

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет технології виробництва і переробки продукції  
тваринництва, стандартизації та біотехнології

Кафедра ветеринарної медицини та гігієни

## **ЦИТОЛОГІЯ, ГІСТОЛОГІЯ, ЕМБРІОЛОГІЯ**

методичні рекомендації

для лабораторно-практичних занять та самостійної роботи для  
здобувачів другого (магістерського) рівня вищої освіти ОПП  
«Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза» спеціальності 212  
«Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза» денної форми здобуття  
вищої освіти

Миколаїв  
2023

УДК 576.3:581.8

Ц74

Друкується за рішенням науково-методичної комісії факультету ТВППТСБ Миколаївського національного аграрного університету від 21.11.2023 р., протокол № 4.

**Укладач:**

**І. Х. Лумедзе** – канд. вет. наук, доцент, завідувач кафедри ветеринарної медицини та гігієни, Миколаївський національний аграрний університет.

**Рецензент:**

**С. П. Кот** – канд. біол. наук, доцент, Миколаївського національного аграрного університету.

© Миколаївський національний аграрний університет, 2023

## **ВСТУП**

Методичні рекомендації для лабораторно-практичних занять для здобувачів другого магістерського рівня призначено для самостійної роботи студентів з ідентифікації певних цитологічних об'єктів та їхніх структурних компонентів на мікроскопічному й субмікроскопічному рівнях. Ефективна робота з ідентифікації та аналізу цитологічного матеріалу вимагає наявності знань загальних структурно-функціональних основ об'єкта, що досліджується на всіх рівнях його організації, – субклітинному, клітинному, тканинному тощо, а також закономірності його розвитку й вікові зміни. Наприклад, при аналізі будови клітин необхідно чітко уявляти, завдяки якій особливості структурної організації кожний з її елементів виконує певну функцію, сукупність яких забезпечує властивості клітини як елементарної одиниці живого організму. Саме з цією метою в методичній рекомендації систематизоване для самостійної роботи й розташування ілюстративного матеріалу тісно пов'язане з теоретичним матеріалом.

## **РОЗДІЛ 1**

### **МЕТОДИ ЦИТОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ**

#### **Короткий екскурс в історію цитології**

Успіхи у вивченні будови, розвитку й функціонування клітин тісно пов'язані з удосконаленням методів дослідження клітин, серед яких основним став метод світлової мікроскопії. Ким у перше був створений мікроскоп – невідомо, але його вдосконалення та пропаганда як засобу наукового пізнання в біології є здобутком англійського дослідника Р. Гука.

У 1665 р. у спостереженні № 17 "Про схематизм, або будову пробки та про клітини й пори деяких інших порожніх тіл" він уперше застосував поняття "клітина" (грец. цитос – клітина, лат. целлулус – порожнина), хоча це й не було відкриттям клітини в її сучасному розумінні. Р. Гук, разом з іншими знаними мікроскопістами – М. Мальпігі, Н. Грю, які узагальнили й поглибили уявлення про анатомічну будову рослин (вивчили будову провідних елементів, різні тканини), та А. Ван Левенгуком, який уперше описав мікроскопічну будову інфузорій, бактерій, сперматозоїдів тварин, еритроцитів крові, були провісниками вивчення мікроскопічного рівня організації біологічних систем. Вони встановили, що речовина всередині клітини певним чином організована. На цьому рівні уява про клітину існувала понад сто років. Подальший розвиток та узагальнення дослідження у галузі вивчення клітини дістали в роботах Р. Вірхова (1858), який постулював "Omnis cellula et cellula" – нові

клітини завжди утворюються шляхом поділу передіснуючих, тобто клітинний поділ є загальною та єдиною можливою формою новоутворення клітин.

Розвиток мікроскопічної техніки зумовив відкриття в XIX ст. мітозу (Д. Еберт, В. Флеммінг, П. Перемежко), центросоми (Е. Ван Бенеден, Т. Бовері, 1887), мітохондрій (К. Бенда, Р. Альтман, 1894), комплексу Гольджі (К. Гольджі, 1898) тощо. Уперше узагальнені знання про клітину були зібрані у книзі Ж.Б. Карнуа "Біологія клітини" (1884). Кінець XIX ст. пов'язаний з вивченням непрямого поділу та запліднення (Р. Келлікер), що стало основою створення гіпотез ядерної спадковості, наприклад "неперервності зародкової плазми" А. Вейсмана.

Система ідей, яка виникла при вивченні проблеми детермінації зародкових клітин, визначила розвиток генетики. Отже XIX ст. – час завершення поширення целюлярного принципу в біології і створення певного уявлення про клітину як структурну одиницю, що складається з визначених компонентів. Установлення цих найважливіших фактів зумовило стрімкий розвиток цитології.

Наступний період – поч. XX ст. – в історії цитології відзначається підвищеною увагою до вивчення не лише структури клітин, але і їхніх функцій. Дослідження змін фізико-хімічних властивостей клітин за різних умов дали поштовх розвитку цитофізіології. Удосконалюється мікроскопічна техніка, з'являється велика кількість методів забарвлення клітин і тканин, створюються модельні системи вивчення клітин, розроблено методи культивування клітин поза організмом (Р. Гаррісон, А. Каррель).

Бурхливий розвиток цитології в XX ст. пов'язаний із застосуванням нових методик у вивченні клітин. Із середини століття для біологічних спроб почали використовувати електронні мікроскопи (1947 р. – К. Портер, А. Клод та ін.); застосовувати метод авторадіографії, що дало змогу вивчати розподіл у клітинах речовин, мічених радіоактивними ізотопами; метод імуноцитохімії, який дозволив досліджувати вміст і розташування певних біополімерів у клітині; було розроблено цитотехнологічні прийоми тощо.

Сучасна цитологія із суто морфологічної науки, яка була вступом до вивчення будови нормальних і патологічно змінених тканин, перетворилася на експериментальну науку, завданням якої є вивчення фізіології клітини, закономірностей її організації, функціонування та розвитку.

Успіхи у вивченні будови, функціонування та розвитку клітини безпосередньо визначалися вдосконаленням методів досліджень. Особливістю цитології як науки є візуальне дослідження клітин; дослідження оком, озброєним збільшувальними оптичними системами. Тому основними методами й сьогодні залишаються методи мікроскопії.

## **Виготовлення гістологічних препаратів для мікроскопії**

Незважаючи на значні успіхи сучасної цитології, мікроскопічне дослідження цитологічних препаратів залишається продуктивним не лише для студентів під час вивчення мікро морфології організму, але й у наукових дослідженнях. Для успішного вивчення цитологічних препаратів важливим є знання методики їхньої підготовки. Необхідною умовою отримання якісного препарату є виготовлення із тканини чи групи клітин тонкого зрізу, його забарвлення для візуалізації та/або підвищення контрастності. Крім того, потрібно забезпечити збереження препарату, тобто належно його зафіксувати. Із навчальною метою використовують як тимчасові, так і постійні препарати. Тимчасовими користуються одноразово, тоді як постійні можуть служити багато років.

Тимчасові цитологічні препарати мають перевагу – легкість виготовлення. На них можна спостерігати живі клітини та тканини. Важливим критерієм якості тимчасового препарату є проходження через нього світла, що забезпечується вичлененням тонкої прозорої "пластинки" з клітини чи тканини. Такі препарати виготовляють у вигляді мазків (напр., мазок крові), плівок (лусочка цибулі) чи розтягнутої пластинки (пухка сполучна тканина). Підготовлений належним чином об'єкт підфарбовують 0,1 % розчином метиленового синього або іншим барвником (нейтральним червоним, трипановим синім). Після забарвлення препарат накривають покривним скельцем, після чого він готовий для вивчення під мікроскопом.

Для дослідженні рослинних клітин використовують давлені препарати, необхідні для вивчення мітозу, каріотипів, хромосомних порушень у корінцях і конусах наростання стебел, мейозу в молодих пиляках. Найчастіше при виготовленні давлених препаратів використовують фіксатори Карнуа, Ньюкомера, оцтовий альдегід, льодяну оцтову кислоту тощо. Забарвлюють препарати ацетокарміном, ацетоорсеїном, пропіоновим гематоксиліном тощо.

Процес виготовлення постійного препарату для світлової та електронної мікроскопії включає наступні етапи:

- забір матеріалу та його фіксація;
- ущільнення матеріалу (залиття у тверде середовище);  
виготовлення зрізів;
- фарбування або контрастування зрізів.

Для світлової мікроскопії необхідний ще один етап – занурення зрізів у бальзам або інше прозоре середовище.

Фіксація тканин забезпечує попередження процесів аутолізу, що сприяє збереженню цілісності структури тканини: маленький шматочок органа або занурюють у фіксатор (формалін, спирт, осмієва кислота, спеціальні фіксуєчі

суміші), або піддають термічній обробці. Під дією фіксатора в тканинах відбуваються складні фізико-хімічні перетворення. Найсуттєвішим із них є процес необоротної коагуляції білків, унаслідок якого життєдіяльність зупиняється, а структури стають мертвими, фіксованими. Тривалість фіксації різна. У фіксуючій рідині об'єкт витримують від 10–15 хв до кількох діб або навіть тижнів.

Фіксований матеріал піддають подальшій обробці, кінцева мета якої – ущільнити об'єкт так, щоб його можна було розрізати на найтонші пластинки. Для цього матеріал зневоднюють у спиртах зростаючої міцності. Зазвичай починають із 70° спирту, потім застосовують 80°, 90°, 96° і 100°. У кожному з них матеріал витримують певний час.

Для виготовлення тонких зрізів (завтовшки 5–10 мкм) матеріал попередньо ущільнюють шляхом заморожування або просочування речовинами, які, ущільнюючись самі, роблять тканину придатною для різання. Для просочування об'єктів найчастіше використовують парафін, також застосовують желатину, целоїдин або пластмаси.

Для просочування матеріалу парафіном спочатку необхідно витримати його в органічних розчинниках (бензол, ксилол, хлороформ тощо), потім у "гістологічній каші" – суміші органічного розчинника із парафіном (1:1). Після цього матеріал витримують у чистому розплавленому парафіні, температура плавлення якого становить 56 °С.

Потім матеріал заливають новою порцією парафіну, який застигає за кімнатної температури, і цей парафіновий блок з матеріалом готовий для виготовлення тонких зрізів.

### **Виготовлення зрізів відбувається на спеціальних приладах – мікротомах.**

Для цього використовують санний і роторний мікротоми. Для отримання тонких зрізів фіксованих та нефіксованих тканин (не залитих у тверді середовища) використовують вібротом. Для заморожених об'єктів беруть кріотом, який дозволяє зробити зрізи товщиною 5–25 мкм у термічно ізольованій камері з низькою (близько –20°С) температурою. Ультратом (ультрамікротом) дозволяє отримати зрізи з матеріалу, залитого в епоксидні смоли. За допомогою скляних та алмазних ножів отримують ультратонкі зрізи до 0,1 мкм для електронної мікроскопії.

Послідовність виготовлення парафінових зрізів: парафіновий блок закріплюють у затискувачі для блоку, надавши йому нахил, необхідний для різання (кут різання становить 10–15°).

Мікротомний ніж закріплюють у ноже тримачі за допомогою гвинтів. Після виготовлення зрізів їх кладуть на знежирені предметні скельця, розправляють, підігріваючи на спеціальному гістологічному столику.

Фарбування зрізів (для світлової мікроскопії) або напилення їх солями металів (для електронної мікроскопії) застосовують для збільшення контрастності зображення окремих структур при розгляданні під мікроскопом. Методи забарвлення гістологічних структур дуже різноманітні й обираються залежно від мети дослідження. Гістологічні барвники (за хімічною будовою) поділяють на кислі, основні та нейтральні. Як приклад можна навести основний (ядерний) барвник гематоксилін, що забарвлює ядра клітин у фіолетовий колір, сафранін – в яскраво-червоний, кармін – у червоний. Кислі (цитоплазматичні) барвники – еозин, що забарвлює білки цитоплазми в рожевий колір, пікринова кислота – у жовтий, фуксин кислий – у червоний. Вибіркова спорідненість структур до певних барвників зумовлена їхнім хімічним складом і фізичними властивостями. Структури, що добре фарбуються кислотними барвниками, називають оксифільними, а ті, що забарвлюються основними – базофільними. Наприклад, цитоплазма клітин найчастіше забарвлюється оксифільно, а ядра клітин – базофільно. Структури, що сприймають як кислотні, так і основні барвники, є нейтрофільними.

### **Послідовність забарвлення парафінових зрізів гематоксиліном Бьомера та еозином:**

1. Депарафінування. Для видалення парафіну зі зрізів використовують органічні розчинники: бензол, ксилол, толуол, хлороформ тощо. Час депарафінування: 5–15 хв.

2. Гідратація зрізу проходить поступово під час проведення препарату через спирти, концентрація яких зменшується:

- 1) 96° етиловий спирт (3–5 хв);
- 2) 90° етиловий спирт (3–5 хв);
- 3) 80° етиловий спирт (3–5 хв);
- 4) 70° етиловий спирт (3–5 хв);
- 5) дистильована вода (3–5 хв).

3. **Забарвлення зрізів.** Спочатку на зрізі забарвлюють ядра клітин основними барвниками (гематоксилін). Піпеткою наносять на зріз розчин гематоксиліну Бьомера. Через 1–2 хв розчин барвника зливають і на 10 хв препарат установлюють у стакан із водопровідною водою. А оскільки вона має слабо лужну реакцію, у такому середовищі інтенсивність забарвлення ядер клітин гематоксиліном Бьомера підвищується. Видаливши надлишок води

фільтрувальним папером, кладуть препарат на предметний столик мікроскопа та за малого збільшення контролюють ступінь забарвлення ядер.

Якщо ядра мають:

- світло-фіолетовий колір без чітких відмінностей між мікроструктурами – препарат пофарбовано недостатньо;
- темно-фіолетовий, майже чорний, колір із червоним відтінком – препарат пофарбований занадто інтенсивно;
- блакитно-синій колір із чітко вираженими ядерцем і хроматином, а цитоплазма є світлою, непофарбованою – процес забарвлювання пройшов нормально.

У першому випадку на предметне скло знову піпеткою наносять нову порцію розчину барвника й дофарбовують препарат протягом 1–1,5 хв., після чого його знову вивчають.

У другому випадку препарат встановлюють у бюкс із підкисленим 70° спиртом (5–7 крапель HCl на 100 мл 70° спирту).

За допомогою мікроскопа стежать за послабленням інтенсивності забарвлення ядер. Коли ядра набувають червоно-фіолетового кольору, предметне скло зі зрізом промивають у дистильованій воді (1–2 хв). Далі переходять до наступного етапу забарвлювання препарату 0,1 % водним розчином еозину. На скло зі зрізом, попередньо забарвленим гематоксиліном Бьомера, наносять розчин еозину (кислий барвник, що забарвлює цитоплазму). Термін фарбування – 3–7 хв. Потім еозин, що не зв'язався зі зразком тканини, змивають дистильованою водою, видаляють воду зі скла за допомогою фільтрувального паперу й за малого збільшення контролюють інтенсивність забарвлення. Якщо:

- цитоплазма й позаклітинні утворення мають ледь помітний рожевий чи жовтуватий відтінок – препарат недофарбовано;
- загальний фон набув інтенсивного червоного кольору, а мікроструктури виглядають нечітко – препарат перефарбований;
- загальний фон набуває помірно рожево-червоного кольору, контури ядер чіткі – забарвлення препарату можна вважати оптимальним.

У першому випадку на те саме предметне скло піпеткою наносять нову порцію розчину еозину й забарвлюють протягом 1–1,5 хв.

Для послаблення інтенсивності забарвлення у другому випадку препарат на деякий час поміщають у 70° спирт, де еозин легко вимивається зі зрізів. Ступінь посилення чи послаблення забарвлення контролюють за малого збільшення мікроскопа.



**Дегідратація** – оброблення препарату у спиртах із концентрацією, яка поступово підвищується:

- 1) 70° етиловий спирт (3–5 хв.);
- 2) 80° етиловий спирт (3–5 хв.);
- 3) 90° етиловий спирт (3–5 хв.);
- 4) 96° етиловий спирт (3–5 хв.);

5. Просвітлення – занурення препарату у бюкс з органічним розчинником на 5–15 хв.

6. Заключення. На поверхню предметного скла наносять краплю канадського бальзаму й накривають її зверху покривним скельцем.

Готовий гістологічний препарат можна використовувати для вивчення під мікроскопом протягом багатьох років.

Для електронної мікроскопії зрізи, отримані на ультрамікротомі, поміщають на спеціальні сітки, контрастують солями урану, свинцю та іншими металами, після чого – розглядають під мікроскопом і фотографують. Отримані мікрофотографії є об'єктом вивчення разом із гістологічними препаратами.

Зазвичай при роботі з мікроскопом конденсор піднімають угору (за допомогою гвинта, що розташований знизу та збоку від столика мікроскопа). Діафрагму відкривають настільки, щоб пропустити вузький пучок світла, який має освітлювати все поле зору. Зібрані конденсором промені проходять крізь напівпрозорий препарат і потрапляють в об'єктив, складна система лінз якого формує збільшене перевернуте зображення об'єкта. Лінзи окуляра ще збільшують зображення. Загальне збільшення мікроскопа залежить від характеристик об'єктива та окуляра й дорівнює добутку їхніх збільшень.

Механічна система мікроскопа складається із штатива; частини, що тримає тубус; нахиленого тубуса; револьверної системи для змінних об'єктів; предметного столика, гвинтів для пересування столика, регулювальних мікро- та макрометричного гвинтів, а також регулювального гвинта конденсора.

Тубус – це труба, закріплена на тубусотримачі. У ньому закріплені окуляр та об'єктиви. Окуляр вставляють у тубус зверху.

До мікроскопа додано три окуляри різної сили збільшення:

7-, 10- та 15-кратний (кратність позначається відповідними цифрами:  $\times 7$ ,  $\times 10$ ,  $\times 15$ ). Знизу тубуса закріплено об'єктив. Зазвичай їх буває три: малого  $\times 8$ , великого  $\times 40$  і найбільшого  $\times 90$  збільшення (відповідні цифри поставлені збоку на об'єктивах).

За допомогою зубчастого передавання тубус можна пересувати вгору й униз. Для цього призначені два гвинти: більший – гвинт грубого наведення, або макрометричний, менший – гвинт тонкого наведення, або мікрометричний.

Загальне збільшення мікроскопа визначається множенням збільшення об'єктива на збільшення окуляра й не перевищує 2000-2500 разів. Основною характеристикою мікроскопа є його роздільна здатність – мінімальна відстань, на якій дві точки можна бачити як окремі.

Числову апертуру можна збільшити двома шляхами:

1) збільшити "кут зору" об'єктива ( $\square$ ), що можливо тільки в об'єктивах з великим збільшенням;

2) збільшити показник заломлення середовища ( $n$ ), використовуючи, наприклад імерсійне масло. Обидві можливості швидко вичерпуються. Якщо об'єкт вивчають у променях білого світла за повітряної імерсії, то  $d = 200-350$  нм ( $0,2-0,35$  мкм), при цьому можна дещо збільшити роздільну здатність мікроскопа, застосовуючи масляну імерсію. Людське око має роздільну здатність  $100$  мкм ( $0,1$  мм), а з використанням світлової мікроскопії "роздільна здатність ока" збільшується майже в  $1000$  разів.

### **Правила користування світловим мікроскопом:**

1. Поставити мікроскоп дзеркальцем освітлювальної системи від себе, а окуляром – до себе (у випадку, коли мікроскоп не оснащений стаціонарною освітлювальною системою).

2. Видалити пил з оптичних поверхонь за допомогою спеціально призначеної м'якої тканини.

3. Перевести в робоче положення об'єктив малого збільшення ( $\times 8$ ) так, щоб він був розташований по центру отвору предметного столика (об'єктив фіксується зачіпкою револьверної системи). За допомогою відповідного гвинта перевести конденсор у верхнє положення та максимально відкрити діафрагму.

4. Наблизивши око до окуляра, за допомогою освітлювального дзеркальця відрегулювати освітлення поля зору (у випадку, коли мікроскоп не оснащена стаціонарною освітлювальною системою). У деяких випадках використання, наприклад матового білого чи блакитного світлофільтрів, дозволяє покращити якість отриманого зображення.

5. Покласти препарат на предметний столик так, щоб аналізована частина була розташована над отвором столика. Покривне скельце має бути зверху.

6. Рухами мікрогвинта спробувати знайти чітке зображення мікроскопічного об'єкта, сфокусувавши на ньому оптичну систему мікроскопа.

7. Якщо препарат потрібно проаналізувати детальніше, то слід плавно, не змінюючи положення тубуса, перевести револьверну систему на об'єктив  $\times 40$ . При фокусуванні необхідно пам'ятати, що відстань між лінзою об'єктива та препаратом за малого ( $\times 8$ ) збільшення становить  $10$  мм, великого ( $\times 40$ ) – менше  $1$  мм.

8. Обережно, спостерігаючи збоку, плавними рухами макрогвинта встановити приблизний фокус, а, спостерігаючи в окуляр, за допомогою мікрогвинта остаточно сфокусувати зображення об'єкта. За різких поворотів макрогвинта можна роздавити скляний препарат об'єктивом і пошкодити сам об'єктив!

9. Для вивчення препарату за найбільшого збільшення на поверхню покривного скельця на місці зрізу нанести краплю імерсійного масла, повернути револьвер (спочатку піднявши тубус) так, щоб проти отвору в предметному столику став об'єктив  $\times 90$ .

Потім його опустити настільки, щоб фронтальна лінза занурилась у масло і, обертаючи мікрометричний гвинт, визначити його оптимальне положення для досягнення чіткого зображення.

10. Після вивчення препарату, повертаючи револьвер, перевести мікроскоп на мале збільшення, і тільки після цього зняти препарат.

### **Помилки під час роботи з мікроскопом.**

При вивченні препарату слід пам'ятати, що зазвичай досліджують тонкі зрізи органів (рідше – це розтягнута плівка або розщипаний шматочок тканини). Проте розріз через орган може пройти в різних площинах. Щоб свідомо сприйняти видиму картину та правильно прочитати препарат, треба насамперед визначити, в якій саме площині пройшов розріз та уявити будову цього органу.

Найхарактерніші помилки мікроскопіста-початківця:

1. Препарат покладено на предметний столик у перевернутому вигляді покривним скельцем униз. За малого збільшення його можна розглядати, але при спробах роздивитись препарат за великого збільшення скло може тріснути.

2. Препарат дуже забруднений – неможливо досягти чіткого зображення.

3. Лінзи мікроскопа, найчастіше об'єктива, забруднені. Дослідникові здається, що видимість погана через неточне встановлення мікроскопа. Роздивитись препарат, особливо за великого збільшення, не вдається – його можна роздавити.

4. Поле зору несподівано зробилось туманним, обриси препарату стали нечіткими. Це означає, що скло окуляра запотіло від дихання чи теплоти ока дослідника; можливо також, що на скло об'єктива потрапили гліцерин або вода, які покрили не лише сам препарат, а й покривне скельце.

5. Незважаючи на всі зусилля дослідника, препарат погано освітлюється. Причина – закрита діафрагма або дуже опущений освітлювач.

6. Поле зору освітлене наполовину. Причина – змінилася нарушилась установка дзеркальця. Якщо ж освітлена половина поля зору відокремлюється

різкою межею від неосвітленої, то це означає, що револьвер неправильно переведено, й об'єктив не стоїть проти отвору в предметному столику.

7. Іноді поле зору перекривається оправою світлофільтра, який міститься внизу освітлювача під діафрагмою. Треба поставити оправу на місце.

8. Під час переведення на велике збільшення дослідник не може знайти потрібного місця на препараті. Це трапляється, коли препарат погано закріплено, тому при переведенні об'єктива він зміщується. Причина може бути і іншою – мікроскоп погано центрований. Це можна виправити лише в майстерні.

9. Вивчаючи препарат, дослідник бачить якісь різкі структури у вигляді чітких стрічок, кіл тощо. Це зломи предметного або тріщини покривного скельця. Щось подібне можна побачити, якщо розглядати самий край покривного скельця, тоді під ним видно засохлий бальзам, межі якого різко заломлюють світло.

10. Часто виникають непорозуміння через потрапляння до препарату сторонніх тіл. У збільшеному вигляді вони набувають дивовижної форми, бентежачи недосвідченого дослідника. Найчастіше так буває при вивченні тимчасових препаратів. Пухирець повітря здається кругом або кулею з різко окресленими темними краями. Ниточки паперу мають вигляд товстих блідих волокон або паличок із низкою прямокутних комірок усередині. Людська волосина позбавлена цих комірок і здається рівним, більш або менш рівномірно забарвленим довгим циліндром. На препаратах можна зустріти й осадки барвників, якими забарвлено зріз.

### **Препарат 1.** Клітини луски цибулі під світловим мікроскопом

Розрізати цибулину, розсунути соковиті луски та зняти з однієї з них шкірочку. Шматочок шкірочки перенести у краплю води на предметне скло й накрити покривним скельцем.

За малого збільшення добре видно довгасті клітини з чітко окресленими межами; за великого – можна побачити товсту оболонку, цитоплазму, яка у вигляді вузького пристінного шару вистилає внутрішню поверхню клітинної оболонки, а також дрібну зернистість в окремих ділянках цитоплазми. При забарвленні препарату барвником метиленовим синім або за дії яких небудь подразників у клітині стає добре помітним ядро, що лежить біля одного з кінців клітини або в передній частині коло однієї зі стінок клітини. Ядро має овальну або округлу форму.

На такому препараті зручно спостерігати явище плазмолізу – відділення цитоплазми від оболонки. Для спостереження плазмолізу до одного краю покривного скельця підводять смужку фільтрувального паперу, біля іншого

його краю наносять кілька крапель 8 % розчину їстівної солі (або 30 % розчину цукру). Фільтрувальний папір відтягує воду, на місце якої надходить розчин солі (або цукру). Тому вода з вакуолі клітини виходить в розчин, що її оточує, а цитоплазма відшаровується від оболонки клітини, стискається й набуває округлої форми.

Якщо тепер, після вивчення явища плазмолізу, відсмоктати сольовий розчин і замінити його знову водою, то значний приплив води до вакуолі із клітинним соком приведе до того, що цитоплазма знову відсунеться до стінок клітини, справляючи при цьому на неї значний тиск (явище тургору).

## **МІКРОСКОПІЯ В ТЕМНОМУ ПОЛІ**

Цей мікроскопічний метод ґрунтується на явищі розсіювання світла на межі між двома середовищами, які мають різні показники заломлення світла. На відміну від світлового, мікроскоп темного поля має конденсор, що забезпечує бічне освітлення об'єкта. Клітини препарату освітлюються збоку, і на загальному темному фоні починають світитися дрібні структури, які неможливо побачити у світлі, що проходить (ефект Тиндаля, прикладом якого є видимість частинок пилу в повітрі при освітленні бічним променем сонячного світла). Прямі промені від освітлювача в об'єктив не потрапляють. Світлова пляма, утворена внаслідок розсіювання світла кожною часткою, за розмірами більша за саму цю частку. Тому компоненти клітини, розміри яких менші за 0,2 мкм, завдяки відбитому від них світлу стають доступними для вивчення.

Мікроскоп темного поля застосовують у мікробіології при вивченні мікроорганізмів і клітинних культур. Він дозволяє відокремити живі клітини, в яких світиться тільки оболонка, від мертвих, що мають яскраве світіння. Крім того, застосовуючи цей метод, можна вивчати мітохондрії, бактерії, міофібрили.

### **Препарат 2.** Клітини луски цибулі під мікроскопом темного поля

(тимчасовий препарат). Покласти на предметний столик темнопольного мікроскопа зроблений препарат луски цибулі. Роздивитися його за малого та великого збільшення мікроскопа. Звернути увагу на те, що оболонки клітин та їхні ядра світяться на загальному темному фоні, їхні структури є більш контрастними, якщо порівнювати зі світловою мікроскопією.

## **Фазово-контрастна мікроскопія**

Цей метод дозволяє отримувати контрастні зображення прозорих і незабарвлених об'єктів, які неможливо побачити за допомогою стандартних методів світлового мікроскопічного аналізу. Контрастність зображень об'єктів,

що вивчаються, досягається за рахунок використання спеціальної кільцевої діафрагми конденсора й так званої фазової пластинки, розташованої в об'єктиві. Проходячи через клітину, світло змінює фазу – зсув фаз відбувається через різну швидкість поширення світла в середовищах різної щільності. При проходженні крізь щільнішу структуру коливання хвиль "трохи запізнюються", хоча й зберігають амплітуду. Фазові зсуви оком не сприймаються, оскільки око чутливе тільки до змін інтенсивності світла, яка залежить від амплітуди світлової хвилі. У фазово-контрастному мікроскопі до об'єктиву умонтовано спеціальну пластинку, проходячи крізь яку промінь світла набуває додаткового зсуву фази коливань.

Таким шляхом фазові зсуви перетворюються на зміну амплітуди коливання. Отже, структури живої клітини, що мають більш високий показник заломлення (хоч і є зовсім прозорими), виглядають темнішими або світлішими, ніж навколишній фон.

За допомогою цього методу вивчено процес мітозу, хромосоми, дрібні включення, а також досліджується вплив на них різних хімічних сполук, зокрема токсинів, отрути тощо.

**Препарат 3.** Клітини шкірочки луски цибулпід фазово-контрастним мікроскопом (тимчасовий препарат). Розглянути препарат луски цибулі за малого й великого збільшення мікроскопа. Звернути увагу на те, що в клітинах можна побачити не тільки клітинну оболонку, цитоплазму та ядро, а й ядерце, деякі органели цитоплазми та вакуолі.

### **Поляризаційна мікроскопія**

Цей метод світлової мікроскопії дозволяє вивчати об'єкти, яким притаманна ізотропія, тобто впорядкована орієнтація субмікроскопічних структур (посмуговані м'язові волокна, мікротрубочки веретена поділу, зерна крохмалю в рослинних клітинах тощо).

У поляризаційному мікроскопі перед конденсором розташовано поляризатор, що пропускає хвилі світла із певною площиною поляризації. У зоровій трубці розташовано аналізатор (лінза Бертрана), що може пропускати світло з тією самою площиною поляризації. Якщо ж другу призму (аналізатор) повернути на  $90^\circ$  відносно першої, то світло не проходитиме.

У цьому випадку, коли між такими схрещеними призмами міститиметься об'єкт, який, у свою чергу, має подвійне заломлення променів, тобто здатність поляризувати світло, він буде виглядати світлим на темному полі.

За допомогою поляризаційної оптики було вивчено ультраструктуру мієлінових оболонок задовго до її вивчення під електронним мікроскопом. Цей

метод дає змогу визначати орієнтацію частинок, напрямлення деформацій, величину подвійного заломлення променів. За допомогою поляризаційного мікроскопа можна спостерігати орієнтацію молекул ліпідів і вимірювати їхню відносну кількість. Для дослідження можна використовувати живі клітини.

#### **Препарат 4.** Зерна крохмалю під поляризаційним мікроскопом

(тимчасовий препарат). За допомогою скальпеля з поверхні сирої картоплі зробити зішкріб і нанести його на центральну частину предметного скла у вигляді тонкого шару (мазку). Підсушити мазок протягом 1–1,5 хв на повітрі, потім роздивитися препарат під поляризаційним мікроскопом при виведеному (тобто непрацюючому) "аналізаторі". (У цьому стані поляризаційний мікроскоп працює як звичайний світловий. Вибрати на препараті місце, де зерна крохмалю розташовані поодиночі.) Звернути увагу на те, що центри утворення зерен крохмалю мають вигляд блискучих крапок, навколо яких розташовуються шари крохмалю різної товщини (шари концентричні та ексцентричні). Зерна з одним центром утворення називають простими, а з двома та більшою кількістю центрів – складними. Потім роздивитися препарат при введеному "аналізаторі". Звернути увагу на чергування в зернах крохмалю світлих (анізотропних) і темних (ізотропних) ділянок.

#### **Порівняльна мікроскопія**

Оптична схема мікроскопа порівняння – це система з двох мікроскопів із власними освітлювальними приладами. Зображення лівого, правого об'єктивів і прямокутних призм зводяться на розподільну призму до одного загального поля зору окуляра. Оскільки призмовий блок нерухливий, то поле зору завжди залишається розділеним на дві рівні частини. Отже, у полі зору мікроскопа обидва досліджувані об'єкти завжди видимі одночасно.

Мікроскопи порівняння найефективніші при порівняльному гістологічному аналізі нормальних і патологічно змінених тканин, клітин, при вивченні змін в об'єкті протягом часу.

**Препарат 5.** Мазок крові жаби й людини під порівняльним мікроскопом (забарвлення гематоксиліном та еозином (мазок крові жаби) і за Романовським (мазок крові людини); рис. 2, кольор. вст.)

#### **Мазок крові жаби є висушеним і зафіксованим препаратом.**

За малого збільшення на цих мазках видно розміщені окремо клітини крові округлої або овальної форми. За великого збільшення в мазках крові

найчастіше спостерігаються еритроцити. Вони мають овальну форму, цитоплазму світло-рожевого кольору, видовжене паличкоподібне ядро, забарвлене в темно-синій або фіолетовий колір. Крім еритроцитів є лейкоцити, форма ядер яких інша. Вони за розмірами або такі самі, як еритроцити, або трохи більші за них.

Еозинофіли крові жаби овальної форми, їхнє ядро складається з кількох часток, з'єднаних тонкими мітками. У цитоплазмі наявна велика зернистість, забарвлена в рожевий колір. Нейтрофіли крові жаби за розмірами наближаються до еритроцитів, мають овальну форму, сегментоване ядро фіолетового кольору й дуже дрібну зернистість у цитоплазмі, забарвлену в світлий синьорожевий колір. Базофіли крові жаби вдвічі більші за еритроцити, вони овальної форми з великим сегментованим ядром, забарвленим у фіолетовий колір. У цитоплазмі дрібна зернистість забарвлена в синій колір. Моноцити такі самі за розміром, як й еритроцити, овальної форми, ядро бобо подібне, забарвлене у світлосиній колір, а цитоплазма – світло-рожевого кольору. Лімфоцити крові жаби менші, ніж еритроцити, округлої форми. Ядро лімфоцитів кругле, має світло-синє забарвлення.

### **Ультрафіолетова мікроскопія**

Ультрафіолетова мікроскопія ґрунтується на здатності деяких речовин, що входять до складу живих клітин та є прозорими у видимому світлі, поглинати ультрафіолетове випромінювання з певною довжиною хвиль (250–400 нм). Ця властивість притаманна високомолекулярним сполукам, таким як нуклеїнові кислоти, білки, ароматичні кислоти (тирозин, триптофан, метилаланін), пуринові та піримідинові основи тощо.

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

Роздільна здатність такого мікроскопа менша, ніж у звичайного світлового, і становить 0,1 мкм. Отримане в ультрафіолетових променях зображення перетворюється на видиме за допомогою реєстрації на фотоплівці чи на люмінесцентному екрані.

### **Флуоресцентна мікроскопія**

Флуоресцентна мікроскопія використовує явище флуоресценції. Флуоресценція – випромінювання світла речовиною, що поглинула світло (або електромагнітне випромінювання) з іншою, відмінною від випромінюваного світла, довжиною хвилі.

Найчастіше випромінюване світло має більшу довжину хвилі, ніж поглинуте випромінювання.



Низка внутрішньоклітинних компонентів (напр., включення вітамінів А і В<sub>2</sub>, ліпідів, пігменту порфірину, хлорофілу тощо) мають власну (первинну) флуоресценцію без додаткової обробки. Інші компоненти клітини, які не мають такої властивості, також можуть давати різну флуоресценцію після попереднього забарвлення (вторинна флуоресценція) флуоресцентними барвниками – флуорохромами (акридиновий жовтогарячий, флуоресцин, флоксин тощо). Наприклад, акридин оранжевий збуджує свічення ДНК яскраво-зеленим, а РНК – червонооранжевим світлом.

Завдяки кольоровому зображенню та високому ступеню контрастності флуоресцентна мікроскопія є додатковим засобом вивчення живої клітини. Такий мікроскоп можна обладнати пристроєм, що дає змогу вивчати інтенсивність флуоресценції і, таким чином, опосередковано визначати кількість речовини, що світиться.

Варіант методу флуоресцентної мікроскопії, за якого збудження та випромінювання флуоресценції відбуваються в ультрафіолетовій частині спектра, називають ультра фіолетовою флуоресцентною мікроскопією.

## **ЕЛЕКТРОННА МІКРОСКОПІЯ**

### **Трансмісійна (просвічувальна) електронна мікроскопія**

Трансмісійний електронний мікроскоп – це система візуалізації зображення, яка теоретично забезпечує дуже високу роздільну здатність – 0,1 нм, на практиці – 3 нм. Це робить можливим вивчення деталей при збільшенні навіть у 400 000 разів.

В основі роботи трансмісійного електронного мікроскопа лежить принцип, за яким електромагнітні поля здатні відхиляти пучок електронів таким самим чином, що й скляні лінзи, які відхиляють світло. В електронному мікроскопі електрони випромінюються в результаті нагрівання у вакуумі дуже тонкої металевої (звичайно вольфрамової) нитки (катода). Далі електрони потрапляють в умови різниці потенціалів 60–120 кВ між катодом і анодом. Останній є металевою пластинкою з отвором у центрі.

Електрони з високою швидкістю проходять через центральний отвір в аноді, формуючи постійний потік електронів, що проникає в колону мікроскопа. Пучок проходить усередині електричних котушок і відхиляється подібно до того, як в оптичних лінзах відхиляється світло, оскільки електрони змінюють свій потік під дією електромагнітних полів. Тому електричні котушки електронних мікроскопів називають електромагнітними лінзами.

Перша електромагнітна лінза – конденсор, що фокусує пучок електронів на зрізі. Деякі електрони взаємодіють з атомами в зрізі й продовжують свій потік, тоді як інші – просто проходять через зразок без взаємодії. Більша

частина електронів досягає "лінзи об'єктива", яка утворює збільшене зображення, що проектується через інші "збільшувальні лінзи". Око людини не "сприймає" електрони, тому зображення в кінцевому варіанті проектується на люмінесцентний екран або реєструється на фотоплівках. Оскільки більша частина зображення в трансмісійному електронному мікроскопі утворюється в результаті балансу між електронами, які потрапляють на люмінесцентний екран (або фотоплівку), та електронами, що залишилися в колоні мікроскопа, отримане зображення завжди чорно-біле. Темні ділянки електронних мікрофотографій називають електронно щільними, а світлі – електронно прозорими.

Щоб "поліпшити" взаємодію між зразком та електронами, в електронній мікроскопії використовують дуже тонкі зрізи (40–90 нм), тому об'єкти заливають у тверде середовище – спеціальні смоли. Отримані блоки настільки тверді, що для виготовлення зрізів використовують спеціальні скляні чи алмазні ножі.

Отримані ультра тонкі зрізи поміщають на маленькі металеві сітки й досліджують під мікроскопом.

### **Метод заморожування**

Цей метод дозволяє досліджувати тканини за допомогою електронної мікроскопії, при цьому немає необхідності у фіксації і заливці досліджуваного матеріалу. Це дозволяє зменшити кількість можливих артефактів, порівняно зі стандартною підготовкою тканини для мікроскопії. Можна отримати зрізи заморожених тканин із наступним дослідженням їх методами цитохімії або імуноцитохімії, або ці тканини піддаються сколюванню (заморожуванню-сколюванню) для виявлення деталей внутрішньої структури мембран.

### **Методи дослідження живих клітин**

Матеріалом для описаних вище методи цитологічних досліджень переважно є клітини, які попередньо умертвляють.

Проте вельми цікавою є можливість експериментування над живими клітинами. Тому розроблено методики вивчення певних сторін життєдіяльності клітин, інкубованих у спеціальних живильних середовищах. Метод тканинних культур.

Багато відомостей про клітини дає вирощування їх поза організмом у так званих тканинних культурах на спеціальних живильних середовищах. Тканину зазвичай поміщають у скляні посудини, звідки дослідження й дістали назву "вивчення *in vitro*" (від лат. *in* – в, *vitro* – скло), хоча тепер частіше культури вирощують у пластмасових посудинах. Виділені із тканин клітини інкубують за

температури +38– +39 °С (для клітин тваринного та людського організмів) і за +22– +28°С (для рослинних клітин) у живильному середовищі відповідного складу. Клітини тоді ростуть у вигляді суспензії або моношару.

Цінність методу культури тканин полягає в тому, що, з одного боку, об'єктом досліджень є клітина як природна модель-одиниця біологічної активності, що наближає умови експерименту до натуральних. З іншого боку, із певним ступенем автономності одиниця біологічної активності (клітина, тканина) вилучається з-під впливу корелятивних зв'язків і залежностей материнського організму. Створюються умови *in vitro*, що піддаються управлінню та регуляції. Метод не забезпечує повних умов життя тканини (відсутні регуляторні впливи організму), проте дає можливість досліджувати під мікроскопом рух, ріст і поділ клітин, вивчати вплив на клітини різних фізичних і хімічних факторів.

Одним із напрямів удосконалення методу культури тканин є вирощування клітинних суспензій. Культура клітин, або суспензійна культура, – це вирощування окремих клітин чи невеликих їхніх груп у завислому стані в рідкому живильному середовищі з використанням апаратури, що забезпечує їхню аерацію та перемішування. Характерною особливістю суспензійних культур є їхня морфологічна та біохімічна гетерогенність. Клітинна популяція містить клітини, що відрізняються за розміром і формою.

Для дослідження живих рослинних клітин використовують культуру ізольованих протопластів, що можна визначити як "голі" клітини рослин, оскільки клітинна стінка видаляється механічним або ферментативним способом. Система ізольованих протопластів дає можливість вести селекцію на клітинному рівні, працювати в малому об'ємі з великою кількістю індивідуальних клітин, отримувати нові форми рослин шляхом прямого перенесення генів, а також соматичні гібриди між віддаленими в систематичному відношенні видами. Оскільки в ізольованих протопластах одразу починається регенерація клітинної оболонки, то вони є зручним ним об'єктом для вивчення формування целюлозних мікрофібрил.

## РОЗДІЛ 2

### ЗАГАЛЬНА МОРФОЛОГІЯ КЛІТИНИ

Клітина – цілісна, нероздільна система, яка складається з декількох підсистем. Кожна підсистема виконує специфічні клітинні функції. Компоненти підсистеми пов'язані один з одним, створюючи єдину цілісну систему клітини.

Усі клітини еукаріотів мають загальний план будови. Найбільші підсистеми, які прийнято виділяти у клітині – це поверхневий апарат, цитоплазма, ядро.

До складу поверхневого апарату входять:

- 1) надмембранний комплекс (у тварин – глікокалікс; у рослин – клітинна стінка);
- 2) плазмолема;
- 3) під(суб)мембранний комплекс.

Поверхневий апарат є рецепторно-бар'єрно-транспортною системою клітини, яка забезпечує її зв'язок із зовнішнім середовищем, клітинами, розташованими поруч, або з позаклітинним матриксом.

Друга підсистема клітини – цитоплазма. До складу цитоплазми входять:

- 1) цитозоль – внутрішнє середовище клітини, що включає систему проміжного обміну;
- 2) цитоскелет – опорно-рухова система клітини;
- 3) органели – обов'язкові структури цитоплазми, що виконують визначені функції.

Органели, які мають вигляд пухирців, вакуолей, оточених однією мембраною (ендоплазматична сітка, комплекс Гольджі, лізосоми, пероксисоми, вакуолі рослинних клітин), об'єднують у групу одномембранних органел. Ендоплазматична сітка, комплекс Гольджі, лізосоми та численні мікропухирці структурнофункціонально поєднуються в систему, яка називається вакуолярною системою клітини. Це система синтезу, сегрегації, внутрішньоклітинного транспорту біополімерів (за винятком нуклеїнових кислот).

До немембранних органел (які оточені мембраною та фактично є складними макромолекулярними комплексами) належать клітинний центр і рибосоми.

Системою забезпечення, реалізації та відтворення (передавання) генетичної інформації є ядро. У його складі визначають: поверхневий апарат, каріоплазму, матрикс, хроматин і рибонуклеопротеїнові комплекси (включаючи ядрце).

Наведений поділ досить умовний, бо всі компоненти клітини працюють узгоджено для забезпечення певних клітинних функцій. Основною системою компартменталізації клітин є біологічні мембрани, побудовані за загальним принципом. Основу будьякої мембрани становлять ліпіди, що формують асиметричний ліпідний бішар. У ліпідному бішарі наявні білки (поверхневі та інтегральні) та вуглеводи (на зовнішньому боці плазмолеми). Незважаючи на високий рівень гомології, різні мембрани мають істотні структурні відмінності, залежні від типу мембрани й особливостей їхніх функцій. За товщиною мембрани також варіюють: ендоплазматичні становлять 5–7 нм, а плазмолема – 7–10.

Отже, біологічні мембрани складені з білків, ліпідів, вуглеводів, а також неорганічних сполук. Існує класифікація білків за їхнім положенням у мембрані, здатністю з нею сольобілізуватись і за функцією (каталізатори метаболізму; транспортні білки; рецептори; білки, що забезпечують рухливість; структурні тощо).

До складу мембрани входять нейтральні жири, фосфоліпіди, стероїди, зокрема холестерин, складні ліпіди. Вуглеводні компоненти мембрани представлені переважно олігосахаридами, до складу яких найчастіше входять нейтральні моносахариди – глюкоза, маноза, N-ацетилглюкозамін – та єдиний заряджений моносахарид – сіалова кислота. Мембранні вуглеводи присутні не у вільній формі, вони ковалентно сполучені з білками (глікопротеїни) або з ліпідами (гліколіпіди, незначна частина, 7 %). Вуглеводи ніколи не присутні на цитоплазматичній поверхні плазмолем, їх майже немає на внутрішньоклітинних мембранах.

Розміри та форма клітин пов'язані з її функціями. Найменші з них мають діаметр 4 мкм, тоді як розмір інших коливається від 10 до 100 мкм. Проте відомі й приклади дуже великих клітин – яйцеклітини, розміри яких можуть досягати десятків сантиметрів.

За формою клітини бувають кулясті (лейкоцити, спроможні змінювати форму завдяки здатності до амебоїдного руху), із великою кількістю відростків (нервові, пігментні), видовжені (м'язові), призматичні, сплюснені (епітеліальні) тощо.

## **РОЗДІЛ 3**

### **БУДОВА ПОВЕРХНЕВОГО АПАРАТУ КЛІТИНИ**

До поверхневого апарату клітин належать плазматична мембрана, над мембранні та під(суб)мембранні структури. Зверніть увагу на своєрідність над мембранних структур про- та еукаріотів (рис. 11 кольор. вст.). Над мембранним компонентом у тваринних клітинах є глікокалікс, у рослинних – клітинна стінка.

Під(суб)мембранний компонент поверхневого апарату клітин – це спеціалізована периферична частина цитоплазми, що вміщує елементи цитоскелета. Пластичність цієї опорно-скоротливої системи зумовлена можливістю збирання та розбирання її компонентів. Це, у свою чергу, зумовлює участь субмембранного компоненту поверхневого апарату в різноманітних внутрішньоклітинних процесах, зокрема у визначенні локалізації мембранних білків.

**Функції поверхневого апарату клітин:** бар'єрна, транспортна, рецепторна, забезпечення клітинних взаємодій, захисна, сигнальна. Наприклад, транспорт речовин через плазмолему може здійснюватися шляхом простої дифузії або дифузії полегшеної (за участю мембранних білків-переносників або специфічних каналотворювальних білків). Обидва типи транспорту здійснюються за градієнтом концентрації речовини, що транспортується, і без витрати енергії (пасивний транспорт). Активний транспорт відбувається за участю спеціалізованих білків-транслоказ, які забезпечують перенесення речовини проти градієнту її концентрації із витратою енергії.

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 плазмолемати формуються спеціалізовані клітинні утворення, такі як псевдоподії і мікрроворсинки. Ще одним типом спеціалізованих похідних, утворених мембранами гліоцитів, є мієлінова оболонка нервових волокон і ліпо протеїнові структури фото рецепторних клітин

## РОЗДІЛ 4

### БУДОВА ЕНДОПЛАЗМАТИЧНОЇ СІТКИ КОМПЛЕКСУ ГОЛЬДЖІ

Вакуолярною системою клітини називають систему одномембранних органел, які виконують загальну функцію синтезу, модифікації, сортування та виведення з клітини біополімерів, а також функцію синтезу складових мембран цієї системи, плазмолемати та інших клітинних мембран. До вакуолярної системи належать ендоплазматична сітка, апарат Гольджі, різні типи лізосом, екзоцитозних пухирців, секреторних гранул тощо.

Ендоплазматична сітка поділяється на два субкомпартменти – функціонально та морфологічно відмінні частини, які іноді розглядають як дві окремі органели – гладенька й гранулярна ендоплазматична сітка (містить на поверхні рибосоми) цистерни гладенької і гранулярної сітки безпосередньо сполучаються, мембранні білки, які забезпечують функціональні особливості обох видів сітки, утримуються в межах субкомпартментів.

Гранулярна ендоплазматична сітка (грЕПС) утворена системою пов'язаних між собою широких сплосчених цистерн, які містять на своїй

поверхні рибосоми. Останні забезпечують синтез білків, які під час трансляції надходять у порожнину грЕПС.

ГрЕПС у клітинах із різним рівнем синтетичної активності може бути представлена або окремими розрізненими цистернами (у клітинах з низькою метаболічною активністю), або ж їхнім локальним скупченням – ергастоплазмою (у клітинах, які активно синтезують секреторні білки). Наприклад, у гепатоцитах грЕПС зібрана в окремі зони (тільця Берга), а в деяких нервових клітинах утворює скупчення, що має назву тигроїд. Головною функцією грЕПС є участь у синтезі білків, їхній "ізоляції" від цитозолу та післятрансляційній модифікації. На відміну від вільних рибосом цитозолу, які синтезують переважно білки так званого "хатнього господарства", рибосоми на грЕПС забезпечують синтез власних білків сітки, експортних білків, білків лізосом, апарату Гольджі та інтегральних білків мембран.

Гладенька ендоплазматична сітка (глЕПС) утворена системою дрібних цистерн, яка нагадує ажурну сіточку з тоненьких трубочок. Вона не містить на поверхні зв'язаних рибосом, не має білків, здатних забезпечити таке зв'язування. Основними функціями глЕПС є участь у процесах синтезу й метаболізму ліпідів і вуглеводів, детоксикації та депонування іонів кальцію.

Апарат Гольджі утворений плоскими цистернами, укладеними стосом (комплекс Гольджі), що формують три функціонально відмінні компартменти: цис-, проміжні та транс-компартменти. До складу апарату Гольджі входять також дрібні пухирці які транспортують білки й ліпіди з одного компартменту до іншого.

Усі компартменти апарату Гольджі мають біохімічні та функціональні особливості, тому в кожному з компартментів відбуваються притаманні лише йому реакції. Саме через це в комплексі Гольджі (у рослин його називають диктіосоною) не буває менше 3–4 цистерн. У випадках, коли кількість цистерн перевищує 20, припускають, що один компартмент представлено кількома функціонально еквівалентними цистернами. Однак, можливо, що в цьому випадку має місце більш тонка спеціалізація окремих цистерн.

До головних функцій апарату Гольджі відносять сортування білків на групи відповідно до призначення, їхню хімічну модифікацію сегрегацію та упаковку у вигляді везикул (секреторні гранули, лізосоми, мікропухирці). Фізіологічна роль апарату Гольджі полягає в регуляції вмісту води в рослинній клітині, участь в утворенні матриксу клітинної стінки рослин і глікокалікса тваринних клітин, секретів, утворення акросоми у сперміях, участь у кругообігу клітинних мембран тощо.

## РОЗДІЛ 5

### БУДОВА ЯДРА

Ядро – обов'язковий компонент клітини, в якому зберігається основний обсяг генетичної інформації, здійснюються початкові етапи її реалізації, утворюються рибосоми. В еукаріотичних організмів виникають ядерні білки – гістони, завдяки яким компактно й швидко упаковується велика кількість ДНК у невеликих за лінійними розмірами хромосомах.

Оскільки ядро забезпечує збереження та початкові етапи реалізації генетичної інформації, зрозумілим стає питання про співвідношення ядра та цитоплазми (системи, залежної від функціональної активності ядра). Ядро певного об'єму може ефективно "обслуговувати" цитоплазму тільки обмеженого об'єму. Співвідношення об'ємів ядра й цитоплазми називають ядерноцитоплазматичним співвідношенням. Зміна цього параметра для клітини конкретного типу свідчить про зміну інтенсивності синтетичних процесів у її ядрі.

До основних функцій ядра належать збереження ДНК-геному та відновлення можливих пошкоджень ДНК (репарація). Молекулярні системи ядра відповідають за перенесення інформації від ДНК до РНК (транскрипція) в інтервалах між поділами (в інтерфазі), реплікацію ДНК перед поділом клітини, за обмін та/і розподіл генетичного матеріалу. В інтерфазному ядрі розрізняють такі компоненти: поверхневий апарат, каріоплазму, матрикс, хроматин, ядерце, рибо нуклео протеїнові комплекси.

Поверхневий апарат представлений ядерною оболонкою та білковою пластинкою (ламіною), з'єднаною з нею. Ядро клітини оточено ядерною оболонкою, складеною з двох концентричних мембран. Зовнішня мембрана є частиною ендоплазматичного ретикулума, тоді як перинуклеарний простір між зовнішньою та внутрішньою ядерними мембранами сполучається з його порожниною. аміна – це щільна сітка білкових фібрил, яка вистилає зсередини внутрішню ядерну мембрану.

Ядерна ламіна підтримує форму ядра й виконує функцію структурного організатора хромосом. Білки ламіни відповідальні за розбирання та збирання ядерної оболонки під час мітозу.

Ядерний матрикс – складний комплекс елементів, структурно й функціонально пов'язаних між собою. До його складу входять три структурні компоненти: периферична ядерна ламіна з поровими комплексами, фібрилярно-гранулярна сітка та залишкові ядерця. Інколи під ядерним матриксом розуміють лише внутрішньоядерну сітку.

Хроматином називають комплекс ДНК з білками-гістонами. Він становить основну масу внутрішньоядерного матеріалу. Це інтерфазні



хромосоми. Кожна хромосома складається з однієї дуже довгої молекули ДНК, яка має петельну організацію. Під час мітозу хроматин компактизується з утворенням конденсованих мітотичних хромосом.

Ядерце є центром утворення рибосом. У складі ядерця виявлені великі петлі ДНК, що містять гени рибосомальної РНК. Ці петлі називають організатором ядерця: вони локалізовані в ділянках вторинних перетяжок деяких мітотичних хромосом.

Загальна кількість ядерцевого матеріалу завжди однакова, незалежно від кількості ядерць у ядрі клітини. Однак у клітині з активним синтезом білка ядерце завжди більше за розміром.

Часто дрібні ядерця зливаються, утворюючи єдину структуру.

У деяких випадках нуклеотидні послідовності ядерцевого організатора ампліфікуються (кількісно збільшуються) й існують у вигляді множинних кільцевих молекул ДНК. Такі ампліфіковані ядерця утворюються у клітинах при підготовці до прискореного розвитку, наприклад у яйцеклітинах. Ядерце має досить складну структуру. У ньому розрізняють три зони:

- слабкозбарвлений компонент, представлений ДНК ядерцевого організатора, – фібрилярний центр;
- щільний фібрилярний компонент на периферії фібрилярних центрів – рибосомальні РНК;
- гранулярний компонент – найбільш зрілі попередники рибосом.

Ядерця змінюються залежно від функціональної активності клітини, перш за все за рахунок гранулярного компонента. На початку мітозу ядерце зменшується в 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.

## РОЗДІЛ 6

### ПОДІЛ КЛІТИНИ (МІТОЗ, АМІТОЗ)

Життєвий цикл, або цикл розвитку (клітинний цикл), – це період існування клітини від моменту утворення (унаслідок поділу материнської клітини) до її власного поділу або смерті

Життєвий цикл різних видів клітин неоднаковий. Одні клітини втрачають під час свого розвитку здатність до поділу. Їхній життєвий цикл закінчується старінням і смертю. Інші – зберігають здатність ділитися протягом усього онтогенезу.

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

До цих факторів належать: наявність вільного простору, секреція клітинами навколишнього середовища стимулюючих чи пригнічувальних факторів ітоз. Процес клітинного поділу складається з поділу ядра (каріокінез) і наступного за ним поділу цитоплазми (цитокінез).

**Мітоз.** Процес клітинного поділу складається з поділу ядра (каріокінез) і наступного за ним поділу цитоплазми (цитокінез) Мітоз має чотири стадії (профаза, метафаза, анафаза, телофаза) (рис. 10.2) і характеризується утворенням дуже впорядкованого біполярного веретена, побудованого з мікротрубочок та асоційованих із ними білків.

Мікротрубочки організуються двома центросомами на протилежних полюсах веретена. Хромосоми конденсуються під час профазі. На цій стадії з обох боків центромери у хромосомі утворюються особливі структури – кінетохори. До них прикріплюються спеціалізовані мікротрубочки – кінетохорні нитки.

Переміщення хромосом під час мітозу здійснюється завдяки взаємодії цих ниток з іншими компонентами веретена. У результаті дії сил, які розтягують кінетохорні нитки до полюсів, у метафазі хромосоми шикуються на екваторі клітини.

Далі в анафазі сестринські хроматиди від'єднуються одна від одної і розходяться до протилежних полюсів веретена. Під час телофазі біля кожної із двох груп хромосом знову формується ядерна оболонка. Потім хромосоми деконденсуються й відновлюється синтез РНК.

**Амітоз** – це поділ клітини без утворення мітотичного апарату і без конденсації хромосом. Результатом є утворення рівних або нерівних за розміром клітин з однаковою чи неоднаковою кількістю генетичного матеріалу. Амітоз – нормальне явище для ряду клітин, пов'язаних з їхнім диференціюванням. У деяких випадках амітоз відбувається за патологічних станів, після опромінювання, інших впливів, які порушують мітотичний апарат, за змінених умов існування, наприклад у культурі тканин. Частіше амітозу передують реплікація ДНК.

Крім мітозу та мейозу відомі й інші види репродукції клітин – ендомітоз і політенія. Під час таких репродукцій не відбувається утворення нових ядер та розділення клітинного тіла.

Процеси ендорепродукції не приводять до збільшення кількості клітин, але внаслідок реплікації хромосом у цих процесах спостерігається збільшення об'єму цитоплазми. Характерними особливостями ендомітозу є реплікація

хромосом без руйнування ядерної оболонки й без поділу тіла клітини. Однак у ядрі можна бачити компактизацію хромосом, роз'єднання на хроматиди, з яких вони складаються, і наступну деконденсацію. Підсумком ендомітозу є виникнення поліплоїдних клітин з подвоєною кількістю хромосом. Ендомітоз може повторюватись – у такий спосіб утворюються гігантські клітини. Відомо, що у ссавців ендомітоз спостерігається в клітинах печінки, нирки, нервовій тканині тощо. Політенія – це реплікація хромосом, зазвичай множинна, без збільшення їхньої кількості. Гомологічні хромосоми не роз'єднуються. Так утворюються політенні хромосоми. Політенія поширена у двокрилих комах, інфузорії і в деяких рослин.

### Питання для самоконтролю

1. Які етапи виділяють в історії вивчення клітини та тканин?
2. Яке значення має клітинна теорія, сформульована Т. Шванном у розвитку природничого світогляду?
3. Дайте визначення поняття "клітина".
4. Охарактеризуйте поняття "тканина".
5. Історія створення та основні положення клітинної теорії.
6. Що таке клітинна мембрана?
7. Яку будову має плазмолема?
8. Назвіть основні функції плазмолеми.
9. У чому відмінність між органелами та включеннями?
10. Класифікація включень.
11. Охарактеризуйте білкові включення. Наведіть приклади.
12. Що належить до системи цитоскелета?
13. Від наявності яких макроергічних сполук залежить полімеризація мікрофіламентів, мікротрубочок?
14. З якими органелами у клітини пов'язані мікрофіламенти, мікротрубочки, проміжні філаменти?
15. Чи мають мікротрубочки власну рухову активність?
16. Дайте порівняльну характеристику гладенької і гранулярної ендоплазматичної сітки.
17. Де синтезуються білки для забезпечення власних потреб клітини?
18. З якими органелами пов'язаний синтез білків на "експорт"?

## Список рекомендованої літератури

1. Загальна цитологія і гістологія : підручник / М. Е. Держинський та ін. Київ : ВПЦ "Київський університет", 2010. 575 с. URL: <https://biology.univ.kiev.ua/images/stories/Kafedry/Cytologiya/Biblioteka/Dzerzhynsky.pdf>.
2. Новак В. П., Мельниченко А. П. Цитологія, гістологія, ембріологія. Біла Церква, 2005. 256 с. URL: [https://shron1.chtyvo.org.ua/Novak\\_Vitalii/Tsytolohiia\\_histolohiia\\_embriolohiia.pdf?PHPSESSID=69r8i9tg8qqlpu4pl8grgfd3u2](https://shron1.chtyvo.org.ua/Novak_Vitalii/Tsytolohiia_histolohiia_embriolohiia.pdf?PHPSESSID=69r8i9tg8qqlpu4pl8grgfd3u2).
3. Загальна цитологія. Практикум : навчальний посібник / М. Е. Держинський та ін. Київ : Видавничо-поліграфічний
4. центр "Київський університет", 2011. 126 с. URL: [https://biology.univ.kiev.ua/images/stories/Kafedry/Cytologiya/Biblioteka/BIR\\_ta\\_gistologiya/Zagalna\\_cytologiya\\_praktikum\\_.pdf](https://biology.univ.kiev.ua/images/stories/Kafedry/Cytologiya/Biblioteka/BIR_ta_gistologiya/Zagalna_cytologiya_praktikum_.pdf)
5. Романюк Р., Шевчук С. Інструктивно-методичні матеріали до лабораторних занять обов'язкової освітньої компоненти «Загальна цитологія та гістологія». Житомир : ЖДУ імені Івана Франка, 2022. 38 с. URL: <http://eprints.zu.edu.ua/34542/1/IMM.pdf>
6. Новак В. П., Бичков Ю. П., Пилипенко М. Ю. Цитологія, гістологія, ембріологія : підручник / за ред. В. П. Новака. 2-ге вид., змінене і доп. Київ : Дакор, 2008. 512 с.
7. Хомич В. Лекції з цитології, ембріології та гістології свійських тварин : навчальний посібник. Київ : ТОВ "Аграр Медіа Груп", 2012. 296 с.
8. Морфологія сільськогосподарських тварин / В. Т. Хомич та ін. ; за ред. В. Т. Хомича. Київ : Вища освіта, 2003. 527 с.

## ЗМІСТ

Вступ .....	3
Розділ 1. Методи цитологічних досліджень .....	3
Розділ 2. Загальна морфологія клітини .....	19
Розділ 3. Будова поверхневого апарату клітини.....	21
Розділ 4. Будова ендоплазматичної сіткої комплексу гольджі .....	22
Розділ 5. Будова ядра .....	24
Розділ 6. Поділ клітини (мітоз, амітоз) .....	25
Список рекомендованої літератури .....	28

Навчальне видання

## **ЦИТОЛОГІЯ, ГІСТОЛОГІЯ, ЕМБРІОЛОГІЯ**

Методичні рекомендації

Укладач: **Лумедзе Імінжон Халідович**

Формат 60x84 1/16 Ум. друк. арк. 1,87

Тираж 20 прим. Зам. № \_\_\_\_

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

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