УДК 57 (07)

Учебно-методические рекомендации предназначены для самостоятельной внеаудиторной и аудиторной работы студентов I курса лечебного, педиатрического, стоматологического факультетов, а также для студентов по специальности "Сестринское дело" при изучении раздела "Биология клетки".

Составители: докт.мед.наук проф.К.А.Кузьмина; канд.биол.наук доц.Л.Е.Сигарева; канд.биол.наук доц.Л.А.Боброва

Под редакцией докт.биол.наук проф.С.И.Беляниной

Рецензенты: канд.биол.наук доц.Т.А.Андронова, канд.биол.наук доц. С.Ю.Балакирева

Рекомендованы к печати ЦКМС и Ученым Советом СГМУ.

© Саратовский медицинский университет, 2001

Учебно-методические рекомендации предназначены для студентов I курса, изучающих раздел "Биология клетки".

В учебно-методических рекомендациях приведены:

I. Основная информация по данному разделу.

2. Методические указания для внеаудиторной самоподготовки студентов к занятию.

3. Методические указания для аудиторной работы студентов.

4. Элементы УИРС.

5. Источники информации.

Тема. ОПТИЧЕСКИЕ ПРИБОРЫ И ПРАВИЛА РАБОТЫ С НИМИ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:

И з у ч и т ь строение светового микроскопа.

З н а т ь правила работы с микроскопом при малом и большом увеличениях объективов.

О з н а к о м и т ь с я с правилами изготовления временных препаратов.

ОБОСНОВАНИЕ ТЕМЫ:

Знание строения световых микроскопов и основных правил микроскопирования необходимо для последующих занятий на кафедре биологии при изучении микроскопического строения биологических объектов, а также при изучении курсов гистологии, физиологии, патологической анатомии и др.

Умения изготовить временный препарат необходимы как при исследованиях микроскопического строения биологических объектов (например, мазки крови, яйца гельминтов), так и при изучении ряда разделов физиологии человека, патологической физиологии, патологической анатомии, гистологии, хирургии (онкология), микробиологии и др.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К АУДИТОРНОЙ РАБОТЕ И ОСНОВНЫЕ ЕЕ ЭТАПЫ

I. ЗНАКОМСТВО с правилами работы на кафедре и техникой безопасности.

П. РАЗБОР учебных элементов:

Устройство светового микроскопа.

Правила работы с микроскопом при малом увеличении объектива.

Правила работы с микроскопом при большом увеличении объектива.

Правила работы с иммерсионным объективом.

Правила изготовления временных препаратов .

Устройство МБС и правила работы с ним.

Общие правила оформления выполненных заданий.

Ш. САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ АУДИТОРНАЯ РАБОТА

З а д а н и е I.

Микроскоп - это прибор, позволяющий получать увеличенное изображение мелких объектов и их деталей, невидимых невооруженным глазом. Световой микроскоп марки "БИОЛАМ" увеличивает рассматриваемый объект в 56-1350 раз и дает увеличенное, перевернутое изображение.

Изучите устройство светового микроскопа.

Микроскоп состоит из трех основных частей: оптической, осветительной и механической.

К оптической части относятся окуляры и объективы, состоящие из системы линз (рис. I). Назначение оптической части - увеличение рассматриваемого объекта. На оправе окуляра и объектива имеются цифры, показывающие степень увеличения. Чтобы узнать, какое увеличение может дать микроскоп, необходимо перемножить цифры, стоящие на окуляре и объективе.

Осветительная часть включает зеркало и конденсор с диафраг-

мой. Зеркало предназначено для концентрирования и направления светового пучка в объектив. Конденсор с диафрагмой - это система линз, которая позволяет добиться различной степени концентрации световых лучей.

Механическая часть - это: основание, тубусодержатель, предметный столик, тубус, револьвер с отверстиями для объективов, макровинт и микровинт, которые позволяют поднять и опустить тубус.

Найдите на рис. I и микроскопе все перечисленные части и запомните их назначение.

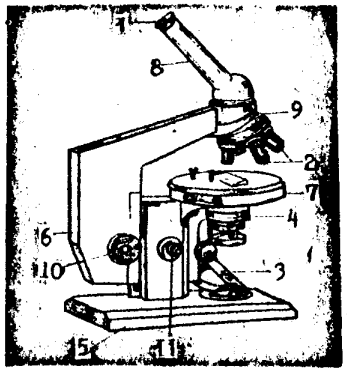


Рис. I. Строение светового микроскопа

1 - окуляр, 2 - объективы, 3 - зеркало, 4 - конденсор с диафрагмой, 5 - основание, 6 - тубусодержатель, 7 - предметный столик, 8 - тубус, 9 - револьвер, I0 - макровинт, II - микровинт.

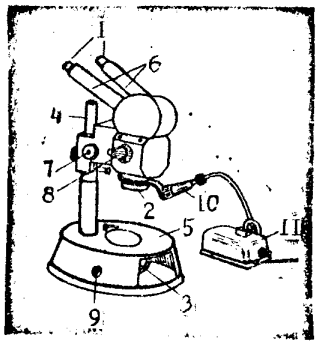


Рис. 2. Строение стереоскопического микроскопа МБС - I

1 - окуляры, 2 - объектив, 3 - зеркало, 4 - штатив, 5 - предметный столик, 6 - тубусы, 7 - макровинт, 8 - винт для переключения увеличения объектива, 9 - винт зеркала, I0 - осветитель, II- трансформатор.

З а д а н и е 2.

Изучите методические приемы работы с микроскопом при м а л о м увеличении объектива.

- Расположите микроскоп на рабочем месте слева, тубусодержателем к себе.
- Подведите под тубус объектив малого увеличения.
- Вращением макрометрического винта от себя опустите объектив (смотря слева на объектив) на расстояние 0,5 см от поверхности предметного столика.
- Осветите поле зрения. Глядя левым глазом в окуляр (правый глаз при этом не закрывайте) и поворачивая зеркало вогнутой поверхностью к источнику света, добейтесь появления яркого равномерного освещения.

- Положите на предметный столик постоянный микропрепарат (покров-
.ным стеклом вверх) "Кожица лука" так, чтобы объект находился
в центре отверстия предметного столика.
- Глядя в окуляр левым глазом, вращением макровинта на себя подни-
майте тубус до появления четкого изображения объекта.
- Плавным движением пальцев левой руки или вращением винтов пред-
метного столика выведите в центр поля зрения интересующий район
препарата.
- Рассмотрите и зарисуйте 2-3 клетки кожицы лука. Обозначьте кле-
точную оболочку, цитоплазму и ядро.
- Чтобы убедиться, что микроскоп дает обратное изображение,
слегка сдвиньте препарат вправо, наблюдая за объектом в окуляр,
при этом объект сдвигается влево.

З а д а н и е 3.

Изучите методические приемы работы с микроскопом при
б о л ь ш о м увеличении объектива.

- Осветите поле зрения.
- Положите постоянный микропрепарат "Нервные клетки" на предмет-
ный столик и найдите объект под малым увеличением.
- Вращением револьвера смените объектив малого увеличения на
объектив большого увеличения.
- Глядя слева на объектив, осторожно опустите тубус до соприкос-
новения объектива с покровным стеклом препарата.
- Глядя в окуляр, плавно поднимайте тубус до появления изображения
объекта. Более четкое изображение объекта получите с помощью
микровинта, вращая его не более чем на полоборота.
- Зарисуйте 1-2 нервные клетки и обозначьте тело и отростки клет-
ки, цитоплазму, ядро и ядрышко.
- По окончании работы тубус поднимите на 0,5 см от препарата и

поменяйте объектив большого увеличения на объектив малого
увеличения.

З а д а н и е 4.

Изучите методические приемы работы с микроскопом при иммерсион-
ном объективе.

- Положите постоянный микропрепарат "Мазок крови лягушки" на предмет-
ный столик и нанесите на покровное стекло каплю иммерсионного мас-
ла (кедрового или касторового).
- Глядя сбоку, осторожно опустите в масло иммерсионный объектив
(объектив с черной полосой).
- Очень медленно, вращая макровинт на себя, получите резкое изобра-
жение объекта.
- Для получения большей четкости изображения используйте микро-
винт.
- Зарисуйте 1-2 эритроцита и лейкоцита, обозначьте основные компо-
ненты этих клеток. Обратите внимание на то, что эритроциты зем-
новодных, в отличие от зрелых эритроцитов млекопитающих, имеют
ядро.

З а д а н и е 5.

Световой микроскоп позволяет видеть живые клетки. Для кратковре-
менного наблюдения клетки помещают в жидкую среду на предметное
стекло. Приготовьте временный препарат листа элодеи.

- На предметное стекло в каплю воды поместите кусочек листа элодеи.
- Покройте объект покровным стеклом, для этого покровное стекло
поставьте на ребро около капли воды, затем осторожно опустите
его на объект.
- Полученный препарат рассмотрите под малым и большим увеличениями
микроскопа. Зарисуйте 2-3 клетки, обозначьте оболочку, цитоплаз-
му, ядро и хлоропласты.

З а д а н и е 6.

Стереоскопический микроскоп дает прямое, увеличенное и объемное изображение и позволяет выполнить препаровальные работы.

Оптическая часть МБС (рис. 2) включает окуляры с различной степенью увеличения (6х, 8х, I2,5х) и объективы со сменными линзами (увеличения 0,6х, Iх, 2х, 4х, 7х). Осветительная часть состоит из зеркала, имеющего только одну плоскую зеркальную поверхность. В механическую часть входят штатив, предметный столик, тубусы, макровинт, винт для переключения увеличения объектива со шкалой, на которой нанесены цифры увеличения. Изучите правила работы с МБС.

- Постоянный микропрепарат " Дафнии" положите на предметный столик микроскопа.
- Расположите микроскоп так, чтобы его зеркало было обращено к свету.
- Глядя в окуляры, двумя руками установите тубусы (сдвигая или раздвигая их) в такое положение, при котором два изображения будут сведены в одно.
- Вращая винт зеркала, добейтесь равномерного освещения поля зрения.
- С помощью макровинта произведите фокусировку объекта.
- Рассмотрите объект при разных увеличениях объектива, обратите внимание на стереоскопический (объемный) характер изображения.

З а д а н и е 7.

Ознакомьтесь с правилами оформления выполняемых заданий. Выполнение заданий фиксируется в тетради. Вначале необходимо написать тему занятия, затем название задания и оформить его выполнение: зарисовать биологический объект или схему, обозначить изучаемые детали, заполнить таблицу, решить задачи, ответить письменно на вопросы задания и т.д. Правильность выполнения заданий проверяется преподавателем.

IУ. П р о в е р к а степени усвоения учебного материала (тестовый контроль).

У. К о р р е к ц и я ошибок и подведение итогов.

ОСНОВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ИНФОРМАЦИИ

I. Лекция " Клеточный уровень организации живой материи".

2. Тесты для самоподготовки к занятию и экзамену по разделу "Биология клетки" – Саратов, I997.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

3. Ченцов Ю.С. Общая цитология.–М., I995.

Тема. КЛЕТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИВОЙ МАТЕРИИ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:

З н а т ь:

I. Основные положения современной клеточной теории.

2. Особенности строения про- и эукариотических клеток.

3. Системы жизнеобеспечения клеток. Потоки вещества, энергии и информации в клетке.

4. Строение и функции основных структурных компонентов эукариотической животной клетки.

ОБОСНОВАНИЕ ТЕМЫ:

- Знания особенностей строения и функционирования про- и эукариотических клеток необходимы для понимания общности происхождения живого на Земле.
- Знания особенностей строения про- и эукариотических клеток необходимы для понимания строения тканей и органов человека, изучаемых на кафедрах гистологии, патологической анатомии, а также при изучении курса микробиологии, эпидемиологии и инфекционных болезней.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

I. И з у ч и т е следующую основополагающую информацию:

- Уровни организации живой материи.
- Основные положения современной клеточной теории.
- Особенности строения про- и эукариотических клеток.
- Потоки вещества, энергии и информации в клетке.

2. В ы п о л н и т е следующие задания для самоконтроля при самоподготовке к занятию.

З а д а н и е I.

Перечислите основные уровни организации живой материи. Укажите, какие из них являются доорганизменными, какие - надорганизменными.

З а д а н и е 2.

Перечислите основные положения современной клеточной теории. Укажите дату создания клеточной теории и ее авторов.

З а д а н и е 3.

Перечислите мембранные и немембранные органеллы животной клетки. Укажите, какие из них являются самовоспроизводящимися, и почему.

Заполните таблицу I.

Таблица I

Органеллы эукариотической животной клетки

Органеллы	Особенности строения		Способность к самовоспроизведению	Основная функция
	Мембранное	Немембранное		
Митохондрии				
Эндоплазматическая сеть:				
- гладкая				
- шероховатая				
Лизосомы				
Комплекс Гольджи				
Центриоли				
Рибосомы				

З а д а н и е 4.

Изучите по таблице 2 строение и функции компонентов ядра. Обобщив данные о функциях компонентов ядра, можно выделить две основные его функции:

I. Хранение генетической информации.

2. Обеспечение синтеза белка.

Укажите, какие из перечисленных ниже процессов, обуславливают первую (I) и вторую (2) функции ядра:

а) репарация (восстановление повреждений) ДНК; б) репликация ДНК, в) транскрипция всех видов РНК; г) образование в ядрышке субъединиц рибосом.

Таблица 2

Основные компоненты ядра

Компонент	Строение и функции
Ядерная оболочка	Состоит из двух мембран и пронизана порами. Через ядерные поры происходит обмен различными веществами между ядром и цитоплазмой. Разобщает транскрипцию, протекающую в ядре, от трансляции белка в цитоплазме
Хроматин-интерфазные хромосомы	Комплекс ДНК (40%) и белков (60%): I) эухроматин - максимально деконденсированные или рыхлые участки интерфазных хромосом; 2) гетерохроматин - участки хромосом, которые всегда находятся в конденсированном состоянии, реплицируются позже (конец S - периода), чем участки эухроматина
Кариоплазма-ядерный сок	В ней располагаются хроматин и ядрышко. Содержит ионы, белки (в том числе ферменты), нуклеотиды. В кариоплазме происходит процессинг (созревание) мРНК, тРНК и рРНК
Ядрышко	Содержит большое количество ДНК, рРНК и белков. Образовано (ны) участками ядрышко-образующих хромосом, в которых расположены гены рРНК

Чаще всего число ядрышек меньше количества ядрышкообразующих хромосом.
Обычно в ядре I-5 ядрышек.
В кариотипе человека 5 пар ядрышкообразующих хромосом (I3,I4,I5,2I,22).
В ядрышке происходит синтез рРНК и образование субъединиц рибосом

З а д а н и е 5.

Изучите на рисунке 1 схему потока вещества и энергии в клетке и ознакомьтесь со следующей информацией.

Любая клетка - открытая система, т.е. постоянно обменивается веществом, энергией и информацией с окружающей средой, что является необходимым условием жизни и работы клетки.

В клетке совершаются различные виды работ: химическая, осмотическая, электрическая, механическая, регуляторная и др.
На любую работу тратится энергия АТФ, при этом образуется АДФ и Ф , которые активируют ферменты, катализирующие расщепление глюкозы, жирных кислот и аминокислот. Энергия расщепления идет на синтез АТФ. В аэробной эукариотической клетке синтез АТФ происходит на анаэробном и аэробном этапах дыхания. Для восстановления потраченных веществ клетка должна получать их извне (автотрофный и гетеротрофный типы питания). Потоки вещества и энергии в клетке - саморегулируемый процесс. В основе регуляции лежит принцип обратной связи: чем интенсивнее работает клетка, тем интенсивнее обмен веществ.

В таблице 3 отметьте, как будет изменяться потребность в веществе и энергии при изменении интенсивности работы в клетке.

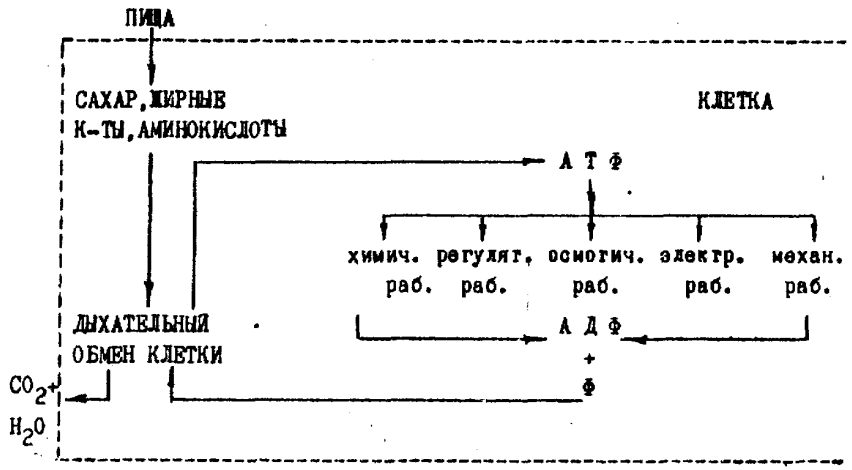


Рис. 1 Схема потоков вещества и энергии в клетке

Таблица 3

Саморегуляция потоков вещества и энергии в клетке

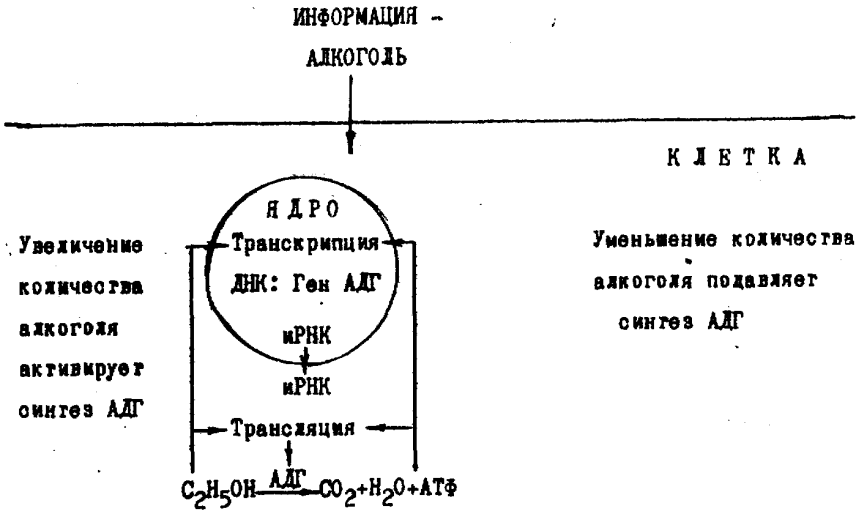
Интенсивность работы	Потребность в веществе	Потребность в АТФ	Образование АДФ и Ф	Интенсивность обмена веществ
Повышается				
Понижается				

З а д а н и е 6.

Информация может поступать в клетку из вне или возникнуть в самой клетке. На любой сигнал - информацию клетка реагирует изменением обмена веществ, для чего необходимы ферменты.

Информация о синтезе любого белка записана в ДНК. Из ядра в цитоплазму информация о синтезе белка - фермента поступает в виде соответствующей иРНК. Информация из цитоплазмы в ядро поступает в виде субстратов, метаболитов, ионов и др. Информация, действующая на клетку из вне через цитоплазматическую мембрану, изменяет её мембранный потенциал, что депрессирует (активирует) или репрессирует (угнетает) соответствующие гены. Потоки информации в клетке - также саморегулируемый процесс, в основе которого лежит принцип обратной связи.

На рис. 2 изучите схему потоков информации в клетке в ответ на сигнал - информацию, которым является алкоголь.



АДГ - алкогольдегидрогеназа - фермент, расщепляющий алкоголь.

Рис. 2. Схема потока информации в клетке

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К АУДИТОРНОЙ РАБОТЕ И ОСНОВНЫЕ ЕЕ ЭТАПЫ

I. П р о в е р к а исходного уровня знаний:

I. Проверка внеаудиторной работы студентов.

2. Тестовый контроль.

П. Р а з б о р следующих учебных элементов:

I. Системы жизнеобеспечения клетки.

2. Особенности строения прокариотической клетки (на примере бактериальной).

3. Общий план строения эукариотической животной клетки.

4. Строение и функции плазматической мембраны.

Ш. С а м о с т о я т е л ь н а я аудиторная работа.

З а д а н и е 7.

Изучите по таблице и рис. 3 схему строения бактериальной клетки. Нарисуйте ее и обозначьте: оболочку, плазматическую мембрану, цитоплазму, рибосомы, хромосомную ДНК, плазмиду, запасные питательные вещества, мезосому, фотосинтетические мембраны, жгутик. Отметьте, какие из этих структур имеются не в каждой бактериальной клетке.

Ответьте на вопросы:

- За счет какого компонента прокариотической клетки могут развиваться все ее внутриклеточные мембраны?
- В каких структурах бактериальной клетки расположены ферменты, принимающие участие в процессах дыхания и фотосинтеза?
- Роль плазмид в жизнедеятельности бактерий.

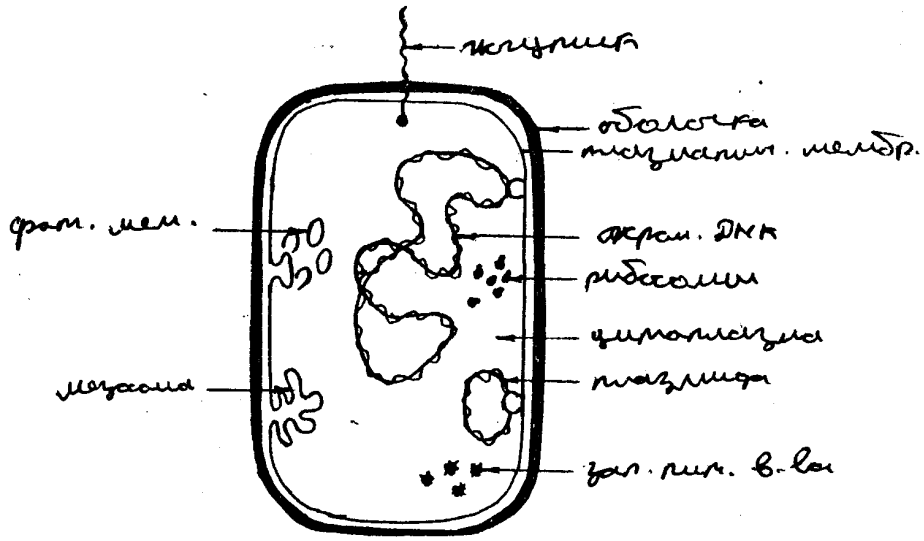


Рис. 3. Схема строения бактериальной клетки.

З а д а н и е 8.

Изучите по таблице схему строения эукариотической животной клетки, нарисуйте ее и обозначьте: плазматическую мембрану, цитоплазму, ядерную мембрану, ядрышко, глыбки хроматина, митохондрии, комплекс Гольджи, эндоплазматическую сеть, лизосомы, рибосомы, центриоли, запасные питательные вещества.

Рассмотрите на слайдах и электронных микрофотографиях субмикроскопическое строение основных компонентов и органелл эукариотической клетки.

З а д а н и е 9.

Рассмотрите под большим увеличением микроскопа БИОЛАМ строение клетки эпителия слизистой полости рта человека. Нарисуйте несколько

клеток и обозначьте: ядро, плазматическую мембрану, цитоплазму.

З а д а н и е 10.

Изучите на рис. 4 схему строения плазматической мембраны. Зарисуйте ее и обозначьте: фосфолипидный бислой, полярные гидрофильные головки и неполярные гидрофобные хвосты молекул фосфолипидов, периферические и интегральные (погруженные) белки, молекулы гликопротеидов и гликолипидов, слой гликокаликса.

Перечислите функции плазматической мембраны.

Ответьте на вопросы:

- Какой компонент мембраны (липидный или белковый) определяет ее основное свойство - полупроницаемость?
- Сколько в среднем процентов по весу приходится на долю мембранных белков?
- На какие три основные группы можно разделить мембранные белки по их биологической функции?
- Рост мембран происходит за счет встраивания готовых мембранных пузырьков. В каком органоиде происходит первичное их образование?

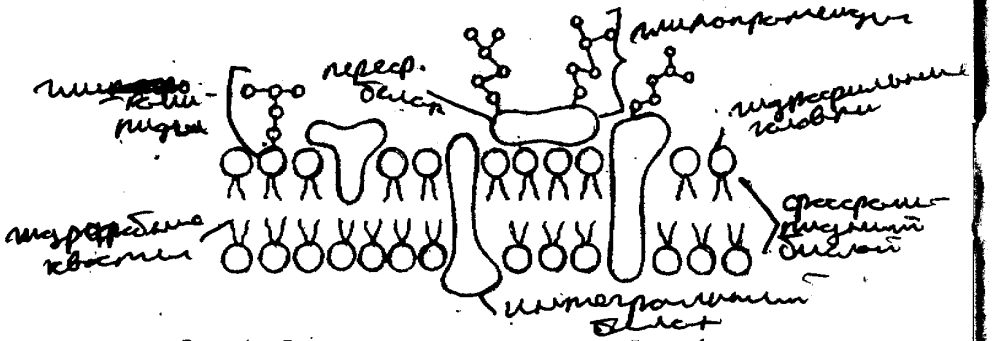


Рис. 4. Схема строения плазматической мембраны

З а д а н и е 11.

Плазматическая мембрана ограничивает свободный двусторонний поток низко - и высокомолекулярных веществ. Укажите в табл 4 механизма транспорта через мембрану воды, O_2 и CO_2 в растворе, ионов Na^+ и K^+, аминокислот, нуклеотидов, глюкозы, крахмала, коллоидных растворов, фрагментов погибших клеток или бактерий.

Таблица 4

Транспорт веществ через мембрану

	Виды транспорта				
	Пассивный		Активный		
	Диффузия	Осмос	Ионный насос	Фагоцитоз	Пиноцитоз
Транспортируемое вещество	O_2 CO_2	H_2O	Na^+ K^+	бакт.	ал. нук.

З а д а н и е 12.

Изучите по таблице системы жизнеобеспечения клеток; укажите какие органеллы и компоненты про- и эукариотических клеток образуют эти системы. Выполнение задания оформите в виде таблицы:

Система жизнеобеспечения	Прокариотические клетки	Эукариотические клетки
1. Мембран		
2. Получения и превращения энергии		
3. Самовоспроизведения (авторепродукции)		

Элементы УИРС.

З а д а н и е 13.

Влияние изо, - гипо - и гипертонических растворов на эритроциты крови человека.

На три обезжиренные предметные стекла поместите по одной капле крови человека (кровь берется ассистентом из пальца одного из желающих студентов). К одной капле крови глазной пипеткой добавьте небольшую капле изотонического (0,85%) раствора $NaCl$, к другой- гипертонический (10%) раствор $NaCl$, к третьей - гипотонический (0,5%) раствор $NaCl$ или дистиллированную воду. Капли закройте покровными стеклами и рассмотрите под большим увеличением микроскопа.

Обратите внимание, что в гипертоническом растворе эритроциты сморщиваются, в дистиллированной воде - лопаются (происходит гемолиз). Объясните наблюдаемые явления.

Вопросы проблемного характера.

1. Синтез каких молекул - РНК или белков -,создал предпосылки рождения жизни?

2. Почему в любой клетке обязательно должны быть система мембран, система авторепродукции и система получения и превращения энергии?

3. Почему в клетках человека наряду с аэробным этапом обмена имеется и анаэробный? Какое это имеет значение?

IУ. П р о в е р к а конечного уровня знаний по тестам.

У. К о р р е к ц и я ошибок и подведение итогов.

ОСНОВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ИНФОРМАЦИИ

1. Лекция "Клеточный уровень организации живой материи".
2. Учебник "Биология"/Под ред. В.Н.Ярыгина- М., 1985.
3. Учебник "Биология с общей генетикой", А.А. Слюсарев, С.В.Жукова-Киев, 1993.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

4. Тесты для самоподготовки к занятиям и экзамену по разделу "Биология клетки", Саратов, 1997.

Тема. НАСЛЕДСТВЕННЫЙ МАТЕРИАЛ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ

З н а т ь:

1. Структурные и функциональные особенности ядерного и внеядерного наследственного материала клеток человека.
2. Уровни компактизации ДНП (нуклеосомный, фибрилла, интерфазная и метафазная хромосомы).
3. Характеристика метафазных хромосом человека.
4. Принципы кариотипического анализа.
5. Значение определения Х- и У- хроматина в диагностике наследственных заболеваний.

У м е т ь:

1. Определять групповую принадлежность метафазных хромосом при кариотипическом анализе.

О з н а к о м и т ь с я с методами приготовления микропрепаратов для кариотипического анализа и выявления полового хроматина.

ОБОСНОВАНИЕ ТЕМЫ:

- Знания особенностей структурной организации интерфазных и метафазных хромосом человека необходимы для понимания закономерностей наследования, изменчивости, цитогенетической диагностики хромосомных болезней.
- Знания кариотипа и идиограммы человека, а также полового хроматина, необходимы при изучении патогенеза и диагностики наследственных заболеваний человека, изучаемых на ряде теоретических (патанатомии и патофизиологии) и клинических (детских болезней, акушерства, гинекологии, нервных болезней и др.) кафедр.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

1. П о в т о р и т е следующую основополагающую информацию:
   - Диплоидный и гаплоидный наборы хромосом.
   - Аутосомы и половые хромосомы.
   - Химический состав хромосом.
   - Интерфазные и метафазные хромосомы.
2. И з у ч и т е следующую основополагающую информацию:
   - Уровни компактизации ДНП.
   - Хроматин (ЭУ- и гетерохроматин).
   - Строение метафазных хромосом.
   - Кариотип и идиограмма.
3. В ы п о л н и т е следующие задания для самоконтроля при самоподготовке к занятию.

З а д а н и е I.

Изучите по таблице сравнительную характеристику ядерного и внеядерного наследственного материала клеток человека.

З а д а н и е 2.

Перечислите клетки человека, в которых исследуют кариотип.

Таблица I

Наследственный материал клеток человека

Ядерный (хромосомный)	Внеядерный (митохондриальный)
- 23 пары хромосом (46,XX; 46,XY)	
- В каждой хромосоме I-2 молекулы ДНК (40%) и белки (60%) - ДНП.	- Кольцевая "голая" молекула ДНК митохондрий
- Длина всех ДНП клетки - около 2м	
- Количество нуклеотидов на гаплоидный набор - около 3 млрд	- Количество нуклеотидов одной ДНК - I6569
- Количество генов - I50 тысяч	- Кодирует I0% белков митохондрий
- Каждая хромосома контактирует с оболочкой ядра	
- Обеспечивает ядерную наследственность	- Обеспечивает цитоплазматическую наследственность
- Наследование генов подчиняется законам Менделя	- Наследование генов не подчиняется законам Менделя

З а д а н и е 3.

Изучите по таблице 2 и рисунку I особенности строения и функции разных участков метафазной хромосомы. Зарисуйте схему строения метафазной хромосомы и на рисунке обозначьте короткое и длинное плечи хромосомы, хроматиды, первичную и вторичную перетяжки, спутник, теломеры.

Таблица 2

Строение и функции разных участков метафазных хромосом человека

Участок хромосомы	Особенности строения и функции
Первичная перетяжка или центромера (C)	Имеют все хромосомы набора. Центромера делит хромосому на два плеча (более короткое - p, длинное - q). К центромере прикрепляются нити веретена деления, растаскивающие хромосомы к полюсам клетки. В области первичной перетяжки расположен гетерохроматин
Вторичная перетяжка (h)	Имеют некоторые хромосомы набора. Выделяют две группы вторичных перетяжек; I-я группа - это перетяжки, расположенные в p- плече I3,I4,I5,2I и 22 хромосом; они принимают участие в формировании ядрышка, т.к. в их области расположены гены рРНК; 2-я группа - это перетяжки, расположенные в q - плече I,9,I6 и Y-хромосом; они не участвуют в формировании ядрышка и представлены гетерохроматином
Теломеры (t)	Концевые участки хромосом. Представлены гетерохроматином. Благодаря теломерам хромосомы не соединяются друг с другом
Спутник (S)	Маленький участок, отделяемый вторичной перетяжкой в коротком плече I3,I4,I5,2I и 22 хромосомах.

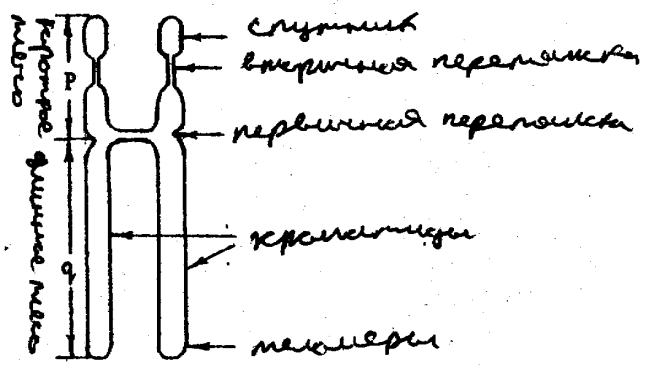


Рис. I. Схема строения метафазной хромосомы

З а д а н и е 4.

Ознакомьтесь с методикой приготовления микропрепаратов для кариотипического анализа.

Кариотипический анализ человека - исследование кариотипа является одним из основных цитогенетических методов изучения генетики человека.

Показанием для исследования кариотипа у какого-либо человека является подозрение на наличие у него хромосомного заболевания (наследственной болезни, причиной которой является нарушение числа или структуры хромосом).

Кариотип исследуют путем микроскопирования окрашенных микропрепаратов метафазных хромосом, для чего необходимо иметь популяцию (множество) клеток на стадии метафазы митоза.

Существуют прямые и непрямые методы получения достаточного количества делящихся клеток на стадии метафазы. При прямых методах у человека берут на исследование клетки тканей с высокой пролиферативной активностью. Например, клетки красного костного мозга, или клетки опухоли. Прямые методы используют, как правило, для цитогенетических исследований новообразований.

В генетике человека чаще используют непрямые методы получения интенсивно размножающихся митозом клеток. При этом на исследование берут клетки, относительно хорошо размножающиеся вне организма (*in vitro*). Чаще всего культивируют лимфоциты крови, а также фибробласты кожи, клетки абортированного эмбриона, клетки амниотической жидкости и др.

Исследуемый материал помещают в пробирки с питательной средой, добавляют стимулятор митоза - фитогемагглютинин. Затем воздействуют на делящиеся клетки колхицином, который останавливает митоз на стадии метафазы, способствуя тем самым накоплению клеток на стадии метафазы. С целью разобщения метафазных хромосом на клетки воздействуют гипотоническим раствором чаще всего хлорида калия. После обработки клеток фиксатором взвесь клеток помещают на предметное стекло и высушивают. Высушенные препараты красят одним из следующих красителей: азуром, основным фуксином, орсеином, Романовского-Гимза.

Препараты подвергают микроскопированию, отыскивая такие метафазные пластинки, в которых хромосомы располагаются свободно в одной плоскости.

Удобно вначале с препарата сделать микрофотографию, по которой затем исследовать кариотип данного человека. В последнее время созданы специальные приставки к микроскопу, позволяющие автоматизировать процесс индивидуализации хромосом по морфологическим параметрам, что значительно повысило точность кариотипического анализа и снизило трудозатраты.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К АУДИТОРНОЙ РАБОТЕ И ОСНОВНЫЕ ЕЕ ЭТАПЫ

I. П р о в е р к а исходного уровня знаний:

1. Проверка внеаудиторной работы студентов.
2. Тестовый контроль.

II. Р а з б о р следующих учебных элементов:

1. Нуклеосомный уровень упаковки ДНК.
2. Второй уровень компактизации ДНП - фибрилла.
3. Интерфазная хромосома. Эу - и гетерохроматин. Половой хроматин.
4. Метафазная хромосома, ее строение.
5. Характеристика метафазных хромосом человека.

III. С а м о с т о я т е л ь н а я аудиторная работа.

З а д а н и е 5.

Изучите на слайде и нарисуйте схему нуклеосомной организации хромосом. Отметьте на рисунке гистоны и ДНК.

Сколько нуклеотидных пар принимает участие в формировании одной нуклеосомы?

Во сколько раз укорачивается нить ДНП благодаря нуклеосомной организации хромосом?

З а д а н и е 6.

В каком состоянии находится одна из Х-хромосом в интерфазный период в соматических клетках женщин? Как выглядит эта хромосома при световой микроскопии в окрашенных препаратах?

Как называется такая цитологическая структура?

В каком состоянии находится У-хромосома в интерфазных ядрах соматических клетках мужчин?

Можно ли выявить У-хромосому в интерфазных соматических клетках мужчин при соответствующей окраске препарата?

Как называется выявляемая цитологическая структура?

З а д а н и е 7.

Изучите по таблице классификацию метафазных хромосом человека, их морфологические параметры (абсолютную и относительную длину, центромерный индекс, наличие вторичной перетяжки и спутника).

Заполните таблицу 3 "Характеристика метафазных хромосом человека". Обратите внимание, что лишь некоторые хромосомы (1,2,3, 9,16 аутосомы и У-хромосома) имеют такие морфологические параметры, которые позволяют их идентифицировать. Хромосомы групп А и В - крупные, С,Д - средние, Е, F и G - мелкие.

Таблица 3

Характеристика метафазных хромосом человека

Группа	№ хромос.	Длина хромос.	Центр. индекс	Тип хромосом	Вторичная перетяжка	Спутник
1	2	3	4	5	6	7
	АУТОСОМЫ					
	1	11	49	м	gh	
A	2	10,8		с		
	3	8,3		м		
B	4	7,9		с		
	5	7,7		с		
	6	9,2		с		
	7	6,8	39	с		
	8	5,7		с		
C	9	5,8		с	gh	
	10	5,8		с		
	11	5,8		с		
	12	5,8		с		
	13	4,2		а	ph	S
D	14	4,2		а	ph	S
	15	4,2		а	ph	S
	16	3,6		с	gh	
E	17	3,5		с		
	18	3,2		с		
F	19	2,9		м		
	20	2,9		м		
G	21	2,3		а	ph	S
	22	2,3		а	ph	S
	ПОЛОВЫЕ ХРОМОСОМЫ					
X	X	6,8	39	с		
Y	Y	2,8	18	а	gh	

З а д а н и е 8

В зависимости от расположения первичной перетяжки различают мета-, субмета - и акроцентрические хромосомы. Центромерные индексы таких хромосом соответственно: около 50 %, 30 - 40%, 18-25%.

Центромерный индекс - отношение длины короткого плеча ко всей длине хромосомы, выраженное в процентах.

Вычислите центромерные индексы Х -и У - хромосом, если известно, что абсолютная длина Х-хромосомы в норме в среднем - 6,8 мкм, длина короткого плеча - 2,6 мкм. Абсолютная длина У-хромосомы - 2,8 мкм, длина короткого плеча - 0,5 мкм.

К какому типу хромосом относятся Х- и У- хромосомы с учетом их центромерного индекса?

З а д а н и е 9.

Рассмотрите под большим увеличением микроскопа микропрепарат метафазных хромосом человека (окраска ругинная). Обратите внимание, что каждая хромосома состоит из двух хроматид.

З а д а н и е 10.

Ознакомьтесь с основными методическими правилами кариотипического анализа человека по фотографиям метафазной пластинки.

Проанализируйте метафазную пластинку человека в норме, распределите хромосомы по группам и подсчитайте их число, определите, мужчине или женщине принадлежит кариотип.

Убедиться, что данный метод анализа не позволяет индивидуализировать все хромосомы внутри каждой группы.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К КАРИОТИПИЧЕСКОМУ АНАЛИЗУ

Найти на метафазной пластинке крупные хромосомы группы А. Подсчитайте их количество. Обозначьте каждую хромосому буквой А. Вычислите центромерный индекс для всех хромосом группы А. По центромерному индексу определите номер пары каждой хромосомы группы А.

Найдите крупные субметацентрические хромосомы группы В. Обозначьте каждую хромосому буквой В. Подсчитайте количество хромосом в группе.

Найдите средние акроцентрические хромосомы группы Д, обозначьте каждую хромосому буквой Д. Подсчитайте количество хромосом в группе.

Найдите мелкие акроцентрические хромосомы группы $\mathcal{Y}$. Обозначьте каждую хромосому буквой $\mathcal{Y}$. Подсчитайте количество хромосом в группе, при этом учтите, что У-хромосома по своим параметрам является мелким акроцентриком, а поэтому идентифицируется вместе с хромосомами группы $\mathcal{Y}$.

Найдите мелкие метацентрические хромосомы группы $\mathcal{F}$. Обозначьте каждую хромосому буквой $\mathcal{F}$. Подсчитайте количество хромосом в группе.

Найдите мелкие субметацентрические хромосомы группы Е. Обозначьте каждую хромосому буквой Е. Подсчитайте количество хромосом в группе.

Оставшиеся средние субметацентрические хромосомы обозначьте буквой С. Подсчитайте их количество, при этом учтите, что Х-хромосома по своим параметрам является средним субметацентриком, а поэтому идентифицируется вместе с хромосомами группы С.

Используя известные обозначения, запишите результаты кариотипического анализа (например 46,ХХ или 46,ХУ).

З а д а н и е II.

Рассмотрите на слайдах картину сегментов хромосом при различных методах дифференциального окрашивания.

Сравните характер сегментов Х-хромосомы с расположением сегментов аутосом 7 и 8, с которыми она сходна по морфологическим параметрам.

Э л е м е н т ы У И Р С.

З а д а н и е I2.

Половой хроматин.

Х-хроматин (тельце Барра) - инактивированная и конденсированная одна из Х-хромосом соматических клеток в период интерфазы. В конденсированной Х-хромосоме почти все гены не активны. У женщин Х-хроматин определяется в 20-70% интерфазных ядрах, у мужчин лишь в 2-4%.

Для выявления Х-хроматина приготовьте временный микропрепарат клеток - слизистой полости рта.

У двух испытуемых (студента и студентки) шпателем сделайте легкий соскоб слизистой полости рта с внутренней поверхности щеки и перенесите его на обезжиренное предметное стекло. Глазной пипеткой нанесите на соскоб 1-2 капли 1% раствора ацетокармина или гематоксилина. Накройте покровным стеклом и через слой фильтровальной бумаги большим пальцем, давите на покровное стекло в течение 2-3 секунд. Под иммерсионным объективом микроскопа сравните ядра клеток эпителия слизистой оболочки полости рта мужчины и женщины. Обратите внимание, что во многих клетках женщин по периферии ядер выявляется плотная, сравнительно большая глыбка хроматина, имеющая форму треугольника или овала. Зарисуйте одну из

клеток, отметьте в ядре тельце Барра.

У-хроматин - это блок гетерохроматина в длинном плече У-хромосомы в интерфазных ядрах соматических клеток мужчин. Выявляется с помощью флуоресцентных красителей, которые позволяют выявлять и Х-хроматин. Для определения Х- и У- хроматина окрашенные препараты исследуют под люминесцентным микроскопом. Х-хроматин чаще всего исследуют в клетках слизистой ротовой полости, а также в лейкоцитах, фибробластах кожи и клетках волосяной луковицы.

Рассмотрите на слайде Х- и У- хроматин (окраска флуоресцентными красителями).

В о п р о с ы п р о б л е м н о г о х а р а к т е р а

1. Какое значение (с эволюционной точки зрения) имеет наличие внеядерного наследственного материала в клетках человека?
2. Какое значение имеет компактизация ДНП для эукариотических клеток.

IУ. П р о в е р к а конечного уровня знаний по тестам.

У. К о р р е к ц и я ошибок и подведение итогов.

ОСНОВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ИНФОРМАЦИИ

1. Лекции: "Клеточный уровень организации живой материи", "Наследственный материал клеток человека".
2. Тесты для самоподготовки к занятиям и экзамену по разделу "Биология клетки".
3. Учебник "Биология"/ Под ред. В.Н.Ярыгина - М., 1985.
4. Учебник "Биология с общей генетикой", А.А.Слесарев, С.В.Жукова - Киев, 1993.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Ченцов Ю.С. Общая цитология - М., 1995.

Тема. КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ. МИТОТИЧЕСКИЙ ЦИКЛ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:

З н а т ь:

1. Характеристику основных периодов жизненного цикла клетки.
2. Цитологическую характеристику периодов и фаз митотического цикла.
3. Динамику структуры и функции хромосом в клеточном цикле.
4. Биологическое значение митоза.

У м е т ь определять на микропрепаратах фазы митоза.

О з н а к о м и т ь с я с особенностями пролиферативной активности различных тканей человека.

ОБОСНОВАНИЕ ТЕМЫ:

- Знания динамики структуры и функции хромосом в жизненном цикле необходимы для понимания закономерностей наследования на клеточном уровне, изменчивости, принципов медико-генетического консультирования, онтогенеза.
- Знания закономерностей митоза и пролиферативной активности различных тканей человека необходимы для понимания механизмов регенерации тканей в норме и при патологической пролиферации и др., изучаемых на кафедрах акушерства и гинекологии, патофизиологии, патанатомии и др.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ ВНЕАУДИТОРНОЙ РАБОТЫ

I. П о в т о р и т е следующую информацию:
- Строение эукариотической клетки.
- Строение и функции ядра клетки.
- Строение и репликация ДНК.
- Уровни компактизации ДНП.

2. И з у ч и т е следующую основополагающую информацию:
- Формы деления клеток (амитоз, митоз).
- Жизненный цикл клетки, периоды его.
- Митотический цикл. Периоды и фазы митотического цикла.
- Биологическое значение митоза.

3. В ы п о л н и т е следующие задания для самоконтроля при подготовке к занятию.

З а д а н и е I.

Перечислите фазы жизненного цикла клеток, способных к делению. Перечислите фазы митотического цикла и собственно митоза. Укажите их относительную временную характеристику.

З а д а н и е 2.

Перечислите способы деления эукариотических клеток. Укажите, какой из них обеспечивает рост человека.

За счет какого способа деления клеток происходит дробление зиготы (первая стадия эмбрионального развития человека).

З а д а н и е 3.

Перечислите основные структурные компоненты интерфазного ядра соматических клеток человека.

Что собой представляют глыбки хроматина в интерфазных ядрах соматических клеток? Как называется наиболее крупная глыбка хроматина, выявляемая по периферии интерфазных ядер соматических клеток женщин?

З а д а н и е 4.

Перечислите основные химические соединения, входящие в состав хромосом ядра. Какие функции они выполняют?

З а д а н и е 5.

В каком состоянии (конденсированном или нет) находятся хромосомы в гетеро-и автокаталитической интерфазе?

Укажите сущность гетерокаталитической и автокаталитической интерфазы.

З а д а н и е 6.

Какой наследственный материал (ядерный или внеядерный -митохондриальный) распределяется в процессе митоза равномерно между дочерними клетками?

З а д а н и е 7.

Известно, что у взрослого человека пролиферативная активность разных клеток различная. Часть клеток обновляющихся тканей делится постоянно. Это различные эпителии, кровь, рыхлая и плотная соединительные ткани. Дифференцированные клетки не делятся в обычных условиях, но могут снова начать делиться (клетки печени) при процессах репаративной регенерации. Высокодифференцированные клетки навсегда теряют способность к делению.

Таблица I

Жизненный цикл клеток человека с разной степенью дифференцировки

Клетки	Периоды жизненного цикла			
	ГКИ	АКИ	Митоз	%
Клетки базального слоя покровного эпителия.				
Клетки эпителия кишечника.				
Кроветворные клетки костного мозга.				
Клетки печени				
Нейроны				
Эритроциты				
Мышечные клетки				

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К АУДИТОРНОЙ РАБОТЕ И ОСНОВНЫЕ ЕЕ ЭТАПЫ

I. П р о в е р к а исходного уровня знаний:
   1. Проверка внеаудиторной работы студентов.
   2. Тестовый контроль.

II. Р а з б о р следующих учебных элементов:
   1. Периоды клеточного цикла.
   2. Цитологическая характеристика периодов и фаз митотического цикла.
   3. Динамика структуры и функции хромосом в клеточном цикле.

III. С а м о с т о я т е л ь н а я аудиторная работа.

З а д а н и е 8.

Изучите на слайдах и постоянном микропрепарате стадии митотического цикла в клетках кончика корешка лука. Обратите внимание на анастральный характер митоза у высших растений (отсутствие центриолей и лучистой сферы). Зарисуйте клетки на разных фазах митоза.

З а д а н и е 9.

Изучите при малом и большом увеличениях микроскопа фазы митоза в оплодотворенных яйцах аскариды. Зарисуйте бластомеры на стадии метафазы или анафазы.

З а д а н и е I0.

В таблице 2 напишите цитологическую характеристику фаз митоза и особенности структуры и функции хромосом в клеточном цикле.

Таблица 2.

Основные периоды фазы жизненного цикла клетки

	Характеристика хромосом		Цитологическая характеристика	в клетке
	Степень конденсации. Количество хроматид	Функциональная активность		
Гетерокаталитическая интерфаза				
Автокаталитическая интерфаза				
- Пресинтетический период				
- Синтетический				
- Постсинтетический				
- Митоз;				
- Профаза				
- Метафаза				
- Анафаза				
- Телофаза				

З а д а н и е II.

Как называется обмен сестринских хроматид гомологичными участками в S - периоде интерфазы митотического цикла?

Как часто (%) встречается это явление в норме в клетках, способных к делению?

Какое влияние оказывают многие химические мутагены на частоту обмена хроматид в митозе?

З а д а н и е I2.

Какой набор хромосом и генотип имеют практически все соматические клетки человека и почему?

Сколько в среднем клеток погибает у взрослого человека в норме за сутки?

За счет какого деления восстанавливается естественная гибель клетки?

Приведите примеры клеток человека, которые обновляются каждые 2-4 дня, около 4 мес.

Э л е м е н т ы У И Р С

З а д а н и е I3

В процессе эмбрионального развития человека на стадии двух бластомеров в одном из бластомеров под влиянием каких-то неблагоприятных факторов нарушилось расхождение хромосом в анафазе митоза: хроматиды одной из 2I аутосом не разошлись.

- Какой хромосомный набор будет в соматических клетках ребенка (мальчика или девочки), родившегося при таких условиях эмбриогенеза, если учесть, что клетки с недостающим количеством хромосом нежизнеспособны?

Напишите хромосомные наборы этих клеток.

З а д а н и е I4.

У человека вследствие длительного спазма одной из артерий,

питающих сердечную мышцу, развился инфаркт миокарда - погибла часть сердечной мышцы. Благодаря своевременному лечению человек выздоровел, но участок погибшей мышцы зарубцевался соединительной тканью.

Почему погибшая в зоне инфаркта мышечная ткань не восстановилась?

Какой набор хромосом и генов имеют клетки соединительной ткани рубца по сравнению с клетками сердечной мышцы?

В о п р о с ы п р о б л е м н о г о х а р а к т е р а

I. Механизмы, обеспечивающие образование в процессе митоза генетически идентичных дочерних клеток.

2. Амитоз встречается в различных тканях человека и специализированных обреченных на гибель клетках. Способна ли клетка, претерпевшая амитоз, вновь вступить в нормальный митотический цикл?

3. Как могут отразиться на жизненном уровне клетки мутации протоонкогенов, регулирующих в норме рост, дифференцировку и митотическую активность клетки.

IУ. П р о в е р к а конечного уровня знаний по тестам.

У. К о р р е к ц и я ошибок и подведение итогов.

ОСНОВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ИНФОРМАЦИИ

I. Лекции: "Наследственный материал клеток человека", "Клеточный цикл, Митотический цикл".

2. Учебник "Биология"./Под ред. В.Н.Ярыгина.-М., I985.

3. Учебник "Биология с общей генетикой". А.А.Слюсарев, С.В.Жукова.-Киев, I993.

4. Тесты для самоподготовки к занятиям и экзамену "Биология клетки", Саратов, I997 г.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

I. Ченцов Ю.С. Общая цитология.- М.,I995.

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Оптические приборы и правила работы с ними..... 4

Клеточный уровень организации живой материи..... I2

Наследственный материал клеток человека..... 24

Клеточный цикл. Миготический цикл..... 38

УЧЕБНОЕ ИЗДАНИЕ

БИОЛОГИЯ КЛЕТКИ

Учебно-методические рекомендации для внеаудиторной и аудиторной работы студентов I курса лечебного, педиатрического, стоматологического факультетов, а также для студентов по специальности "Сестринское дело".

Составители: К.А.Кузьмина, Л.Е.Сигарева, Л.А.Боброва.

Редактор Л.А.Алехнович

Подписано к печати I4.09. 200I Формат 60x90/I6

Бумага типографская № 2. Усл.-печ.л. 2,0

Печать офсетная. Тираж 500. Заказ 283

Подразделение оперативной полиграфии Саратовского ЦНТИ,
4I0600,г.Саратов,ул.Вавилова,I/7