденсованості (спіралізації) даної ділянки, він свідчить про можливість реалізувати генетичну інформацію.



Рис. 8. 6. Мікрофотографія (електронна мікроскопія) хромосоми

### Класифікація хроматину



Для збереження унікальних властивостей організму необхідне безпомилкове відтворення послідовності ДНК у кожному поколінні. Під час ділення клітини кожна з 2-х дочірніх клітин повинна

отримати копію материнської ДНК. Отже, перед діленням ДНК повинна подвоїтися. Так, кишкова паличка при утворенні кожного покоління повинна подвоювати повний геном розміром  $4 \times 10^6$  н.п., а соматичні клітини людини – копіювати 6 млрд. н.п.

**Реплікація** – складний, ферментативний, енергозалежний біологічний процес реакцій матричного синтезу, який забезпечує подвоєння молекули ДНК. Відбувається за напівконсервативним механізмом та за принципом комплементарності.

Етапами реалізації генетичної інформації є транскрипція і трансляція.

**Транскрипція** – перша стадія реалізації генетичної інформації, процес «переписування» послідовності ДНК в одноланцюгову молекулу комплементарної РНК. Транскрипція відбувається у ядрі. У результаті транскрипції утворюються мРНК, які кодують амінокислотні послідовності протеїнів, а також тРНК, рРНК і інші види РНК, що виконують структурні, регуляторні і каталітичні функції.

В основі транскрипції лежить принцип комплементарності нітрогенвмісних основ полінуклеотидних ланцюгів ДНК і РНК, а сам процес здійснюється за участю ензимів **РНК-полімераз**, і великої групи протеїнів – регуляторів транскрипції.

Досконало вивчені етапи і механізми регуляції транскрипції прокариотичних геномів, проте деталі транскрипції у еукаріот відомі недостатньо. У той же час в загальній системі контролю реалізації генетичної інформації контроль на рівні транскрипції є найбільш важливим етапом, відповідальним за диференціальну активність генів в онтогенезі будь-якого організму. Складність організації цього контролю, зайвий раз підтверджує фундаментальне значення транскрипції у реалізації програми життя.

Велике значення у регуляції транскрипції є пізнання субодиницею ензиму РНК-полімерази промотора гена, який потрібно транскрибувати.

На ДНК містяться структурні і регуляторні гени. **Структурні гени** визначають амінокислотну послідовність протеїнів. **Регуляторні гени** контролюють транскрипцію.



Рис. 8. 7. Транскрипція

До регуляторних генів належать:

- промотор;
- оператор;
- термінатор.

**Промотор** – ділянка ДНК з якою зв'язується РНК-полімераза та ініціюється транскрипція. **Оператор** – ділянка ДНК, з якою зв'язується протеїн-репресор, у результаті чого блокується транскрипція. **Термінатор** – ділянка ДНК, яка розташована наприкінці транскрипту і припиняє транскрипцію.

Інформація транскрибується не лише зі структурного гена, продукт якого на даний момент необхідний у клітині, а з оперона. **Оперон** – ділянка ДНК, яка включає регуляторні та структурні гени.

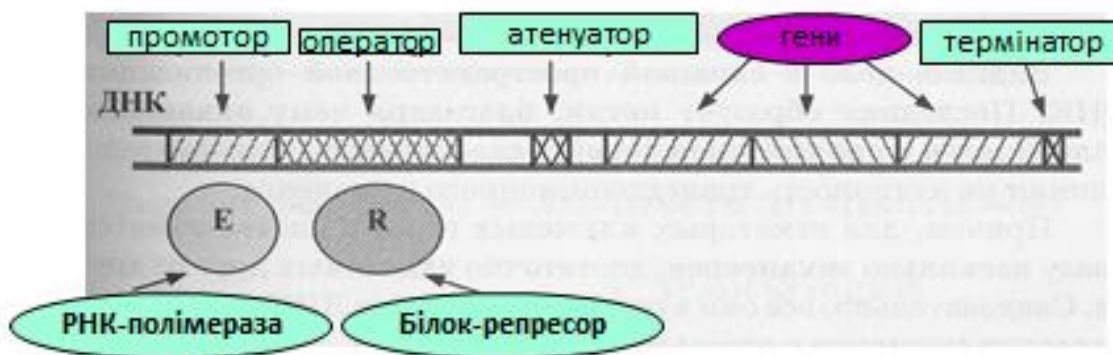


Рис. 8. 8. Будова оперону

Отже, за потреби синтезу протеїну, РНК-полімераза зв'язується з промотором і рухається по ДНК до структурних генів, які потрібно транскрибувати. У напрямку структурних генів може знаходитись регуляторний ген оператор. Якщо оператор заблоковано протеїном-репресором, транскрипція не відбувається. У випадку транскрибування структурних генів процес завершується на термінаторі – ділянці з сигнальним кодоном про кінець процесу.

Первинні РНК-транскрипти (про-мРНК), які утворюються у результаті транскрипції, не завжди є функціонально активними молекулами РНК. Перш ніж стати активними, вони повинні зазнати ряд модифікацій і перетворитися на зрілі РНК. Цей процес посттранскрипційної модифікації первинних транскриптів (РНК-попередників) називається **процесингом** і відбувається досить специфічно у різних видів РНК про- і еукаріот.

У зв'язку з відмінностями реалізації генетичної інформації у прокаріот і еукаріот, процесинг у прокаріот обмежений, тоді як у еукаріот він є складно організованим процесом, який безпосередньо впливає на регуляцію експресії генетичного матеріалу в

диференційованих клітинах вищих організмів. Найдетальніше вивчений процесинг мРНК еукаріот, який включає три основні моменти:

- сплайсинг;
- кепування 5'-кінця;
- поліаденілування 3'-кінця первинних транскриптів.

**Сплайсинг** (від англ. *splice* – сполучати кінці) полягає у вирізання з про-мРНК некодуючих ділянок – **інтронів** і зшивання кодуєчи ділянок – **екзонів** за участі рибозимів.

**Кепування** – це утворенням на 5'-кінці мРНК особливої структури – кепи (шапочки).

**Поліаденілування** здійснюється ензимом полі (А)-полімеразою і призводить до утворення на 3'-кінці оліго(А)-фрагменту, який містить 100 – 200 залишків аденілової кислоти – «полі(А)-хвіст». Полі(А)-хвіст визначає стабільність мРНК і час її життя у клітині. Крім того, у еукаріот полі(А)-хвіст можливо сприяє виходу мРНК з ядра у цитоплазму, а також є важливим для регуляції трансляції мРНК.

Біосинтез протеїнів (**трансляція**) – найважливіший етап реалізації генетичної програми клітин, у процесі якого інформація, закодована у первинній структурі нуклеїнових кислот, трансформується у амінокислотну послідовність протеїнів. Трансляція відбувається у цитоплазмі. Трансляція здійснюється за правилами генетичного коду, відбувається на рибосомах. У її здійсненні бере участь три головні класи РНК (мРНК, рРНК і тРНК), а також велика група протеїнових чинників трансляції.

тРНК складаються приблизно з 80-ти нуклеотидів. Вторинна структура – листок конюшини. Вони переносять специфічні амінокислоти до місця синтезу пептидного зв'язку у рибосомі.

На тРНК розрізняють акцепторне стебло – до нього приєднується амінокислота, що відповідає за послідовність антикодонового триплету в антикодоновій петлі. Функція антикодону – пізнання та

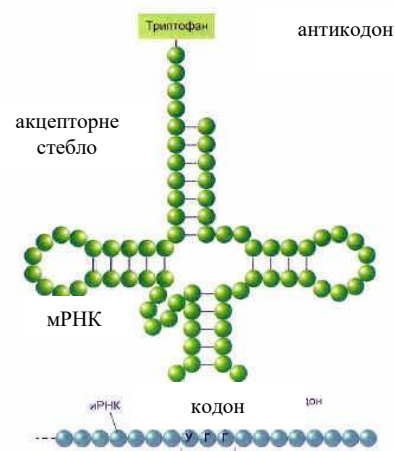


Рис. 8. 9. Пізнання тРНК кодону на мРНК

приєднання до кодону мРНК.

**Кодон** – послідовність трьох нуклеотидів (триплет) мРНК. Кожний кодон (триплет) кодує певну амінокислоту або є сигнальним.

Рибосомальні РНК (рРНК) – високомолекулярні РНК, каталітична складова рибосом. рРНК взаємодіє з мРНК і аміноацил-тРНК у процесі трансляції (рис. 8. 12). У ядрі рибосомальні РНК з'єднуються з рибосомальними протеїнами і формують нуклеопротеїн, званий рибосоною. Рибосома приєднується до мРНК і синтезує протеїн. рРНК складає до 80% РНК, що виявляється в цитоплазмі еукаріотичної клітини.

Спіралізуючись «самі на себе» формують вторинну і третинну структуру, й у такому вигляді є складовою частиною рибосом.

Особливості молекулярного апарату і механізми трансляції добре вивчені у бактерій і бактеріофагів, проте є усі обставини вважати, що основні принципи трансляції реалізуються і в еукаріотичних клітинах, але механізми регуляції протеїнсинтезуючої системи складніші.

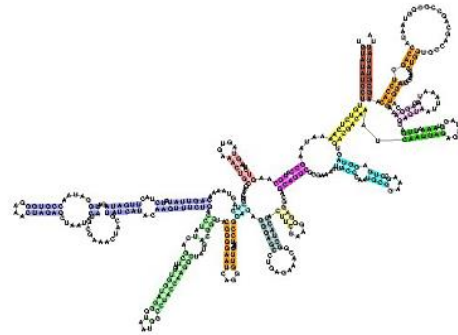


Рис. 8. 10. Вторинна структура рРНК

Отже, результатом трансляції є синтез поліпептидного ланцюга протеїнів. Серед протеїнів близько 50% ензими, каталітична активність яких призводить до синтезу усіх інших (непротеїнових) компонентів клітини і міжклітинної речовини.

**Змістовий ланцюг ДНК (5') – ТТЦ-АГТ-ЦАГ-ГАЦ-ГАТ-АЦГ – (3')**

**Матричний ланцюг ДНК (3') – ААГ-ТЦА-ГТЦ-ЦТГ-ЦТА-ТГЦ – (5')**



**Транскрипція**

**Матрична РНК (мРНК) (5') – УУЦ-АГУ-ЦАГ-ГАЦ-ГАУ-АЦГ – (3')**



**Трансляція**

**Пептидний ланцюг протеїну (NH<sub>2</sub>) - фен – сер – глі – асп – асп – тре -(COOH)**

Рис. 8. 11. Схема реалізації генетичної інформації, спосіб запису

У прокариотичних клітин синтез протеїнів і синтез РНК (транскрипція і трансляція) відбуваються одночасно. Усі процеси



відбуваються у цитоплазмі, бо немає ядра. РНК-полімераза транскрибує мРНК. До недосинтезованого транскрипту відразу приєднуються рибосоми і транслують його. У прокаріот немає посмугованості генів (наявності екзонів, інтронів), процесингу мРНК.

Передавання спадкової інформації у неспотвореному вигляді - найважливіша умова виживання як окремого організму, так і виду в цілому. Більшість змін у структурі ДНК небажані: вони призводять до шкідливих мутацій або блокують реплікацію ДНК і спричиняють загибель клітин. Вплив мутагенів середовища (УФ-випромінення, іонізуюча радіація, хімічні мутагени, температура) на ДНК є постійним. Тому у клітині повинні бути увесь час активними процеси репарації. **Репарація** – це процес виправлення помилок на ДНК в основі якого ферментативне видалення і повторний синтез ділянок ДНК, що отримали пошкодження під дією фізичних та хімічних агентів.

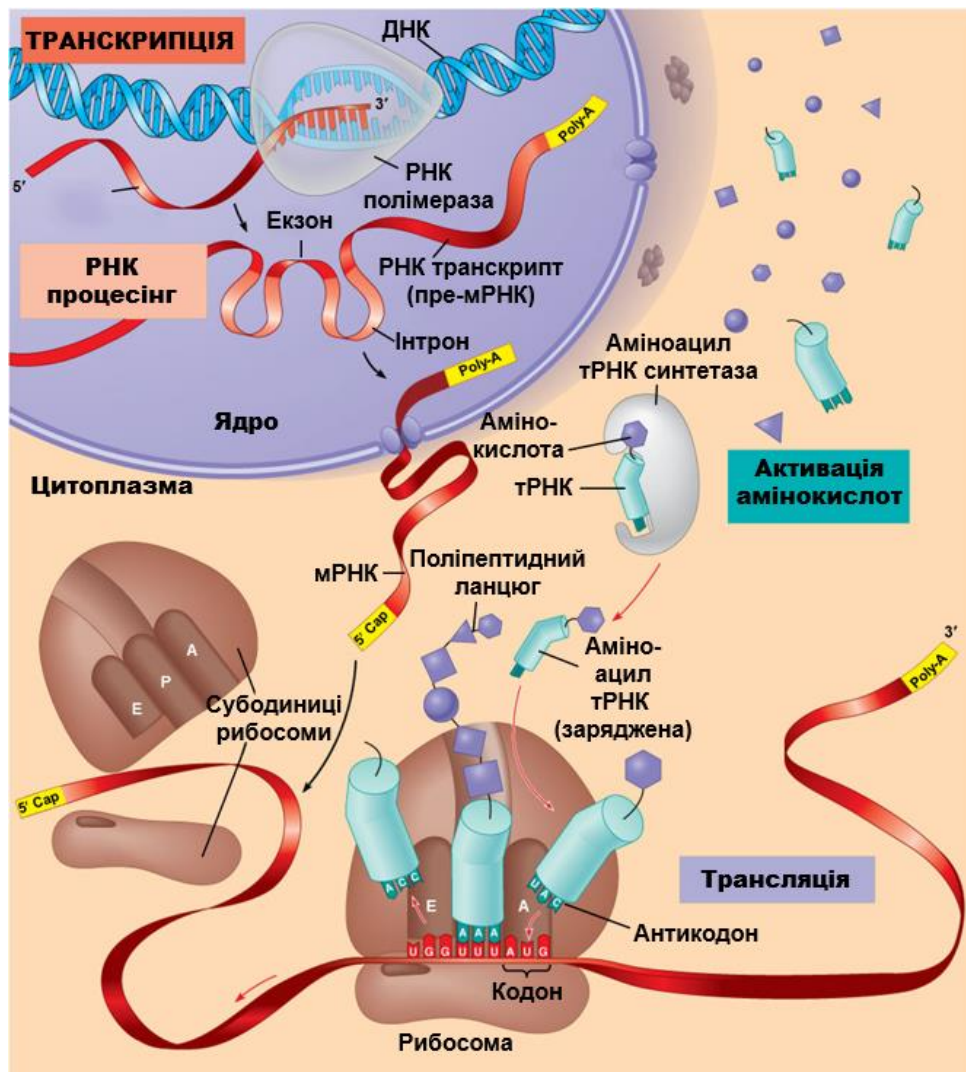


Рис. 8. 12. Загальна схема експресії генів. Аміноацил-тРНК-синтетази – ключові ензими трансляції, оскільки забезпечують активацію амінокислот шляхом приєднання їх до відповідних тРНК

## 8. 2. Структура рибосом

Якщо виділити рибосоми шляхом диференційного центрифугування й роздивитися у електронний мікроскоп, їх видно як щільні округлі гранули сферичної форми, які складаються із двох субодиниць: великої і малої. Рибосоми характеризуються коефіцієнтом або константою седиментації Сведберга (S), яка визначається ультрацентрифугуванням. Компоненти рибосоми теж прийнято позначати коефіцієнтами седиментації – коефіцієнтами пропорційності, що показують, наскільки зростає швидкість руху частинки при центрифугуванні зі зростанням відцентрової сили (швидкості обертання ротора центрифуги).

**Рибосоми** – немембранні органили синтезу протеїнів, складаються з рРНК і протеїну (звідти назва, з лат. *soma* – тіло). Властиві для прокаріотичних і еукаріотичних клітин, за винятком еритроцитів ссавців.

Кількість рибосом у клітині залежить від її синтетичної активності. Особливо багато рибосом у клітинах, які швидко діляться, та у таких, що продукують велику кількість протеїнів на експорт. Кількість рибосом у таких клітинах може досягти 50-ти тисяч, що становить близько 25% маси усієї клітини (наприклад, у печінковій клітині). Кожна рибосома транлює одну молекулу мРНК, синтезує одну молекулу протеїну. Іноді одну молекулу мРНК одночасно транлюють кілька рибосом, утворюючи полісому і збільшуючи швидкість синтезу протеїнів.

Види рибосом:

- малі, локалізуються у цитоплазмі прокаріот, пластидах і мітохондріях еукаріот. Молекулярна маса  $\approx 2,5 \times 10^6$  Да, константа седиментації 70S. Діаметр 15 нм;

- великі локалізуються у цитоплазмі клітин еукаріот. Молекулярна маса  $\approx 4,8 \times 10^6$  Да, константа седиментації 80S. Діаметр 22 нм.

І прокаріотична (мала), і еукаріотична (велика) рибосоми утворені двома субодиницями: великою і малою.

Маленька субодиниця **прокаріотичної рибосоми** з коефіцієнтом седиментації 30S, містить одну молекулу рРНК (16S) і 21 молекулу рибосомальних протеїнів, що позначаються як S1-S21 (від *small subunit*). Велика субодиниця містить дві молекули рРНК (23S і 5S) і протеїни L1-L36 (від *large subunit*) – цей комплекс седиментує з коефіцієнтом 50S. Об'єднання субодиниць дає

рибосому з коефіцієнтом седиментації 70S.

Мала субодиниця *еукаріотичної рибосоми* з коефіцієнтом седиментації 40S, містить одну молекулу рРНК (18S) і 33 молекули рибосомальних протеїнів, що позначаються як S1-S33 (від *small subunit*). Велику субодиницю складають дві рРНК, що міцно взаємодіють між собою (28S і 5,8S) і більша кількість протеїнів (50) – цей комплекс седиментує з коефіцієнтом 60S. Об'єднання субодиниць утворює рибосому з коефіцієнтом седиментації 80S.

Синтез еукаріотичних рРНК 18S, 5,8S і 28S здійснюється у ядерці, субодиниці рибосоми далі транспортуються до цитоплазми.

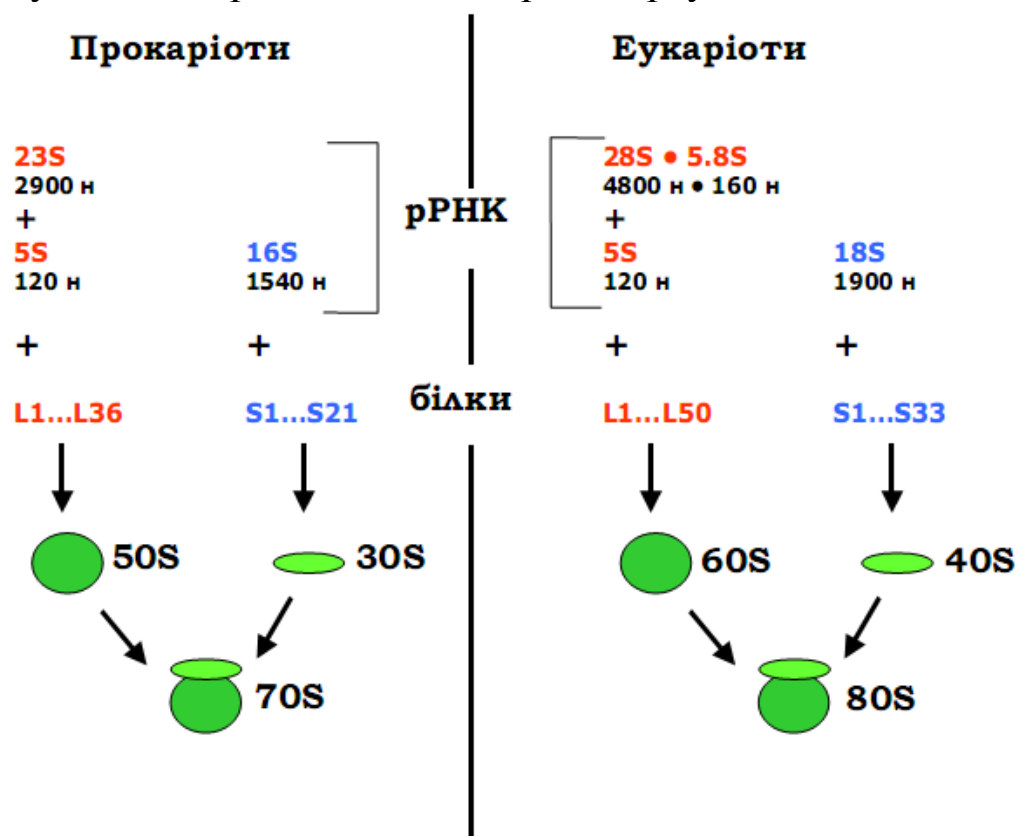


Рис. 8. 13. Порівняльна характеристика про- та еукаріотичних рибосом

Структура обох рибосом і принципи їхнього функціонування подібні. Остаточне збирання рибосоми із двох субодиниць, як про- так і еукаріотів, здійснюється при ініціації трансляції. Після трансляції вони дисоціюють на окремі

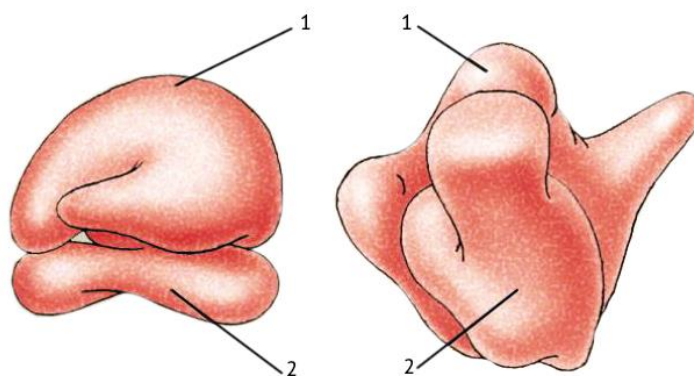


Рис. 8. 14. Велика (1) і мала (2) субодиниці рибосом

субодиниці і знову реасоціюються за потреби.

рРНК розташовані у центрі субодиниці, а рибосомальні протеїни – по периферії. В одній субодиниці усі протеїни різні. Рибосомальні РНК мають характерну вторинну структуру, яка створюється за рахунок особливих ділянок – шпильок, утворених комплементарно зв'язаними нуклеотидами. До складу рибосом входять поліаміни (діамінопропан, кадаверин, путресцин). Структурні протеїни рРНК, що мають лужні властивості, містять При зниженні концентрації йонів Магнію у розчині може виникнути зміна конформації РНК і її розгортання. Крім цього, у рибосомах виявлені катіони Кальцію.

Функції рибосом – участь у трансляції.

Синтез протеїнів на рибосомах починається з прикріплення рибосоми (її малої субодиниці) до ділянки на іРНК. На малій субодиниці рибосоми у місці її контакту з великою знаходиться іРНК-зв'язуюча ділянка. З рибосомою також взаємодіє тРНК у ділянці, яка утримує аміноацил-тРНК. тРНК до рибосоми транспортує амінокислоту, тому називається аміноацил-тРНК. Антикодомом тРНК контактує з комплементарним їй кодоном на іРНК. Між двома ділянками рибосоми знаходиться центр, який каталізує утворення пептидних зв'язків. Синтез протеїнового ланцюжка завершується звільненням оліго- чи поліпептиду від рибосоми. Рибосома, яка закінчила синтез пептидного ланцюга, дисоціює.

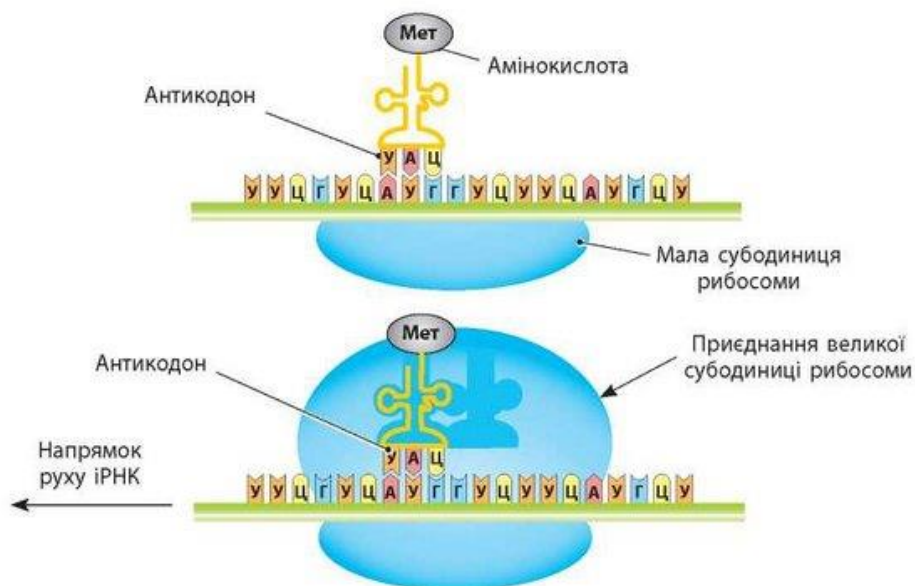


Рис. 8. 15. Трансляційний комплекс

**Утворення рибосом.** Матрицею для рРНК є гени ядерної ДНК. Виділяють декілька етапів утворення рибосом з відповідними

назвами. Еосоми (з грец. *eos* – рання зірка, початок) – синтезовані у ядерці рРНК; неосоми (з грец. *neos* – новий) – це комплекси рРНК-протеїн, яким властивий процесинг. Після процесингу, як окремі субодиниці, рибосоми потрапляють у цитоплазму, де за участі йонів  $Mg^{2+}$ , взаємодіючи з іРНК, формують рибосоми. «Нанизуючись» на нитку іРНК, утворюють полірибосоми (полісоми).

У прокаріот рибосоми утворюються в цитоплазмі внаслідок агрегації компонентів.

### Контрольні питання:

1. Етапи реалізації генетичної інформації.
2. Що таке ген?
3. Структура і функції ДНК, РНК.
4. Рівні упакування ДНК.
5. Морфологія хромосом.
6. Хроматин, види хроматину.
7. Транскрипція.
8. Процесинг.
9. Будова оперону.
10. Функціонування оперону.
11. Трансляція.
12. Будова прокаріотичної рибосоми.
13. Будова еукаріотичної рибосоми.
14. Функції рибосом.
15. Утворення рибосом.
16. Каріотип.
17. На підставі яких ознак при каріотипуванні встановлюється належність хромосоми до певної пари?
18. Які Ви знаєте типи хромосом людини залежно від розміщення центромери?
19. Як позначають статеві хромосоми і до якої групи їх відносять згідно з Денверською міжнародною класифікацією хромосом людини?
20. Які номери мають найменші метацентричні хромосоми?
21. Що таке метафазна пластинка?
22. Чи можна застосовувати метод виявлення Х-хроматину як експрес-метод діагностики спадкових хвороб?

## РОЗДІЛ 9. ГЕНЕТИЧНІ РЕКОМБІНАЦІЇ КЛІТИН. БІОЛОГІЧНІ ОБ'ЄКТИ ЯК ЧИННИКИ МІНЛИВОСТІ ЖИВИХ СИСТЕМ. ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ У БІОТЕХНОЛОГІЇ

### 9.1. Генетичні рекомбінації живих систем у природі

**Рекомбінації** – особливі феномени спадкової мінливості мікроорганізмів, які не пов'язані з мутаційним процесом. Рекомбінанти, що при цьому виникають, успадковують деякі ознаки обох «батьківських» клітин. Генетичні рекомбінації створюють невичерпне джерело різноманітних комбінацій генів, які природа використовує у процесі еволюції. Вважається, що здатність клітин до рекомбінацій детермінується особливими *rec*-генами (*recombination* - рекомбінація).

У мікроорганізмів мейоз відсутній, але генетичні рекомбінації у них теж виникають завдяки трансформації, трансдукції і кон'югації.

**Трансформація** – процес захоплення бактеріальною клітиною вільної молекули ДНК із середовища і вбудовування її у свій геном. На це звернув увагу Гриффітс у 1928 р. Досліджували у 1944 р. О. Евері, К. Маклеод та М. Маккарті.

**Механізм явища «трансформація» полягає у:**

- 1) адсорбції невеликого фрагмента двониткової ДНК (1/250-1/500 частина хромосоми клітини-донора) на поверхні клітини-реципієнта;
- 2) проникненні фрагмента у середину клітини;
- 3) інтегрування фрагмента ДНК у хромосому;
- 4) експресія рекомбінантів.

Процес інтеграції відбувається дуже швидко. Досліджено, що для появи рекомбінантів достатньо п'яти-десятихвилинного контакту клітини-реципієнта з ДНК донора, весь процес завершується через 2 год.

Природа **компетентності** (здатності приймати чужорідну ДНК) остаточно не з'ясована. Вважається, що вона зумовлюється наявністю особливого протеїна – компонента клітинної мембрани, здатного деградувати деякі структурні елементи клітинної поверхні. Таким чином, вивільняються рецепторні ділянки, з якими взаємодіє ДНК. Стан компетентності формується на певних стадіях розвитку бактеріальної клітини.

Трансформуючу активність ДНК можна призупинити:

- хімічними мутагенами;
- ультрафіолетовим;

- йонізуючим опроміненням;
- ензимом ДНКазою.

Здатність до трансформації виявлено у багатьох мікроорганізмів: представників родів *Bacillus*, *Neisseria*, *Haemophilus*, *Staphylococcus*, *Escherichia* та інших. За її допомогою можна надати організмові нових ознак: резистентності до антибіотиків, здатності метаболізувати різноманітні речовини, капсулоутворення тощо. Феномен трансформації можна використати для аналізу успадкування ознак клітиною бактерій, одержання шляхом гібридизації мікроорганізмів з новими властивостями.

**Трансдукція** – перенесення генетичного матеріалу в клітину за допомогою вірусів. Дослідили у 1952 р. Н. Ціндер і Д. Ледерберг.

Процес часто відбувається в ентеробактерій, псевдомонад, стафілококів та бацил. Специфічна трансдукція характеризується здатністю бактеріофагів переносити лише певні гени від бактерії донора, які локалізуються по обидві сторони від місця інтегрування фага у геном клітини. Наприклад, фаг I *E. coli* має сайт інтегрування у хромосому бактерій між генами *gag* і *bio*, які кодують відповідно ферментацію галактози й синтез біотину. При виході з бактеріальної хромосоми, він захоплює частину генетичного матеріалу донора (гени *gag* і *bio*), а сам при цьому втрачає частину власного геному. Такий бактеріофаг називають дефектним, тому що кількість власної ДНК обмежена за рахунок включення геному господаря. Бактеріофаг *j80* переносить тільки триптофановий ген кишкових паличок.

Під час формування головки бактеріофага і збирання фагових корпускул в його ДНК може інтегруватись будь-який фрагмент ДНК бактерії, наприклад, ген, що зумовлює резистентність до антибіотиків.

**Кон'югація** – прямий контакт двох клітин, який супроводжується перенесенням генетичного матеріалу від клітини-донора до клітини-реципієнта. Вперше це явище дослідили Д. Ледерберг та Е. Тейтум на моделі кишкової палички (1946 р.). Необхідною умовою для процесу кон'югації є наявність у клітині-донорі особливого фактору, який називається F-фактор (*fertility* – плідючість). Він є кон'югативною плазмідною, що існує автономно у цитоплазмі бактерії. Складається вона з генів переносу та генів, що кодують певні ознаки клітини. Бактерії з F-факторами позначаються як F<sup>+</sup>, а без нього – F<sup>-</sup> клітини. F-фактор детермінує утворення статевих ворсинок, отже, здатність клітин до кон'югації.

Процес кон'югації починається з того, що за допомогою статевих ворсинок клітина-донор торкається клітини-реципієнта, фіксує її та притягує до себе. Після цього плазмід починає реплікуватись, і одна її нитка передається реципієнтному штаму, а інша залишається на місці. Відбувається комплементарний синтез іншої нитки ДНК. Таким чином,  $F^+$ -фактор мають вже дві бактерії. Клітина, яка отримала кон'югативну плазмиду  $F$ , набуває здатності синтезувати статеві ворсинки на поверхні, отже, може сама кон'югувати. Частота цього процесу –  $10^{-6} - 10^{-8}$ . У деяких випадках  $F$ -плазмід здатна інтегрувати з хромосою. Якщо така інтеграція стабільна, утворюється клон клітин, у якому всі бактерії здатні вступати у кон'югацію з досить високою частотою –  $10^{-1} - 10^{-4}$ . Такий штам називають штамом *Hfr* (*high frequency of recombination* – висока частота рекомбінацій).

У багатоклітинному організмі, розмноженню якого передують статевий процес, теж задіяні процеси рекомбінації генетичного матеріалу. **Кросинговер** (англ. *crossing-over* – перехрест) – явище обміну ділянками гомологічних хромосом після кон'югації у профазі I мейозу.

Явище кросинговеру було доведено за допомогою введення у різні ділянки гомологічних хромосом ізотопних атомів (міток). Після завершення кросинговеру такі мітки, введені в одну з гомологічних хромосом, виявляли у відповідних ділянках іншої.

Закономірності процесу кросинговеру:

1. У профазі I мейозу гомологи кожної пари хромосом кон'югують, тобто зближуються з точним протистоянням гомологічних локусів;

2. Кросинговер відбувається тільки між хроматидами гомологічних хромосом, у гомологічних локусах;

3. У процесі кросинговеру беруть участь лише дві хроматиди з чотирьох, які є у кожному біваленті. Тому відсоток кросоверних гамет не перевищує 50%;

4. У точках кросинговеру несестринські хроматиди гомологічних хромосом розриваються, а потім з'єднуються, але вже у новому порядку;

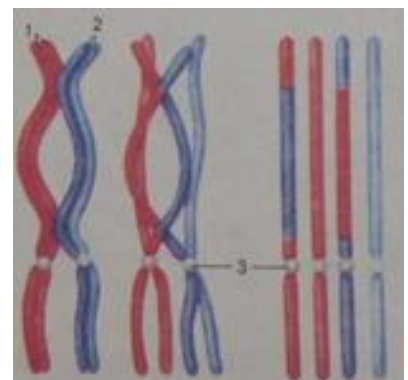


Рис. 9. 1. Схематичне зображення процесу кросинговеру: 1 – сестринські хроматиди однієї з гомологічних пар; 2 – сестринські хроматиди іншої гомологічної хромосоми; 3 – центромери



5. Частота, з якою відбувається обмін на ділянці хромосоми між двома конкретними генами, залежить від відстані між ними: при збільшенні відстані між генами однієї хромосоми, зростає ймовірність кросинговеру між ними;

6. Із збільшенням відстані між генами у групах зчеплення зростає ймовірність того, що на відповідній ділянці одночасно відбудеться кілька кросинговерів.

Рекомбінація відбувається у результаті фізичного розриву у хромосомах і їх наступне з'єднання з утворенням двох нових хромосом.

У ссавців процеси переміщення (транслокації, транспозиції) окремих генів або груп генів в інше місце геному (в межах тієї ж хромосоми або в іншу хромосому) характерні для генів В-лімфоцитів, що кодують утворення імуноглобулінів. Ці генетичні рекомбінації є механізмом, завдяки якому в організмі людини та тварин забезпечується синтез мільйонів різних антитіл у відповідь на проникнення в організм чужорідних антигенів. Також у геномі еукаріот є гени транспозони і ретротранспозони, які є мобільними (змінюють місце локалізації) елементами ДНК.

Отже, рекомбінація – процес, що доводить динамічність, мінливість геномів. Властивий усім живим організмам і є пристосувальною можливістю живої системи до зміни умов існування, прогресування.

Спостерігаючи за природними способами рекомбінації, людина навчилась скеровувати, використовувати їх для своїх потреб. Вивчено молекулярні механізми генетичних рекомбінацій: ферментативні процеси «розрізання» молекул ДНК та вклоновування у молекулу ДНК чужорідних фрагментів іншої хромосоми або ішого локуса тієї ж хромосоми, зшивання фрагментів ДНК-лігазами.

Механізми рекомбінації є невичерпним джерелом різноманітних комбінацій генів і ознак, що контролюються цими генами.

## 9. 2. Мутації

Мутації широко застосовують у селекції рослин та мікроорганізмів, а також використовують при розробці генетичних методів боротьби зі шкідливими хворобами.

Мутаційна мінливість – це поява нових ознак в організмі внаслідок раптових змін структури спадкових одиниць (генів, хромосом) та успадкування цих змін.

**Мутації** (лат. *mutatio* – зміна) – стійкі зміни генетичного матеріалу, що призводять до зміни тих або інших спадкових ознак організму. Зміни можуть стосуватись кількості або структури генів і їх носіїв – хромосом.

Порушення структури ДНК призводить до мутацій лише тоді, коли не здійснюється репарація.

**Мутагенез** – процес виникнення мутацій. **Мутант** – організм, що змінив свій фенотип внаслідок мутації. Мутації спричиняють фізичні, біологічні, хімічні мутагени, але при цьому поява тієї або іншої мутації не пов'язана з типом агента. Мутувати може будь-яка ділянка хромосоми.

Мутації класифікують:

- за причинами виникнення;
- за характером клітин, що мутували;
- за наслідками для організму;
- за характером змін генетичного матеріалу.



Рис. 9. 2. Класифікація мутацій

**Індукований мутаційний процес** – це виникнення спадкових змін під впливом направленої дії факторів зовнішнього і внутрішнього середовища. Виникнення мутацій без встановлених причин прийнято називати **спонтанним мутаційним процесом**.

**Соматичні мутації** відбуваються у соматичних клітинах і виявляються тільки у самої особини.

**Генеративні мутації** успадковуються нащадками і є матеріалом для природнього добору.

**Позитивні мутації** підвищують пристосованість і життєздатність організму, є причиною нової ознаки. Саме вони є

елементарним матеріалом, що лежить в основі прогресивної еволюції та біотехнологічних методів одержання нової ознаки організмом.

**За характером змін генетичного апарату розрізняють мутації:**

- генні або точкові (зміна молекулярної структури гена);
- геномні (зміна числа хромосом);
- хромосомні (зміна структури хромосом, хромосомні аберації).

Окремо виділяють *цитоплазматичні мутації*, причиною яких є мінливість органоїдів цитоплазми (мітохондрій, плазмід, пластид).

*Генні або точкові, мутації* – це мутації на рівні первинного ланцюга ДНК, які призводять до порушення амінокислотної послідовності протеїнів.

Зміна послідовності нітрогенвмісних основ гена відтворюється при транскрипції і призводить до зміни послідовності амінокислот у поліпептидному ланцюзі. Генні мутації не помітні у мікроскоп і виявляються за появою у нащадків зміненої ознаки, яку контролює мутований ген.

**Основні види генних мутацій:**

1. мутації заміни;
2. мутації вставки (інсерції);
3. мутації випадання (делеції);
4. мутації інверсії.

Мутації, при яких відбувається заміна пуринової основи на пуринову (А→Г) або піримідинової основи на піримідинову (Т→Ц), називаються *транзиціями*. За умови заміни пуринової основи на піримідинову і навпаки – *трансверсіями*.

Мутації заміни основ ведуть до появи міссенс- і нонсенс-мутацій.

*Міссенс-мутація* – заміна нуклеотиду у кодуєчій системі гена, яка веде до заміни амінокислоти у молекулі протеїна.

Заміни можуть бути нейтральними, наприклад, заміни нуклеотиду в кодоні АГА на АГГ не спричинить зміни амінокислоти у поліпептидному ланцюзі, оскільки той, й інший триплети кодують амінокислоту аргінін.

Коли замість триплету АГА, з'явиться триплет АГЦ, у поліпептидному ланцюзі замість негативно зарядженої амінокислоти аргініну виявиться незаряджена амінокислота серин. Це може призвести до зміни заряду протеїна, порушення його конформації, а якщо це ензим, – то й до зниження швидкості хімічної реакції, яку він

каталізує. У результаті можуть виникнути зміни метаболізму усього організму.

**Нонсенс-мутація** – заміна нуклеотиду у кодуєчій частині гена, що призведе до появи стоп-кодону на місці амінокислоти у поліпептидному ланцюзі.

**Інсерції** – мутації, за яких відбувається вставлення додаткового нуклеотиду у ген, **делеції** – видалення, що порушує декодування генетичної інформації.

GCU	GCU	GCU	GCU	GCU	GCU	GCU	<b>Дикий тип</b>
Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	<b>тип</b>
GCU	GCU	AGC	UGC	UGC	UGC	UGC	<b>Вставка (+1)</b>
Ala	Ala	Ser	Cys	Cys	Cys	Cys	
GCU	GCU	GCU	GCU	CUG	CUG	CUG	<b>Делеція (-1)</b>
Ala	Ala	Ala	Ala	Leu	Leu	Leu	

Рис. 9. 3. Приклад делецій та інсерцій

**Хромосомні мутації** (хромосомні перебудови, аберації) – зміни структури хромосом. Деякі з таких мутацій настільки змінюють морфологію хромосом, що їх видно у світловий мікроскоп на метафазних пластинках.

Розрізняють наступні хромосомні перебудови:

- **делеція (del)** – втрата ділянки хромосоми;
- **дуплікація (dup)** – подвоєння ділянки хромосоми;
- **інверсія** – поворот ділянки хромосоми на 180°;
- **транслокації (t)** – обмін ділянками між негомологічними хромосомами або перенесення ділянки хромосоми до іншого кінця тієї ж хромосоми.

**Геномні мутації** – це зміна числа хромосом у геномі клітини.

Геномними мутаціями є:

- **поліплоїдія** – це збільшення диплоїдного числа хромосом шляхом кратне цілому гаплоїдному набору внаслідок порушення мейозу (триплоїдія, тетраплоїдія, пентаплоїдія, гексаплоїдія);
- **анеуплоїдія, або гетероплоїдія** – це некратна гаплоїдному зміна числа хромосом у результаті порушення мейозу і мітозу (+1,

+2, ..., -1, -2, ...). Анеуплоїди виникають внаслідок нерозходження окремих гомологічних хромосом у мейозі або хроматид у мітозі.

### 9.3. Мутагенні фактори та антимутаційні бар'єри клітини

**Мутагени** (мутагенні фактори) – це фактори, здатні спричиняти мутації.

Розрізняють:

- **екзомутагени** – мутагени, що впливають на клітину зовні (хімічні, біологічні, фізичні);
- **ендомутагени** – мутагени, що утворюються у процесі метаболізму клітини і спричиняють порушення реплікації, транскрипції, трансляції, репарації, гени-мутатори.

До **фізичних мутагенів** належать різні види випромінювань, температура, вологість тощо, вони порушують структуру генів і хромосом або сприяють утворенню вільних радикалів, що вступають у хімічну взаємодію з ДНК; спричиняють розриви ниток ахроматинового веретена ділення; утворення димерів нуклеотидів.

Бурхливий розвиток науки й техніки спричинив появу численних **хімічних сполук**, що відрізняються високою мутагенністю. Вони потрапляють в організм людини і тварин з водою, повітрям, продуктами харчування. Чимало пестицидів і нітратів, що використовуються як мінеральні добрива, є мутагенно небезпечніші, ніж радіація. Виражений мутагенний ефект мають органічні розчинники – епоксиди й етиленаміди. Різноманітні хімічні сполуки з високою мутагенною активністю містяться у відпрацьованих газах автомобільних двигунів: Плюмбум, Нітроген оксид, вуглеводні, формальдегід і компонент бензину, що діє як антидетонатор, триметилфосфін. Чимало речовин, що використовуються у харчовій промисловості, також мутагенні для людини (похідні саліцилової кислоти, пропіленгліколь, нітрати Калію й Натрію та інші).

До **біологічних мутагенів** відносять віруси, невірусні паразитуючі агенти (мікоплазми, бактерії, рикетсії, найпростіші, гельмінти).

У 1958 р. генетик С. І. Аліханян довів, що віруси спричиняють мутації у актиноміцетів. Встановлено, що у клітинах, уражених вірусами, мутації спостерігаються значно частіше, ніж у здорових клітинах.

**Антимутаційні бар'єри клітини** – механізми, які виникли у ході еволюції і послаблюють несприятливий ефект генних мутацій.

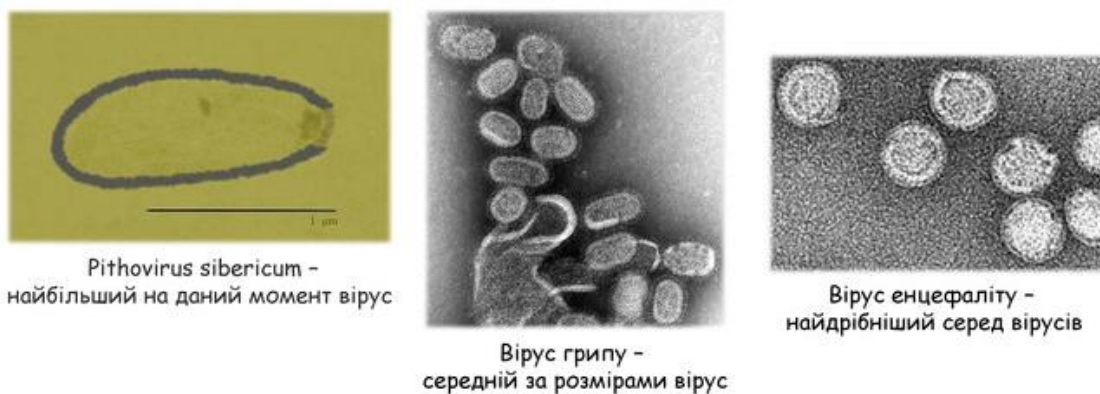
Це:

- функціонування ДНК-полімерази, яка забезпечує точність реплікації ДНК і коректує помилки;
- механізми репарації структури ДНК;
- виродженість генетичного коду;
- триплетність генетичного коду;
- фактор захисту від несприятливих наслідків генних мутацій – парність хромосом у диплоїдному каріотипі соматичних клітин еукаріот. Парність алелей генів запобігає фенотиповому прояву мутацій, якщо вони мають рецесивний характер;
- дублювання клітинних структур;
- механізми антиоксидантного захисту (ферментативні і неферментативні), гідрофільні і гідрофобні – запобігають утворенню і ліквідують вільні радикали у клітинах.

#### 9. 4. Віруси як мутагенні фактори і біотехнологічні об'єкти

**Віруси** (з лат. *virus*, отрута) – неклітинні, найменші за розмірами агенти, що мають геном, оточений капсидом. Віруси не відтворюються самостійно, вони – облігатні внутрішньоклітинні паразити, які розмножуються тільки у живих клітинах. У наш час відомі віруси бактерій (бактеріофаги), грибів, рослин та тварин, людини.

Вдосконалення електронної мікроскопії дозволило детально вивчити морфологію та організацію вірусних частинок. У 1956 р. встановлено, що нуклеїнові кислоти вірусів можуть мати інфекційні властивості. Цей факт став основою відкриття механізму розмноження вірусів. Успіх у розробці вакцин проти багатьох вірусів: віспи, сказу, поліомієліту, кору, жовтої лихоманки та інших уможливив ефективну боротьбу з вірусними інфекціями людини.



*Pithovirus sibericum* – найбільший на даний момент вірус

Вірус грипу – середній за розмірами вірус

Вірус енцефаліту – найдрібніший серед вірусів

**Рис. 9. 4. Різноманітність віріонів**

Зацікавлення вірусологією пояснюється по-перше, тим, що вірусам належить провідна роль в інфекційній патології людини. По-

друге, на моделях вірусів вирішують багато фундаментальних питань біології. Одним з найбільших внесків вірусології у сучасну науку вважають відкриття ензиму зворотної транскриптази, використання якої лежить в основі генної інженерії.

Відмінності вірусів від інших живих об'єктів:

- субмікроскопічні розміри;
- неклітинна будова;
- містять тільки один тип нуклеїнових кислот – або ДНК, або РНК;
- не мають власних енергосинтезуючих систем – мітохондрій;
- не мають власних метаболічних систем – рибосом;
- облігатні внутрішньоклітинні паразити;
- нездатні до культивування на штучних синтетичних середовищах;
- не ростуть;
- розмноження шляхом диз'юнктивної репродукції (відбувається процес «роздягання» віруса перед проникненням до клітини або після);
- можливість інтеграції у клітинний геном і синхронної з ним реплікації.

Віруси існують у формах:

- позаклітинна форма існування – **віріон** – характеризується усіма складовими елементами (капсид, нуклеїнова кислота, структурні протеїни, ензими);
- внутрішньоклітинна – **вірус** – характеризується лише однією молекулою нуклеїнової кислоти, адже проникаючи у клітину, віріон розпадається на складові частини;
- **інтегративний вірус**. Вірус існує у формі провірусу – геном вірусу входить до складу геному клітини-господаря. Характерні для бактеріофагів, деяких ДНК-вірусів, ретровірусів.

Форми віріонів:

- паличкоподібні;
- кулеподібні;
- сферичні;
- сперматозоїдні.

Головний критерій поділу вірусів на родини:

- наявність ліпопротеїнової оболонки;
- тип нуклеїнової кислоти.

#### **9. 4. 1. Будова віріона.**

Центральну частину віріона займає нуклеїнова кислота (ДНК або РНК), що виконує функції геному. Нуклеїнову кислоту вірусів оточує капсид (від лат. *capsa* – футляр).

Розрізняють прості і складні віруси. **Прості (безоболонкові) віріони** складаються з нуклеїнової кислоти й капсиду. Капсид складається з морфологічних субодиниць, що повторюються – капсомерів. Нуклеїнова кислота й капсид взаємодіють один з одним, утворюючи нуклеокапсид.

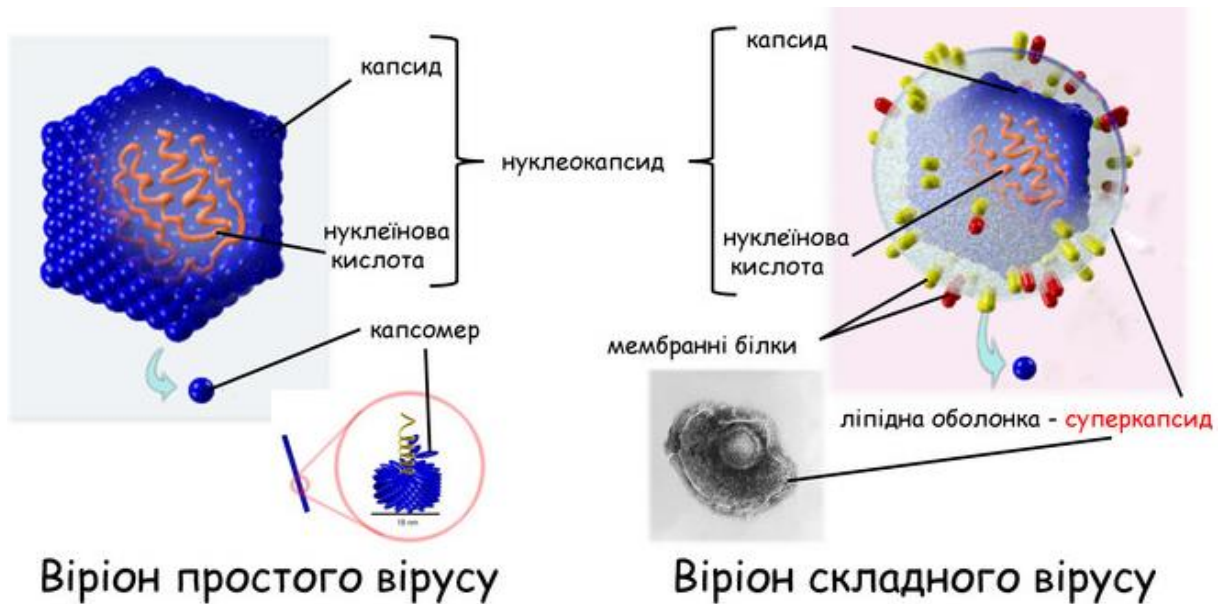


Рис. 9. 5. Структура віріонів

**Складний віріон** має капсид, зовні оточений ліпопротеїновою оболонкою – суперкапсид. Ця оболонка є похідною структурою від мембран вірус-інфікованої клітини. Під оболонкою деяких вірусів міститься матриксний М-протеїн.

Капсид і суперкапсид захищають віріони від впливу навколишнього середовища (фізичних і хімічних факторів), від ензимів нуклеаз, обумовлюють вибіркиму взаємодію (адсорбцію) із клітинами, визначають антигенні й імуногенні властивості віріонів. Внутрішні структури вірусів називаються серцевиною.

### Нуклеїнові кислоти вірусів.

Віруси містять тільки один тип нуклеїнової кислоти (ДНК, або РНК), але не обидва відразу. Наприклад, віруси віспи, простого герпесу, Епштейна-Барр – ДНК-віруси, а тогавіруси, пікорнавіруси – РНК-віруси. Геном вірусної частинки гаплоїдний. Найбільш простий вірусний геном кодує 3-4 протеїни, найбільш складний – більше, ніж 50 поліпептидів. Нуклеїнові кислоти: одноланцюгова РНК (вийняток



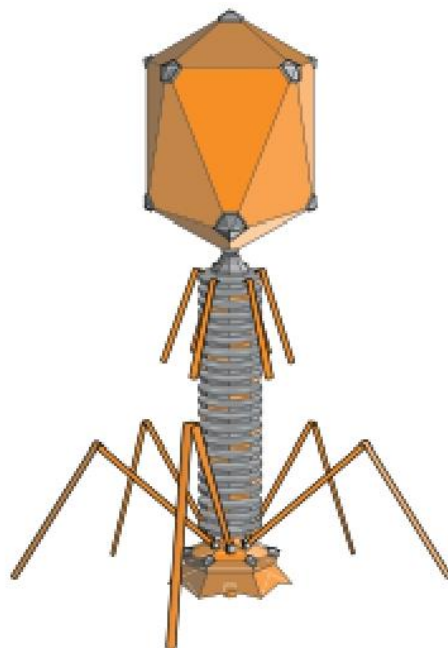
ретровіруси, геном яких утворений дволанцюговою РНК) або дволанцюговими ДНК (вийняток паровіруси, у яких геном утворений тільки одноланцюговою ДНК). У вірусу гепатиту В дволанцюгова ДНК має ланцюги не однакової за розмірами.

Транскрипція вірусної ДНК (синтез мРНК) відбувається у ядрі інфікованої вірусом клітини. У вірусній ДНК на кінцях молекули знаходяться прямі та інвертовані (повернуті на 180°) нуклеотидні послідовності, що повторюються. Вони дозволяють молекулі ДНК замикатися у кільце. Ці послідовності є своєрідними маркерами вірусної ДНК.

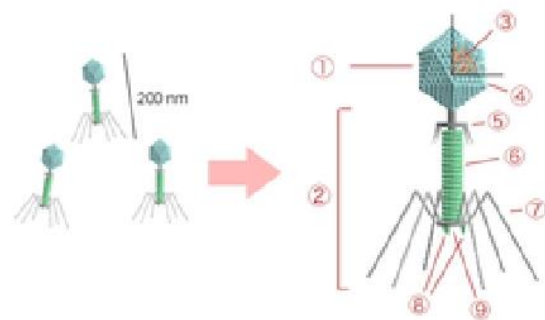
**9. 4. 2. Бактеріофаги** – група вірусів, які паразитують у бактеріальних клітинах. Віруси, які, розмножуючись, спричиняють загибель інфікованих бактерій, відомі як літичні бактеріофаги.

Бактеріофаги досить поширені у природі – їх виділяють з води, ґрунту, організмів різних тварин та людини. Бактеріофаги стійкі до дії різних фізичних та хімічних чинників. Більшість з них легко витримують високі температури (50 – 70 °С), дію дезинфікантів (за винятком кислот та формаліну), пряме сонячне світло, УФ-випромінення у низьких дозах.

У електронний мікроскоп можна розглянути їх форму пуголовка або сперматозоїда, нитки, куба, розміром від 20-ти нм до 800 нм.



Структура типового віруса бактеріофага.



1 - голівка, 2 - хвіст, 3 - нуклеїнова кислота, 4 - капсид, 5 - "комірець", 6 - білковий чохол хвоста, 7 - фібрила хвоста, 8 - шипи, 9 - базальна пластинка

**Рис. 9. 6.** Будова бактеріофага  $\lambda$

У голівці фага  $\lambda$  міститься нуклеїнова кислота – ДНК, рідше РНК, яка оточена протеїновим капсидом. У середині хвостового відростка є порожній циліндричний стрижень, що поєднується

отвором з головкою, зовні – чохол, здатний скорочуватися. Хвостовий відросток закінчується шестикутною базальною пластиною з короткими шипами, від яких відходять ниткоподібні структури – фібрили.

### 9. 4. 3. Репродукція вірусів.

#### Етапи репродукції вірусів:

1. Адсорбція (прикріплення) віріонів на мембрані клітини. Адсорбція відбувається шляхом взаємодії віріону зі специфічними клітинними рецепторами. За розпізнання рецепторів відповідальні протеїни, що входять до складу капсиду або суперкапсиду;

2. Проникнення у клітину. «Голі» віруси проникають у клітину шляхом ендоцитозу – занурення частини клітинної мембрани у місці їх адсорбції;

3. Депротейнізація («роздягання») і вивільнення вірусного геному вірусів, які проникли разом з капсидом. «Роздягання» вірусів відбувається за допомогою ензимів у лізосомах, перинуклеарному просторі або на ядерній мембрані;

4. Синтез вірусних компонентів у клітині-господарі;

5. Збирання і формування вірусів;

6. Вихід зрілих вірусів із клітини. Віруси, у яких відсутній суперкапсид, зазвичай вивільняються швидко. Вихід дочірніх популяцій супроводжується руйнуванням цитоплазматичної мембрани та лізисом клітини.

**Лізогенні (помірні) бактеріофаги** інфікують бактеріальні клітини за лізогенним типом – без загибелі клітини-господаря. У цьому випадку фаги інтегрують свою ДНК у ДНК господаря, такий геном – **провірус** – може успадковуватись новими фаговими генераціями та іншими клітинами популяції бактерій. Тільки серед невеликої кількості лізогенних бактерій, спонтанно або внаслідок дії мутагенних факторів, лізогенна інфекція може змінитись на літичну, у результаті якої гине клітина-господар.

Бактерії, що носять помірний фаг, називають лізогенними, присутній у них фаг – профагом, а симбіоз клітини бактерій з фагом – лізогенією. Лізогенізація бактерій супроводжується зміною їхніх морфологічних, культуральних, ферментативних, антигенних і біологічних властивостей, чутливості до антибіотиків, що отримало назву **фагової конверсії**. Для деяких бактерій (наприклад, коринебактерій, дифтерії) здатність синтезувати екзотоксини детермінована саме внутрішньоклітинними фагами. Унаслідок

конверсії лізогенія забезпечує бактеріальну клітину певними перевагами (наприклад, резистентністю до дії інших фагів) та надає можливість трансдукції (процес переносу бактеріальних генів від однієї клітини до іншої за допомогою фага).

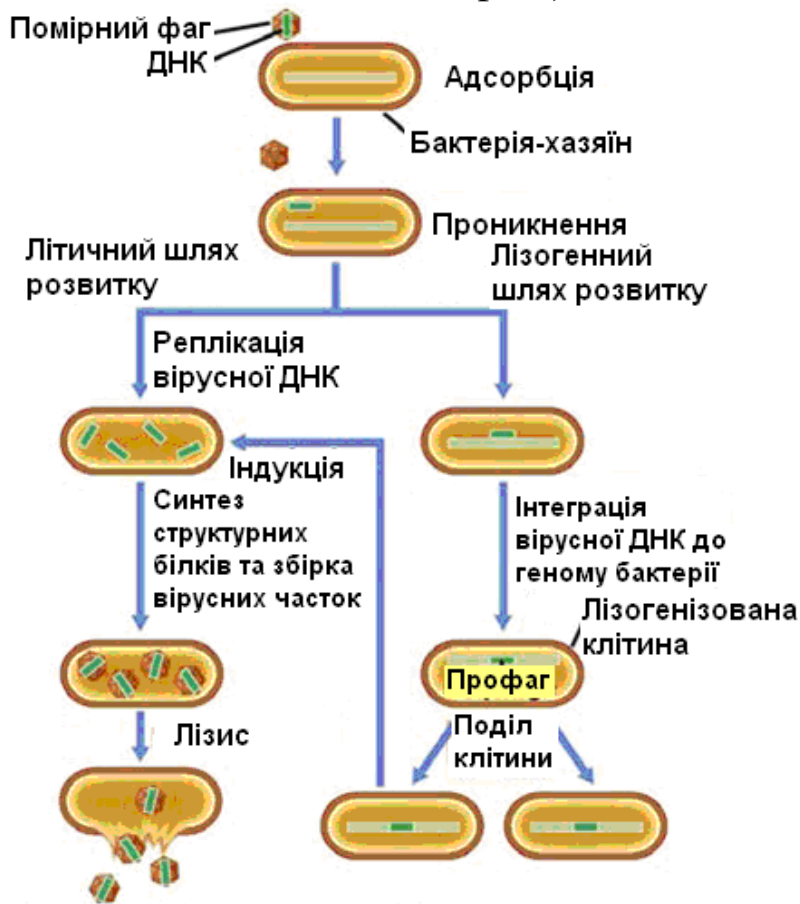


Рис. 9. 7. Життєвий цикл вірусів на прикладі помірної фага

### 9. 5. Значення вірусів, зокрема у біотехнології

Сучасні дослідження встановили наявність у складі як ДНК-, так і РНК-геномних вірусів генів, що відповідають за їх онкогенні властивості. Онкогени містяться у геномі вірусів (*v-onc*) і у геномі нормальної клітин як їх неактивовані попередники протоонкогени (*c-onc*). Відповідно механізми вірусного канцерогенезу, або пов'язані з активуванням *c-onc*, або експресією інтегрованих *v-onc*, які сприяють неконтрольованій проліферації клітини.

Проте, віруси не можна розглядати як виключно шкідливі об'єкти. Деякі віруси приносять користь у різних сферах людської діяльності або можуть мати практичне застосування:

**1. Визначення штамів бактерій за допомогою бактеріофагів.** У окремих груп бактерій, таких як деякі види роду *Salmonella*, штамми виділяють на основі спектру фагів, до яких вони сприйнятливі. Ідентифікація бактерійних ізолятів забезпечує важливу

епідеміологічну інформацію при спалахах захворювань, що спричиняються цими бактеріями;

**2. Віруси як джерело ензимів.** Низка ензимів, які використовують у молекулярній біології, є ензимами вірусів. Прикладом є зворотна транскриптаза ретровірусів або РНК-полімераза фагів;

**3. Віруси як пестициди.** Деяких комах-шкідників контролюють за допомогою бакуловірусів, а вірус міксоми (збудник міксоматозу) використовується для контролю чисельності кроликів;

**4. Віруси як антибактеріальні агенти.** У середині 20-го століття бактеріофаги використовували для лікування деяких бактерійних захворювань людини. Цікавість до них зникла після відкриття антибіотиків, проте знову актуальні з появою стійких до антибіотиків штамів бактерій;

**5. Віруси як протираковинні агенти.** Проводяться дослідження з обробки злоякісних пухлин генетично модифікованими штамми вірусів, таких як вірус простого герпесу і вірус коров'ячої віспи. Ці штами модифіковані таким чином, що вони специфічно уражають та руйнують клітини пухлини і не здатні уражати нормальні клітини.

**6. Віруси як вектори у терапії генетичних захворювань.** Діти з важким комбінованим імунodefіцитом успішно лікуються з використання ретровірусу як вектору для вбудовування у стовбурові клітини немутантних копій генів, які мутували і стали причиною захворювання.

**7. Віруси як вектори для генної інженерії.** Віруси, такі як певні бакуловіруси і аденовіруси, бактеріофаги використовують як вектори для вбудовування генів у клітини тварин, що ростуть у культурі.

### **Контрольні питання:**

1. Рекомбінація.
2. Можливості мінливості генетичного матеріалу у природі.
3. Мутації.
4. Кросинговер.
5. Класифікація мутацій.
6. Мутагенні фактори.
7. Геномні мутації.
8. Генні мутації.
9. Хромосомні мутації.

10. Класифікація і будова вірусів.
11. Порівняння вірусів із клітинною формою життя.
12. Репродукція вірусів.
13. Лізогенія.
14. Літичний шлях репродукції.
15. Використання вірусів у біотехнології, медицині, сільському господарстві.
16. Вірус як чинник зміни геному клітини.

## РОЗДІЛ 10. МОРФОЛОГІЧНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ДИФЕРЕНЦІЙОВАНИХ КЛІТИН. ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ, РЕГЕНЕРАЦІЯ ТА СТАРІННЯ

### 10.1. Диференціація клітин

Розвиток організму супроводжується двома процесами: **клітинною проліферацією** (від лат. *proles* – нащадок, потомок і *phero* – несу) – ділення клітин та диференціацією (від лат. *differentia* – відмінність). Диференціація клітин (цитодиференціація) зазвичай відбувається після проліферації.

**Клітинна диференціація** – це сукупність процесів у результаті яких клітини, що мають спільне походження різняться морфологічно та функціонально. Відбувається у ембріогенезі та постнатальному періоді розвитку організму.

Результатом клітинної диференціації є:

- синтез специфічних протеїнів (рецепторів, маркерів клітинної поверхні, ензимів у цитоплазмі);
- зміна структури клітини порівняно з вихідною.

Кожна диференційована клітина володіє властивим їй спектром **протеїнів «розкоші»** – вузькоспеціалізованих протеїнів. У фібробластах синтезується колаген, покривному епітелії – кератин; міобластах – актин, міозин; фоторецепторах – опсин; еритроцитах – гемоглобін; епітеліальних клітинах травного тракту – пепсин, трипсин; клітинах імунної системи – імуноглобуліни.

Для недиференційованої клітини характерно:

- відносно велике ядро;
- високий ядерно-цитоплазматичний індекс;
- добре виражене ядро;
- неконденсований хроматин;
- багато рибосом;
- інтенсивний синтез РНК;

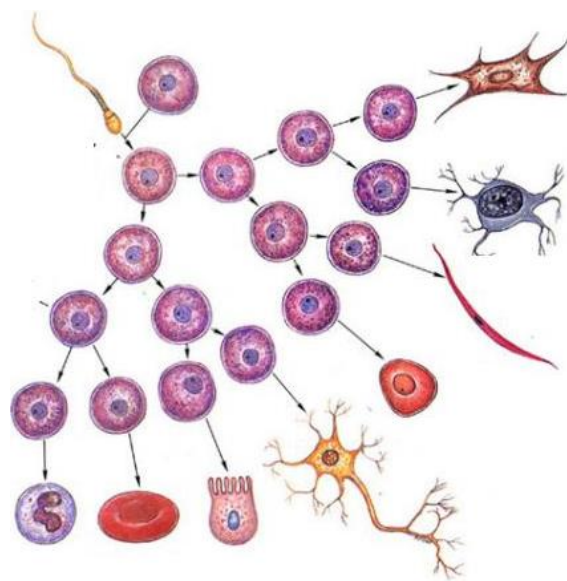


Рис. 10. 1. Загальна схема формування специфічних властивостей клітини

- висока мітотична активність;
- неспецифічний метаболізм.

Недиференційованою клітиною, клітиною від якої походять усі типи клітин багатоклітинного організму є зигота. Власне зигота володіє **тотипотентністю** – здатністю відтворення цілого організму з однієї клітини. У результаті мітозу ця клітина ділиться на дві дочірні (**бластомери**), які успадковують її генетичну інформацію. Ці дві дочірні клітини спільно беруть участь у розвитку організму. Іноді вони відокремлюються і кожна з них відтворює окремий організм. Результат – народження однойцевих близнюків. Цей факт – підтвердження того, що бластомери є тотипотентними клітинами. Буває народження чотирьох, рідко п'яти, однойцевих близнюків. Отже, впродовж перших трьох поділів дроблення утворюються тотипотентні клітини.

При наступних діленнях бластомерів формується сукупність клітин, яке називають **морулою**. Клітини морули у певній мірі відрізняються між собою, втрачають тотипотентність. Відбуваються **перші етапи диференціювання клітин** – набуття відмінностей від вихідних клітин, зокрема втрата властивості тотипотентності, поява нових ознак. Диференціація зародка відбувається поступово, пов'язана з виникненням різних типів клітин. У різних клітинах

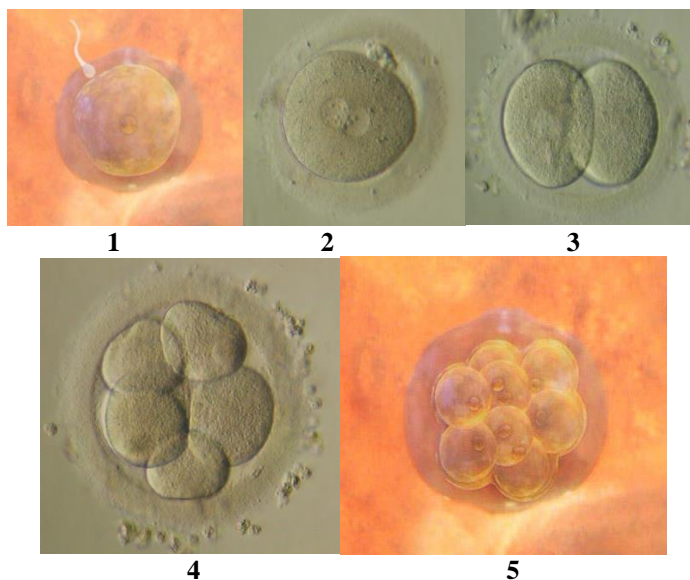


Рис. 10. 2. Етапи ембріогенезу:  
1 – запліднення; 2 – зигота; 3 – два бластомери; 4 – 6  
бластомерів; 5 – морула.

однакова кількість ДНК, однаковий набір генів, але різна їх активність (одні експресуються, інші репресуються). На ранніх етапах ембріогенезу для обрання клітиною шляху диференціації визначальним є роль факторів мікрооточення. У фазі метафази цитоплазма теж відіграє роль фактора, який затний репресувати одні гени і експресувати інші. Наковцями такі механізм ще

до кінця не з'ясовано.

Отже, з кожним діленням клітина рухається униз по драбині онтогенезу, наближаючись все більше до **термінального**

**диференційованого стану** – стану, коли клітина не здатна набувати нових ознак і ділитися, – поступово втрачаючи потенціал можливості перетворення у різні типи клітин. Це як квиток в одну сторону.

За норми будь-яка диференційована клітина не повертається у недиференційований стан, не стає стовбуровою клітиною. Винятком є цитодиференціація у рослин і нижчих тварин. Для цих організмів – це процес зворотний.

У випадках, коли пошкоджена тканина регенерує чи відбулась злаякісна трансформація клітини, досліджено часткову **дедиференціацію** – зворотній процес до диференціації. Такі клітини втрачають ознаки набуті під час диференціації, зовні нагадують мало диференційовані клітини зародка.

Основним механізмом клітинної диференціації є **гіпотеза диференціальної експресії генів у ознаку**. **Експресія генів у ознаку** – це складний багатоетапний процес.

Клітині властива детермінованість. У процесі диференціювання клітини включені (експресуються) гени, що скеровують її розвиток одним шляхом. У той же ж час інші гени, продукти яких не властиві для даного типу клітини, мають бути репресованими, навіть за наявності у середовищі фактору, який здатний їх активувати. Цей механізм називається **детермінацією**. Детермінована клітина є клітиною, запрограмованого визначеного типу. Фактори середовища не можуть включити/виключити її інші гени і задіяти процеси зміни спеціалізації детермінованої клітини. Дочірніми клітинами успадковується і генетична інформація ДНК материнської клітини, і механізми, які активують/репресують її гени. Таке явище називають **клітинною пам'яттю**, механізми якої вивчаються.

Диференційовані клітини експресують чітко визначену частину геному, транскрибують специфічні РНК і синтезують специфічні протеїни, що й визначає морфологічні та функціональні ознаки спеціалізації клітин. Отже, відмінності між клітинами, які мають однаковий набір генів, **визначає диференціальна активність генів**.

Коли мікросередовище все-таки здатне ефективно сприяти експресії та репресії генів, говорять про компетентність клітин. Клітина, що здатна реагувати на фактори середовища і перетворюватись завдяки ним у клітину іншого типу, називається **компетентною**. Прикладом є стовбурові клітини. Аналіз культур стовбурових клітин довів, що у одному клоні мезенхімальних стовбурових клітин синтезується 1200 мРНК. У різних стовбурових



клітинах схожий набір мРНК. На різних етапах диференціації цих клітин спостерігається зміна спектру експресованих генів: з ускладненням рівня диференціації клітини, зменшується кількість експресованих генів. Отже, у стовбурових клітинах прослідковується загальний принцип онтогенезу – функція генів «на випередження», тобто синтез тих мРНК, які будуть потрібні на пізніших стадіях розвитку.

Диференціація проявляється у формі клітини, внутрішній і зовнішній будові, клітинних контактах. Наприклад, міобласти витягнуті, зливаються один з одним, у них наявні міофібрили, вони здатні до скорочення; у нейробластів збільшується ядро, з'являються відростки для взаємодії з іншими клітинами, здатні передавати нервові імпульси.

Досліджено, що на ранніх етапах ембріогенезу у клітинах експресуються гени, які запускають каскад експресування генів, від яких залежить спеціалізація клітини, формування органів, зародкових листків. Так, у дрозофіли є ген *eyeless*, який обумовлює розвиток ока. Якщо його заставити експресуватись і нетиповому місці, можна спровокувати розвиток ока на черевці, лапках, крилі. Такі гени досліджено й у ссавців. Ген *pdf-1* запускає розвиток підшлункової залози, а ген *HOX-11* – розвиток селезінки, ген *Crypto* – розвиток серця, мутації гена *HOXD13* є причиною полідактилії.

Досліджено гени, що відповідають за розвиток окремих зародкових листків. Так, мутація гена *casanova* блокує розвиток ентодерми, а генів *Brachiury* і *zeta-globin* – усієї мезодерми. Під контролем гену *Wn17* відбувається формування альвеолярного епітелію, гену *HOX* групи *d* – остеобластів.

У тканинах зазвичай присутні клітини різного ступеня диференціації, серед них є стовбурові, диференційовані, старі. Таку закономірну сукупність клітин певного типу тканини називають дифероном. **Диферон** (від лат. *differo* – розповсюджувати), або гістогенетичний ряд – це угруповання усіх клітин, які складають ту чи іншу лінію диференціації – від найменш диференційованих (стовбурових) до найбільш зрілих – диференційованих.

## **10. 2. Роль диференціації і стовбурових клітин у процесах регенерації клітини**

**Регенерацією** називається утворення нової тканини на місці відмерлої. У здоровому, нормальному організмі увесь час відбувається фізіологічна регенерація клітин; постійно злущується

відмерлий зроговілий шар епідермісу, і замість нього у внутрішньому шарі шкіри розмножуються нові клітини. Таке ж злущування покривного епітелію відбувається і на слизових оболонках. У кровоносних судинах еритроцити зазвичай живуть 60 – 120 днів. Отже, приблизно впродовж 2-ох місяців відбувається повне їх оновлення. Подібно систематично поповнюються лейкоцити й інші формені елементи крові.

Регенерація тканин відбувається унаслідок проліферації недиференційованих, що мають здатність не лише ділитися під дією відповідних стимулів, але також диференціюватися у клітини тієї тканини, регенерація якої відбувається. Цю функцію виконують **дорослі стовбурові клітини**. Багато тканин дорослого організму, такі як тканини гемопоетичної системи, епітелій травного тракту, червоний кістковий мозок, епідерміс, легені містять пул таких клітин.

Дві унікальні особливості характеризують дорослі стовбурові клітини: здатність генерувати нові плюрипотентні стовбурові клітини і здатність утворювати спеціалізовані клітини. Досліджено, що мікрооточення стовбурових клітин забезпечує необхідні сигнали для подальшої поведінки цих клітин. На жаль, втрата організмом контролю над поведінкою цих клітин може призводити до трансформації клітин і раку.

Диференційовані клітини разом з виконанням своїх специфічних функцій здатні синтезувати особливі речовини – **кейлони**, що гальмують інтенсивність розмноження клітин-попередників і стовбурових клітин. Якщо у силу яких-небудь причин кількість диференційованих функціонуючих клітин зменшується (наприклад, після травми), гальмівна дія кейлонів слабшає і чисельність популяції відновлюється. Окрім кейлонів (місцевих регуляторів), клітинне розмноження контролюють гормони.

Для підтримання і збереження гомеостазу організмові потрібні жорсткі системи регуляції процесів, що протікають на молекулярному, клітинному і організмовому рівнях. Отже, щоб уникнути формування злоякісних новоутворень, у кожній клітині організму, що ділиться, сформувались механізми контролю ділення. Причому цей контроль здійснюється як позаклітинними, так і внутрішньоклітинними чинниками.

У процесі старіння організму не лише знижується проліферативна активність клітин, але порушуються процеси, що регулюють цю активність. Тому з віком підвищується ризик

виникнення онкологічних захворювань. У зв'язку з цим, потрібне детальне вивчення механізмів регуляції проліферації і регенерації, для запобігання і попередження наслідків неконтрольованості цих процесів.

### 10. 3. Старіння клітини

**Клітинне старіння** – це процес, який призводить до незворотної зупинки клітинного циклу у фазі  $G_1$  і супроводжується змінами морфології клітин, рівня експресії генів. Клітинне старіння спричинене пошкодженням ДНК, активацією генів, які задіяні у канцерогенезі, вкороченням довжини теломер, оксидативним стресом, йонізуючим випромінюванням. Морфологічні зміни клітин характеризуються згладжуванням поверхні клітин, збільшенням розмірів і співвідношенням ядерно-цитоплазматичного індексу. При цьому метаболічна активність клітин зберігається. Вважають, що старіння перешкоджає злоякісній трансформації клітин та, водночас, сприяє старінню організму.

Основна теорія, яка пояснює явище старіння – теломерна теорія. У ХІХ ст. Л. Хейфлік довів: нормальні ембріональні клітини у сприятливих умовах старіють, а після, близько 50-ти, поділів гинуть. Теломери – нуклеопротеїдні структури, розміщені на кінцях лінійних хромосом. Вони складаються із тисячі однакових повторів. Теломери перешкоджають «злипанням» різних хромосом і забезпечують прикріплення кінців хромосом до ядерної мембрани. Теломери не містять кодуєчих послідовностей, виконуючи функцію буферу, який захищає гени від втрати при кожному циклі реплікації ДНК.

Хромосоми без теломер можуть «злипатись» унаслідок чого виникають дицентричні, кільцеві хромосоми, мутації: транслокації, делеції. Мутовані хромосоми можуть руйнуватися під час мітозу, їх пошкодження активує протеїни, які зупиняють клітинний цикл у фазі  $G_1$ . Це захисний механізм клітини, унаслідок порушення структури ДНК, несумісного з фізіологічним функціонуванням клітини.

Ділянки теломер завжди конденсовані. У субтеломерній ділянці (ближче до центру хромосоми) локалізований *ген програми*

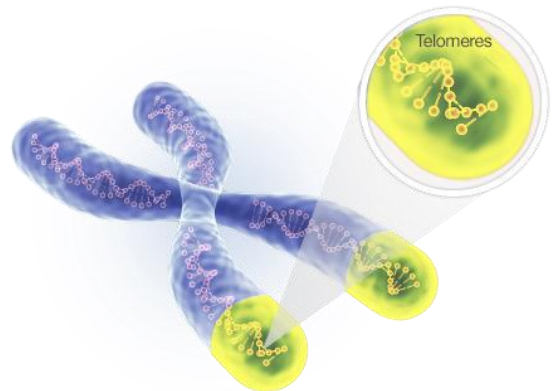
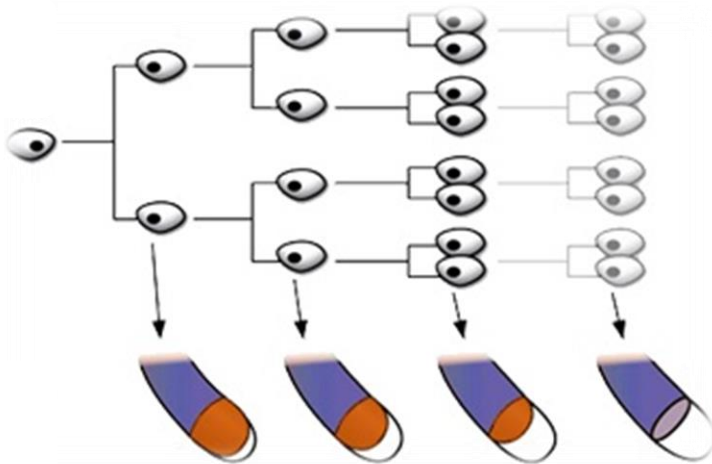


Рис. 10. 3. Теломери на кінцях хромосоми

**клітинного старіння.** Після вкорочення теломер субтеломерна ділянка з цим геном виявиться кінцем хромосоми, що призведе до запуску механізму клітинного старіння. Однак, причини, що запускають механізм вкорочення теломер ще вивчаються.

У 2009 році Елізабет Блекберн, Керол Грейдер, Джек Шостак отримали Нобелівську премію з фізіології та медицини «за відкриття механізмів захисту теломер хромосом і ензиму теломерази».

Вивчення теломер бере початок у 1971 р., коли О. М. Оловников дослідив, що ДНК-полімерази за кожного поділу клітини нездатні повністю відновлювати кінці хромосом, у результаті чого утворюються недорепліковані ДНК. З кожним циклом соматичні клітини втрачають від 50-ти до 200 нуклеотидів. Недореплікованим залишається 5'-кінець ДНК.



**Рис. 10. 4.** Вкорочення теломери з кожним діленням клітини

Механізм кінцевої недореплікації пояснюється відсутністю у соматичних клітинах ензиму **теломерази**, яка функціонує у стовбурових, статевих, пухлинних клітинах.

**Теломераза** – рибонуклеопротейний комплекс, що подовжує теломеру хромосоми особливими ТТАГГГ послідовностями, тоді як комплементарний ланцюг добудовується ДНК-полімеразами. Відомо, що теломераза активна у 85% злоякісних пухлин, але її активність не спостерігається у соматичних клітинах. Тому даний ензим вважають універсальною мішенню, яку можна використовувати при розробці протипухлинної терапії.

Отже, згідно з теломерною теорією, процес старіння залежить від довжини теломер та експресії ензиму теломерази. На основі сучасних даних розробляються фармакологічні препарати, наприклад, каліфорнійською компанією *Geron* розроблено активатор теломерази

ТА-65. В основі препарату лежить речовина виділена з рослини роду Астрагал *Astragalus propinquus*, яка ефективно впливає на активацію теломерази.

**Контрольні питання:**

1. Що таке диференціація?
2. Основні відмінності диференційованої і недиференційованої клітини.
3. Механізми диференціації.
4. Диференційовані клітини ссавців.
5. Генетичний контроль за процесом диференціації.
6. Регенерація клітин.
7. Старіння клітини.
8. Теломерна теорія старіння клітини.
9. Теломери і теломераза.

## РОЗДІЛ 11. МЕХАНІЗМИ КЛІТИННОЇ ЗАГИБЕЛІ

### 11. 1. Запрограмована загибель клітин – апоптоз

В умовах глобальних стресів (радіації, температурних факторів, забруднення довкілля) відбуваються незворотні процеси – летальні мутації, смерть організмів.

Апоптоз – це захисна реакція біосистеми на численні пошкодження окремо взятої клітини або популяції клітин заради збереження цілісності та життєздатності всього організму. Він є необхідним для всіх без винятку організмів – від прокаріотів до багатоклітинних організмів. В організмі здорової людини клітинний гомеостаз визначається балансом між загибеллю і проліферацією клітин. Щодня, близько 5% клітин організму піддаються апоптозу, а їх місце займають нові клітини. У процесі апоптозу клітина зникає безслідно упродовж 15–120 хв.

Фізіологічна роль апоптозу полягає у:

- регуляції чисельності клітинних популяцій в ембріогенезі – видаленні надлишкових клітин;
- знищенні клітин дорослого організму без появи вогнища запалення;
- контролюванні проліферації клітин;
- боротьбі організму з вірусними інфекціями;
- забезпеченні співвідношення кількості клітин різних типів.

Найяскравіші приклади фізіологічного апоптозу – це ембріогенез (видалення та заміщення ембріональних клітин), диференціація клітин і метаморфоз (регресія хвоста у пуголовків), формування гормонзалежних органів (молочної залози, яєчника).

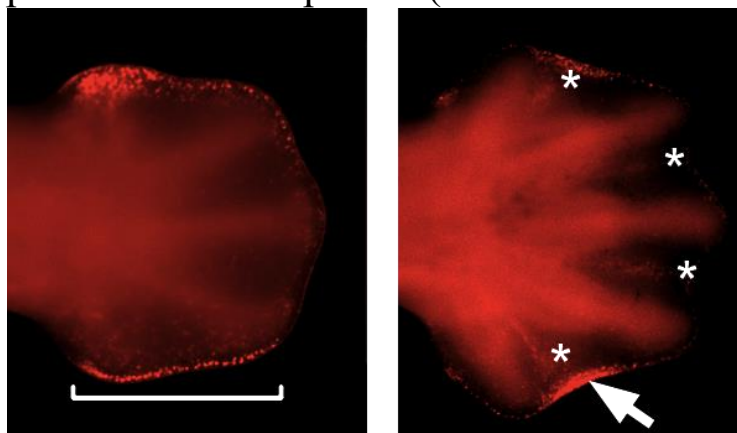


Рис. 11. 1. Руйнування шляхом апоптозу тканин перетинок на лапах миші на ранньому етапі ембріогенезу

Прикладом апоптозу є функціонування імунної системи (знищення незрілих або самореактивних Т-лімфоцитів у ході

розвитку). Апоптоз клітин імунної системи захищає організм від аутоімунних процесів. В-клітини також є суб'єктами апоптичної загибелі на усіх етапах перетворення попередників В-клітин у В-лімфоцити – 60 – 70% цих лімфоцитів втрачається у кістковому мозку під час дозрівання. Постійне оновлення клітин (ворсинок епітеліоцитів слизової оболонки кишечника, клітини крові та сперматогонії, що диференціюються) і забезпечення клітинного гомеостазу – також прояви апоптозу.

Такий тип загибелі характерний не для цілої тканини, а для окремих клітин чи їхніх певних груп. Характерними ознаками апоптозу є:

- дегідратаційне стискання клітини;
- клітина втрачає форму;
- втрата міжклітинних контактів;
- утворення апоптичних тілець (везикул);
- руйнування цитоскелету;
- конденсація хроматину;
- фрагментація ядер (утворення хроматинових тілець);
- деградація ДНК.

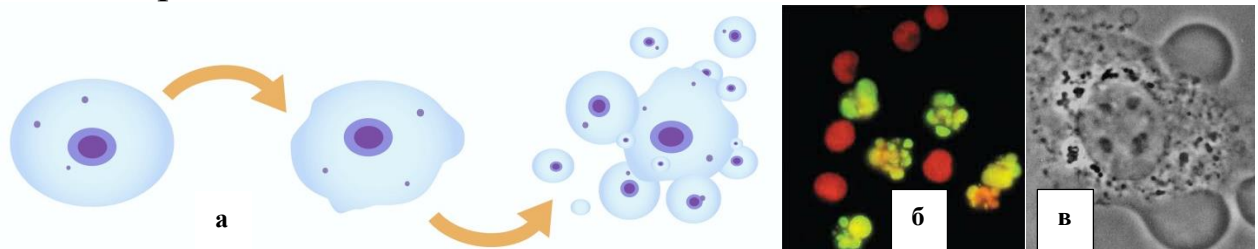


Рис 11. 2. Утворення клітиною апоптичних тілець – фрагментів цитоплазми з частиною органону, оточених цитоплазматичною мембраною: а – моделювання апоптозу; б – флуоресцентна мікроскопія (фарбування акридиновим оранжевим) клітин, серед яких апоптичні (утворення апоптичних тілець); в – світлова мікроскопія (апоптична клітина)

Геном кожної клітини складають гени-індуктори та гени-інгібітори апоптозу. За пошкодження ДНК експресуються гени-індуктори апоптозу та інгібуються гени, що йому перешкоджають.

Апоптоз – це багатостадійний процес. На першому етапі клітина отримує сигнал, який надходить ззовні або є внутрішньоклітинним та провокує її загибель. Сигнал сприймається рецепторами і аналізується клітиною.

Досліджено загальні етапи апоптозу:

1. Поштовх до загибелі внутрішньо- чи зовнішньо клітинними чинниками;
2. Активація внутрішньоклітинних протеаз (каспаз);

3. Фрагментація клітини ензимами нуклеазами;
4. Деградація клітинних фрагментів за участю лізосом, фагоцитарних клітин.

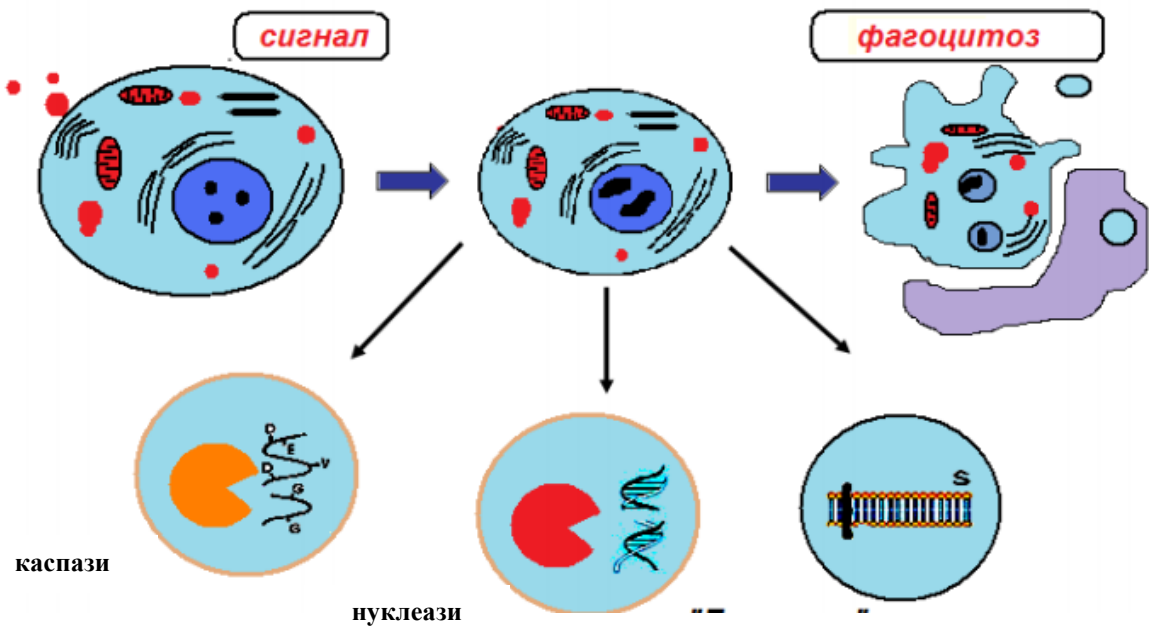


Рис. 11. 3. Загальний механізм апоптозу

Існує два основні шляхи розвитку апоптозу у клітині:

- мітохондріальний шлях;
- опосередкований активацією рецепторів апоптозу.

Обидва вони призводять до активації ензимів-протеаз каспаз і запускають каскад реакцій, результатом яких є загибель клітини.

**Мітохондріальний шлях активації апоптозу** (рис. 11. 4) індукується пошкодженням ДНК, а саме дією радіації, цитотоксичних агентів, глюкокортикоїдів, вкороченням до критичного рівня до теломерів. Ці пошкодження є внутрішнім сигналом активації протеїну p53 і експресії генів, що кодують проапоптичні протеїни родини Bcl-2, Bax і Bid. Ці протеїни, спричиняють пермеабілізацію (зміну проникності) мембрани мітохондрій, сприяють виходу цитохрому С, що є ключовою ланкою у наступних енергозалежних реакціях, які призводять до апоптозу.

Існує каспазонезалежний шлях, що веде до апоптозу, який реалізується за участі протеїну AIF (апоптоз індукуючий фактор), що активує транслокацію до ядра протеолітичних ензимів.

Розвиток апоптозу може бути заблокований на деяких етапах проведення сигналу, тому у клітині існують механізми, які реалізуються завдяки дії протеїнів з антиапоптичною активністю.



**Каспазозалежний шлях** активується фізіологічними факторами-індукторами апоптозу, такими як цитокіни, гормони, пептидні фактори росту та інші. Він починається з клітинних рецепторів, спеціально призначених для включення програми апоптозу. Це рецептори Fas, TNFR1, DR3, DR4, DR5 (рис. 11. 4). Вони є трансмембранними протеїнами, які позаклітинною ділянкою взаємодіють зі специфічними лігандами – індукторами. Така взаємодія призводить до зв'язування їх з неактивними попередниками протеаз з сімейства каспаз. **Каспази** – цистеїнові протеази, деградують протеїни у специфічній для апоптозу послідовності, після аспарагінової кислоти.

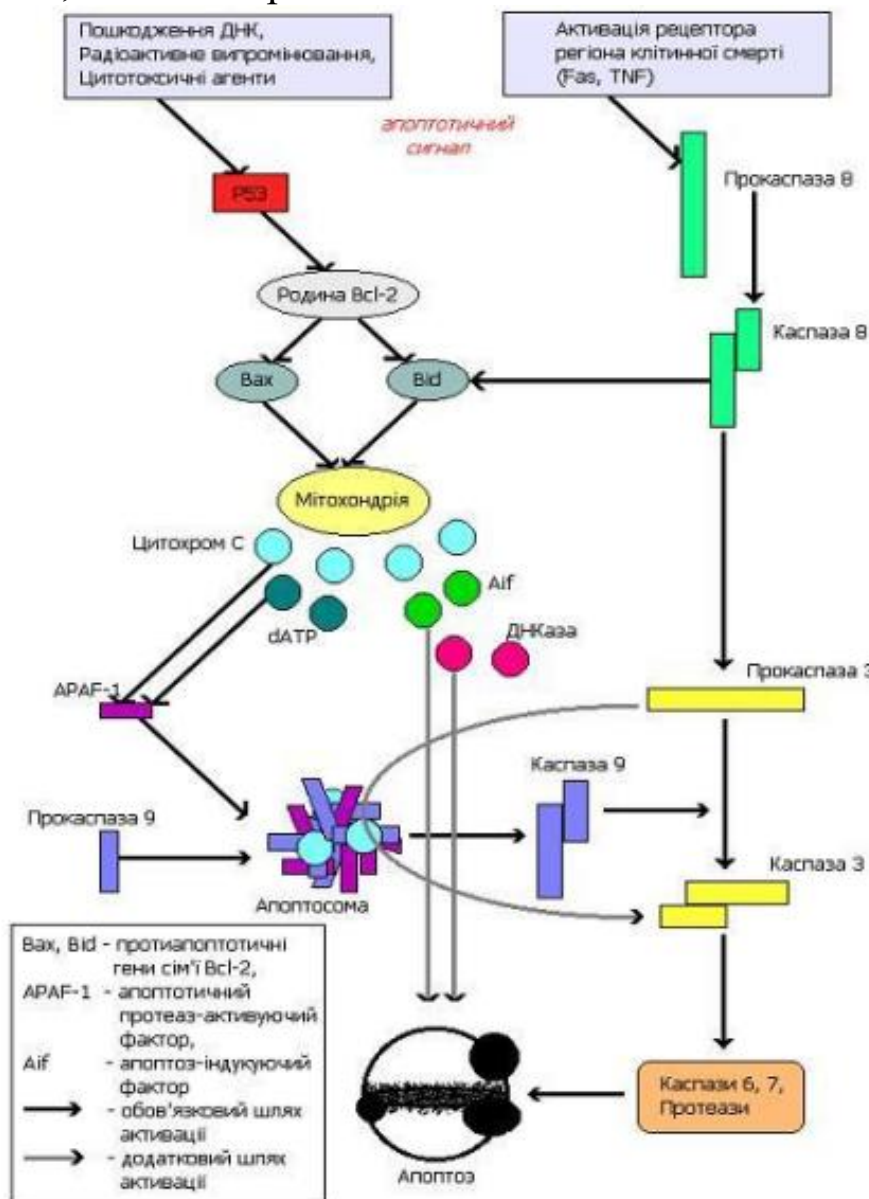


Рис. 11. 4. Шляхи апоптозу у клітині

Каспази поділяються на ініціаторні та ефекторні:

– ініціаторні (*initiator caspase*) каспази 8, 9, сприймають проапоптотичний сигнал і ініціюють активацію каспазного каскаду;

– ефекторні (*effector caspase*) каспази 3, 6, 7 активуються ініціаторними каспазами через каскадний механізм. Вони деградують важливі клітинні протеїни. Атакують близько двох десятків структурних і функціональних протеїнів.

У ядрі реєструються перші морфологічні ознаки апоптозу – конденсація хроматину з формуванням скупчень, прилеглих до ядерної мембрани. Пізніше з'являється інвагінації (вдавнення) ядерної мембрани, і відбувається фрагментація ядра. В основі деградації хроматину лежить ферментативне розщеплення нуклеазами.

Спочатку утворюються фрагменти розміром 700, 200 – 250, 50 – 70 т. п. н., потім – фрагменти розміром 30 – 50 т. п. н.. Після реалізації цього етапу процес стає незворотним.

Далі відбувається міжнуклеосомна дезінтеграція ДНК, тобто розриви ниток ДНК, що знаходяться між нуклеосомами. При цьому утворюються фрагменти, кратні за величиною 180 – 190 пар основ, що відповідає довжині нитки ДНК у межах однієї нуклеосоми.

Відокремлені фрагменти ядра, обмежені мембраною, називають *апоптичними тільцями*. У цитоплазмі відбувається набрякання ЕПР. Найважливішою ознакою апоптозу є зниження трансмембранного потенціалу мітохондрій і вихід в цитоплазму різних апоптогенних факторів (цитохрому С, прокаспаз 2, 3, 9; апоптоз-індукуючого фактора). Пошкодженню бар'єрної функції мітохондріальних мембран відводять ключову роль у розвитку апоптозу. Клітини округлюються і відокремлюються від субстрату. На поверхні клітини експресуються різні молекули, які розпізнаються фагоцитами – фосфосерин, тромбоспондин, десіаловані мембранні глікокон'югати, у результаті чого відбувається поглинання тіла клітини іншими клітинами і його деградація в оточенні лізосом фагоцитарних клітин.

Найчастіше ідентифікацію апоптозу проводять за морфологічними ознаками, а також реєструючи інтернуклеосомні розриви ДНК на електрофореграмах і визначаючи активність каспаз.

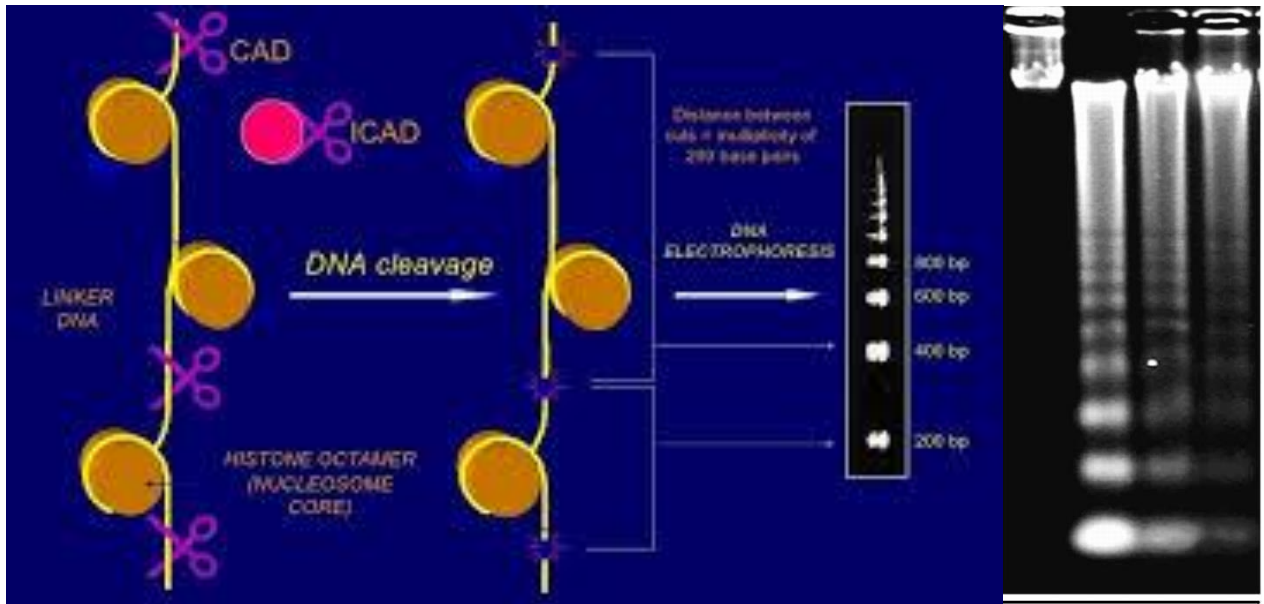


Рис. 11. 5. Фрагментована кратно ендонуклеазами ДНК апоптичних клітин формує «драбину» на електрофореграмі

## 11. 2. Некроз

Некроз спричиняють різні зовнішні фактори, хімічні або фізичні, котрі прямо чи опосередковано впливають на проникність мембран або на клітинну енергетику. Некроз розвивається за значного пошкодження клітини або у разі змін умов її існування. В усіх цих випадках спостерігається послідовність порушення клітинних функцій і структур.

У клітині змінюється йонний склад, уже на ранніх стадіях пошкоджується ЦПМ, підвищується її проникність для води та йонів. Це призводить до набрякання клітини в цілому, ядра й інших мембранних структур. У зв'язку з пошкодженням мембран лізосом відбувається самоперетравлення клітини ензимами лізосом. Спостерігається припинення синтезу АТФ, протеїнів, нуклеїнових кислот, деградація ДНК. У результаті каріолізису хроматин зникає. На завершальних стадіях некрозу руйнується ЦПМ та вивільняються продукти клітинного розпаду у міжклітинне середовище. Це є причиною пошкодження сусідніх клітин і початок запального процесу. Весь процес некрозу може завершитись за одну годину.

Головна відмінність некрозу і апоптозу полягає у тому, що **некроз** – патологічний процес загибелі клітини, який виникає у відповідь на яку-небудь ушкоджуючу дію (інфекцію, хімічна дія, опромінення, недостатнє кровопостачання).

### Порівняльна характеристика апоптозу та некрозу клітин

Ознаки	Апоптоз	Некроз
Причини загибелі	пошкодження ДНК, порушення роботи генів, метаболізму, сприйняття мембранними рецепторами сигналів до апоптозу	порушення цілісності мембран
Локалізація первинного ушкодження	у ядрі	у ЦПМ
Швидкість розвитку	1 – 12 год	1 год
Зміни розміру клітин	зменшення	набрякання
Зміни у ядрі	конденсація хроматину, фрагментація	набрякання
Зміни у цитоплазмі	конденсація гіалоплазми	лізис
Зміни плазмолеми	утворення апоптичних тілець	втрата цілісності
Стан ДНК	фрагментація на кратні фрагменти	невпорядкована деградація
Залежність від органічних сполук енергії	енергетично залежний процес, залежність від РНК, протеїнів	енергетично незалежний процес
Завершальні стадії	фагоцитоз апоптичних тілець макрофагами без запального процесу	фагоцитоз залишків клітини, супроводжується запальним процесом

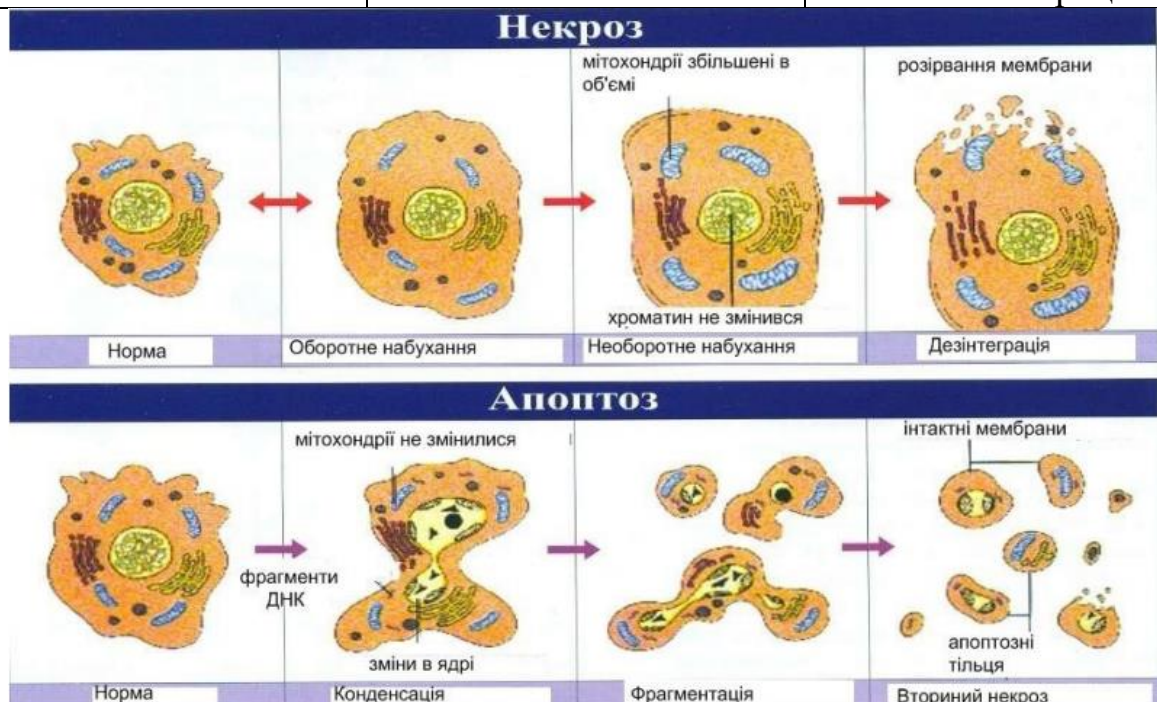


Рис. 11. 5. Ілюстративне порівняння відмінностей апоптозу і некрозу клітини

### 11. 3. Запрограмована загибель клітин: аутофагія, ентоз, мітотична катастрофа

Досить поширеною формою клітинної смерті (запрограмована загибель клітин II типу) є аутофагія. *Аутофагія* – процес самоперетравлення, при якому органели та ділянки цитоплазми оточуються мембранами, спрямовуються до власних лізосом, формуючи аутофагосому, та руйнуються гідролітичними ензимами. Цей процес детально досліджено відомим бельгійським біохіміком, Нобелівським лауреатом у галузі фізіології і медицини Крістіаном де Дювом. Він відкрив лізосоми і назвав їх «знаряддям самогубства» клітини. У нормальній клітині аутофагія використовується для омолодження вмісту клітини. Проте стресові чинники (пероксиди, опромінення, деякі протипухлинні препарати, зниження вмісту амінокислот і АТФ у цитоплазмі тощо) значно активізують цей процес. У клітині виявляються численні мембранні пухирці (везикули, вакуолі) з компонентами клітини, що перетравлюються. Ядро при аутофагії не гетерохроматизоване, не містить фрагментів ДНК (на відміну від апоптозу). Аутофагія відіграє важливу роль при знищенні тканин під час індивідуального розвитку організму, метаморфозі комах, боротьбі з паразитарними інфекціями, пухлинами.

*Ентоз* або «клітинний канібалізм». При цьому феномені клітина від'єднується від субстрату, усередину її проникає інша жива клітина, індукуючи загибель першої. Ентоз виявлено у клітинах молочної залози, яйників, злоякісних пухлин.

На цей процес впливають актин і міозин цитоскелету та протейн кадгерин, що сприяє контакту клітин.

*Мітотична катастрофа* – загибель клітини у результаті серйозних порушень мітозу, переважно під час мета- і анафази. Процеси фрагментації і конденсації хроматину відсутні, проте досліджено утворення одного чи кількох *мікроядер* – відокремлених фрагментів хромосом у клітині, яка гине шляхом мітотичної катастрофи. Цей вид клітинної загибелі має місце при дії йонізуючого опромінення, деяких протипухлинних препаратів, а також речовин, що діють на мікротрубочки веретена поділу (колхіцин, вінбластин, вінкрисдин). Цікаво, що підрахунок кількості клітин з мікроядрами традиційно використовується як показник для оцінки мутагенності середовища. Проте загибель клітин з мікроядрами не є однозначною: мікроядра можуть зникати, інтегруватися у геном при наступному

мітозі. Саме тому не всі біологи вважають мітотичну катастрофу різновидом запрограмованої загибелі.

**Контрольні питання:**

1. Що таке апоптоз?
2. Яка роль апоптозу для багатоклітинних організмів?
3. Які існують шляхи активації апоптозу?
4. Що таке «рецептори смерті» і яка їх роль у апоптозі?
5. Які існують стадії апоптозу? Охарактеризуйте їх.
6. Поясніть шляхи активації апоптозу.
7. Що таке каспази? На які групи вони поділяються?
8. Яка різниця між «апоптозом» і «некрозом»?
9. Аутофагія.
10. Ентоз.
11. Мітотична катастрофа.

## РОЗДІЛ 12. ОСОБЛИВОСТІ СТОВБУРОВИХ ТА ПУХЛИННИХ КЛІТИН. КУЛЬТИВУВАННЯ КЛІТИН

### 12. 1. Стовбурові клітини

У сучасному розумінні *стовбурові клітини* – це клітини, у яких відсутні тканиноспецифічні структури (недиференційовані) і які здатні до проліферації, тобто тривалого самовідновлення та диференціації у різні типи спеціалізованих клітин. Це первинні клітини багатоклітинних організмів. За певних фізіологічних чи експериментальних умов, вони можуть диференціюватися у спеціалізовані клітини: нейрони, скоротливі клітини серцевого м'язу, еритроцити чи клітини підшлункової залози, які продукують інсулін. Стовбурові клітини *володіють потенціалом* – це можливість диференціюватись у різні типи клітин. З розвитком організму проліферативний потенціал клітин стає дедалі обмеженішим, а клітини високоспеціалізованими – кожній властиві свої морфологічні ознаки і функції.

Розрізняють *ембріональні стовбурові клітини* (походять безпосередньо від бластоцисти), які є тотипотентними або плюрипотентними, і *дорослі стовбурові клітини* (постембріональні).



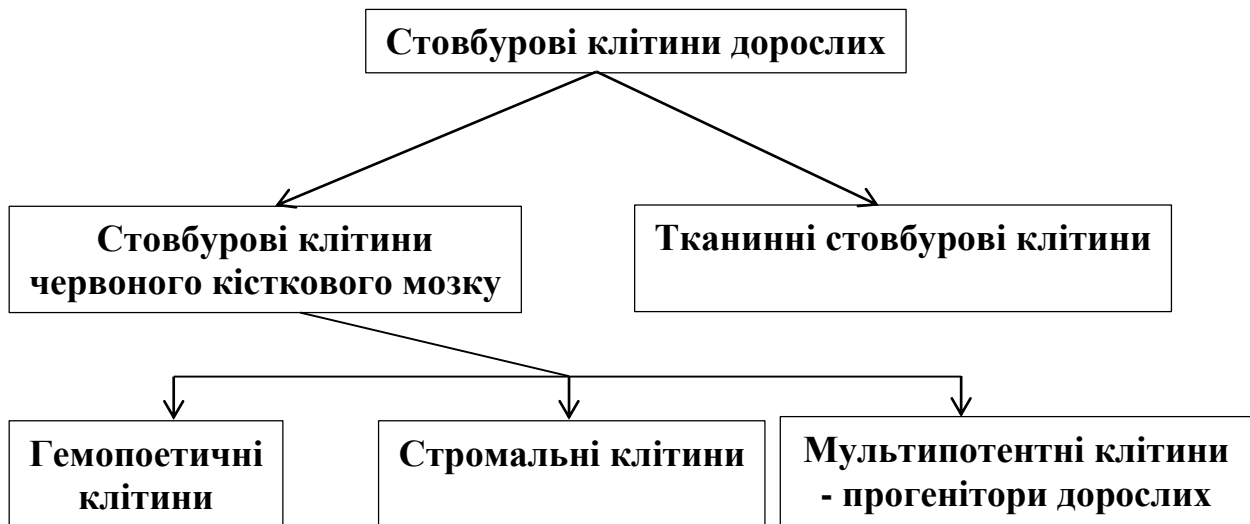
Рис. 12. 1. Ембріональні та дорослі стовбурові клітини

*Тотипотентні* (від лат. *всемогутні*) – перші клітини, що утворюються після поділу заплідненої яйцеклітини, які при

трансплантації можуть дати початок росту та формуванню повноцінного зародка.

**Плюрипотентні** – клітини внутрішньоклітинної маси бластоцисти, які у процесі ембріонального розвитку дають початок усім типам соматичних клітин ссавців, у тому числі й людини.

Постембріональні стовбурові клітини з меншим потенціалом диференціювання – мульти- та уніпотентні.



**Рис. 12. 2. Види стовбурових клітин в органах і тканинах дорослих організмів**

**Мультипотентні** – клітини, що можуть утворювати клітини у межах однієї спеціалізованої тканини.

**Уніпотентні**, також розрізняють **біпотентні** – клітини, що диференціюються відповідно в один та два типи клітин.

Стовбурові клітини червоного кісткового мозку є популяціями гемопоетичних клітин (ГСК), стромальних клітин і мультипотентних клітин-прогеніторів дорослих.

ГСК отримують з кісткового мозку, пуповинного канатика (кордової крові), крові дорослих або після введення їм цитокінів. ГСК забезпечують утворення всіх клітин крові (еритроцитів, В-лімфоцитів, Т-лімфоцитів, нейтрофілів, базофілів, еозинофілів, моноцитів, макрофагів і тромбоцитів) і регенерацію кісткового мозку після ураження, наприклад, радіаційним випромінюванням. Є дані про те, що функція ГСК не обмежується утворенням ними лише гемопоетичних клітин. Вони можуть давати початок іншим типам клітин (нейронам, кардіоцитам, гепатоцитам). Явище, яке характеризується зміною основного напрямку диференціювання стовбурових клітин називається **трансдиференціюванням**.



Стромальні (мезенхімальні) клітини містяться у кістковому мозку, де є нечисленною популяцією фібробластоподібних клітин строми кісткового мозку і сприяють збереженню недиференційованого стану гемопоетичних стовбурових клітин. Також ці клітини здатні до диференціювання у різні клітини сполучної тканини. З током крові мігрують до пошкодженого органа або тканини під дією сигнальних речовин, там починають диференціюватись у потрібні спеціалізовані клітини.

У шкірі, головному мозку, м'язах, червоному кістковому мозку виявлено клітини з високим потенціалом диференціювання (подібні до ембріональних) мультипотентні клітини-прогенітори дорослих, які можуть диференціюватися у всі типи клітин. За генетичними ознаками вони між собою однакові – мають спільне походження.

У багатьох органах є тканинні стовбурові клітини, які можуть диференціюватись лише у клітини тих органів, у яких вони перебувають – уніпотентні. Тканинні стовбурові клітини при пошкодженні тканин певного органа мігрують до зони пошкодження. Ці клітини діляться і диференціюються, таким чином утворюють нову тканину у місці пошкодження.



**Рис. 12. 3. Чотири рівні можливості диференціації стовбурових клітин**

Стовбурових клітин в організмі мало, з віком їх стає все менше і менше: у ембріона 1 клітина на 10 тисяч, у дорослої людини 1 клітина на декілька мільйонів (рис. 12. 4). Оскільки стовбурові клітини можна культивувати та програмувати їх спеціалізацію

(наприклад, отримати м'язеву чи нервову тканину) завдяки методу клітинних культур, їх стали використовувати для лікування захворювань (це так звана *клітинна терапія*). Клітинна терапія з використанням стовбурових клітин посідає вагоме місце у терапії широкого ряду онкологічних, гематологічних, неврологічних та кардіологічних захворювань.

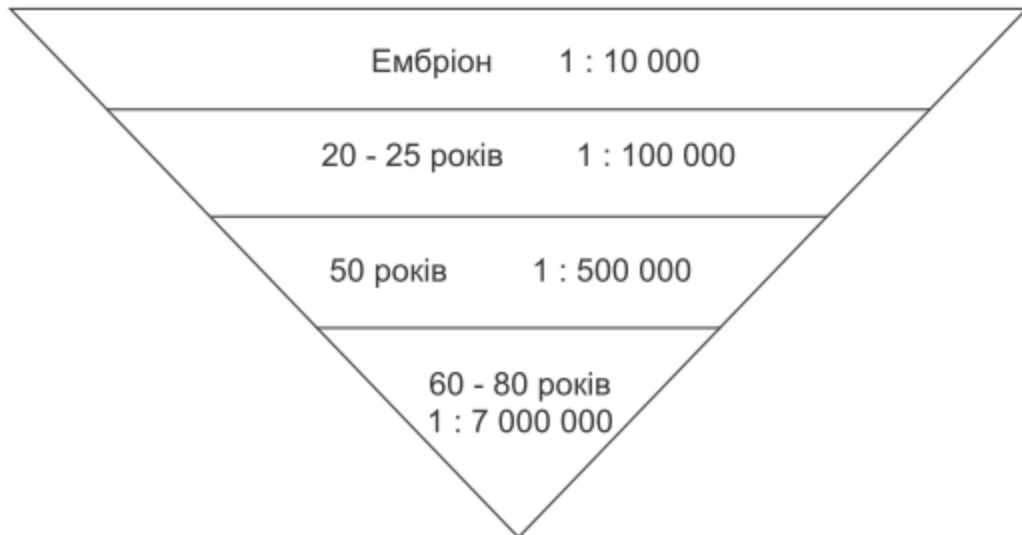


Рис. 12. 4. Співвідношення стовбурових клітин і клітин організму на різних етапах онтогенезу

Джерелами постнатальних стовбурових клітин є кістковий мозок, пуповинна кров, плацента, тканина пуповинного канатика, жирова тканина, пульпа молочних зубів. Найширше у клітинній терапії застосовується кістковий мозок. Перша публікація про трансплантацію кісткового мозку датована 1957 р., а вже до 2010 р. цей метод лікування врятував тисячі хворих на лейкоз. Майже у всіх країнах світу створені спеціалізовані центри трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин.

Постнатальні стовбурові клітини є джерелом «будівельного матеріалу» для оновлення структури тканин. Саме завдяки цьому явищу в організмі забезпечується стабільний рівень процесів самовідновлення.

### 12. 1. 1. Особливість функціонування стовбурової клітини.

Особливість поділу стовбурової клітини полягає у тому, що вона здатна до симетричного і асиметричного поділів. Внаслідок *асиметричного поділу* виникають не дві дочірні стовбурові клітини, а лише одна дочірня та одна дочірня стовбура. Завдяки такому асиметричному поділу кожна дочірня стовбура клітина повертається до стану спокою, а дочірня проліферує, продовжуючи ділитись симетрично певну кількість разів, тим самим забезпечуючи

клітинний гомеостаз спеціальних клітин у тканинах і органах. Кожна тканина організму має у своєму складі певну кількість стовбурових клітин, які необхідні їй для підтримання постійного клітинного складу тканин (рис. 12. 5).

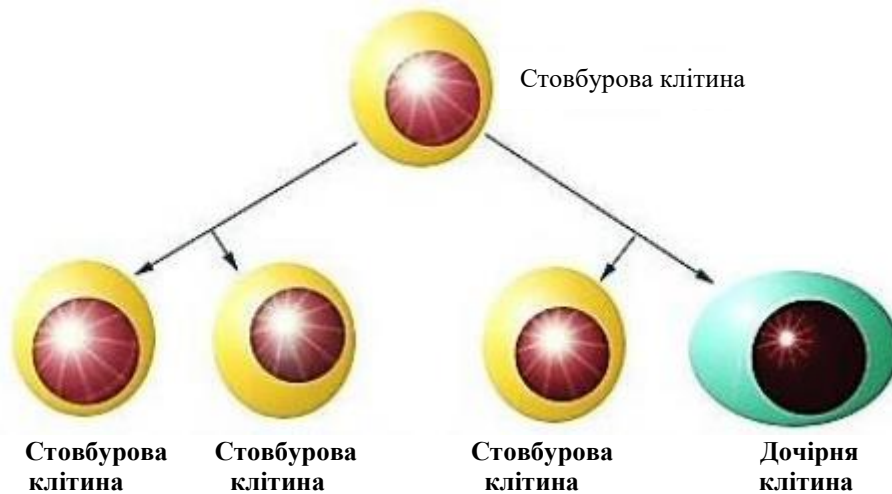


Рис. 12. 5. Асиметричний поділ стовбурових клітин

У культурі *in vitro* ембріональні стовбурові клітини мають практично необмежений потенціал проліферації. Ця властивість ембріональних стовбурових клітин дала поштовх до інтенсивного їх вивчення й відкрила широкі перспективи практичного їх використання у біології та медицині, у першу чергу в трансплантології, імунології, геронтології.

#### **Особливості ембріональних стовбурових клітин:**

- синтезується великий спектр мРНК;
- підвищена активність теломерази;
- нормальний каріотип;
- здатність до інтенсивної проліферації;
- мінімальна кількість рецепторів, сигнальних протеїнів, тільки 5% з 500 генів трансигналізації експресовані у них;
- активно експресуються гени, задіяні у забезпеченні клітини енергією;
- тотипотентність, можливість диференціації у будь-яку клітинну лінію;
- на поверхні містять маркери;
- ріст клонами;
- синтез біологічно активних речовин: факторів росту,  $\alpha$ -фетопротеїнів, антиоксидантів, адаптогенів, протизапальних та бактеріостатичних сполук, пептидів, які стимулюють імунокомпетентні клітини;

- стійкість до гіпоксії за рахунок гліколізу.

Ембріональні стовбурові клітини відрізняються від інших (дорослих) тим, що теоретично для них кількість поділів їх невичерпна й клітини можуть ділитися безперервно, причому без переродження у злоякісні пухлини. Таким чином, друга важлива властивість ембріональних стовбурових клітин – фактичне безсмертя (*імморталізація*).

Ці клітини у культурі зберігають і проліферативний потенціал і мультипотентність.

Доведено можливість *перепрограмування диференційованих* клітин у плюрипотентні із застосуванням генноінженерних маніпуляцій. Такі маніпуляції призводять до експресії генів стовбурової клітини і вимкнення генів диференційованої.

## 12. 2. Пухлинні клітини

Головними ознаками пухлинної клітини вважаються:

- незалежність від факторів росту;
- нечутливість до ріст-супресуючих сигналів;
- уникнення апоптозу;
- необмежений реплікативний потенціал – безсмертя;
- поширення до навколишніх тканин, органів (метастазування) в організмі.

Пізніше до цих ознак було додано ще одну важливу характеристику пухлинної клітини – здатність ухилятися від імунного контролю організму. Крім того, ознакою пухлинної клітини є генетична нестабільність.

Відомо, що для переходу зі стану спокою до стану активної проліферації нормальні клітини в організмі і культурі потребують мітогенних сигналів росту. Жоден тип нормальних клітин не може проліферувати за відсутності таких стимулюючих сигналів. Пухлинні клітини генерують багато власних сигналів росту, тим самим знижуючи свою залежність від стимуляції з боку нормального мікрооточення тканини.

У нормальній тканині діє ряд антипроліферативних сигналів, які підтримують клітини у стані спокою та контролюють кількість клітин кожного типу. Пухлинні клітини здатні уникати антипроліферативних сигналів, їх проліферація неконтрольована на відміну від диференційованих клітин. Онкогени та втрата онкосупресорних генів у пухлинних клітинах спричиняють порушення диференціації клітин, але не перешкоджають набуттю

злякисного фенотипу (здатність спричиняти пухлинні захворювання).

Пухлинні клітини можуть бути недиференційованим (без специфічних ультраструктурних ознак клітин певно готипу), низько диференційованими, є й високодиференційовані (із специфічними ультраструктурними ознаками клітин одного або одночасно кількох типів).

## **12. 2. 1. Морфологічні особливості пухлинних клітин.**

### **Мікроскопічні дослідження пухлинних клітин.**

У світловий мікроскоп у пухлинних клітинах виявлено наступні ознаки:

**1. Поліморфізм клітин** – різноманітність розмірів (4 – 60 мкм), форм, ядер і ядерць. У одній популяції пухлинних клітин або різних новоутворень форма клітин може бути: овальна, бобовидна, веретеноподібна, циліндрична, зіркоподібна, трикутна, кубічна, полігональна. Ядра не менш різноманітні: округлі, овальні, бобовидні, веретеноподібні, паличкоподібні, бульбоподібні, неправильної форми. У активно проліферуючих клітин дуже великі ядерця з високим вмістом РНК.

Для оцінки морфології клітини використовують окуляр-мікрометр.

**2. Проліферативна активність** – одна з найбільш вагомих характеристик, яка визначає швидкість росту новоутворення, здатність його до метастазування. Унаслідок активної проліферації пухлинних клітин швидко виникають клони, різні за біологічними і генетичними ознаками. Клони складають клітини, які активно проліферують і ті, які знаходяться у фазі G<sub>0</sub> клітинного циклу, але згодом можуть повертатись до клітинного циклу.

**3. Поліплоїдії, анеуплоїдії.** Порушення нормального перебігу мітозу призводить до його патології і появи великого спектру атипових форм поділу клітин з нерівномірним розподілом хромосомного матеріалу між дочірніми ядрами, виникнення анеуплоїдії, поліплоїдії і, внаслідок цього, – **генетичної гетерогенності** клітинної популяції.

**4. Безліч мітозів. Мітотичний режим** – це комплекс кількісних показників, які характеризують мітотичний поділ клітини. Цей комплекс включає показник мітотичної активності або мітотичний індекс – кількість мітозів на 1000 клітин, і виражається у проміле (‰), загальну кількість правильних та патологічних

мітозів (%), число та співвідношення різних форм патологічних мітозів відносно загальної кількості мітозів (%).

**Анеуплоїдія** – некратна диплоїдному числу зміна кількості хромосом у клітині, обумовлена помилками мітозу або інтефазним пошкодженням хромосом.

**Гетероплоїдія** – різноманіття клітин за кількістю хромосом.

Для оцінки плоїдності використовують різні методи. У гістологічних зрізах, пофарбованих методом Фельгена, вміст ДНК визначають за допомогою цитоспектрофотометричного методу. У клітинній суспензії дослідження проводиться методом лазерної проточної цитофлюориметрії. Крім того може бути застосований морфометричний метод з використанням комп'ютерного аналізу зображення.

**5. Базофілія цитоплазми** – непритаманне цитоплазмі забарвлення гематоксиліном (основним барвником), що характерно для недостатньо диференційованих, інтенсивно синтезуючих протеїн клітин із високим вмістом РНК.

**6.** Зміна ядерно-цитоплазматичного індексу у сторону переваги розміру ядер. Нерідко ядра бувають великі, гіперхромні, містять декілька ядерець, інколи гіпертрофованих. Зміна розмірів ядер пухлинних клітин може бути пов'язана зі зміною у них числа хромосом (кількості ДНК). Виникають одно- та багатоядерні гігантські клітини – **мегакаріоцити** за рахунок порушень мітозів. Досліджено вакуолізацію ядра, цитоплазми таких клітин.



Рис. 12. 6. Особливості будови, що відрізняють пухлинні (справа) клітини від нормальних (зліва)

Багато дослідників намагалися знайти специфічні для пухлинних клітин електронно-мікроскопічні ознаки, однак до сьогодні такі ознаки знайдені не були. Всі ознаки пухлинних клітин характерні для незрілих недиференційованих клітин (стовбурових).

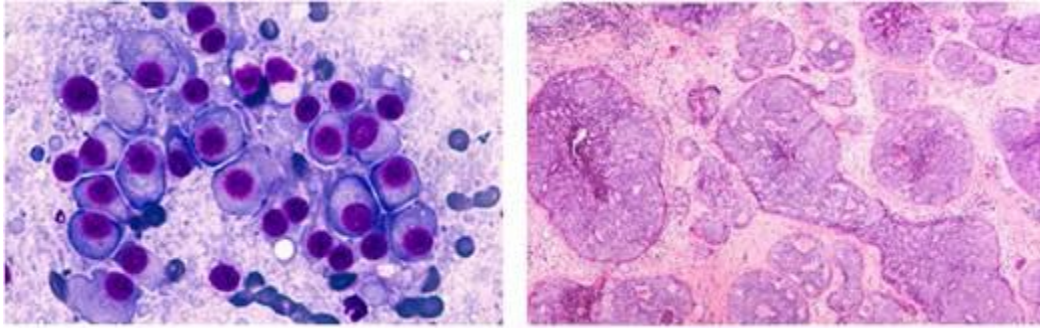


Рис. 12. 7. Пухлинні клітини

**При електронно-мікроскопічному дослідженні виявлено:**

- збільшення кількості вільних рибосом, полісом;
- аномальні (великі) мітохондрії у наслідок інтенсивності енергетичних процесів;
- багато мембранних контактів ядро-мітохондрія-ЕПС – єдина мембранна система клітини, яка у нормальній клітині присутня дуже рідко. Це наслідок зміни системи регуляції метаболізму, сприйняття сигналів;
- порушення співвідношення між гладенькою й шорсткою ретикулярними формаціями, їх збільшення;
- зниження стабільності мембранних структур, особливо зовнішньої мембрани ядра, порушення активності ензимів мембрани, зменшення у ній вмісту глікопротеїнів, порушення її проникності, мембранного транспорту та електричного заряду;
- зміна спектру ензимів клітини, він набуває подібності до стовбурових клітин;
- руйнування мікротрубочок і мікрофіламентів цитоскелету.

**12. 3. Метод культури клітин, тканин *in vitro***

Метод культивування клітин, тканин відноситься до вітальних методів. Полягає у вирощуванні клітин і тканин поза організмом у штучних поживних середовищах (в умовах *in vitro*). Для отримання ізольованих клітин проводять попередню обробку тканини трипсином або колагеназою. Метод дозволяє вивчати реакції клітин на різноманітні впливи, механізми регуляції проліферації, диференціювання і загибелі. Особливо важливе значення даний метод має для ембріологічних і цитофізіологічних досліджень, а також для трансплантації ембріональних клітин при лікуванні вроджених і набутих дефектів обміну речовин.

Культура клітин замінює або доповнює існуючі моделі дослідження з використанням тварин, позаяк використання культури клітин є зручнішим і дешевшим. Культура клітин з достатньою

достовірністю може репрезентувати процеси, які відбуваються у певному типі клітин організму.

Зростання масштабів використання рекомбінантних терапевтичних протеїнів у клінічній практиці, перетворення антитіл на потужний дослідницький інструмент, сучасні досягнення у дослідженні стовбурових клітин роблять цей метод повсякденною практикою у багатьох лабораторіях, що спонукає науковців до більш детального



Рис. 12. 8. Робоче місце студента у лабораторії культивування клітин

вивчення процесів, які впливають на вирощування клітин *in vitro*.

На сучасному етапі розвитку культивування клітин постає питання не лише про виділення та підтримання життєдіяльності, але про можливість маніпулювання та зміни клітини у культурі для наукових чи практичних потреб: створення рекомбінантних чи трансгенних клітинних ліній, модифікація клітин у лініях задля штучного контролю клітинної проліферації.

Культури клітин вважають високоекономічними моделями у дослідженнях з вивчення механізмів впливу різноманітних фізико-хімічних чинників: зміни рН, температури, концентрації гормонів, амінокислот, ростових факторів, цитокінів. Головна перевага культур клітин – це можливість прижиттєвого спостереження за ними тривалий час.

Культури тваринних клітин є важливими продуцентами біологічно активних речовин. На них вирощують віруси для їх ідентифікації та одержання вакцин. Їх застосовують для тестування та вивчення механізму дії ліків, косметичних засобів, пестицидів, консервантів. Використовуються у трансплантаційній медицині. Так, культура клітин шкіри використовується для лікування опіків, культура клітин ендотелію – для реконструкції стінок судин.

Здатність клітин до росту у культурі призвела до розвитку методів клонування, збереження і злиття клітин, що у свою чергу спонукало до розвитку генетики соматичних клітин. Органні культури використовують для вивчення закономірностей розвитку



органів, для вивчення способів збереження життєздатності ізольованих органів з метою трансплантації.

Найчастіше культивуються:

- сполучна тканина – фібробласти;
- стовбурові клітини;
- скелетна – кістки і хрящі;
- м'язева – скелетні, серцеві і гладенькі м'язи;
- епітеліальна – печінка, легені, шкіра, сечовий міхур, нирки, молочна залоза;
- різні типи пухлинних клітин.

### **Контрольні питання:**

1. Що таке стовбурові клітини?
2. Класифікуйте стовбурові клітини.
3. Гемопоетичні стовбурові клітини.
4. Стромальні стовбурові клітини.
5. Особливості будови стовбурової клітини.
6. Асиметричне ділення стовбурової клітини.
7. Джерела стовбурових клітин.
8. Значення стовбурових клітин.
9. Пухлинні клітини.
10. Ознаки пухлинних клітин, які можна побачити у світловий мікроскоп.
11. Ознаки пухлинних клітин, які можна побачити у електронний мікроскоп.
12. Поліморфізм популяції пухлинних клітин.
13. Метод культури клітин, тканин, його застосування.

## ПРЕДМЕТНИЙ ПОКАЖЧИК

- Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФаза 42, 93, 107, 108  
*p21* 149  
*p27* 149  
*p53* 149, 200
- А**
- Аберация хромосомна 180  
 Адапатація 10, 22, 47, 86  
 Адгезія 56, 109, 110  
 Аденозиндифосфат 17, 18, 30, 93, 118  
 Аденозинмонофосфат 17  
 Аденозинтрифосфат 15, 16-22, 106-108, 116, 119-121, 145  
 Аеросоми 79  
 Аквапорин 43, 103  
 Амфіпатичні молекули 27-29  
 Анаболізм 18, 22  
 Анафаза 149-151, 154, 156, 205  
 Ангстрем 36, 62  
 Анеуплоїдія 180, 213  
 Антипорт 105, 107  
 Апарат Гольджі 32, 38, 69, 88, 92, 93, 102, 114, 128, 134, 159-169, 172  
 Апоптичні тільця 199, 202, 204  
 Апоптоз 43, 97, 116, 148, 149, 198-203, 212  
 АТФази 18, 99, 106-108  
 Аутофагія 45, 205  
 АТФ-синтаза 17, 120, 124
- Б**
- Бактерії 31, 36, 63, 73-90, 107, 168, 181
  - грамнегативні 74, 80-82
  - грампозитивні 75, 80-82
- Бактеріородопсин 31, 32  
 Бактеріофаг 80, 168, 175, 182-188  
 Біологічна система 9-12, 21  
 Біотехнологія 73-77, 86, 187, 188  
 Бластомери 116, 191
- В**
- В'язкість цитозолію 117  
 Вакуолі 89, 128, 131, 135  
 Вакуолярна система клітини 128, 129  
 Вектор 188  
 Віріон 183-187  
 Віруси 16, 40, 63, 73, 77, 181-188  
 Включення 84, 114, 115
- Г**
- Гаметогенез 152  
 Гаплоїдний набір хромосом 152, 156  
 Ген 23, 24, 27, 42, 56, 76, 122, 143, 150, 159-169, 172, 175-182, 187-196, 211  
 Генетичний код 25, 27, 121, 167, 182  
 Гени розкоші 84  
 Генна інженерія 77, 188  
 Геном 77, 122, 182, 199  
 Гідролази 19, 69  
 Гідрофільні молекули 27, 28, 92, 94, 96  
 Гідрофобні молекули 27, 28, 96  
 Гістонові протеїни (гістони) 122, 140, 141, 143, 145, 163, 164  
 Гліколіз 14, 20, 21, 30, 212  
 Гліколіпіди 95-98  
 Гліцерофосфоліпіди 95-98

- Градiєнт 212
- електрохімічний 94, 104, 105, 118
  - концентрації 94, 103, 104, 105, 107, 120
- Грани 123, 124
- Д
- Дегiдрогенази 19
- Делеція 180, 195
- Десмосоми 109, 110
- Детермінація 192
- Джгутики 78, 79, 87, 88, 90, 118, 119
- Диктіосома 131, 132
- Диференціальне центрифугування 68-71, 128, 170
- Диференціація 190-195, 208, 209, 215
- Диферон 193
- Дифузія 103
- латеральна 98
  - полегшена 102-104
  - проста 102, 103
- ДНК 12, 22, 24, 27, 29, 40, 41, 45, 64, 65, 68, 85, 88, 121-122, 124, 126, 140, 159-169, 183, 202
- ДНК-залежні-ДНК-полімерази 19, 24
- ДНК-залежні-РНК-полімерази 19
- Дріжджі 74, 77
- Дуплікація 180
- Е
- Еволюція 26, 28-31, 122, 174, 181
- Еквацийний поділ 153, 155
- Екзони 26, 167, 169
- Екзоцитоз 108
- Експресія генів 25, 90, 169, 192,
- Ембріогенез 190, 191, 198
- Емерджентність системи 9
- Ендоплазматична сітка (ретікулум) 14, 32, 88, 93, 102, 107, 128, 132, 141
- агранулярна 93, 128-131
  - гранулярна 93, 128-131
- Ендоцитоз 93, 108, 186
- Ензими 13-16, 18, 19, 30, 62, 77, 83, 101, 102, 115, 128, 132-134, 205
- Ентоз 205
- Ентропія 21
- Еукаріоти 17, 30, 73, 88-90, 123, 140, 161, 170
- Ж
- Життєвий цикл 15, 144
- З
- Зріз гістологічний 66
- Й
- Йонофори 105
- І
- Імуногістохімія 64
- Імморталізація 212
- Інверсія 179, 180
- Індукований мутаційний процес 178
- Інсерції 179, 180
- Інтегральні протеїни 62, 98, 100, 102, 104, 113
- Інтермедіати 20
- Інтерфаза 144-151, 156
- Інтрони 84, 167, 169

- К
- Каналутворювальні протеїни 15, 103
  - Канцерогенез 148, 195
  - Капсула 78, 82
  - Карбоксисоми 79
  - Каріоплазма 143
  - Каспази 200-202
  - Катаболізм 18, 22
  - Кінетохор 150, 151, 164
  - Клітинна культура 34, 216
  - Клітинна пам'ять 192
  - Клітинний цикл 15, 43, 144-149
  - Клітинна стінка бактерій 78, 89
  - Кодон 168, 172
  - Кон'югація 156, 175
  - Конституційні речовини клітини 12
  - Кристи мітохондрій 119, 120
  - Кросинговер 154, 155, 175
  - Культивування клітин, тканин, експлантів *in vitro* 215, 216
  - Культури клітин *in vitro* 34, 216
- Л
- Ламіна 138, 141-143
  - Лізис 93, 133, 204
  - Лізогенія 186
  - Лізосоми 38, 69, 71, 88, 93, 102, 107, 128, 132-134, 203
  - Локус 159, 177
- М
- Макроелементи 11-14
  - Маркер 67, 132, 134, 211
  - Мезосоми 32, 78, 83-85, 90
  - Мейоз 90, 140, 144, 152-156
  - Мембрана 28, 92-111
    - ендомембрана 92, 113
    - цитоплазматична 28, 29, 32, 81-83, 92-111
    - ядерна 32, 88, 93, 128, 140-143, 157, 202
  - Мембранний потенціал 13, 14, 93, 94, 107
  - Метаболізм 10, 11, 22, 25, 90, 93, 101, 115
    - енергетичний 22
    - пластичний 22
  - Метафаза 144, 150, 151, 154, 156, 205
  - Метафазна пластинка 154, 157
  - Міжклітинні контакти (взаємодії) 93, 109, 199
    - адгезивні 109, 110
    - ізоляційні 110
    - комунікаційні 111
  - Мікроелементи 11-14
  - Мікроорганізми 37, 40, 54, 73-90, 174
  - Мікроскоп 36, 37
    - атомно-силовий 39, 63-64
    - електронний 38, 57-62, 87-115, 119, 128, 173, 185
    - конфокальний 38, 55-58
    - кріоелектронний 46, 61, 62
    - світловий 49-51, 131
    - флуоресцентний 53-56
  - Мікроскопія 47, 48
    - електронна 47, 57-62, 65
    - конфокальна 55-58
    - кріоелектронна 39, 46, 61, 62
    - світлопольна 49-51
    - темнопольна 38, 51
    - ультрафіолетова 53
    - фазово-контрастна 38, 52, 53
    - флуоресцентна 45, 53-55
  - Мікросоми 69, 71, 130

- Мікротрубочки 69, 88, 93, 116, 117, 119, 215
- Мікрофіламенти 64, 93, 116, 117, 136, 137, 215
- Мітоз 32, 37, 90, 138, 140, 144, 149-152, 205
- Мітотична катастрофа 205
- Мітотичний режим 213
- Мітохондріальна ДНК 121, 122
- Мітохондрії 19, 31, 38, 69, 71, 92, 93, 102, 106, 118-122, 183, 215
- Морула 191
- Мультипотентність 208, 209, 212
- Мутагенез 178-181
- Мутагени 23, 151, 156, 169, 174, 181, 182
- Мутант 178
- Мутації 23, 40, 122, 149, 169, 179-182, 195, 196
- генні 179
  - міссенс-мутація 179
  - нонсенс-мутація 180
  - хромосомні 180
- Н**
- Негістонові протеїни 141, 163
- Некроз 203, 204
- Нуклеїнові кислоти 9, 11, 12, 16, 26, 29, 160-169
- Нуклеотид 9, 16, 26, 159-169, 184
- Нуклеоїд 81, 89
- О**
- Об'єктив 50
- Окуляр 50
- Оператор 166
- Органела 62, 69, 88, 89, 92, 113-138
- Органон 113
- Осмос 11, 94
- Осмотичний тиск 13, 14, 81, 94
- П**
- Пептидоглікан (муреїн) 80
- Периферичні протеїни 98-100
- Пероксисоми 93, 116, 128, 134, 135
- Підсистема 9, 21
- Пілі 78, 85, 87
- Плазмід 76, 78, 84-86, 175-210
- Плазмалема 92
- Пластиди 122-126
- етіопласти 123
  - лейкопласти 123
  - протопласти 123
  - хлоропласти 123
  - хромопласти 123
- Плюрипотентність 207
- Поліморфізм клітин 213
- Поліплоїдія 180, 213
- Потенціал дії 95
- Прокаріоти 17, 29, 30, 73, 75, 88, 90, 119, 161, 176
- Проліферація 34, 146, 190, 195, 207, 211, 215, 216
- Проміжні філаменти 138
- Промотор 166
- Протеїнази 19
- Протеїни-переносники 102-104
- Проточна цитометрія 66, 67, 214
- Профаг 186, 187
- Профаза 150, 153, 154, 156
- Процесинг 116, 141, 166, 167, 168, 173
- Пухлинні клітини 196, 212, 214
- Р**
- Радіоавтографія 67

- Регенерація 193, 194  
 Регуляторні гени 25, 165, 166  
 Регуляція клітинного циклу 146-149  
 Редукційний поділ 153, 156,  
 Рекомбінація 152, 154  
 Репарація 22, 25, 34, 122, 165, 169  
 Реплікація 22, 25, 26, 27, 126, 149  
 Репрограмування 34, 44  
 Рецептор 15, 23, 24, 93, 95, 96-102, 186, 201, 211  
 Рибозими 16, 26  
 Рибосоми 38, 71, 86, 89, 116, 128-131, 140, 142, 144, 168, 170-173, 215  
 РНК 12, 16, 24, 25, 26, 27, 68, 86, 116, 126, 140-144, 165, 167-173, 183-185, 192  
 РНК-залежні-ДНК-полімерази 19
- С**  
 Симпласт 35  
 Симпорт 105, 107  
 Синцитій 36  
 Сплайсинг 16, 26, 167  
 Спори 78, 86  
 Старіння клітини 34, 194-197  
 Стовбурові клітини 145, 192-195, 207-212, 215, 216  
 Структурні гени 165, 166  
 Субстрат 14, 18, 19, 20, 76  
 Сфінгофосфоліпіди 97, 98
- Т**  
 Теломераза 16, 44, 211  
 Теломери 16, 44, 195, 196  
 Телофаза 144, 151, 155, 196  
 Термінатор 166  
 Тилакоїди 119, 124
- Тотипотентність 191, 207, 211  
 Точки контролю клітинного циклу 147, 148  
 Транзиції 179  
 Трансверсії 179  
 Трансдиференціювання 208  
 Трансдукція 175  
 Транскрипція 24, 90, 142, 165, 185  
 Транслокази 15, 104, 107  
 Транслокації 103, 180, 195  
 Трансляція 24, 90, 165, 167, 171  
 Трансмембранні протеїни 98-100, 102  
 Транспорт 93, 101, 103, 120, 131, 215  
 – активний 103, 105-108  
 – пасивний 93, 94, 103  
 Трансформація 174, 195  
 Тредмілінг 15, 137
- У**  
 Ультрамикроелементи 11  
 Уніпорт 105  
 Уніпотентність 208
- Ф**  
 Фагоцитоз 88, 204  
 Фази клітинного циклу 67  
 – G<sub>0</sub> 144-146, 213  
 – G<sub>1</sub> 144-149, 195  
 – G<sub>2</sub> 144-149  
 – M 144-149  
 – S 144-149  
 Фактори росту 15, 42, 45, 201, 211, 212  
 Фімбрії 78  
 Фліп-флоп переходи 97, 130  
 Флуорохроми 54, 55, 56  
 Фосфатази 19

- Фотосинтез 11, 21, 32, 83, 90, 125  
 Фолдинг 128
- Х**  
 Хлоропласти 31, 118  
 Хлорофіл 39, 90, 123  
 Холестерол 97, 98  
 Хроматиди 150-157  
 Хроматин 38, 162, 165, 199, 204  
 – гетерохроматин 163, 164  
 – еухроматин 163, 164  
 Хроматофори 78, 124  
 Хромосоми 32, 38, 39, 56, 144, 146, 148, 153-157, 159, 160, 176, 195, 196
- Ц**  
 Центромера 150-156  
 Цикл Кребса 19, 21, 120  
 Циклінзалежні протеїнкінази 43, 146-149  
 Цикліни 15, 43, 146-149, 157  
 Цисти 87  
 Цитоз 108  
 Цитозоль 32, 69, 71, 114, 116-118  
 Цитокінез 150  
 Цитологія 32, 67  
 Цитоплазма 10, 79, 83, 74, 113-118  
 Цитоскелет 19, 56, 88, 114, 117, 135-138, 215  
 Цитоспектрофотометрія 66  
 Цитохімія 37, 65
- Ш**  
 Шаперони 39, 116, 136
- Я**  
 Ядерна пора 141-144  
 Ядерний матрикс 141, 143  
 Ядерно-цитоплазматичне співвідношення (індекс) 114, 152, 190, 195, 214  
 Ядерце 143, 144, 150, 214  
 Ядерцевий організатор 143, 144, 171  
 Ядро 14, 32, 37, 64, 69, 88, 140-157, 162, 202, 213

## ТЕРМІНОЛОГІЧНИЙ СЛОВНИК

**G<sub>0</sub>-фаза** – фаза клітинного спокою – це фаза інтерфази клітинного циклу, якій передує мітоз. Характеризується сповільненим синтезом протеїнів.

**G<sub>1</sub>-фаза** або постмітотична (пресинтетична) фаза – це фаза інтерфази клітинного циклу, за якої відбувається активний ріст і функціонування клітини, що обумовлено відновленням транскрипції, синтезом протеїнів, підготовкою до реплікації ДНК.

**G<sub>2</sub>-фаза** або постсинтетична (премітотична) – це фаза інтерфази клітинного циклу, за якої відбувається синтез протеїнів ахроматинового веретена, накопичення енергетичних ресурсів, у зв'язку з підготовкою до мітозу. Їй передує синтетична фаза.

**Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФаза (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-аденозинтрифосфатаза)** або Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-насос – це інтегральний ензим цитоплазматичної мембрани Р-типу АТФаз, який забезпечує активний транспорт (антипорт) йонів Na<sup>+</sup> і K<sup>+</sup>, регуляцію концентрації цих йонів у клітині. Важливою є роль насоса у виникненні мембранного потенціалу на ЦПМ клітини, за рахунок транспортування трьох йонів K<sup>+</sup> назовні і двох йонів Na<sup>+</sup> у середину клітини. Таким чином, мембрана стає поляризованою: зовні електричний потенціал вищий, ніж у середині (заряд зовнішньої поверхні «+», внутрішньої – «-»).

**S-фаза** або синтетична фаза – це фаза інтерфази клітинного циклу, за якої відбувається синтез ДНК (реплікація), подвоєння хроматину. Їй передує G<sub>1</sub>-фаза.

*p21* – ген і його продукт, протеїн – регулятор клітинного циклу, бере участь у індукуванні апоптозу.

*p27* – ген і його продукт, протеїн – регулятор клітинного циклу, бере участь у індукуванні апоптозу.

*p53* – багатофункціональний протеїн і однойменний його ген, який бере участь у модулюванні транскрипції генів, у контролі клітинного циклу, у регулюванні активації апоптозу. Однією з важливих функцій *p53* є участь у контролі реплікації і репарації ДНК та підтриманні стабільності геному у відповідь на генотоксичні стреси.

**Аберація** (англ. *aberration*) **хромосомна** – зміна лінійної структури хромосом, спричинена їх розривами і перерозподілом, втратою чи частковим подвоєнням генетичного матеріалу. Це узагальнена назва будь-якого з типів хромосомних мутацій: делецій,



транслокацій, інверсій, дуплікації.

**Автоліз** (англ. *autolysis*) – самоперетравлення тканин, клітин чи їх компонентів під дією власних ензимів лізосом.

**Адаптація** (англ. *adaptation*) – процес пристосування, у результаті якого формується сукупність особливостей клітини, організму, виду, що забезпечує можливість специфічного способу життя у конкретних умовах.

**Адгезія** (англ. *adhesion*) – здатність клітин тісно контактувати між собою та з іншими субстратами, що обумовлено специфічними протеїнами адгезії, пов'язаними з цитоплазматичною мембраною. Ці протеїни можуть пронизувати цитоплазматичну мембрану і взаємодіяти з цитоскелетом.

**Аденозиндифосфат (АДФ)** – нуклеотид, який складається з рибози, аденіну і двох фосфатних залишків, поєднаних макроергічними зв'язками. Є субстратом для синтезу АТФ.

**Аденозинмонофосфат (АМФ)** – нуклеотид, який складається з рибози, аденіну і одного фосфатного залишку. Є компонентом нуклеотиду нуклеїнових кислот.

**Аденозинтрифосфат (АТФ)** – нуклеотид, який складається з рибози, аденіну і трьох фосфатних залишків, поєднаних макроергічними зв'язками. Макроергічна сполука, що акумулює енергію у клітині.

**Аероби**, аеробні організми (англ. *aerobes, aerobic organisms*) – організми, для процесів життєдіяльності яких необхідний Оксиген.

**Аеросоми** – газові вакуолі бактерій. Утримують бактерії на поверхні води і дають можливість бактеріям, які не мають джгутиків, здійснювати вертикальні рухи у воді та капілярах ґрунту.

**Аквапорини** (англ. *aquaporins*) – протеїни, що формують йонні канали цитоплазматичної мембрани, транспортують воду.

**Активний транспорт** (англ. *active transport*) – транспорт молекул, йонів через біологічну мембрану за участі спеціалізованих протеїнів-транслоказ, які забезпечують перенесення речовини проти градієнта її концентрації із витратою енергії.

**Амфipатичні молекули** (англ. *amphipathic molecule*) – молекули, одна частина яких є гідрофобною, а інша – гідрофільною (фосфоліпіди, жирні кислоти). У водних розчинах частини молекули чітко орієнтовані: гідрофобні у центрі, а гідрофільні – на поверхні, формуючи міцели.

**Анаболізм** (англ. *anabolism*) – сукупність енергетично

затратних біохімічних процесів біосинтезу складних органічних сполук з простіших, оновлення клітинних структур.

**Анаероби**, анаеробні організми (англ. *anaerobes, anaerobic organisms*) – організми, які Оксиген отримують під час розщеплення оксигенвмісних сполук. Живуть у безкисневому середовищі.

**Анафаза** (англ. *anaphase*) – фаза ділення клітини у мітозі, мейозі. Їй передують метафаза. Під час анафази дочірні хромосоми розходяться до різних полюсів клітини.

**Ангстрем** (Å) (англ. *angstrom*) – лінійна одиниця виміру, що дорівнює  $10^{-1}$  нм.  $1 \text{ нм} = 10 \text{ Å}$ .

**Анеуплоїдія або гетероплоїдія** – це зміна числа хромосом у результаті порушення мейозу і мітозу, некратна гаплоїдному набору.

**Антикодон** (англ. *anticodon*) – ділянка молекули тРНК, яку складають три нуклеотиди, що комплементарні нуклеотидам кодону мРНК під час трансляції.

**Антипорт** (англ. *antiport*) – котранспортна система цитоплазматичної мембрани, у якій перенесення однієї розчинної речовини залежить від одночасного або послідовного перенесення іншої речовини у протилежному керунку. Наприклад, спряжений транспорт йонів  $\text{Na}^+$  і  $\text{K}^+$ .

**Апарат Гольджі** (комплекс Гольджі) – постійна органела клітини, пластинчастий комплекс цистерн, міхурців, вакуоль, які утворені ендомембранами. Бере участь у модифікації, сортуванні, везикулярному транспортуванні речовин, утворенні лізосом.

**Апоптичні тільця** – фрагменти апоптичної клітини, які формуються на пізніх стадіях апоптозу, оточені цитоплазматичною мембраною з частиною цитоплазми, органону усередині.

**Апоптоз** (англ. *apoptosis*) – процес запрограмованої смерті клітини. Це захисна реакція біосистеми у відповідь на численні пошкодження (зокрема ДНК) окремо взятої клітини або популяції клітин заради збереження цілісності та життєздатності усього організму.

**АТФази** (аденозинтрифосфатази) (англ. *adenosinetriphosphatases, ATPases*) – ензими класу гідролаз, які каталізують дефосфорилування аденозинтрифосфату (АТФ) і утворення аденозиндифосфату (АДФ) та вільного фосфат-йону. Під час цієї реакції вивільняється енергія, яку ензим використовує для інших хімічних реакцій, що забезпечують транспорт речовин. Активний транспорт йонів за рахунок енергії гідролізу АТФ

є в основі біоенергетики клітини.

**Аутофагія** – процес «самоперетравлення», деградації протеїнів, за якого частинки цитозолу у аутофагосомі (мембранному міхурці), спрямовуються до власних лізосом, гідролізуються ензимами.

**Базофілія** (англ. *basophilia*) – властивість цитоплазми, інших компонентів клітини зафарбовуватись основними барвниками.

**Бактерії** (англ. *bacteria*) – домен живих мікроорганізмів (*Bacteria*), одноклітинних або об'єднаних у колонії, що мають клітинну стінку, не мають сформованого ядра і двомембранних органел, динамічного цитоскелету.

**Бактеріородопсин** (англ. *bacteriorhodopsin*) – інтегральний мембранний світлочутливий протеїн мікроорганізмів *Halobacterium halobium*, мешканців солених озер, солончаків. Міститься у пурпурній фракції мембран цих мікроорганізмів.

**Бактеріофаги** – група вірусів, які паразитують у бактеріальних клітинах, примітивної, неклітинної будови.

**Біологічна мембрана** (англ. *biological membrane*) – ліпопротеїнова структура, розміром не більше 10 нм. Розрізняють цитоплазматичні мембрани, ендомембрани (внутрішньоклітинні мембрани).

**Біологічна система** – живий об'єкт чи система об'єктів різноманітної складності (клітина, тканина, орган, система органів, організм, біоценоз, екосистема, біосфера), що мають у своєму складі максимальне з відомих число рівнів структурно-функціональної організації, кожен з яких є сукупністю взаємозалежних елементів. Біологічним системам притаманна цілісність, що не зводиться до суми властивостей її складових елементів, динамічний характер стійкості, здатність адаптації до зовнішнього середовища, саморегуляції, самовідтворення, саморозвитку й прогресивного філогенетичного розвитку.

**Бластомери** – клітини, що утворюються внаслідок дроблення яйцеклітини тваринного організму.

**В'язкість цитоплазми** – це здатність цитоплазми виявляти опір переміщенню одних частин (йони, молекули, органели) відносно інших. В'язкість цитоплазми зумовлюється її фізико-хімічним станом (золю і гелю), в основі якого специфіка будови мікрофіламентів.

**Вакуоля** – органела, заповнена клітинним соком і оточена мембраною (тонопластом). Це утворення, типове для рослинної

клітини. Вакуолі формують цистерни ендоплазматичної сітки, які зливаються. У клітинному соці розчинені мінеральні солі, органічні кислоти, цукри, амінокислоти, протеїни. Окрім цих речовин, клітинний сік вакуолей містить феноли, таніни, алкалоїди, антоціани. У вакуолях є багато ензимів (переважно гідролази). Це місце, де накопичуються та зберігаються поживні речовини клітини, а також шкідливі речовини, які за допомогою ензимів знешкоджуються.

**Вакуолярна система клітини** – система одномоембранних структур цитоплазми, пов'язаних між собою структурно та функціонально. Її складовими є ендоплазматична сітка, апарат Гольджі, лізосоми, везикули, вакуолі.

**Везикула** (англ. *vesicle*) – невелике клітинне утворення, що має вигляд міхурця, оточеного мембраною, у якому запасуються або транспортуються поживні речовини, біологічно активні речовини клітини.

**Вектор** (англ. *vector*) – природна (плазміда, бактеріофаг, вірус чи інше) або сконструйована конструкція ДНК, яка містить селективний маркер і здатна до автономної реплікації у клітині-реципієнті. Використовується для перенесення чужорідної генетичної інформації у клітину.

**Віріон** (англ. *virion*) – вірусна частинка, яка складається з нуклеїнової кислоти і капсули. Позаклітинна форма існування вірусів.

**Вірус** (англ. *virus*) – неклітинна форма, ультрамікроскопічний комплекс, що здатний до інфікування (20 – 400 нм), характеризується тим, що його не затримують бактеріальні фільтри, не росте на поживних середовищах. Репродукується лише у клітині, внутрішньоклітинний паразит.

**Вітальне фарбування** (англ. *vital staining*) – прижиттєве фарбування клітин, тканин мало токсичними барвниками.

**Включення** – непостійні утвори, внутрішньоклітинні інклюзії, що є частинами різних за структурою речовин, продуктів метаболізму і роль яких у клітині пасивна.

**Гаметогенез** (англ. *gametogenesis*) – процес утворення, розвитку і диференціювання статевих клітин – гамет.

**Гаплоїдний набір хромосом (n)** – одинарний набір хромосом, міститься у статевих клітинах.

**Ген** – це ділянка ДНК, яка є одиницею спадкової інформації і відповідає за синтез одного протеїна та формування одної ознаки.

**Генетична інженерія** (англ. *genetic engineering*) – напрям

біотехнології, молекулярної біології, генетики, спрямований на створення нових форм клітин, організмів, у результаті маніпуляцій з нуклеїновими кислотами, зміни генетичної інформації за допомогою технології рекомбінантної ДНК.

**Генетичний код** (англ. *genetic code*) – універсальна для усіх живих організмів система запису генетичної інформації як послідовності нуклеотидів ДНК, РНК, у якій кожен три, розташований один за одним, нуклеотиди визначають (кодують) амінокислотний залишок поліпептидного ланцюга.

**Гени «домашнього господарства», конститутивні гени** (англ. *housekeeping genes, constitutive genes*) – структурні гени, що забезпечують основні життєво важливі функції клітини, експресія яких не регулюється додатковими чинниками.

**Гени «роскоші»** (англ. *luxury genes*) – гени, що забезпечують спеціалізовані функції клітини.

**Генні або точкові, мутації** – це зміни послідовності нуклеотидів гена, первинного ланцюга ДНК, які призводять до зміни амінокислотної послідовності протеїнів, порушення синтезу протеїнів.

**Геном** – сукупність генів клітини.

**Гетерохроматин** (англ. *heterochromatin*) – інтенсивно зафарбовані ділянки хроматину, які залишаються у конденсованому стані впродовж усього клітинного циклу, генетично неактивні. У гетерохроматинових ділянках хромосоми містяться багато високоповторюваних послідовностей ДНК і незначна частина генів.

**Гідролази, гідролітичні ензими** (англ. *hydrolases, hydrolytic enzymes*) – ензими, що каталізують реакції гідролізу, розщеплюють субстрат, приєднуючи у місці кожного зі зруйнованих зв'язків молекулу води.

**Гідрофільні молекули** – молекули, ділянки молекул, які взаємодіють з водою, розчинні у ній.

**Гідрофобні молекули** – молекули, ділянки молекул, які слабо взаємодіють з водою. Їх також називають ліпофільними, за розчинністю у ліпідах.

**Гіпертонічний розчин** (англ. *hypertonic solution*) – розчин з більш високою концентрацією розчинених речовин (з більшим осмотичним тиском) порівняно з іншими. Здатний за наявності напівпроникної мембрани відтягувати воду з інших розчинів.

**Гіпотонічний розчин** (англ. *hypotonic solution*) – розчин з

менш високою концентрацією розчинених речовин (з меншим осмотичним тиском) порівняно з іншими. В оточенні таких розчинів здатний втрачати воду через напівпроникну мембрану.

**Гістологічні барвники** – інтенсивно забарвлені речовини, природного чи синтетичного походження, придатні для фарбування гістологічних препаратів живих/мертвих клітин, тканин.

**Гістони** (англ. *histones*) – група невеликих за молекулярною масою протеїнів, структурні протеїни хроматину, утворюють нуклеосоми, забезпечують компактне упакування ДНК.

**Гістохімія** (англ. *histochemia*) – розділ гістології, який вивчає хімічний склад, локалізацію структур, органів, тканин, клітин рослин і тварин.

**Гліколіз** – це сукупність анаеробних ферментативних реакцій, які забезпечують безкиснєве розщеплення глюкози з утворенням молочної кислоти з пірвіноградної і АТФ.

**Гліколіпіди** (англ. *glycolipides*) – складні ліпіди, у структурі яких є сфінгозин, залишок жирної кислоти, олігоцукорид.

**Гліцерофосфоліпіди** – складні естери гліцеролу та вищих жирних кислот, до їхнього складу входить також залишок фосфатної кислоти, етерифікований аміноспиртами (холіном, етаноламіном, серином. Фосфодиестерний зв'язок у їхньому складі утворений гідроксильними групами: холіну – фосфатидилхоліни (лецитини), етаноламіну – фосфатидилетаноламіни (кефаліни), серину – фосфатидилсерини, інозитоли (фосфатидилінозитоли).

**Гомеостаз** (англ. *homeostasis*) – здатність біологічної системи протистояти змінам та зберігати відносну стабільність за рахунок складного комплексу властивих їй регуляторних механізмів.

**Градiєнт концентрації** – різниця концентрацій речовини по обидва боки цитоплазматичної мембрани.

**Грамнегативні бактерії** – бактерії, що забарвлюються за методом Грама додатковим барвником (фуксином) у червоний колір.

**Грампозитивні бактерії** – бактерії, що забарвлюються за методом Грама основним барвником (генціаном фіолетовим) у темнофіолетовий колір. Результат фарбування за методом Грама корелює з будовою бактерій, чутливістю до хіміотерапевтичних препаратів.

**Грани хлоропласта** – скупчення дископодібних тилакоїдів, з'єднаних між собою системою міжгранних тилакоїдів строми.

**Дегідрогенази** (англ. *dehydrogenases*) – ензими, що каталізують

реакції дегідрогенування, результатом яких є відщеплення Гідрогену (протонів і електронів) від субстрату, що окиснюється і перенесення на інший субстрат, який відновлюється (сукцинатдегідрогенази, глутаматдегідрогенази).

**Дедиференціація** – зворотній процес до диференціації клітин. Втрата диференційованими клітинами ознак, набутих під час диференціації. Зовні дедиференційовані клітини нагадують мало диференційовані клітини зародка, здатні до проліферації.

**Делеція** – мутація, зумовлена втратою ділянки хромосоми, нуклеотида.

**Деплазмоліз** – процес зворотний плазмолізу. При заміні гіпертонічного розчину, у якому містилась клітина на гіпотонічний, відбувається насичення клітини водою, її транспортування у клітину за градієнтом концентрації, відновлення об'єму цитоплазми.

**Десмосоми** (англ. *desmosomes*) – спеціалізовані поверхневі структури клітини, які сприяють контактам (адгезії) між собою сусідніх клітин.

**Детермінація** (англ. *determination*) – молекулярно-генетичне обумовлення шляхів диференціювання і розвитку клітини, водночас унеможливлення розвитку іншим шляхом. Передуює диференціації.

**Джгутики** – тяжі протеїнової природи, за допомогою яких бактерії рухаються. У еукаріот – це вкриті ЦПМ вирости цитоплазми, які містять каркас із мікротрубочок.

**Диктіосома** – це структурно-функціональна одиниця апарату Гольджі, сукупність 5 – 10 плоских цистерн, розташованих паралельно одна одній, які можуть містити міхурці, вакуолі.

**Диплоїдний набір хромосом (2n)** – подвійний набір хромосом, міститься у соматичних клітинах.

**Диференціальне центрифугування** (англ. *differential centrifugation*) – метод розділення субклітинних компонентів за коефіцієнтами седиментації, які приблизно пропорційні їхньому розміру.

**Диференціація** (англ. *differentiation*) – здатність набути ознак спеціалізованої клітини.

**Диферон** (від лат. *differo* – розповсюджувати), або гістогенетичний ряд – це угруповання усіх клітин, які складають ту чи іншу лінію диференціації – від найменш диференційованих (стовбурових) до найбільш зрілих – диференційованих.

**Дифузія** – (англ. *diffusion*) – взаємне проникнення одна в одну

дотичних речовин внаслідок руху їхніх частинок (атомів, молекул, йонів, електронів, а також квазічастинок – у конденсованому середовищі). Дифузія відбувається у напрямі зменшення концентрації частинок у речовині й призводить до їхнього рівномірного розподілу в об'ємі, який вони займають.

**Ділення клітини** – процес ділення материнської клітини на дві дочірні. Лежить в основі усіх видів розмноження. Найбільш поширені форми ділення – мітоз, мейоз.

**ДНК** (дезоксирибонуклеїнова кислота) – це макромолекула – носій генетичної інформації, місце локалізації генів, продуктами яких є протеїни, РНК.

**ДНК хлоропластів** (англ. *chloroplast DNA*) – кільцева ДНК, кодує не багато протеїнів, які беруть участь у формуванні тилакоїдів мембран і апарату фотосинтезу.

**ДНК-залежні-ДНК-полімерази** (ДНК-полімерази) – ензими, що синтезують ДНК на матриці ДНК. Основні ензими реплікації.

**ДНК-залежні-РНК-полімерази** (РНК-полімерази) – ензими, що синтезують РНК на матриці ДНК. Основні ензими транскрипції.

**Дуплікація** – мутація зумовлена подвоєнням ділянки хромосоми, нуклеотида.

**Еволюція** (англ. *evolution*) – незворотній напрям розвитку живої природи, який супроводжують зміни генетичного складу популяції, формування адаптацій, нових ознак.

**Еквацийний поділ** – другий етап мейотичного ділення, у якому гаплоїдні ядра з двохроматидними хромосомами зазнають поділу за типом мітозу. Має чотири фази: профазу II, метафазу II анафазу II, телофазу II. Після їх завершення утворюються чотири клітини з гаплоїдним набором хромосом.

**Екзоцитоз** (англ. *exocytosis*) – процес виділення клітиною речовини у позаклітинне середовище.

**Експресивність** (англ. *expressivity*) – інтенсивність, з якою ефект гена реалізується у фенотип.

**Експресія генів** – процес, при якому спадкова інформація використовується для синтезу функціонального продукту: протеїнів або РНК і регулюється регуляторними генами, внутрішніми та зовнішніми чинниками.

**Електрохімічний градієнт** – це рушійна сила потоку йонів, яка є комбінацією мембранного потенціалу (електричний градієнт) і градієнта концентрації речовин (хімічний градієнт). Електричний



градієнт характеризує рух тільки йонів і направлений у бік їх протилежного заряду. Хімічний градієнт направлений з розчину високої концентрації розчиненої речовини до розчину з низькою концентрацією.

**Ембріогенез** (англ. *embryogenesis*) – процес формування, розвитку ембріона у пренатальному періоді.

**Емерджентність системи** – властивість системи, яка полягає у тім, що сукупне функціонування взаємопов'язаних елементів породжує якісно нові функціональні властивості системи.

**Ендоплазматична сітка** (ендоплазматичний ретикулум) – це система каналів, цистерн, оточених мембраною. Ендоплазматичний ретикулум (ЕР) може бути гладкий (агранулярний) і гранулярний. На зовнішній поверхні каналів гранулярного ретикулуму розміщуються рибосоми. Починається ретикулум від зовнішньої мембрани мембрани ядра, розгалужується та підходить до різних органоїдів цитоплазми, а також ЦПМ.

**Ендоцитоз** (англ. *endocytosis*) – процес захоплення і поглинання клітиною твердих речовин чи живих клітин, краплин рідини чи макромолекул, які не можуть транспортуватись через пору.

**Енергетичний метаболізм** – це сукупність реакцій, спрямованих на запасання енергії, необхідної для здійснення усіх видів роботи клітиною, а також для можливості пластичного метаболізму.

**Ензими клітини** – це біологічні каталізатори. Завдяки їх посередності реалізується генетична інформація, здійснюються усі метаболічні процеси живих клітин.

**Ентоз** – це форма клітинного канібалізму, яка відбувається у здорових тканинах та пухлинах ссавців. Жива клітина поглинається іншою клітиною, що не володіє здатністю до фагоцитозу.

**Ентропія** – міра впорядкованості системи, це витрати енергії, яка вже не може бути використана на процеси життєдіяльності. Чим вища ентропія, тим менше елементи системи упорядковані, тим менша інформаційна ємність системи.

**Еукаріоти** – домен різноманітних організмів, одноклітинних, колоніальних, багатоклітинних. Містять сформоване ядро, мембранні органели, складні процеси диференціації, розвитку, складніше організований геном.

**Життєвий цикл** (англ. *life cycle*) – період життєдіяльності клітини, під час якого відбуваються усі процеси обміну та ділення.

Починається з зиготи, закінчується явищем старіння і смерті клітини.

**Зигота** (англ. *zygote*) – запліднена яйцеклітина з диплоїдним набором хромосом, утворена у результаті злиття гамет: яйцеклітини і сперматозоїда. Тотипотентна клітина.

**Йонофори** (англ. *ionophores*) – група невеликих гідрофобних молекул, розчинних у ліпідних бішарах мембран, здатних підвищувати їхню проникність для певних йонів. Більшість таких молекул синтезується мікроорганізмами.

**Ідіограма** (англ. *idiogram*) – графічне зображення каріотипу чи окремих хромосом зі всіма структурними компонентами: центромерою, супутниками, довжиною плечей, розташування пар хромосом у порядку зменшення їхніх розмірів.

**Ізотонічний розчин** (англ. *isotonic solution*) – розчин, що має однаковий осмотичний тиск з розчином порівняння. Наприклад, 0,9% водний розчин Натрію хлориду характеризується однаковим осмотичним тиском з плазмою крові.

**Іморталізація** – трансформація нормальних клітин з метою надати здатності до необмеженої проліферації. Це мінімальний рівень трансформації, перший етап трансформації клітини у злоякісну.

**Імуногістохімія** – аналітичний метод визначення протеїнів (антигенів) у клітинах біологічних тканин на основі реакції антиген-антитіло.

**Інверсія** – мутація зумовлена зміною орієнтації ділянки хромосоми на  $180^{\circ}$ .

**Індукований мутаційний процес** – це виникнення спадкових змін під впливом направленої дії факторів зовнішнього і внутрішнього середовища.

**Інсерції** – мутації зумовлені вставленням додаткового нуклеотиду у ген або ділянки хромосоми до складу хромосоми, що зумовлює надлишковість ДНК.

**Інтегральні протеїни** – постійні, вбудовані у цитоплазматичну мембрану молекули протеїнів. Вони, як правило, мають великі гідрофобні ділянки, розташовані всередині мембрани.

**Інтермедіат** – проміжна речовина з коротким періодом існування, що утворюється на одному з етапів хімічної реакції, а далі бере участь у наступних реакціях, що призводять до утворення продуктів реакції.

**Інтерфаза** – фаза клітинного циклу. Фаза активного

метаболізму – займає більшу частину часу клітинного циклу. Під час цієї фази клітина росте, функціонує, диференціюється, готується до ділення.

**Кадгерини** (англ. *cadherins*) – суперродина адгезивних трансмембранних кальційзалежних глікопротеїдів.

**Каналутворювальні протеїни (порини)** – транспортні інтегральні мембранні протеїни, які беруть участь у полегшеній дифузії речовин. Є потенціалзалежними, лігандзалежними, активність може змінюватися під впливом різних факторів, у результаті метаболічних реакцій.

**Канцерогенез** – процес виникнення та розвитку злоякісного новоутворення.

**Капсула** – товстий, міцний із чіткими межами слизовий шар бактерій.

**Карбоксисоми** чи поліедральні тіла – багатогранні включення з ліпопротеїновою мембраною у клітинах ціано- і сіркобактерій. Вони містять важливий ензим фіксації CO<sub>2</sub> у циклі Кальвіна – рибульозофосфаткарбоксилазу.

**Каріоплазма** (нуклеоплазма, каріолімфа, ядерний сік) – колоїдна система внутрішнього вмісту ядра.

**Каріотип** – диплоїдний набір хромосом клітини, який характеризується: кількістю хромосом, певними їх розмірами, формою, будовою, характерний певному біологічному виду.

**Каспази** – цистеїнові протеази, деградують протеїни у специфічній для апоптозу послідовності, після аспарагінової кислоти.

**Катаболізм** – сукупність біохімічних процесів, скерованих на деградацію складних молекул до простих.

**Кейлони, халони** (англ. *chalones*) – поліпептиди чи глікопротеїди, які синтезуються клітинами вищих організмів, гальмують мітоз, проліферацію клітин, стимулюють диференціювання.

**Кінетохор** – це комплекс протеїнів, що формуються у центромері й беруть участь у розділенні сестринських хроматид у анафазі мітозу.

**Клатрин** (англ. *clathrin*) – консервативний фібриновий протеїн (180 кДа). У комплексі з іншими поліпептидами утворює своєрідний чохол на поверхні міхурців, які шляхом ендоцитозу виводяться з клітини.

**Клітина** – це складно організована біологічна система, яка є елементарною одиницею будови живих організмів, що забезпечує сукупність усіх проявів життєдіяльності.

**Клітинна культура (культура клітин)** – популяція однорідних клітин, вирощена *in vitro* на поживному середовищі.

**Клітинний цикл** – послідовність подій, що відбуваються між утворенням клітини та її діленням на дочірні. Його складають інтерфаза і ділення клітини (мейоз, мітоз).

**Кодон** – послідовність трьох нуклеотидів (триплет) мРНК. Кожний кодон (триплет) кодує певну амінокислоту або є сигнальним.

**Компартмент клітини** – частина клітини, відокремлена мембраною. Наприклад, усі мембранні органоїди є компартментами.

**Компетентна клітина** (англ. *competent cell*) – фізіологічний стан клітини, який дозволяє їй приймати екзогенну ДНК за трансфекції чи трансформації.

**Кон'югація** (англ. *conjugation*) – прями́й контакт двох клітин за допомогою пілей, який супроводжується перенесенням генетичного матеріалу від клітини-донора до клітини-реципієнта. Спосіб обміну генетичною інформацією у бактерій.

**Конституційні речовини клітини** – речовини, що беруть участь в обміні речовин клітини.

**Кристи мітохондрій** – численні складки внутрішньої мембрани мітохондрій, які забезпечують збільшення функціонуючої поверхні.

**Кросинговер** (англ. *crossing-over*) – обмін ділянками між гомологічними хромосомами у профазі мейозу, що забезпечує рекомбінацію генетичного матеріалу у нащадків.

**Культивування клітин, тканин, експлантів *in vitro*** – збереження життєдіяльності клітин, тканин, експлантів поза організмом.

**Кутова апертура** – це максимальний кут, під яким можуть потрапляти в об'єкт промені, що пройшли через об'єкт на предметному столику мікроскопа.

**Ламіна** – це щільна сітка протеїнових фібрил, яка вистилає зсередини внутрішню ядерну мембрану. До неї по периферії ядра фіксується хроматин.

**Латеральна дифузія** – рух молекул паралельно поверхні цитоплазматичної мембрани. Це рух у двовимірному просторі бішару, зміна орієнтації полярних головок, коливання

жирнокислотних ланцюгів, а також обертальні рухи навколо довгої осі молекул.

**Лізис** (англ. *lysis*) – руйнування клітин під дією ензимів лізосом чи інших агнетів (детергентів, фагів). Також це здатність бактерій лізуватись з виділенням бактеріофага.

**Лізогенія** – симбіоз бактеріальної клітини з фагом.

**Лізосоми** – субмікроскопічні мембранні органели загального призначення, утворюються комплексом Гольджі. Основна функція лізосом – деструкція біополімерів (забезпечують процеси внутрішньоклітинного травлення.).

**Ліпіди** – складні естери вищих карбонових (жирних) кислот та спиртів (гліцеролу, сфінгозину, холестеролу тощо). До складу багатьох складних ліпідів входять також залишки фосфатної кислоти, нітрогенвмісних сполук (холіну, етаноламіну), цукоридів.

**Локус** (англ. *locus*) – точка чи ділянка геному, хромосоми, яку можна ідентифікувати за допомогою маркерного гена. Це локалізація (місце знаходження) нуклеотида, нуклеотидної послідовності, гена.

**Люмінесцентна** або **флуоресцентна** мікроскопія – метод аналізу за допомогою люмінесцентного мікроскопа, в якому використовується явище люмінесценції (світіння) речовин при дії на них короткохвильовими променями (ультрафіолетового світла, рентгенівськими променями).

**Люмінофори, флуорохроми** (англ. *luminophores*) – органічні і неорганічні речовини, які володіють здатністю люмінесценції. Такі речовини використовують для фарбування препаратів для люмінесцентної мікроскопії.

**Лямбда ( $\lambda$ ) фаг** (англ. *lambda phage*) – помірний бактеріофаг з дволанцюговою ДНК розміром 45 т. п. н. Репродукується у клітинах *E. coli*. літичним або лізогенним шляхом.

**Макроелементи** – елементи, вміст яких у клітині перевищує 0,001% відносно загального відсотка вмісту речовин (Сульфур, Натрій, Хлор, Кальцій, Калій, Магній, Фосфор).

**Маркер** (клітини) – специфічна молекула, за якою можна ідентифікувати клітинний компартмент чи тип клітини.

**Матрикс** (англ. *matrix*) – основна гомогенна напіврідка речовина клітини, що заповнює компартменти клітини (ядро, мітохондрії, хлоропласти) і міжклітинне середовище.

**Мезосоми** – внутрішньоклітинні мембранні утворення, бактеріальної клітини, на яких відбуваються метаболічні процеси.

**Мейоз** – ділення статевих клітин, утворення гамет.

**Мембрана** – складна, високо впорядкована молекулярна система, яка утворює біліпідний шар фосфоліпідів і протеїнів.

**Мембранний потенціал** (потенціал спокою) – це різниця потенціалів між зовнішньою та внутрішньою сторонами мембрани в умовах, коли клітина не збуджена.

**Метаболізм** (англ. *metabolism*) – сукупність біофізичних і біохімічних процесів, що відбуваються у клітині і забезпечують її енергією і речовинами. Продукти метаболізму називають метаболітами.

**Метастази** (від грец. *μετάστασις*, «переміщення, зміна положення») – віддалене вторинне вогнище патологічного процесу, яке спричинене переміщенням пухлинних клітин з первинного вогнища захворювання тканинами організму.

**Метастазування** (англ. *metastasis*) – процес поширення пухлинних клітин у вторинні вогнища.

**Метафаза** (англ. *metaphase*) – фаза мітозу чи мейозу, під час якої хромосоми розташовуються у екваторіальній площині клітини, утворюючи метафазну пластинку.

**Міжклітинні контакти** – з'єднання між сусідніми клітинами у складі тканин та органів багатоклітинних організмів. Вони можуть бути різними як за формою, структурою, так і за забезпеченням контактів між клітинами.

**Мікроелементи** – елементи, кількість яких у клітині становить від 0,001% до 0,000001% відносно загального відсотка вмісту речовин (Купрум, Цинк, Манган, Молібден тощо).

**Мікроорганізми** (англ. *microorganisms*) – дрібні організми різних систематичних груп, які можна побачити тільки у мікроскоп: бактерії, дріжджі, одноклітинні найпростіші, плісняві гриби, мікроскопічні водорості.

**Мікроскопія** (від грецького *mikros* – малий та *skopeo* – спостерігаю) – вивчення за допомогою мікроскопа – це основний метод цитологічних досліджень.

**Мікросоми** – фрагменти ендоплазматичної сітки, що утворюються при руйнуванні клітин у процесі гомогенізації тканин.

**Мікротом** – прилад, за допомогою якого одержують надтонкі зрізи тканини, фіксованої у парафіні, з наступним її перенесенням на предметне скельце, що дає можливість їх фарбувати для дослідження у мікроскоп. Дозволяє отримувати зрізи товщиною 1 – 60 мкм.

**Мікротрубочки** – компонент цитоскелету, довгі трубчасті утворення діаметром приблизно 25 нм. Основним протеїном мікротрубочок є тубулін.

**Мікрофіламенти** – це довгі нитчасті актинові утворення діаметром приблизно 7 нм.

**Міссенс-мутація** – заміна нуклеотиду у кодуєчій системі гена, яка веде до заміни амінокислоти у молекулі протеїну.

**Мітоген** (англ. *mitogen*) – сполука, яка стимулює клітини до мітотичного ділення.

**Мітоз, каріокінез** (англ. *mitosis*) – непряме ділення соматичних клітин, у результаті якого відбувається подвоєння хромосом, а пізніше їх розподіл між двома дочірніми клітинами з відновленням диплоїдного набору хромосом.

**Мітотична катастрофа** – загибель клітини у результаті серйозних порушень мітозу, переважно під час мета- і анафази.

**Мітотичний режим** – це комплекс кількісних показників, які характеризують мітотичний поділ клітини.

**Мітохондріальна ДНК, мтДНК** – кільцева цитоплазматична ДНК еукаріот. Міститься у мітохондріях.

**Мітохондрії** (англ. *mitochondrion*) – двомембранні органели цитоплазми, основна функція яких трансформування енергії. Здатні до самовідтворення, мають власну протеїн синтезуючу систему.

**Морула** (англ. *morula*) – рання стадія ембріогенезу. Після 4-ох послідовних мітотичних поділів зиготи (на стадії 16-ти клітин,  $2^4=16$ ) формується морула (від *Morus*, шовковиця).

**Мультипотентні клітини** – це стовбурові клітини, що можуть диференціюватись у клітини однієї спеціалізованої тканини.

**Мутаген** (англ. *mutagen*) – будь-який агент чи фактор, під впливом якого в організмі виникають мутації.

**Мутагенез** – процес виникнення мутацій.

**Мутант** – організм, що змінив свій фенотип внаслідок мутації ДНК.

**Мутації** (лат. *mutatio* – зміна) – стійкі зміни генетичного матеріалу, що призводять до зміни спадкових ознак організму. Зміни можуть стосуватись кількості або структури генів і їх носіїв – хромосом.

**Нативна ДНК** (англ. *native DNA*) – природна дволанцюгова молекула ДНК з непорушеними водневими зв'язками, комплементарними парами основ, у біологічно активній формі.

**Негістонові протеїни** – це велика гетерогенна група протеїнів. Серед них є структурні і регуляторні протеїни, що беруть участь у регуляції генів, а також деякі ензими. Негістонові протеїни відрізняються від гістонів за властивостями й амінокислотним складом. Вони є кислими протеїнами, бо містять велику кількість залишків кислих амінокислот (глутамінової та аспарагінової).

**Некроз** – патологічний процес загибелі клітини, який виникає у відповідь на яку-небудь ушкоджуючу дію (інфекцію, хімічна дія, опромінення, недостатнє кровопостачання).

**Нонсенс-мутація** – заміна нуклеотиду у кодуєчій частині гена, що веде до утворення стоп-кодону.

**Нуклеїнові кислоти** – природні високомолекулярні полімери, що здійснюють збереження та перенесення генетичної інформації у клітині.

**Нуклеоїд** – це кільцева, подвійна нитка ДНК прокариот, складається з  $3 \cdot 10^9$  пар нуклеотидів, не відокремлена від цитоплазми мембраною, довжиною 1,1 – 1,4 мм.

**Нуклеопротеїни** – складні протеїни, у складі яких непротеїновим компонентом є нуклеїнові кислоти. Протеїновий компонент – гістони, негістонові протеїни та інші. Залежно від типу нуклеїнової кислоти, всі вони поділяються на: рибонуклеопротеїди, дезоксирибонуклеопротеїни. Дезоксирибонуклеопротеїни формують хроматин.

**Нуклеотид** – мономер нуклеїнових кислот, до складу якого входять нітрогенвмісна основа, залишок пентози і фосфатної кислоти.

**Об'єктив мікроскопа** – складна оптична система, яку складають фронтальна лінза (найближче до об'єкта), проксимальна лінза (найдалі від об'єкта) і набір внутрішніх лінз.

**Окуляр** – система лінз, яка збільшує зображення.

**Оператор** – ділянка ДНК, з якою зв'язується протеїн-репресор, у результаті чого блокується транскрипція.

**Органела** – диференційована ділянка клітини, що виконує конкретну функцію.

**Осмо́с** (англ. *osmosis*) – перенесення розчинника через напівпроникну мембрану, що відділяє розчин від чистого розчинника чи розчину з нижчою концентрацією. Процес відбувається до тих пір, поки концентрації цих розчинів не вирівнюються.

**Осмо́тичний тиск** – це тиск, який чинить розчинник на напівпроникну мембрану при переході з ділянки з меншою



концентрацією розчиненої речовини у ділянку з більшою його концентрацією до досягнення рівноваги.

**Пептидоглікан** (муреїн) – це гетерополімер, який складається із залишків N-ацетилглюкозаміну і N-ацетилмурамової кислоти, з'єднаних між собою  $\beta$ -1-4 глікозидним зв'язком.

**Периферичні протеїни** – протеїни асоційовані з ліпідною поверхнею біологічних мембран.

**Пероксисоми** – субмікроскопічні мембранні органели загального призначення, діаметром близько 0,2-0,5 мкм заповнені ензимами, серед яких маркерним є каталаза.

**Підсистема** (клітини) – сукупність елементів, об'єднаних спільним процесом функціонування, які, взаємодіючи, реалізують певну операцію, необхідну для досягнення поставленої перед системою загалом мети.

**Пілі** (англ. *pili*) – статеві ворсинки, невеликі протеїнові структури бактерій, особливі трубчасті, порожнисті вирости на поверхні клітини, довжина яких у декілька разів перевищує величину бактерії.

**Піноцитоз** (англ. *pinocytosis*) – конститутивний процес захоплення клітиною рідких речовин.

**Плазміда** (англ. *plasmid*) – позахромосомна, автономна кільцева ДНК бактеріальної клітини, що може залишати клітину і реплікуватись та експресувати свою генетичну інформацію у іншій бактеріальній клітині.

**Плазмоліз** – стан клітини при її зануренні у гіпертонічний розчин, за якого відбувається осмотичний відтік води з клітин, зменшення об'єму вакуолі і відповідно відшарування цитоплазми від цитоплазматичної мембрани вслід за вакуолею.

**Пластиди** (від грец. *plastos* – утворений, виліплений, оформлений) – двомембранні органели, що містять пігменти, фотосинтезуючу систему, характерні для автотрофних еукаріот (рослин).

**Пластичний метаболізм** – це сукупність хімічних реакцій, спрямованих на будову структур клітини. В його основі лежить біосинтез речовин, відбувається з поглинанням енергії.

**Плюрипотентність** – здатність клітини диференціюватись у будь-який тип соматичних клітин ссавців, у тому числі й людини.

**Поліморфізм клітин** (англ. *polymorphism*) – існування двох чи більше генетично і морфологічно різних груп у одній популяції,

різних за формою, розмірами (4 – 60 мкм) ядер і ядерець.

**Поліплоїдія** – це збільшення диплоїдного числа хромосом шляхом додавання цілих гаплоїдних наборів (n) внаслідок порушення мейозу.

**Полісома** – комплекс рибосом, об'єднаних молекулою мРНК, які одночасно синтезують протеїн.

**Потенціал дії** – швидке коливання мембранного потенціалу, пов'язане зі зміною йонної проникності під дією подразника порогової сили, в основі якого лежить короткочасне перезарядження мембрани і наступне відновлення вихідного значення мембранного потенціалу.

**Продуцент** (англ. *producer*) – організм, який використовується для отримання біологічно активної речовини чи біомаси.

**Прокаріоти, прокаріотичні організми** (англ. *prokaryotes, prokaryotic organisms*) – організми, клітини яких не мають сформованої мембрани ядра, генетичний матеріал закріплений на клітинній мембрані.

**Проліферація** (англ. *proliferation*) – збільшення кількості клітин шляхом мітозу, що призводить до росту тканини.

**Проміжні філаменти** – це довгі нитчасті утворення діаметром близько 10 нм, що в різних напрямках пронизують цитоплазму. Можуть формувати термінальну сітку по периферії клітини. Формують ядерну ламіну, яка підтримує цілісність і форму ядра, служить для прикріплення хромосом до поверхневого апарату ядра.

**Промотор** – ділянка ДНК з якою зв'язується РНК-полімераза та ініціюється транскрипція.

**Протеїнази** – ензими, які перетворюють субстрат протеїни, каналізують реакції руйнування пептидних зв'язків, розпаду протеїнів до амінокислот.

**Протеїни** – високомолекулярні нітрогенвмісні органічні сполуки, побудовані з великої кількості залишків  $\alpha$ , L-амінокислот, з'єднаних між собою пептидними зв'язками у поліпептидний ланцюг (ланцюги), що мають складну структурну (просторову) організацію та виконують важливі життєві функції.

**Протеїн-переносник** (англ. *carrier protein*) – мембранний протеїн, який здійснює транспорт специфічних субстанцій через клітинну мембрану.

**Протопласт** (англ. *protoplast*) – клітина без клітинної стінки.

**Проточна цитометрія** (англ. *flow cytometry*) – метод

дослідження дисперсних середовищ у режимі поштучного аналізу елементів дисперсної фази за сигналом світлорозсіювання і флуоресценції. Метод дозволяє сортувати за фазами клітинного циклу клітини, відокремити різні типи клітин тощо.

**Профаг** – геном помірною фага інтегрований у ДНК клітини-господаря, здатний реплікуватися і успадковуватись з нею.

**Профаза** – початкова фаза мітозу, під час якої відбувається розпад ядерець, формується веретено ділення.

**Процесинг**, дозрівання (англ. *processing*) – сукупність процесів, модифікації продуктів транскрипції і трансляції у зрілі функціонально активні молекули РНК, протеїни. До таких процесів належить видалення кінцевих послідовностей, сплайсинг, поліаденілування, кепування РНК, фосфорилування протеїнів.

**Пухлинні клітини** – клітини, у яких відбулись генетичні зміни у локусах генів, які відповідають за регуляцію проліферації, клітинного циклу. У наслідок того вони набули ознак трансформованих клітин, стали нечутливими до протиростових сигналів, апоптозу.

**Радіоавтографія** – важливий інформативний метод, що дозволяє вивчати розподіл у клітинах і тканинах речовин, до складу яких введено радіоактивні ізотопи – радіоактивну мітку.

**Регенерація** – процес відновлення утрачених чи пошкоджених частин організму.

**Регуляторні гени** – гени, що контролюють транскрипцію.

**Редиференціація** (англ. *redifferentiation*) – набуття спеціалізованими клітинами ознак недиференційованих. Зворотній процес до диференціації.

**Рекомбінація** (англ. *recombination*) – особливі феномени спадкової мінливості мікроорганізмів, які не пов'язані з мутаційним процесом. Наприклад, перерозподіл генетичного матеріалу під час кросинговеру, кон'югації, внаслідок мобільності деяких генів.

**Репарація** – це процес виправлення помилок на ДНК в основі якого ферментативне видалення і повторний синтез ділянок ДНК, що отримали пошкодження під дією фізичних та хімічних агентів.

**Реплікація** (англ. *replicatio*) – процес подвоєння (дуплікації) дволанцюгової молекули ДНК, у результаті якого утворюються дві ідентичні молекули.

**Репрограмування диференційованих клітин** – процес застосування генноінженерних маніпуляцій, які призводять до

експресії генів стовбурової клітини і вимкнення генів диференційованої.

**Рецептор** (англ. *receptor*) – молекула чи молекулярний комплекс на поверхні клітини, здатний розпізнати специфічні молекули чи клітини і відреагувати на взаємодію конформаційними змінами мембранних протеїнів чи внутрішньоклітинними сигналами, які впливають на метаболізм клітини.

**Рибозими** (англ. *ribozymes*) – молекули РНК, які володіють ферментативною активністю. Наприклад, каталізують фрагментування і «зшивання» мРНК.

**Рибосоми** – немембранні двосубодиничні органели синтезу протеїнів, складаються з рРНК і протеїну (звідти назва, з лат. *soma* – тіло).

**РНК** – одно-, дволанцюгова молекула, складовими якої є рибонуклеотиди. За функціональною активністю і структурою виокремлюють: рибосомальну РНК, транспортну РНК, матричну (інформаційну) РНК, малі цитоплазматичні РНК, гетероядерні РНК, мікроРНК, малі інтерферуючі РНК тощо.

**РНК-залежні-ДНК-полімерази**, ревертази, зворотні транскриптази (англ. *reverse transcriptase*) – ензими, що синтезують ДНК на матриці РНК. Кодується геномами деяких вірусів і мобільними елементами геному еукаріот. Важливий інструмент генетичної інженерії.

**Роздільна здатність мікроскопа** – найменша відстань між двома частинками, за якої вони відображаються як окремі об'єкти.

**Сайт** (англ. *site*) – невелика ділянка ДНК, РНК, поліпептидного ланцюга.

**Симпласт** – це великі утворення, що містять безліч ядер, виникають під час злиття клітин або поділу лише ядер.

**Симпорт** – котранспортна система цитоплазматичної мембрани, у якій перенесення однієї розчинної речовини залежить від одночасного або послідовного перенесення іншої речовини у одному керунку. Наприклад, глюкоза проникає в епітеліальну клітину шляхом симпорту з йонами Натрію.

**Синцитій** – структура, у якій після ділення клітини між дочірніми клітинами залишаються цитоплазматичні містки.

**Сплайсинг** (від англ. *splice* – сполучати кінці) полягає у вирізанні з про-мРНК некодуючих ділянок – інтронів і зшивання кодуєчи ділянок – екзонів за участі рибозимів.

**Спори** – це внутрішньоклітинні утворення круглої або овальної форми. Є пристосуванням організму бактерій до виживання.

**Стан термодинамічної рівноваги** – стан системи, коли градієнти різних видів енергії (хімічної, електричної) вирівняні, і здатність системи здійснювати роботу дорівнює нулю, а ентропія максимальна.

**Старіння клітини** – це процес, який призводить до незворотної зупинки клітинного циклу у фазі G<sub>1</sub> і супроводжується певними змінами морфології клітин, рівня експресії генів. Призводить до зниження адаптаційних можливостей клітини і збільшення ймовірності смерті.

**Стовбурові клітини** (англ. *stem cell*) – це недиференційовані клітини, у яких відсутні тканиноспецифічні структури і які здатні до проліферації та диференціювання.

**Структурні гени** – гени, які визначають амінокислотну послідовність протеїнів.

**Субстрат** (у каталітичній реакції) – речовина, перетворення якої каталізує ензим. З'єднуючись з субстратом, ензим утворює ензим-субстратний комплекс (ES), імовірність перебігу реакції у якому значно зростає.

**Сфінгофосфоліпиди** – складні естери багатоатомного спирту сфінгозину та вищих жирних кислот, що містять також залишки фосфатної кислоти й аміноспиртів.

**Теломераза** – рибонуклеопротеїдний комплекс, що подовжує теломеру хромосоми особливими TTAGGG послідовностями, тоді як комплементарний ланцюг добувається ДНК-полімеразами.

**Теломери** (англ. *telomere*) – нуклеопротеїдні структури, розміщені на кінцях лінійних хромосом, забезпечують стабільність хромосом.

**Телофаза** (англ. *telophase*) – остання фаза мітозу, мейозу, під час якої відбувається деспіралізація хромосом, формування дочірніх ядер і поділ цитоплазми.

**Термінатор** – ділянка ДНК, яка розташована у кінці транскрипту і припиняє транскрипцію.

**Тилакоїди** – функціональна структура хлоропласта, замкнуті сплющені двомембранні мішечки, на мембранах яких відбувається фотосинтез.

**Тотипотентність** – властивість соматичних клітин повністю реалізувати свій потенціал розвитку аж до створення цілого

організму.

**Транзиції** (англ. *transition*) – мутації, при яких відбувається заміна пуринової основи на пуринову (А→Г) або піримідинової основи на піримідинову (Т→Ц).

**Трансверсії** (англ. *transversion*) – мутації, при яких відбувається заміна пуринової основи на піримідинову і навпаки.

**Трансдиференціювання** (англ. *transdifferentiation*) – явище, яке характеризується зміною основного напрямку диференціювання стовбурових клітин. Наприклад, перетворення дорослої стовбурової клітини одного органа у клітину іншого органа.

**Трансдукція** – перенесення генетичного матеріалу у клітину за допомогою вірусів, який призводить до зміни спадкових ознак клітини-реципієнта.

**Транскрипція** (англ. *transcription*) – процес синтезу РНК на матриці ДНК за участю різних ДНК-залежних-РНК-полімераз.

**Транслокази** – специфічні мембранні протеїни-переносники.

**Транслокації** – хромосомні мутації, результатом яких є обмін ділянками між негомологічними хромосомами або перенесення ділянки хромосоми до іншого кінця тієї ж хромосоми.

**Трансляція** – найважливіший етап реалізації генетичної програми клітин, у процесі якого інформація, закодована у первинній структурі нуклеїнових кислот, трансформується у амінокислотну послідовність протеїнів.

**Трансформація** – зміна спадкових властивостей клітини у результаті зміни генетичної інформації.

**Трансформація геному** – процес захоплення бактеріальною клітиною вільної молекули ДНК із середовища і вбудовування її у свій геном.

**Трансформація клітини** – процес перетворення нормальної клітини у пухлинну.

**Трансформована клітина** – клітина, що набула ознак, характерних для злоякісного росту;

**Тредмілінг** – переміщенні внутрішньоклітинних компонентів за рахунок збирання-розбирання структур цитоскелету.

**Тургор** (англ. *turgor*) – напружений стан клітинної стінки, що здійснюється внутрішньоклітинним тиском гідростатичної рідини.

**Ультрамикроелементи** – елементи, вміст яких у клітині не перевищує 0,000001% відносно загального відсотка вмісту речовин. (Аргентум, Гідраргіум, Селен).

**Уніпорт** – перенесення речовини, йону з одного боку мембрани на інший.

**Уніпотентні клітини** – клітини, що диференціюються в один тип клітин.

**Фагоцитоз** (англ. *phagocytosis*) – процес пізнання, поглинання, деградації чужорідного корпускулярного матеріалу спеціалізованими клітинами імунної системи – фагоцитами за допомогою клатриннезалежного ендоцитозу.

**Фактори росту** – протейни, які безпосередньо і специфічно беруть участь у стимулюванні клітинного ділення.

**Філаменти** (англ. *filaments*) – загальна назва внутрішньоклітинних цитоплазматичних фібрилярних структур.

**Фліп-флоп переходи** – поперечний рух молекул біологічної мембрани. Повільний обмін компонентами моношарів, за якого молекула має не тільки переміститися в інше місце, але й повернутися, оскільки її полярна головка повинна бути напрямлена у протилежний бік.

**Флуорохроми (флуорофори, флуоресцентні барвники)** – барвники, що не виявляють забарвлення препаратів у видимому світі, але флуоресціюють при опроміненні ультрафіолетом.

**Фолдинг** (англ. *foldings*) – процес набуття протейном правильної просторової структури.

**Фосфатази** – ензими, що каталізують реакції дефосфорилування, результатом яких є відщеплення фосфатних груп від субстрату.

**Фосфоліпіди** – складні ліпіди біологічних мембран, які залежно від спирту у їхньому складі поділяють на гліцерофосфоліпіди (фосфогліцерини) та сфінгофосфоліпіди (фосфосфінголіпіди).

**Фотосинтез** (англ. *photosynthesis*) – синтез рослинами та фотосинтезуючими прокаріотами органічних речовин, АТФ з використанням енергії Сонця.

**Хлоропласти** – двомембранні органоїди рослинної клітини, що містять рослинний пігмент хлорофіл. У них здійснюється фотосинтез.

**Хлорофіл** (англ. *chlorophyll*) – складна циклічна сполука, порфірин, містить атом Магнію. Це зелений пігмент рослин, міститься у хлоропластах чи хроматофорах, поглинає енергію сонячного світла і трансформує її у хімічну енергію органічних речовин, які утворюються у процесі фотосинтезу.

**Хроматиди** – повздовжні рівноцінні частини метафазних хромосом, утворені сестринськими молекулами ДНК.

**Хроматин** – матеріал хромосом – комплекс ДНК і хромосомних протеїнів (гістонових, негістонових).

**Хроматофори** – мембранні утворення, які становлять від 40 до 50 % маси клітини. В них містяться фотосинтетичні пігменти – бактеріохлорофіл і каротиноїди.

**Хромосома** – (від. грец. «зафарбоване тіло») – структура ядра, комплекс молекул ДНК з протеїнами (гістоновими та негістоновими).

**Хромосомні мутації** (хромосомні перебудови, аберації) – зміни структури хромосом, обумовлені переміщенням, втратою ділянок.

**Центромера** – центральна перетяжка хромосоми.

**Цикл Кребса** (Цикл лимонної кислоти – ЦЛК, цикл трикарбонових кислот – ЦТК, цитратний цикл) – це загальний кінцевий шлях катаболізму головних молекул (цукоридів, ліпідів, протеїнів) до CO<sub>2</sub> і води за участі молекулярного Оксигену.

**Циклінзалежні кінази** (англ. *cyclin-dependent kinases*) – це протеїни, які контролюють клітинний цикл.

**Цикліни** – родина протеїнів, що активують циклінзалежні протеїнкінази.

**Цистрон** – одиниця геному.

**Цитоз** – це спосіб трансмембранного перенесення рідини, макромолекул або невеликих часток за участю мембранних везикул.

**Цитозоль**, гіалоплазма (від гр. *hyalos* – скло) – прозора плазма, речовина, становить близько 55 % від загального об'єму клітини. Він є складною колоїдною системою клітини, її справжнім внутрішнім середовищем. Саме в цитозолі здійснюються реакції проміжного обміну – комплексу хімічних реакцій метаболізму.

**Цитологія** (від грец. «*kytos*», у латинській транскрипції *cytos* – клітина, *logos* – наука) – це вчення про клітину, елементарну живу систему, її будову, життєдіяльність, функції та відтворення.

**Цитоплазма** (англ. *cytoplasm*) – частина клітини, розташована між ЦПМ та ядром, колоїдний розчин, у ній розташовані органели.

**Цитоскелет** – це опорно-рухова система клітини.

**Цитоспектрофотометрія** – метод вивчення хімічного складу клітини, ґрунтується на вибірковому поглинанні тими чи іншими речовинами певної довжини світлової хвилі.

**Шаперони** (англ. *chaperones*) – протеїнові молекули, які відповідають за правильну просторову організацію протеїнів



(фолдинг).

**Швидкість ферментативної реакції** – кількість перетвореного субстрату або кількість продукту, утвореного за одиницю часу.

**Ядерна пора** – спеціалізований канал ядерної мембрани, що формується у місцях контакту зовнішньої і внутрішньої мембран.

**Ядерний матрикс** – система фібрилярних протеїнів, що виконують структурну та регуляторну функції під час реплікації, транскрипції, процесингу, транспортуванні продуктів синтезу до цитоплазми.

**Ядерно-цитоплазматичне співвідношення (індекс)** – співвідношення між об'ємом ядра та об'ємом цитоплазми.

**Ядерце** (англ. *nucleolus, plasmosome*) – щільне утворення, яке можна виявити у інтерфазних ядрах еукаріотичних клітин, формується на певних локусах хромосом (ядерцевих організаторах).

**Ядерцевий організатор** (англ. *nucleolar organizer*) – специфічна ділянка хромосоми, що бере участь у формуванні ядерця, містить гени, що кодують рРНК.

**Ядро** (англ. *nucleus*) – обов'язковий компонент еукаріотичної клітини, у якому зберігається основний обсяг генетичної інформації, здійснюються початкові етапи її реалізації. Центр управління усіма процесами життєдіяльності.

## РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Cooper G. M. The cell: a molecular approach. G. M. Cooper – N.Y., 2000. – 112 pp.
2. Diederich M. Natural compounds as inducers of cell death / M. Diederich, K. Noworyta. Volume 1. – Springer, 2012. – 518 pp.
3. Douglas R. Green. Means to an End: Apoptosis and Other Cell Death Mechanisms. – Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2011. – 220 pp.
4. Gottlieb R. A. Autophagy in Health and Disease / R. A. Gottlieb. – Academic Press, 2012. – 240 pp.
5. Holbrook Nikki J. Cellular Aging and Cell Death / N. J. Holbrook, G. R. Martin, and R. A. Lockshin. – John Wiley & Sons, 1996. – 319 pp.
6. Johnson D. Cell Death Signaling in Cancer Biology and Treatment / D. Johnson. – Springer, 2012. – 422 pp.
7. Kettleworth C. R. Cell Apoptosis Research Advances / C. R. Kettleworth. – Nova Publishers, 2007. – 358 pp.
8. Levine B. Autophagy in Infection and Immunity / B. Levine, T. Yoshimori, V. Deretic. – Springer, 2009. – 353 pp.
9. Lodish H. Molecular cell biology. H. Lodish, A. Berk, S. L. Zipursky. – N.Y., 2002. – 372 pp.
10. Melino G. Cell Death / G. Melino, D. Vaux – Wiley, 2010. – 316 pp.
11. Pickens Ch. O. Cell Apoptotic Signalling Pathways Ch. O. Pickens. – Nova Publishers, 2007. – 222 pp.
12. Preedy V. R. Apoptosis / Preedy Victor R. – Science Publishers, 2010. – 654 pp.
13. Scheckel C., Aguzzi A. Prions, prionoids and protein misfolding disorders. Nature Reviews Genetics. 2018. Vol. 19. P. 405–418. 17.
14. Shemediuk A., Shemediuk N. Cell cycle regulation and proapoptotic activity of *Phallus impudicus*. Book of Abstract of the 4th International Scientific Conference agrobiodiversity for improve the nutrition, health and quality of human and bees life, Nitra, Slovakia, 11th–13th September 2019, P. 58.
15. Solek P. Male reprotoxicity associated with *Sophora japonica* treatment: evaluation of cellular and molecular events in vitro / P. Solek, N. Shemediuk, A. Gorka, A. Bilaska-Kos, A. Shemediuk, M. Koziorowski. // Journal of Physiology and Pharmacology. 2018. Vol. 69 (6). P. 969-977.  
[http://jpp.krakow.pl/journal/archive/12\\_18/pdf/10.26402/jpp.2018.6.11.pdf](http://jpp.krakow.pl/journal/archive/12_18/pdf/10.26402/jpp.2018.6.11.pdf)

16. Solek P. Risk of wild fungi treatment failure: *Phallus impudicus*-induced telomere damage triggers *p21/p53* and *p16*-dependent cell cycle arrest and may contribute to male fertility reduction in vitro / P. Solek, N. Shemediyuk, A. Shemediyuk, E. Dudzinska, M. Koziorowski // *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021. Vol. 209. – 111782. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111782>.
17. The ENCODE Project Consortium. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*. 2012. Vol. 489. P. 57–74.
18. Wang H.-G. *Autophagy and Cancer* / H.- G. Wang. – Springer, 2013. – 272 pp.
19. Yin X.-M. *Essentials of Apoptosis: A Guide for Basic and Clinical Research* / X.-M. Yin, Z. Dong. – Springer, 2009. – 730 pp.
20. Zhang C. V. *Cell Apoptosis Research Trends* / C. V. Zhang. – Nova Publishers, 2007. – 293 pp.
21. Біотехнологія : курс лекцій / О. І. Юлевич. – Миколаїв : МДАУ, 2007. – 156 с.
22. Біотехнологія : навчальний посібник / О. І. Юлевич, С. І. Ковтун, М. І. Гиль ; за ред. М. І. Гиль. – Миколаїв : МДАУ, 2012. – 476 с.
23. Біотехнологія. Освіта. Наука: Зб. тез Другої всеукр. наук.-практ. конф., присвяч. 160-річчю Нац. ун-ту «Львів. Політехніка», Львів, 6 – 8 жовт. 2004р. / Ред.: В. П. Новіков; О. В. Швед; Нац. ун-т «Львів. Політехніка». Ін-т хімії та хім. технологій. – Л., 2004. – 176 с.
24. Біотехнологія: підручник / В. Г. Герасименко, М. О. Герасименко, М. І. Цвіліховський та ін.; за заг. ред. В. Г. Герасименка. – К. : ІНКОС, 2006. – 647 с.
25. Боечко Ф. Ф., Боечко Л. О., Шмиголь І. В. *Основи молекулярної біології: курс лекцій*. Черкаси: Вид. від. ЧНУ імені Богдана Хмельницького, 2013. 255 с.
26. Васько Л. В., Кіптенко Л. І., Гортинська О. М., Гринцова Н. Б. *Навчальний посібник для самостійної роботи з курсу «Гістологія, цитологія і ембріологія»*. МОДУЛЬ І «Основи цитології» «Цитологія в питаннях і відповідях». Суми: СумДУ, 2014. 106 с.
27. Вигнан Д. С., Оліярник О. Д. *Досягнення і проблеми післягеномної ери*. Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С. З. Гжицького. 2013. Т. 15, № 3 (57). С. 3–9.

28. Гиль М. І., Сметана О. Ю., Юлевич О. І. Молекулярна генетика та технології дослідження геному : навч. посіб. Миколаїв : МНАУ, 2014. 280 с.
29. Гістологія з основами ембріології [Текст] : підручник для студ. природничих спец. вищих пед. навч. закл. / Є. С. Трускавецький, Р. К. Мельниченко. – К. : Вища школа, 2005. – 327 с.
30. Гістологія: підручник і атлас. З основами клітинної та молекулярної біології: 8-е видання: у 2 томах. Том 1 / Войцех Павліна, Майкл Г. Росс, 2021 р, 462 с.
31. Горбатенко І. Ю. Апоптоз – запрограмована смерть клітини. *Curriculum vitae* клітини – життєвий шлях клітини: навч. посіб. / І. Ю. Горбатенко, М. І. Гиль, Л. І. Денисюк; за ред. професора І. Ю. Горбатенка. – Миколаїв : МНАУ, 2017. – 168 с.
32. Дубінін С. І., Пілюгін В. О., Ваценко А. В., Улановська-Циба Н. А., Передерій Н. О. Сучасні проблеми молекулярної біології: підруч. Полтава: ПНУ, 2016. 395 с.
33. Єлинська Н. О., Гудзенко Т. В., Галкін М. Б. Молекулярна біологія клітини. Ч. 1 : Прокаріоти. Курс лекцій. Одеса, Одес. нац. ун-т ім І. І. Мечникова, 2018. 60 с.
34. Загальна гістологія з курсом ембріології : навч.-метод. посіб. для практичних занять студентів 1 курсу медичних факультетів (частина II) / С. С. Ключко, В. М. Євтушенко, О. В. Федосєєва та ін. Запоріжжя: ЗДМУ, 2017. 93 с.
35. Загальна гістологія з курсом ембріології : навчально-методичний посібник для практичних занять студентів 1 курсу медичних факультетів (частина II) / С. С. Ключко, В. М. Євтушенко, О. В. Федосєєва та ін. – Запоріжжя: ЗДМУ, 2017. – 93 с., іл.
36. Загальна цитологія. Практикум : навч. посіб. / М. Е. Держинський, О. К. Вороніна, Н. В. Скрипник, С. М. Гарматіна, Л. М. Пазюк; упорядкування Н. В. Скрипник. Київ : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2011. 126 с.
37. Іншина Н. М. Основи молекулярної біології. Навчальний посібник. Суми. Сумський державний університет, 2019. 121 с.
38. Ключко С. С., Євтушенко В. М., Федосєєва О. В. Загальна гістологія з курсом ембріології : навч.-метод. посіб. для практичних занять студентів 1 курсу медичних факультетів (частина II). Запоріжжя: ЗДМУ, 2017. 93 с.

39. Кучменко О. Б., Марченкова А. І. Молекулярна біологія клітини. Навчальний посібник. Ніжин, НДУ ім. М. Гоголя, 2021. 135 с.
40. Кучменко О. Б., Марченкова А. І. Цитологія. Навчальний посібник. Ніжин, НДУ ім. М. Гоголя, 2018. 147 с.
41. Мадіч А. В. Отримання клітинних культур і можливість їх використання в ембріональній біотехнології : Навчально-методичний посібник / Мадіч А. В., Шеремета В. І., Гевкан І. І., Сливчук Ю. І., Штапенко О. В., Федорова С. В. – 128 с.
42. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: підруч. / За редакцією академіка НАН України В.П. Широбокова. Вінниця: Нова Книга, 2011. 952 с.
43. Навчальний посібник для самостійної роботи з курсу «Гістологія, цитологія і ембріологія». МОДУЛЬ І «Основи цитології» «Цитологія в питаннях і відповідях» / Л. В. Васько, Л. І. Кіптенко, О. М. Гортинська, Н. Б. Гринцова, Суми: СумДУ, 2014. 106с.
44. Онкологія. Вибрані лекції для студентів і лікарів/ за ред. В. Ф. Чехун. – Київ: Здоров'я України. – 2010. – 768 с.
45. Остапченко Л. І., Гребіник Д. М. Біохімія нуклеїнових кислот. Навчальний посібник. Київ. Видавничополіграфічний центр «Київський університет». 2013. 290 с.
46. Остапченко Л. І., Синельник Т. Б., Компанець І. В. Біологічні мембрани та основи внутрішньоклітинної сигналізації. Теоретичні аспекти : навч. посіб. Київ : ВПЦ «Київський університет», 2016. 639 с.
47. Остапченко Л. І., Синельник Т. Б., Компанець І. В. Біологічні мембрани та основи внутрішньоклітинної сигналізації: методи дослідження : навч. посіб. Київ : ВПЦ «Київський університет», 2017. 447 с.
48. Остапченко Л.І. Біохімічні механізми апоптозу / Л. І. Остапченко, Т. Б. Синельник, Т. В. Рибальченко, В. К. Рибальченко. – ВПЦ «Київський університет», 2010. – 310 с.
49. Посібник до лабораторних занять із курсу «Загальна цитологія та гістологія» / М. Е. Держинський, С. М. Гарматіна, О. В. Данилова та ін. – К. : Фітосоціоцентр, 2006.
50. Практикум з мікробіології: методичні рекомендації / О. І. Віннікова, І. М. Моргуль – 2-ге вид., доповнене. – Х.: ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2009. – 33 с.

51. Регуляція експресії генів : презентація лекції для студентів / Н. В. Заїчко. Вінниця, ВНМУ ім. М. І. Пирогова, 2017. – На правах рукопису (<https://dspace.vnmu.edu.ua/123456789/2214>)
52. Реплікація, транскрипція, трансляція : презентація лекції для студентів / Н. В. Заїчко. Вінниця, ВНМУ ім. М. І. Пирогова, 2017. – На правах рукопису (<https://dspace.vnmu.edu.ua/123456789/2159>).
53. Сиволоб А. В., Афанасьєва К. С. Молекулярна організація хромосом: навч. посіб. Київ : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2008. 126 с.
54. Сиволоб А. В. Молекулярна біологія: підруч. Київ : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2008. 384 с.
55. Сиволоб А. В. Фізика ДНК: навч. посіб. Київ : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2011. 335 с.
56. Стойка Р. С. Методичні вказівки до навчального курсу «Методи клітинної біології». – Львівський державний університет, Львів, 1996. – 79 с.
57. Столяр О. Б. Молекулярна біологія : навч. посіб. Вид. 2-ге доповнене та перероблене Київ : КНТ, 2017. 224 с.
58. Структурно-функціональна організація молекулярно - генетичного та клітинного рівнів: методичні рекомендації з медичної біології, паразитології та генетики для студентів та викладачів ВНМЗ/ С. І. Дубінін, П. М. Ковтуновський, В. О. Пілюгін та ін. Полтава, 2006. – 103 с.
59. Фізіологія рослин: практикум / О. В. Войцехівська, А. В. Капустян, О. І. Косик та ін. За заг. ред. Т. В. Паршикової. Луцьк: Терен, 2010. 420 с.
60. Фізіологія рослин: практикум / О. В. Войцехівська, А. В. Капустян, О. І. Косик та ін. За заг.ред. Т. В. Паршикової – Луцьк: Терен, 2010. – 420 с.
61. Фільченков О. О. Апоптоз і рак: від теорії до практики / О. О. Фільченков, Р.С. Стойка. – ТДМУ «Укрмедкнига», 2006. – 527 с.
62. Цитологія, гістологія, ембріологія: навч. посібник / В. П. Новак, А. П. Мельниченко. – Біла Церква, 2005 – 255 с.
63. Шемедюк Н. П. Регуляція клітинного циклу GC-1 spg і GC-2 spd / Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Перспективні матеріали та інноваційні технології: біотехнологія, прикладна хімія та екологія» // Київський

- національний університет технологій та дизайну, Київ: 2020, 162 с.
64. Шемедюк Н. П. Зміна профілю клітинного циклу клітин сперматогенного епітелію за впливу *Phallus impudicus* // Медична та клінічна хімія. 2019. Т. 21, № 3(80) (Додаток, Матеріали XII Українського біохімічного конгресу м. Тернопіль (30 вересня – 4 жовтня 2019 р.)). С. 259.
  65. Шемедюк Н. П. Метод ІФА: Аналіз переваг і недоліків: Тваринництво та ветеринарія, 11, 2021, 26-27.
  66. Шемедюк Н. П. Регуляція клітинного циклу GC-1 spg і GC-2 spd / Перспективні матеріали та інноваційні технології: біотехнології, прикладна хімія та екологія: колективна монографія / за заг. редакцією О. Р. Мокроусової. Київ: Світ Успіху, 2020. С.105–116.
  67. Шемедюк Н.П. Мікросателітна нестабільність. Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С. З. Гжицького. Серія «Біологічні науки». Львів. 2014. Т. 17. №1(61). Ч.3. С.277 – 281.
  68. Шемедюк Н.П. Характеристика можливостей імуноферментного аналізу. Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С. З. Гжицького. Серія «Біологічні науки». – Львів. 2016. Т.18. №2(66). С.212 – 217.
  69. Шемедюк Н.П., Dudzinska E. Регуляція апоптозу *Phallus impudicus* / Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Фізіолого-біохімічні та технологічні аспекти тваринництва» // Білоцерківський національний аграрний університет, 2020, 143 с.
  70. Шемедюк Н.П., Стахів О. Р. Теломерна теорія старіння клітини. Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С. З. Гжицького. Львів. 2016. Т.18. №3(71). С.109 – 111.

### Інтернет-ресурси

1. [http://biol.univ.kiev.ua/posib/bio\\_memOsMikh.pdf](http://biol.univ.kiev.ua/posib/bio_memOsMikh.pdf)
2. <http://patsudmed.dsmu.edu.ua/attachments/article/25/202003.pdf>
3. [https://biology.univ.kiev.ua/images/stories/Kafedry/Biochimiya/Biblioteka/Biol\\_membrany/Ostapchenko\\_Kompanets\\_Biol.membrany.pdf](https://biology.univ.kiev.ua/images/stories/Kafedry/Biochimiya/Biblioteka/Biol_membrany/Ostapchenko_Kompanets_Biol.membrany.pdf)
4. [https://biology.univ.kiev.ua/images/stories/Kafedry/Cytologiya/Biblioteka/Zagalna\\_cyto\\_site/Zagalna\\_Cytologiya\\_ta\\_gistologiya\\_Dzerzhynskiy.pdf](https://biology.univ.kiev.ua/images/stories/Kafedry/Cytologiya/Biblioteka/Zagalna_cyto_site/Zagalna_Cytologiya_ta_gistologiya_Dzerzhynskiy.pdf)
5. <https://www.edx.org/course/cell-biology-mitochondria>
6. <https://www.youtube.com/watch?v=2aVnN4RePyI&t=326s>

7. <https://www.youtube.com/watch?v=39HTpUG1MwQ>
8. <https://www.youtube.com/watch?v=3y1dO4nNaKY>
9. <https://www.youtube.com/watch?v=5bLEDd-PSTQ>
10. <https://www.youtube.com/watch?v=7Hk9jct2ozY>
11. <https://www.youtube.com/watch?v=9RUHJhskW00>
12. <https://www.youtube.com/watch?v=bRcjB11hDCU>
13. <https://www.youtube.com/watch?v=C6hn3sA0ip0>
14. <https://www.youtube.com/watch?v=d4TJ4NY1IA0>
15. <https://www.youtube.com/watch?v=DR80Huxp4y8>
16. [https://www.youtube.com/watch?v=eWkFJx\\_tz2w](https://www.youtube.com/watch?v=eWkFJx_tz2w)
17. <https://www.youtube.com/watch?v=IvJrDsRuWxQ>
18. <https://www.youtube.com/watch?v=Jml8CFBWcDs>
19. <https://www.youtube.com/watch?v=jp6L5emD8rw>
20. <https://www.youtube.com/watch?v=kXpzp4RDGJI>
21. <https://www.youtube.com/watch?v=LwSKgrdomPM>
22. <https://www.youtube.com/watch?v=nMEyeKQClqI>
23. <https://www.youtube.com/watch?v=oxX2fq2DBBo>
24. <https://www.youtube.com/watch?v=pwymX2LxnQs>
25. <https://www.youtube.com/watch?v=RKmaq7jPnYM>
26. <https://www.youtube.com/watch?v=ufCiGz75DAk>
27. <https://www.youtube.com/watch?v=URUJD5NEXC8>
28. <https://www.youtube.com/watch?v=VLJF8Pf8spw>
29. <https://www.youtube.com/watch?v=-vmtK-bAC5E>
30. <https://www.youtube.com/watch?v=wJyUtbn0O5Y>
31. <https://www.youtube.com/watch?v=XiQp-tHSnjY>
32. <https://www.youtube.com/watch?v=xweYA-IJTqs>
33. <https://www.youtube.com/watch?v=yk14dOOvwMk>
34. <https://www.youtube.com/watch?v=ZXkfEYocK-8>



**Шемедюк Наталія Петрівна**

**Біологія клітини**  
**навчальний посібник**  
**для студентів спеціальності**  
**162 «Біотехнології та біоінженерія»**

Підписано до друку 15.05.2020 р. Формат 60x84  
Папір офсетний. Тираж 100 прим.  
Видавництво “Папірус”