

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

**Держинський М.Е., Скрипник Н.В.,
Гарматіна С.М., Островська Г.В.,
Варенюк І.М., Пустовалов А.С.,
Вороніна О.К., Пазюк Л.М.,
Бузинська Н.О.**

ЗАГАЛЬНА ЦИТОЛОГІЯ ТА ГІСТОЛОГІЯ

НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК

ЧАСТИНА 1

ЗАГАЛЬНА ЦИТОЛОГІЯ

*Рекомендовано Міністерством освіти і науки України
як навчальний посібник
для студентів біологічних спеціальностей
вищих навчальних закладів*

УДК
ББК
Д

Рецензенти:
д-р мед. наук, проф. О. М. Грабовий
д-р вет. наук, проф. В. Т. Хомич
д-р біол. наук Ю. Г. Шкорбатов

*Рекомендовано до друку вченою радою біологічного факультету
(протокол № 12 від 24.05.05 року)*

Держинський М.Е., Скрипник Н.В, Гарматіна С.М. та інші.

Загальна цитологія та гістологія. Частина І: Загальна цитологія: Навчальний посібник. — К.: Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", 2006. — 275 с.

ISBN 966-594-360-X

Системно викладено основи сучасної цитології. Проаналізовано сучасні уявлення щодо виникнення та еволюції клітинної форми життя, основні етапи розвитку методів дослідження клітини й підходи до її аналізу. Подано структурно-функціональний аналіз поверхневого апарату клітини, принципові аспекти його участі в міжклітинній адгезії та міжклітинній сигналізації. Із сучасних позицій молекулярної біології розглянуто структурно-функціональні особливості цитозолю, принципи організації та функції клітинного ядра, клітинних органел. У доступній формі висвітлено закономірності змін у будові й функції клітинних органел з розвитком певних патологій, теоретичні, а також практичні аспекти застосування основних цитологічних прийомів, що вийшли у практику біологів і патологів.

Для студентів біологічних факультетів вищих навчальних закладів.

**УДК 552,2:550.4(477)(075.8)
ББК 26.31 4Укр я73**

**Гриф надано Міністерством освіти і науки України
Лист 14/18.2-2444 від 04.11.05**

ISBN 966-594-360-X

©Держинський М.Е., Скрипник Н.В., Гарматіна С.М. та інші, 2006
© Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
ВПЦ "Київський університет", 2006

ЗМІСТ

ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ЕВОЛЮЦІЮ КЛІТИНИ.....	7
1.1. Від молекул до першої клітини	7
1.2. Формування зовнішньої мембрани як ключовий момент в еволюції клітинних форм	12
1.3. Від клітини прокаріотичної до еукаріотичної.....	16
1.4. Загальні принципи компартменталізації еукаріотичної клітини	19
1.5. Еволюційне походження мембранних органел	20
РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ КЛІТИН	25
2.1. З історії вивчення клітин.....	25
2.2. Мікроскопічні методи дослідження клітин	31
2.3. Методи підготовки матеріалу для цитологічних досліджень і методи дослідження клітини	38
РОЗДІЛ 3. СТРУКТУРА Й ФУНКЦІЇ БІОЛОГІЧНИХ МЕМБРАН	47
3.1. Хімічний склад і загальні принципи організації біологічних мембран	49
3.2. Принципи структурно-функціональної організації плазматичної мембрани еукаріотичної клітини	56
3.3. Мембранний транспорт	58
3.4. Патологія плазматичної мембрани.....	69
РОЗДІЛ 4. ЦИТОЗОЛЬ	73
4.1. Хімічний склад і головні функції цитозолю.....	73
4.2. Включення.....	77
РОЗДІЛ 5. ЦИТОСКЕЛЕТ	85
5.1. Мікрофіламенти	85
5.2. Мікротрубочки	92
5.3. Проміжні філаменти	99
5.4. Взаємодії елементів цитоскелета.....	101
5.5. Патологія цитоскелета	102
РОЗДІЛ 6. ЯДРО.....	105
6.1. Принципи структурно-функціональної організації еукаріотичного ядра	106
6.2. Молекулярна організація спадкового апарату.....	115
6.3. Хроматин і хромосоми.....	126
6.4. Ядерце.....	135
6.5. Патологія ядра	140
РОЗДІЛ 7. БІОСИНТЕЗ БІЛКА	147

РОЗДІЛ 8. ВАКУОЛЯРНА СИСТЕМА	155
8.1. Ендоплазматична сітка	155
8.2. Апарат Гольджі	167
8.3. Лізосоми	172
РОЗДІЛ 9. ПЕРОКСИСОМИ	181
РОЗДІЛ 10. СИСТЕМИ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ КЛІТИН	185
10.1. Мітохондрії	186
10.2. Пластиди	198
РОЗДІЛ 11. ВІДТВОРЕННЯ КЛІТИН. КЛІТИННИЙ ЦИКЛ	204
11.1. Поділ клітин: мітоз	207
13.2. Регуляція клітинного циклу	216
13.3. Патологія мітозу	219
13.4. Реакція клітин на зовнішні впливи	220
13.5. Онкогенез	222
13.6. Загибель клітин	226
РОЗДІЛ 14. ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ І РЕАКТИВНІ ЗМІНИ КЛІТИН	231
РОЗДІЛ 13. ЗАГАЛЬНІ ПРИНЦИПИ МІЖКЛІТИННИХ ВЗАЄМОДІЙ	234
13.1. Загальна структурно-функціональна характеристика позаклітинного матриксу	235
13.2. Упізнання та адгезія клітин	238
13.3. Міжклітинні контакти	239
РОЗДІЛ 14. ІНФОРМАЦІЙНІ МІЖКЛІТИННІ ВЗАЄМОДІЇ	251
14.1. Типи надходження сигнальних молекул до клітин	252
14.2. Клітинні рецептори та їхня участь у процесах міжклітинної сигналізації	254
ПРИКЛАДИ ТЕСТОВИХ ЗАПИТАНЬ	260
ПРЕДМЕТНИЙ ПОКАЖЧИК	262
ІМЕННИЙ ПОКАЖЧИК	269
СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	270

ВСТУП

Клітинна форма організації живого, виникнув свого часу, стала основою усього подальшого розвитку органічного світу. Еволюція бактерій, найпростіших, синьо-зелених водоростей, інших організмів цілком відбувалась за рахунок структурних, функціональних і біохімічних перебудов клітини. У ході цієї еволюції виникли надзвичайно різноманітні клітинні форми, однак у цілому будова клітини принципових змін не зазнала.

Виникнення багатоклітинності різко поширило можливості прогресивної еволюції органічних форм. Центр еволюційного тяжіння перемістився з рівня клітинного на рівні вищого порядку – тканинний, організмний, організмений та популяційний. Проте зміни клітинної структури не втратили при цьому свого еволюційного значення. Так, у тканинних клітинах у ході еволюції закріплюються особливості, корисні для індивіда та виду в цілому: клітина стає підпорядкованою частиною цілісного організму. З розвитком організму структура й функції клітин зазнають найрізноманітніших змін, зумовлених потребами цілісного організму (навіть якщо при цьому клітині завдається "індивідуальна шкода"). Так, функціонування деяких секреторних клітин пов'язано з їхньою загибеллю, нервових клітин – із втраченою здатністю до розмноження тощо.

Значення клітини як елементарної структурної та функціональної одиниці живого, як центру біохімічних реакцій, що відбуваються в організмі, як носія матеріальної основи спадковості робить цитологію однією з найважливіших загальнобіологічних дисциплін.

Прогрес у будь-якій галузі науки суттєво змінює її проблематику, ставить перед нею нові завдання. Успіхи у вивченні клітини різко розширили коло питань, на вирішення яких направлені зусилля сучасних цитологів. Увагу науковців прикуто й до таких сфер, як ультратонка будова клітини і клітинних органел і регуляція фізіологічної та біохімічної активності клітин. Величезний інтерес викликають питання, пов'язані з механізмами міжклітинної комунікації та з базовими принципами регуляції клітинної спадковості. Практичного значення, недооцінити яке неможливо, набувають питання патогенезу на рівні клітини.

Пропонований навчальний посібник містить необхідні відомості як для отримання фундаментальних теоретичних знань з цитології, так і для засвоєння основних методичних прийомів сучасної клітинної біології. Ураховуючи величезний науково-теоретичний і практичний спадок сучасної цитології, а також високі темпи її розвитку сьогодні, автори підручника намагались викласти базові основи сучасної цитології від її класичних положень до сучасних досягнень і перспектив.

Розділ 1

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ЕВОЛЮЦІЮ КЛІТИНИ

Еволюційна теорія є центральним принципом біології, який дозволяє зрозуміти величезне різноманіття органічного світу. За сучасними поглядами, в основі еволюції лежать два головні процеси. По-перше, це випадкові зміни генетичної інформації, що передаються від організму його нащадкам, по-друге – відбір генетичної інформації, що сприяє виживанню та розмноженню своїх носіїв. Безумовно, в еволюційному підході є своя небезпека: недостатність реального знання компенсується теоретичними припущеннями, деталі яких можуть бути помилковими, адже історія залишила дослідникам предкові форми організмів лише у вигляді викопних решток. Але, з іншого боку, можна стверджувати, що кожний сучасний організм містить інформацію про ознаки живих організмів у минулому. Можна вважати, що біологічні молекули, існуючі нині, дозволяють судити про еволюційний шлях, демонструючи фундаментальну подібність між найбільш далекими живими організмами та виявляючи певні відмінності між ними.

1.1. Від молекул до першої клітини

Умови, які існували на Землі в перший мільярд років її історії, усе ще є предметом суперечок. Але очевидно є практично повна відсутність кисню, а отже, і озонового шару атмосфери, що поглинає нині жорстке ультрафіолетове випромінювання. У цих умовах і виникли, як вважають, прості органічні молекули. Лабораторні експерименти підтвердили можливість такого процесу. Так, при нагріванні води в герметичній посудині, що містила CO_2 , CH_4 , NH_3 , H_2 , при пропусканні електричного розряду й використанні ультрафіолетового опромінення було отримано цілий ряд малих органічних молекул, таких як формальдегід, гліцин, оцтова, мурашина, молочна, синильна й аспарагінова кислоти, аланін, саркозин, сечовина.

Слід підкреслити, що серед утворених продуктів є деякі сполуки, такі як ціанистий водень (HCN) і формальдегід (HCHO), що легко вступають у наступні реакції у водному розчині. Проте найважливішим є те, що в експерименті вдалося отримати чотири основні класи внутрішньоклітинних малих молекул: амінокислоти, нуклеотиди, цукри й жирні кислоти, які утворюються, до того ж, достатньо легко.

Структурно-функціональні дослідження простих органічних молекул показали, що амінокислоти та нуклеотиди здатні, крім того, асоціюватися з утворенням великих полімерів. Дві амінокислоти можуть з'єднуватися пептидним зв'язком, а два нуклеотиди – фосфодієфірним. Послідовне повторення цієї реакції веде до утворення лінійних полімерів, поліпептидів і полінуклеотидів відповідно.

Здатність до утворення складних композицій з атомів стало важливою особливістю біогенної форми локалізації хімічних елементів у природі. Сьогодні практично не викликає сумніву, що біогенезу як такому передувала хімічна еволюція, спрямована на стабілізацію таких молекулярних структур. Стійкість їхнього кінцевого стану зумовлюється енергетично найбільш "корисною" орієнтацією молекул. У випадку, коли просторове розташування молекул не є термодинамічно оптимальним або енергія зовнішнього середовища перевищує силу зв'язків між елементами структури, то значення її ентропії, як міри неупорядкованості, зростає і вона стає нестійкою. А це означає, що будь яка відкрита система, не ізольована від зовнішнього середовища, може стабілізуватися або в разі надходження вільної енергії ззовні, або при збільшенні ступеня організації та рівня структурної упорядкованості всієї системи. Саме ці механізми й лягли в основу функціонування біологічних структур, зумовили пристосувальні й адаптаційні можливості живої системи.

Перші стабільні, структурно впорядковані молекулярні комплекси в добіологічних умовах, як вважають, могли утворитися декількома шляхами: при розігріві сухих органічних сполук або в результаті каталітичного ефекту високих концентрацій неорганічних поліфосфатів. У разі штучного відтворення подібної реакції утворюються полімери різної довжини з випадковою послідовністю, в яких наявність даної амінокислоти чи нуклеотиду в кожному положенні визначається випадково. Але якщо полімер уже утворився, він здатний впливати на утворення інших полімерів.

Беручи до уваги унікальні властивості нуклеотидів і разом з тим їхню універсальність, можна припустити, що саме вони стали тією вдалою хімічною конструкцією, яка забезпечила перехід хімічної еволюції в біологічну. З еволюційної точки зору нуклеотиди виявились поліфункціональними сполуками. Не кажучи вже про ДНК і РНК, згадаємо, що пурини з незначними модифікаціями нині представлені у вигляді макроергів (основного джерела вільної енергії – АТФ) та універсальних регуляторів біохімічних процесів (у вигляді циклічних нуклеотидів – цАМФ, цГМФ). Аденін у вигляді нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату (НАДФ⁺), флавінаденіндинуклеотиду (ФАД) і коферменту А (КоА) входить до складу ключових ферментів, залучених до механізмів енергозабезпечення метаболічних реакцій.

Більш того, саме полінуклеотиди демонструють специфічні властивості, притаманні виключно живим структурам, а саме матричне самовідтворення на основі інформації про особливості власної будови: полінуклеотиди можуть слугувати матрицею в реакції полімеризації і, таким чином, зу-

мовлювати послідовність нуклеотидів у нових полінуклеотидах. Подібні матричні властивості базуються на специфічному, так званому комплементарному зв'язуванні полінуклеотидів Ц (цитозин) – Г (гуанін), А (аденін) – Т (тимін). Специфічне спарювання комплементарних нуклеотидів зіграло, як вважають сьогодні, вирішальну роль у виникненні життя. Так, при копіюванні полінуклеотиду, подібного до РНК, на першій стадії інформація, що міститься у вихідному ланцюзі, зберігається в новоутворених комплементарних ланцюгах. На другому етапі копіювання з використанням комплементарного ланцюга як матриці відновлює вихідну послідовність.

Прості й ефективні механізми комплементарного матричного копіювання є основними в процесах перенесення інформації в біологічних системах. Генетична інформація кожної клітини нині закодована в послідовності основ її полінуклеотидів і передається як спадщина завдяки комплементарному спарюванню основ.

Проте в будь-якому процесі копіювання можливі помилки та розмноження неточної копії оригіналу. А отже, у результаті численних циклів реплікації формується послідовність нуклеотидів, що суттєво відрізняється від вихідної – так формується різноманіття молекул. У випадку РНК, відмінності, що виникали, спричинювали, до того ж, функціональну дивергенцію молекул, адже РНК має хімічну індивідуальність, що впливає на її поведінку. Конкретна послідовність нуклеотидів зумовлює властивості молекули, особливо її конформацію в розчині. А тривимірна упаковка полінуклеотиду впливає на його стабільність і здатність реплікуватися. І як результат, молекули реплікативної суміші матимуть різну здатність розмножуватися.

Зрозуміти закономірності хімічної еволюції молекулярних комплексів та їхню можливу роль у процесі виникнення та еволюційного вдосконалення органічної форми життя вдалося лише на основі детального аналізу їхніх біохімічних властивостей. Так, історія вивчення нуклеїнових кислот бере свій початок у середині XIX століття. З ім'ям Ф. Мішера пов'язують відкриття нуклеїнових ("ядерних") кислот (1869), хоча сам термін з'явився пізніше в 1889 р. А. Кьоссель у 1891 р., провівши гідроліз нуклеїнових кислот, установив, що вони складаються із залишку цукру, фосфорної кислоти й пуринових і піримідинових азотистих основ. Залежно від природи цукру, він поділив нуклеїнові кислоти на два типи: рибонуклеїнові (РНК) і дезоксирибонуклеїнові (ДНК). Було встановлено, що первинною структурою нуклеїнових кислот є ланцюг нуклеотидів, зв'язаних ковалентним 5'-3'-фосфодіефірним зв'язком. Полімерну ж природу нуклеїнових кислот виявлено лише в 30-х рр. XX століття. Було встановлено, що їхня вторинна структура утворюється завдяки водневим зв'язкам між комплементарними основами.

Сама по собі вторинна структура нуклеїнових кислот є нестійкою, однак вона відіграє значну роль у просторовій організації макромолекул, що є особливо важливим, ураховуючи той факт, що їхня третинна структура жорстко визначена. Так, деякі ділянки молекул РНК (на частку яких

від загальної маси нуклеїнових кислот у організмі хребетних припадає 5–10 %) містять комплементарні послідовності, здатні взаємодіяти з утворенням водневих зв'язків, що призводить до формування "шпильок" – специфічних петель на одноланцюговій молекулі РНК, утворення яких стабілізує просторову структуру молекули.

Серед полімерних РНК найхарактернішу просторову структуру має т-РНК (транспортна РНК, крім якої виділяють ще два види: інформаційну, або матричну РНК і рибосомальну РНК), первинну структуру якої в 1965 р. установив Р. Холлі. Він же запропонував модель і її вторинної структури – "листок конюшини". Пізніше зусиллями дослідницьких груп А. Річа й А. Круга було встановлено третинну структуру т-РНК. З'ясувалось, що "листок конюшини" у просторі згинається, нагадуючи латинську літеру L. Подальшими лабораторними дослідженнями функціональних особливостей РНК було показано, що система її молекул у процесі штучного копіювання підлягає певному природному добору, за якого, залежно від конкретних умов, починає переважати та чи інша послідовність.

Отже, молекула РНК має дві важливі властивості: закодована в її нуклеотидній послідовності інформація передається в процесі реплікації, а унікальна просторова структура зумовлює характер взаємодії з іншими молекулами та реакцію на зовнішні умови. Обидві ці властивості інформаційна та функціональна є необхідними передумовами еволюційного процесу. Нуклеотидна послідовність молекули РНК аналогічна спадковій інформації, або генотипу організму, а просторова упаковка фенотипу – сукупності ознак організму, які підлягають дії природного добору.

Природний добір, як відомо, залежить від умов середовища. Для молекули РНК, що реплікується, критичним компонентом середовища є набір інших молекул РНК у середовищі. Крім того, що ці молекули є матрицями у процесі власної реплікації, вони можуть каталізувати руйнування та утворення ковалентних зв'язків, у тому числі й зв'язків між нуклеотидами. Деякі спеціалізовані молекули РНК здатні каталізувати зміни в інших молекулах РНК, розрізаючи нуклеотидну послідовність у певній точці, інші типи молекул РНК здатні вирізати частину своєї власної нуклеотидної послідовності та з'єднувати відрізані кінці (сплайсинг). Кожна реакція, що каталізується РНК, залежить від специфічного розташування атомів на поверхні каталітичної молекули РНК. Це призводить до того, що один або декілька нуклеотидів стають високоактивними.

Таким чином, є досить імовірним, що 3,5–4 млрд років тому самореплікація молекул РНК започаткувала еволюційний процес. Системи з різним набором послідовностей нуклеотидів конкурували за запаси попередників, необхідних їм для побудування копій (аналогічно тому, як конкурують зараз організми за харчові ресурси). Успіх залежав від точності та швидкості копіювання, а також від стабільності копій.

Хоча структура полінуклеотидів добре пристосована для збереження й передачі (реплікації) інформації, каталітичні можливості молекул РНК є вочевидь обмеженими для забезпечення всіх функцій сучасної клітини. Більша універсальність притаманна поліпептидам, котрі складаються з амінокислот з хімічно різноманітними бічними ланцюгами та здатні утворювати різні просторові форми, насичені реакційно активними ділянками. Властивості поліпептидів роблять їх ідеальними для виконання численних структурних і функціональних завдань. Навіть поліпептиди з випадковою послідовністю, що виникають за дії добіотичних синтетичних механізмів, очевидно, мали каталітичні властивості, як мінімум направлені на полегшення реплікації РНК. Полінуклеотиди, що сприяють синтезові корисних поліпептидів у своєму оточенні, повинні були отримати більшу перевагу в еволюційній боротьбі. Але яким чином полінуклеотиди могли здійснювати подібний контроль? Як інформація, закодована в їхній послідовності, може визначати послідовність полімерів іншого типу? Ясно, що полінуклеотиди мають діяти як каталізатори для збирання відібраних амінокислот. У сучасних організмів узгоджена система молекул РНК направляє синтез поліпептидів, тобто синтез білка, однак цей процес відбувається за участю інших білків, синтезованих попередньо. Гадаємо, що молекули РНК на самому початку направляли перший синтез білка без допомоги інших білків, взаємодіючи між собою за принципом комплементарності (відповідності).

Сьогодні збирання нових білків у клітині відбувається за участю рибосом, що містять декілька молекул РНК і понад 50 різних типів білків. Але саме рибосомальній РНК належить роль головного каталізатора в процесі синтезу білка: ензиматично компетентні ділянки рибосомальної РНК мають пептидил-трансферазну активність і здатні каталізувати реакції транспептидації (нарощування поліпептидного ланцюга амінокислот) у процесі трансляційного білкового синтезу. Більш того, транспептидація каталізується виключно рибосомальними структурами, а сама реакція проходить із зниженням вільної енергії, тобто каталітично активні центри РНК здатні й без факторів елонгації у вигляді специфічних білків-каталізаторів до повільної неензиматичної трансляції і навіть без додаткових ГТФ- чи АТФ-джерел енергії.

Досить ймовірно, що РНК свого часу примітивним чином направляла первинний синтез білків. Але для ефективного біосинтезу треба було створити набір "інструментів", ймовірно білків, для полегшення як самої реплікації, так і синтезу самих "інструментів"

Синтез специфічних білків "під управлінням РНК" вимагав створення певного коду, за допомогою якого полінуклеотидна послідовність зумовлювала б послідовність амінокислот білка. Цей генетичний код, вибраний, найімовірніше, випадково, залишається практично однаковим у всіх живих

організмів. Існує думка, що всі сучасні клітини є нащадками однієї примітивної лінії клітин, що зуміла "розробити" ефективний механізм синтезу білка.

Як тільки еволюція нуклеїнових кислот просунулась до кодування ферментів, що забезпечують їхнє власне відновлення, поширення реплікативної системи повинно було різко прискоритися.

1.2. Формування зовнішньої мембрани як ключовий момент в еволюції клітинних форм

Але якщо розвиток еволюційних подій за наведеним сценарієм є досить прийнятним, то далеким від розуміння залишається питання, на якому ж етапі хімічної еволюції починається власне виникнення життя та яким міг бути механізм цього процесу. Так чи інакше, найвагомішим фактором виникнення життя стало забезпечення умов для перебігу "необхідних" реакцій. Бо зрозуміло, що в незамкнутій, відкритій системі можливості для сприятливих хімічних трансформацій часто відсутні у зв'язку з певними кінетичними й термодинамічними обмеженнями. Та навіть в умовах необмеженого простору, де в добіологічних умовах, як припускають, відбувалася спонтанна полімеризація (тих же нуклеотидів чи амінокислот), стан новоутворених форм мав бути дуже нестійким. Причиною цього мало бути "намагання" зовнішнього середовища, скоріш за все його водної фази, досягти максимальної ентропії. Вирішити проблему створення оптимальних умов для біогенезу можна було шляхом досягнення повної молекулярної комплементарності системи, що посилює енергію зв'язування в ній. Але для багатьох молекулярних структур, а особливо для полімерів пептидної та нуклеотидної природи, це виявилось неприйнятним, на заваді стали особливості просторової організації їхніх молекул, зумовлені слабкими водневими зв'язками. І природа "використала" іншу, можливо, єдину правильну альтернативу – створення "індивідуальних" умов для тривалого існування "потрібних" для біогенезу молекул, ізоляцію їх від агресивного довкілля.

Дійсно, білки, що синтезувалися під контролем певного типу РНК, не могли б полегшити репродукцію саме цих молекул РНК, якщо б не утримувалися б поблизу них. Більш того, доти, поки білки вільно дифундували в популяції РНК-реплікантів, вони рівною мірою сприяли б розмноженню будь якого з конкуруючих видів РНК. Якщо виникла РНК, що кодує "поліпшений" тип ферменту, новий фермент не здатний був би вибірково забезпечити виживання саме цієї РНК. Відбір молекул РНК за якістю білків, які вони кодують, не міг початися раніше, ніж з'явився замкнутий об'єм (компаратмент), що замкнув у собі білки, утворені молекулою РНК. Таким чином, ці білки стають доступні лише для РНК, що їх породила.

Викладене вище робить зрозумілим той факт, що однією з вирішальних подій, які призвели до формування першої клітини, вважають нині

формування зовнішньої мембрани. І найважливіша роль в еволюції клітинних мембран належить, очевидно, класу амфіпатичних молекул, які мають одну гідрофобну (нерозчинну у воді), а іншу гідрофільну (розчинну у воді) частини. Коли такі молекули потрапляють у воду, вони розташовуються так, що їхні гідрофобні частини тісно контактують одна з одною, а гідрофільні – з водою. Амфіпатичні молекули здатні спонтанно агрегувати, утворюючи двошарові структури у вигляді замкнутих пухирців, що ізолюють водний вміст від зовнішнього середовища.

За своєю просторовою організацією така замкнута сферична форма мембрани, основу якої складають ліпіди, є термодинамічно вигідною в порівнянні з іншими можливими варіантами розташування молекул. Крім того, конформаційна специфіка бішарової ліпідної мембрани передбачає автономність щодо зовнішнього середовища та одночасно селективний і контрольований зв'язок з ним. Зрозуміло, що утворена вдала форма закріпилася в процесі еволюції та створила передумови для формування механізмів гомеостазу, що стали одним з головних принципів феномену життя. Усі нині існуючі клітини оточені плазматичною мембраною, яка складається з таких амфіпатичних молекул, головним чином фосфоліпідів і білків.

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

Молекули фосфоліпідів (або фосфогліцеридів) є похідними гліцеролу, і містять крім гідрофобних залишків гідрофільні компоненти, до яких належать фосфорна кислота та спирти (холін, етаноламін), амінокислоти й багатоатомні спирти. Саме гідрофільні замісники визначають структурну різноманітність природних гліцерофосфоліпідів. Крім того, полярні угруповання надають молекулам фосфоліпідів здатності до взаємодії з водними розчинами електrolітів. Фосфоліпіди, як і нейтральні ліпіди, існують у різних поліморфних формах, перехід між якими за фізіологічних умов здійснюється у разі зміни температури. При зростанні температури фосфоліпіди "плавляться" (проходячи через рідинно-кристалічний стан), гідрофобні ділянки молекули, які містять ацильні або алкільні залишки, "плавляться" при цьому за більш низької температури, ніж уся молекула фосфоліпиду. Зазначимо, що здатність молекул фосфоліпідів до термолітичних переходів має велике значення для регулювання функціональної активності білково-ліпідних комплексів у сучасних мембранах.

Незважаючи на те, що закони співіснування білків і ліпідів у сучасній мембрані та її штучних аналогах є досить добре вивченим, залишається й сьогодні не зовсім ясным, в який саме момент еволюції біологічного

каталізу були сформовані перші клітини. Вони могли з'явитися, коли молекули фосфоліпідів добіотичного бульйону випадково зібралися в мембранну структуру, яка замкнула в собі суміш каталітичних молекул РНК, що реплікувалися. Однак прийнято вважати, що синтез білків відбувався до появи клітин. У будь-якому випадку, як тільки молекули РНК опинилися заточеними в мембрану, вони почали еволюціонувати не лише на основі своєї власної структури: нуклеотидні послідовності РНК могли тепер впливати на ознаки цілої клітини, впливаючи на інші молекули в тому ж компартменті, які, у свою чергу, "редагували" вихідні послідовності РНК.

В існуючих нині клітинах крім РНК присутній інший полінуклеотид – ДНК. Нуклеїнові кислоти, виділені вперше у 1869 р., були власне ДНК. Але аж до середини ХХ століття їхня будова та просторова організація залишались невідомими. У 1944 р. у експериментах, проведених О. Евері, К. Мак-Леодом і М. Мак-Карті, було продемонстровано, що здатність до утворення капсули у мутантного безкапсульного штаму пневмококів може бути відновлена шляхом уведення в його клітини очищеної ДНК пневмококів, здатних до синтезу капсули. Автори назвали агент, що відповідає за цю зміну, "трансформуючим фактором". Пізніші досліді Д. Херші та М. Чейза із застосуванням радіоактивних міток не залишили сумніву, що саме ДНК є молекулярним носієм спадкової інформації в живих системах. Значний вклад у визначенні будови нуклеїнових кислот вніс американський біохімік Е. Чаргафф. Аналізуючи у 50-х рр. склад нуклеїнових кислот різної природи, він виявив, що співвідношення суми аденінів з тимінами до суми гуанінів з цитозинами є однаковим у ДНК різних клітин. Ця закономірність, що стала відомою як правило Чаргаффа, лежить в основі будови вторинної структури нуклеїнових кислот. Базуючись на даних рентгеноструктурного аналізу ДНК і правилі Чаргаффа, Дж. Уотсон та Ф. Крік запропонували на початку 50-х років модель тривимірної структури ДНК у вигляді "подвійної спіралі" (за що в 1962 р. були нагороджені Нобелівською премією в галузі фізіології та медицини). Два ланцюги "подвійної спіралі" в молекулі ДНК утримуються разом за рахунок водневих зв'язків, які утворюються між пуриновими й піримідиновими основами. Утворення комплементарних пар при цьому є специфічним ($A=T$, $G=C$). У дволанцюговій молекулі обмеження, зумовлені загальмованістю обертання між фосфодієфірним зв'язком (що з'єднує мономерні одиниці ДНК – пуринові й піримідинові нуклеотиди – в одиничний ланцюг), переважна "анти"-конфігурація глікозидних зв'язків і домінуючі таутомерні форми чотирьох основ складають умови, за яких А може утворювати міцну пару лише з Т, а Г – з Ц. Саме це й пояснює правило Е. Чаргаффа.

У ході еволюції полінуклеотиди спеціалізувалися і тепер працюють спільно. Хімічні відмінності між цими двома типами молекул робить їх пристосованими до різних завдань. Так, ДНК використовується для збереження генетичної інформації, оскільки її молекула стабільніша за РНК. Частково це зумовлюється тим, що в ДНК відсутня гідроксильна група

цукру (її наявність у РНК робить молекулу чутливішою до гідролізу). Крім того, ДНК існує переважно у дволанцюговій формі, що дозволяє їй легко реплікуватися та репаруватися. Саме молекула ДНК стала молекулярним носієм спадковості в живих системах.

Після встановлення факту, що саме молекула ДНК зберігає генетичну інформацію, виникло питання про зміст цієї інформації та механізми її реалізації. Ще в 30-х рр. XX століття Дж. Бідл і Е. Татум висунули теорію "один ген – один фермент". Ф. Крік у 1958 р. припустив, що молекула РНК є проміжним передавачем інформації про білки-ферменти. А в 1961 р. Ф. Жакоб і М. Мано показали, що посередником між місцем зберігання спадкової інформації (ДНК) в ядрі та її реалізацією в цитоплазмі в процесі біосинтезу білка є матрична, або інформаційна РНК. Дослідженнями Ф. Кріка та С. Бреннера було встановлено, що генетична інформація реалізується через триплетний код – послідовність трьох нуклеотидів, яка відповідає одному амінокислотному залишкові. Першу спробу розшифрувати генетичний код здійснили в 1961 р. М. Ніренберг і Г. Маттеї, які показали, що триплет з трьох урацилів на інформаційній РНК відповідає амінокислоті фенілаланіну.

Сьогодні генетичний код повністю розшифрований, установлені його базові властивості (триплетність, лінійність, виродженість і універсальність). У молекулі ДНК за допомогою триплетного коду була розшифрована система генетичного кодування окремих білків. Був визначений ген як ділянка ДНК, що несе інформацію про один поліпептидний ланцюг або про одну молекулу РНК. Сьогодні гіпотеза "один ген – один фермент" зазнала уточнень: з'ясувалось, що складні білки з четвертинною структурою кодуються декількома генами. Крім того, було виявлено, що гени еукаріотів є складною мозаїкою з екзонів (ділянок, які несуть генетичну інформацію) та інтронів (ділянок, які не несуть генетичної інформації). Так, ген β -ланцюга гемоглобіну має два інтрони та три екзони. Усі гени відомих нині білків ссавців і птахів містять інтрони (крім генів, що кодують білки гістони, білки, що формують так званий гістоновий кор, навкруги якого закручується молекула ДНК). Припускають, що екзони відповідають первісним білкам, котрі утворилися в ході еволюції сучасних білків, а інтрони залучаються до регуляції експресії (вираження) генів у еукаріот.

Підводячи підсумок, підкреслимо, що генетичні та каталітичні властивості РНК дозволяють припустити, що саме ці молекули першими включилися в еволюцію. Після виникнення ефективного синтезу білка ДНК прийняла на себе генетичну функцію, білки стали основними каталізаторами, а РНК залишилась, головним чином, як проміжний ланцюг між ними. ДНК стала необхідною лише тоді, коли будова клітини ускладнилась й зросла кількість необхідної для неї генетичної інформації, і вона стала значно більшою, ніж та, яку могли стабільно підтримувати молекули РНК.

1.3. Від клітини прокаріотичної до еукаріотичної

Першою клітинною формою, що сформувалася у процесі еволюції, була прокаріотична, представлена найпростішими організмами розміром декілька мікрометрів, які часто мали додатково сформовану клітинну стінку. Їхня плазмолема оточувала один цитоплазматичний компартмент, що містив ДНК, РНК, білки й малі молекули, виступаючи всередину з утворенням мезосом. Їхня цитоплазма мала вигляд матриксу різної щільності без явно виражених організованих внутрішніх структур. Розщеплення поживних речовин відбувалося в цитозолі, часто за участю мезосом. Існуючі прокаріотичні форми дають нам сьогодні практично повне уявлення стосовно структурно-функціональних особливостей своїх предків.

Розмноження відбувалося шляхом бінарного поділу з частотою 1 поділ на 20 хв. Висока швидкість поділу сприяла надзвичайно високій адаптивній спроможності прокаріотичних форм до змін довкілля. Утворилися форми, що використовували практично будь-які органічні молекули – поліпептиди, полісахариди, вуглеводи, жири й амінокислоти для отримання хімічної енергії та вуглецю, необхідного для синтезу власної органіки. Подібний синтез є комплексом складних ланцюгових ферментативних перетворень. Саме з ускладненням і вдосконаленням таких метаболічних шляхів пов'язаний подальший прогрес клітинної форми життя.

Зауважимо, що спочатку в метаболічних реакціях потреби не було – клітини використовували примітивну органіку первісного бульйону. Зрозуміло, що за умов його виснаження перевагу мали отримати організми, здатні утворювати ферменти для синтезу органічних молекул. Це, як прийнято вважати, і направило еволюційний процес у бік збільшення клітинного комплексу ферментів і, як результат, до формування метаболічних шляхів.

Вважають, що формування ферментативних шляхів могло відбуватися у двох напрямках. По-перше, через залучення нових хімічних сполук для утворення необхідного хімічного комплексу (за умов його виснаження в довкіллі) з наступним поліпшенням процесу синтезу шляхом формування ферментативного апарату. По-друге, через утворення нових хімічних форм, необхідних клітині, з однієї вихідної форми (нестачі якої клітина не відчуває) з наступним поліпшенням процесу синтезу шляхом формування ферментативного апарату.

Але в будь-якому разі еволюція метаболічних шляхів, як вважають, відбувалася через послідовне додавання нових ферментативних реакцій до тих, що вже існували. А це означає, що реакції, які є найпоширенішими, фундаментальними, і є найдавнішими. Таку прадавню позицію в історії біохімії клітини посідають реакції за участю фосфатів цукрів, реакції гліколізу. Найдавніші з метаболічних перетворень мали бути анаеробними, оскільки вони формувалися в безкисневому оточенні. На користь

такої думки слугує той факт, що практично в усіх клітинах відбувається гліколіз, який супроводжується утворенням АТФ.

Поряд з найдавнішими формами перетворення фосфатів цукрів проходили сотні інших хімічних реакцій. Найцікавішою особливістю таких реакцій є той факт, що вони відбуваються нині в організмі будь-якого типу.

Ферменти, що каталізують головні метаболічні реакції, з дивергенцією організмів поступово модифікувалися, але не змінили своєї головної функції. Тому тотожність амінокислотних послідовностей одного й того самого типу ферменту в різних сучасних організмах є свідченням еволюційної близькості самих організмів.

Таким чином, найперші стадії метаболізму з'явилися у ході еволюції для того, щоб компенсувати нестачу органічних молекул у навколишньому середовищі. За логікою, перевагу мали отримати організми, здатні використовувати атоми карбону й нітрогену у вигляді CO_2 і N_2 з атмосфери. Але незважаючи на поширеність карбону й молекулярного нітрогену в атмосфері цього не трапилось завдяки їхній надзвичайній стабільності. Перетворення їх на придатну для використання форму вимагає багато енергії та значної кількості складних хімічних реакцій.

Так у ході еволюції виникає механізм фотосинтезу. Імовірно, найпершою реакцією з використанням сонячного світла було фосфорилування нуклеотидів з утворенням АТФ. Іншою важливою віхою в еволюції біохімії клітини було створення відновних еквівалентів. Атоми нітрогену й карбону в CO_2 і N_2 атмосфери існують в інертному стані. Одним із шляхів зробити їх реакційноздатними є відновлення, тобто передання їм електронів. Нині хлорофіл, використовуючи енергію сонячного світла, відбирає електрони у слабких донорів електронів і переносить їх на сильні акцептори, які у свою чергу потрібні для відновлення CO_2 і N_2 . Аналіз механізмів фотосинтезу в сучасних бактерій дозволяє зробити висновок, що одним з перших джерел електронів був H_2S , кінцевим продуктом обміну якого мала бути елементарна сірка. Значно пізніше розвився складніший, але й більш ефективний процес вилучення електронів з води. У результаті як відходи в земній атмосфері починає накопичуватися кисень.

Одними з найбільш автономних організмів, існуючих і нині, є ціанобактерії, які здатні фіксувати CO_2 і N_2 та існувати лише за рахунок води, повітря й сонячного світла. За одним із припущень, саме вони (за участю деяких інших форм бактерій) створили умови, в яких змогли розвинулися більш складні типи організмів. Як тільки певна група організмів стала здатна синтезувати весь діапазон органічних компонентів клітини з неорганічних речовин, інші організми отримали можливість існувати за рахунок первинних продуцентів.

Ураховуючи високу хімічну активність кисню та його здатність реагувати з більшістю компонентів цитоплазми, можна дійти висновку, що для великої кількості ранніх організмів він був токсичним (як і для більшості анаеробних бактерій, існуючих нині). Однак саме завдяки своїй високій реакційній здатності кисень став постачальником хімічної енергії, найповніше здійснюючи процес окиснення хімічних сполук.

Таким чином, раніше утворені організми опинилися у світі, збагаченому киснем, який вони не в змозі були ані використовувати, ані "знешкоджувати". Деякі з них вимерли. Інші або розвинули здатність дихати, або знайшли анаеробні екологічні ніші. Але деякі, вступивши в симбіоз з аеробними клітинами, утворили з ними міцну асоціацію. Це найприйнятніше пояснення походження мітохондрій і хлоропластів еукаріотичної клітини. Мітохондрії схожі на вільно існуючі прокаріотичні організми. Без них клітини тварин і грибів були б анаеробними й залежними у своїх енергетичних потребах від гліколізу. Вважається, що еукаріотичні клітини є нащадками примітивних анаеробних організмів, які вижили у збагаченому киснем світі, поглинувши аеробні бактерії. Аналіз декількох сотень існуючих нині видів одноклітинних еукаріотів доводить імовірність такого припущення.

Стосовно хлоропластів відзначимо, що вони здійснюють фотосинтез як прокаріоти – ціанобактерії, нагадуючи їх навіть за будовою. Існує припущення, що хлоропласти й ціанобактерії мають спільного предка, а мітохондрії походять від прокаріотів, "захоплених" колись еукаріотичною клітиною.

Появу мітохондрій в анаеробних еукаріотичних клітинах можна з упевненістю вважати важливим кроком в еволюції клітинних форм, оскільки разом з мітохондріями клітини отримали ефективне джерело енергії та змогли направити її на ускладнення своїх функцій.

Отримання клітиною мітохондрій повинно було мати декілька наслідків. Так, у прокаріотів плазмолема щільно пов'язана з утворенням енергії, тоді як у еукаріотів ця функція передається мітохондріям. Таке "вивільнення" плазмолемі еукаріотів дозволило їй отримати нові властивості: оскільки еукаріотичній клітині не треба підтримувати високий градієнт H^+ на своїй мембрані (що необхідно для утворення АТФ у прокаріотів), то в них з'являється можливість використовувати зміни в іонній проникності плазмолемі з метою міжклітинної сигналізації. Як результат, у їхній плазматичній мембрані виникають іонні канали.

Усі компоненти або органели еукаріотичної клітини оточені в цілому однаковим типом мембрани, білково-ліпідним біомолекулярним бішаром. Органели відрізняються за специфічними варіаціями в ліпідному та білковому складі, що допомагає визначити напрямок у них головних шляхів метаболізму. Рух речовин з однієї органели в іншу відбувається певними шляхами й за певними принципами, але потік речовин – транспорт і міграція білків – здійснюються за різними механізмами, а саме потоком білків або потоком везикул. Внутрішньоклітинні компартменти є динамічними структурами й можуть збільшуватися або зменшуватися за розміром, але не можуть формуватися *de novo*; цей процес вимагає інформації у вигляді рудимента або матриці від існуючої органели. Відносне положення або розташування компонентів усередині клітини не є хаотичним; кожний компартмент займає положення, оптимальне для виконання його спеціалізованої функції.

1.4. Загальні принципи компартменталізації еукаріотичної клітини

Більшість з найважливіших біохімічних процесів у клітині відбувається в мембранах або на їхній поверхні. Так, для спряження транспорту протонів із синтезом АТФ при окисному фосфорилюванні та при фотосинтезі необхідним "знаряддям" є напівпроникна мембрана. Крім того, мембрани слугують каркасом для синтезу своїх власних компонентів. Внутрішні мембрани еукаріотичної клітини роблять можливим функціональну спеціалізацію різних мембран, що є вирішальним фактором у розподілі численних процесів, що відбуваються в клітині (табл. 1.1).

Таблиця 1.1. Головні внутрішньоклітинні органели та їхні функції

Органела або клітинна фракція	Маркер	Головні функції
Ядро	ДНК	Місце розташування хроматину. Місце ДНК-направленого синтезу та РНК транскрипції
Мітохондрія	Глутаматдегідрогеназа	Цикл трикарбонових кислот, окиснювальне фосфорилювання
Рибосома	Високий вміст РНК	Місце синтезу білка
Ендоплазматична сітка	Глюкозо-6-фосфатаза	Рибосоми, пов'язані з мембраною – головне місце синтезу білка. Синтез ліпідів. Окиснення ксенобіотиків (цитохром Р450)
Лізосома	Кисла фосфатаза	Місце розташування різноманітних гідролаз
Плазматична мембрана	Na ⁺ -K ⁺ -АТФаза 5'-нуклеотидаза	Транспорт молекул у клітину і з клітини. Міжклітинна адгезія та взаємодія
Апарат Гольджі	Галактозилтрансфераза	Внутрішньоклітинне сортування білків. Реакції глікозилювання. Реакції сульфатування
Пероксисома	Каталаза Оксидаза сечової кислоти	Руйнування деяких жирних кислот і амінокислот. Виробництво й розщеплення пероксиду водню
Цитоскелет	Специфічні маркери відсутні	Мікрофіламенти, мікротрубочки, проміжні філаменти
Цитозоль	Лактатдегідрогеназа	Ферменти гліколізу, синтезу жирних кислот

Органела є субклітинною одиницею, яку можна виділити при центрифугуванні на високій швидкості. Ядро містить головну частину геному та є головним місцем синтезу ДНК і РНК. Цитоплазма, яка оточує ядро,

складається з цитозолу та розташованих у ньому цитоплазматичних органел. Об'єм цитозолу становить більше половини загального об'єму клітини. Саме в цитозолі здійснюється синтез білка й відбувається більшість реакцій проміжного обміну. Близько половини всіх мембран клітини оточують порожнини ендоплазматичної сітки (ЕПС). На оберненому до цитозолу боці ЕПС (гранулярної) містяться рибосоми, які забезпечують синтез інтегральних мембранних білків і розчинних білків, призначених для секреції. На мембранах ЕПС (але гладенької) синтезуються клітинні ліпіди. Апарат Гольджі складається з правильних стопок пласких мембранних мішечків, цистерн Гольджі, він отримує з ЕПС білки й ліпіди, забезпечує їхню ковалентну модифікацію та "відправляє" їх за призначенням.

Мітохондрії а також хлоропласти рослинних клітин виробляють більшу частину АТФ, що використовується в реакціях біосинтезу, які вимагають надходження вільної енергії. Лізосоми містять травні ферменти, які руйнують відпрацьовані органели, а також частки та молекули, поглинуті клітиною ззовні шляхом ендоцитозу. На шляху до лізосом поглинуті молекули та частки повинні пройти серію специфічних органел – ендосом. Нарешті, пероксисоми (мікротільця) є невеличкими пухирцями, що містять численні окиснювальні ферменти.

Крім указаних головних мембранних органел, клітина містить велику кількість дрібних пухирців-переносників речовини між органелами, а також пухирців, що зв'язуються з плазмомемою під час ендоцитозу й секреції.

Усі органели клітини можна поділити на дві групи: немембранні (рибосоми, центріолі) і мембранні, що поділяються, у свою чергу, на одномембранні (гранулярна та гладенька ЕПС, апарат Гольджі, лізосоми, пероксисоми) і двомембранні (мітохондрії та хлоропласти рослинної клітини). З табл. 1.1 видно, що головними "працюючими" структурами клітини є мембранні органели, тому доцільно зупинитися окремо на питанні еволюційного походження мембранних елементів клітини.

1.5. Еволюційне походження мембранних органел

Вважається, що попередниками еукаріотичних клітин були організми, які нагадують бактерії. У бактерій, як правило, відсутні внутрішні мембрани, а відповідні функції (транспорт іонів, синтез АТФ, синтез ліпідів) у них виконує плазматична мембрана. Розміри сучасних еукаріотичних клітин перевищують розмір типової бактеріальної клітини в 10–30 разів. І збільшення числа внутрішніх мембран у клітині еукаріотів можна вважати за адаптацію до цього збільшення розмірів.

Еволюція внутрішніх мембран ішла, очевидно, паралельно зі спеціалізацією їхніх функцій. У деяких сучасних бактерій є певні ділянки плазмолеми, на яких певні мембранні білки зібрані разом для виконання вза-

ємопов'язаних функцій. Як приклад, можна згадати "пурпурні мембрани" *Halobacterium*, які містять бактеріородопсин. Інший приклад – хроматофори фотосинтезуючих бактерій. І перші, і другі комплекси можна вважати примітивними органелами. У деяких фотосинтезуючих бактерій ці ділянки перетворюються в глибокі впинання плазмолем, а в деяких випадках, ці впинання повністю відокремлюються та перетворюються на замкнуті мембранні пухирці (**мезосоми**), призначені для фотосинтезу. Внутрішня поверхня таких пухирців топологічно еквівалентна зовнішній поверхні мембрани клітини.

Можна припустити, що еукаріотична органела, яка виникла в результаті впинання й відокремлення, також буде мати внутрішню поверхню, топологічно еквівалентну зовнішній поверхні клітини (рис. 1.1).

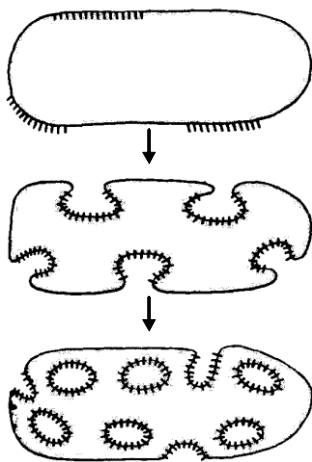


Рис. 1.1 [9]. Можливий механізм еволюційного утворення внутрішньоклітинних компартментів

Саме так відбулося у випадку ЕПС, апарату Гольджі, ендосом і лізосом, а також багатьох проміжних пухирців, що беруть участь в ендоцитозі й секреції.

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

в клітині. Припускають, що пероксисоми є залишками давніх органел, що виконували у примітивних предків еукаріотичних клітин усі функції метаболізму кисню. Коли в атмосфері почав накопичуватися O_2 , що вироблявся фотосинтезуючими бактеріями, він був, імовірно, токсичним для більшості клітин. Пероксисоми могли слугувати для зниження концентрації O_2 у клітинах, одночасно використовуючи його хімічну активність для проведення окиснювальних реакцій. За цією гіпотезою наступна поява мітохондрій зробила пероксисоми значною мірою непотрібними, адже більшість реакцій, що відбувалися в них без виробництва енергії, тепер, за допомогою окиснювального фосфорилування, були спряжені з утворенням АТФ. Отже, окиснювальні реакції, які відбуваються в пероксисо-

мах сучасних клітин, – це, ймовірно, ті реакції, котрі залишилися необхідними, незважаючи на появу мітохондрій.

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

Ця еволюційна схема дозволяє поділити головні внутрішньоклітинні компартменти еукаріотів на п'ять груп: ядро й цитозоль, пов'язані між собою ядерними порами (тому вони є топографічно нерозривними, хоча й різними функціонально); мітохондрії; хлоропласти; пероксисоми; а також система мембранних органел, що включає ЕПС, апарат Гольджі, ендосоми й лізосоми.

Внутрішній простір органел, які складають останню групу, пов'язаний між собою та з позаклітинним простором за допомогою транспортних пухирців, які відділяються від однієї органели та зливаються з іншою (рис. 1.2). Внутрішні простори цих органел топологічно еквівалентні один одному й позаклітинному простору і являють собою функціонально пов'язані частини єдиного комплексу.

Нині беззаперечним фактом є те, що клітина – це самостійна елементарна структурна одиниця живого. Німецький вчений Р. Віхров свого часу писав, що клітина є останнім морфологічним елементом усіх живих тіл, і ми не маємо права шукати дійсної життєдіяльності за межами її. Запропонована модель виникнення клітинної форми життя, аналіз головних закономірностей розвитку такої форми, а також базових механізмів, що лежать в основі його реалізації, дозволяє зрозуміти принципові засади, на яких був проведений розподіл двох рівнів організації клітини – про- і еукаріотичний.

До клітин прокаріотичного типу відносять бактерії та синьо-зелені водорості. Вони, як правило, менші за розміром, ніж еукаріоти, мають захисну оболонку (клітинну стінку), під якою розташована плазматична мембрана, яка оточує лише один компартмент, що містить РНК, ДНК і малі молекули. Їхня мембрана інвагує всередину, утворюючи мезосоми, цитоплазма не рухається, цитоскелет відсутній. Розщеплення поживних речовин відбувається в цитозолі, часто за участю згаданих вище мезосом. Ядро прокаріотів називається нуклеоїдом, оскільки не має ядерної мембрани, ядерця, мітотичного апарату, не містить ядерних білків гістонів, а є просто кільцевою молекулою ДНК, розташованою в центральній частині клітини (часто складена у вигляді вісімки). Синтез білка у кліти-

нах прокаріотів відбувається на вільних рибосомах. Розмножуються ці клітини шляхом бінарного простого поділу.

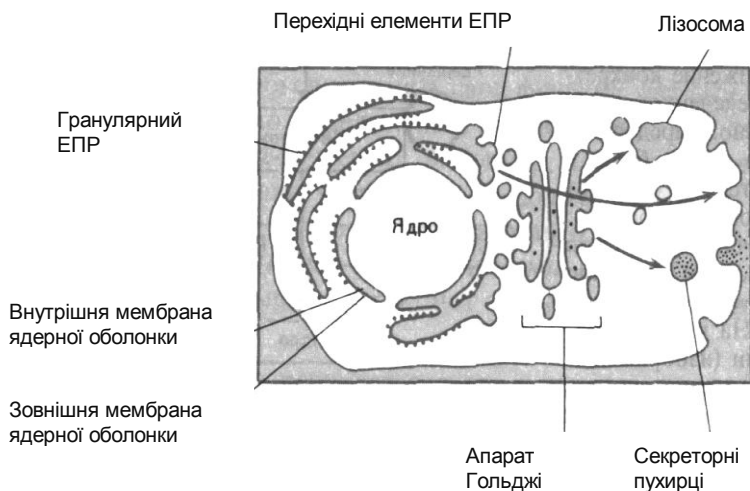


Рис. 1.2 [9]. Схема клітини: топологічно еквівалентні ділянки позначені кольором

До еукаріотів належать усі інші одно- й багатоклітинні організми – гриби, рослини і тварини. Вони, на відміну від прокаріотів, мають чітко виражене ядро, що містить лінійні молекули ДНК, з'єднані з гістонами у хроматинові нитки (кількість ДНК при цьому є видовою ознакою). У цитоплазмі добре виражені мембранні й немембранні структури: органили та включення. Еукаріоти мають мітотичний апарат, цитоплазма здатна рухатися, є цитоскелет, утворений білковими структурами – фібрилами й мікротрубочками. Розщеплення поживних речовин відбувається лише частково в цитозолі, головна ж частина – у спеціалізованих органелах. Білковий синтез частково проходить на вільних рибосомах у цитозолі, а частково – на рибосомах гранулярної ЕПС.

Незважаючи на визначені суттєві відмінності, клітина як про- так і еукаріотична є центром усіх біохімічних процесів життєдіяльності. У ній закладено генетичний апарат, без якого неможливе успадкування головних ознак, характерних для певного виду та особини. Клітина лежить в основі еволюції всього різноманіття тварин і рослин. Вона побудована за єдиним планом у всіх організмів і біохімічні процеси відбуваються в усіх клітинах принципово однаково.

Поряд з наявністю принципової подібності спостерігається суттєва варіативність структурної організації клітин. Ступінь і характер клітинних

модифікацій залежить від характеру спеціалізації клітин, що є наслідком процесів диференціювання.

Експериментальна й теоретична спадщина цитології знайшла своє узагальнення у клітинній теорії, основи якої було закладено ще в середині XIX століття М. Шлейденом і Т. Шванном. У сучасному вигляді ця теорія має декілька положень (аксіом). Перша аксіома – клітина – це елементарна одиниця живого. Друга – клітини різних організмів гомологічні за своєю будовою. Третя – клітини можуть утворюватися тільки від попередньої клітини шляхом поділу. Четверта – клітини *поліпотентні*, тобто мають повний набір генетичної інформації, яка передається під час поділу від клітини до клітини. П'ята – генотипні та фенотипні особливості клітин мають пряму залежність. Шоста – клітини багатоклітинного організму підпорядковані та взаємозв'язані міжклітинними, гуморальними й нервовими формами регуляції, оскільки клітини в багатоклітинному організмі є залежною системою, підпорядкованою вищим рівням організації.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ

1. Які характеристики живої системи вам відомі? Відповідь проілюструйте прикладами.

2. Сучасне поняття про живу систему.

3. Що вважають елементарною живою системою? Чому?

4. Чи можна вважати елементарною живою системою хлоропласт? Якщо можна, то чому?

5. Чи можна вважати елементарною живою системою мітохондрію? Чому?

6. Чи всі характеристики живої системи притаманні хлоропласту? Відповідь обґрунтуйте.

7. Чи всі характеристики живої системи властиві мітохондрії? Відповідь обґрунтуйте.

8. Які характеристики живої системи притаманні клітині? Відповідь обґрунтуйте.

9. Які існують гіпотези виникнення клітинної форми життя.

10. Походження еукаріотів.

11. Походження прокаріотів.

12. Теорії виникнення клітин сучасного еукаріотичного типу.

13. Теорії виникнення мітохондрій.

14. Теорії виникнення хлоропластів.

15. Теорія ендосимбіозу.

16. Теорії виникнення ядра.

17. Формування різноманіття внутрішніх мембран еукаріотичної клітини.

18. Збільшення кількості спеціалізованих клітин і вдосконалення методів координації їхньої активності як передумова еволюції вищих тварин.

19. Основні положення клітинної теорії

Розділ 2

МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ КЛІТИН

2.1. 3 історії вивчення клітин

Історія вивчення клітини невід'ємно пов'язана з історією розвитку методів її дослідження. За свідченнями істориків у XVI столітті в західній Європі, зокрема в Голландії, відзначається інтенсивний розвиток оптичної техніки. Природно, що саме наприкінці цього століття з'являються перші складні оптичні прилади: телескоп і мікроскоп. Хто створив перший мікроскоп досі точно не відомо. Найпевніше, його неодноразово конструювали незалежно один від одного різні дослідники, майстри-шліфувальники та просто аматори модної справи. Історія зберегла імена голландців: майстра з виготовлення окулярів Г. Янсена та двох його синів, про мікроскоп яких, створений у 1590 р., є більш-менш надійні відомості. Цей громіздкий прилад (трубу довжиною 45 см і діаметром 5 см з позолоченої латуні підтримували три мідні дельфіни, предметний столик був у вигляді кола з чорного дерева) був подарований австрійському ерцгерцогу Альберту, правителю Бельгії.

Проте знадобилося понад 70 років, доки мікроскоп, нарешті, стали застосовувати у природознавстві: у середині XVII століття англійський фізик Р. Гук у сконструйованому ним мікроскопі (рис. 2.1), який збільшував зображення в 40 разів, уперше побачив і замалював клітини в корку. Власне, виявлені й описані були не стільки самі клітини, скільки їхні целюльні оболонки з порожнинами (рис. 2.2), названі порами, або клітинами (cellula). Так у 1665 р. почалось вивчення клітинного рівня організації живої матерії. Незабаром спостереження, аналогічні тим, що провів Р. Гук, були зроблені й іншими дослідниками. При цьому пори Гука називали то пухирцями (Н. Грю), то мішечками (М. Мальпігі).

У 1674 р., суттєво поліпшивши оптичні властивості мікроскопа (що дозволило побачити мікроскопічні об'єкти збільшеними у 270 разів), Антоні ван Левенгук уперше повідомив про відкриття одноклітинних організмів, а ще через дев'ять років – бактерій. У 1678 р. одночасно з Ніколасом Хартсекером він відкриває сперматозоїд, помилково вважаючи при цьому, що відкрив справжній зародок людини, який у подальшому не зазнає суттєвих перебудов, а лише збільшується у розмірах. Проте, якщо Антоні ван Левенгук так і не зміг побачити у своєму мікроскопі "маленьку людину", то Н. Хартсекер врешті-решт просто намалював те, що хотів побачити (рис. 2.3). І лише через 200 років у 1876 р. Оскар Гертвіг довів, що зародок утворюється в результаті злиття сперматозоїда та яйцеклітини.



Рис. 2.1. Мікроскоп Р. Гука

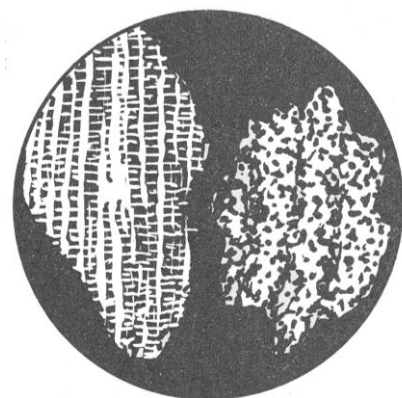


Рис. 2.2. Клітини корка на малюнку Р. Гука



Рис. 2.3. Сперматозоїд з малюнка Н. Хартсекера

Антоні ван Левенгуку також належить першість у відкритті еритроцитів, проте подібність рослинної та тваринної клітин ним визначена так і не була. Пізніше, у 1781 р., клітини тварин описує Ф. Фонтана, але й ці дослідження тоді не призвели до розуміння універсальності клітинної будови й розуміння того, чим насправді є клітина.

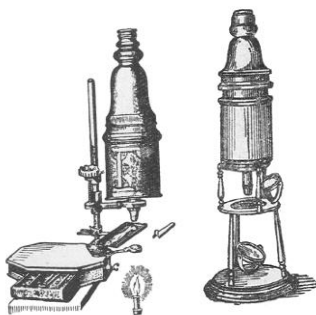


Рис. 2.4. Мікроскопи 18 століття

Протягом XVIII століття мікроскопічна техніка зазнає подальшого розвитку (рис. 2.4), ускладнюється система освітлення, поліпшується якість лінз, аналізуються все нові й нові об'єкти.

У 1933 р. Р. Броун, спостерігаючи за клітинами орхідей, уперше описує ядро клітини. У 20–30-ті роки XIX століття Я. Пуркін'є формулює поняття про протоплазму (цитоплазму), як основний вміст живої клітини (головним у клітині почали вважати вже не її стінку, а вміст – протоплазму).

Накопичений величезний фактичний матеріал з мікроскопії живих об'єктів вимагав чіткого наукового аналізу й систематизації. У 1838 р. ботанік М. Шлейден (рис. 2.5) зробив перші узагальнення стосовно клітинної будови всіх рослинних організмів. Зоолог Т. Шванн 1839 р. поширює це узагальнення на всі тваринні організми, що й лягло в основу першого варіанта клітинної теорії, яка постулювала єдність клітинної будови всіх тваринних і рослинних організмів і принципову схожість (гомологію) клітин тваринних і рослинних організмів.

Разом з тим, М. Шлейден і Т. Шванн поділяли хибні, але прийняті на той час погляди, згідно з якими клітини утворюються шляхом кристалізації міжклітинної рідини. Центром такої кристалізації вважалося ядро. Тривалий час це положення було частиною клітинної теорії. виправив його Р. Вірхов, який сформулював тезу "кожна клітина від клітини", довівши, що єдино можливим шляхом утворення клітин є їхній поділ.

Створення клітинної теорії в середині XIX століття було подією величезного значення. Вона стала одним з вирішальних доказів єдності всієї живої природи, підґрунтям для розвитку таких дисциплін, як ембріологія, гістологія, фізіологія, теорія еволюції.

З розвитком уявлень про структуру живої клітини поглиблювались знання і про її хімічний склад. Визначальна роль у розвитку гістохімії (цитохімії) – науки про хімічний склад клітин і окремих її компонентів – належить французькому біологу Ф.-В. Распайлю. І хоча хімічні реакції ставили на зрізах мікропрепаратів і до нього (на зрізах рослинних тканин

уже були виявлені танін і галова кислота (метод Лінка, 1807), крохмаль (метод де Клобі, 1814)), проте саме Ф.-В. Распайль уперше теоретично обґрунтував уже існуючі гістохімічні методи та розробив ряд нових, окресливши напрямок перспективного розвитку гістохімії як науки. Він запропонував використовувати ксантопротеїнову реакцію для визначення білків, фурфуролову – вуглеводів, альдегідну – триптофану. Модифікувавши ряд методів аналітичної хімії, вчений застосував їх для визначення окремих речовин на мікроскопічних об'єктах. Ним також була запропонована техніка мікроспалювання для визначення у тканинах деяких неорганічних сполук і окремих хімічних елементів.

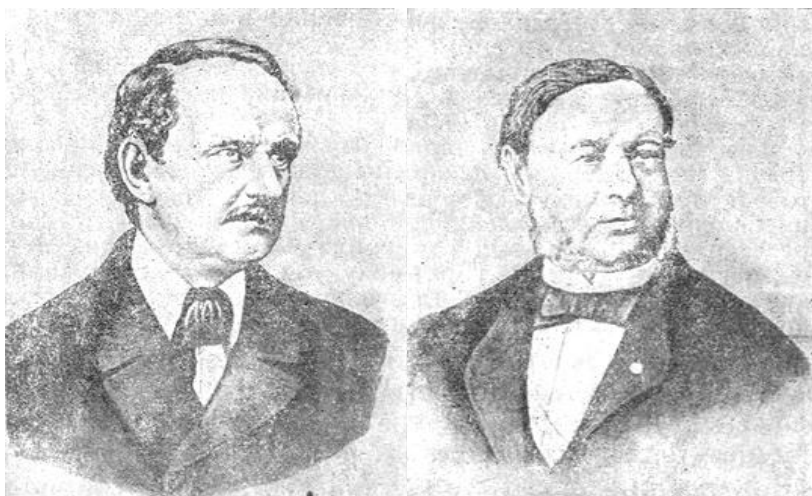


Рис. 2.5. М. Шлейден і Т. Шванн – засновники клітинної теорії

Невизнання революційних для свого часу підходів Науковим комітетом Академії наук Франції не зупинило ані Ф.-В. Распайля, ані його послідовників. У другій половині XIX століття було розроблено низку нових гістохімічних методик, а також впроваджено в практику анілінові барвники й гематоксилін, що суттєво прискорило розвиток уявлень про структурованість протоплазми (цитоплазми) клітини. У 1857 р. А. Колікером уперше описано мітохондрії в м'язових клітинах, а в 1894 р. Р. Альтманом і в 1897 р. К. Бенда – на інших об'єктах (власне К. Бенда й запропонував термін "мітохондрія"). Під назвою "тигроїд" Ф. Ніслем описано гранулярну ендоплазматичну сітку. Е. Ван Бенеден 1875 року описав клітинний центр, а К. Бенда у 1889 р. – пластиди. У 1898 р. К. Гольджі, використавши техніку імпрегнації сріблом, відкрив пластинчастий комплекс, названий його ім'ям – апарат Гольджі.

Детальний опис процесів поділу клітин і відкриття хромосом пов'язані з працями цілого ряду науковців. Гофмейстер і Страсбургер на рослинних клітинах, Шнейдер і Флеммінг на тваринних з 1867 р. по 1882 р. дали досить детальний опис мітозу й поведінки хромосом під час цього процесу. У 1887 р. Флемінгом був описаний інший тип поділу – мейоз.

Значному прогресові у гістологічних дослідженнях сприяло створення у 1886 р. К. Цейсом і Е. Аббе світлового мікроскопа, який дозволяв розглядати об'єкти, розміри яких були на межі теоретично можливої роздільної здатності світлового мікроскопа. Наприкінці XIX століття було закладено також основи методу ліофільного сушіння.

XX століття відкрило перед цитологією та гістологією нові горизонти, запропонувавши принципово нові методи й напрямки досліджень: мікрохірургія, темнопольна мікроскопія, рентгенівський аналіз структур, метод прижиттєвого (вітального) забарвлення.

Відкриття явища радіоактивності зробило можливим появу нового методу – радіоавтографії, уперше застосованого Лекассанем у 1924 р. За допомогою методу авторадіографії стало можливо відслідковувати шлях різних речовин у процесі функціонування клітини. У цьому ж 1924 р. Фельген і Росенбек запропонували метод визначення ДНК, що згодом став класичним.

XX століття відзначається суттєвим прогресом у мікроскопічній техніці: у 1930 р. Лебедевим було створено перший інтерференційний мікроскоп, у 1932 р. Зерніке – фазово-контрастний, на початку 1930-х років – перші електронні мікроскопи (1931 р. – Руска, 1939 р. – Сіменс).

Вільямс і Віков у 1944 р. розробили метод контрастування металом і вже через рік Портер, Клод і Фуллам використали електронний мікроскоп для вивчення клітин у культурах після їхньої фіксації та забарвлення. У 1948 р. Пізу й Бейкеру вперше вдалося проаналізувати в електронному мікроскопі зрізи біологічних об'єктів. Ще через декілька років (1952) Палладе, Портером і Шестрандом було детально розроблено методи фіксації та виготовлення тонких зрізів. Це, зокрема, дозволило Хакслі показати, що скелетний м'яз містить сітки білкових філаментів, які перекриваються. Таким чином було отримано докази на користь гіпотези "ковзних ниток", що пояснює принцип скорочення м'яза.

У 1930-ті рр. було закладено основи й іншого методу електронної мікроскопії – сканувальної (растрової). Кноль у 1935 р. запропонував ідею такого мікроскопа, а в 1938 р. фон Ардене створив його першу діючу модель.

Фундаментальним методом кількісного аналізу складу клітини стає розроблений у 1936 р. Касперсоном метод цитофотометрії.

У 1930–1940-х рр. удосконалюються гістохімічні методи. 1939 р. А. Шабадаш запропонував метод виявлення глікогену, а Гоморі й Такамацу – лужної фосфатази. У 1942 р. Браше винайшов спосіб одночасного виявлення ДНК і РНК.

У 1941 р. А. Кунс уперше використав зв'язані з флуоресцентними барвниками антитіла для виявлення певних антигенів. Так з'явився метод імуноцитохімії (імуногістохімії). Цей метод дозволив вивчати вибірково вміст і розподіл у клітині окремих білків.

У другій половині ХХ століття завдяки широкому застосуванню просвічувальних і сканувальних електронних мікроскопів було здійснено прорив у деяких питаннях, зокрема у вивченні біологічних мембран. Так, створення в 1953 р. ультрамікротома (Портер і Блюм) разом з використанням запропонованого Глауертом середовища для замикання – аралдиту – дозволили Робертсону в 1957 р. запропонувати першу, тришарову, модель біологічної мембрани. Того ж 1957 р. Стиром винайдено метод заморожування-сколювання, який згодом був удосконалений завдяки працям Мура й Мюреталера, а в 1966 р. Брентон застосував його для вивчення внутрішньої будови біологічних мембран.

У 1955–1959 рр. Холл, Бреннер і Хорн розробили метод негативного контрастування, а Сінгер уперше використав антитіла, зв'язані з феритином для виявлення молекул клітини за допомогою електронного мікроскопа. Так була започаткована електронна імуногістохімія.

Дещо пізніше, у 1963 р., Сабатіні, Бенш і Барнет почали використовувати глутаральдегід і осмієва кислота для фіксації зразків для електронної мікроскопії.

Значного розвитку набули методи культури тканин і клітин. Завдяки їм стало можливим вивчати функціонування окремих клітин у стандартизованих умовах. У межах цього напрямку стало можливим вивчення ембріональних клітин, клонування тощо. На основі цих методів виникла така галузь, як біотехнологія.

У 1952 р. Номарський описав нову систему диференціального інтерференційного контрасту.

Науковий інтерес до прижиттєвого вивчення клітин в умовах клітинної культури зумовив появу та подальший розвиток нових мікроскопічних методів. Першим з них став метод конфокальної мікроскопії, який у поєднанні з імуногістохімічним забарвленням дозволив створювати тривимірне зображення живої клітини. Першу робочу модель такого мікроскопа було створено в 1955 р. М. Мінські для вивчення нервових закінчень у шкірі. Новим словом у мікроскопії стала сканувальна зондова мікроскопія, яка дала змогу досліджувати поверхню об'єкта з нечуваною до цього часу точністю. Перший сканувальний зондовий (тунельний) мікроскоп – який використовує так званий "тунельний ефект", – був сконструйований у 1981 р. Г. Біннігом і Г. Роу. Наступного року Д. Пол запропонував сканувальний близькопольний мікроскоп, роздільна здатність якого досягала 50 нм. У 1989 р. було створено близькопольний акустичний мікроскоп, який мав роздільну здатність 10 нм, а через п'ять років (1994) – безапертурний близькопольний оптичний мікроскоп, роздільна здатність якого досягла 1 нм.

2.2. Мікроскопічні методи дослідження клітин

Світловий мікроскоп складається з оптичної та механічної систем. Оптична система мікроскопа забезпечує створення зображення об'єкта, а механічна підтримує частини оптичної системи в певному положенні. До оптичної системи належать дзеркальце, конденсор з діафрагмою та системою світлофільтрів, об'єктив, окуляр, бінокулярна насадка. До механічної системи належить основа мікроскопа, штатив, мікро- та макровинти, гвинт конденсора, предметний столик з препаратом, револьверна голівка (на якій кріпляться об'єктиви), тубус.

Світло від його джерела (дзеркальце чи освітлювальний пристрій) йде до конденсора (рис. 2.6, а), що збирає окремі промені в пучок на препараті. Після проходження крізь об'єкт промені світла потрапляють до системи лінз об'єктива, де формується первинне зображення. За допомогою лінз об'єктива це зображення додатково збільшується.

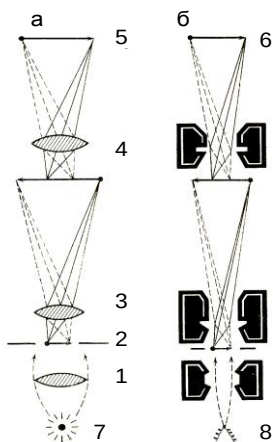


Рис. 2.6 [8]. Хід променів у світловому (а) та електронному (б) мікроскопах: 1 – конденсор, 2 – препарат, 3 – об'єктив, 4 – окуляр, 5 – зображення, 6 – фотопластинка, 7 – джерело світла, 8 – джерело електронів

Загальне збільшення мікроскопа знаходять як результат множення збільшення об'єктива на збільшення окуляра та (якщо мікроскоп бінокулярний) на збільшення бінокулярної насадки. Так, збільшення мікроскопа з об'єктивом $\times 40$, окуляром $\times 10$ і бінокулярною насадкою $\times 1,5$ буде 600-кратним ($40 \times 10 \times 1,5 = 600$). За допомогою світлового мікроскопа вдається досягнути збільшення у 2000–2500 разів.

Збільшення мікроскопа залежить від його **роздільної здатності**, тобто найменшої відстані між двома точками, які помітні роздільно. Чим менша частка, помітна в мікроскоп, тим більша його роздільна здатність. Остання у свою чергу визначається апертурою об'єктива (апертура – "діючий" отвір оптичної системи, визначається розмірами лінз або діафрагмами) і довжиною хвилі світла. Роздільна здатність мікроскопа обчислюється за формулою

$$d = (0,61 \times \lambda) / (n \times \sin \alpha),$$

де d – роздільна здатність, λ – довжина світлової хвилі (ділянка видимої частини – 400–700 нм), n – показник заломлення середовища між препаратом і першою (фронтальною) лінзою об'єктива, α – кут між оптичною віссю об'єктива та найбільш відхиленим променем, який потрапляє на об'єктив (тобто кут дифракції променів). Величину $n \times \sin \alpha$, яка є постійною для кожного об'єктива, називають **числовою апертурою**.

Для світлової мікроскопії знаменник формули оптимізовано таким чином: для світла даної довжини світлової хвилі роздільну здатність можна обчислити за наближеною формулою $d \approx \lambda/2$.

Підвищення роздільної здатності мікроскопа, що є необхідною умовою деталізації структури клітини, досягається двома шляхами. По-перше, збільшенням числової апертури об'єктива, по-друге, зменшенням довжини хвилі світла, яким освітлюється об'єкт.

З метою збільшення числової апертури збільшують "кут зору" об'єктива (як у об'єктивах з великим збільшенням) або застосовують спеціальні імерсійні об'єктиви. Простір між препаратом і фронтальною лінзою такого об'єктива заповнюють **імерсійною рідиною**. Як такі рідини використовують воду ($n = 1,33$), гліцерин ($n = 1,45$), кедрову олію ($n = 1,51$) у порівнянні з n повітря, що дорівнює 1). Оскільки показник заломлення імерсійних рідин більше 1, то числова апертура об'єктива зростає, і в нього можуть потрапляти промені, які складають з оптичною віссю об'єктива більший кут, ніж у тому випадку, коли між фронтальною лінзою об'єктива та препаратом міститься повітря.

Інший шлях збільшення роздільної здатності мікроскопа передбачає застосування світла з меншою довжиною хвилі, ніж у променів видимого світла (фіолетове світло – близько 400 нм, зелене – близько 550 нм, червоне – близько 700 нм).

Обидві можливості збільшення роздільної здатності мікроскопа швидко вичерпуються. Так, при мікроскопуванні у променях білого світла без застосування імерсійних рідин d дорівнює 200–350 нм (або 0,2–0,35 мкм). Для порівняння, людське око має роздільну здатність 100 мкм (0,1 мм), отже, за допомогою приладу її буде збільшено в 1000 разів.

Сьогодні існує багато різноманітних моделей світлових мікроскопів, які забезпечують можливість всебічного дослідження клітинних структур та їхніх функцій. Одним з різновидів світлового мікроскопа є **мікроскоп порівняння**, який дозволяє в одному полі зору побачити два об'єкти, що містяться на двох різних предметних столиках. Його використовують для більш зручного порівняння об'єктів (наприклад, нормальні й патологічно змінені клітини), оскільки дозволяє тримати в одному полі зору як досліджуваний, так і еталонний об'єкти.

Мікроскопія **в темному полі**, яка ґрунтується на явищі розсіювання світла між двома середовищами, що мають різні показники заломлення

світла, вимагає застосування спеціального **темнопольного мікроскопа**, темнопольний конденсор якого забезпечує бічне освітлення об'єкта. Клітини препарату містять дрібні структури різної оптичної щільності, і при освітленні збоку на загальному темному фоні вони починають світитися. Світлова пляма, яка утворюється внаслідок розсіювання світла кожною часткою, розмірами більша, ніж сама частка. Це робить доступними для вивчення елементи клітини, за розмірами менші ніж 0,2 мкм, у відбитому від них світлі (**ефект Тундаля**).

Темнопольний мікроскоп широко застосовують при дослідженні мікроорганізмів і клітинних культур, що дозволяє відокремити живі клітини, в яких світиться лише оболонка, від мертвих, що світяться яскраво. Крім того, він відкриває можливості для дослідження внутрішньоклітинних структур, мітохондрій і міофібрил.

Фазово-контрастна мікроскопія дає можливість отримувати контрастні зображення прозорих і незабарвлених об'єктів, які практично неможливо побачити за допомогою стандартних методів світлового мікроскопічного аналізу. Метод ґрунтується на тому, що окремі ділянки прозорого препарату відрізняються від оточуючого середовища за показником заломлення. Тому, світло, яке проходить крізь них, поширюється з різною швидкістю, тобто відчуває зсув фаз, що й відбивається на зміні яскравості.

За рахунок використання спеціальної кільцевої діафрагми конденсора й так званої фазової пластинки, у фазово-контрастному мікроскопі вдається досягти додаткового зсуву фази коливання світлових хвиль. Фазові зміни світлових хвиль при інтерференції перетворюються на світлові коливання різної амплітуди, що й формує контрастне зображення препарату, в якому розподіл освітленості відповідає розподілу фаз. Людське ж око чутливе саме до змін інтенсивності світла (а не фазових зсувів), яке залежить від амплітуди світлової хвилі.

Структури живої клітини з більш високим показником заломлення (хоча є зовсім прозорими) у фазово-контрастному мікроскопі виглядають темнішими або світлішими, ніж оточуючий фон. Застосування мікроскопа дозволило вивчити процес мітозу, будову хромосоми, включення, проаналізувати характер впливу на клітину різних хімічних сполук, зокрема токсинів і отрути.

Інтерференційна мікроскопія певним чином подібна до фазово-контрастної. Вона також дозволяє виявляти об'єкти, здатні впливати на фазу коливань світлової хвилі. Проте в інтерференційному мікроскопі світловий промінь, що має освітлювати об'єкт, поділяється на два когерентні (тобто однакові за всіма фізичними характеристиками). Один промінь проходить повз об'єкт, а інший – крізь нього. Після цього промені зливаються, *інтерферують*. Якщо в об'єкті немає структур, що змінюють фазу коливань, при інтерференції виникає промінь більш інтенсивний,

ніж обидва вихідних. Якщо ж зсув фази відбувся, то промені взаємно гасяться й об'єкт виглядає темнішим.

Поляризаційна мікроскопія дозволяє виявляти об'єкти, які здатні повертати площину поляризації світлового променя (ці, так звані, анізотропні об'єкти мають властивості, що залежать від вибраного напрямку). Кожна світлова хвиля, крім таких характеристик, як амплітуда коливань, довжина хвилі, фаза, має ще й певну площину, в якій ці коливання відбуваються (рис. 2.7). У світлі, джерелом якого є сонце або настільна лампа, кожен квант світла має свою площу поляризації. Таке світло називається неполяризованим.

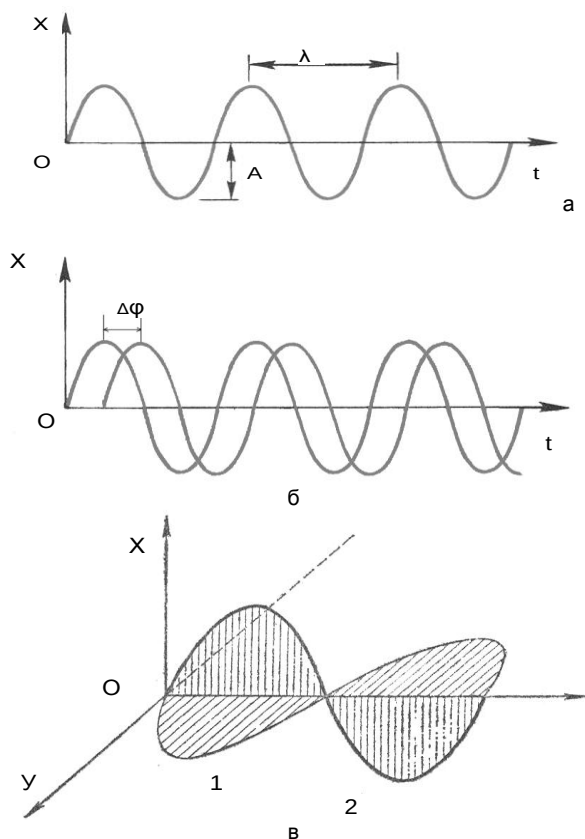


Рис. 2.7. Основні характеристики світлової хвилі: а – хвиля з амплітудою A й довжиною світлової хвилі λ ; б – дві хвилі з однаковою амплітудою і довжиною хвилі, фази яких різняться на $\Delta\phi$; в – дві хвилі (1 і 2) з однаковою амплітудою та довжиною хвилі, коливання якої відбуваються в різних площинах

Деякі речовини (наприклад, ісландський шпат) здатні вибірково пропускати через себе кванти лише з визначеною площиною поляризації, а решту гасити. За таким принципом працюють поляризатор і аналізатор поляризаційного мікроскопа. Поляризатор міститься на шляху світла до *об'єкта*. Отже, об'єкт освітлюється поляризованим світлом, яке має одну єдину площину поляризації. Аналізатор розташований за *об'єктом* і дозволяє проходити крізь себе лише такому світлу, *площа поляризації якого перпендикулярна площі поляризації світла, яке пройшло крізь поляризатор*. Таким чином, якщо досліджуваний об'єкт є ізотропним (об'єктом з властивостями, що не залежать від вибраного напрямку), а отже, нездатним змінити площину поляризації світла, то світлові промені крізь аналізатор не пройдуть, а поле зору буде темним. Якщо ж на препараті є анізотропні структури, то ситуація стає дещо іншою. У цьому випадку світло розділяється на два промені. Перший (звичайний) не зазнає змін і зберігає площу поляризації. Другий промінь має ті самі характеристики, що й звичайний, за винятком площини поляризації, яка в нього змінена на перпендикулярну. Саме такий "незвичайний" промінь, "повернутий навколо своєї осі", зможе пройти крізь аналізатор. Тому анізотропні об'єкти будуть виглядати в поляризаційному мікроскопі світлими.

Усі перераховані види мікроскопії розширювали наші можливості при дослідженні об'єктів мікросвіту, проте залишали нездоланим єдиний рубіж – роздільну здатність мікроскопа.

Як було зазначено, роздільна здатність світлового мікроскопа приблизно дорівнює половині світлової хвилі. Отже, якщо взяти світло з меншою, ніж звичайно, довжиною хвилі (ультрафіолетове світло, наприклад), то роздільну здатність можна було б значно зменшити. Однак людське око не здатне бачити ультрафіолетове випромінювання. Тому в **ультрафіолетовому мікроскопі** зображення виводять на фотоплівку або на люмінесцентний екран, на якому око вже зможе побачити зображення.

Особливим типом мікроскопії є **люмінесцентна**. У люмінесцентному мікроскопі об'єкт також освітлюється ультрафіолетовим світлом. Проте в даному типі мікроскопа нас цікавлять структури, здатні до люмінесценції – випромінювання під дією ультрафіолету променів з більшою довжиною світла. Так, хлорофіл у хлоропластах під дією ультрафіолету світиться червоним світлом.

Поворотним пунктом у мікроскопічній техніці стало створення **електронного мікроскопа**. Його загальний план будови досить схожий з планом будови звичайного світлового або ультрафіолетового мікроскопів. Тільки замість світлових променів у цьому мікроскопі використовується потік електронів, який випромінюється з **електронної гармати**. Між катодом і анодом електронної гармати створюється напруга 50–150 кВ, яка розганяє електрони до великої швидкості. При цьому електрони мають дуже малу довжину хвилі, тому електронний мікроскоп практично вирішує проблему роздільної здатності при вивченні біологічних об'єктів,

оскільки в ньому можна побачити навіть окремі атоми, а не тільки молекули. Роздільна здатність сучасного електронного мікроскопа досягає 0,1 нм. Проте тут постають кілька інших проблем. Так, електрони дуже дрібні, а тому навіть молекули в повітрі здатні неконтрольовано відхиляти напрямок їхнього руху. Отже, з корпусу електронного мікроскопа треба відкачати повітря. У звичайному мікроскопі промені світла фокусують скляні лінзи, але тут їх також не можна застосувати, оскільки скло не просто відхилить електрони, а взагалі не пропустить їх далі. Тому замість скляних конденсора, об'єктива та окуляра в електронному мікроскопі використовують потужні електромагніти.

Звичайно, жодна людина ще не бачила електрон на власні очі, тому зображення в електронному мікроскопі створюється на люмінесцентному екрані чи фотоплівці. Така фотографія, зроблена на електронному мікроскопі, називається електронною грамою. Електронними грамами зазвичай чорно-білі, тобто об'єкти на них різняться лише за ступенем яскравості, який залежить від того, наскільки проникні для електронів ті чи інші об'єкти. Але іноді ділянки з однаковим ступенем освітленості забарвлюють якимось кольором, ділянки з іншим ступенем освітленості – в інший і т. д. У результаті утворюється електронна грама із "симульованими кольорами".

Описаний тип електронного мікроскопа називається **просвічувальним, або трансмісійним**. Він дозволяє розглянути досить тонкі препарати (до 0,1 мкм). Товстіший препарат просто не пропустить потік електронів. Проте часто досліднику необхідно встановити тривимірну будову клітини. Для розв'язання цієї проблеми застосовують різні підходи. Один з них полягає у створенні тривимірної реконструкції на основі серійних зрізів. Порівнюючи зображення органел або ядра на сусідніх зрізах, можна скласти уяву про тривимірну будову тих чи інших структур.

Інший підхід – застосування **високовольтного електронного мікроскопа**. Використання вищої напруги (1–3 млн вольтів) дозволяє розігнати електрони до більшої швидкості, а отже, вони зможуть "проскочити" через більш товстий шар препарату, який можна буде розглядати на різних рівнях, безпосередньо створюючи уявлення про тривимірну будову досліджуваних структур. Роздільна здатність високовольтного електронного мікроскопа становить близько 0,5 нм.

Для вивчення поверхонь біологічних об'єктів, зокрема тривимірної будови скелетів клітин, застосовують **сканувальну (або растрову) електронну мікроскопію**. При цьому методі пучок електронів біжить уздовж поверхні досліджуваного об'єкта й відбивається від нього в різні боки. Спеціальні детектори фіксують напрямок, в якому відбивається потік електронів, і на основі цього й створюється тривимірна реконструкція поверхні досліджуваного об'єкта.

Надзвичайно важливим методом, який дозволяє вивчати дуже дрібні об'єкти й водночас створювати тривимірні реконструкції живих клітин є **конфокальна мікроскопія**. Ця методика полягає в тім, що за об'єкти-

вом установлюють діафрагму, що звичайно зменшує поле зору практично до точки, проте дозволяє підвищити роздільну здатність і контраст. Додатково світло також фокусується на тій самій точці препарату (рис. 2.8).

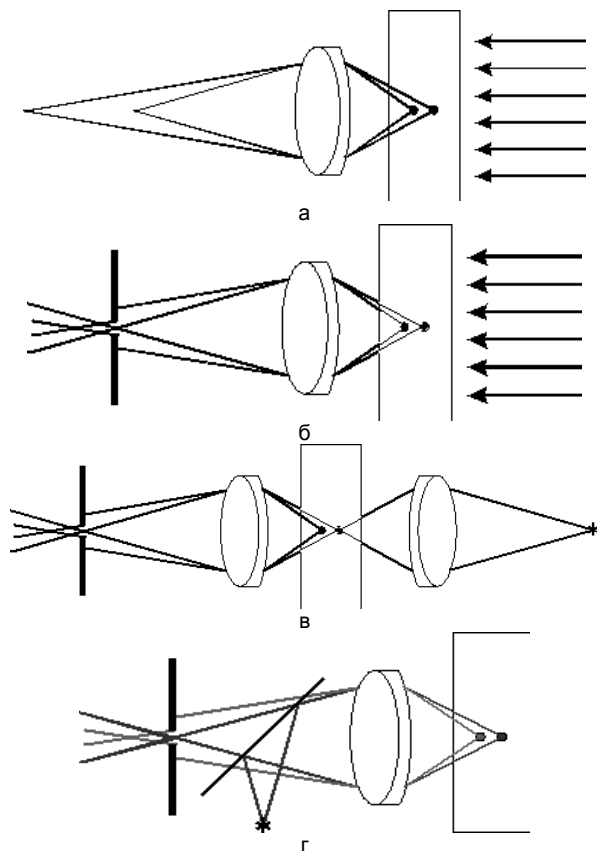


Рис. 2.8. Принцип роботи конфокального мікроскопа: а – хід променів у звичайному світловому мікроскопі, коли у фотоприймальний пристрій потрапляє світло з різних точок зразка; б – застосування діафрагми дозволяє істотно знизити фонове підсвічування від точок зразка поза аналізованою ділянкою; в – додаткове підвищення контрасту досягається застосуванням підсвічування, що фокусує світло в аналізовану точку; г – схема зі світлоділительною пластинкою спрощує конструкцію мікроскопа за рахунок подвійного використання об'єктива (для підсвічування і збирання відбитого сигналу).

Зображення створюється шляхом сканування препарату, тобто об'єкт досліджується точка за точкою. Сканувати можна не лише одну площину, а декілька, одну за одною. Потім на екрані комп'ютера можна відтворити об'ємне зображення досліджуваного об'єкта.

Як правило, конфокальний принцип поєднують з використанням флюоресценції. Використовують також не звичайне світло, а лазер. Сучасні конфокальні мікроскопи за роздільною здатністю порівнянні з ультрафіолетовими й електронними мікроскопами, проте на відміну від останніх дозволяють досліджувати живі об'єкти.

2.3. Методи підготовки матеріалу для цитологічних досліджень і методи дослідження клітини

Кожен з методів, який використовують в експериментальній цитології, має свої переваги й недоліки й характерну для кожного окремого методу сферу застосування.

Порівняння результатів, отриманих з використанням різних методів, дає можливість різнобічної характеристики досліджуваного об'єкта.

Розрізняють методи досліджень прижиттєві (*вітальні*) і *фіксованого матеріалу*.

Прижиттєві методи досліджень. Головною проблемою, з якою стикається дослідник при вивченні живих об'єктів є низький показник заломлення світла вмістом живої клітини. Тому для спостереження за живими об'єктами застосовують методи темного поля, фазового контрасту, поляризаційну, флуоресцентну й конфокальну мікроскопію. Також для виділення окремих структур спеціально для прижиттєвих досліджень використовують барвники з якомога меншою токсичністю (*вітальні барвники*), які беруть у мінімальних концентраціях. Це янус зелений, нейтральний червоний, метиленовий синій тощо. Для вивчення живих об'єктів, яким не властива власна флюоресценція, у люмінесцентному мікроскопі застосовують флуоресцентні барвники – *флюорохром*и.

Часто виникає необхідність втручання дослідника у процеси, що відбуваються в живій клітині. Для цього застосовують **мікрургію** (мікрохірургію). За допомогою спеціальних приладів (мікроманіпуляторів) та інструментарію (скляних голок, піпеток, петель, електродів тощо) можна видаляти й пересаджувати з клітини в клітину ядра, окремі органели, визначати прижиттєву кислотність внутрішньоклітинних структур, вимірювати різницю потенціалів та ін.

Метод культури тканин і клітин є особливим методом дослідження живих об'єктів. При цьому окремі клітини або невеликі ділянки органів

вміщують у спеціальне поживне середовище, сприятливе для життєдіяльності та розмноження клітин. Таким способом можна простежити весь життєвий цикл клітин, вивчати їх стійкість до окремих факторів зовнішнього середовища або вплив тих чи інших біологічно активних речовин безпосередньо на ті чи інші клітини. Подібні дослідження (*in vitro*) дозволяють зробити висновки саме про безпосередню взаємодію клітини і зовнішнього чинника. Проте в організмі впливи різноманітні та, як правило, опосередковані, тому не можна результати досліджень у клітинних культурах механічно переносити на живий організм. У цьому разі потрібні досліді *in vivo*, тобто в живому об'єкті.

Метод авторадіографії застосовують для вивчення шляхів руху та перетворення речовин у клітині. Ним можна послуговуватися для дослідження як клітин у культурі, так і фіксованого матеріалу. Для вивчення клітин цим способом у поживне середовище, культуру клітин (в їжу або в кров досліджуваного об'єкта) вводять речовину – попередник молекули, топографію біосинтезу якої потрібно вивчити. При цьому ця речовина повинна мати у своєму складі радіоактивний ізотоп (наприклад, ізотоп водню – тритій), що поступово розпадається. Місця розпаду ізотопу виявляються завдяки фотоемulsії, яка наноситься на препарат чи поверхню досліджуваних клітин по закінченні терміну експерименту. Варіюючи час, який мічений радіоактивним ізотопом попередник перебуває в організмі або клітині, можна встановити шляхи його руху по клітині чи органам тіла тощо.

Методи роботи з фіксованим матеріалом є також поширеними. Інколи (наприклад, якщо працюють з електронним мікроскопом) попередня обробка матеріалу та умови мікроскопування повністю виключають можливість дослідження живої клітини. У цьому випадку найважливішим виявляється вдала фіксація клітинного матеріалу, тобто така зупинка життєдіяльності клітини, за якої всі складові клітини залишалися б у місцях прижиттєвої локалізації в незміненому стані.

Розрізняють фізичні й хімічні методи фіксації. До **фізичних методів** відносять заморожування та фіксацію нагріванням або сушінням. Так, для приготування препарату для сканувального електронного мікроскопа застосовують метод заморожування-сколювання. Спочатку матеріал заморожують у рідкому азоті, що виключає утворення кристалів льоду, які можуть пошкодити матеріал. Потім заморожені клітини розколюють холодним ножом. Сколи при цьому, як правило, ідуть по середині біліпідного шару мембран. Потім матеріал нагрівають у вакуумі, у результаті частина льоду сублімується (переходить одразу в газоподібний стан). Унаслідок цього процесу поверхня сколу стає більш рельєфною. Потім на неї наноситься тонка плівка важкого металу (золота, платини тощо), яка точно повторює рельєф поверхні об'єкта. Потім власне клітина руйнується кислотою (цей процес називають травленням) і об'єктом мікроскопічного дослідження стає саме плівка з важкого металу – репліка.

Хімічні методи фіксації – це введення у клітину тієї чи іншої речовини або суміші, яка припиняє процеси життєдіяльності в клітині, водночас зупиняючи в ній усі процеси, зокрема процеси аутолітичного руйнування клітини. Різні фіксатори мають різні механізми дії. Деякі (спирти) осаджують (денатурують) білки, для інших (альдегіди) властиво утворення молекулярних містків, що ковалентно зв'язують органічні молекули, обмежуючи їхню рухливість.

Розрізняють прості та складні фіксатори. Прості – це розчини якоїсь однієї сполуки, наприклад, 96°-й етиловий спирт або метанол, формалін (розчин формальдегіду у воді), розчин глютарового альдегіду тощо. Складні фіксатори (фіксуючі суміші) містять декілька речовин, що забезпечують більш швидку (попередню) і більш надійну, але повільнішу фіксацію. Прикладами складних фіксаторів є суміші Буєну (формалін-пікринова кислота – оцтова кислота), Карнуа (етанол – хлороформ – оцтова кислота), Нікіфорова (етанол – діетиловий ефір), спиртово-оцтова кислота тощо.

Для досягнення якісної фіксації необхідно, щоб фіксатор якомога швидше досяг глибинних шарів фіксованого матеріалу, перш ніж прижиттєвий стан структур буде порушений унаслідок аутолітичних процесів, що проходять усередині загублої клітини. Для цього об'єм фіксуючого розчину повинен перевищувати об'єм фіксованого матеріалу у 20–100 разів. Сам матеріал має бути зафіксований якомога швидше після взяття (біопсії чи забиття піддослідної тварини). З останньою вимогою пов'язані й обмеження, які накладаються на розмір фіксованого об'єкта: його діаметр має бути не більше 1–3 мм. Збільшення розміру об'єкта призводить до збільшення часу проникнення фіксатора у глибинні його шари, а це може призвести до погіршення якості матеріалу внаслідок аутолітичних процесів.

Та якщо необхідно уявити цілісну картину в органі чи у великій ділянці тканини, то застосовують розділення органу на зрізи товщиною в декілька міліметрів, що полегшує проникання фіксатора всередину об'єкта, або застосовують метод перфузії (уведення фіксуючого розчину через кровоносну систему органу чи цілісного організму). В останньому випадку спочатку кровоносні судини промивають фізіологічним розчином, а потім заповнюють фіксуючою рідиною. Швидкість і якість фіксації під час перфузії робить цей метод досить популярним.

Приготування зрізів клітин. Для якісного мікроскопування необхідно приготувати зрізи досліджуваної тканини, оскільки товстий шар тканини є просто непроникним для світла, а тим більше для електронів. Але біологічний матеріал досить м'який, що ускладнює приготування надто тонких зрізів. У такому разі працюють зі спеціальними приладами – *мікротомами*. *Вібратом* – прилад, за допомогою якого можна отримувати зрізи з матеріалу, що не зазнав додаткової обробки (з нефіксованого матеріалу). Він дозволяє робити зрізи навіть із живого матеріалу товщиною близько 20–50 мкм. Заморожувальні мікротом (*кріотом*) здатні зменшити тов-

щину зрізу до 10–15 мкм. У цих мікротомах об'єкт заморожується до температури близько -20°C . Відомо, що приморожені об'єкти можна різати на більш тонкі шари (навіть морожене м'ясо ріжеться на тонкіші шматки). Для отримання найтонших зрізів (1–7 мкм і менше) застосовують заливку у пластичні середовища: целоїдин, парафін, парапласт і епоксидні смоли (епон, аралдит тощо). Целоїдинову, парафінову та парапластну заливку використовують, як правило, для світлової, а епоксидну – для електронної трансмісійної мікроскопії.

Найпоширенішою є заливка в парафін. При парафіновій заливці певну проблему становить те, що парафін – це гідрофобна речовина, а більшість фіксаторів є гідрофільними. Тому в цьому випадку матеріал проводять через ряд середовищ, які здатні розчинятися одне в одному, і в такий спосіб доводять матеріал до парафіну. Так, фіксований матеріал проводять через спирти, концентрація яких зростає, потім уміщують в органічний розчинник (ксилол, бензол, хлороформ тощо). Потім матеріал занурюють у суміш органічного розчинника з парафіном (так звана "гістологічна каша") і, нарешті, у чистий парафін або парапласт.

Залитий після цього в парафіновий або парапластний блок матеріал ріжуть на санному або роторному мікротомі. Ці два типи мікротомів різняться за розташуванням мікротомного ножа й препарату. У роторному мікротомі ніж закріплений нерухомо, а рухається об'єкт. У санному мікротомі об'єкт подається на 3–7 мкм за один прохід угору, а рухається й робить зріз ніж.

Мікротомний ніж заточують так, щоб уникнути будь-яких нерівностей ріжучої кромки. Тільки її ідеально рівна поверхня забезпечує рівномірну товщину зрізу. Закріплюється ніж під кутом $10\text{--}15^{\circ}$ до поверхні об'єкта.

Зрізи для електронної мікроскопії заливають в епоксидні смоли й ріжуть на *ультрамікротомі*, що дає можливість отримати зрізи товщиною в частки мікрметра. Якість зрізів у цьому разі контролюється під мікроскопом, а ніж для ультрамікротома роблять зі скла або алмазу.

Забарвлення зрізів клітин. Для виявлення певних структур отримані на мікротомі зрізи забарвлюють. Розрізняють *оглядові*, що дають можливість роздивитись загальну будову об'єкта, і *спеціальні* методи забарвлення, за допомогою яких можна побачити окремі елементи й деталі будови клітини. Для прижиттєвих досліджень клітин використовують вітальні барвники (див. вище). Зрізи для електронної мікроскопії забарвлюються одразу під час фіксації. Матеріал у цьому випадку фіксують глутаровим альдегідом і осмієювою кислотою. Остання саме й зв'язується зі структурами в клітині, роблячи їх непрозорими для потоку електронів.

За фізико-хімічними властивостями барвники поділяють на *гідрофобні* (неполярні) і *гідрофільні* (полярні). Неполярні барвники розчиняються в ліпідах і забарвлюють їх. До цієї групи належать судан чорний, судан Ж тощо. Гідрофільні барвники поділяють на *кислотні*, *основні* та *нейтральні*. Кислотні забарвлюють основні (еозинофільні або оксифільні) структури

в клітині, а основні з'єднуються з базифільними (кислими) структурами. Так, основний барвник гематоксилін забарвлює нуклеїнові кислоти в ядрі, а кислотний барвник еозин – основні білки цитоплазми. Нейтральні барвники здатні забарвлювати як кислі, так і основні структури (наприклад, барвник Май-Грюнвальда).

Розрізняють також *прогресивне* й *регресивне* забарвлення. При першому препарат поступово зв'язує барвник, доки забарвлення не досягає оптимуму. Під час другого забарвлення препарат, який має "підвищену спорідненість" з барвником, одразу перефарбовує його, після чого надлишок барвника відмивають, доки забарвлення не досягне оптимуму.

Після забарвлення постійні препарати замикають у спеціальне середовище. Для цього використовують канадський або піхтовий бальзам (витяжки з кедрового або піхтового дерева), синтетичне середовище DPX тощо. При цьому, якщо середовище не є водорозчинним, то після забарвлення (наприклад, гематоксиліном і еозином) препарат необхідно зневоднити. Для цього його проводять через спирти зростаючої концентрації, органічний розчинник і замикають у вибране середовище (наприклад, канадський бальзам).

Цитохімічні методи дослідження. Для вивчення хімічного складу клітин і розташування певних класів хімічних речовин у клітині застосовують цитохімічні методи. В основі їх лежать методи аналітичної хімії, якими послуговуються для аналізу складу розчинів, але адаптовані під конкретні умови приготування цитологічного препарату. Тобто на препараті ставлять певну хімічну реакцію, за результатами якої роблять висновок про наявність або відсутність певного класу речовин у складі клітини. При цьому цитохімічні реакції є чутливішими, ніж відповідні реакції аналітичної хімії, оскільки результат реакції оцінюється не на око, а під мікроскопом, а отже, можна побачити найдрібніші часточки продукту реакції. Так, для реакції берлінської блакиті, завдяки якій можна виявити іони заліза, відповідна цитохімічна реакція є в 10000 разів чутливішою, ніж при проведенні цієї реакції в пробірці.

Нині відомо й широко застосовуються багато цитохімічних реакцій: нінгідрінова (для виявлення білків), ШІК-реакція на вуглеводи, реакція Фельгена на виявлення ДНК тощо. Важливим класом гістохімічних реакцій є реакції на виявлення ферментів. У цьому випадку на препарат наносять розчин субстрату реакції, яку каталізує фермент, а потім цитохімічно виявляють продукт реакції. За розташуванням нерозчинного продукту реакції визначають локалізацію досліджуваного ферменту. Таким чином виявляють кислу й лужну фосфатазу, пероксидазу та інші ферменти.

Імуногістохімічні методи. Для виявлення певного типу молекул існують методи імуногістохімії. Ці методи дозволяють вибірково визначати локалізацію певних молекул, навіть за умови їхньої високої подібності до інших (наприклад, пролактину людини та пролактину птаха). Однак ви-

значенню піддаються лише складні органічні речовини, які при введенні в організм тварини здатні викликати специфічну імунну відповідь, а саме утворення антитіл. Імуногістохімічні методи засновані на використанні саме *антитіл* – складних білкових молекул, які виробляються спеціалізованими клітинами і здатні зв'язувати молекули, котрі індукували їхнє утворення – *антигени*. Специфічність зв'язування антитіл з антигенами є надзвичайно високою, що й використовується в імуногістохімії.

Саме утворення комплексу антиген–антитіло є ключовим у будь-якому імуногістохімічному методі. Зв'язані ж антитіла виявляють по-різному. Можна помітити антитіла флуорохромом і побачити його в люмінесцентному мікроскопі, можна – радіоактивною міткою, яку виявлятимуть так само, як і при авторадіографії, можна – ферментом, який буде встановлено гістохімічно. Для підвищення чутливості методу застосовують метод подвійних антитіл, коли до антитіл I порядку, що безпосередньо зв'язують досліджуваний білок, приєднуються так звані вторинні антитіла ("антитіла, що виявляють антитіла"), які вже й мають бути знайдені одним із зазначених вище методів.

Методи кількісної оцінки. Для встановлення функціонального стану клітини іноді недостатньо лише визначити якісний склад цитоплазми, білків ядра тощо. Надзвичайно важливим є з'ясувати скільки досліджуваної речовини міститься в клітині. Суху масу речовини дозволяє визначити метод *інтерференційної мікроскопії*. Існує можливість кількісної оцінки результатів авторадіографії. Проте надзвичайно важливим методом кількісної оцінки результатів цитохімічних та імуногістохімічних реакцій є *цитофотометрія*. Метод заснований на здатності забарвлених продуктів реакції поглинати світло заданої довжини хвилі. Зрозуміло, що для адекватної оцінки результатів усі препарати повинні мати однакову товщину, крім того, має бути стандартизована сама процедура забарвлення. Цитофотометрично може бути визначена й кількість незабарвлених продуктів, наприклад нуклеїнових кислот, що здатні поглинати ультрафіолетове світло, а також здатних до флюоресценції речовин.

Метод диференційного центрифугування. Різниця в щільності та питомій вазі частин клітини використовується для відокремлення однакових органел з певної суміші клітин. Для цього клітини спочатку гомогенізують, а потім отриманий гомогенат центрифугують при різних швидкостях обертання центрифуги. Спочатку (при найменших швидкостях) осідають агрегати з кількох клітин, потім – цілі клітини. Далі – ядра і мітохондрії, потім – гранулярна ЕПС, після неї – гладенька ЕПС, апарат Гольджі, лізосоми (так звана мікосомальна фракція). Останніми (при найбільших обертах) осідають великі макромолекулярні комплекси (рибосоми тощо). Після кожного циклу обертання осад відбирають і далі центрифугують лише надосадову рідину.

Модифікацією описаного методу є центрифугування у градієнті щільності. У цьому випадку в центрифужну пробірку наносять шари сахарози або іншого гель-утворювального агента з різною щільністю (від найбільш до

найменш щільного). Після однократного центрифугування описані фракції опускаються у пробірці на різну глибину, що дає змогу одразу їх розділити.

Використання фото-, кіно- й відеотехніки та комп'ютерних технологій. Фото-, кіно- й відеотехніку застосовують у цитології в першу чергу для фіксації отриманого зображення. У деяких випадках (наприклад, при ультрафіолетовій і електронній мікроскопії) це є чи не єдиний метод узгалі отримати зображення досліджуваного об'єкта. При вивченні живих об'єктів підвищується роль кіно- та відеотехніки, за допомогою якої фіксують рух живих клітин, процеси поділу тощо. Особливо важливою в цьому разі є сповільнена кінозйомка, яка дає можливість потім побачити рух клітин у прискореному темпі.

Цифрова обробка зображення підвищує якість зображення і навіть дозволяє виявити структури, які на оригінальних фотографіях виглядають малоконтрастними, розмитими. Оцифровані зображення використовуються також для морфометричних вимірювань (площі, периметра, діаметра досліджуваних структур).

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ

1. Назвіть особливості розвитку цитології в кінці XIX століття.
2. З якими методами досліджень пов'язаний бурхливий розвиток цитології та гістології у XX століття?
3. Які етапи можна виділити в історії вивчення клітин?
4. Внесок у розвиток цитології Т. Шванна.
5. Внесок у розвиток цитології М. Шлейдена.
6. Внесок у розвиток цитології Р. Вірхова.
7. Внесок у розвиток цитології Р. Броуна.
8. Внесок у розвиток цитології Р. Гука.
9. Внесок у розвиток цитології А. Левенгука.
10. Походження поняття "клітина".
11. Коли були описані основні органели клітини?
12. Назвіть елементи оптичної частини мікроскопа. Яке їхнє призначення?
13. Хід променів у світловому мікроскопі.
14. Яка різниця між роздільною здатністю та кратністю збільшення мікроскопа?
15. Чому не є доцільним створення світлового мікроскопа з дуже великою кратністю збільшення (наприклад, близько $\times 10000$)?
16. Що таке вітальні барвники? Які ви знаєте вітальні барвники?
17. Перерахуйте основні етапи приготування постійного препарату?
18. Як зафіксувати матеріал для цитологічних досліджень?
19. Що таке фіксація? Які речовини можуть застосовуватися як фіксатори?
20. Які типи мікротомів вам відомі? З якою метою їх використовують?

21. Що таке кріотом? З якою метою його застосовують?
22. Що таке ультрамікротом? Для чого його застосовують?
23. Як отримати зрізи тканин для світлової мікроскопії, не заливаючи ці тканини в парафін або інші пластичні речовини?
24. Чим відрізняється процес виготовлення препаратів для світлової та електронної трансмісійної мікроскопії?
25. Які структури в клітині називаються базofilними й оксифіліними?
26. До якої групи барвників відносять гематоксилін і еозин? Які структури в клітині вони забарвлюють?
27. Які існують методи забарвлення клітин?
28. Порівняйте методи цитохімії та імуноцитохімії.
29. Клітини відрізняються одна від одної різним складом білків (антигенів). Якими методами можна визначити ці відмінності?
30. Які кількісні методи визначення речовин у клітині вам відомі?
31. Назвіть методи одержання ізольованих органел.
32. Для чого застосовують мікрохірургію?
33. З якою метою послуговуються кіно-, фото- та відеотехнікою в цитологічних дослідженнях.
34. Які методи прижиттєвого дослідження клітин вам відомі?
35. До складу клітин входять різні органічні речовини. Якими відомими вам методами можна виявити їхній якісний склад?
36. До складу клітин входять різні органічні речовини. Якими відомими вам методами можна виявити їхній кількісний склад?
37. Необхідно дослідити структури, розміри яких менше ніж 0,2 мкм, але більше ніж 0,1 мкм. Який метод світлової мікроскопії можна використати для дослідження?
38. Які методи світлової мікроскопії дозволяють побачити структури, дещо менші за роздільну здатність звичайного світлового мікроскопа?
39. Перед дослідником поставлено завдання – виявити структури, що містять ДНК і РНК. Які методи він повинен використати? Якими методами можна визначити кількість цих речовин?
40. Яким мікроскопом слід користуватися, щоб вивчити структуру клітинної мембрани товщиною 7–10 нм? Чому?
41. Охарактеризуйте можливості сканувальної електронної мікроскопії при дослідженні клітини.
42. Деякі речовини в клітині мають здатність флуоресцювати під дією ультрафіолетових променів. Який мікроскоп можна використати для їхніх досліджень? Чи можливе кількісне дослідження? Що можна зробити, якщо у самої речовини відсутня первинна люмінесценція?
43. За допомогою якого методу можна визначити шляхи транспорту речовин у клітині? Відповідь обґрунтуйте.

44. Відомо, що до складу нуклеїнових кислот входять азотисті основи. Які азотисті основи слід позначити для вибіркового виявлення у клітині ДНК і РНК за методом авторадіографії.

45. Принцип дії поляризаційного мікроскопа.

46. Чи впливає на роздільну здатність мікроскопа метод фазового контрасту? Відповідь поясніть.

47. Чи впливає на роздільну здатність мікроскопа метод ультрафіолетової мікроскопії? Відповідь поясніть.

48. Що дозволяє визначити цитофотометрія? Принцип методу.

49. Що таке числова апертура мікроскопа?

50. Які імерсійні рідини ви знаєте? Для чого вони використовуються?

51. Як розрахувати роздільну здатність мікроскопа?

52. Для чого використовують мікроскоп порівняння?

53. Дайте характеристику фазово-контрастній мікроскопії.

54. Дайте характеристику конфокальній мікроскопії.

Розділ 3

СТРУКТУРА Й ФУНКЦІ БІОЛОГІЧНИХ МЕМБРАН

Мембранні системи клітини тривалий час залишалися невідомими. Більш того, навіть після їхнього відкриття принципи структурно-функціональної організації цих систем викликали дискусії у багатьох дослідників. Уперше ідею про існування специфічної перетинки, яка оточує кожну клітину, висунув у середині XIX століття К. Бернар. Вивчаючи проникнення барвників у клітини, у 1855 р. К. Негеллі також прийшов до висновку, що зовнішня частина протоплазми має бути вкрита особливою оболонкою, що відіграє роль бар'єра проникності. Три десятиліття потім, повторюючи досліди К. Негеллі, В. Пфеффер показав, що ступінь набухання клітини залежить від концентрації оточуючого розчину. У 1890 р. на основі досліджень К. Бернара, К. Негеллі, В. Пфеффер сформулював поняття клітинної, або плазматичної мембрани як утворення, що регулює надходження у клітину й вихід з неї різних речовин. Перші дослідження хімічного складу та молекулярної організації пов'язані з іменем Е. Овертона, який у 1902 р., вивчаючи закономірності проникнення у клітину різних за природою речовин і виявивши, що найшвидше надходять ліпородозчинні речовини, припустив, що мембрана повністю або частково складається з ліпідів. У 30-х рр. XX століття Е. Гортер і Ф. Грендел висунули припущення, що плазматична мембрана складається з подвійного шару ліпідів, який має бути пов'язаний з білками. У 1935 р. на основі проведеного аналізу поверхневого натягнення на межі поділу ліпідів з іншими речовинами, Л. Даніеллі й Г. Даусон висунули гіпотезу стосовно будови біологічних мембран, за якою останні складаються з подвійного ліпідного бішару, вкритого із зовнішнього та внутрішнього боків моношарами білків (так звана унітарна модель будови мембрани). Ґрунтуючись на ній, у 60-ті роки Дж. Робертсон стверджував, що всі мембрани є однаковими і побудованими саме за таким принципом.

Протягом досить тривалого часу ця думка лишалась непохитною, але й вона не встояла під тиском нових наукових доказів. Пошук спільних закономірностей і відмінностей в організації "родинних" мембран привів до розуміння того, що мембрани різних клітин і органел різняться за хімічним складом і за функціями, чому відповідає і певна структура мембрани. Крім того, було доведено, що припущення, висунуте свого часу В. Освальдом, про те, що плазматична мембрана клітин завдяки своїм властивостям напівпроникності є тією структурою, яка генерує різницю потенціалів – вірне.

Нині найприйнятнішою є рідинно-мозаїчна модель структури мембрани, висунута С. Сенгером і Дж. Нікольсоном у 1972 р. й удосконалена С. Сенгером у 1981 р. За цією моделлю певна частина ліпідів, що входить до складу плазматичної мембрани (близько 30 %) пов'язана з внутрішніми білками, а інші перебувають у рідкому стані, формуючи "ліпідне озеро", в якому "вільно плавають" внутрішні білки (рис. 3.1).

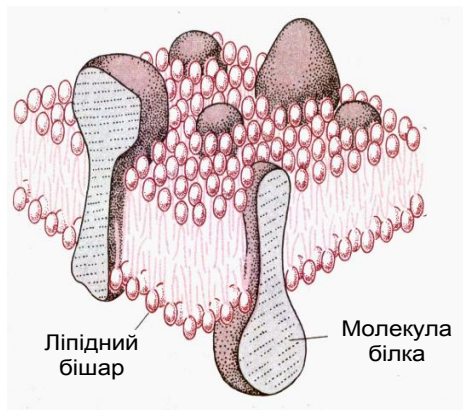


Рис. 3.1 [9]. Схематичне тривимірне зображення ділянки клітинної мембрани

На поверхні ж ліпідного шару розташовуються водорозчинні (поверхневі) білки. Ця модель передбачає можливість взаємодії поверхневих і внутрішніх або інтегральних мембранних білків з утворенням специфічних агрегатів (усередині або на поверхні мембрани) з гідрофільними порами чи каналами. Дана модель не суперечить і набутих численним доказам як хімічної, так і структурної гетерогенності клітинних мембран. І хоча всі мембрани мають певну хімічну та структурну подібність (організація ліпідів у вигляді бішару, наявність поверхневих і внутрішніх, у тому числі інтегральних, білків і вуглеводів на зовнішніх боках плазматичних мембран), різні види мембран мають різний якісний і кількісний склад ліпідних, білкових і вуглеводних компонентів. Так, мембрани з домінуючою бар'єрною та ізоляційною функцією (наприклад, мієлінові волокна) мають вищий вміст ліпідів (до 80 % складу мембрани), функціонально активні мембрани (мембрани ЕПР, мітохондрій) містять більше білків (до 70 %). Крім того, мембрани виявляють себе як достатньо лабільні системи, здатні в нормі певними змінами адекватно реагувати на зміни різних функціональних станів організму в різні періоди онтогенезу.

3.1. Хімічний склад і загальні принципи організації біологічних мембран

Біологічні мембрани є складними надмолекулярними комплексами, до складу яких входять ліпіди, білки вуглеводи й неорганічні речовини (вода, Ca^{2+} , Mg^{2+}). Слід підкреслити, що всі біологічні мембрани, маючи принципово однаковий хімічний склад, подібні закономірності організації хімічних компонентів, мають при цьому істотні відмінності у структурі, які залежать від типу мембран і особливостей їхніх функцій.

До загальних принципів організації мембран можна віднести по-перше, її неоднорідність, по-друге, лабільність (частина мембранних складових перебуває у стані безперервного руху), і, по-третє, високий рівень асиметричності (зовнішній і внутрішній шари мембрани відрізняються за якісним і кількісним складом ліпідів; білки, мозаїчно розташовані серед ліпідів, мають чітке розмежування поза- та внутрішньоклітинних доменів).

Як зазначалось у попередніх розділах, еукаріотична клітина сьогодні постає як складна, скоординована система мембран і мембранних утворень. Крім плазматичної мембрани, яка, власне, формує клітину, відокремлюючи її від зовнішнього середовища, та забезпечує підтримання внутрішньоклітинного гомеостазу, клітини містять гетерогенну за хімічним складом і специфікою організації систему внутрішньоклітинних мембран: мембрани ЕПС, апарату Гольджі, лізосом, мітохондрій, пластид, ядерні мембрани, мембрани численних внутрішньоклітинних вакуоль (піноцитозних, фагоцитозних, секреторних тощо). І кожна мембрана має свою хімічну й функціональну індивідуальність. Вже зазначалося, що мембрана містить велику кількість білків, частина з яких має ферментативну активність. Деякі з цих ферментів локалізовані лише в певних мембранах, будучи їхніми хімічними маркерами (табл. 3.1). Синтез клітинних білків, як детально буде проаналізовано нижче, відбувається в цитозолі та на мембранах грЕПС (деякі білки мітохондрій і хлоропластів у рослин синтезуються в самих органелах).

Таблиця 3.1. Приклади ферментних маркерів деяких мембран

Мембрана	Маркерний фермент
Плазматична	5'-нуклеотидаза, аденілатциклаза, $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФаза
Внутрішня мітохондріальна мембрана	АТФсинтетаза
Ендоплазматична сітка	Глюкозо-6-фосфат
Апарат Гольджі	Галактозилтрансфераза

Так, цитозольний синтез забезпечує білкові потреби мітохондрій, ядра, пероксисом і власне цитозолу, тоді як на рибосомах грЕПС здійснюється синтез білків мембран ЕПС, мембран апарату Гольджі, плазматичної мембрани, а також секреторних білків і лізосомних ферментів. Ліпіди мембран також синтезуються на ЕПС і переносяться до плазматичної

мембрани. Перенесення як білків, так і ліпідів здійснюється транспортними пухирцями, тобто компоненти транспортуються у вигляді готових мембран, а це означає, що мембрани походять лише з попередніх мембран.

Мембранні ліпіди. Ліпіди становлять, у середньому, близько 40 % від сухої маси мембран, 80% з них припадає на гліцерофосфоліпіди (фосфогліцериди) (табл. 3.2).

Таблиця 3.2. Вміст головних типів мембранних ліпідів

Головні ліпіди мембрани	Заряд головної групи	Процент вмісту
Фосфогліцериди	0 до -2	50–90 %
Фосфатидилхолін	0	40–60 %
Фосфатидилетаноламін	0	20–30 %
Фосфатидилсерин	-1	5–15 %
Кардіоліпін	-2	0–20 %
Фосфатидилінозитол	-1	5–10 %
Сфінгомієлін	0	5–20 %
Холестерол	0	0–10 %

Як відомо, кількісний і якісний склад ліпідів у біологічних мембранах визначається характером функціональної активності останніх. Однак певні групи ліпідів є домінуючими в мембранах, що визначається їхніми фізико-хімічними властивостями.

Фосфогліцериди – основний клас ліпідів біологічних мембран – складаються з молекули гліцеролу, дві гідроксильні групи якого етерифіковані жирними кислотами, а третя – залишком фосфорної кислоти, етерифікованої спиртом. Більша частина полярних ліпідів має подібну будову за деякими відмінностями. Жирні ацильні ланцюги відрізняються за структурою, кількістю та розташуванням подвійних зв'язків, що суттєво впливає на властивості білково-ліпідного бішару. Атоми карбону, які утворюють подвійні зв'язки, не здатні вільно обертатися, займають фіксовану позицію і створюють вигини у вуглецевому ланцюзі, що запобігає щільній упаковці ліпідних хвостів і збільшує плинність мембрани в цілому. Слід також підкреслити, що коротші ацильні ланцюги, упаковані в менш щільні структури, що також сприяє зменшенню в'язкості мембрани. Загалом стабільність взаємодії залишків вуглеводних ланцюгів жирних кислот зумовлюється їхньою довжиною, насиченістю та розгалуженістю.

Сфінголіпіди – другий за поширеністю тип мембранних ліпідів, серед них найчастіше зустрічаються **цераміди**, які містять або фосфатидилхолін або фосфатидилетаноламін (які заміщують перший гідроксил). Вони є представниками негліцеролових ліпідів: містять у своїй основі не гліцерол, а інші спирти, наприклад, аміноспирт **сфінгозин**. Спиртова основа зв'язується з жирними кислотами амідним зв'язком через NH групу, а один з гідрогенів групи OH може заміщуватися різними полярними групами. Залежно від природи гідрофільної "головки", розрізняють такі кла-

си, як *цереброзиди* (приєднується моносахарид), *фосфосфінголіпіди* (приєднується фосфат) *гангліозиди* (приєднуються кислі олігосахариди).

Стеролові ліпіди (стериди) – похідні ненасиченого поліциклічного карбогідрату, який складається з декількох зв'язаних кілець, дають третю найпоширенішу ліпідну сполуку мембран – **холестерол**. Він становить від 40 до 60 % усіх ліпідів мембрани ссавців. Полярна група ОН- надає його молекулі слабких амфіфільних властивостей. Замкнута структура кілець, будучи гідрофобною та розташовуючись між ацильними (також гідрофобними) доменами інших ліпідів, призводить до менш щільної упаковки ненасичених ацильних ланцюгів, що робить внутрішню частину бішару більш пливкою. Таке зниження в'язкості сприяє латеральному переміщенню ліпідів у площині ліпідного бішару.

У той же час ОН- група холестеролу локалізована ближче до головок інших ліпідів. Вона "цементує" гідрофільні частини компонентів мембрани, зменшуючи тим самим її проникність для невеликих молекул.

Більшість мембранних фосфоліпідів містить у своїх ацильних ланцюгах один або більше *цис*-подвійних зв'язків, що знижує щільність їхньої упаковки та збільшує їхню рухливість. У результаті мембрана стає менш в'язкою за фізіологічної температури.

У рухливій мембрані можуть виникати "порожнини", які полегшують рух через мембрану дрібних водорозчинних молекул, наприклад глюкози. Наявність холестеролу спричинює щільнішу упаковку мембрани в ділянці гідрофільних доменів, і одночасно заповнює порожнини, утворені вигином *цис*-подвійного зв'язку в ацильному ланцюгу ліпиду. Хоча молекули холестеролу здатні легко перескакувати між шарами (явище називається "фліп-флоп"), вони, як правило, скупчуються в зовнішньому шарі (потовщуючи його до того ж).

Слід підкреслити, що частка різних ліпідів у мембранах еукаріотичних клітин різних типів суттєво варіює, що певним чином визначає біологічні функції цих клітин (або окремих клітинних органел). Біологічна роль ліпідів кожної із згаданих груп зумовлюється їхніми фізико-хімічними властивостями, а саме:

1. Здатність молекул ліпідів утворювати бішар зумовлюється їхнім **амфіпатичним** характером. У фосфоліпідах чітко можна виділити два домени: **гідрофільний** – фосфатну головку молекули із замісниками (хімічні властивості цього домену й зумовили його розчинність у воді) та **гідрофобний** – ацильні ланцюги, що відходять від гліцеринового остова (вони є неполярними, а отже, і нерозчинними у воді). На межі розподілу фаз "вода–повітря" такі молекули сформують **мономолекулярний шар**, в якому гідрофільні домени (головки амфіпатичних ліпідів) будуть занурені у воду, а гідрофобні (ацильні ланцюги) – зорієнтовані в повітря. Такого ж типу мономолекулярний шар сформують ліпіди й на межі розподілу між водною та ліпідною фазами (у ліпідну фазу зануряться неполярні (ліпофільні) вуглеводні ланцюги).

У водних розчинах амфіпатичні молекули створюватимуть специфічні агрегати – **міцели**, які можна вважати ліпідними біополімерами. Намагаючись повернутися до води (яка є полярним розчинником) своїми зарядженими "головками", ліпіди будуть створювати, залежно від умов, різні типи міцел. **Нормальні міцели** формуються за умови "багато води – мало ліпідів", **вивернуті міцели** – "мало води – багато ліпідів", а **бішари** утворюються з подвійного шару ліпідів, в яких гідрофобні частини молекул повернуті одна до одної, а гідрофільні контактують з навколишнім (водним) середовищем. Ліпідний бішар здатний формуватися спонтанно, він є стійким за термодинамічних причин (а не за рахунок формування ковалентних зв'язків).

2. **В'язкість** мембранних ліпідів визначає певні властивості й особливості поведінки мембран у цілому. У свою чергу, в'язкість ліпідів у бішарі зумовлюють такі фактори, як кількість CH_2 -груп у ацильних ланцюгах, кількість подвійних зв'язків у ланцюгах, а також кількість холестеролу в бішарі. Чим довші й насиченіші ацильні ланцюги, тим щільніше вони можуть бути "упаковані". Щільна упаковка знижує плинність бішару. При цьому, плинність мембрани є вищою в гідрофобній зоні, а гідрофільні зони, які містять полярні "головки" ліпідів, є суттєво менш рухливими.

Ліпіди різних типів вбудовуються в мембрану з певною закономірністю. Групуючись по-різному, вони можуть формувати на мембрані специфічні поля – **ліпідну мозаїку**. Так, у зоні контакту клітинної мембрани з іншою клітиною (чи субстратом) домінуючими є ліпіди з насиченими ацильними ланцюгами (що підвищує жорсткість мембрани в зоні контакту).

Хімічні властивості ліпідів (і, як результат, особливості структурної організації утвореного ними бішару) визначають здатність молекул ліпідів до руху в площині мембрани. Так, у мембранах клітин ссавців вони перебувають у постійному русі. Мембранні ліпіди здатні й до переходів між зовнішнім і внутрішніми шарами в бішарові. Цей процес може здійснюватися шляхом звичайної, але дуже повільної дифузії. А може реалізуватися шляхом "фліп-флоп"-перескакування. Ураховуючи той факт, що таке перескакування вимагає швидкого проходження полярного домену ліпиду через неполярну зону бішару (і навпаки), він реалізується за участю спеціального транслокаційного механізму.

Слід підкреслити, що зовнішні та внутрішні шари ліпідного бішару асиметричні за кількісним та якісним вмістом ліпідів. Так, концентрація фосфатидилсерину (який має сумарний від'ємний заряд) вища у оберненому до цитозолу шарові мембрани (тому внутрішня поверхня мембрани заряджена від'ємно по відношенню до зовнішньої). У цьому ж внутрішньому шарові переважає і фосфатидилінозитол, залучений до передачі зовнішнього сигналу у цитоплазму клітини. Гліколіпіди ж, наприклад, локалізуються практично завжди, у зовнішньому шарові мембрани.

Існуюча ліпідна асиметрія зовнішнього та внутрішнього шарів мембрани підтримується за рахунок спеціальних механізмів. Цьому сприяє і надзвичайно низька швидкість дифузії ліпідів між шарами. Транслокація

ж ліпідів шляхом перескакування з використанням спеціального механізму дозволяє клітинній мембрані адекватним чином реагувати на зміну фізіологічних умов (або фізіологічних вимог).

Мембранні ліпіди крім своєї структурної ролі, ролі фізичного бар'єра (про особливості якої детально йтиметься нижче) є дієвими елементом механізмів міжклітинної сигналізації. Так, у відповідь на певну стимуляцію може відбутися гідроліз певних фосфоліпідів мембрани з утворенням **діацилгліцеролу**, здатного розпадатися далі з вивільненням **арахідонової кислоти**, найпоширенішої в мембранах ссавців C_{20} -поліненасиченої жирної кислоти. Остання ж, у свою чергу є попередником для синтезу **ейкозаноїдів**. Окиснені ейкозаноїди (простагландини, тромбоксани (перша група), а також гідрокси-, гідроксипероксижирні кислоти та лейкотрієни (що складають другу групу)) є гормоноподібними речовинами (медіаторами) із сильним, але короточасним ефектом. Так, простагландини з'являються через 10–20 с після стимуляції клітини, їхній синтез відбувається потягом 1–5 хв, після чого зупиняється. Вони (а також лейкотрієни) залучені до розвитку запальних, температурних і больових реакцій, індукції згортання крові, регуляції артеріального тиску тощо. Крім того, діацилгліцерол, високоактивна речовина ліпідної природи, залишаючись у мембрані (і не розпадаючись далі), виявляє здатність до латеральної дифузії. Переміщуючись у площині мембрани, він локалізується поблизу ферментів (кіназ), регулюючи їхню активність.

Крім діацилгліцеролу, результатом розщеплення мембранних фосфоліпідів є фосфорильований **інозитол**, гідрофільна молекула, яка виступає в ролі вторинного посередника, специфічного "передавача" зовнішньоклітинного сигналу від клітинної мембрани у внутрішньоклітинне середовище, який здійснює свою функцію, зв'язуючись з внутрішньоклітинними рецепторами.

Наведені приклади наочно демонструють роль мембранних ліпідів як необхідного джерела отримання та інтерпретації зовнішніх сигналів, що надходять до клітини.

Мембранні білки. Білки становлять близько 50 % маси більшості клітинних мембран. Частина їх приєднується до ліпідного бішару амідним зв'язком між їхнім N-кінцевим залишком (найчастіше це гліцин) і карбоксильною групою жирної кислоти (як правило, це міристинова чи пальмітинова жирні кислоти (рис. 3.2)). Інша частина ліпід-зв'язаних білків утворює тіоетерний зв'язок між цистеїном і специфічною ізопреновою структурою (близькою за будовою до холестеролу). Деякі ж мембранні білки приєднуються до ліпідного бішару, а саме до мембранного ліпиду глікозилфосфоінозитиду, через вуглевод за допомогою фосфодіетерного зв'язку. Такі білки називають білками, приєднаними до **гліцеролфосфоінозитидного якоря (ГФЯ)**.

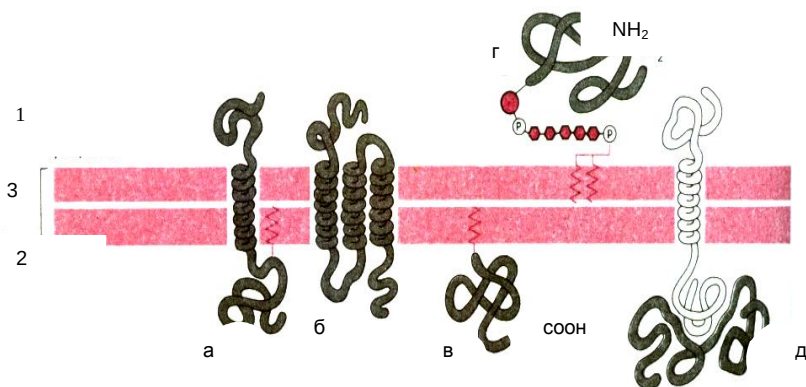


Рис. 3.2 [9]. Варіанти асоціації мембранных білків з ліпідним бішаром: 1 – позаклітинний простір; 2 – цитозоль; 3 – ліпідний бішар; а – монотопний білок; б – політопний білок; в – мембранний білок з'єднаний з бішаром за допомогою ланцюгів жирної кислоти; г – мембранний білок з'єднаний з бішаром через фосфоліпід фосфатидилінозитол, занурений у зовнішній моношар за участю олігосахариду; д – білок, асоційований з мембраною за допомогою нековалентних взаємодій з іншими мембранными білками

При використанні мембрани еритроцитів як моделі, було виявлено існування двох типів мембранных білків.

Першу групу складають **периферійні білки**, не занурені в ліпідний бішар і не з'єднані з ним ковалентно, а пов'язані з мембраною лише іонними взаємодіями. Вони становлять близько 30 % загальної кількості мембранных білків. При обробці мембрани буферними розчинами з високими концентраціями солей можна легко досягнути вивільнення білків цього типу з мембрани в буфер. Типовими представниками цього класу мембранных білків з характерними структурно-функціональними ознаками можуть виступати *спектрин* (локалізований на внутрішній поверхні більшості клітинних мембран) і *фібронектин* (локалізований на зовнішній поверхні більшості клітин).

Білки другого типу – **інтегральні білки** – занурюються в товщу ліпідного бішару на різну глибину або пронизують його наскрізь (у цьому випадку їх називають **трансмембранными**). Вони складають близько 70 % загальної кількості білків мембрани. Білки цього типу є амфіпатичними, тобто мають як гідрофільні, так і гідрофобні області. Трансмембранні ділянки інтегральних білків (занурених у гідрофобне середовище всередині мембрани) мають переважну кількість неполярних амінокислот, упакованих у термодинамічно вигідну для бішару альфа-спіраль. Незначна ж кількість заряджених амінокислот майже повністю нейтралізується взаємодією з амінокислотами протилежного знаку. До інтегральних належать також білки, ковалентно (через вуглевод) зв'язані з молекулами мембрани.

Залежно від характеру вбудовування в ліпідний бішар (що у свою чергу спричинено особливостями хімічної структури) інтегральні трансмембранні білки поділяють на декілька груп. Першу з них складають **монотопні білки**, білки, які мають одну трансмембранну ділянку. Більшість з них є рецепторами, які зовнішньоклітинним доменом розпізнають зовнішньоклітинний сигнал, трансмембранним доменом вбудовані в ліпідний бішар мембрани, внутрішньоклітинний же домен містить каталітичний, або "активуючий" центр (детальніше розглядатиметься в наступних розділах). Інколи рецептор "збирається" з декількох монотопних білків, здатних переміщуватися у площині мембрани та групуватися з утворенням одного рецептора з одним механізмом сприйняття зовнішньоклітинного сигналу та його передачі в середину клітини.

Трансмембранні білки, які мають більше ніж одну трансмембранну ділянку, тобто більше одного разу перетинають ліпідний бішар, називаються **політопними**. Переважна кількість їх належить до групи рецепторів, які активують каскад хімічних реакцій, що забезпечують передачу зовнішньоклітинного сигналу середину клітини (детально буде розглянуто в наступних розділах).

Зауважимо, що більшість мембранних білків є інтегральними. Практично всі вони здатні до переміщення у площині мембрани, а деякі з них навіть на великій відстані. Зв'язок інтегральних мембранних білків з білками цитоскелету, різний за структурою та функціональним призначенням, зумовлює неоднакову здатність білків мембрани до латеральної дифузії. Крім того, інтегральні мембранні білки здатні за рахунок виникнення **білок-білкових** взаємодій досить тісно асоціюватись з периферійними білками мембрани.

Мембранні вуглеводи. Вуглеводи локалізовані переважно на протилежному від цитозолу боці мембран: у плазмолемі вони обернені в позаклітинне середовище, у внутрішньоклітинних мембранах – у середину оточеного мембраною компартменту. Представлені глікопротеїнами (протеогліканами) (близько 10 %) і гліколіпідами (5–26 %).

Кількісно та якісно вуглеводовмісні компоненти мембран суттєво варіюють залежно від типу клітин (а отже, і залежно від особливостей функціонування їхніх мембран).

В еукаріотичних клітинах вуглеводовмісні сполуки беруть участь, по-перше, в утворенні **глікокаліксу** – збагаченої вуглеводами периферійної зони на поверхні більшості еукаріотичних клітин (рис. 3.3). До складу глікокаліксу відносять також глікопротеїни та протеоглікани, які секретируються клітинами й адсорбуються на клітинній поверхні. По-друге, вуглеводовмісні сполуки відіграють не останню роль у визначенні антигенних властивостей клітин, у формуванні рецепторів гормонів і нейромедіаторів, а також **базальної мембрани** (специфічного еластичного примембранного шару).

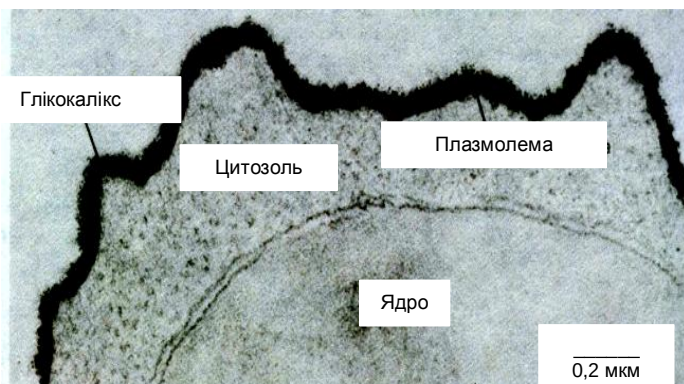


**Рис. 3.3 [9]. Електронограма поверхні лімфоциту.
Забарвлення рутенієвим червоним**

3.2. Принципи структурно-функціональної організації плазматичної мембрани еукаріотичної клітини

У плазматичних мембранах усіх еукаріотичних клітин ліпідний бішар визначає головні структурні особливості (як і в мембранах будь якого типу), тоді як білки відповідають за більшість мембранних функцій. Будучи специфічними рецепторами, ферментами, молекулами адгезії, білки виступають ключовими елементами механізмів міжклітинної сигналізації, розпізнання позаклітинного сигналу та його передачі в середину клітини, процесів формування клітинних ансамблів тощо. Більшість з білків плазмолеми, розташованих на поверхні мембрани, а також певні ліпіди зовнішнього боку ліпідного бішару ковалентно зв'язані з олігосахаридами, які залучаються до процесів міжклітинного розпізнання та розпізнання між клітинами й міжклітинним матриксом.

Визначені нами базові принципи структурно-функціональної організації плазматичної мембрани є загальними для всіх еукаріотичних організмів. Її особливості будови й "режим роботи" прямо пов'язані з "функціональним призначенням" клітини. Особливо актуальним це є для багатоклітинних еукаріотів, на "роботу" плазмолеми яких активно впливають не стільки фактори довкілля, як міжклітинні взаємодії у створених багатоклітинних ансамблях. До складу останніх можуть входити різні за будовою клітини: м'язові, нервові, епітеліальні тощо. Цей факт посилює гетерогенність (структурну й функціональну) поверхонь плазмолеми, які контактують з різними клітинними партнерами. Але навіть у межах відносно однорідної клітинної формації, наприклад в епітеліальній тканині, спо-

стерігається бічна поверхнева гетерогенність плазмолемми. В епітеліюцитах визначають *базальну клітинну поверхню*, якою клітини контактують з позаклітинним матриксом, *базолатеральну поверхню*, якою вони прикріплюються до інших клітин у тканинному комплексі, та *апикальну*, вільну поверхню, тобто у клітині виявляється певна полярність. Зрозуміло, що кожна з поверхонь, потрапляючи в різне "оточення", формує свою власну індивідуальність як структурну, так і функціональну.

Так, апікальні поверхні клітин можуть мати високоспеціалізовані мембранні вирости – **мікрворсинки**. Вони суттєво збільшують площу поверхні епітеліоциту, тим самим збільшуючи, як мінімум, його всисну спроможність. Кожна мікрворсинка має внутрішню основу (скелет) із зв'язаних між собою актинових філаментів, які, у свою чергу, зв'язані зі специфічними білками (які й забезпечують актиновому скелету можливість реалізувати своє фізіологічне призначення) і кортикальним цитоскелетом клітини. Останнє робить фізіологічні зміни поверхневого апарату клітини відчутними для внутрішньоклітинного середовища

Іншим варіантом спеціалізованої модифікації апікальної поверхні є формування **війок**, як, наприклад, в епітеліюцитах покриву дихального шляху в бронхіолах. Війки, як і мікротрубочки, мають високоорганізовану систему внутрішнього скелету, що в даному випадку складається з мікротрубочок, організованих за певним принципом. Організована таким чином апікальна поверхня добре пристосована для видалення непотрібних часток з дихальних шляхів (детально про будову мікрворсинок і війок йдеться у розділі "Цитоскелет").

Епітеліальні клітини у складі тканини залучені до формування епітеліальних покривів і вистилок, тобто клітинних утворень, найголовнішою з функцій яких має бути бар'єрна. Це вимагає від епітеліоцитів якнайперше формування міцного міжклітинного з'єднання. Реалізується воно за участю спеціалізованих *міжклітинних контактів*, до формування яких залученні спеціалізовані трансмембранні білки на базолатеральних поверхнях контактуючих клітин. Щільний контакт, локалізований між клітинами дуже близько до їхньої апікальної поверхні, адгезивний пояс, розташований нижче, – усе це міцно з'єднує клітини, запобігаючи подоланню розчинними речовинами епітеліального бар'єра. Але крім того, вони унеможливають латеральну дифузію мембранних білків апікальної поверхні в базолатеральну зону (і навпаки), білків, які створюють системи клітинного розпізнання, адгезії, транспорту тощо. Це посилює мембранну полярність (детально особливості структурно-функціональної організації міжклітинних контактів і мембранних рецепторів буде описано в наступних розділах). Не меншу індивідуальність виявляє і базальна поверхня епітеліоцитів, яка забезпечує їм можливість кріпитися до спеціалізованої базальної мембрани, яка підстилає епітеліальний пласт. З цього боку клітина також "озброєна" спеціалізованими трансмембранними лінкерами, що формують специфічні міжклітинні контакти.

3.3. Мембранний транспорт

Проникність плазматичної мембрани клітини. Гідрофобність внутрішньої області ліпідного бішару плазматичної мембрани робить її практично непроникним бар'єром для більшості полярних молекул. Ця властивість зумовлена необхідністю "утримання" всередині водорозчинного вмісту клітини. Однак для нормального метаболізму клітина весь час потребує наявності водорозчинних молекул, їхній транспорт здійснюють спеціалізовані шляхи перенесення. Окрім цього, клітинам необхідно регулювати внутрішньоклітинні концентрації певних іонів. Вибіркова проникність плазмолеми разом з механізмами активного транспорту через неї створюють суттєву різницю у іонному (і не лише) складові цитозолу та позаклітинної рідини. Це дозволяє клітинним мембранам запасати потенційну енергію у вигляді градієнтів концентрацій іонів. Такі трансмембранні іонні градієнти використовуються клітиною для здійснення різних транспортних процесів, для передачі електричних сигналів, а також для синтезу АТФ на внутрішньоклітинних мембранах органел (мітохондрій і пластид).

Пасивний транспорт. Теоретично будь-яка молекула за достатньо тривалий час здатна перетнути позбавлений білків ліпідний бішар за рахунок **дифузії за градієнтом концентрації**. Але слід зазначити, що чим менше сама молекула, чим більше вона гідрофобна й чим менше вона утворює водневих зв'язків, тим швидше вона дифундує через бішар мембрани. Так, клітинні мембрани здатні пропускати воду й малі неполярні молекули за рахунок простої фізичної дифузії. Що стосується заряджених молекул (незалежно від їхнього розміру), то для них ліпідний бішар є практично непроникним – "заважають" заряд і високий ступінь гідратації.

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

Однак клітинні мембрани проникні й для полярних молекул, таких як вуглеводи, амінокислоти, нуклеотиди та інші метаболіти, що повільно проходять крізь бішари. За перенесення подібних розчинених речовин через клітинні мембрани відповідають специфічні **мембранні транспортні білки**. Вони є в біологічних мембранах будь-якого типу. Білки цього типу виявляють специфічність щодо речовини, яку вони транспортують: певний білок "обслуговує" молекули лише певного класу (наприклад, неорганічні іони, вуглеводи або амінокислоти), а нерідко, і лише якогось одного певного представника молекул цих класів.

Вузьку специфічність транспортних білків було вперше наочно продемонстровано при вивченні бактеріальних мутацій: з'ясувалось, що певні мутації, які відбуваються в одному-єдиному певному гені призводять до зникнення у бактерій здатності транспортувати через плазмолему

певні вуглеводи. Аналогічні мутації відомі й у людини. Вони спричинюють різноманітні спадкові хвороби, пов'язані з порушенням транспорту певних речовин, наприклад, у нирках або кишечнику. Так, при *цистинурії* втрачається здатність транспортувати певні амінокислоти (включаючи цистин-зв'язаний дисульфідним зв'язком димер цистеїну) із сечовини або кишечнику в кров, що викликає накопичення цистину в сечовині й призводить до утворення цистинових "камінчиків" у нирках.

Результатом довгого й ретельного вивчення мембранних транспортних білків було встановлення того факту, що вони переважно є трансмембранними політопними білками, здатними забезпечувати шляхом формування наскрізних проходів перенесення специфічних речовин через мембрану без їхнього (речовин) прямого контакту з гідрофобною серцевиною ліпідного бішару.

Сьогодні достатньо добре вивчено і функціональну специфіку, і особливості локалізації мембранних транспортних білків, а також визначено два основні їхні класи: **каналутворювальні білки та білки-переносники** (транспортери або транслокатори), які різняться механізмом перенесення речовин через ліпідний бішар:

При одному з таких механізмів, між субодиницями каналутворювальних білків завжди наявний відкритий гідрофільний канал, доступний лише для речовин певного розміру й заряду. За іншою моделлю, подібний канал відкривається лише за умови специфічного зв'язування з одним із його боків специфічного ліганду – речовини, що має транспортуватися.

Білки-переносники ж здійснюють транспорт певного розчинного, специфічно зв'язаного з ними ліганду унаслідок певних зворотних конформаційних змін, спричинених самим процесом зв'язування ліганду з білком-переносником. У результаті таких конформаційних змін розчинений ліганд, що зв'язався з транспортером з одного боку мембрани, вивільнюється з іншого. Білки-переносники мають певну специфічність щодо речовини, яку вони переносять, при цьому сам процес перенесення не викликає, як правило, її модифікаційних змін. Вважають, що транспортери складаються переважно з декількох трансмембранних білкових субодиниць.

Деякі білки-переносники забезпечують просте перенесення певної розчинної речовини з одного боку мембрани на інший (таке просте перенесення називають **уніпортом**), інші працюють як **котранспортні системи**, в яких перенесення однієї розчинної речовини залежить від одночасного або послідовного перенесення іншої речовини або в тому самому напрямку (**симпорт**), або в протилежному (**антипорт**).

Зв'язування розчиненої речовини може бути специфічно блоковано як конкурентними інгібіторами, що конкурують за одну ділянку зв'язування, так і неконкурентними інгібіторами, що зв'язуються в іншому місці, але специфічно впливають на структуру переносника.

Але незалежно від механізму напрямку і швидкості перенесення речовини визначається різницею концентрацій цієї речовини по обидва боки мембрани, а саме перенесення здійснюється за участю спеціальної

допоміжної білкової системи, робота якої не вимагає енергетичних затрат. Такий тип транспорту речовин через мембрану є **пасивним** і називається **полегшеною дифузійю**.

Якщо молекула речовини, що транспортується, не має заряду, то напрямком пасивного транспорту визначається лише різницею концентрацій цієї речовини по обидва боки мембрани (**градієнтом концентрації**). Та якщо молекула заряджена, то на її транспорт впливають як градієнт концентрації, так і різниця електричних потенціалів на сторонах мембрани (**мембранний потенціал**). Разом концентраційний і електричний градієнти складають **електрохімічний градієнт**. Фактично, про що вже йшлося раніше, у будь-якій плазматичній мембрані є градієнт електричного поля, при цьому внутрішній бік мембрани заряджений негативно відносно зовнішнього. Такий мембранний потенціал полегшує проникнення в клітину позитивно заряджених іонів, але заважає проходженню всередину іонів, заряджених негативно.

Зрозуміло, що підвищення електрохімічного градієнта прискорює транспорт шляхом полегшеної дифузії. Однак при безперервному підвищенні концентрації ліганду з одного боку мембрани, тобто при безперервному підвищенні концентраційного градієнта, швидкість перенесення може зростати не безкінечно – виникає **явище насичення**. Подібне є характерним і для ферментів. Така аналогія дає можливість розглядати транслокази як "ферменти", що каналізують переміщення речовин через мембрани.

Іонофори. Існує група невеликих гідрофобних молекул, розчинних у ліпідах бішару мембран, здатних підвищувати їхню проникність для іонів. Більшість таких молекул, названих **іонофорами**, синтезується мікроорганізмами. Вони "екранують" заряд іону, який транспортують, що й забезпечує його проходження через гідрофобну внутрішню зону ліпідного бішару мембрани. Оскільки іонофори не пов'язані з джерелами енергії, сприяючи транспорту іонів за їхнім електрохімічним градієнтом, вони можуть розглядатися як "система сприяння" процесу полегшеної дифузії.

Існують декілька типів іонофорів. По-перше, це **рухливі переносники іонів**, прикладом яких є **валіноміцин**. Він переносить один іон K^+ (за електрохімічним градієнтом), захоплюючи його з одного боку мембрани, дифундуючи з ним через бішар, і вивільняючи його з іншого боку. Інший іонофор – A23187 – транспортує двовалентні катіони, такі як іони Ca^{2+} або Mg^{2+} . Але на відміну від попереднього, він, як правило, діє як іонобмінник – на кожний двовалентний катіон, що вноситься ним у клітину, він видаляє назовні два іони H^+ .

Другим типом іонофорів є **каналутворювальні іонофори**. Наприклад, **граміцидин А**, дві молекули якого з'єднуються в ліпідному бішарі мембрани, формуючи трансмембранний канал, що дозволяє моновалентним катіонам (іонам H^+ найлегше, іонам K^+ менш легко, а також Na^+ , хоча й важко) проходити мембраною за їхніми електрохімічними градієнтами. Створені димери є непостійними, вони весь час утворюються та дисоціюють, тому створений канал залишається відкритим лише протягом 1 с. Але за наявності великого електрохімічного градієнта граміцидин А допомагає пропустити

близько 20000 катіонів на один відкритий канал за 1 мс, що в 1000 разів більше, ніж може перенести за цей час одна молекула рухливого переносника.

Каналутворювальні білки. Каналутворювальні білки, як відомо, формують у мембранах пори, заповнені водою. Зауважимо, що такі пори, наприклад, у зовнішніх мембранах бактерій, у мембранах мітохондрій і хлоропластів відносно неспецифічні й великі за розміром, тоді як у плазматичних мембранах тварин і рослинних клітин вони менші й високоспецифічні. Майже всі білкові канали слугують для специфічного транспорту іонів, тому їх називають **іонними каналами**. Останні ніколи не працюють сумісно з джерелом енергії. Транспорт, який вони здійснюють, завжди пасивний і дозволяє специфічним іонам, головним чином Na^+ , K^+ , Ca^{2+} або Cl^- , дифундувати за їхнім електрохімічним градієнтом через ліпідний бішар.

Іонні канали всіх клітин є інтегральними мембранними білками, які регулюють надходження специфічних іонів через мембрану. Пори іонних каналів (специфічне молекулярне сито) вузькі, тому під час проходження через них іони скидають гідратну оболонку, утворюючи після цього слабкі електростатичні зв'язки з полярними амінокислотами вздовж стінок каналу. Оскільки втрата іоном молекули води є енергетично не вигідною, іон переходить по каналу лише тоді, коли електростатичні взаємодії компенсують втрату води. Через такий канал у бішарі можуть проходити лише іони певного розміру.

При збільшенні концентрації іонів з одного боку мембрани їхній потік через канал збільшується пропорційно, але до певного рівня. Усі відомі іонні канали можуть перебувати у двох конформаційних станах: по-перше, канал відкритий і іони переміщуються за градієнтом концентрації; по-друге, канал закритий і не пропускає іони. Зміна конформаційних станів каналів регулюється за **ворітним механізмом**, який зводиться до значних конформаційних змін білкових субодиниць каналів.

Регуляція конформаційного стану іонного каналу здійснюється різними способами. Так, відкриття каналів може відбуватися у відповідь на зв'язування специфічних хімічних сигнальних молекул (лігандів) зі специфічними доменами цих каналів (**лігандзалежні ворітні канали**). У ролі сигнальних лігандів при цьому можуть виступати позаклітинні посередники (**нейротрансмітери** або **нейромедіатори (нейротрансмітерзалежні канали)**), або внутрішньоклітинні посередники, наприклад, іони (**іонзалежні канали**), нуклеотиди (**нуклеотидзалежні канали**) або ГТФ-зв'язувальні регуляторні білки (**G-білокрегулюючі канали**).

В іншому разі активація каналів може здійснюватися за рахунок зміни мембранного потенціалу (**потенціалзалежні ворітні канали**). Або ж канали відкриваються у відповідь на механічне розтягнення мембрани (**канали, що відкриваються механічно або механочутливі канали**).

Отже, каналні "ворота", відкриваються лише на короткий час і лише у відповідь на специфічні збудження мембрани. При цьому активність різних каналів може змінюватися під впливом різних факторів, у результаті певних метаболічних реакцій, унаслідок фосфорилування, за дії певних токсинів і лікарських речовин.

Іонні канали, маючи вибірккову селективність, з одного боку, забезпечують підтримання внутрішньоклітинного гомеостазу, а з іншого – реалізуючи транспорт певних іонів лише у відповідь на дію певних сигнальних чинників, залучаються до процесів міжклітинної сигналізації. Так, нервова клітина, маючи до п'яти різних типів іонних каналів, за їхньою участю реалізує електричну збудливість (як і м'язові волокна) і здійснює в більшості випадків передачу електричних сигналів у нервовій системі.

Іонні канали виявлені не лише в електрично збудливих клітинах. Є вони в усіх тваринних клітинах, виявляються в деяких рослинних, а також у клітинах мікроорганізмів. Найпоширенішими серед них можна вважати **K⁺-канали**, виявлені в плазматичних мембранах майже всіх тваринних клітин. Оскільки для їхнього відкривання скоріш за все не потрібно специфічного мембранного збудження, їх ще називають *калієвими проточними каналами*. Вони є ключовими чинниками у процесі відновлення мембранного потенціалу спокою після збуджувальної деполяризації.

K⁺-канали функціонують як транслокази за будь-якого функціонального стану клітини. Завдяки цьому через них повертається в позаклітинне середовище певна кількість іонів K⁺, напрямок руху яких зумовлюється сильним концентраційним градієнтом, створеним Na⁺/K⁺-насосом (див. нижче). Вихід уже відносно невеликої кількості іонів K⁺ створює таку різницю потенціалів між боками мембрани, яка врівноважує за енергією концентраційний градієнт, настає динамічна рівновага, і подальша дифузія іонів K⁺ через канали зупиняється. У результаті зовнішньо- та внутрішньоклітинні концентрації цих іонів практично не змінюються, проте клітина набуває трансмембранного потенціалу. Припускають, що ці канали здатні пропускати й іони Na⁺, хоч і з меншою швидкістю, ніж іони K⁺.

Na⁺-канали. Ці канали виявлені лише в мембранах, здатних до збудження: у плазмолемі нервових клітин, м'язових волокон, сперматозоїдів, сенсорних клітин органів чуття тощо.

Відкриття цих каналів у будь-якій ділянці мембрани індукується зниженням (за модулем) трансмембранного потенціалу даної ділянки. Таке зниження потенціалу, як правило, є наслідком збудження сусідньої ділянки мембрани. Виключення становлять світлочутливі клітини сітківки ока, тут при збудженні Na⁺-канали закриваються.

Через відкриті канали іони Na⁺ переносяться всередину клітини (чи волокна) за електрохімічним градієнтом. Таким чином ззовні знижується надлишок позитивних зарядів, що створюється калієвими каналами. Тому різниця потенціалів (за модулем) знижується ще більше, що індукує відкриття ще закритих натрієвих каналів. Процес посилюється сам по собі й швидко розвивається.

Ca²⁺-канали. Активація кальцієвих каналів здійснюється за участю різних механізмів залежно від типу каналу: існують лігандзалежні, потенціалзалежні та механочутливі Ca²⁺-канали. При їх відкритті іони Ca²⁺ швидко надходять у цитозоль, різко збільшуючи свою локальну концентрацію та активуючи чутливі до них клітинні механізми. Потік іонів кальцію,

спрямований за ступеневим градієнтом у відповідь на зовнішні сигнали, є одним із засобів передачі сигналів через плазматичну мембрану.

Це робить зрозумілим той факт, що концентрація вільних іонів Ca^{2+} зростає короткочасно: для підтримання чутливості такого сигнального механізму концентрація Ca^{2+} у цитозолі повинна підтримуватися на досить низькому рівні та в разі її сигнал-індукованого зростання швидко й ефективно повертатися до початкового рівня.

Відновлення "базової" концентрації іонів кальцію забезпечується системами відкачування Ca^{2+} з цитозолу специфічними Ca^{2+} -насосами, такими як **$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -антипорт**. Напрямок руху кальцію через $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -антипорт (котранспортну систему, в якій транспортування іонів Na^+ в одному напрямку залежить від перенесення іонів Ca^{2+} у протилежному) може бути спрямованим як усередину клітини, так і ззовні, залежно від градієнта іонів Na^+ (тому активність цього насоса частково залежить від Na^+/K^+ -насоса, що є головним чинником у підтриманні градієнта іонів Na^+ (див. нижче)). Однією з головних властивостей $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -насоса є його здатність сприяти відновленню внутрішньоклітинної концентрації кальцію після нейронної деполяризації. Після деполяризації плазматичної мембрани клітини, зумовленої підвищенням внутрішньоклітинної концентрації Na^+ , початковий потік кальцію через цей антипорт буде спрямований усередину клітини, тоді як після реполяризації, чому сприяє функціонування Na^+/K^+ -насоса, потік іонів Ca^{2+} спрямовується назовні.

Ca^{2+} -АТФаза, специфічний ензим плазматичної мембрани, який складається з одного єдиного поліпептиду, що здійснює sprzęжене з гідролізом АТФ відкачування іонів Ca^{2+} з цитозолу, також залучений до механізму підтримання кальцієвого гомеостазу в клітині. Висока активність АТФази частково регулюється **кальмодуліном**, цитозольним кальційзв'язувальним білком з високим ступенем спорідненості з іонами Ca^{2+} . Кальмодулін можна вважати внутрішньоклітинним рецептором для цих іонів, він бере участь у більшості процесів, які ними регулюються.

Активний транспорт. Цей вид мембранного транспорту здійснюється за участю спеціального транспортного білка-переносника – **транслокази**. На відміну від полегшеної дифузії, до реалізації якої залучені також специфічні білки-транспортери, активний транспорт відбувається **проти градієнта концентрації** речовини, що транспортується. Таке перенесення розчинної молекули через мембрану потребує затрати енергії, а це означає, що транспортна система має здійснювати і енергетичне забезпечення.

Проблема енергозабезпечення активного транспорту може вирішуватися декількома шляхами. По-перше, sprzęженням перенесення речовини з реакцією, що забезпечує виділення енергії, наприклад, гідролізом АТФ. При цьому сама транслоказа може мати АТФазну активність (як у випадку Ca^{2+} -насоса в цистернах саркоплазматичного ретикулума м'язових волокон). Або ж гідроліз АТФ здійснює більш складна послідовність реакцій, sprzęжених з перенесенням речовини. У першому, а особливо у другому випадках механізм фосфорилування, будучи достатньо складним, ретельно контро-

люється. До його здійснення залучається низка окремих мембранних білків, а також донор високоенергетичного фосфату (фосфоенолпіруват).

У плазматичних мембранах аеробних бактерій, у внутрішніх мембранах мітохондрій і тилакоїдних мембранах хлоропластів джерелом енергії для активного транспорту слугує також окисно-відновний процес. Так, у мітохондріях під час переміщення електронів по так званому дихальному ланцюгу (ланцюгу ферментних комплексів на внутрішньому боці внутрішньої мітохондріальної мембрани) вивільнюється енергія, яка використовується для транспорту H^+ через внутрішню мембрану мітохондрії (тобто для відкачування протонів з матриксу в міжмембранний простір). Створений таким чином протонний градієнт дає необхідну енергію для наступного синтезу АТФ специфічними ферментами АТФсинтетазами. Останні, як і транспортні АТФази, здатні працювати в обох напрямках залежно від умов: або гідролізувати АТФ і качати H^+ через мембрану в міжмембранний проміжок, або синтезувати АТФ при проходженні протоку протонів через молекули ферментів у зворотному напрямку.

Прикладом використання сонячного світла як джерела енергії у процесі активного транспорту є фотоактивуючий протонний насос у *Holobacterium*. Певна ділянка плазмолем ("пурпурна мембрана") бактерій *Holobacterium halobium* містить молекули одного білка – **бактеріородопсину**, кожна молекула якого також містить одну поглинаючу світло простетичну групу або хромофор (який називають **ретиналем**). Ця простетична група, подібна до вітаміну А та ідентична хромофору, виявленому в родопсині паличок сітківки ока у хребетних, ковалентно зв'язана з бічним ланцюгом лізину у специфічному білку. При активації світлом збуджений хромофор викликає конформаційні зміни в білку, у результаті чого два протони переносяться з внутрішньої поверхні клітини на зовнішню. Унаслідок такого перенесення в клітині виникає електрохімічний (протонний) градієнт, який забезпечує синтез АТФ за допомогою АТФсинтетази плазматичної мембрани.

Принципово іншим підходом у розв'язання проблеми енергозабезпечення активного транспорту через мембрану можна вважати спряження перенесення певної речовини X (проти градієнта концентрації) з пасивним перенесенням іншої речовини Y (за градієнтом її концентрації). У цьому випадку вивільнення енергії під час переміщення речовини Y повинно переважати затрати енергії на переміщення речовини X. Такий підхід може реалізуватися такими шляхами:

- по-перше, шляхом симпорту: обидві речовини переносяться транслоказаю в один бік. Молекули Y дифундують (полегшена дифузія) за градієнтом своєї концентрації й "тягнуть" за собою сполуку X. Прикладам такої транспортної "співдружності" може бути реабсорбція глюкози в каналцях нирок, яка проникає в епітеліальну клітину шляхом симпорту з іонами натрію;

- по-друге, шляхом антипорту: речовини переносяться транслоказаю у протилежних напрямках (молекула Y обмінюється на молекулу X). Так, майже всі клітини хребетних мають у складі своєї плазмолем

Na⁺/H⁺-переносник-обмінник, який відіграє ключову роль у підтриманні внутрішньоклітинного рівня рН (як правило, на рівні 7,1–7,2). Цей переносник забезпечує спряження вивільнення в позаклітинне середовище шляхом полегшеної дифузії іонів H⁺ (видаляється надлишок іонів H⁺, утворених у результаті клітинних реакцій окиснення) з енергетично ємним (активним) транспортом іонів Na⁺ до внутрішньоклітинного середовища.

Робота Na⁺/H⁺-обмінника регулюється рівнем рН: при його зростанні він інактивується, при зниженні – активність обмінника збільшується. Регуляція зумовлена процесом зв'язування іонів H⁺ з регуляторною ділянкою обмінника, локалізованою на цитоплазматичному боці плазматичної мембрани. Na⁺/H⁺-обмінник залучається не лише до підтримання внутрішньоклітинного рівня рН (що є життєво важливим для клітини), але й до складних процесів перетворення зовнішньоклітинних сигналів на внутрішньоклітинні.

Слід підкреслити, що в еукаріотів антипорт, подібний до Na⁺/H⁺-обмінника, досить рідко використовується як засіб енергозабезпечення трансмембранного перенесення. Поширенішою є система, в якій шляхом антипорту одразу обидві речовини транспортуються проти градієнтів своїх концентрацій. Джерелом енергії при цьому є АТФ. Прикладом може слугувати Na⁺/K⁺-насос, виявлений у плазматичних мембранах практично всіх тварин. Na⁺/K⁺-АТФаза активно качає іони Na⁺ назовні, а іони K⁺ усередину клітини проти їхніх електрохімічних градієнтів: при гідролізі всередині клітини кожної молекули АТФ три іони Na⁺ викачуються з клітини і два іони K⁺ накачуються у клітину.

Na⁺/K⁺-насос є інтегральним глікопротеїном, що складається з чотирьох субодиниць – двох α (по 95000 Да) і двох β (по 40000 Да), при цьому останні локалізовані на зовнішньому боці мембрани й саме вони пов'язані з олігосахаридними ланцюгами. Завдяки діяльності цього комплексу створюється різко асиметричний розподіл іонів між позаклітинним і внутрішньоклітинним середовищем: концентрація іонів Na⁺ значно вище поза клітиною, а іонів K⁺ – усередині, що є необхідним для реалізації життєво важливих клітинних процесів. Так, створений насосом градієнт іонів Na⁺ регулює об'єм клітини за рахунок осмотичних ефектів, транспорт вуглеводів та амінокислот в клітину, забезпечує поширення потенціалу дії у електрично збуджувальних нервових клітинах тощо. Тому не дивно, що майже третина всієї енергії, необхідної для життєдіяльності тваринної клітини, витрачається саме на роботу цього насоса.

Na⁺/K⁺-насос може працювати і в протилежному напрямку, забезпечуючи синтез АТФ. Якщо градієнти концентрацій іонів Na⁺ і K⁺ збільшити так, що енергія їхніх електрохімічних градієнтів буде вищою за хімічну енергію гідролізу АТФ, то іони будуть проходити крізь мембрану за їхнім електрохімічним градієнтом, а АТФ синтезуватиметься з ортофосфату й АДФ.

Везикулярний транспорт. Особливість структурної організації мембрани, специфіка її хімічного складу забезпечує здійснення ще одного, принципово відмінного від попередніх, типу транспорту речовин через мембрану. Пакуючись особливим чином у мембранний пухирець (везикулу), речовина здатна перетинати мембрану в результаті здійснення специфічних цитозів.

Ендоцитоз. Ендоцитоз – це везикулярне захоплення рідини, макромолекул або невеликих часток у клітину. Можна виділити, як мінімум, три механізми ендоцитозу: піноцитоз, або клатриннезалежний ендоцитоз, рецепторно-опосередкований ендоцитоз, або клатринзалежний ендоцитоз, фагоцитоз.

Піноцитоз є конститутивним процесом, який забезпечує перенесення речовин рідинної фази позаклітинного середовища: води, дрібних молекул, розчинних білків. На поверхні клітини формуються дрібні інвагінації, які перетворюються на **піноцитозні пухирці** а після відщеплення (уже всередині клітини) зливаються з утворенням первинних (ранніх) ендосом. Інколи пухирці, що формуються, є великими макропіноцитозними утвореннями, які створюють складчастість мембрани.

Процес піноцитозу може бути досить інтенсивним: у деяких клітинах до 100 % плазматичної мембрани поглинається і відновлюється протягом години. З часом утворені ранні ендосоми (периферійні) зміщуються у глибокі клітини та зливаються з первинною власне лізосомою (перинуклеарною) з утворенням вторинної власне лізосоми гетерофагічного типу (які інколи називають пізніми ендосомами, або мультивезикулярними тільцями).

Рецепторно-опосередкований ендоцитоз є специфічним процесом перенесення молекул, до якого залучаються специфічні поверхневі рецептори. Розташування рецепторів у мембранах різних клітин і характер їхнього зв'язування з певними речовинами є вибічковими, тож рецепторно-опосередкований ендоцитоз забезпечує вибіркове зв'язування молекул у позаклітинному розчині. При цьому, якщо специфічний рецептор після зв'язування ліганду й поглинання не повертається до плазмолемі, то клітина стає рефрактерною до цього ліганду.

Рецепторно-опосередкований ендоцитоз є принципово відмінним від звичайного піноцитозу й фагоцитозу. Цим шляхом у клітину надходять речовини двох функціонально різних груп. Перша – це *ліпопротеїни низької щільності, транспортні білки*, які доставляють поживні речовини, білок *трансферрин*, що транспортує залізо тощо. До другої групи молекул належать *фактори росту*, у тому числі *тромбоцитарний і епідермальний, інсулін* та деякі з цитокінів.

Початкові етапи процесу ендоцитозу для молекул обох груп є однаковими. Лігандзв'язувальні рецептори накопичуються у специфічних, невеликих за розміром поглибленнях плазмолемі – **облямованих ямках** – вкритих з боку цитозолу **клатрином**, після чого ямки формують **облямовані пухирці**. Клатринова оболонка пухирця відділяється, вивільнений клатрин повертається до плазматичної мембрани, а оголений пухирець (первинна ендосома) зливається з перинуклеарною ендосомою з утворенням наприкінці мультивезикулярного тільця.

Транспортування молекул другої групи має принципову відмінність, пов'язану з тим, що процеси, які проходять зі зв'язуванням ліганду з рецептором, спричинюють клітинну відповідь. А отже, їхній ендоцитоз необхідний для видалення їхніх власних рецепторів з поверхні плазмолемі та зменшення здатності клітин відповідати на ліганд.

Слід зауважити, що деякі рецептори не рухаються до облямованих ямок до зв'язування з лігандом. Так, епідермальний фактор росту в незв'язаному стані дифузно розподіляється по поверхні клітини. Після утворення ж комплексу ліганд – рецептор, він швидко рухається до облямованої ямки й поглинається. Навпаки, інколи незв'язані рецептори рухаються до утвореної ямки і поглинаються без зв'язування з лігандом. Це характерно для рецепторів транспортних молекул, таких як ліпопротеїни низької щільності, трансферрин, сіалоглікопротеїн тощо.

І нарешті, **фагоцитоз** визначається як поглинання клітинами відносно великих (до 0,5 мкм) часток за допомогою *клатриннезалежного, актинзалежного механізму*. Він запускається при взаємодії молекул часток з поверхневим рецептором клітини. Фагоцитоз характерний і для одноклітинних, і для багатоклітинних організмів. Він є ключовим механізмом захисту організму-хазяїна від мікроорганізмів, механізмом загоєння ран і оновлення тканин при їхньому старінні чи пошкодженні, механізмом захисту мікроорганізмів від прямої руйнівної дії антитіл і білків комплементу та цитотоксичних клітин.

Фагоцитоз у ссавців здебільшого здійснюється клітинами трьох типів: нейтрофілами, моноцитами й макрофагами. На поверхні цих клітин виявлені спеціальні рецептори, призначені для розпізнання неантигензв'язувальної ділянки імуноглобулінів або інших молекул, які належать до імунної системи організму-хазяїна, і проведення процесу фагоцитозу. Антитіла й білки комплементу в плазмі оточують поверхню клітини мікроорганізму (цей процес має назву *опсонізації*), що й спричинює її зв'язування з рецептором фагоциту й сам фагоцитоз. Крім згаданих "професійних" фагоцитів, деякі інші клітини також здатні до фагоцитозу, наприклад, епітеліоцити й фібробласти. Останні, не маючи поверхневих рецепторів професійних макрофагів, використовують для зв'язування рецептори для білків позаклітинного матриксу – фібронектину, ламініну тощо.

Поглинання опсонізованих часток здійснюється за механізмом *блискавки*: частка спочатку зв'язується з першим (Fc) рецептором на поверхні фагоциту, після чого здійснюється послідовне з'єднання з іншими поверхневими рецепторами клітини, що й призводить до утворення фагосоми.

Поглинуті фагосоми, зливаючись під плазматичною мембраною, утворюють ранні (периферійні) ендосоми. В їхній порожнині рН дорівнює 6,0, що призводить до розриву зв'язку між лігандом і рецептором. Рецептори при цьому можуть відділятися й шляхом везикулярного транспорту повертатися до плазматичної мембрани, або разом з лігандом перетравлюватися в перинуклеарній ендосомі.

Однак деякі з комплексів ліганд–рецептор при зниженому рН не розпадаються, а відокремлюються в окремі пухирці, які зливаються потім з іншими внутрішньоклітинними мембранами або певними ділянками плазмолемі. Цей процес назвали *трансцитозом*, він є специфічним механізмом транспортування певних екзогенних молекул до різних мішеней усередині клітини або їхнього переміщення від одного шару клітин до інших у тканинах. При трансцитозі ні ліганд, ні рецептор не руйнуються, вивільнений наприкінці рецептор повертається до вихідної точки за

новим лігандом. Прикладом такого процесу може слугувати транспорт материнських імуноглобулінів через епітеліоцити кишечника новонародженого. Материнські антитіла транспортуються в клітини молочної залози та з молоком потрапляють в організм дитини. Антитіла зв'язуються зі своїми рецепторами, сортуються в ранні ендосоми епітеліоцитів кишечника й за допомогою трансцитозу проходять їх наскрізь у складі пухирців, що відокремились від ранніх ендосом. Ці транспортні пухирці зливаються з плазмолемою на базолатеральній поверхні клітини, де рН наближається до нейтрального, це й спричинює від'єднання ліганду від рецептора та вивільнення в позаклітинний простір. Імуноглобуліни збираються в лімфатичні судини та потрапляють у кров новонародженого.

Екзоцитоз. Екзоцитоз – протилежний ендоцитозу за напрямком процес виведення утворених клітиною макромолекул у позаклітинне середовище (секреція) за участю транспортних везикул. Клітинні механізми транспорту білків і злиття мембран, яке забезпечує процес секреції, однакові для всіх видів організмів, від дріжджів до ссавців.

Більшість клітин, залежно від їхньої структури та функції, продукують пептидні гормони, травневі ферменти, антитіла, білки сироватки, фактори росту та інші молекули, що секретуються. Наприклад, фібробласти секретують такі компоненти базальної мембрани, як колаген, ламінін і фібронектин. Згадані процеси забезпечуються шляхом **конститутивної секреції**: білки постійно переміщуються в оточенні мембранних пухирців від трансїтки Гольджі (у самому апараті Гольджі призначені на експорт білки зазнають остаточної модифікації, а в спеціалізованій зоні органели вони вибірково пакуються в різні за призначенням транспортні пухирці, про що детально йтиметься в наступних розділах) до плазмолеми, з якою вони зливаються та вивільнюють свій вміст шляхом екзоцитозу в міжклітинний проміжок. Конститутивна секреція є постійним процесом, що не вимагає зовнішніх для клітини сигналів (і не залежить від наявності іонів кальцію).

В ендокринних і екзокринних клітинах, а також нейронах здійснюється **регульована секреція**. У цих клітинах білки накопичуються протягом декількох годин (днів) у великих за розміром гранулах (до 0,5 мкм у діаметрі), які накопичуються під плазмолемою. Ці гранули не зливаються з плазмолемою і не вивільнюють свій вміст, доки клітина не буде активована для екзоцитозу за допомогою зовнішніх стимулів, гормональних або нервових.

Сигнальний стимул викликає тимчасовий приток іонів кальцію через плазматичну мембрану, що збільшує цитозольну концентрацію Ca^{2+} до 1 мкмоль/л. Це тимчасове збільшення концентрації Ca^{2+} активує інші внутрішньоклітинні ефекторні молекули, що призводить до злиття гранулярної та клітинної мембран і вивільнення вмісту гранул у внутрішньоклітинний проміжок. Регульована секреція вимагає обов'язкової присутності іонів Ca^{2+} , а отже, зв'язування позаклітинного кальцію знижує стимульовану секрецію ендокринних клітин і нейронів.

Слід підкреслити ще один важливий аспект, пов'язаний з процесами екзоцитозу – участь у формуванні транспортних пухирців спеціалізованих білків, зокрема клатрину. Механізм утворення облямованих пухирців

є характерним на лише, навіть не стільки, для процесів секреції, як для ендоцитозу. Уже було розглянуто процес, за яким поглинання ліганд-рецепторних комплексів з поверхні плазматичної мембрани відбувається шляхом утворення облямованих ямок, які потім перетворюються на облямовані пухирці. Специфічні комплекси білка клатрину формують кошикоподібну структуру, в яку і втягується мембранний бішар. У випадку плазматичної мембрани (при ендоцитозі) позаклітинна речовина зв'язується з поверхнею пухирця, що формується. Речовина ж із порожнини апарату Гольджі (при екзоцитозі), навпаки, втягується в пухирець, який формується на внутрішньоклітинній мембрані. Таким чином, вкриті клатрином пухирці залучені до транспорту речовин від плазматичної мембрани до ендосом і від апарату Гольджі до плазматичної мембрани.

Клатрин є гексамером, який складається з трьох великих і трьох дрібніших поліпептидів. Така гексамерна структура, названа *трискеліоном*, і утворює кошикоподібну структуру, яка з'єднується з 5–6 іншими клатриновими одиницями. Клатриновий "кошик", як показав електронномікроскопічний аналіз, може мати пентагональну або гексагональну конфігурацію, однак залишається нез'ясованим, що ініціює його утворення. Відомо лише, що процес ендоцитозу супроводжується потовщенням мембрани в місцях його формування. Інвагінація мембрани в кошик формує мембранну ямку. Продовження групування молекул клатрину закінчується відщепленням від мембрани повністю облямованого пухирця, після чого клатриновий кошик руйнується. Припускають, що процес цього руйнування є енергозалежним і в його реалізації не останню роль відіграють іони Ca^{2+} .

Для реалізації цільового надходження відокремлених від донорної мембрани пухирців (але не їхнього довільного з'єднання з довільною мембраною) кожний пухирець має спеціальну рецепторну молекулу. Акцепторна ж (цільова) мембрана, у свою чергу, також має відповідний спеціальний рецептор. Для злиття мембрани пухирця з акцепторною мембраною необхідним є, крім цього, також спеціальний *білок злиття* – *фузійний білок*. Він дестабілізує гідрофільні сили в місці взаємодії двох мембран. Коли дві мембранні поверхні наближуються одна до одної, гідрофобний домен білка злиття направляє молекули води в різні боки й зовнішні ліпідні шари зливаються один з одним. Те саме відбувається і при злитті внутрішніх шарів. Але незважаючи на те, що фузійний білок ссавців ідентифіковано, фізико-хімічні аспекти мембранного злиття ще не з'ясовані.

3.4. Патологія плазматичної мембрани

До патологічних змін плазмолемі структурного характеру відносять, поперше, *посилене везикулоутворення* (*посилений ендоцитоз* – "мінус-мембрана"). Ця зміна, як правило, спричинена зростанням проникності плазматичної мембрани й призводить до дефіциту її поверхні. У деяких випадках при набряку клітини мікровезикули можуть мати переважно крайове розташування на плазмолемі, що і є ознакою значного набухання клітини і, від-

повідно, її плазмолемі. У разі подальшого зростання набряку повністю використовується "резерв" плазматичної мембрани, унаслідок чого порушується її цілісність, що закінчується некрозом клітини. Крім того, за допомогою мікропіноцитозних везикул до клітини можуть потрапляти віруси.

Протилежним щодо дії є збільшення поверхні плазмолемі ("**+-мембрана**") за рахунок мембран мікропіноцитозних везикул, що є ознакою стрімкого набухання клітини. Загальна поверхня плазмолемі натягується і збільшується.

Утворення мікроклазматозних виростів – мікроклазматоз і клазматоз – це відокремлення частини цитоплазми, оточеної плазматичною мембраною з наступним її розпадом і реутилізацією в позаклітинному середовищі. **Клазматоз** (гр. клазма – фрагмент) уперше описав ще в 1890 р. Ранв'є як явище, при якому вирости клітинної поверхні відриваються від поверхні й потрапляють у міжклітинний простір. Як мікроклазматоз, так і клазматоз викликають різні фактори впливу на клітину (антигени, імунні комплекси, гіпоксія тощо).

Потовщення структурних компонентів плазмолемі як результат порушення проникливості мембран. Однією з причин цієї патології є зменшення кількості іонів кальцію в міжклітинній рідині, що викликає зміни натрій-калієвого обміну, унаслідок чого в клітині накопичується рідина. Іншою причиною може бути зменшення кількості фосфоліпідів мембрани в результаті посилення дії фосфоліпаз.

Утворення в плазмолемі широких мікропор. У нормі їхня ширина не перевищує 0,4–0,6 нм, тоді як при пошкодженні вона може досягати 9 нм, що призводить до ізоосмотичного набухання клітини, її перерозтягування і в подальшому – до розриву її мембрани.

Локальні пошкодження плазматичної мембрани (до 1 мкм) можуть бути пов'язані як з лізисом мембран, так і з пошкодженням фосфоліпідів. Причиною цього може бути дія фосфоліпаз або вплив значної кількості продуктів пероксидного окиснення ліпідів.

Збільшення об'єму клітини за рахунок надходження великої кількості води у зв'язку з аномалією осмотичного тиску супроводжується появою щілин і навіть розривів у мембрані. Якщо останні не збільшуються, то щілини закриваються і зникають.

Зміни рухливості мембран і форми клітин. Розрізняють два типи змін, які пов'язані з порушенням рухливості мембран: випинання мембрани назовні – *екзотропія* і в середину цитоплазми – *езотропія*. При екзотропії мембрана, що випинається в позаклітинний простір, утворює оточену мембраною структуру. При езотропії виникає порожнина, оточена мембраною. Іншими чинниками зміни форми клітин можуть бути спрощення клітинної поверхні (втрата малих відростків), деформації чи атрофії спеціалізованих структур (атрофія мікрворсинок ентероцитів при хворобах тонкої кишки з розвитком синдрому мальабсорбції).

Отже, пошкодження плазмолемі призводять до розладу активного мембранного транспорту: концентрація інтра- й екстрацелюлярного на-

трію і калію вирівнюється, у клітину проникають низькомолекулярні аніони, а потім і катіони, підвищується внутрішньоклітинний осмотичний тиск.

Структурним виявом порушення водно-електролітного обміну є набуття й набряк клітини. Зміни активного мембранного транспорту можуть призвести також до вибіркового проникнення в клітину деяких продуктів обміну (білків, ліпідів, вуглеводів, пігментів) і накопичення їх після виснаження ферментних систем, які мали б метаболізувати ці продукти. Так, розвиваються *клітинні дистрофії інфільтраційного генезу* (жирова дистрофія гепатоцитів при гіперліпідеміях; гіаліново-крапельна дистрофія нефроцитів при нефротичному синдромі). Інфільтрація – надмірне проникнення продуктів обміну з крові з подальшим накопиченням. При значному пошкодженні плазмолемі та проникненні в клітину токсичних або біологічно активних речовин можлива деструкція структурних компонентів клітини з вивільненням хімічних речовин, які входять до їхнього складу (білків, ліпідів та ін.). Це веде до їхнього накопичення в клітині. У цих випадках виникають *клітинні дистрофії декомпозиційного генезу* (жирова дистрофія міокарда при дифтерії, гідропічна дистрофія гепатоцитів при вірусному гепатиті).

Інфільтраційний механізм під час розвитку дистрофії може змінюватися декомпозиційним. В окремих випадках при пошкодженні плазмолемі в цитоплазму проникають речовини, які порушують синтез того чи іншого метаболіту, унаслідок чого виникають різні види клітинних дистрофій. У разі значних пошкоджень плазмолемі настає *некроз клітини* (змертвіння, загибель клітин і тканин у живому організмі). Обмежене (локальне) пошкодження може бути відновлене, однак з деякою втратою мембрани (наприклад, в еритроцитах цей процес призводить до формування мікросфероцитів).

Причинами пошкодження цитоплазматичної мембрани можуть бути, по-перше, дія фізичних і хімічних факторів (висока й низька температура, хімічні речовини тощо). По-друге, утворення вільних радикалів (дуже нестабільних частинок з непарною кількістю електронів на зовнішній орбіті), які містять активований кисень, з наступною реакцією між ними й ліпідами мембрани клітини (пероксидне окиснення ліпідів), у результаті чого вивільнюється надмірна енергія. По-третє, активація системи комплементу. Комплемент – це система плазматичних білків (C1–C9), які існують у неактивній формі й становлять близько 10 % глобулінів крові. При активації його кінцеві продукти, ймовірно комплекси C5b, C6, C7, C8 і C9 виявляють фосфоліпазну активність, тобто можуть ферментативно пошкоджувати мембрану. Це явище (фіксація комплементу та його активація) – важливий компонент імунної відповіді, за якої знищуються клітини, розпізнані як "чужі". По-четверте, лізис ферментами. Наприклад, панкреатичні ліпази, які з надлишком виділяються при гострому панкреатиті, і ферменти, які синтезуються *Clostridium perfringens* (один із збудників газової гангрені), викликають широкий некроз мембран. По-п'яте, лізис вірусами, який здійснюється як шляхом прямого вставлення цитопатичних вірусів у мембрану клітини, так і опосередковано – через імунну відповідь на вірусні антигени, які розташовані на поверхні інфікованих клітин.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ

1. Який хімічний склад біологічних мембран?
2. Який загальний принцип організації біологічних мембран?
3. Дайте загальну характеристику мембранних ліпідів.
4. Назвіть властивості мембранних ліпідів.
5. Перерахуйте способи з'єднання білків з мембранами.
6. Чим відрізняються інтегральні та поверхневі білки клітинних мембран?
7. Охарактеризуйте вуглеводний компонент біологічних мембран.
8. Яку роль виконують вуглеводи мембран?
9. З чим пов'язана асиметрія біологічних мембран?
10. У чому полягає суть визначення мембрани, як твердо-каркасно-рідинно-мозаїчної системи?
11. Назвіть функції біологічних мембран.
12. Які особливості хімічного складу плазмолем?
13. Чим відрізняється плазмолема від ендоплазматичних мембран?
14. Назвіть основні функції плазмолем.
15. Як залежить жорсткість мембрани від її хімічного складу?
16. Як зміняться властивості плазмолем у разі зміни в ній кількості холестеролу? Чому?
17. Як зміняться властивості плазмолем при зміні в ній кількості фосфоліпідів, до складу яких входять ненасичені жирні кислоти? Чому?
18. Як виглядає плазматична мембрана на електроннограмі (збільшення $\times 20000$ і більше) при контрастуванні осмієвою кислотою? Чим це зумовлено?
19. Що таке глікокалікс, де він розташований, чи є він обов'язковим компонентом усіх мембран, яка його хімічна природа, як він з'єднаний з білками й ліпідами плазмолем?
20. Чим відрізняється пасивний і активний транспорт через біологічні мембрани?
21. За допомогою чого відбувається полегшена дифузія через клітинну мембрану?
22. Зовні клітини містяться іони, концентрація яких більша у внутрішньому середовищі клітини. Чи можуть вони проникнути в клітину? Якщо можуть, то яким чином?
23. Перерахуйте іони, вміст яких у цитоплазмі в нормі більший, ніж у навколишньому середовищі й навпаки.
24. Яка відмінність між іонними каналами та іонними насосами?
25. Чи потрібна енергія для виконання функції іонними каналами? Відповідь обґрунтуйте.
26. Чи потрібна енергія для виконання функції іонними насосами? Відповідь обґрунтуйте.
27. Типи ендозитозу та їхнє фізіологічне значення.
28. Яким чином до клітини можуть надходити макромолекули? Опишіть ці процеси.
29. З чим пов'язана патологія плазматичних мембран?
30. Які типи патології мембран ви знаєте?

Розділ 4

ЦИТОЗОЛЬ

4.1. Хімічний склад і головні функції цитозолю

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

$$\text{ЯЦС} = V_{\text{я}} / (V_{\text{к}} - V_{\text{я}}),$$

де $V_{\text{я}}$ – об'єм ядра, $V_{\text{к}}$ – об'єм клітини.

Уперше існування залежності об'єму цитоплазми від об'єму ядра було виявлено Р. Гертвігом у 1908 р. Ним же був запропонований принцип визначення ядерно-цитоплазматичного співвідношення.

Цитоплазма є складною системою, до якої належать цитозоль, цитоскелет, органели і включення. Існування цитоплазми як системи та адекватні умовам довкілля її системні зміни є можливими лише в разі узгодженого співіснування та скоординованої дії всіх її складових елементів.

Цитозоль. Цитозоль, який називають також *гіалоплазмою* (від *gr. hyalos* – скло) – прозорою плазмою, клітинним матриксом або основною речовиною, становить близько 55 % від загального об'єму клітини. Він є складною колоїдною системою клітини, її справжнім внутрішнім середовищем. Саме в цитозолі здійснюються реакції проміжного обміну – комплексу хімічних реакцій, за допомогою яких клітина розщеплює одні малі органічні молекули й синтезує інші, які відіграють роль попередників макромолекул. Крім того, цитозоль здатний до так званих динамічних переходів, пов'язаних з відповідними до фізіологічних потреб клітини змінами агрегатних станів.

Хімічний склад цитозолю. Для вивчення хімічного складу цитозолю застосовують біохімічні методи. Одержують гомогенат клітин, який шляхом диференційного центрифугування розділяють на фракції. Після осаджування всіх важких компонентів клітини залишається рідина, яка і є рідинним компонентом цитоплазми – цитозолем.

Основною хімічною речовиною цитозолу є вода, кількість якої може змінюватись залежно від віку організму та функціонального стану клітин. В ембріональних клітинах кількість води може досягати 90 %, при старінні її кількість у клітинах може зменшуватись до 45–55 %. Близько 20 % цитозолу складають білки, здебільшого ферменти, які каталізують реакції проміжного обміну (тому цитозоль і називають системою проміжного обміну клітини). Крім ферментів, цитозоль містить білки, які зумовлюють *процесинг* (дозрівання) синтезованих білків, *стресорні білки*, а також *шаперони*, білки елементів цитоскелету (актин, тубулін) тощо.

У цитозолі можуть накопичуватись ліпіди, в основному нейтральні жири, які утворюють краплиноподібні включення. Присутні також жирні кислоти та спирти.

Вуглеводи представлені моно-, ди- й полісахаридами. Полісахариди (крохмаль у рослинних клітинах і глікоген у тваринних), як і нейтральні жири, утворюють включення.

Цитозоль є місцем скоординованої "співпраці" різних типів молекул РНК – інформаційних (іРНК), рибосомних (рРНК) і транспортних (тРНК), існуючих, як правило, у комплексі з білками. іРНК може формувати разом із специфічними білками невеликі гранули – *інформосоми*. Останні можуть перебувати в цитозолі у вільному стані або бути зв'язаними з рибосомами. рРНК у цитозолі входить до складу субодиниць рибосом. Найімовірніше, що й тРНК утворює комплекси з білками. Так, комплекси такого типу були виявлені в яйцеклітинах амфібій під час овогенезу. У таких рибонуклеопротейдних комплексах тРНК може зберігатися достатньо довго: як показано для амфібій – аж до стадії гастрюляції ембріогенезу. На сьогоднішній день у цитозолі виявлені й невеличкі кільцеві молекули ДНК, так звані *еукаріотичні плазміди*. Механізм їхнього утворення та роль не в кожному випадку є зрозумілими, але незаперечним є той факт, що у великій кількості вони присутні в клітинах злоякісних пухлин, а також у бластомерах на ранніх стадіях ембріогенезу.

Отже, у цитозолі наявні всі класи біополімерів, а також їхні мономери. Крім органічних сполук у цитозолі присутні різні неорганічні іони: (Na^+ , K^+ , H^+ , Ca^{2+} , Cl^- , HCO_3^- , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- , HSO_4^-) тощо. Наявні також мікроелементи, необхідні для нормального функціонування клітини.

Природно, що цитозоль має різний хімічний склад у різних частинах клітини. Біохімічна організація цитозолу в ділянці розташування апарату Гольджі або мітохондрій буде специфічною і саме такою, що забезпечує функціонування цих органел.

Можна вважати, що цитозоль є **складним колоїдним розчином**, який містить **дисперсне середовище** (розчинник) і **дисперсну фазу** (дрібні частинки – завись у дисперсному середовищі).

Фізико-хімічні властивості цитозолу. Цитозоль є дуже цікавою системою клітини, оскільки, з одного боку, може поводитись як тверде тіло, бо має здатність до пружної деформації, з іншого боку, як рідина, бо володіє здатністю до плинності. Агрегатний стан цитозолу може змінюватися залежно від дії факторів зовнішнього середовища або внутрішніх потреб клітини. Цитозоль може перебувати у двох агрегатних станах: стані золю (більш рідкому) і стані гелю (більш густому, драглистому, желеподібному), тобто поводити себе як **тиксотропний** гель. Коли цитозоль перебуває в стані гелю, то частинки дисперсної фази з'єднані між собою в тривимірну сітку. Дисперсне середовище міститься в порожнинах цієї сітки, таким чином, уся система позбавлена плинності. Коли ж цитозоль перебуває в стані золю, то згадана тривимірна сітка частково руйнується і система в цілому стає більш плинною. Цілком зрозуміло, що від стану цитозолу залежить швидкість біохімічних реакцій, які в ньому відбуваються. Більш того, в'язкість цитозолу може змінюватися окремо в різних ділянках клітини, що впливає на реакції, які там відбуваються.

Золь-гель-переходи цитозолу залежать від багатьох факторів: тиску, температури, концентрації деяких іонів (наприклад, Ca^{2+} , Mg^{2+}). Велику роль у таких переходах цитозолу відіграють його білки, особливо, актин (білок цитоскелету, який входить до складу мікрофіламентів). Його в цитозолі нем'язових клітин може бути до 10 % від загальної кількості білків. Цей глобулярний білок може бути у двох формах: у вигляді окремих молекул або у вигляді фібрил, коли глобули актину збираються в ланцюжки. До регуляції збирання та розбирання актинових мікрофіламентів залучені певні цитоплазматичні білки. Зокрема, білок **фімбрин** стабілізує фібрилярну форму актину, а **гельзолін** – глобулярну. У процесі переходу цитозолу в стан гелю актин полімеризується й утворює тривимірну сітку фібрил, яка є каркасом гелю, що формується. Білки, які зв'язують актин, виконують роль зшивок між ланцюгами актину.

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

Важливим показником цитозолу є його рН, який у нормі становить близько 6,8. Значення рН у різних ділянках цитозолу визначають введенням у клітину барвників-індикаторів, які змінюють свій колір залежно від концентрації іонів водню в середовищі. Цитозоль може виконувати роль буфера. Так, якщо додавати кислоти або луги в міжклітинне середовище або вводити їх мікропіпеткою в клітину, то рН цитозолу спочатку змінюється, але якщо клітина функціонує нормально, значення рН її цитозолу дуже швидко відновлюється до властивого йому рівня. Підтримка сталого рН є необхідною для нормального перебігу ферментативних реакцій у клітині.

Структура цитозолу. У світловому мікроскопі цитозоль має вигляд відносно безструктурної речовини, а на електронograms – вигляд гомогенної або тонкозернистої речовини. Тільки деякі хімічні речовини, що входять до складу клітинних включень (див. нижче), виявляються при спеціальному забарвленні.

Функціональне значення цитозолу. Функціональне значення цитозолу полягає насамперед у тому, що він об'єднує всі клітинні структури й забезпечує їхню хімічну взаємодію між собою. Через цитозоль відбуваються майже всі транспортні процеси, процеси дифузії різних речовин. Осмотичні та буферні властивості цитоплазми також в основному забезпечуються цитозолем. У цитозолі локалізовані ферменти, залучені до синтезу й розщеплення амінокислот, нуклеотидів, жирних кислот і вуглеводів, тобто проходять реакції проміжного обміну. Саме в цитозолі відбувається анаеробне розщеплення глюкози (також фруктози або галактози) – **гліколіз**, унаслідок якого утворюються дві молекули АТФ і трикарбонові сполуки. Останні можуть переміщуватися в мітохондрії, де відбувається їхнє окиснення в циклі Кребса з утворенням 36 молекул АТФ, а також CO_2 і H_2O .

У цитозолі на вільних рибосомах або полісомах починається синтез усіх білків клітини. Синтез секреторних білків і призначених для позаклітинного матриксу, плазматичної мембрани, елементів вакуолярної системи, починається в цитозолі й завершується на мембранах гранулярної ендоплазматичної сітки. Процес же синтезу білків для власних потреб цитозолу (ферментів синтезу й розщеплення амінокислот, нуклеотидів, вуглеводів; шаперонів тощо), білків ядра, пероксисом і певної частини мітохондріальних білків повністю відбувається в цитозолі. Слід наголосити, що синтез будь-яких білків у цитозолі проходить за допомогою органел, які називають рибосомами.

Білки в процесі трансляції або одразу по її закінченні повинні набути правильної вторинної, третинної та четвертинної структури. Від правильної просторової організації білка залежить його функціональна активність. Білки, які мають неправильно згорнутий поліпептидний ланцюг, є функціонально неактивними. Процес згортання поліпептидного ланцюга в правильну тривимірну структуру називається дозріванням, або **фолдингом** білків. Крім того, цитозоль є місцем, де здійснюються специфічні посттрансляційні модифікації білків і за певних умов – їхній специфічний розпад (детальніше – у розділі біосинтез білка).

4.2. Включення

Поряд з органелами та цитозолем включення є ще одним компонентом цитоплазми. Але вони, на відміну від органел і цитозолу, є непостійними структурами цитоплазми. Включення можуть бути різноманітними як за хімічною природою, так і за функцією у клітині. Особливо різноманітні вони в рослинних клітинах. Існує декілька класифікацій включень.

За хімічною природою включення можуть бути: **білковими** (наприклад, алейронові зерна в рослинних клітинах), **вуглеводними** (крохмальні зерна в клітинах рослин чи глікогенові включення в клітинах тварин), **ліпідними** (жирові краплини в цитоплазмі деяких клітин), **терпеноїдної природи** (включення ефірних олій, смол, каучуку в клітинах ряду рослин), **глікозидами**, **алкалоїдами**, **мінеральними** (кристали оксалату кальцію або карбонату кальцію в клітинах деяких рослин).

За функціональним призначенням включення бувають трофічними, секреторними, екскреторними, пігментними і захисними.

Трофічні включення – це різного роду запасні поживні речовини. Живі організми, як відомо, періодично потрапляють в умови, коли вони не можуть отримувати необхідну їм кількість поживних речовин. А тому в ході еволюції вони пристосувалися накопичувати ці речовини про запас. Тобто в сприятливий для годівлі сезон живі організми споживають поживних речовин більше, ніж їм потрібно для життєдіяльності. У цьому випадку надлишкові поживні речовини відкладаються у клітинах у вигляді включень, які називають трофічними.

Деякі органи або частини тіла рослин і тварин спеціально призначені для запасання поживних речовин. Наприклад, у тварин це жирові тканини, у рослин – бульби, потовщені кореневища, ендосперм насіння.

Запасатися можуть різні за хімічною природою речовини: ліпіди, вуглеводи, білки. Наприклад, до трофічних включень належать жирові краплини, крохмальні зерна, алейронові зерна, включення глікогену, жовткові включення тощо. Пізніше, коли організм опиняється в несприятливих умовах, ці запасні речовини використовуються. Багато трофічних включень містять також яйцеклітини тварин і клітини насіння в рослин. Ці речовини використовуються відповідно під час ембріонального розвитку та при проростанні насіння.

Секреторні включення – це різні за хімічною природою речовини (білки, вуглеводи, глікопротеїди тощо), які синтезуються клітиною, виводяться з неї та функціонують поза її межами. До таких включень належать, наприклад, секреторні гранули з травними ферментами у клітинах підшлункової залози, а також секреторні гранули з гормонами, які "очікують" відповідного сигналу для виведення з клітини.

Найчастіше секреторні включення існують у вигляді секреторних везикул чи пухирців. Вони оточені однією мембраною. Як правило, такі пу-

хирці відокремлюються від апарату Гольджі, перебувають деякий час у клітині, потім виводять шляхом екзоцитозу свій вміст за її межі.

Екскреторні включення – це різні продукти метаболізму, які залишилися на певний час у клітині. Прикладом є включення смол у клітинах хвойних рослин. У клітинах тварин до екскреторних включень можна віднести постлізосоми (залишкові тільця), які можуть накопичуватись у цитоплазмі. Наприклад, клітина поглинула шляхом фагоцитозу якийсь субстрат. Вона його може перетравити в лізосомах. Але найчастіше субстрат повністю не перетравлюється. Неперетравлені рештки залишаються в лізосомі, яка тепер буде називатиметься постлізосоною, або залишковим тільцем. Постлізосома може викинути такі неперетравлені рештки за межі клітини шляхом екзоцитозу, але може й залишити. В останньому випадку вони стають екскреторними включеннями. Деякі дослідники вважають, що саме в такий спосіб накопичуються включення ліпофусцину (див. нижче) у нейронах і деяких інших клітинах при старінні.

Пігментні включення – це різні забарвлені речовини (пігменти), які зустрічаються в цитоплазмі й надають клітині певного кольору. Пігменти можуть бути *ендогенного походження*, тобто утворюватися в самій клітині, або *екзогенного*, тобто надходити до неї ззовні. Відповідно й пігментні включення поділяють на ендогенні та екзогенні.

До пігментних включень відносять наприклад, зерна меланіну в меланоцитах шкіри, включення ліпофусцину в нейронах, а також інколи гемоглобін, міоглобін, хлорофіл, каротиноїди.

Захисні включення – це включення, які утворюються в клітинах рослин і тварин і слугують для захисту організму. Наприклад, у деяких рослин накопичуються включення глікозидів чи алкалоїдів, які є отруйними для тварин: у такий спосіб ці рослини захищають себе від поїдання тваринами.

До захисних включень можна також віднести включення пігменту меланіну, який міститься в клітинах шкіри й захищає організм від дії ультрафіолетових променів. За допомогою меланінових й деяких інших включень створюється забарвлення поверхні тіла тварини, що допомагає у створенні маскувального забарвлення. Деякі тварини (наприклад, восьминіг чи хамелеон) мають здатність швидко змінювати інтенсивність і відтінок свого забарвлення саме за рахунок перерозподілу пігментів у клітинах шкіри.

Найчастіше в клітинах живих організмів зустрічаються включення, які зображено на рис. 4.1.

Алейронові зерна. Алейронові зерна належать до трофічних білкових включень. Це запасні поживні речовини білкової природи. Вони є в клітинах багатьох рослин, та найбільше їх у клітинах насінин.

Білок у таких включеннях може міститися або у вигляді аморфної маси, або мати форму кристалоподібних утворень – кристалоїдів. Білкові кристалоїди локалізуються в цитоплазмі або в клітинному соку, інколи –

в ядрі, пероксисомах і пластидах. До складу алейонових зерен окрім білкових кристалоїдів можуть входити кристали оксалату кальцію, а також глобоїди – структури сферичної форми, побудовані з кальцієво-магнієвої солі інозиттрифосфornoї кислоти. Вважають, що глобоїди є джерелом кальцію, магнію і фосфору та сприяють розчиненню запасних білків алейонових зерен під час проростання насіння.

Алейонові зерна часто є видоспецифічними, що може бути використано для визначення видової належності таких рослин.

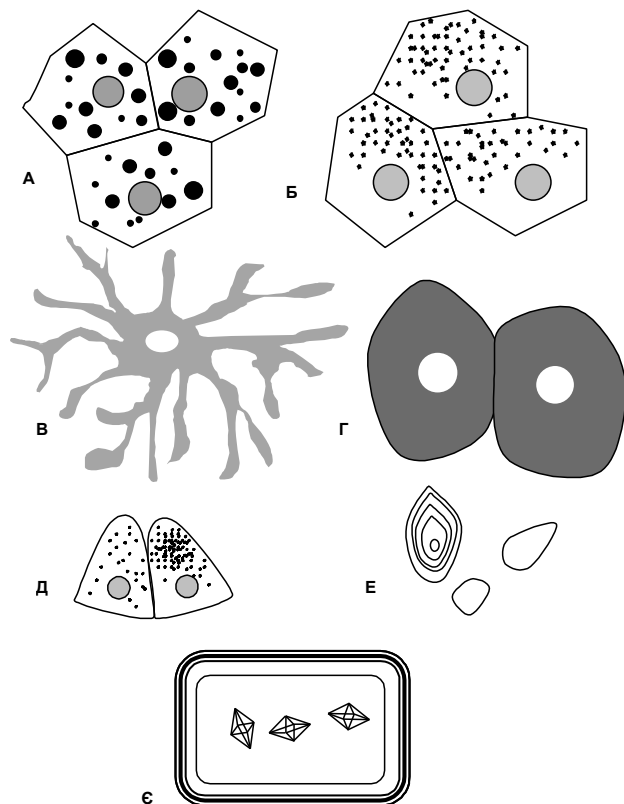


Рис. 4.1. Включення рослинних та тваринних клітин: А – жирові краплини у клітинах печінки; Б – включення глікогену у клітинах печінки; В – включення меланіну у меланоцитах шкіри; Г – жовткові включення у бластомерах амфібії; Д – секреторні включення у клітинах підшлункової залози; Е – крохмальні зерна картоплі; Є – включення оксалату кальцію у рослинній клітині

Жовткові включення належать до трофічних включень. За хімічною природою вони є змішаними білково-ліпідними. Містяться в яйцеклітинах майже всіх тварин. Вони синтезуються в ендоплазматичній сітці, потім модифікуються та сегрегуються в апараті Гольджі. Жовток, синтезований власне яйцеклітиною, називається *ендогенним*.

У більшості живих організмів жовток синтезується не лише яйцеклітиною, а й іншими клітинами (наприклад, клітинами печінки), а потім надходить до яйцеклітини. Це *екзогенний жовток*. Жовткові включення використовуються як енергетичний і пластичний матеріал при розвитку зародка. В яйцеклітинах різних тварин міститься різна кількість жовткових включень. За цією ознакою яйцеклітини поділяють на алецитальні (без жовтка), оліголецитальні (жовткових включень мало), мезолецитальні (мають середню кількість включень), полілецитальні (включень багато).

Жовткові включення, крім того, можуть мати різну локалізацію в яйцеклітині. Якщо вони рівномірно заповнюють цитоплазму, то таку яйцеклітину називають ізолецитальною. Якщо ж жовткові включення містяться лише біля одного полюса яйцеклітини (вегетативного), то така яйцеклітина називається телолецитальною. А якщо ці включення є скрізь у цитоплазмі, окрім центральної навколоядерної зони та периферійної кортикальної зони цитоплазми, то ця яйцеклітина є центролецитальною. Кількість і характер розташування жовткових включень у яйцеклітині впливає на тип дроблення зиготи.

Крохмальні зерна. Це вуглеводні трофічні включення рослинних клітин. Крохмаль за хімічною природою – полісахарид, мономерами якого є молекули глюкози. Розрізняють асиміляційний (первинний), транзиторийний і запасний крохмаль. *Асиміляційний крохмаль* у вигляді дрібних зерен накопичується у хлоропластах листків та інших фотосинтезуючих частинах рослинного організму. *Транзиторийний крохмаль* утворюється тимчасово по ходу переміщення вуглеводів від місць синтезу до місць споживання чи відкладання про запас. *Запасний крохмаль* у вигляді зерен різного розміру й форми відкладається у спеціалізованих запасуючих тканинах і органах рослинного організму (в ендоспермі, бульбах, кореневищах тощо). Звідти запасний крохмаль мобілізується у міру потреби. Форма й розміри крохмальних зерен є ознаками цих включень, специфічними для певних рослин.

При формуванні крохмального зерна спочатку формується його ядро. Потім навколо ядра концентричними шарами відкладається крохмаль. Формується просте крохмальне зерно. Декілька простих крохмальних зерен можуть з'єднуватися між собою, утворюючи складне крохмальне зерно.

Крохмальні зерна є практично в усіх рослин, особливо багаті на них клітини бульб картоплі, зернівки злаків, сім'ядолі бобових. Виявити крохмальні зерна можна під звичайним або поляризаційним мікроскопом без

будь-якого спеціального забарвлення (або з використанням звичайного йоду, який забарвлює крохмальні зерна в синьо-фіолетовий колір).

Окрім крохмалю, у рослинах може відкладатися про запас інший полісахарид – **инулін**, виявлений, наприклад, у айстрових.

Включення глікогену. Такі включення належать до вуглеводних трофічних включень клітин тварин. Глікоген за своєю хімічною природою є полісахаридом, побудованим з мономерів глюкози. Ці включення зустрічаються в клітинах печінки, м'язів. У разі недостатнього надходження поживних речовин глікоген розпадається до молекул глюкози, які потім включаються в процес гліколізу. При цьому вивільнюється енергія, яка запасється у вигляді АТФ і використовується для енергетичних потреб клітини. Виявити глікогенові включення можна забарвленням за методом Беста.

Жирові краплини є трофічними ліпідними включеннями. Вони у вигляді краплин різних розмірів зустрічаються як у рослинних, так і у тваринних клітинах. У тварин вони містяться у клітинах білої та бурої жирової тканини, а також у клітинах печінки. У рослин багатими на ліпідні включення є клітини насіння, особливо у таких культур, як соняшник, льон, конопля, ріпак, кокосова пальма, оливи.

Як правило, запасуються жири у вигляді триацилгліцеролів, їхні молекули складаються з одного залишку гліцеролу і приєднаних до нього трьох залишків жирних кислот. Жирні кислоти, які входять до складу жирів, у тварин є, в основному, насиченими, а у рослин ненасиченими. Тому рослинні жири (вони називаються оліями) є більш рідкими, порівняно з тваринними.

Жирові включення є основними запасними речовинами, які використовуються в процесах енергетичного обміну. При голодуванні вони розщеплюються, при цьому вивільняється велика кількість енергії, яка запасється у вигляді АТФ і використовується для енергетичних потреб клітини. У клітинах бурої жирової тканини при розпаді жирів вивільнюється енергія, яка розсіюється у вигляді тепла і йде на зігрів тіла тварини в холодну пору року. Тому бура жирова тканина особливо поширена у тварин, які впадають у зимову сплячку. При розпаді жирів утворюється також вода, тому в деяких тварин (наприклад, у верблюдів) біла жирова тканина відіграє роль депо води.

Ліпідні включення можна виявити за допомогою ліпофільних барвників, наприклад, осмієвої кислоти або судану.

Включення меланіну належать до пігментних включень. Вони містяться у хребетних у спеціальних клітинах шкіри – *пігментоцитах* і мають вигляд дрібних коричневих зерняток. Ці включення забезпечують колір шкіри. Вважають, що вони захищають організм від шкідливої дії ультрафіолетових променів, тому їх можна ще віднести до захисних включень.

Включення ліпофусцину також відносять до пігментних включень. Вони зустрічаються в багатьох клітинах тваринного організму, особливо багато їх у нервових клітинах. Їхня кількість зростає при старінні, тому ліпофусцин ще називають пігментом старіння.

Функціональне призначення ліпофусцинових включень і процес утворення їх до кінця не з'ясовані. Найпоширенішою є думка, що ліпофусцинові гранули є неперетравленими рештками, які накопичуються в постлізосомах, а отже, вони є баластним матеріалом. Тому ці включення можна також зарахувати до групи екскреторних. Крім того, виявлення в ліпофусцині міоглобіноподібних речовин і каротиноїдів дало можливість пов'язати його зі створенням внутрішньоклітинного депо кисню, що дозволяє клітинам теплотовних тварин компенсувати малу швидкість надходження кисню в умовах гіпоксії, викликаной старінням.

Включення ефірних олій спостерігаються в ефіро-олійних рослин. Звичай вони скупчуються в спеціальних клітинах цих рослин. Найчастіше ці включення є рідкими, хоча можуть бути й твердими (наприклад, камфора).

За хімічною природою ефірні олії є терпеноїдними сполуками; в основі їхньої структури лежить молекула ізопрену. Функціональну роль цих включень до кінця не з'ясовано.

Включення смол існують у клітинах ряду рослин. Особливо багатими на них є хвойні рослини.

Смоли мають високу в'язкість, не розчиняються у воді. За хімічною природою вони є терпеноїдними сполуками. Вважають, що смоли є кінцевими продуктами життєдіяльності рослин і не відіграють суттєвої ролі в їхньому метаболізмі.

Включення каучуку. Такі включення притаманні каучуконосним рослинам: гевеї, кок-сагізу, тау-сагізу. Каучук – це високополімерна сполука терпеноїдної природи. Ці включення містяться в спеціальних секреторних клітинах, які називаються молочниками.

Включення глікозидів зустрічаються в клітинах майже всіх рослин. Це органічні сполуки, які складаються з моносахаридів (глюкози, рамнози, арабінози), сполучених з молекулами спиртів, альдегідів чи фенолів. Вони водорозчинні й містяться у центральній вакуолі клітини.

Переважаюча більшість рослин має незначну кількість глікозидів, проте існують і багаті на ці сполуки рослини. Серед глікозидів є отруйні, наприклад, соланін у картоплі, амігдалін у насінні слив. Функціональне значення глікозидів ще не повністю з'ясовано. Вважають, що ті, які мають токсичні властивості, слугують для захисту рослин від поїдання їх тваринами. Тому ці включення можна віднести до захисних.

Визначити глікозиди в клітині можна за допомогою специфічних цитохімічних реакцій.

Включення алкалоїдів є в клітинах деяких рослин. Це азотовмісні органічні гетероциклічні сполуки. Переважна більшість алкалоїдів токсичні для людини і тварин. Існують як розчинні, так і нерозчинні алкалоїди. У різних рослинах містяться різні алкалоїди: нікотин – у тютюну, морфін – у маку, хінін – у хінного дерева, атропін – у беладони, кофеїн – у кавового дерева та у чайного куща, теобромін – у какао.

Функціональне значення алкалоїдів остаточно не з'ясовано. Припускають, що алкалоїди з токсичним властивостями слугують для захисту рослин від поїдання їх тваринами. Можливо також, що алкалоїди беруть участь у процесах обміну деяких азотовмісних речовин.

Визначити алкалоїди у клітині можна, застосовуючи специфічні цитохімічні реакції.

Включення оксалату кальцію. Це найпоширеніший тип *мінеральних включень*. Вони зустрічаються в різних формах і в багатьох рослин, мають вигляд кристалів призматичної, октаедричної, голчастої або іншої форми. Ці кристали найчастіше містяться в центральній вакуолі, але можуть локалізуватися і в цитоплазмі.

Оксалат кальцію утворюється внаслідок взаємодії щавлевої кислоти з іонами кальцію. Сьогодні не існує одностайності щодо ролі кристалів оксалату кальцію у клітинах рослин. Одні фахівці вважають, що утворення оксалату кальцію нейтралізує токсичну дію щавлевої кислоти. Інші стверджують, що утворення оксалату кальцію нейтралізує токсичну дію не щавлевої кислоти, а іонів кальцію, які є шкідливими у високій концентрації для рослинних клітин. І нарешті, деякі дослідники припускають, що оксалат кальцію відкладається про запас і є депо іонів кальцію.

Окрім оксалату кальцію у клітинах рослин спостерігаються також і інші мінеральні включення, наприклад, карбонату кальцію (які мають вигляд гроноподібних утворень), сульфату кальцію, виннокислого кальцію, діоксиду кремнію.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ

1. Який хімічний склад цитозолю?
2. Назвіть фізико-хімічні властивості цитозолю.
3. Від чого залежить в'язкість цитозолю?
4. Які механізми забезпечують переходи золь–гель?
5. Які метаболічні процеси відбуваються в цитозолі?
6. Які хімічні реакції проходять у цитозолі?
7. Чи відбуваються в цитозолі реакції проміжного обміну? Наведіть приклади.
8. Як зміниться швидкість біохімічних реакцій, котрі проходять в гіалоплазмі при полімеризації білка актину?

9. Назвіть функції цитозолю.
10. У чому полягає буферна функція цитозолю?
11. Чим зумовлена гетерогенність цитозолю?
12. Типи включень за функціональним призначенням.
13. Охарактеризуйте трофічні включення.
14. Що таке секреторні включення? Наведіть приклади.
15. Які включення можуть виконувати захисну функцію?
16. Яка роль пігментних включень? Наведіть приклади.
17. Типи включень за хімічною природою.
18. Охарактеризуйте жирові включення.
19. Дайте характеристику білковим включенням.
20. Охарактеризуйте вуглеводні включення.
21. Які ви знаєте мінеральні включення?

Розділ 5

ЦИТОСКЕЛЕТ

Цитоскелет – це опорно-рухова система клітини. Основними функціями цитоскелету є підтримка форми клітини та забезпечення переміщення як клітини в цілому, так і внутрішньоклітинних компонентів усередині клітини. Цитоскелет складається з трьох основних компонентів: **мікрофіламентів, мікротрубочок і проміжних філаментів**.

5.1. Мікрофіламенти

Мікрофіламенти – це довгі нитчасті утворення діаметром приблизно 7 нм. У клітині мікрофіламенти є скрізь у цитоплазмі, але особливо багатий на них кортикальний (периферійний, поверхневий) шар цитоплазми.

Мікрофіламенти побудовані з білка актину. Молекула актину являє собою глобулярний поліпептид, який складається з 375 амінокислот. Коли молекули актину формують мікрофіламент, то вони об'єднуються одна з одною "голова в хвіст" у волокнисту структуру (рис. 5.1). Молекули актину упаковані в ній у щільну спіраль, на один виток якої припадає приблизно два мономеру актину. Така будова мікрофіламенту нагадує два взаємно скручені ланцюжки з кроком 37 нм, проте ця подібність помилкова. Процес об'єднання мономерів актину в мікрофіламент називається *полімеризацією актину*. Але полімеризується не весь актин, який є в клітині. Певна частина молекул актину завжди перебуває у вільному деполімеризованому стані. Полімеризовану частину актину інколи називають *F-актином*, або *фібрилярним актином*, а деполімеризовану (вільну) частину – *G-актином*, або *глобулярним актином*.

молекули актину



Рис. 5.1. Будова мікрофіламента

Два кінці мікрофіламента неоднакові; розрізняють плюс-кінець ("+"-кінець), до якого молекули актину здебільшого приєднуються, і мінус-кінець ("-"-кінець), від якого найчастіше від'єднуються. Тому на "+"-кінці йде збирання мікрофіламента, а на "-"-кінці – його розбирання,

завдяки чому мікрофіламенти можуть переміщуватись (рис. 5.2). Це явище називають **тредмілінгом**.

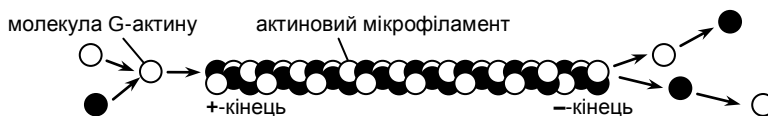


Рис. 5.2. Схема тредмілінгу актинового мікрофіламента

Процес збирання і розбирання мікрофіламентів відбувається безперервно. Це необхідно для постійної перебудови цитоскелету в міру потреб клітини.

Ряд речовин можуть заблокувати процес збирання або розбирання мікрофіламентів. *Цитохалазини*, наприклад, зв'язуються з "+"-кінцем мікрофіламента і не дають новим молекулам актину приєднуватись до нього. А оскільки молекули актину продовжують від'єднуватись від "-"-кінця, то це веде до розбирання мікрофіламентів. *Фаллоїдини*, навпаки, приєднуючись до "-"-кінців мікрофіламентів, не дають їм розбиратись.

З мікрофіламентами асоційовано ряд інших білків, які допомагають мікрофіламентам виконувати їхні функції. Найголовніші актинзв'язувальні білки наведено в табл. 5.1, а схема їхньої взаємодії з актиновими мікрофіламентами – на рис. 5.3.

Таблиця 5.1. Актинзв'язувальні білки

Назва білка	Функція
Тимозин-β4	Зв'язується з мономерами актину, запобігаючи їхній полімеризації
Профілін	Зв'язується з мономерами актину; регулює зв'язування мономерів актину з тимозином-β4
Гельзолін	Сприяє розбиранню мікрофіламентів
Фімбрин	Сприяє збиранню мікрофіламентів, зв'язує мікрофіламенти в пучки
Філамін	Сприяє збиранню мікрофіламентів, зв'язує мікрофіламенти у тривимірну сітку
Вілін	Зв'язує мікрофіламенти в паралельні пучки в мікрроворсинках
Спектрин	Приєднує мікрофіламенти до плазмолемі або до проміжних філаментів
Кепіруючий білок	Закриває "+"-кінці мікрофіламентів і бере участь у їхньому прикріпленні до плазмолемі
α-актинін	Зв'язує мікрофіламенти в пучки; бере участь в утворенні фокальних контактів
Тропоміозин	Укріплює мікрофіламенти
Міні-міозин	Білок-мотор, який може переміщуватись по мікрофіламенту від "+"-кінця до "-"-кінця, пересуваючи за собою ті чи інші внутрішньоклітинні структури

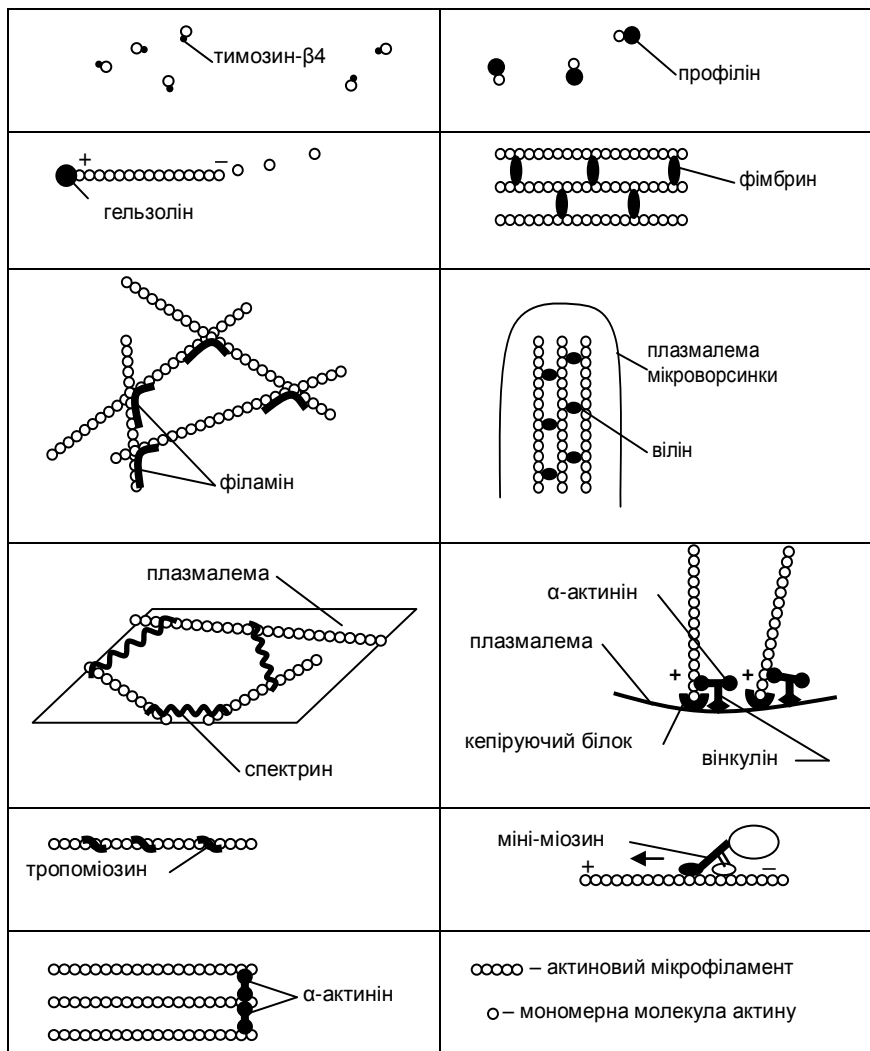


Рис. 5.3. Схема взаємодії актинзв'язувальних білків з мікрофіламентами

Основними функціями мікрофіламентів є:

- участь у гелі-золь-переходах цитозолу;
- участь у підтриманні форми клітини;
- утворення мікріворсинок;
- участь у формуванні проміжного міжклітинного контакту;

- участь у переміщенні внутрішньоклітинних компонентів;
- а) за рахунок збирання – розбирання (триміліну);
- б) за рахунок транспорту по них, як по "рейках";
- утворення псевдоподій;
- формування скоротливого кільця при цитотомії (поділі цитоплазми) у ході мітозу тваринної клітини;
- забезпечення скорочення м'язових клітин (разом з міозином).

Велика кількість мікрофіламентів розташована в кортикальному шарі цитоплазми. Тут мікрофіламенти формують тривимірну (у деяких випадках двовимірну) сітку одразу під плазмолемою клітини (рис. 5.4). Ця актинова сітка бере участь у стабілізації форми клітини. Наприклад, в еритроцитах (які мають двовимірну актинову кору) форма двояковгнутого диска повністю забезпечується таким поверхневим цитоскелетом. Якщо його зруйнувати, то еритроцит набуває сферичної форми.

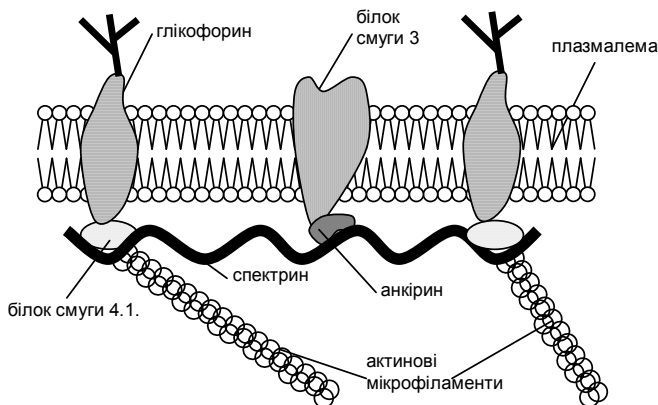


Рис. 5.4. Схема будови кортикального цитоскелета

Актинові мікрофіламенти в кортикальному шарі цитоплазми зв'язані з білком **спектрином** (рис. 5.4). Спектрин, у свою чергу, за допомогою **анкірину** пов'язаний з білком **смуги 3** (інтегральним білком плазмолеми) та за допомогою білка **смуги 4.1** – з **глікофорин**ом (ще одним інтегральним білком плазмолеми).

За допомогою мікрофіламентів формуються **мікроворсинки** – тонкі пальцеподібні вирости плазмолеми, які збільшують площу контакту плазмолеми з міжклітинним простором, що збільшує, наприклад, площу всисної поверхні в епітелії кишечника. У середині кожної мікроворсинки є пучок з 20–30 паралельних мікрофіламентів, які йдуть від основи мікроворсинки до її верхівки (рис. 5.5). "+"-кінці всіх мікрофіламентів спрямовані до верхівки мікроворсинки.

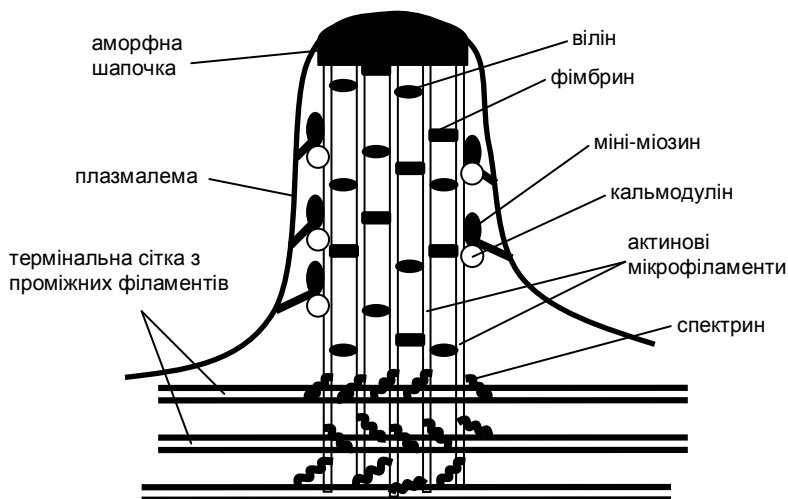


Рис. 5.5. Схема будови мікрворсинки

У такий спосіб сітка мікрофіламентів кріпиться до плазмолемі і підтримує її форму. Тут до них приєднуються інші білки, які формують аморфну шапочку. Природу цих білків ще не з'ясовано. Між собою мікрофіламенти скріплені за допомогою актинозв'язувальних білків: **фімбрину**, **фасцину** і **віліну**. До плазмолемі мікрофіламенти кріпляться за допомогою **міні-міозину** та **кальмодуліну**. В основі кожної мікрворсинки мікрофіламенти за допомогою спектрину прикріплені до так званої **термінальної сітки**, побудованої з проміжних філаментів.

Мікрофіламенти виявлені в проміжному контакті, який відносять до групи механічних міжклітинних контактів.

Мікрофіламенти також беруть участь у внутрішньоклітинному транспорті. Вони можуть переміщувати внутрішньоклітинні структури двома способами. Раніше було зазначено, що за рахунок збирання на "+"-кінці й розбирання на "-"-кінці мікрофіламенти можуть переміщатися по клітині (тредмілінг). Якщо ж до такого мікрофіламента буде прикріплено якусь внутрішньоклітинну структуру (наприклад, певну органелу), то вона також переміститься разом з ним. Але поширенішим є інший вид транспорту за участю мікрофіламентів. Мікрофіламенти можуть слугувати "рейками", по яких переміщуються внутрішньоклітинні компоненти. "Локомотивами" тут є так звані білки-мотори. Вони одним кінцем прикріплюються до внутрішньоклітинної структури, яку слід перемістити, а другим – до мікрофіламента. Використовуючи енергію гідролізу АТФ, білки-мотори рухаються по мікрофіламенту, і тягнуть за собою внутрішньоклітинну структуру, яку слід перемістити (рис. 5.6).

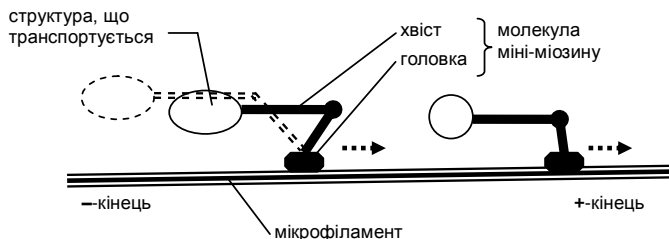


Рис. 5.6. Схема транспорту по мікрофіламенту за допомогою білка-мотора міні-міозину

Найбільш поширеними білками-моторами є міозини. У м'язових клітинах існує більш важка форма міозину, а в нем'язових є легша форма міозину – міні-міозин. Молекула міні-міозину складається з глобулярного головного і короткого фібрилярного хвостового доменів. Головний домен може розщеплювати АТФ (тобто має АТФазну активність) і за рахунок цієї енергії переміщуватись по мікрофіламенту від "–"-кінця до "+"-кінця. Хвостовим доменом міозин зв'язується з органелою чи з іншою внутрішньоклітинною структурою, яку слід перемістити (рис. 5.6). Рухаючись по мікрофіламенту, міні-міозин переміщує за собою цю органелу.

Дві молекули міні-міозину можуть зв'язатись між собою своїми хвостовими доменами, а своїми головними доменами прикріпитись до двох сусідніх мікрофіламентів, розміщених антипаралельно (так, як показано на рис. 5.7). У цьому випадку рух головок міні-міозину по мікрофіламентах у протилежних напрямках призведе до ковзання цих двох мікрофіламентів один відносно одного. Подібний механізм лежить в основі скорочення у м'язових волокнах та в роботі актино-міозинового скоротливого кільця, яке формується при поділі цитоплазми під час мітозу тваринної клітини. Завдяки ковзання мікрофіламентів один відносно одного це скоротливе кільце стягується, тягнучи за собою плазмолему, і в такий спосіб розділяє клітину на дві дочірні клітини.

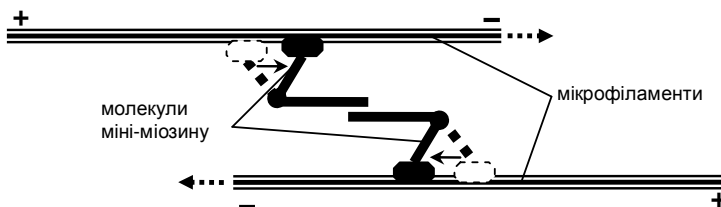


Рис. 5.7. Схема ковзання актинових мікрофіламентів один відносно одного

Актинові мікрофіламенти беруть участь в утворенні **псевдоподій** (рис. 5.8), за допомогою яких відбувається переміщення ряду клітин. Наприклад, так переміщуються амеби (одноклітинні організми) (тому цей спосіб переміщення клітин ще називають амебоїдним рухом), макрофаги й нейтрофіли (клітини, які виконують функцію поглинання (фагоцитозу) мікроорганізмів і сторонніх часток, що потрапили в організм).

У загальних рисах механізм амебоїдного руху виглядає наступним чином. Клітина викидає в різні боки одразу декілька псевдоподій. Деякі з них прикріплюються до поверхні, по якій переміщується клітина, а деякі не можуть прикріпитись і втягуються назад.

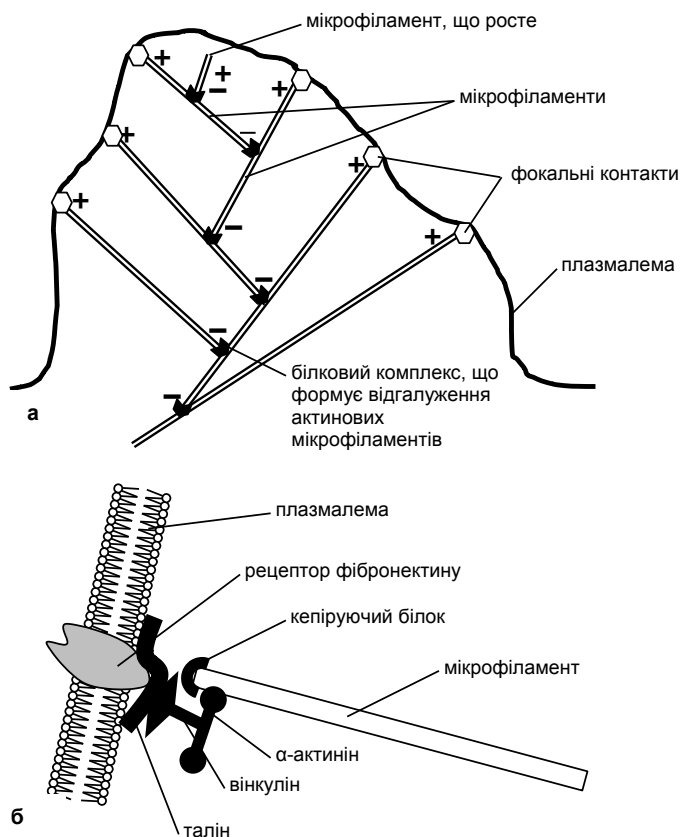


Рис. 5.8. Будова псевдоподій: а – можливий механізм утворення псевдоподії; б – схема будови фокального контакту у фібробласта

Після прикріплення однієї якоїсь псевдоподії до поверхні всі інші втягуються, а клітина немов би "підтягується" за допомогою прикріпленої псевдоподії. Таким чином, клітина переміщується на певну відстань у напрямку, де відбулося прикріплення псевдоподії. На сьогодні ще не з'ясовані всі деталі руху клітин за допомогою псевдоподій. Найкраще механізм такого руху вивчений у фібробластів.

Фібробласти – це клітини сполучної тканини, які синтезують міжклітинну речовину цієї тканини, і здатні переміщуватись по її волокнах. Виявлено, що у фібробластів до цитоплазматичного боку плазмолемі в місці, де викидається псевдоподія, підходять мікрофіламенти. Мікрофіламенти розміщуються тут або паралельним пучком, або формують розгалужені структури (рис. 5.8, А).

Своїми "+"-кінцями мікрофіламенти повернуті до плазмолемі. У міру зростання мікрофіламентів вони стають довшими, формуються нові відгалуження, і це веде до вип'ячування плазмолемі в цьому місці. До плазмолемі мікрофіламенти кріпляться за допомогою декількох додаткових білків (рис. 5.8, Б). Безпосередньо до актинового філаменту приєднується ***α-актинін*** і ***кепіруючий білок***, який закриває "+"-кінець мікрофіламенту. З цими білками зв'язаний ***вінкулін***, який своїм іншим кінцем приєднується до білка ***таліну***. Талін може взаємодіяти з рецептором ***фібрoneктину***. Цей рецептор повністю пронизує плазмолему, і з протилежного боку взаємодіє з фібрoneктиновим пучком. У такий спосіб формується так званий ***фокальний контакт***. За його допомогою фібробласт прикріплюється до волокон позаклітинного матриксу і може по них переміщуватись. Подібний механізм, очевидно, лежить і в основі амебоїдного руху, властивого іншим клітинам.

5.2. Мікротрубочки

Мікротрубочки є ще одним компонентом цитоскелету. Це довгі трубкасті утворення діаметром приблизно 25 нм. У цитоплазмі інтерфазної клітини мікротрубочки, як правило, радіально розходяться від клітинного центра, розміщеного поблизу ядра. Деяка кількість мікротрубочок не зв'язана з клітинним центром і лежить вільно в цитоплазмі.

Мікротрубочки складаються з білка ***тубуліну***. Існують α - і β -тубуліни. Це глобулярні поліпептиди з молекулярною масою близько 54 кДа.

Одна молекула α -тубуліну й одна молекула β -тубуліну об'єднуються в димер. Тубулінові димери об'єднуються один з одним "голова у хвіст" і формують протофібрилу. 13 таких протофібрил вишиковуються по колу і формують стінку мікротрубочки (рис. 5.9). Усередині мікротрубочки знаходиться порожнина. Зовнішній діаметр мікротрубочки становить приблизно 25 нм, внутрішній – приблизно 15 нм, а товщина стінки – близько 5 нм. Збирання мікротрубочок відбувається в *центрах організації мікрот-*

рубочок (ЦОМТ). Такими ЦОМТ у тваринних клітинах виступають головки сателітів центріоль і фібрилярне гало центріоль (див. нижче).

Подібно до мікрофіламентів, у мікротрубочки також розрізняють "+"-кінець і "-"-кінець. До "+"-кінця молекули тубуліну в основному приєднуються; а від "-"-кінця в основному від'єднуються. Тому на "+"-кінці йде збирання мікротрубочки, а на "-"-кінці – її розбирання, завдяки чому мікротрубочки, як і мікрофіламенти, можуть переміщуватись, тобто також здатні до тредмілінгу.



Рис. 5.9. Схема будови мікротрубочки

Процес збирання і розбирання мікротрубочок відбувається безперервно. Це необхідно для постійної перебудови цитоскелету в міру потреб клітини. Є речовини, які можуть заблокувати або процес збирання мікротрубочок (наприклад, колхіцин, вінбластин), або процес розбирання мікротрубочок (наприклад, таксол).

У процесі виконання своїх функцій тубулінові мікротрубочки взаємодіють з БАМ-, або MAP-білками (білки, асоційовані з мікротрубочками; *microtubule-associated proteins*). Ці білки регулюють процес збирання–розбирання мікротрубочок, а також взаємодію мікротрубочок з іншими компонентами клітини.

Основними функціями мікротрубочок є:

- участь у гелі–золь-переходах цитозолю;
- участь у підтриманні форми клітини;
- участь у переміщенні внутрішньоклітинних компонентів:
 - за рахунок збирання–розбирання (тредмілінгу);
 - за рахунок транспортування по них, як по рейках;
- 4) закріплення органел та інших внутрішньоклітинних структур у певних місцях клітини;
- 5) участь в утворенні центріоль;
- 6) утворення війок та джгутиків;
- 7) утворення веретена поділу в ході мітозу.

Участь мікротрубочок у гель–золь-переходах цитозолі, так само як і мікрофіламентів, зумовлена їхньою здатністю до збирання й розбирання. Коли більшість молекул тубуліну зібрані в мікротрубочки (полімеризовані), то цитозоль перебуває в стані гелю. Якщо ж більшість їх знаходиться у вільному (деполімеризованому) стані, то цитозоль – у стані золю.

Роль мікротрубочок у процесах внутрішньоклітинного транспорту є дещо подібною до ролі мікрофіламентів. Мікротрубочки можуть переміщувати внутрішньоклітинні компоненти або за рахунок збирання–розбирання, або за рахунок білків-моторів, які рухаються по мікротрубочках, як по рейках. До таких білків-моторів належать **динейн** і **кінезин**. Вони подібно до міні-міозину одним своїм кінцем прикріплюються до мікротрубочки, а іншим – до внутрішньоклітинної структури, яку слід перемістити (наприклад, до органели чи до секреторного пухирця). Використовуючи енергію гідролізу АТФ, білки-мотори рухаються по мікротрубочці і, будучи зв'язаними іншим кінцем з органелою, тягнуть її за собою (рис. 5.10). Динейн рухається по мікротрубочці від "+"-кінця до "-"-кінця, а кінезин – від "-"-кінця до "+"-кінця мікротрубочки.

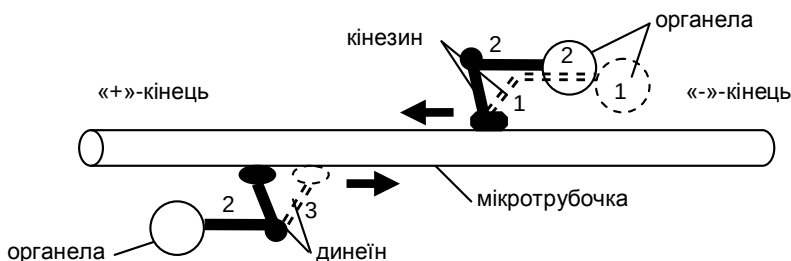


Рис. 5.10. Схема транспорту по мікротрубочці за допомогою білків-моторів динейну та кінезину. (Можливий механізм транспорту: 1 – вихідний стан; 2 – зміна конформації білка-мотора і підтягування органели; 3 – переміщення голівки білка-мотора по мікротрубочці. Стадія 1 у динейну та стадія 3 у кінезину не показані)

Є БАМ-білки, які одним своїм кінцем прикріплюються до мікротрубочки (але не переміщуються по ній), а іншим – до тієї чи іншої органели. У результаті органела закріплюється в певному місці клітини. Можливо, що саме таким способом закріплені в клітині апарат Гольджі, цистерни ендоплазматичної сітки та мітохондрії.

Мікротрубочки також входять до складу **центріолей**. Центріоль має циліндричну форму. Діаметр її становить приблизно 0,15 мкм, а висота 0,3–0,5 мкм. Стінка центріольярного циліндра побудована з дев'яти триплетів мікротрубочок (рис. 5.11, 5.12).

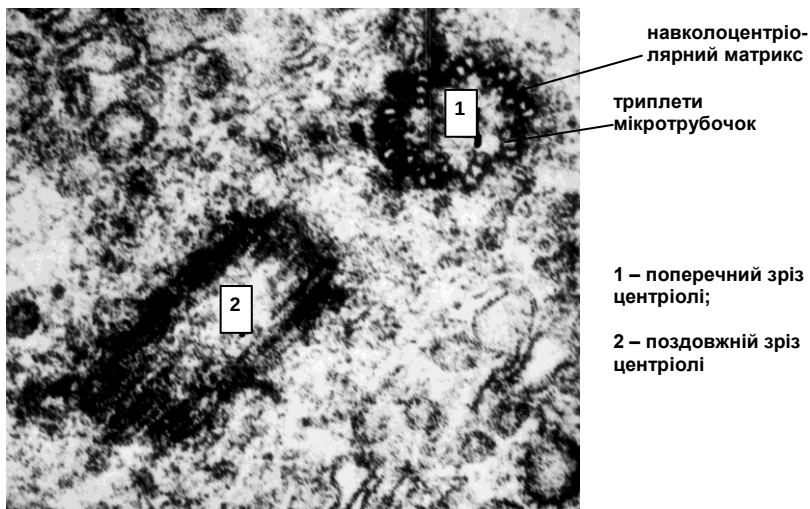


**Рис. 5.11. Електронограма диплосоми (пари центріолей).
Контрастування ураніацетатом і осмієвою кислотою. $\times 900$**

Кожен триплет розміщений під кутом 40° щодо радіуса центріолі й складається з трьох мікротрубочок, які позначаються літерами А, В і С. А-мікротрубочка кожного триплету має типову будову – вона містить 13 протофібрил. В-мікротрубочка прилягає до А-мікротрубочки, а С-мікротрубочка – до В-мікротрубочки. В-мікротрубочка складається з 11 власних протофібрил, ще 2 протофібрили в неї є спільними з А-мікротрубочкою. С-мікротрубочка також складається з 11 протофібрил і має ще 2 протофібрили, спільні з В-мікротрубочкою. Від А-мікротрубочки кожного триплету відходить по два вирости (зовнішній і внутрішній), які називаються ручками. Зовнішній виріст направлений до С-мікротрубочки сусіднього триплету.

Внутрішній виріст направлений до центра центріолярного циліндра. Обидва вирости складаються з білка динеїну. Усі триплети занурені в електроннощільний дрібнозернистий матрикс. У центрі центріолі мікротрубочок немає (рис. 5.12). Тому систему мікротрубочок центріолі описують формулою $9 \times 3 + 0$. Центральна частина центріолі на одному з кінців (дистальному) не містить ніяких структур, а на іншому кінці (проксимальному) є центральна втулка зі спицями. Спиць дев'ять, вони йдуть по одній від центральної втулки до кожного триплету. Центральна втулка зі спицями займає приблизно від $3/4$ до $1/5$ висоти центріолярного циліндра. На центріолі може не бути більше ніяких додаткових структур, але може бути фібрилярне гало або сателіти. Сателіти складаються з конусоподібної ніжки та округлої головки. Головки сателітів є центрами орга-

нізації мікротрубочок (ЦОМТ) під час інтерфази, саме від них починається формування нових мікротрубочок цитоплазми.

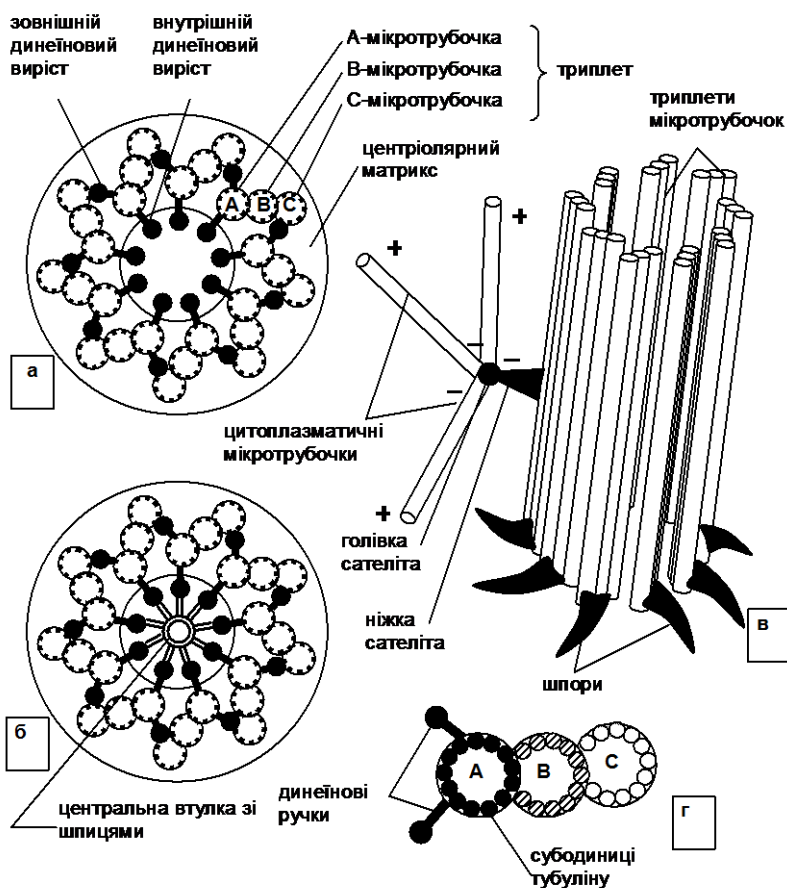


Рис. 5.12. Будова центріолі: а – зріз через дистальну частину центріолі; б – зріз через проксимальну частину центріолі; в – об'ємний вигляд центріолі (центріольний матрикс не показаний); г – будова триплету центріолі

Мікротрубочки при цьому є закріпленими своїм "-"кінцем на голівці сателіта. Через деякий час мікротрубочки можуть відриватись від голівок сателітів і перебувати самостійно в цитоплазмі. Фібрилярне гало є ЦОМТ під час мітозу, від нього відходять мікротрубочки веретена поділу (рис. 5.12).

Кількість центріолей і наявність або відсутність сателітів чи фібрилярного гало закономірно змінюються протягом клітинного циклу (рис. 5.13).

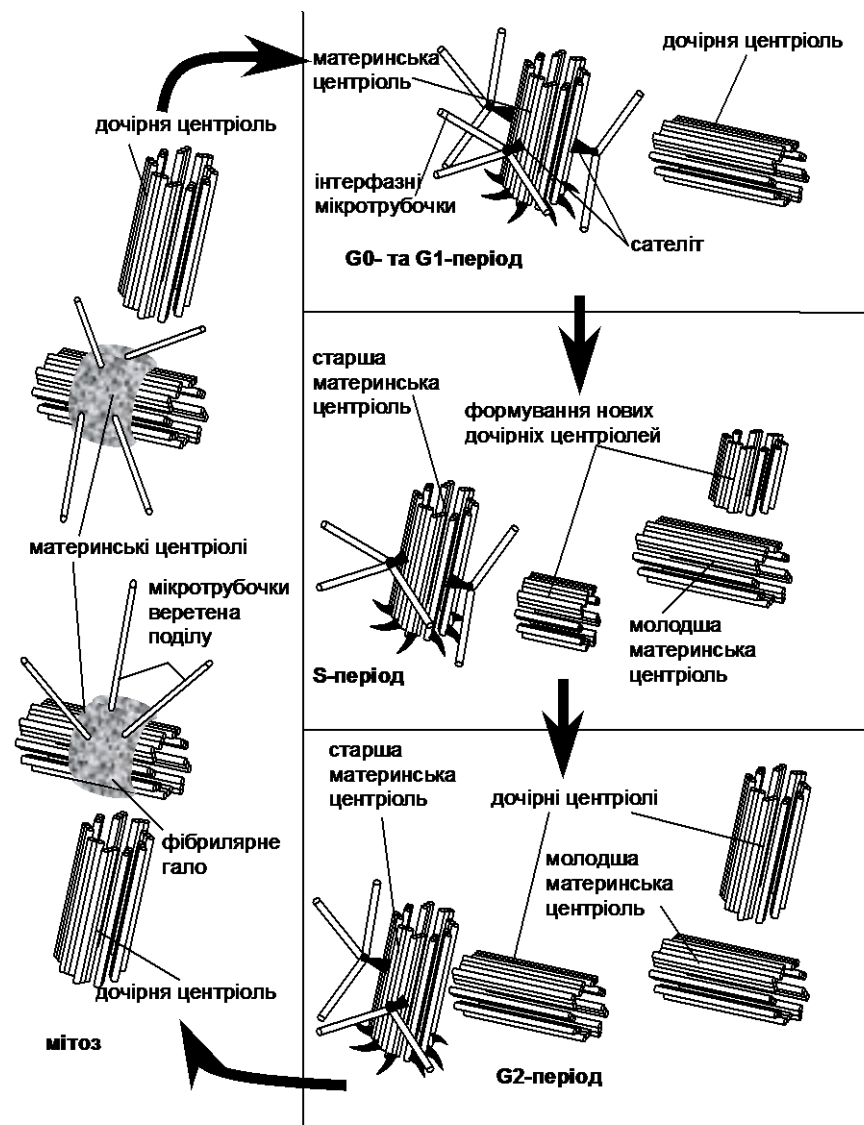


Рис. 5.13. Зміна будови та кількості центріоль протягом клітинного циклу (центріольярний цикл)

На G0- і G1-стадіях інтерфази в клітині містяться дві центріолі: материнська й дочірня (див. рис. 5.13). Таку пару центріоль називають **диплосомою**, або **клітинним центром**. Ці дві центріолі розміщені під прямим кутом одна до одної. При цьому дочірня центріоль повернута до материнської своїм проксимальним кінцем. На материнській центріолі є сателіти, від яких відходять мікротрубочки. На дочірній сателітів та інших додаткових структур немає, вона є "голою".

На S-стадії інтерфази центріолі подвоюються. Для цього материнська й дочірня центріолі розходяться. Перпендикулярно до кожної з них закладаються нові центріолі. По закінченні S-фази і протягом усієї G2-фази в клітині присутні 4 центріолі, при цьому лише на одній з них (найстаршій) розміщені сателіти, інші три центріолі – "голі".

На початку мітозу сателіти з найстаршої центріолі зникають, мікротрубочки в цитоплазмі розбираються. Одна пара центріоль (диплосома) відходить до одного полюсу клітини, а інша – до протилежного. Навколо материнської центріолі в кожній диплосомі утворюється фібрилярне гало, від якого формуються мікротрубочки веретена поділу. Дочірні центріолі в складі кожної диплосоми залишаються "голими". Після цитотомії (поділу цитоплазми) у складі кожної з двох новоутворених клітин залишається по диплосомі.

По закінченні мітозу мікротрубочки веретена поділу розбираються, на материнській центріолі зникає фібрилярне гало й формуються сателіти. Від сателітів починається утворення мікротрубочок, які функціонуватимуть в інтерфазі. Настає новий G1-період.

Мікротрубочки є також основними компонентами **війок і джгутиків**. Війки та джгутики є органами руху у деяких найпростіших, у сперматозоїдів, за їхнього допомогою клітини слизової оболонки носа переміщують слиз разом з частинками пилу, тощо. В основі кожного джгутика та кожної війки міститься структура, яка називається базальне тільце (рис. 5.14, б), воно дуже подібне за будовою до центріолі й, мабуть, з неї утворюється. Стінка базального тільця побудована з дев'яти триплетів мікротрубочок, у центральній частині базального тільця мікротрубочок немає. Через це систему мікротрубочок базального тільця описують формулою $9 \times 3 + 0$.

Кожен джгутик або війка ззовні вкриті плазмолемою, під якою знаходиться структура, побудована з мікротрубочок. Її називають **аксономом**. Аксоном у війки та джгутика побудована з дев'яти пар мікротрубочок – дуплетів. Кожен дуплет складається з А- і В-мікротрубочок. Як і в центріолі та базального тільця, А-мікротрубочка побудована з 13 протофібрил, а В-мікротрубочка прилягає до А-мікротрубочки й має 11 власних протофібрил і 2 протофібрили у неї спільні з А-мікротрубочкою. А- і В-мікротрубочки аксономом продовжуються від А- і В-мікротрубочок базального тільця. У центрі аксономом є ще одна пара мікротрубочок. Кожна з мікротрубочок побудована з 13 протофібрил. Таким чином, систему мікротрубочок аксономом війок і джгутиків зображують у вигляді формули $9 \times 2 + 2$ (рис. 5.14, а). Крім того, мікротрубочки під час мітозу або мейозу утворюють веретено поділу – структуру, яка забезпечує розходження хромосом до дочірніх клітин.

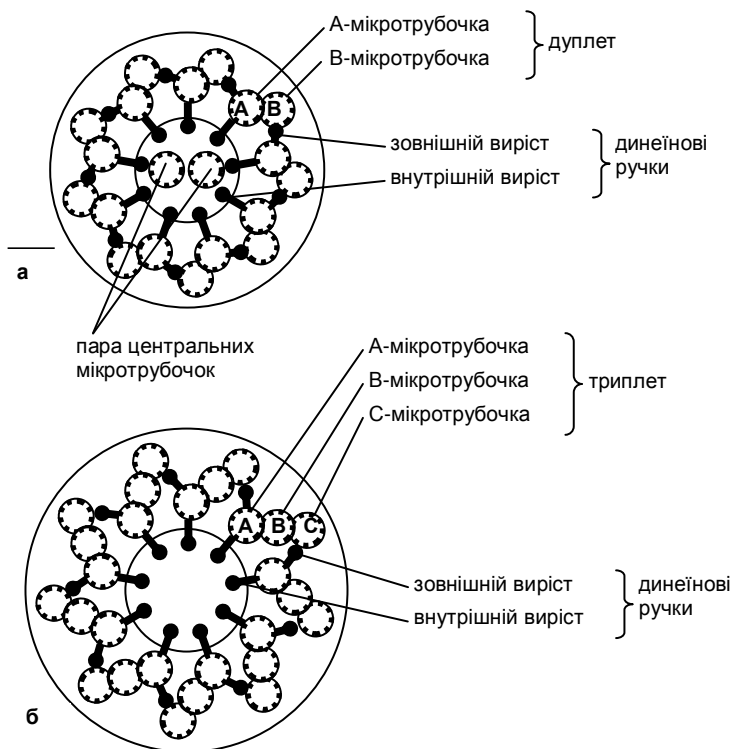


Рис. 5.14. Будова війок і джгутиків: а – будова аксонем джгутика й війки; б – будова базального тілця

5.3. Проміжні філаменти

Проміжні філаменти є третім компонентом цитоскелету. Це довгі нитчасті утворення діаметром близько 10 нм, що в різних напрямках пронизують цитоплазму. Можуть формувати термінальну сітку по периферії клітини й "корзину" навколо ядра. Крім того, проміжні філаменти формують ядерну ламіну. Проміжні філаменти в клітинах різних тканин тваринного організму складаються з різних білків (табл. 5.2). Усі ці білки, на відміну від актину й тубуліну, мають не глобулярну а фібрилярну будову. У клітинах рослин проміжні філаменти не виявлені.

Таблиця 5.2. Білки проміжних філаментів

Назва білка	Молекулярна маса, кДа	Розміщення
Кератини	40–70	Епітеліальні клітини
Віментин	54	Клітини сполучних тканин
Десмін	53	М'язові клітини
Гліальний фібрилярний кислий білок	50	Клітини нейроглії
Білок нейрофіламентів	60–130	Нейрони
Ламіни А, В, С	65–75	Ядерна ламіна

Усі проміжні філаменти побудовані за єдиним планом. Спочатку дві молекули відповідного білку (кератину, якщо проміжний філамент знаходиться в епітеліальній клітині; віментину – якщо в сполучній; десміну – якщо в м'язовій; і т.д.) об'єднуються в димер (рис. 5.15). С-кінці обох білкових молекул розташовуються на одному кінці димеру, а N-кінці – на іншому. Потім два димери об'єднуються в тетрамер. Але в тетрамері на кожному його кінці знаходяться С-кінці молекул одного димеру і N-кінці молекул іншого димеру. Саме через те, що на обох кінцях проміжного волокна частина молекул розташована С-кінцем, а частина – N-кінцем, проміжні філаменти на відміну від мікрофіламентів і мікротрубочок не мають "+"- і "-"-кінців, а обидва їхні кінці рівнозначні. Тетрамери далі складаються "голова у хвіст" і формують протофіламент, а 8 таких протофіламентів, розміщуючись паралельним пучком, утворюють проміжне волокно (рис. 5.15). Оскільки, як зазначено вище, проміжні філаменти не мають "+"- і "-"-кінців, то вони не здатні до тредмілінгу.

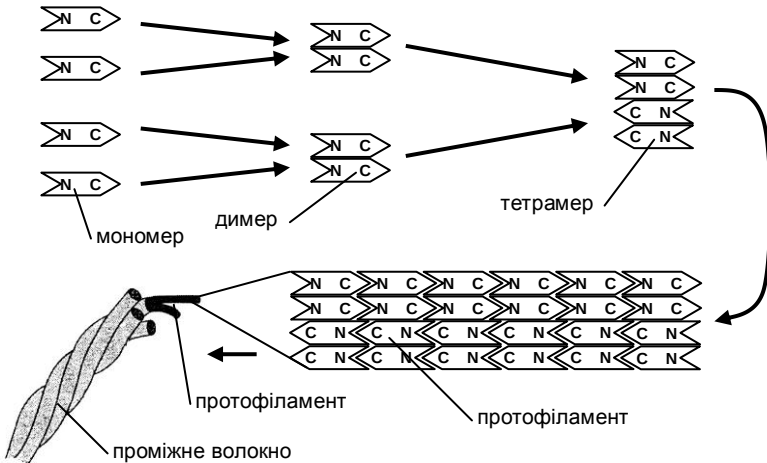


Рис. 5.15. Схема будови проміжного філамента

На відміну від мікрофіламентів і мікротрубочок проміжні філаменти не знають постійного збирання-розбирання. Проміжні філаменти є найстабільнішими компонентами цитоскелету. Саме тому основною функцією проміжних філаментів є механічна, каркасна функція. Наприклад, проміжні філаменти добре розвинені в нейронах і підтримують аксони та дендрити цих клітин.

Проміжні філаменти входять до складу десмосом і напівдесмосом – механічних міжклітинних контактів. Крім того, проміжні філаменти є в ядрі, де вони формують **ядерну ламіну**. Остання підтримує цілісність і форму ядра, служить для прикріплення хромосом до поверхневого апарату ядра.

5.4. Взаємодії елементів цитоскелета

Мікрофіламенти, мікротрубочки та проміжні філаменти функціонують не ізольовано, а взаємодіють між собою. Так, у підтриманні форми клітини беруть участь і мікротрубочки, і мікрофіламенти, і проміжні філаменти.

Мікротрубочки радіально розходяться від клітинного центра до периферії клітини. Додатково форма клітини стабілізується завдяки кортикальному шарові цитоплазми, збагаченому мікрофіламентами. Проміжні філаменти створюють механічний каркас у цитоплазмі та в ядрі клітини. Особливо велика роль проміжних філаментів у підтриманні структури клітинних відростків, наприклад, аксонів і дендритів у нервових клітинах. Структура мікрроворсинок підтримується завдяки актиновим мікрофіламентам, які розташовані паралельним пучком уздовж мікрроворсинки. Своїми кінцями біля основи мікрроворсинки мікрофіламенти приєднуються до сітки з проміжних філаментів.

Мікротрубочки слугують рейками, уздовж яких за допомогою білків-моторів динеїну й кінезину здійснюється переміщення внутрішньоклітинних структур. Вважається, що таким чином мікротрубочки забезпечують перебіг процесів екзоцитозу та ендоцитозу. Але внутрішньоклітинні структури можуть переміщуватись і вздовж мікрофіламентів. Це переміщення забезпечує інший білок-мотор – міозин. Мікротрубочки є основним компонентом аксонами джгутиків і війок. Ці структури забезпечують переміщення клітин у просторі або переміщення якихось рідин відносно самих клітин. Мікрофіламенти ж забезпечують переміщення клітин за допомогою псевдоподій. Тобто завдяки узгодженій роботі мікротрубочок і мікрофіламентів здійснюються різні внутрішньоклітинні рухи та переміщення самих клітин у просторі.

Під час поділу клітини мікротрубочки утворюють веретено поділу. За його допомогою відбувається розходження хромосом до полюсів. Активні філаменти у тваринних клітинах у цей час разом з білком-мотором міозином формують актино-міозинове скоротливе кільце по екватору клітини. Це кільце забезпечує розділення клітини на дві дочірні.

Під час ембріонального та постембріонального розвитку здійснюється переміщення клітин і цілих клітинних пластів, зміна їхньої форми тощо. Усі ці процеси також забезпечуються узгодженою роботою елементів цитоскелету. Наприклад, під час закладки нервової трубки (цей процес називається нейру-

ляцією) клітини ектодерми на спинній частині зародка (тобто клітини нервових валиків) спочатку стають вищими, а потім замикаються у трубку (рис. 5.16).

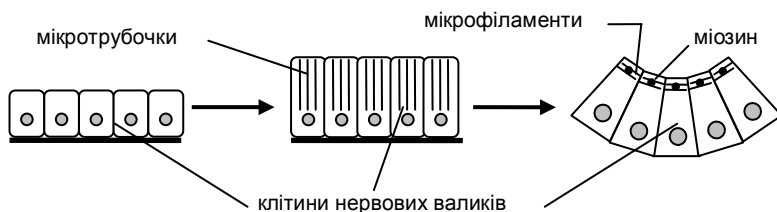


Рис. 5.16. Участь цитоскелета в нейруляції

Показано, що збільшення висоти клітин відбувається через видовження мікротрубочок, які розміщуються паралельно апікально-базальній осі клітини (рис. 5.16). Потім в апікальній частині клітини формується актино-міозинове скоротливе кільце, подібне до скоротливого кільця, яке формувалось під час поділу клітини. Завдяки скороченню цього кільця апікальна частина клітин звужується, клітини стають трапецієподібними. А оскільки цей процес відбувається узгоджено в усіх клітинах майбутньої нервової трубки, то це веде до замикання пласта клітин у трубку.

Клітини у складі багатоклітинного організму можуть бути з'єднаними між собою міжклітинними контактами. В утворенні деяких механічних міжклітинних контактів беруть участь мікро- та проміжні філаменти. У десмосомі до плазмолем двох контактуючих клітин підходять проміжні філаменти. Тут ці філаменти взаємодіють з білками *десмоплакінами*, а останні – з інтегральними глікопротеїдами плазмолем *десмогліїнами*. Десмогліїни цих двох клітин з'єднуються між собою, забезпечуючи, по суті, об'єднання проміжних філаментів двох сусідніх клітин між собою. Це дозволяє даним клітинам міцніше прикріпитись одна до одної. Подібну структуру має і так званий проміжний контакт, в якому контактують мікрофіламенти двох сусідніх клітин. Отже, елементи цитоскелету формують єдину опорно-рухову систему клітини.

5.5. Патологія цитоскелета

Елементи цитоскелету, як і цитоскелет у цілому, зазнають різноманітних змін при розвитку багатьох хвороб і патологічних станів. Це певним чином відбивається на тих чи інших функціях клітини.

Патологія мікрофіламентів є достатньо різномірною. З порушенням їхньої функції пов'язують, наприклад, деякі види *холестазу* – застою жовчі. Показано, що пригнічення скоротливої здатності мікрофіламентів гепатоцитів спричинює зменшення розміру просвіту жовчних каналців, результатом чого є застій жовчі.

Збільшення кількості мікрофіламентів описано в клітинах злякисних пухлин, особливо в зонах інвазії пухлини. Аналогічне зростання характерне для деяких репаративних процесів, наприклад, для загоювання ран.

Патологія проміжних філаментів пов'язана переважно з їхнім накопиченням у клітині, спостерігається при утворенні алкогольного гіаліну (тілець Меллорі), хворобі Альцгеймера та деяких формах кардіоміопатій.

Відомий американський патолог Меллорі на початку XX століття описав у клітинах печінки (гепатоцитах) при алкоголізмі гіалінові включення неправильної форми (*алкогольний гіалін*), які носять тепер його ім'я. Алкогольний гіалін, формуючий тільця Мелорі, виявляють не лише в гепатоцитах, а також у ацинусах підшлункової залози та нейронах головного мозку. Нині накопичення проміжних філаментів у клітинах епітеліального та мезенхімного походження вважається морфологічною ознакою хронічного алкоголізму. *Гіалін Меллорі*, хоча найчастіше і з'являється при алкогольному цирозі, проте утворюється також і при розвитку інших хвороб, таких як індійський дитячий цироз, гепатоцеребральна дистрофія (хвороба Вільсона – Коновалова), первинний біліарний цироз. Він має характерну ультраструктуру. Зауважимо однак, що утворення алкогольного гіаліну з проміжних філаментів визнається не всіма дослідниками.

Хвороба Альцгеймера, або "*пресенильна*" *деменція* супроводжується утворенням фібрилярних мас у нейронах кори головного мозку літніх людей. Утворені фібрилярні маси є патологічно зміненими нейрофіламентами, що формують сплетення. Клінічними проявами даної патології є недоумство.

Спадкова нейропатія гігантських аксонів пов'язана з утворенням сплетень нейрофіламентів уздовж аксонів периферійних нервів і в нервових сплетеннях.

Кардіоміопатії зумовлені порушенням метаболізму десміну проміжних філаментів. Їхня клініка виявляється прогресуючою недостатністю міокарда і характеризуються масивними відкладеннями в кардіоміоцитах матеріалу, який складається з проміжних філаментів.

Патологія мікротрубочок також може бути основою деяких хвороб. Прикладом такої патології може бути *синдром нерухомих війок (уроджений синдром Картагенера)*. При цій хворобі війки епітелію дихальних шляхів і слизової оболонки середнього вуха стають малорухливими. У результаті різко знижується, аж до його повного припинення, транспорт слизу. Це, у свою чергу, призводить до хронічного запалення дихальних шляхів і середнього вуха. У таких хворих розвивається також безпліддя, бо джгутики сперматозоїдів стають нерухомими. Мала рухливість війок і джгутиків при цій хворобі виникає через дефект або повну відсутність білка динеїну (у нормі війки рухаються в результаті переміщення дублетів мікротрубочок саме завдяки наявності в ручках білка динеїну). Причиною дефекту динеїну є мутація гена, котрий кодує цей білок.

Відсутність зв'язку між периферійними та центральними дуплетами у війках також спричинює їхню малорухомість, у результаті чого розвиваються найрізноманітніші патології. Так, при інфекційних бронхітах че-

рез малорухливість війок відсутній рух слизу в бронхах. Патологічна зміна війок часто спостерігається у курців, при цьому відмічають появу безлічі дуплетів і відзначають їхню малорухливість. Розмноження центріолей з утворенням "кист війок" часто спостерігається в генітальному тракті жінок при хронічних запаленнях (гонорея, хламідіоз, уреоплазмоз тощо).

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ

1. Ультраструктурна будова мікротрубочки.
2. Ультраструктурна будова актинових філаментів.
3. Ультраструктурна будова мікрофіламентів.
4. Що таке тредмілінг?
5. Ультраструктурна будова проміжних філаментів.
6. Які функції виконують проміжні філаменти?
7. Як відрізняються за хімічним складом проміжні філаменти у клітинах різних тканин?
8. Якщо обробили клітину антитілами до тубуліну, де вони будуть локалізовані? Чому?
9. Якщо обробити клітину антитілами до актину, де вони будуть локалізовані? Чому?
10. Яким чином мікрофіламенти можуть зумовлювати рух внутрішньоклітинних компонентів?
11. Яким чином мікротрубочки можуть зумовлювати рух внутрішньоклітинних компонентів?
12. Які функції мають білки динеїн і кінезин?
13. Які типи руху клітин зумовлюють мікротрубочки?
14. Які типи руху клітин зумовлюють мікрофіламенти?
15. У клітині порушили мікрофіламенти та мікротрубочки. У результаті припинився процес виведення секрету. Чому?
16. Які функції клітини порушуються, якщо в ній викликати деполімеризацію актинових філаментів?
17. Які особливості будови кортикального шару цитоплазми?
18. Чим відрізняється кортикальна цитоплазма від внутрішніх ділянок цитоплазми?
19. Як впливає концентрація іонів Ca^{2+} на цитоскелет?
20. Як впливає колхіцин на цитоскелет?
21. Характер дії цитохалазинів на цитоскелет.
22. Будова центріолі.
23. Чи всі еукаріоти мають центріолі? Відповідь поясніть.
24. За допомогою мікроманіпулятора з клітини виділили центріолі клітинного центру. Як це відобразиться на життєдіяльності клітини?
25. Будова базального тільця.
26. Структура і функції війок.
27. Структура і функції джгутиків.
28. Структура і функції мікроворсинок.
29. Чим відрізняється будова центріолі та джгутика?

Розділ 6

ЯДРО

Ядро (*nucleus, karyon*) – обов'язкова частина клітин багатьох одноклітинних і всіх багатоклітинних організмів. Саме за наявності чи відсутності оформленого ядра з оболонкою всі клітинні організми поділяють на два основні надцарства.

Procaryota – усі бактерії (включаючи архебактерії та ціанобактерії), вони не мають оточеного мембраною ядра, а їхня генетична система не відокремлена від цитоплазми і формує в ній скупчення – **нуклеоїд**. Нуклеоїд – ДНК-вмісна зона, частіше розташована в центрі клітини, являє собою одну кільцеву молекулу ДНК, не з'єднану з гістоновими білками й прикріплену в одній точці до внутрішньої мембрани клітини. Мітоз у прокаріотів відсутній. Поділ нуклеоїда відбувається після завершення реплікації ДНК за рахунок розходження дочірніх молекул ДНК, яке забезпечується ростом клітинної мембрани.

Eucaryota – усі вищі тварини і рослини, одно- й багатоклітинні водорості, гриби і Найпростіші. Їхні ядра мають обов'язкову структуру – двомембранну ядерну оболонку зі спеціальними утвореннями – ядерними порами. Ядерна ДНК локалізована у хромосомах (різної кількості залежно від виду організмів). Звичайно вона є не кільцевою, а лінійною молекулою. ДНК з'єднана з гістонами і, як правило, утворює з ними нуклеосомні структури (див. нижче). Поділ еукаріотичного ядра й генетичного матеріалу забезпечується складним скоординованим процесом – мітозом.

Виділяють також проміжну групу організмів – надцарство *Mesocaryota* (динофітові водорості) – з проміжним типом організації генетичного апарату. Їхнє ядро (**динокаріон**) має ядерну мембрану, містить різну кількість хромосом (5–284) зі значним вмістом ДНК, яка за кінетичними параметрами нагадує еукаріотичну, але хромосоми постійно конденсовані. Гістони й нуклеосомна організація не виявлені, але є незначна кількість гістоноподібних білків. Розподіл хромосом під час поділу клітини, очевидно, опосередковується їхнім контактом з ядерною мембраною.

6.1. Принципи структурно-функціональної організації еукаріотичного ядра

Функції еукаріотичного ядра. Оскільки ядро містить геном клітини, воно відповідає за більшість процесів, які визначають життєдіяльність клітини – керує білковим синтезом, фізіологічними і морфологічними процесами у клітині. В ядрі відбуваються більшість етапів реалізації генетичної інформації еукаріотичної клітини – реплікація ДНК, транскрипція і **процесинг** ("дозрівання") усіх видів РНК, у тому числі формування рибосомних субодиниць. Тільки кінцева стадія генної експресії – трансляція (біосинтез білка) – локалізується в цитоплазмі. Таким чином, ядро – не лише місце збереження генетичного матеріалу, але й місце, де цей матеріал функціонує і відновлюється.

Усі функції ядра можна поділити на дві основні групи:

I. Збереження генетичної інформації в ряду поколінь клітин і організмів.

1.1. Репарація ДНК.

1.2. Реплікація ДНК.

1.3. Регуляція процесів точного розподілу молекул ДНК при поділі клітини.

II. Реалізація генетичної інформації (у ряду ДНК→РНК→білок), створення апарату білкового синтезу.

2.1. Транскрипція всіх видів РНК.

2.2. Процесинг (дозрівання, сортування) усіх видів РНК.

2.3. Утворення субодиниць рибосом.

2.4. Регуляція синтетичних процесів.

III. Можна виділити також третю групу функцій ядра – забезпечення рекомбінації генетичного матеріалу (при кросинговері під час мейозу), що є основою комбінативної мінливості.

Загально-морфологічні особливості ядра. Хоча ядра всіх клітин одного організму містять однакову кількість генетичного матеріалу, в різних типах клітин спостерігаються значні розбіжності за розміром, формою і локалізацією ядра в клітині.

Основні компоненти ядра (рис. 6.1):

- ядерна оболонка (*каріолема*);
- ядерний сік (*каріоплазма*);
- *хроматин* (*хромосоми*);
- *ядерце*.

Форма ядра може бути округла, овальна, полігональна, неправильна, у тому числі лопатева, витягнута (веретеноподібна), бобоподібна, ниркоподібна, підковоподібна, у вигляді перекрученого джгута, булавоподібна і т. д. Звичайно вона адаптована до форми всієї клітини. У більшості типів клітин ядро має сферичну форму (рис. 6.2). Проте в клітинах, які самі є

циліндричними або веретеноподібними, ядро звичайно також циліндричне або овальне з поздовжньою віссю, паралельною осі клітини (рис. 6.3). У клітинах пласкої форми ядро може бути дископодібне (рис. 6.4).

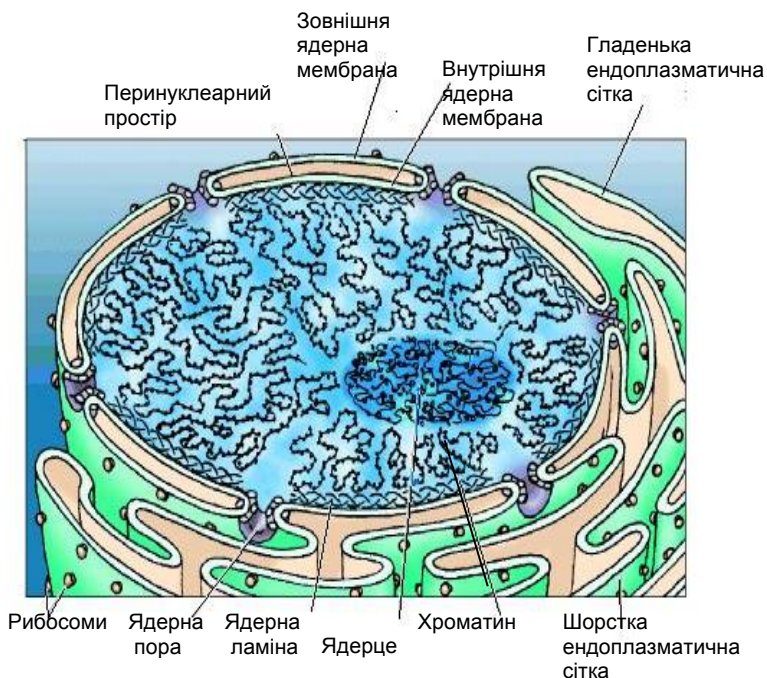


Рис. 6.1. Загальна схема будови ядра

Незвичайні форми ядер виявлені в клітинах крові гранулоцитах, які належать до лейкоцитів. Їхні ядра мають неправильну часточкову структуру (сегментоване ядро), характерну для того чи іншого типу лейкоциту (рис. 6.5, 6.6), яка, до того ж, змінюється у процесі формування клітин, тому такі клітини називають також поліморфоядерні лейкоцити.

У клітинах гладеньких м'язів форма ядра динамічна, у них виявляється пряме видовжене ядро в стадії спокою і скручене (штопороподібне) – під час скорочення. Деякі клітини, наприклад, мегакаріюцити (попередники тромбоцитів) мають великі часточкові ядра. В ядрах інших клітин зустрічаються інвагінації (вп'ячування) ядерної оболонки з боку цитоплазми, наприклад, у клітинах епіфіза (пінеалоцитах) або клітинах перехідного епітелію сечового міхура.

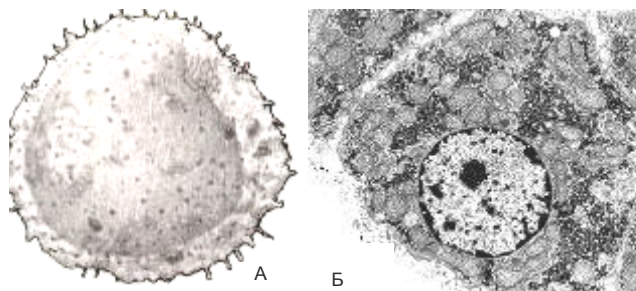


Рис. 6.2. Сферичне ядро лімфоцита (А) (схематичне зображення) і гепатоцита мавпи (Б) (електронна мікрофотографія)

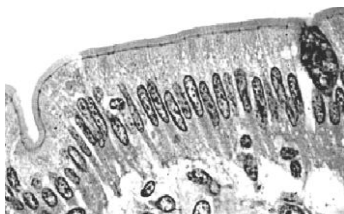


Рис. 6.3. Видовжена форма ядер в епітеліоцитах тонкого кишечника

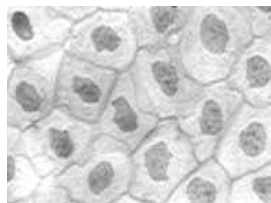


Рис. 6.4. Дискподібні ядра у клітинах шкіри жаби

Розташування ядра. У більшості клітин ядро займає центральну частину клітини, тоді як інші органели розташовані навколо нього випадковим чином. У деяких клітинах зі спеціалізованими функціями органели мають певну просторову організацію. У таких клітинах ядро може бути зафіксовано в іншій частині клітини (ексцентрично) або, як у випадку багатоядерної клітини скелетного м'яза – на периферії клітини, прилягаючи до клітинної мембрани.

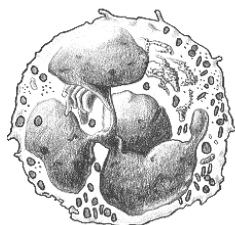


Рис. 6.5. Зрілий сегментоядерний нейтрофіл (схематичне зображення). Ядро розділене на 2–5 часток, з'єднаних тонкими ядерними філаментами



Рис. 6.6. Моноцит – найбільший з лейкоцитів (схематичне зображення). Має ниркоподібне або підковоподібне ядро, іноді – двочасточкове

В унівакуолярних адипоцитах (жирових клітинах) велика ліпідна крапля, яка займає більшу частину цитоплазми, також відсуває дископодібне ядро від центра клітини (рис. 6.7).

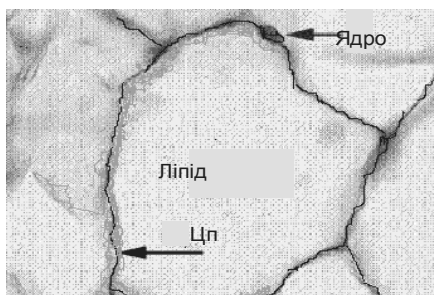


Рис. 6.7. Унівакуолярний адипоцит.
Клітина має тонкий обідок цитоплазми (Цп),
яким оточена єдина велика жирова крапля.
Ядро зміщене на периферію клітини

ти (резорбтивні клітини кісткової тканини), хондрокласти (резорбтивні клітини хряща) і всі клітини скелетних м'язів. Тоді як перші три різні типи клітин містять приблизно 3–8 ядер, клітини серцевого м'яза мають від кількох сотень до декількох тисяч ядер, які прилягають до поверхні клітини.

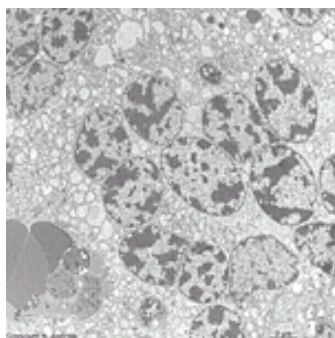


Рис. 6.8. Багатоядерний синцитіотрофобласт з плаценти людини
(електронограма)

коливаннями залежно від типу клітини. Він може змінюватись залежно від функціональної активності клітини і самого ядра. Співвідношення об'ємів ядра і клітини (**ядерно-цитоплазматичне співвідношення**)

Кількість ядер. Більшість клітин містить тільки одне ядро. Проте два ядра можуть зустрічатися в клітинах печінки (гепатоцитах), поверхневих клітинах перехідного епітелію (сечової системи), парієтальних клітинах (шлунка), хондроцитах, клітинах серцевого м'яза. Клітини з багатьма ядрами походять від клітин, які зливаються під час розвитку, формуючи синцитій: синцитіотрофобласт, який є поверхневим епітелієм плаценти (рис. 6.8), остеоклас-

ти (резорбтивні клітини кісткової тканини), хондрокласти (резорбтивні клітини хряща) і всі клітини скелетних м'язів. Тоді як перші три різні типи клітин містять приблизно 3–8 ядер, клітини серцевого м'яза мають від кількох сотень до декількох тисяч ядер, які прилягають до поверхні клітини.

ти (резорбтивні клітини кісткової тканини), хондрокласти (резорбтивні клітини хряща) і всі клітини скелетних м'язів. Тоді як перші три різні типи клітин містять приблизно 3–8 ядер, клітини серцевого м'яза мають від кількох сотень до декількох тисяч ядер, які прилягають до поверхні клітини.

ти (резорбтивні клітини кісткової тканини), хондрокласти (резорбтивні клітини хряща) і всі клітини скелетних м'язів. Тоді як перші три різні типи клітин містять приблизно 3–8 ядер, клітини серцевого м'яза мають від кількох сотень до декількох тисяч ядер, які прилягають до поверхні клітини.

також залежить від функцій клітини. У дуже малих клітинах, наприклад лімфоцитах або клітинах мікроглії, співвідношення ядро / цитоплазма понад 50 %, у жирових клітинах при високому вмісті ліпідів воно може бути менш ніж 1 %. Взагалі, метаболічно неактивні клітини мають менше ядро, ніж активні. Об'єм ядра збільшується із збільшенням активності клітини, при цьому в ньому зростає ступінь деконденсації активного хроматину, який бере участь у процесі **транскрипції** – копіюванні генетичної інформації на матричну рибонуклеїнову кислоту (м-РНК), яка надалі транспортується в цитоплазму для біосинтезу білка (**трансляції**). Більшість клітин має один хромосомний набір у ядрі, тобто є **диплоїдними** (кожна хромосома представлена парою), деякі клітини, наприклад клітини печінки або клітини серцевого м'яза, можуть бути **поліплоїдними** і містити більш ніж один хромосомний набір, що теж відображається на розмірах ядра. Збільшення співвідношення ядро / цитоплазма може бути важливим для вирішення питання про належність клітини до злоякісного стану, при якому клітини набувають збільшеного хромосомного набору.

Ядро відокремлене від цитоплазми ядерною оболонкою. Внутрішній вміст ядра, що називається **каріоплазма**, або **каріолімфа**, включає більш або менш щільну сітку хроматину і ядерця. У світловому мікроскопі ядра видимі як однорідні структури з ділянками більшої щільності, які і є гранулами хроматину або зоною ядерця. Після фіксації й забарвлення тканини кислий (через збагаченість нуклеїновими кислотами) хроматин є базofilним, тобто може інтенсивно забарвлюватись основними барвниками. У багатьох випадках ядра забарвлюються більш інтенсивно, ніж цитоплазма. Хроматин може виявлятися як тонкі волокна світлішого (диспергованого) **еухроматину** або як грудки більш щільно упакованого (конденсованого) **гетерохроматину**. Ці дві форми хроматину краще видимі в електронному мікроскопі. У деяких клітинах у жінок і в особин жіночої статі ссавців виявляються невеликі більш щільні агрегати гетерохроматину, який прилягає до ядерної мембрани – це Х-хроматин, або тільце Барра, що містить одну інактивовану Х-хромосому (статеву). У сегментованих ядрах поліморфоядерних лейкоцитів тільця Барра утворюють вип'ячування в бік цитоплазми, яке часто має форму "барабанної палички".

Під час поділу клітини (мітоз або мейоз) в ядрі відбуваються характерні каскади значних морфологічних змін, пов'язаних з процесом розподілу хромосом.

При цитологічному дослідженні препаратів опис морфології ядра має велике значення як у фундаментальних, так і в клінічних дослідженнях. При цьому враховують форму і розмір ядра, його розташування та інтенсивність забарвлення; ядерно-цитоплазматичне співвідношення; характер будови хроматину; кількість, форму і розміри ядерця, чіткість їхніх меж; стан ядерної мембрани (чіткість її контурів, наявність "розривів", інвагінацій) наявність багатоядерних клітин, клітин у стадії мітозу, у тому числі з атипovими мітозами; можливу наявність ядерних включень.

Поверхневий апарат ядра. Ядерна оболонка (каріолема) складається з двох ядерних мембран, зовнішньої і внутрішньої, розділених **перинуклеарним простором (люменом)**, який має ширину 20–60 нм і становить єдине ціле з порожнинами ендоплазматичної сітки (ЕПС). Зовнішня мембрана ядерної оболонки має низку структурних особливостей, за якими її об'єднують з мембранами ЕПС – на ній розташовується велика кількість рибосом, спостерігається її безпосередній перехід у систему каналів ЕПС. Зовнішня мембрана ядра може утворювати пухирцеподібні, трубчасті або складчасті вирости в бік цитоплазми. Внутрішня мембрана відрізняється від зовнішньої тим, що на ній немає рибосом і не спостерігається її злиття і перехід у мембрани ЕПС. Але вона здатна також утворювати вирости як у бік ядра, так і в перинуклеарний простір. Крім самостійних виростів зовнішньої або внутрішньої мембрани ядерної оболонки, у багатьох типах клітин спостерігається утворення інвагінацій або вип'ячувань оболонки ядра в цілому, в якому задіяні одночасно обидві мембрани.

За загальною будовою ядерні мембрани подібні до всіх інших клітинних мембран, тобто є білок-ліпідним бішаром, але вони мають характерну особливість, властиву тільки ядерній оболонці – особливі пори (**ядерно-поровий комплекс**), діаметром 60–100 нм, які об'єднують дві ядерні мембрани й забезпечують процеси транспорту між ядром і цитоплазмою.

Хімічний склад ядерних мембран. Основними хімічними компонентами ядерних мембран є ліпіди (13–35 %) та білки (50–75 %).

За ліпідним складом ці мембрани дуже наближені до мембран ЕПС, характеризуються відносно низькою кількістю холестеролу і високим вмістом фосфоліпідів, збагачених насиченими жирними кислотами. Внутрішня ядерна мембрана містить мало сфінгомієліну.

Білковий склад – різноманітний, багато в чому близький до мембран ЕПС, але розрізняється в зовнішній і внутрішній мембранах. В них виявлені білки, пов'язані з процесами транспорту іонів Ca^{2+} , ферменти системи окисного фосфорилування, транспортні АТФази, білки, які забезпечують зв'язок хроматину з мембраною тощо. Особливою фракцією є білки ядерно-порових комплексів – **нуклеопорини**.

Ядерна ламіна – волокнисто-сітчаста структура, яка прилягає до всієї внутрішньої поверхні ядерної оболонки (за виключенням ділянок пор) і забезпечує структурну підтримку ядра. Ядерна ламіна складається зі споріднених білків **ламів**. Більшість клітин ссавців містить чотири різні ламіни – А, В₁, В₂ і С. Усі ламіни – фібрилярні білки (60–80 кДа), які належать до системи проміжних філаментів цитоскелету. Як і інші білки проміжних філаментів, вони взаємодіють один з одним, формуючи спочатку спіральньо-скручені димери, які надалі поєднуються у фібрили й формують сіткоподібні структури. З внутрішньою ядерною мембраною ламіна пов'язана через специфічні інтегральні білки мембрани. З іншого боку, білки ядерної ламіни пов'язані також з білками хроматину, що забезпечує його прикріплення до ядерної мембрани. Під час мітозу відбувається фо-

сфорилювання кінців ламінів, унаслідок чого змінюється їхній заряд і вони відштовхуються один від одного, сітчаста структура ядерної ламіни руйнується і ядерна оболонка, втрачаючи структурну цілісність, розпадається на окремі вакуолі. Наприкінці мітозу (під час телофази) відбувається зворотний процес дефосфорилювання ламінів, що сприяє їхньому збиранню і відновленню ядерної оболонки та ядра в цілому.

Ядерно-поровий комплекс. Пори в ядерній оболонці (ядерно-поровий комплекс) організовані за участю спеціальних білків із загальною назвою *нуклеопорини*. Для ядерної пори характерна симетрія восьмого порядку (октагональна) – більшість білків у її складі представлені в кількості, кратній восьми.

Ядерно-поровий комплекс (ЯПК) має дуже великі розміри – близько 125000 кДа (у хребетних), що приблизно в 30 разів більше за рибосому. Він складається з множинних копій 50–100 різних білків. Кількість пор на 1 ядро становить ~ 190 у дріжджах, 3–5 тис. у клітинах людини, що діляться, і 5107 у зрілих ооцитах *Xenopus*. Ядерно-порові комплекси добре помітні на електронних мікрофотографіях ядерної оболонки великих ядер ооцитів амфібій (рис. 6.9).

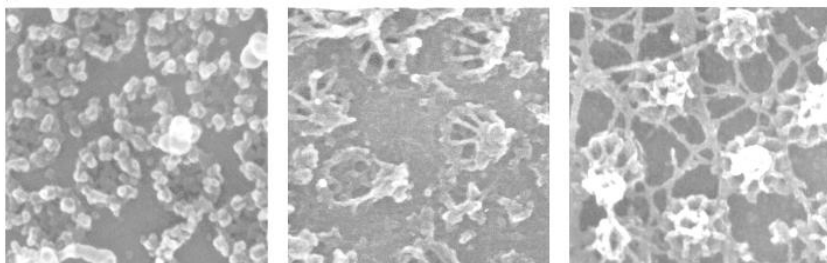


Рис. 6.9 [10]. Ядерна оболонка ооцитів *Xenopus* у скануючому електронному мікроскопі

На базі таких фотографій створено модель ЯПК (рис. 6.10). І на цитоплазматичній, і на ядерній поверхні пори виступають білкові кільця – цитоплазматичне та ядерне. Цитоплазматичне кільце несе 8 вільних філаментів. Ядерне кільце підтримує 8 філаментів довжиною ~ 100 нм, дистальні кінці яких з'єднані **термінальним кільцем**, формуючи структуру, яку називають **ядерним кошиком**. Ядерне кільце також безпосередньо приєднане до ядерної ламіни. У простір каналу пори обернені 8 симетричних білкових утворів, що нагадують спиці колеса. У центрі комплексу – вхід у канал пори. Часто в каналі помітна електронно-щільна гранула, функціональна природа якої остаточно невідома. За різними припущеннями це може бути або функціональний компонент самої пори, або певний комплекс, що транспортується через неї в цей час.

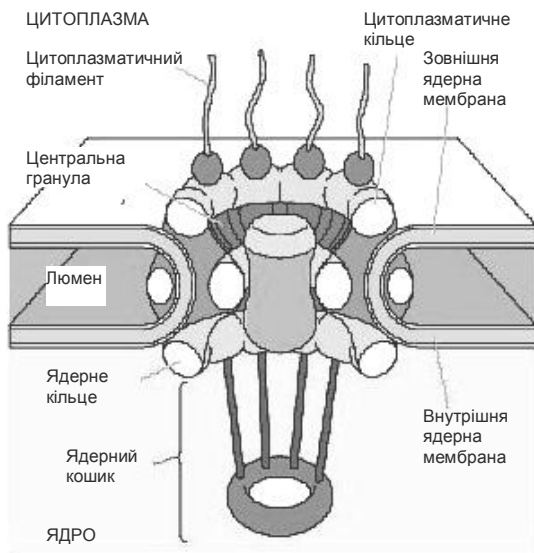


Рис. 6.10. Схема будови ядерно-порового комплексу

За даними електронної мікроскопії ядерна пора є досить лабільною структурою, яка у відповідь на різні стимули може змінювати свій радіус і, можливо, провідність.

Через ядерно-поровий комплекс відбувається обмін речовинами між ядром і цитоплазмою. Нуклео-цитоплазматичний транспорт можна поділити на пасивний і активний. **Пасивний транспорт** відбувається за рахунок дифузії речовин через пори. Дифундувати через заповнені водою канали в ЯПК можуть іони, малі метаболіти і глобулярні білки до ~60 кДа. **Активний транспорт** великих субстратів – специфічний процес, який потребує енергетичних витрат.

Через ЯПК активно транспортуються великі білки і рибонуклеопroteїнові комплекси ~ 25 нм у діаметрі, які не можуть проходити за рахунок дифузії. Усі рибонуклеїнові кислоти, що синтезуються в ядрі, повинні експортуватися в цитозоль, перш ніж вони зможуть функціонувати в білковому синтезі. І навпаки, усі білки, що містяться в ядрі, мають бути імпортовані до нього з цитоплазми, де вони синтезуються на рибосомах. ЯПК діє як селективний канал, через який ці макромолекули вибірково транспортуються в ядро і з нього.

В активному транспорті макромолекул через ЯПК беруть участь спеціальні білки **транспортини**, які формують транспортний комплекс і забезпечують специфічність транспорту. Відповідно до їхньої ролі в транспорті їх ще поділяють на **експортини** (транспорт ядро→цитоплазма)

та **імпортини** (цитоплазма → ядро). У загальних рисах нуклеоцитоплазматичний транспорт можна уявити наступним чином. Спочатку в донорному компартменті (звідки субстрат транспортується) відбувається формування комплексу вантаж / транспортини. Потім комплекс тимчасово закріплюється на білках ядерної пори, розпізнається і транслокується через неї в акцепторний компартмент (в який спрямований транспорт). Далі комплекс дисоціює, а вантаж вивільнюється. Транспортини, які брали участь в утворенні комплексу, повертаються в донорний компартмент. Білки-транспортини, що переносять різні види РНК і рибонуклеопroteїнів з ядра в цитоплазму, мають у своєму складі спеціальні короткі амінокислотні послідовності – **сигнали ядерного експорту**, завдяки яким вантаж пропускається через пору. Білки ж, які транспортуються з цитоплазми в ядро, несуть подібні послідовності іншого складу (**сигнали ядерної локалізації**) безпосередньо у своїй молекулі. Серед транспортинів є як суто специфічні для переносу певних молекул, так і такі, що можуть транспортувати декілька різних субстратів.

У більшості випадків джерелом енергії для активного нуклеоцитоплазматичного транспорту є гідроліз ГТФ. Його забезпечує спеціальний білок з ГТФазною активністю, який також входить до складу транспортного комплексу (RAN-білок).

Ядра є складно структурованими, а ядерний метаболізм має складну просторову організацію. Внутрішня архітектура ядра включає два взаємопов'язані структурні компоненти – хроматин, що містить нуклеїнові кислоти, і ядерний матрикс.

Ядерний матрикс (ядерний скелет) – каркасна внутрішньоядерна система, яка слугує для об'єднання всіх ядерних компонентів. Уперше ядерний матрикс був виявлений у дослідженнях І. Збарського і С. Дебова (1948) як сітчаста структура, котра залишається після обробки ядер концентрованими сольовими розчинами (2 моль/л NaCl). За даними електронної мікроскопії до складу ядерного матриксу, який виявляється після біохімічних екстракцій (обробка неіонними детергентами, нуклеазами, концентрованими сольовими розчинами), входять три відмінні структурні компоненти: **периферична ядерна ламіна з поровими комплексами, внутрішньоядерна фібрилярно-гранулярна сітка і залишкові ядерця**. Іноді ядерним матриксом називають тільки внутрішньоядерну сітку. Внутрішньоядерна фібрилярна сітка виявляє набагато більшу лабільність порівняно з ядерною ламіною. Залежно від типу клітини та процедури виділення, внутрішні сітчасті структури і/або залишкові ядерця можуть бути відсутніми, тоді як ламіна завжди є наявною.

Ядерний матрикс є достатньо складним комплексом елементів, функціонально і структурно пов'язаних один з одним. Структурна біохімія внутрішнього ядерного матриксу значно менш досліджена в порівнянні зі структурою ядерної ламіни, хоча багато його білків ідентифіковані. Однак мало відомо про те, як вони збираються для утворення волокон, філаментів та ін-

ших компонентів внутрішнього ядерного матриксу. У підтриманні його структури відіграють значну роль метало-протеїнові взаємодії, зокрема іони Mg^{2+} .

Білки, що входять до складу ядерного матриксу, зв'язують певні послідовності ДНК, які називають *SAR* або *MAR* (ділянки, пов'язані зі скелетом – *scaffold-associated regions* або з матриксом – *matrix-associated regions*). Вважається, що такі послідовності утворюють основу петель ДНК при формуванні хромосом. Завдяки сайтам прикріплення хромосом матрикс може брати участь в організації хромосом, визначати взаємну локалізацію генів, регулювати транскрипцію та реплікацію ДНК у ядрі. Та оскільки структурні компоненти матриксу ще остаточно не ідентифіковані, залишається невідомим, чи відповідає матрикс, отриманий в експериментах, структурі, присутній в інтактних клітинах.

Каріоплазма, або ядерний сік у вигляді безструктурної маси оточує хроматин і ядерця.

6.2. Молекулярна організація спадкового апарату

Здатність клітин підтримувати високу впорядкованість організації залежить від генетичної інформації, яка реалізується, зберігається і відтворюється в ДНК, синтезі РНК і білків.

Генетична інформація, яка має бути стабільною і стійкою до зовнішніх факторів, зберігається в ядрі в молекулах дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК). Усі молекули ДНК (як про-, так і еукаріотичних клітин) побудовані з чотирьох типів нуклеотидів, кожний з яких складається з азотистої основи, цукру – дезоксирибози й залишку фосфорної кислоти. У ДНК є чотири типи азотистих основ: **аденін (А)** і **гуанін (Г)** (**пуринові**) та **цитозин (Ц)** і **тимін (Т)** (**піримідинові**). Нуклеотиди зв'язані в довгі **полінуклеотидні ланцюги** (рис. 6.11, А) ковалентними фосфодієфірними зв'язками, які з'єднують п'ятий атом вуглецю (позначається 5') однієї дезоксирибози з третім (3') вуглецевим атомом наступної дезоксирибози (рис. 6.11, Б).

Первинна структура молекули ДНК (послідовність нуклеотидів) специфічна для кожної природної ДНК і є кодовою формою запису біологічної інформації – **генетичного коду**.

Молекула ДНК міститься в клітині переважно у вигляді спіралі з двох ланцюгів, які закручені навколо однієї загальної осі й мають **антипаралельну** (протилежну) орієнтацію. Антипаралельна орієнтація, або полярність молекули ДНК є важливим поняттям у біохімії ДНК. Рис. 6.11, Б ілюструє полярність двох ланцюгів ДНК у спіралі, де напрямки 5' → 3' є протилежно спрямованими. Така орієнтація ланцюгів є важливою при розумінні багатьох функцій і процесів в клітині, у яких беруть участь ДНК і РНК.

А, Полінуклеотидний ланцюг

Цукрово-фосфатний
каркас

В, Водневі зв'язки
між основами

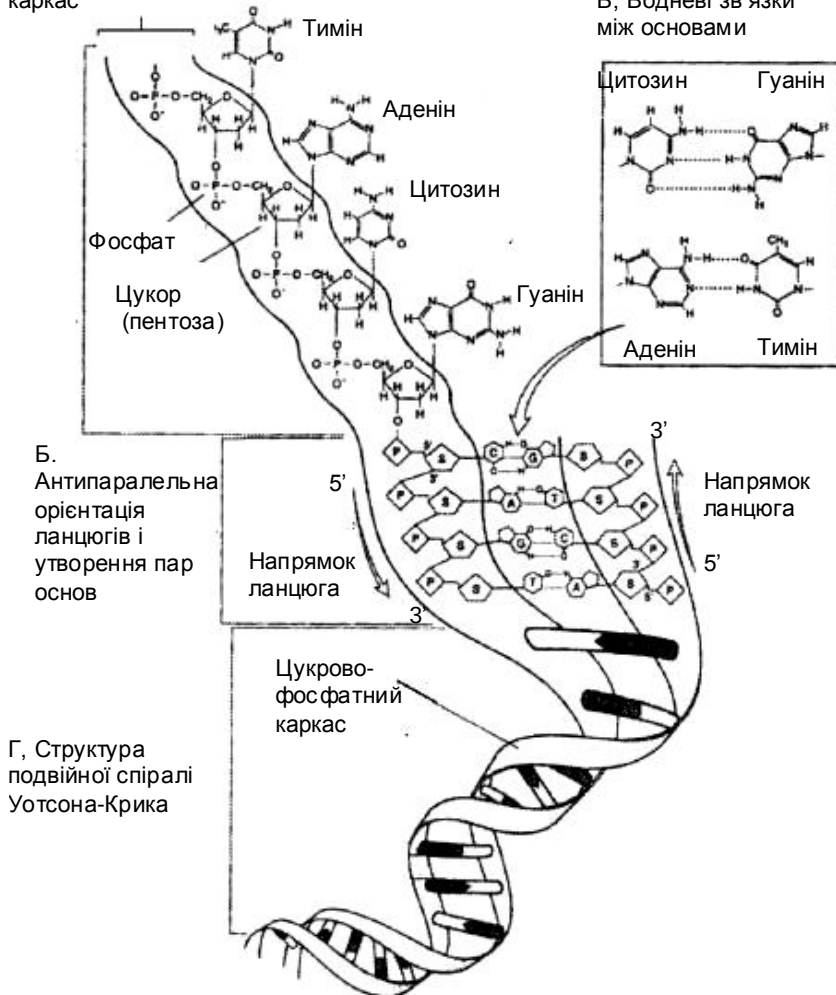


Рис. 6.11. Схема будови ДНК

У подвійній спіралі ДНК пуринові й піримідинові основи обернені одна до одної. При цьому аденін (А) одного ланцюга завжди зв'язується *водневими зв'язками* з тиміном (Т) другого, а гуанін (Г) – завжди з цитозином (Ц) (рис. 6.11, В). Утворення таких постійних пар у подвійній спіралі має назву **комплементарності**. Отже, спіраль ДНК утворюється послідовністю пар основ А-Т і Г-Ц уздовж полінуклеотидних ланцюгів. Різноманітні варіації в послідовності нуклеотидів уздовж ланцюга визначають функції кожної ділянки молекули ДНК і їхню роль у передачі інформації на молекули РНК, а через останні – і на молекули білків.

Макромолекулярну структуру ДНК встановлено Дж. Уотсоном і Ф. Криком у 1953 р. За цією моделлю (рис. 6.11, Г) дезоксирибофосфатний остов молекули ДНК розташований зовні молекули, а азотисті основи (площина яких перпендикулярна осі спіралі) – усередині. Два ланцюги ДНК обертаються один навколо одного й утримуються за рахунок водневих зв'язків між азотистими основами. У спрощеному вигляді модель нагадує скручену навкруги своєї осі мотузкову драбину, "сходинки" якої утворені парами основ А-Т і Г-Ц (рис. 6.11, Г). На кожний оберт спіралі припадає 10 пар основ. По довжині це становить 3,4 нм. Отже, відстань між двома парами основ – 0,34 нм. Ці величини є постійними для ДНК всіх організмів.

Загальна кількість ДНК у кожній клітині містить усю генетичну інформацію організму і позначається як **геном**. Існує ядерний геном, мітохондріальний геном і геном пластид. Розглянемо тільки ядерний геном. У різних видів організмів розмір геному неоднаковий (табл. 6.1). Геном людини містить близько $3,3 \times 10^9$ пар основ (п.о.) на гаплоїдне ядро, що в 1000 разів більше, ніж у бактеріальній клітині. Прямої кореляції між кількістю ДНК і еволюційним рівнем організму немає.

Соматичні клітини містять диплоїдний ($2n$) геном, статеві – гаплоїдний (n). У клітинах молекули ДНК можуть існувати в різних формах. Наприклад, бактеріальні клітини, мітохондрії і хлоропласти мають дволанцюгові кільцеві молекули ДНК. Деякі віруси ссавців мають лінійні одноланцюгові молекули ДНК. Клітини людини (за винятком сперматозоїдів і яйцеклітин) мають у ядрі 46 молекул лінійних двонитчастих ДНК, кожна з яких зв'язується з білками, утворюючи структури, які називаються **хромосомами**.

Послідовність нуклеотидів у молекулі ДНК визначає послідовність амінокислот кожного з білків в організмі людини. Будь-яка зміна в цій послідовності, навіть заміна однієї пари основ із загальної кількості $3,3 \times 10^9$ пар основ, може привести до зміни в структурі білка і до втрати або зміни його функції.

Екзонно-інтронна організація генів. В еукаріотів не встановлено чіткої *оперонної* організації генів. Гени, що визначають синтез ферментів одного ланцюга біохімічних реакцій, можуть бути розсіяні в геномі й, очевидно, не мають, як у прокаріотів, єдиної регулюючої системи. Нуклеотидні послідовності в складі самих структурних генів поділяють на два типи – **інтрони** й **екзони**. Інтрони (від англ. *intron* (*intervening sequence*)) – про-

міжна послідовність) складають ділянки молекули ДНК (гена) еукаріотів, які не несуть генетичної інформації. Припускається, що інтрони мають регуляторне значення, хоча точна функція їх невідома. Екзони (англ. *ex-[pressi]-on* – *вираженість*) – ділянки генів еукаріотів, які несуть повну генетичну інформацію, яка кодує синтез білка. У кожному гені фрагменти з екзонів та інтронів чергуються.

Таблиця 6.1. Розмір геному різних організмів

Об'єкт	Розмір гаплоїдного геному, пар нуклеотидів
Мікоплазми	10^4 – 10^6
Еубактерії (E.coli)	10^5 – 10^7
Гриби	$(2-5) \times 10^7$
Водорості	$(5-7) \times 10^7$
Черви	$\sim 10^8$
Молюски	5×10^8 – 5×10^9
Комахи	10^8 – 5×10^9
Ракоподібні	$\sim 10^9$
Голкошкірі	2×10^8 – 2×10^9
Риби	3×10^8 – 10^{10}
Амфібії	7×10^8 – 7×10^{10}
Рептилії	$(2-3) \times 10^9$
Птахи	10^9
Ссавці	3×10^9
Квіткові рослини	2×10^8 – 10^{11}

Молекули рибонуклеїнових кислот (РНК) *транскрибуються* (копіюються, синтезуються) безпосередньо з молекул ДНК і присутні в ядрі, цитоплазмі й мітохондріях. Основна функція молекул РНК – участь у процесах переносу інформації від ДНК до білка. Молекули РНК, як і ДНК, складаються з нуклеотидів, зв'язаних 3'-5'-фосфодіефірними зв'язками, але зустрічаються в основному у вигляді одониткових полінуклеотидних ланцюгів і зазвичай коротші, ніж більшість молекул ДНК. Як і ДНК, молекули РНК побудовані з основ А, Г, Ц, але замість тиміну (Т) містять урацил (У). Ще однією із значних відмінностей є присутність цукру рибози в РНК замість дезоксирибози в ДНК. Як і ланцюги спіралі ДНК, одноланцюгові молекули РНК мають направленість 5'→3'. Якщо молекула закрутилася навколо себе, в деяких її місцях можуть зустрітися окремі ділянки з протилежною направленістю і комплементарними основами. Завдяки цьому одноланцюгова молекула РНК утворює дволанцюговий фрагмент. Такі ділянки мають назву "шпилька". За будовою вони нагадують одониткову петлю, яка сидить на двонитковій "ніжці". Такі структури завжди присутні в молекулах тРНК. *Внутрішньомолекулярні водневі зв'язки* надають молекулі РНК вторинної і третинної структури, що робить молекулу РНК компактною і стабільнішою. Крім того, наявність вторинної струк-

тури забезпечує молекулі РНК здатність більш ефективно виконувати її біологічні функції в порівнянні з лінійною формою.

У клітинах людини є декілька основних класів молекул РНК:

- Матрична, або інформаційна (мРНК, іРНК).
- Транспортна РНК (тРНК).
- Рибосомальна РНК (рРНК).
- Гетерогенна ядерна РНК (гяРНК).
- Мала ядерна РНК (мяРНК).
- Мала ядерцева РНК.

Матрична, або інформаційна РНК становить 2-5 % від усієї РНК у клітині. Її молекули короткоживучі, є основними переносниками інформації ("месенджерами") від ДНК до білок-синтезуючої системи і характеризуються великою різноманітністю залежно від того, які білки вони кодують. Вони є інформаційними матрицями, які визначають амінокислотні послідовності в молекулах поліпептидів, що синтезуються на рибосомах.

Транспортна РНК – невеликі полінуклеотидні ланцюги, довжиною 74–95 нуклеотидів, складає 10–20 % клітинної РНК. Їхня головна роль – перенесення амінокислот до рибосом під час синтезу білка. Для кожної з 20 амінокислот, які входять до складу білків, існують свої специфічні тРНК, які "впізнають" цю амінокислоту (для кожної амінокислоти існує декілька видів "своїх" тРНК). Первинна структура тРНК, що визначається послідовністю нуклеотидів, формує вторинну структуру тРНК у вигляді листка конюшини. Остання зумовлює тривимірну третинну структуру, для якої характерне утворення двох перпендикулярно розташованих подвійних ланцюгів. Один з них утворений **акцепторною зоною**, другий – **антикодонавою**. До акцепторної зони приєднується амінокислота, а на антикодонів розміщений **антикодон** (триплет нуклеотидів, що комплементарний кодону мРНК). Ці ділянки максимально віддалені одна від одної. Стабільність третинної структури тРНК підтримується завдяки виникненню додаткових водневих зв'язків між основами полінуклеотидного ланцюга, які локалізуються в різних її ділянках, але просторово наближені в третинній структурі.

Рибосомальна РНК – найзначніший за кількістю клас РНК, становить близько 80 % від загального вмісту РНК у клітині. Міститься в рибосомах у зв'язаному з білками стані. Різноманітна за розмірами, які відрізняються у про- і еукаріот. Кожний з типів молекул РНК відіграє специфічну роль у процесах транскрипції (перенесення інформації від ДНК до РНК) або *трансляції* (перенесення інформації від РНК до білка).

Гетерогенна ядерна РНК є безпосереднім продуктом транскрипції, вона комплементарна одному з ланцюгів ДНК і є попередником інформаційної РНК. **Мала ядерна РНК** асоційована зі специфічними білками й бере участь у перетворенні гяРНК на іРНК до її виходу з ядра в цитоплазму. **Мала ядерцева РНК** функціонує в ядерці, відіграє певну роль у формуванні субодиниць рибосом.

Молекули РНК беруть участь у багатьох етапах перенесення інформації від ДНК до білка. Усі ці етапи мають проходити з великою точністю, щоб забезпечити повне перенесення інформації в цілому.

Реплікація ДНК. Клітина передає генетичний матеріал своїм нащадкам, реплікуючи (подвоюючи) весь свій геном перед поділом (під час S-періоду інтерфази). Цей процес повинен пройти протягом 7–8 год без помилок, без втрати частини геному або надлишкових копіювань окремих його фрагментів. Під час реплікації два ланцюги спіралі розділяються, кожна нитка слугує матрицею для синтезу нового, дочірнього ланцюга, тобто у двох нових молекулах ДНК одна нитка стара, друга – нова. Такий тип реплікації називають **напівконсервативним** (рис. 6.12).

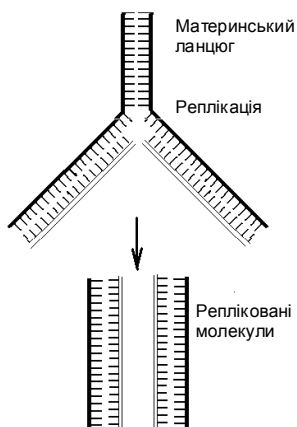


Рис. 6.12. Схема напівконсервативного типу реплікації ДНК

Завдяки здатності азотистих основ нуклеотидів утворювати за допомогою водневих зв'язків комплементарні пари, нуклеотидна послідовність молекул ДНК є однаковою у двох дочірніх клітинах та ідентична вихідній материнській молекулі.

Процес реплікації ДНК у хромосомах може починатися одночасно в багатьох місцях (до декількох тисяч). Такі місця називають **точкою (сайтом) початку реплікації** (або *ori* – від англ. *origin*, походження). Завдяки великій кількості таких сайтів весь процес реплікації проходить швидко. У точці *ori* починається розплетення подвійної спіралі й

формується **реплікативне вічко**. Два його роздвоєні кінці мають назву **реплікативних вилок**. При подальшому розплетенні вічка і приєднанні всіх необхідних для реплікації компонентів утворюється **реплікон** – структура, яка є одиницею реплікації (рис. 6.13). У його утворенні беруть участь ферменти (геліказа, топоізомераза) і дестабілізуючі білки. Фермент **геліказа** розплітає ланцюги спіралі ДНК. **Топоізомераза** (або **гіраза**) – фермент, що робить "надрізи" на одному з ланцюгів попереду реплікативної вилки, щоб у спіралі перед нею не виникало надмірного скручування. **Дестабілізуючі білки** утримують ланцюги в розплетеному стані.

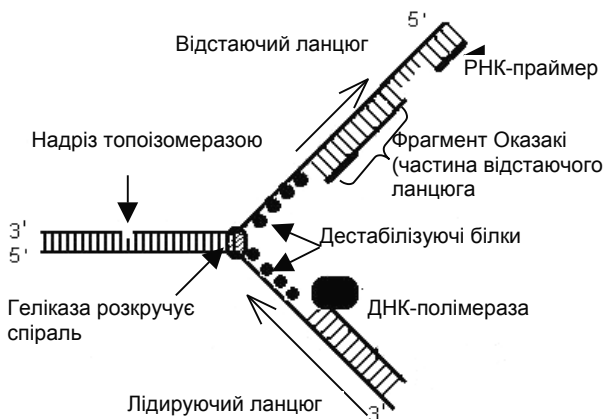


Рис. 6.13. Схема реплікації ДНК у ядрі (реплікон на одній з реплікативних вилок)

Синтез нового ланцюга ДНК (з'єднання вільних нуклеотидів фосфодіефірними зв'язками) здійснює фермент **ДНК-полімераза**. Узагалі, у клітинах людини відомо 5 типів ДНК-полімерази (α , β , γ , σ , ϵ), кожна з яких виконує специфічні функції. Але всі вони мають такі особливості:

- можуть тільки нарощувати вже існуючий фрагмент ланцюга, спарений з матричним ланцюгом, а не починати його заново з будь-якого місця (*de novo*);
- можуть приєднувати нові нуклеотиди тільки до 3'-кінця, який росте, тобто новий ланцюг завжди "росте" в напрямку $5' \rightarrow 3'$.

Напрямок росту одного з нових ланцюгів збігається з напрямком розкручування реплікативної вилки, реплікація на ньому проходить безперервно і тому він називається **лідуючим** (або провідним). Для другого – **відстаючого** (у зв'язку з явищем антипаралельності ланцюгів) цей напрямок протилежний. Для забезпечення всіх умов функціонування ДНК-полімерази, на матричному відстаючому ланцюзі спочатку формується короткий (приблизно 10 нуклеотидів) ланцюжок – **затравка**, або **праймер** з рибонуклеотидів за допомогою **РНК-полімерази**, або **праймази**. Від 3'-кінця праймера ДНК-полімераза вже може будувати далі ланцюг з ДНК-нуклеотидів у напрямку $5' \rightarrow 3'$. Пізніше праймери видаляються ферментом **РНК-нуклеазою**.

Тому тут синтез відбувається короткими фрагментами (приблизно 200 нуклеотидів) і кожного разу наступний праймер утворюється нижче по ходу розплетення спіралі. Такі окремі фрагменти ДНК-ланцюга називаються **фрагментами Оказаки**.

Репарація ДНК. Для підтримання сталості генетичного матеріалу потрібний не лише надзвичайно точний механізм реплікації, але й механізм виправлення помилок, які все ж таки можуть виникати при реплікації (приблизно 1 помилка на кожні 1–10 млрд пар основ), або під дією різноманітних факторів (мутагенні фактори). Ці механізми називаються *репарацією ДНК*. Якщо вони не спрацьовують, зміни в ДНК (мутації) закріплюються і передаються наступним поколінням клітин. Для видалення помилок у ДНК в ядрах клітин еукаріотів є декілька систем репарації, які поділяють на *прямі* (специфічні ферменти безпосередньо виправляють певні типи пошкоджень ДНК) і *непрямі*, в яких задіяна ціла система ферментів і факторів. При непрямій репарації видаляється пошкоджений фрагмент на одному з ланцюгів разом з неушкодженими сусідніми ділянками, після чого на цьому місці синтезується новий фрагмент (за принципом комплементарності на основі неушкодженого ланцюга). Прикладом такого механізму є *ексцизійна* репарація (*excision* – вирізання), схему якої наведено на рис. 6.14.

Транскрипція РНК. Біологічна інформація, яка зберігається в ДНК, має бути експресована (реалізована) у клітині. Перші етапи експресії генів здійснюються в ядрі шляхом *транскрипції* інформації ДНК у різні форми РНК за участю ферменту РНК-полімерази. РНК-полімераза, зчитуючи інформацію з ДНК-матриці, каталізує формування фосфодієфірних зв'язків між рибонуклеотидами, що приєднуються до ланцюгу РНК, який росте.

На відміну від прокаріотів, у яких синтез усіх видів РНК здійснюється одним і тим самим ферментом, в еукаріотів є три ядерні РНК-полімерази (I, II, III), а також мітохондріальні й хлоропластні РНК-полімерази. РНК-полімераза I транскрибує гени, які кодують більшість рРНК; РНК-полімераза II транскрибує матричні РНК, а також синтезує деякі малі ядерні РНК; РНК-полімераза III транскрибує гени, які кодують усі тРНК і один з видів рРНК (5S-РНК). Кожна РНК-полімераза є складною молекулою з великою молекулярною вагою.

Субстратами для РНК-полімераз слугують рибонуклеозид трифосфати (активовані нуклеотиди). Весь процес транскрипції здійснюється за рахунок енергії макроергічних зв'язків таких нуклеотидів.

Принципи транскрипції: (1) – комплементарність; (2) – антипаралельність; (3) – уніполярність; (4) – відсутність потреби в праймері (затравці); (5) – асиметричність. Тобто, РНК синтезується комплементарно і антипаралельно ланцюгу ДНК, який транскрибується. Ріст ланцюга РНК відбувається тільки в напрямку 5'→3'. Для початку синтезу РНК фермент не потребує полі- або олігонуклеотидної затравки. Першим нуклеотидом у РНК завжди є пуриновий нуклеотид у формі трифосфату.

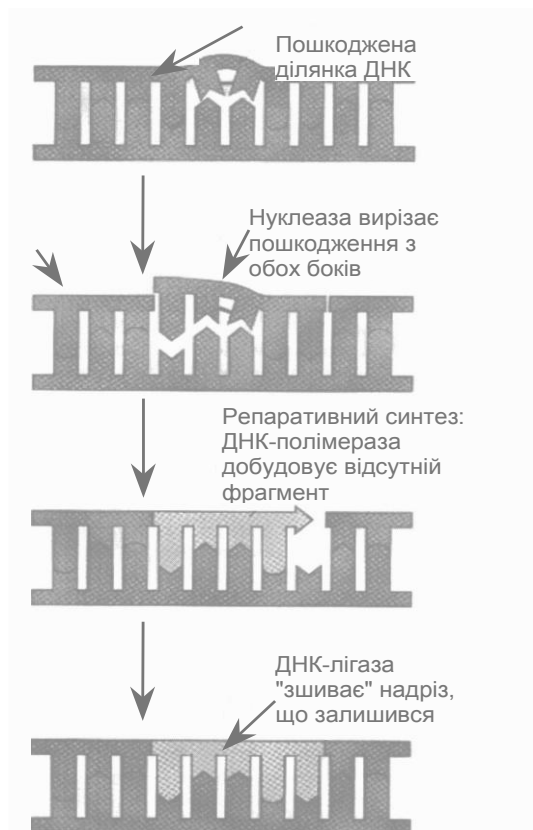


Рис. 6.14. Схема процесу ексцизійної репарації ДНК в ядрі

Ініціація транскрипції. Важливу роль в ініціації транскрипції відіграють такі специфічні нуклеотидні послідовності на ДНК, як **ТАТА-послідовність** і **ініціатор**, котрі містяться на 5'-кінці гена і входять до складу його **промотору**. Функція промотору – визначення локалізації та напрямку транскрипції на ДНК-матриці. Приєднання РНК-полімерази до промотору опосередковується великою кількістю білків – **транскрипційних факторів** (TF). TF можуть зв'язуватись з промотором або один з одним, спрямовуючи РНК-полімеразу на транскрипцію певного гена. Різні клітини в організмі містять ідентичні послідовності ДНК, проте вони можуть експресувати різні гени в різний час у відповідь на різні сигнали, й визначає функціонально-морфологічні відмінності різних клітин. Саме контролювання варіюючої експресії генів і є функцією взаємодії неоднакових TF у різних клітинах.

В ініціації транскрипції всіх генів є деякі основні етапи, один з яких – прикріплення до ТАТА-послідовності в промоторі білка, відомого як ТАТА-зв'язувальний білок (англ. – TBP). Одразу після цього інші фактори транскрипції приєднуються до TBP або безпосередньо до ДНК, формуючи складний ДНК-білковий комплекс, який притягує РНК-полімеразу до промотору. Для початку й продовження транскрипції (**елонгації** – нарощення ланцюга РНК) 2 ланцюги ДНК мають бути розплетені ДНК-геліказою, активність якої також пов'язана з деякими ТФ. Копіюється тільки один з двох ланцюгів ДНК ("матричний", у напрямку 3'→5'), що визначається наявністю додаткових послідовностей у промоторі, таких як ініціатор.

Рух РНК-полімерази по матричному ланцюгу ДНК триває до досягнення специфічних **сайтів термінації** (припинення), після чого комплекс РНК-полімерази з новосинтезованою РНК від'єднується від матриці й розпадається.

Процесинг РНК. Первинний транскрипт РНК (копія з певного гена на ДНК) не є остаточною біологічною формою РНК. Усі види РНК повинні пройти процесинг (ряд додаткових перетворень) в ядрі, перш ніж вони набудуть такої форми, в якій будуть здатні транспортуватись у цитоплазму й функціонувати в біосинтезі білка.

Найбільший процесинг у ядрі відбувається з молекулами мРНК (рис. 6.15). мРНК синтезується як великий первинний транскрипт, відомий як гетероядерна РНК (гяРНК). Після утворення первинного транскрипту з ним відбуваються три незалежні процеси. Першим етапом процесингу гяРНК є **кеппінг** (англ. *capping*, приєднання "шапочки") – приєднання до 5'-кінця РНК особливого нуклеозиду – 7-метилгуанозину, яке робить молекулу РНК стійкішою до руйнівної дії ферментів екзонуклеаз і підвищує її стабільність. Другий етап процесингу гяРНК відбувається на 3'-кінці РНК, поблизу якого розташована сигнальна послідовність нуклеотидів ААУААА (сигнал поліаденілювання).

Вона впізнається нуклеазою, яка відщеплює від РНК невеликий фрагмент після чого інший фермент (поліА-полімераза) приєднує сюди ланцюг із залишків аденозину (50–200 залишків, так званий полі-А-хвіст), який також сприяє стабільності мРНК і, крім того, полегшує її транспорт через ядерно-поровий комплекс. Завершальним етапом процесингу є видалення інтронів і з'єднання екзонів, що залишились (**сплайсинг**).

Реакції сплайсингу каталізуються у **сплайсосомах** – комплексах гетерогенної ядерної РНК з малими ядерними РНК (мяРНП) і низкою білкових факторів сплайсингу. Функцією сплайсосом є впізнавання специфічних нуклеотидних послідовностей на межах екзонів та інтронів і видалення останніх з формуванням тілець у вигляді ласо. По завершенні сплайсингу його продукти дисоціюють із сплайсосоми. Сплайсосоми утворюються лише в еукаріотичних ядрах, оскільки у прокаріотів інтрони в мРНК відсутні.

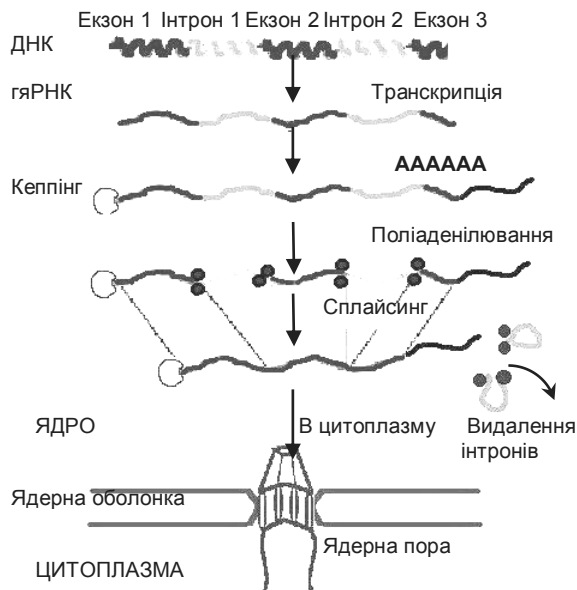


Рис. 6.15. Схема процесингу мРНК у ядрі еукаріотів

Іноді зустрічається сплайсинг, який відбувається без участі сплайсо-сом (**самосплайсинг**). У цьому випадку процес вирізання інтронів і зшивання екзонів забезпечується послідовністю нуклеотидів РНК, що входить до складу інтронної ділянки.

Розподіл ділянок РНК-транскрипту на екзони та інтрони не завжди однаковий у різних клітинах організму. Ділянка, яка в одній клітині вирізається як інтрон, в іншій може залишитися в складі зрілої мРНК як типовий екзон. Також межі інтронів і екзонів в різних клітинах можуть виявитись різними. Це явище назвали **альтернативним сплайсингом**.

У результаті альтернативного сплайсингу виявляється можливим утворення на основі однієї молекули РНК кількох білкових молекул. Так, один і той же первинний транскрипт у клітині щитовидної залози дасть початок гормону кальцитоніну, а в нервовій тканині призведе до утворення зовсім іншого пептидного гормону (*CGRP – calcitonin-gene-related peptide*). Проте в більшості випадків у результаті альтернативного сплайсингу утворюються мРНК, які кодують білки, схожі за будовою і функціями, а саме **ізоформи**. Так утворюються різні варіанти білків фібронектинів, тропоміозинів тощо.

Після завершення процесингу зріла мРНК набуває здатності транспортуватись з ядра в цитоплазму.

Процесинг рРНК і тРНК є значно простішим. Процесинг рРНК включає її метилювання і видалення фрагментів первинного транскрипту РНКами. Частина, що залишилась, є вже зрілими рРНК, які включаються до складу рибосомних субодиниць. Попередник тРНК узагалі тільки розрізається на фрагменти.

6.3. Хроматин і хромосоми

В ядрі кожної соматичної клітини людини міститься 46 молекул ДНК, загальною кількістю $6,6 \times 10^9$ пар основ (п. о.), що становить близько 2 м. Проте вся вона упаковується в ядрі клітини й під час метафази ступінь її компактизації досягає 10^4 разів. Забезпечення правильності компактної упаковки молекул ДНК є необхідною умовою перебігу процесів транскрипції, репарації й реплікації ДНК і рівномірного розподілу подвоєного набору ДНК між дочірніми клітинами під час мітозу. За допомогою спеціальних механізмів молекули ДНК компактизуються в ядрі, утворюючи *хромосоми*, хімічною основою яких є *хроматин* – комплекс ДНК (30–45 %) з *гістонами* (30–50 %, особливий клас білків основної природи) і негістоновими білками (4–33 %).

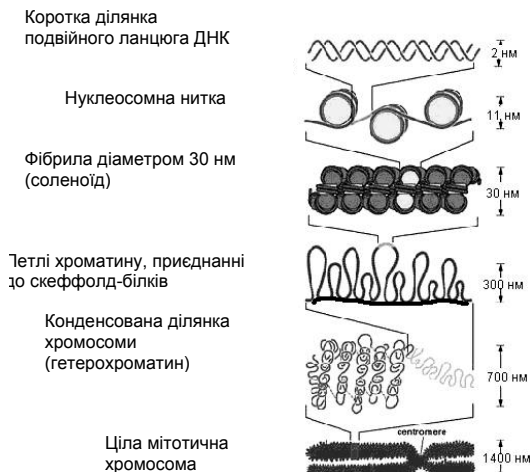
Хроматин добре виявляється як зони щільної речовини при спостереженні живих клітин або клітин після фіксації та забарвлення різними барвниками, особливо основними. Завдяки цій здатності він і отримав назву "хроматин" – від грецької *chroma* – колір, фарба. Здатність хроматину сприймати основні барвники вказує на його кислотні властивості, які визначаються вмістом ДНК у ньому. Такими ж хімічними властивостями та здатністю до забарвлення характеризуються і хромосоми, які формуються як щільні, видимі у світловому мікроскопі тільця з хроматину при його конденсації під час поділу клітини.

ДНК на всіх стадіях клітинного циклу перебуває в комплексі з гістонами – особливим класом висококонсервативних білків невеликого розміру, які збагачені позитивно зарядженими амінокислотними залишками аргініну і лізину, завдяки чому гістони мають яскраво виражені основні властивості. Позитивно заряджені гістони утворюють сильні іонні зв'язки з від'ємно зарядженою ДНК, формуючи *нуклеосоми* (рис. 6.16, а, б). Кожна нуклеосома має *серцевину (кор)* з восьми гістонових білків (типу H2A, H2B, H3 і H4 – по дві молекули кожного), навколо якої обкручуються приблизно два витки спіралі ДНК (146 п. о.).

Між кожними двома нуклеосомами залишається вільна ("*лінкерна*") ДНК, довжиною 50–60 п. о. Під електронним мікроскопом нуклеосомна нитка має вигляд намиста.

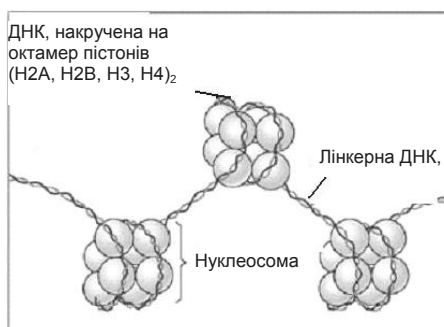
П'ятий гістон, H1, приєднаний до ДНК у лінкерній ділянці й бере участь у формуванні більш високих рівнів компактизації структури хроматину. Ланцюги нуклеосом можуть бути скручені у фібрилу діаметром від 20 до 30 нм, формуючи соленоїдну структуру, в якій на один оберт при-

падає шість нуклеосом. Ця структура стабілізована взаємодіями між різними молекулами H1. Така фібрила може спостерігатися як у метафазних хромосомах, так і в інтерфазному ядрі, і ймовірно є природною конформацією транскрипційно неактивного в даний час хроматину. Порівняно з вільною ДНК її упаковка в нуклеосомних ланцюгах є в 5–7 разів компактнішою, а в 20–30 нм соленоїді – у 40 разів.



РЕЗУЛЬТАТ: Кожна молекула ДНК упакована в мітотичну хромосому, яка в 50 000 разів коротша, ніж розправлений ланцюг

а



б

Рис. 6.16 [9]. Рівні упаковки молекули ДНК у складі хромосом (а), будова нуклеосоми (б)

Додаткова компактизація (рис. 6.16, а) досягається шляхом укладання такої спіралі у вигляді петель, які утримуються негістоновими білками. При цьому петлі, які містять 5000–10000 пар основ, прикріплюються до *осьових (скелетних) білкових структур (скеффолду, scaffold)*. Осьові структури складаються з негістонових білків, подібних до білків ядерного матриксу. Хроматин такого рівня компактизації вважається низькоконденсованим, його називають **еухроматином** (від грецької *eu* – добре, повністю). Переважна його частина може бути транскрипційно активною. Більш конденсований (за рахунок додаткового скручування петельних структур) хроматин – **гетерохроматин** (від грецької *hetero* – інший) – транскрипційно неактивний. Під час поділу клітини (мітозу) практично весь хроматин (включаючи еухроматинові ділянки) переходить до стану гетерохроматину. З нього формуються **хроматиди** хромосом, добре видимі під світловим мікроскопом (рис. 6.16, а).

Хоча основна маса білків хроматину припадає на гістони, у ньому також є й інші, негістонові білки. Серед них, крім білків скеффолду, – фактори транскрипції, білки, які регулюють реплікацію, ферменти репарації тощо.

Отже, хромосоми клітин можуть перебувати у двох структурно-функціональних станах: у робочому, частково або повністю деконденсованому, коли за їхньою участю в інтерфазному ядрі відбуваються процеси транскрипції й редуплікації, і в неактивному – у стані метаболічного спокою при максимальній їхній конденсації, коли вони виконують функцію розподілу й перенесення генетичного матеріалу в дочірні клітини.

В інтерфазному ядрі індивідуальні хромосоми не розрізняються. Різні їхні ділянки, залежно від функціональної активності, перебувають у стані еухроматину (на електронно-мікроскопічних фотографіях – світлий, диспергований) або гетерохроматину (темні, щільно упаковані ділянки) (рис. 6.17).

Більша частина гетерохроматину прилягає до ядерної оболонки (пристінковий хроматин), за виключенням ділянок ядерних пор.



Рис. 6.17. Електронно-мікроскопічна фотографія інтерфазного ядра. Характерне розташування гетеро- та еухроматину

Хромосоми приєднуються до мембрани ядерної оболонки через білки ядерного матриксу, з'єднуючись з ними особливими ділянками ДНК – *MAR (matrix-associated regions)*. Фібрили хроматину можуть переходити від одного стану в інший залежно від функціональної активності ядра. Проте гетерохроматин підрозділяють на постійно конденсований (**конститутивний гетерохроматин**) і хроматин, стан конденсації якого може змінюватись (**факультативний гетерохроматин**).

Морфологія мітотичних хромосом. У хромосомах найвищого ступеня конденсації (під час поділу) виділяють ряд важливих структурних елементів (рис. 6.18).

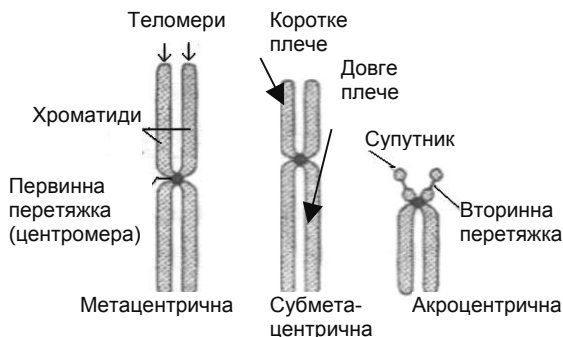


Рис. 6.18. Важливі структурні елементи мітотичних хромосом

Центромери, або первинні перетяжки – ділянки, в яких з'єднані дві сестринські хроматиди. Ділянки ДНК, котрі розташовуються в зонах центромер, мають високоповторювані послідовності. Залежно від розміщення, центромери хромосоми можуть мати плечі однакової чи різної довжини і класифікуватись як **метацентричні**, **субметацентричні** та **акроцентричні**. Центромера є структурою, важливою для правильного розподілу хроматид під час мітозу між дочірніми клітинами. На ній формується спеціальний білковий диск – **кінетохор**, до якого прикріплюються нитки веретена поділу.

Деякі хромосоми можуть мати ще й **вторинну перетяжку** (у цій ділянці знаходиться ДНК, яка відповідає за синтез рРНК і формування ядерця, тому її ще називають **ядерцевим організатором**). Ділянки хромосом, відокремлені вторинними перетяжками, називають **супутниками**.

Теломери локалізовані на обох кінцях кожної хроматиди всіх хромосом, складаються з множинних повторів особливих консервативних послідовностей ДНК і виконують низку дуже важливих функцій у клітині:

- підтримують стабільність хромосом, запобігають їхньому злипанню;
- захищають кінці хромосоми від руйнування нуклеазами;
- відіграють важливу роль у забезпеченні правильної реплікації кінців хромосом;
- забезпечують контроль нормального клітинного росту.

Наявність теломер на кінцях хромосом – сигнал того, що хромосома нормальна. Коли в клітині з'являється пошкоджена хромосома або фрагмент хромосоми, такі структури позбавлені теломер хоча б на одному з кінців. Системи контролю за пошкодженням ДНК (вони є в усіх нормальних клітинах) упізнають такі кінці й зупиняють процеси клітинного циклу, щоб дати можливість системам репарації усунути пошкодження. Якщо ж це з якоїсь причини неможливо, у клітині може бути запущений механізм запрограмованої загибелі (*апоптоз*).

Через молекулярні особливості процесу реплікації ДНК при кожній наступній реплікації в нормальній соматичній клітині теломери втрачають 50–100 пар основ. Такому вкороченню може запобігати фермент *теломераза*, присутній в активному стані тільки в зародкових і стовбурових клітинах. В інших соматичних клітинах, які ростуть і діляться, теломерази неактивні, їхні теломери поступово вкорочуються. Це може розглядатися як своєрідний мітотичний годинник, який сигналізує про необхідність запуску у старіючих клітинах механізму апоптозу до того, як у їхніх ДНК з часом накопичаться й передадуться дочірнім клітинам не виправлені пошкодження.

Деякі ракові клітини здатні уникати такого контролю і стають "безсмертними". Їхні теломери залишаються стабільними за довжиною – це викликає нескінченний поділ їх і відсутність контролю з боку систем репарації. Припускається, що причиною цього є активація ферментів теломераз у ракових клітинах.

Структуру інтерфазного хроматину на рівні петель дуже добре видно в гігантських клітинах деяких комах. Часто в них після кількох циклів реплікації гомологічні хромосоми не відокремлюються одна від одної, а формують єдині гігантські хромосомні комплекси – *політенні хромосоми*, які добре видно у світловому мікроскопі (рис. 6.19, 20).

Політенні хромосоми найбільш досліджені в клітинах слинних залоз личинок дрозофіли, в яких ДНК у кожній з чотирьох хромосом реплікована в 10 циклах без розходження дочірніх хромосом, унаслідок чого в них виявляються вирівняні в один ряд $1024 (2^{10})$ ідентичні нитки хроматину з нерівномірною спіралізацією (рис. 6.19). У них розрізняються більш темні ділянки (*диски*), де міститься багато конденсованої ДНК, і світлі *міждискові ділянки*, де ДНК більш витягнута (рис. 6.20). Для кожного виду організмів розташування і ширина дисків строго специфічні, але частково можуть змінюватись при активації/інактивації хроматину під час процесів розвитку. При активації транскрипції генів ДНК дисків ще більше розгортається у вигляді петель. Тоді на політенних хромосомах утворюються пухкі структури – *пуфи*, або *кільця Бальбіані* – на честь вченого, який уперше описав політенні хромосоми. Політенні хромосоми широко використовуються для вивчення процесів, що відбуваються у хроматині. Їх застосовують для побудови карт хромосом (розташування генів по довжині хромосоми), виявлення хромосомних перебудов, визначення вдової належності особин різних популяцій тощо.



Рис. 6.19 [9]. Повний набір політенних хромосом однієї клітини з слинних залоз дрозофіли. Хромосоми розправлені для спостереження під мікроскопом.

Дрозофіла має 4 пари хромосом. Але кожна хромосома тісно спарена зі своїм гомологом, тому кожна пара виглядає як єдина структура

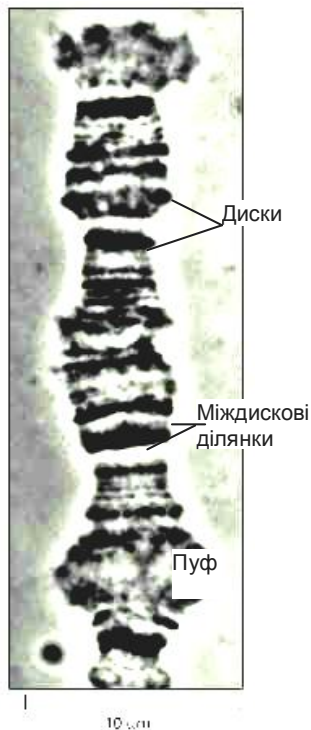


Рис. 6.20 [9]. Фрагмент політенної хромосоми з клітини слинної залози дрозофіли з характерною картиною розподілу дисків

Організація хромосом може бути також легко візуалізована і в таких структурах, як **хромосоми типу лампових щіток** – це особлива форма хромосом, яку вони набувають у багатьох тварин у ході овогенезу (розвитку жіночих статевих клітин) і значно меншою мірою – у сперматогенезі.

Свою назву ці хромосоми отримали завдяки великим розмірам і зовнішній подібності до щіток для чистки скла газових ламп (рис. 6.21, 6.22). Ця подібність зумовлена високим ступенем деспіралізації хроматину в таких хромосомах і наявністю вздовж хромосомної осі численних хро-

матинових петель, на яких відбувається інтенсивна транскрипція багатьох послідовностей ДНК під час мейозу.

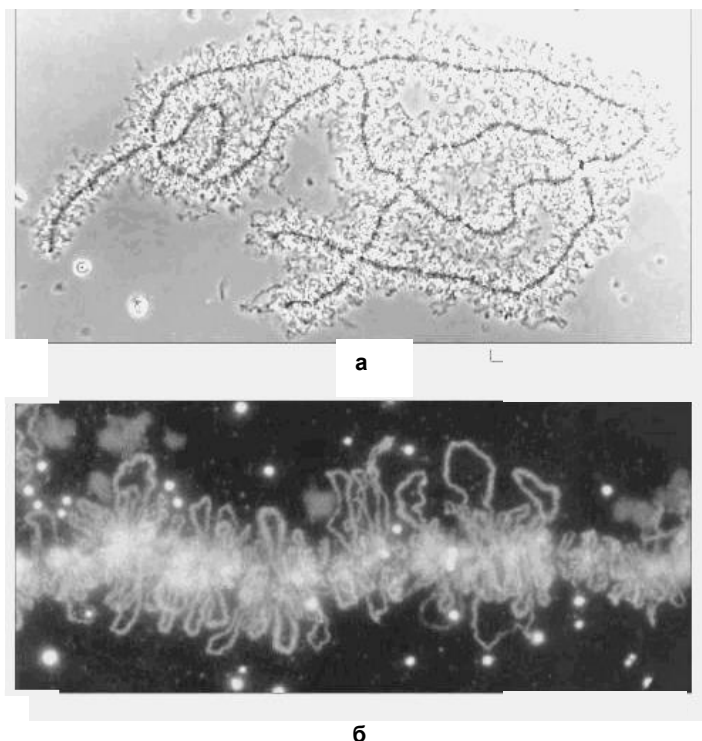


Рис. 6.21 [9]. Хромосоми типу лампових щіток: а – світлова мікрофотографія хромосоми типу лампових щіток з ооциту амфібії; б – Флуоресцентна світлова мікрофотографія фрагменту хромосоми типу лампових щіток

На початку мейозу кожна хромосома реплікується, потім гомологічні подвоєні пари хромосом з'єднуються (кон'югують). У результаті утворюється структура, яка містить чотири репліковані молекули ДНК, або хроматиди.

Стадія хромосом типу лампових щіток триває протягом місяців або років, у цей період овоцит синтезує і накопичує поживні речовини, необхідні для його остаточного розвитку в новий організм.

Хромосоми типу лампових щіток добре видимі навіть у світловому мікроскопі, де виглядають як низка великих петель хроматину, що виходять від лінійної хромосомної осі. На таких петлях можна навіть побачити

працюючі структурні гени, на яких синтезується інформаційна РНК. Певна петля завжди містить одну й ту саму послідовність ДНК і має однаковий розмір і розташування, поки овоцит росте. Проте більшість ДНК міститься не в петлях, а залишається висококонденсованою в складі **хромомерів** на осі, які взагалі не експресуються (рис. 6.22).

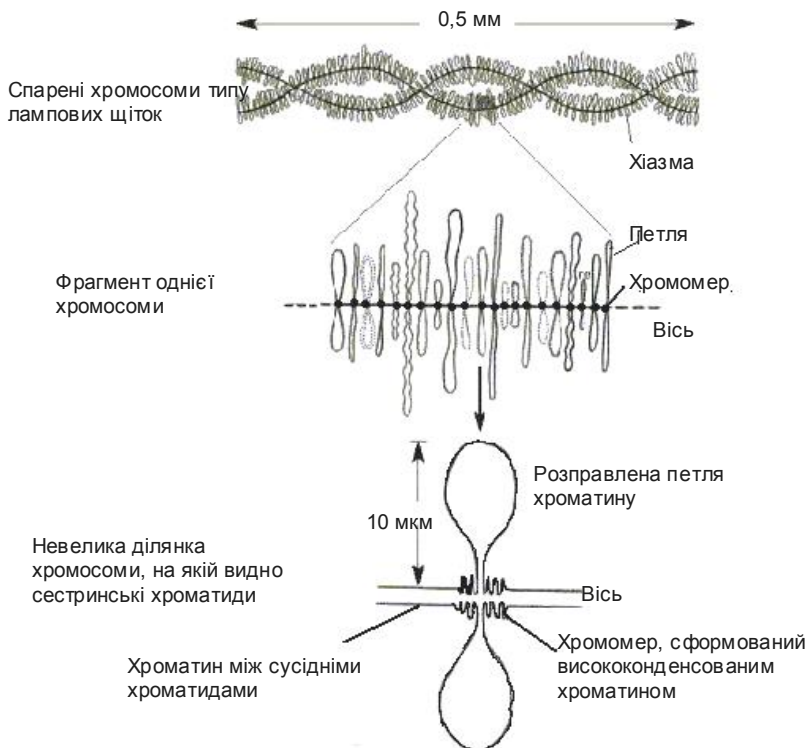


Рис. 6.22 [9]. Модель будови хромосоми типу лампових щіток

Характер розташування і розмір петель хромосом типу лампових щіток є видоспецифічним. Найбільші вони в амфібій, тоді як у деяких видів організмів узагалі не виявляються (наприклад, у риб). Проте при введенні в овоцити амфібій ДНК від організмів, які зазвичай не продукують хромосоми типу лампових щіток, вона набуває форми саме таких хромосом. На основі цих експериментів припустили, що інтерфазні хромосоми всіх еукаріотів організовані в петлі, які зазвичай є надто малими й нестійкими, щоб їх можна було легко спостерігати. Уводячи таку ДНК (наприклад, ссавців) в овоцити амфібій для формування видимих хромосом типу лампо-

вих щіток, можна було б проводити детальний аналіз кореляції між структурою петель, розташуванням генів і певними послідовностями на ДНК.

Сукупність ознак хромосомного набору (число, розмір, форма), характерних для того чи іншого виду (рис. 6.23), називається **каріотипом**.



Рис. 6.23. Приклади каріотипів різних видів тварин:

А – річковий рак ($2n = 196$); Б – комар *Culex* ($2n = 6$); В – щука ($2n = 18$);
Г – курка; Д – кішка ($2n = 38$); Е – кінь ($2n = 66$); Ж – бик ($2n = 60$)

До 1971 р. хромосоми класифікували тільки за розміром і розташуванням центромери (Денверська номенклатура). У стандартному каріотипі людини 22 пари **аутосом** (нестатеві хромосоми) залежно від розміру були розподілені на 7 груп і позначені великими латинськими літерами від А до Г. Пара **статевих хромосом** (**гоносом**) розташовується окремо. За цією номенклатурою буває важко розрізнити хромосоми в межах однієї групи.

У 1971 р. на конференції в Парижі було прийнято номенклатуру, що дозволяє ідентифікувати як кожну хромосому, так і окремі її фрагменти. Завдяки специфічним методам фарбування флуоресцентними барвниками (наприклад, **хінакрином**) у кожній парі хромосом виявляються суворо індивідуальні набори темних і світлих смуг різної ширини (рис. 6.24).

Крім того, застосовуються спеціальні символи, прийняті в Міжнародній системі класифікації хромосом людини (*ISCN – International System of Human Chromosome Nomenclature*), за допомогою яких позначають різні ділянки хромосом, їхні структурні особливості (втрата ділянки, перенесення фрагмента з однієї хромосоми на іншу, перевертання якогось фрагменту тощо). Усі ці особливості, які є відхиленням від норми, лежать в основі спадкових захворювань людини.

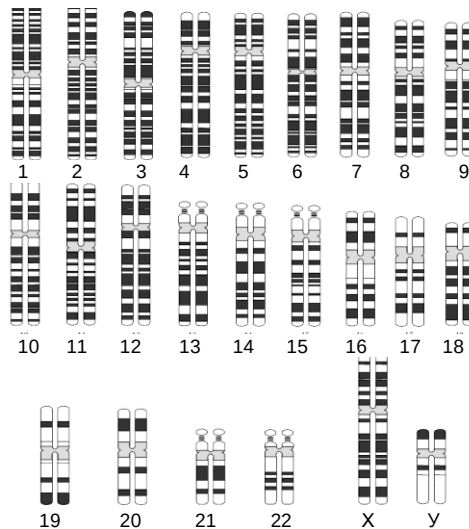


Рис. 6.24. Ідіограма хромосом людини, побудована і пронумерована згідно з Паризькою класифікацією

Розташування хромосом у ряд по групах з урахуванням їхніх розмірів та інших морфологічних особливостей, передбачених Денверською і Паризькою номенклатурами, називається **ідіограмою** (від грецької *idios* – особливий, своєрідний і *gramma* – рисунок, лінія). Порівняльний аналіз ідіограм використовується в каріосистематиці для виявлення спорідненості різних груп організмів на основі подібності й відмінності їхніх хромосомних наборів.

6.4. Ядерце

Ядерце (лат. *nucleolus*) – щільне тільце всередині ядра більшості клітин еукаріотів, не оточене мембраною (рис. 6.25). Воно є місцем синтезу рибосомних РНК і формування субодиниць рибосом.

Рибосомні РНК транскрибуються з генів, які представлені в геномі багатьма послідовно розташованими копіями (**тандемами**). Така повторюваність цих генів визначається потребою клітини у великій кількості рРНК, безпосередніх продуктів транскрипції генів рРНК. Три гени (18S-, 28S- і 5.8S-рРНК) об'єднані в один **рибосомний повтор** (РП). З первинного продукту його транскрипції вищеплюються три функціональні молекули рРНК, які беруть участь у формуванні рибосоми. РП транскрибується РНК-полімеразою-I, транскрипцію здійснює специфічний комплекс білків.

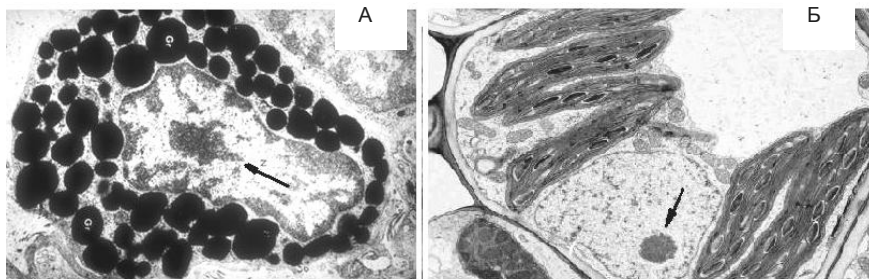


**Рис. 6.25. Ядерце (позначено стрілками) в ядрах клітин:
А – тваринної (тучної); Б рослинної**

Молекула ДНК рибосомного повтору (рДНК) складається з транскрибованої ділянки і проміжної ділянки – *спейсера*, який не транскрибується (рис. 6.26). У клітинах людини кластери рибосомних повторів локалізуються в коротких плечах п'яти пар акроцентричних хромосом, формуючи **ядерцеорганізуючі регіони** (ЯОР), або **ядерцеві організатори**, метафазних хромосом. Кластери рДНК в окремих ЯОР помітно розрізняються за розміром. ЯОР у метафазних хромосомах добре виявляються селективним забарвленням азотнокислим сріблом. Завдяки цьому методу було чітко показано, що гени рРНК розташовуються тільки в ділянці вторинної перетяжки, утворюючи навкруги неї пухке гало, яке не виявляється стандартними методами забарвлення метафазних хромосом.

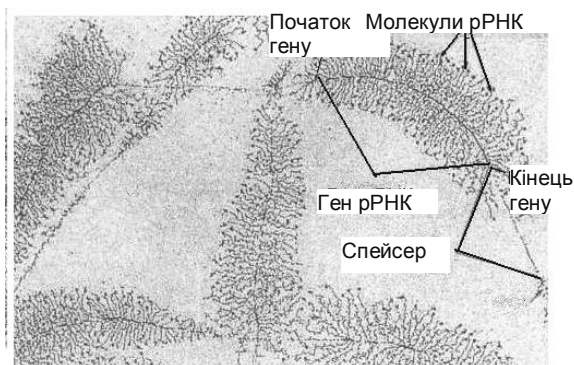


Рис. 6.26. Транскрипція кластерів генів рибосомальних РНК

Архітектура ядерця. Через високу щільність і показник заломлення ядерце було одним з перших субклітинних компартментів, виявлених мікроскопістами. За даними електронної мікроскопії, ядерце найбільш

високо організованих еукаріотів містить три основні морфологічні компоненти: **фібрилярний центр, щільний фібрилярний компонент (зона) і гранулярний компонент** (рис. 6.27). Кожний з них пов'язаний з певними процесами формування рибосом. Фібрилярні центри ядерець містять кілька сотень копій генів рРНК, розташованих в ядерцевих організаторах. Новоутворені транскрипти рРНК віддаляються від матриці ДНК і виявляються спочатку в щільному фібрилярному компоненті й пізніше – у гранулярному. Біогенез рРНК включає складний набір реакцій пост-транскрипційного процесингу, при цьому добре встановлено, що вихідна пре-рРНК міститься в щільному фібрилярному компоненті, тоді як події пізнього процесингу відбуваються в гранулярному компоненті. Нарешті, пре-рибосомні часточки (субодиноці рибосом) переміщаються в цитоплазму через ядерні пори.

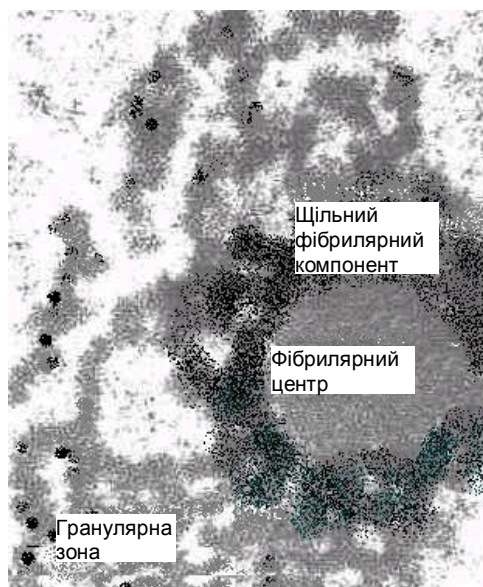


Рис. 6.27. Ультраструктура ядерця (електронно-мікроскопічна фотографія)

У дріжджовій клітині в середньому щосекунди утворюється 40 рибосом. Це означає, що з ядра щосекунди експортуються 80 рибосомних субодиноць. Транспорт рибосом є енергозалежним односпрямованим процесом, до якого залучені специфічні транспортні фактори.

Ядерце значно варіює морфологічно залежно від типу клітини. У найпростіших еукаріотичних дріжджових клітинах ядерце – єдина серпоподібна структура, яка безпосередньо прилягає до ядерної оболонки й за-

ймає до однієї третини ядра. У ньому практично не розрізняються три основні морфологічні компоненти ядерця хребетних. У тваринних і рослинних клітинах ядерця є дуже динамічними структурами, які виявляють значну варіабельність залежно від активності. Повністю активне ядро велике, зі значним взаємопроникненням зон фібрилярних центрів, щільного фібрилярного і гранулярного компонентів. І навпаки, клітини в стані спокою або клітини з ядерцевою інактивацією після вимушеної затримки транскрипції мають маленьке й компактне ядро, в якому різні морфологічні компоненти мають тенденцію чітко розділитися на суміжні блоки.

У дріжджів ядро залишається інтактним (незмінним) під час мітозу, а протягом останніх стадій поділу розділяється по мітотичному веретену навпіл. Навпроти, ядро багатоклітинних організмів розбирається під час мітозу, і різні ядерцеві білки упорядковано залишають структуру. Спочатку зникає гранулярний компонент, за ним – щільний фібрилярний компонент. Одночасно на хромосомах стають видимими ядрце-організуючі регіони (ЯОР), які при електронній мікроскопії виявляють морфологію, подібну до фібрилярних центрів. Наприкінці мітозу в новосформованих ядрах перед початком транскрипції виникають маленькі округлі структури, які називають **передядерцевими (пренуклеолярними) тільцями**. Початок транскрипції генів рРНК РНКполімеразою І викликає притягування цих тілець до ЯОР і поступове формування повного ядерця.

Збирання ядерцевого компартмента. Нині є загальноприйнятим, що ядро є результатом об'єднання одиниць транскрипції з послідовним залученням факторів процесингу новоутвореної РНК. Хоча гени рРНК характеризуються дуже високою активністю транскрипції, складаючи приблизно 60 % від загального синтезу РНК в активних клітинах, не всі копії рРНК-генів постійно активні. Приблизно половина з них у нормі репресована. Вважається, що в первинному зближенні всіх рРНК-генів з різних пар хромосом, а отже, і формуванні ядерцевого компартмента, і в репресії непотрібних на даний час копій генів рРНК бере участь білок родини *Sir* (*Silent Information Regulatory*). Білки цієї родини забезпечують також тісне зближення хроматинових фібрил при формуванні конденсованого, генетично неактивного гетерохроматину в інших частинах ядра. Назва їх походить від англійського слова *silent* – мовчазний, тихий.

Гетерохроматинова репресія частини рДНК є також захисним механізмом, який обмежує гомологічну рекомбінацію (обмін подібними фрагментами) у ділянках ДНК ядерця, які містять множинні повтори. При порушенні цього механізму неконтрольована рекомбінація в ядрі веде до утворення позахромосомних копій рДНК, які накопичуються у вигляді сотень малих кілець і нерівномірно розподіляються між дочірніми клітинами під час мітозу. Накопичення материнськими клітинами позахромосомних кільцевих рДНК веде до зменшення здатності клітин ділитися. Цей феномен пов'язують зі старінням клітини.

В еукаріотичних організмів біосинтез рибосом – тонко регульований процес, який швидко адаптується до змін оточуючих умов. Центральний процес такої адаптації – регуляція транскрипції рРНК генів. Показано, що в ядерці активність транскрипції може регулюватися швидше зміною рівня транскрипції активних рРНК-генів, ніж активацією "мовчазних" одиниць транскрипції, які перебувають у гетерохроматиновому стані. Еухроматинові рРНК-гени можуть бути транскрипційно більш або менш активні, залежно від регулюючих сигналів.

Первинний транскрипт, кодований рДНК – великий попередник рибосомної РНК (пре-рРНК), який проходить ще пост-транскрипційний процесинг. Він включає видалення довгих спейсерних послідовностей і численні нуклеотидні модифікації. Збирання рибосоми відбувається одночасно з цим процесом дозрівання і включає асоціацію пре-рРНК з 5S рРНК (яка синтезується поза ядерцем), а також з 70–80 різними рибосомними білками. Гени цих білків також транскрибуються поза ядерцем, а самі білки синтезуються на мРНК у цитоплазмі, після чого надходять у ядро через ядерні пори. Особливо помітним компонентом ядерця є **нуклеолін**, добре вивчений білок, який присутній у ядерці у великих кількостях. Нуклеолін добре забарвлюється сріблом, як і все ядро в цілому.

Під час процесингу гігантський рибонуклеопroteїновий комплекс пре-РНК (45S-РНК) поступово втрачає частину білків і послідовностей РНК і потім специфічно розщеплюється, утворюючи самостійні попередники великої і малої рибосомних субодиниць.

Через 30 хв (за даними радіоактивного мічення) перші зрілі малі субодиниці рибосом виходять з ядерця і з'являються в цитоплазмі.

Збирання великих рибосомних субодиниць, що містять 28S-РНК, 5,8S-РНК і 5S-РНК, потребує дещо більшого часу (біля 1 год), тому в ядерці накопичується значно більше недоформованих великих субодиниць, ніж малих.

Завершальні стадії дозрівання рибосом здійснюються тільки після виходу рибосомних субодиниць з ядра в цитоплазму. Цим досягається ізоляція функціонуючих рибосом від незрілих ядерних транскриптів.

Процес збирання рибосом вимагає координованої дії багатьох факторів, включаючи нуклеази, малі ядерцеві РНК і багато нерибосомних білків, які мають бути залучені в ядро. Загальна структурна особливість ядерцевих білків – наявність РНК-розпізнавального мотиву, який зв'язує або рРНК на різних стадіях дозрівання або малу ядерцеву РНК. Малі ядерцеві РНК відповідають не лише за події розщеплення, які вкорочують довгу пре-рРНК, а такожі за керування хімічними модифікаціями нуклеотидів у ній.

Загальну схему формування рибосомних субодиниць зображено на рис. 6.28.

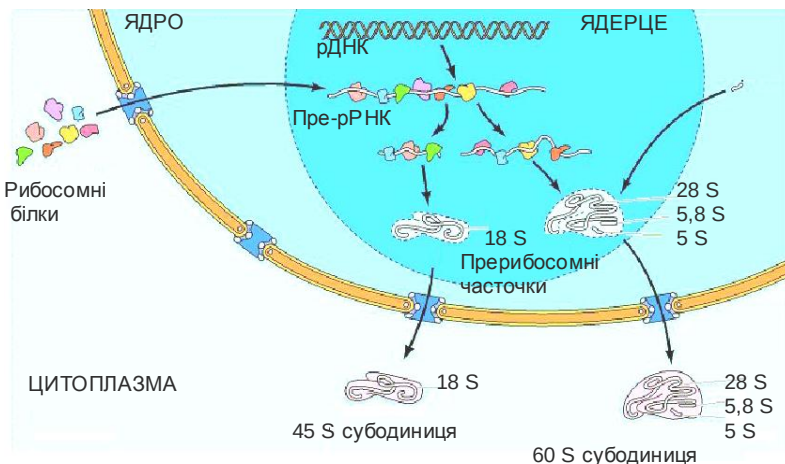


Рис. 6.28 [11]. Збирання рибосом. Рибосомальні білки імпортується в ядерце з цитоплазми і починають збиратися на пре-рРНК до її розрізання. Після процесингу пре-рРНК приєднуються додаткові рибосомальні білки і 5S рРНК (яка синтезується в іншій частині ядра), формуючи пре-рибосомні часточки. Останнім етапом є експорт прерибосомних часточок в цитоплазму, які стають малою (40S) і великою (60S) рибосомними субодинацями

Крім виконання основної функції, пов'язаної з біогенезом рибосом, а також взаємозв'язком функціонування ядерця з процесами старіння клітини, ядерце може регулювати окремі етапи клітинного циклу – вхід клітин у мейоз, а також активність фосфатази *Cdc 14* – одного з ферментів, який контролює проходження телофази мітозу. Існують дані, що повторювані послідовності рДНК ядерця є місцем збирання регуляторного білкового комплексу *RENT* (*regulator of nucleolar silencing and telophase exit*), до складу якого входить фосфатаза і три інші білки, які й забезпечують регуляторні функції ядерця.

6.5. Патологія ядра

Функціональний стан ядра суттєво впливає на характер функціональної активності всієї клітини і, очевидно, корелює з його розміром. Підвищений синтетичний активності клітини відповідає велике округле ядро, тоді як при зниженні біосинтетичних процесів зменшується площа ядра та його діаметр.

Структура й розміри ядра в першу чергу залежать від їхньої плідності. Тетраплоїдні ядра мають більший діаметр, ніж диплоїдні; октоплоїдні – більший, ніж тетраплоїдні.

Поліплоїдні клітини виявляють у тканинах людини в нормі, як, наприклад, мегакаріоцити кісткового мозку, що утворились в результаті ендорепродукції. Однак найчастіше збільшення кількості поліплоїдних клітин спостерігається при старінні, репаративній регенерації (у печінці, наприклад), при гіпертрофії міокарда а також при пухлинному рості. У злоякісних пухлинах часто виявляється також *анеуплоїдія*.

Розподіл хроматину є відображенням функціонального стану ядра. Гетеро- та еухроматин відбивають різні стани його активності; перший з них вважається малоактивним або неактивним; другий – досить активним. Оскільки ядро може переходити зі стану функціонального спокою у стан високої функціональної активності й навпаки, морфологічна картина розподілу хроматину у вигляді гетеро- та еухроматину не може вважатися статичною. При цьому можлива як *гетерохроматизація*, так і *еухроматизація* ядер, механізми яких вивчені ще недостатньо.

Не є одностайним і визначення чинників розподілу хроматину в ядрі. Так, *маргінація хроматину*, тобто розташування його під ядерною оболонкою у вигляді стрічки чи маленьких грудочок (при цьому ядро дещо зменшене в об'ємі), трактується і як ознака активності ядра, і як вияв його пошкодження. Конгломерат хроматину виникає в результаті зниження рН клітин при посиленому гліколізі. Цей процес є безпосередньою відповіддю на різноманітну агресію і, певно, перший її вияв.

Конденсація ж еухроматинових структур (*гіперхроматоз* стінки ядра), яка відображає інактивацію активних ділянок транскрипції, розглядається лише як патологічне явище, як передвісник загибелі клітини. До патологічних змін ядра можна віднести також і його *дисфункціональний (токсичний) набряк*, який зустрічається при різноманітних пошкодженнях клітин. При цьому відбувається зміна колоїдно-осмотичного стану ядра (а також цитоплазми) унаслідок гальмування транспорту речовин через клітинну мембрану.

Пошкодження (*альтерація*) ядер можуть бути зворотними (*сублетальні альтерації*) і незворотними (*летальними, або смертельними*). До перших відносять конденсацію й маргінацію хроматину. До других – такі морфологічні зміни ядра, як пікноз, каріорексис і каріолізис.

Пікноз – це зморщення ядерного матеріалу в однорідну гіперхромну масу, що інтенсивно забарвлюється. Ядро стає гомогенним, інтенсивно базофільним і зморщеним. Очевидно, що коли ядро пікнотичне – воно мертво. Нитки хроматину конденсуються в результаті дії ДНКаз та лізосомних катепсинів.

Каріорексис (*rexis* – розрив) – це розпад конденсованого хроматину на невеликі неправильної форми фрагменти, які можуть міститися всередині ядерної оболонки, якщо вона збережена, або розташовуються в цитоплазмі в разі її деструкції.

Каріолізис (*lysis* – розчинення, розплавлення) – це повне розчинення ядра, тобто це вид загибелі ядра, за якої хроматин дезінтегрується.

Створюється враження, що клітина нібито без ядра – воно практично не забарвлюється.

Вважають, що каріопікноз, каріорексис і каріолізис є послідовними стадіями загибелі ядра. Насправді дуже часто, але не завжди, каріорексис може не статися, якщо клітина загине відразу після пікнозу або каріорексису, а фрагменти хроматину при цьому елімінуються.

Важливою діагностичною ознакою є зміни форми ядра. Нині виявлені такі патологічні зміни, як **деформація ядер** цитоплазматичними включеннями при дистрофічних процесах, **поліморфізм ядер** при запаленні (*гранулематоз*) і пухлинному рості (*клітинний атипізм*). Форма ядра може змінюватись також у зв'язку з утворенням множинних випинань ядра в цитоплазму, що зумовлено збільшенням поверхні ядра і свідчить про підвищення його синтетичної активності.

Певною формою патології можна вважати зміни кількості ядер у клітині: багатоядерність, появу "супутника ядра" та без'ядерність.

Багатоядерність виникає при злитті декількох клітин або при порушенні мітозу, коли відбувається поділ ядра без наступного поділу цитоплазми, що досить часто спостерігається після опромінення, при злоякісному рості або при введенні цитостатиків (хоча багатоядерними є й нормальні клітини, такі як остеокласти, мегакаріоцити, синцитіотрофобласти).

"Супутниками ядра", каріомерами (маленькими ядрами), називають дрібні, подібні до ядра утворення з відповідною структурою і власною оболонкою, які розташовані в цитоплазмі біля незмінених ядер. Причиною утворення їх вважають хромосомні мутації. Такими є каріомери в клітинах злоякісних пухлин за наявності значної кількості фігур патологічних мітозів.

Без'ядерність щодо функціональної оцінки клітини трактується неоднозначно. Відомі без'ядерні клітинні структури, що є життєздатними (еритроцити, тромбоцити). При патологічних станах можна інколи спостерігати життєздатність частин цитоплазми, відділених від клітини. Але без'ядерність може свідчити й про загибель ядра, що проявляється каріокінезом, каріорексисом і каріолізисом.

Залишки ядерної субстанції виникають при перниціозній анемії в еритроцитах, де виявлені *тільця Жоллі* – дрібні округлі зернятка в цитоплазмі, які забарвлюють азуrom-2 та еозином у червонувато-фіолетовий колір.

Патологічні зміни можуть торкатися також **ядерець**. У нормальних умовах їхні розміри та структура в більшості випадків адекватні інтенсивності білкового синтезу. З розвитком певних патологій, наприклад у пухлинах, висока функціональна (секреторна) активність клітин часто супроводжується збільшенням об'єму, а інколи і кількості ядерець з їхньою вакуолізацією. У цих випадках говорять про ядерцеву *гідропію*, або *гідропічне ядерець*.

Зміни ядерець мають важливе значення в морфофункціональній оцінці стану клітини, бо з ними пов'язані процеси транскрипції рРНК. Розміри ядерець залежать також від типу клітин та їхньої функції. **Збільшення**

розмірів і кількості ядерець свідчить про підвищення їхньої функціональної активності, що відбивається на підвищенні білкового синтезу. **Гіпергранульовані ядереця** з переважанням гранулярного компонента ядер над фібрилярним можуть відбивати різний функціональний стан як ядерець, так і клітини в цілому. Наявність таких ядерець корелює з підвищеною базофілією цитоплазми і свідчить про підвищений синтез рРНК на фоні порушення виходу гранул. Такі **гіперфункціональні ядереця** зустрічаються в молодих плазматичних клітинах, активних фібробластах, гепатоцитах і в багатьох клітинах пухлин.

Розпушування (дисоціація) ядерець (або *гіпогрануляція*) є результатом виведення рРНК до цитоплазми або гальмування ядерцевої транскрипції. Ядро зменшується в розмірах, спостерігається виражена конденсація ядерцевого хроматину, відбувається поділ гранул і протеїнових ниток. Такі зміни зустрічаються при енергетичному дефіциті клітини, а також у разі дії різних агентів, таких як актиноміцин, афлатоксин, іонізуюча радіація.

Певні патологічні стани клітин пов'язані з утворенням ядерних включень: ядерні цитоплазматичні, дійсні ядерні та ядерні вірусообумовлені.

Ядерними цитоплазматичними включеннями називають відокремлені частини цитоплазми в ядрі. Вони можуть вмішувати всі складові частини клітини (органели, пігменти, глікоген тощо). У більшості випадків їхнє виникнення пов'язане з порушенням мітотичного розподілу.

Дійсними ядерними включеннями вважаються ті, що розташовані всередині ядра (каріоплазми) і містять речовини, які зустрічаються в цитоплазмі (білок, глікоген, ліпіди тощо). Здебільшого ці речовини проникають з цитоплазми в ядро через непошкоджені чи пошкоджені пори ядерної оболонки або через зруйновану ядерну оболонку. Можливе також проникнення цих речовин у ядро при мітозі. Такими є, наприклад, включення глікогену в ядрах гепатоцитів при цукровому діабеті ("ядерний глікоген", "дірчасті, пусті ядра"), а також сферичні, лінійні, фібрилярні структури, природа яких не відома. У гліальних клітинах фібрилярні структури виявляються після впливу гідрооксиду алюмінію $Al(OH)_3$. Поява сферичних же тіл пов'язана з підвищеним синтезом протеїнів і накопичуванням фібрилярних структур. Складні структури виникають у гепатоцитах і епітеліальних клітинах каналців нирок після впливу важких металів (Pb і Vi).

Вірусообумовлені ядерні включення – це включення вірусу в каріоплазмі або це включення білкових часточок, які утворюються при внутрішньо-ядерному розмноженні вірусів.

Ядерна оболонка виконує ряд важливих функцій, порушення яких призводить до розвитку патології клітини. До її патологій відносять: **утворення внутрішньоядерних трубчастих систем**, які відходять від внутрішньої ядерної мембрани, **поява вакуоль** у перинуклеарній зоні та в нуклеоплазмі (при гіпертрофії міокарда, легеневого склерозі, пухлинах печінки).

З розвитком певних патологій в ядрах можуть формуватися **істинні вакуолі й псевдовакуолі**.

У разі впливу ряду хвороботворних чинників (наприклад, у відповідь на дію радіації) ядерна мембрана може ставати переривчастою, наприклад при дилатації перинуклеарних цистерн, або ж утворювати локальні пухирці шляхом інвагінації внутрішньої ядерної мембрани. Це і є істинні внутрішньоядерні вакуолі.

Псевдовакуолі формуються шляхом внутрішньоядерної інвагінації цитоплазми, оточені двома ядерними мембранами і містять різноманітні частинки, органели, зокрема рибосоми. Вони характерні для деяких типів клітин, таких як менінгеальні, шваннівські, невусні та інші, а також виявляються в пухлинах. Псевдовакуолі верифікуються в гепатоцитах при різних метаболічних порушеннях.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ

1. Назвіть функції ядра.
2. З яких основних компонентів складається ядро?
3. Який хімічний склад каріоплазми (ядерного соку)?
4. Який склад і функції ядерного матриксу?
5. Назвіть основні компоненти, з яких складається ядерна оболонка (поверхневий апарат ядра).
6. Порівняйте будову й хімічний склад зовнішньої та внутрішньої мембран ядра. Що таке перинуклеарний простір?
7. Що таке ядерна ламіна? Де вона розміщена? Яка її будова? Які функції ядерної ламіни?
8. Що таке нуклеопорини?
9. Як побудована ядерна пора?
10. Яким чином білки проникають з цитоплазми у ядро?
11. Чим відрізняються білки, які для виконання своїх функцій транспортуються в ядро, від решти білків цитоплазми?
12. Про що свідчить збільшення кількості ядерних пор?
13. Що таке ядерно-цитоплазматичне співвідношення? Як його розраховувати?
14. Про що свідчить збільшення та зменшення ядерно-цитоплазматичного співвідношення?
15. Які зміни відбуваються в ядрі при зростанні функціональної активності клітини?
16. Які зміни відбуваються в ядрі в разі зниження функціональної активності клітини?
17. Які морфологічні критерії функціональної активності клітини вам відомі?
18. У першій клітині спостерігається велике ядро з незначною кількістю гетерохроматину, у другій – ядро середніх розмірів, у каріоплазмі видно

численні брилки гетерохроматину. Порівняйте синтетичну активність цих двох клітин.

19. У першій клітині спостерігається ядро середніх розмірів з помірною кількістю гетерохроматину, У другій – мале темне ядро. Порівняйте синтетичну активність цих двох клітин.

20. У першій клітині спостерігається велике світле ядро з незначною кількістю гетерохроматину, у другій – мале темне ядро. Порівняйте синтетичну активність цих двох клітин.

21. Перерахуйте основні рівні компактизації ДНК.

22. Будова подвійної спіралі ДНК. Завдяки яким зв'язкам стабілізується подвійна спіраль ДНК?

23. Що таке гістони? Які гістони ви знаєте?

24. Де зустрічаються гістонові білки? Яка їхня функція і розташування?

25. Функції негістонових білків. Наведіть приклади.

26. Що таке нуклеосома?

27. Які гістонові білки входять у нуклеосому?

28. Зі скількох молекул білків і яких складається "кор" нуклеосоми?

29. Де розташований гістон H1?

30. Що таке лінкерна ділянка?

31. Чим утворені 30 нм фібрили ДНП?

32. Будова метафазної хромосоми.

33. Що таке теломери? Їхні функції.

34. Порівняйте первинну і вторинну перетяжки.

35. Що таке плечі хромосоми? На які типи поділяються хромосоми залежно від співвідношення довжини плечей?

36. Що таке центромера?

37. Поясніть терміни "геном", "каріотип", "ідеограма".

38. Хроматин, його види.

39. Відмінності гетеро- та еухроматину.

40. Що таке конститутивний і факультативний гетерохроматин? Яка між ними різниця?

41. Що відбувається з ділянкою ДНП при її переході зі стану еухроматину в стан факультативного гетерохроматину? Відповідь обґрунтуйте.

42. Що відбувається з ділянкою ДНП при її переході зі стану факультативного гетерохроматину в стан еухроматину? Відповідь поясніть.

43. Що таке статевий хроматин? Де він зустрічається?

44. Яка функція пристінкового гетерохроматину? В яких місцях поверхневого апарату ядра він відсутній?

45. Як закріплені хромосоми в ядрі?

46. Що таке політенні хромосоми? Як вони утворюються?

47. Що таке пуфи? Як вони утворюються? Які процеси в них відбуваються?

48. В яких клітинах і коли можна спостерігати хромосоми типу лампових щіток?

49. Поясніть, чим обумовлена характерна структура хромосом типу лампових щіток.
50. Ультраструктурна будова ядерця.
51. Хімічний склад ядерця.
52. Що таке фібрилярний і гранулярний компонент ядерця? Їхнє взаємне розміщення.
53. Які процеси відбуваються в кожному з структурних компонентів ядерця?
54. Порівняйте ультраструктурну будову активного й неактивного ядерця.
55. При фарбуванні гематоксиліном і еозином одне ядерце стає великим і рожевим, а інше – маленьким і фіолетовим. Які висновки можна зробити про функціональну активність цих двох ядерець? Відповідь обґрунтуйте.
56. Яку функцію виконує ядерце?
57. Де міститься ядерцевий організатор?
58. Як можна визначити найбільшу можливу кількість ядерець у клітині?
59. Поясніть функціональне значення множинності повторів генів рРНК.
60. Чи є ядерце постійною структурою в ядрі? Відповідь обґрунтуйте.

Розділ 7

БІОСИНТЕЗ БІЛКА

Білки є найважливішим (після нуклеїнових кислот) класом хімічних речовин, необхідних для життєдіяльності клітини. Недарма білки складають більше половини сухої маси клітини. Вони виконують надзвичайно широкий спектр функцій, серед яких каталітична (білки виступають як ферменти-ензими), транспортна (найрізноманітніші системи молекулярного транспорту в мембранах), рецепція та розпізнання інших речовин (гормонів, антигенів, елементів міжклітинного матриксу) тощо. Цей спектр функцій забезпечують тисячі білкових молекул, які розрізняються як за первинною будовою (послідовністю амінокислот), так і за способом згортання білкової молекули. Крім того, більшість білків у клітині зазнають тих чи інших модифікацій. До них приєднуються олігосахариди, метильні, ацильні та інші функціональні групи. На можливість виконання білком його функції впливає і тривалість життя білкової молекули, що суворо контролюється з боку клітини як цілісної біологічної системи.

Синтезуються білки в цитозолі в результаті процесу матричного синтезу (трансляції), в якому роль матриці (шаблону, що містить інформацію про первинну будову білкової молекули) відіграє молекула матричної або інформаційної РНК (мРНК).

Трансляцією (від лат. *translatio* – переклад) називають синтез поліпептидних ланцюгів за матрицею мРНК, який здійснюють рибосоми. При цьому дійсно відбувається переклад з мови нуклеотидів, згідно з якою кожна амінокислота кодується послідовністю з трьох нуклеотидів (триплет, кодон), на мову амінокислотної послідовності, послідовності, власне з якої і складається білок.

Амінокислоти, з яких буде побудовано білок, переносять до рибосом транспортні РНК (тРНК). Їхні невеликі молекули побудовані лише з 70–90 нуклеотидів (у тому числі й з такими невластивими іншим молекулам РНК азотистими основами, як, наприклад, дігідроурідін), ланцюг яких згортається у структуру на зразок листа конюшини (рис. 7.1).

Для кожної з 20 амінокислот існує від однієї до декількох тРНК. Ці РНК здатні приєднуватися до специфічного кодону на іРНК за допомогою комплементарної ділянки на одній зі своїх петель – антикодону, водночас тримаючи на 3'-кінці приєднану амінокислоту. Унаслідок цього амінокислоти вишукуються в порядку, продиктованому послідовністю триплетів нуклеотидів на іРНК.

Приєднання амінокислоти до тРНК також активує амінокислоту, адже на її карбоксильному кінці виникає багатий енергією зв'язок, що дає їй

можливість реагувати з аміногрупою сусідньої амінокислоти, тобто робить можливим утворення пептидного зв'язку.

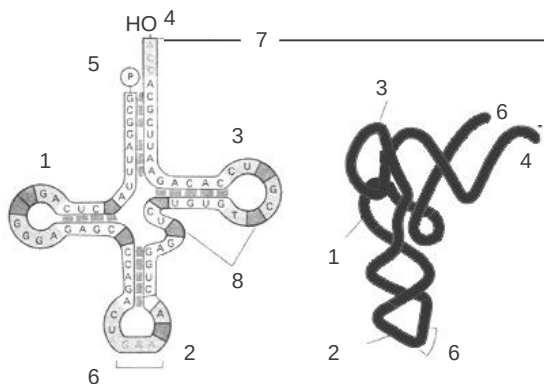


Рис. 7.1 [9]. Будова типової тРНК: ліворуч – механізм спарювання основ у відповідних ділянках молекули (структура "конюшинного листа"); праворуч – тривимірна конформація молекули. Амінокислота приєднується до 3'-кінця молекули. 1 – петля 1; 2 – петля 2; 3 – петля 3; 4 – 3'кінець; 5 – 5'кінець; 6 – антикодон; 7 – акцепторний кінець; 8 – модифіковані нуклеотиди

За правильне з'єднання амінокислот з відповідними тРНК відповідають специфічні ферменти – аміноацил-тРНК-синтетази. Ця реакція потребує енергії АТФ і наявності іонів магнію.

Наступні події, що, власне, і складають трансляцію, можна поділити на три етапи: **ініціацію** (початок синтезу поліпептиду), **елонгацію** (продовження синтезу) і **термінацію** (зупинку синтезу й вивільнення готового поліпептидного ланцюга).

Для **ініціації трансляції** потрібно, щоб мРНК своїм "кепом" на 5'-кінці приєдналась до малої субодиниці рибосоми, яка у свою чергу має з'єднатися з великою субодиницею. Для нормального перебігу цього процесу необхідний цілий ряд **факторів ініціації** (IF_1 , IF_2 , IF_3) а також наявність іонів магнію і ГТФ. Для початку білкового синтезу потрібно, щоб мала субодиниця рибосоми знайшла на РНК так званий **старт-кодон** (АУГ), що кодує амінокислоту метіонін. До цього кодону має приєднатися ініціаторна тРНК, яка несе відповідно амінокислоту метіонін (в еукаріотів) або формілметіонін (у прокаріотичних організмів). Зайняти правильне положення ініціаторної тРНК допомагає один з факторів ініціації (в еукаріотів eIF-2).

В утвореному комплексі активної рибосоми з мРНК існують дві ділянки зв'язування тРНК: аміноацильна (А-ділянка) і пептидилна (Р-ділянка). Саме до А-ділянки приєднується аміноацильована тРНК, що тільки-но підійшла до рибосоми. На Р-ділянці закріплено пептидил-тРНК, яка несе

на собі синтезовану частину поліпептиду. Подовження цього поліпептиду і становить процес **елонгації**.

Процес елонгації поділяється на три стадії:

1) кодон-залежне зв'язування аміноацил-тРНК з А-ділянкою;

2) **транспептидація**, яка полягає в утворенні пептидного зв'язку й переміщення пептиду з тРНК, яка розташована на Р-ділянці, на амнокіслотну частину аміноацил-тРНК, яка міститься на А-ділянці. У результаті аміноацил-тРНК перетворюється на пептидил-тРНК.

3) **транслокація** пептидил-тРНК з А-ділянки на Р-ділянку.

Кодонзалежне зв'язування аміноацил-тРНК відбувається за участю ГТФ і забезпечується білками, які отримали назву факторів елонгації (наприклад $EF-T_u$, $EF-T_s$). При цьому кодон на мРНК спарюється за принципом комплементарності з антикодоном на тРНК.

На другому етапі карбоксильний кінець поліпептидного ланцюга відокремлюється від молекули тРНК, що міститься в Р-ділянці й утворює пептидний зв'язок з амінокислотою, приєднаною до молекули тРНК в А-ділянці. Цю реакцію каталізує фермент пептидилтрансфераза.

На третьому етапі новоутворена пептидил-тРНК переноситься до Р-ділянки рибосоми, тоді як рибосома пересувається вздовж молекули мРНК на три нуклеотиди. Цей етап також потребує затрат енергії й супроводжується гідролізом ГТФ. Транспортна РНК, яка відокремилася від поліпептиду під час другого етапу, при цьому вивільняється і приєднується до цитоплазматичного пулу тРНК.

По завершенні третього етапу незайнята А-ділянка може прийняти нову аміноацил-тРНК. Таким чином, цикл може повторитися знову.

Завершення процесу синтезу, або **термінація** трансляції відбувається тоді, коли рибосома досягає одного з трьох **термінуючих**, або **стоп-кодонів** (УАА, УАГ, УГА). Особливі цитоплазматичні білки, які називаються **факторами вивільнення**, або **факторами термінації** (наприклад, у прокаріотів – RF_1 , RF_2 , RF_3 ; в еукаріотів – eRF) безпосередньо зв'язуються зі стоп-кодоном, що досяг А-ділянки рибосоми. Ці білки взаємодіють з рибосомою та викликають гідроліз зв'язку між тРНК і пептидом молекули пептидил-тРНК у Р-ділянці. Ці процеси також потребують енергії ГТФ. Після вивільнення новосинтезованого пептиду від рибосоми відокремлюються і фактори термінації. Потім від рибосоми за допомогою спеціального фактора відщеплюється й деацильована тРНК. Вільна рибосома розпадається на дві субодиниці.

Синтез поліпептиду проходить досить швидко. Один цикл елонгації триває лише близько 1/20 с, а синтез одного поліпептиду продовжується від 20 до 560 с. Проте навіть поки йде цей короткий процес, на одній молекулі мРНК запускається синтез кількох поліпептидів. У результаті утворюється **полісома** (полірибосома) – структура, яка складається з декількох рибосом, з'єднаних з однією молекулою мРНК. Середня відстань між рибосомами в полісомі становить близько 80 нуклеотидів.

Фолдинг. Фолдингом називається процес набуття синтезованим поліпептидним ланцюгом визначеної робочої конформації. У довгому поліпептидному ланцюзі можливе вільне обертання атомів навколо багатьох зв'язків, унаслідок чого остов молекули є надзвичайно гнучким. Тому білкова молекула потенційно може набувати величезної кількості просторово впорядкованих форм (конформацій). Однак більшість поліпептидних ланцюгів існують лише в одній конформації, яка врешті-решт визначається послідовністю амінокислот у поліпептиді. Це зумовлено тим, що бічні групи амінокислот взаємодіють одна з одною і з водою з утворенням слабких нековалентних зв'язків. При цьому амінокислоти з полярними бічними групами розташовуються на периферії білка, тоді як амінокислоти з гідрофобними властивостями займають положення в центрі білкової глобули (рис. 7.2).

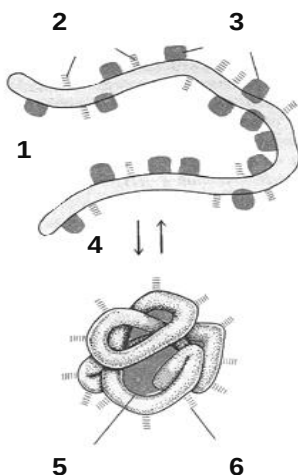


Рис. 7.2 [9]. Схема згортання білка в глобулу: полярні бічні групи амінокислот прагнуть розміститися на зовнішній поверхні білка, де вони можуть взаємодіяти з водою; неполярні розташовані усередині, де утворюють "заховане" від води гідрофобне "ядро"
 1 – не згорнутий поліпептид; 2 – полярні бічні групи; 3 – неполярні бічні групи;
 4 – згорнута конформація у згорнутому середовищі;
 5 – гідрофобна ділянка серцевини містить неполярні бічні групи;
 6 – полярні бічні групи можуть утворювати водневі зв'язки

Фолдинг білків, що синтезуються на вільних рибосомах, відбувається в цитозолі. Спочатку білок набуває вторинної структури. Нагадаємо, що вторинна структура білка формується за рахунок *водневих* зв'язків між NH- і CO-групами різних амінокислотних залишків у складі поліпептидного ланцюга. Вторинна структура може бути представлена α -спіраллю або

β-складчастою структурою. У випадку α -спіралі остов поліпептидного ланцюга закручується в спіраль, а радикали амінокислот повернуті назовні. Стабілізується α -спіраль водневими зв'язками між NH-групою одного амінокислотного залишку й CO-групою іншого такого залишку, відділеного від першого трьома амінокислотними залишками, тобто водневі зв'язки формуються між 1 і 4, 2 і 5, 3 і 6, і т. д. амінокислотними залишками. У випадку β -складчастої структури остов поліпептидного ланцюга має зигзагоподібну конфігурацію. Стабілізується ця структура також водневими зв'язками між NH- і CO-групами амінокислотних залишків. Далі формується третинна структура білка. Під останньою розуміють просторову укладку α -спіральних, β -складчастих і безструктурних ділянок поліпептидного ланцюга. Третинна структура білка формується за рахунок утворення різного роду зв'язків між радикалами амінокислотних залишків. Це можуть бути *дисульфідні* зв'язки між SH-групами залишків цистеїну, *іонні* та *водневі* зв'язки між полярними радикалами амінокислотних залишків, *гідрофобні* й *вандерваальсові* зв'язки між неполярними радикалами амінокислотних залишків. Якщо білок складається з декількох субодиниць, то ці субодиниці після набуття правильної вторинної та третинної структури об'єднуються між собою і формують четвертинну структуру білка.

Набувати правильної вторинної, третинної та четвертинної структури самостійно можуть лише невеликі білки. Для фолдингу більш великих білків потрібні спеціальні білки: *шаперони* й ферменти *фолдази*.

Фолдазою є, наприклад, пептидил-дисульфід-ізомераза в ендоплазматичній сітці. Цей фермент каталізує переміщення дисульфідних зв'язків у білках. Без пептидил-дисульфід-ізомерази дисульфідні зв'язки можуть утворитися не між тими залишками цистеїну, що потрібно. Наприклад, фермент рибонуклеаза має вісім залишків цистеїну: у 26, 40, 58, 65, 72, 84, 95 і 110 положеннях. Правильна і найбільш енергетично вигідна третинна структура цього ферменту утвориться лише у випадку, якщо дисульфідні зв'язки утворюються між залишками цистеїну у 26 і 84, 40 і 95, 58 і 110 та 65 і 72 положеннях. У всіх інших випадках (а це ще 104 комбінації!) цей білок набуде такої третинної структури, яка зробить його функціонально неактивним. Навіть якщо така неправильна третинна структура і буде менш енергетично вигідна, то білок все одно не зможе її змінити, оскільки для розриву дисульфідного зв'язку, який є ковалентним, потрібно багато енергії. Фолдаза пептидил-дисульфід-ізомераза лабілізує утворені дисульфідні зв'язки, роблячи їх доступними для самостійного розриву, і білок отримує можливість шляхом випадкового перебору знайти таку комбінацію дисульфідних зв'язків, яка відповідає найбільш енергетично вигідній просторовій структурі.

Шаперони відрізняються від фолдаз тим, що вони не каталізують ніяких реакцій, а дозволяють поліпептиду швидко перебрати велику кількість конформацій і зупинитися на найбільш енергетично вигідній. Шапе-

ронову активність виявляють декілька груп білків, наприклад, білки теплового шоку в цитозолі та білок *BiP* у цистернах ендоплазматичної сітки.

Підкреслимо, що шаперони виконують декілька функцій. По-перше, вони запобігають утворенню неправильних взаємодій між новосинтезованими поліпептидними ланцюгами або частинами одного ланцюга. По-друге, якщо такі неправильні слабкі зв'язки все ж утворились, то шаперони лабілізують ці зв'язки. По-третє, вони контролюють рефолдинг білків. **Рефолдингом**, або **ренатурацією** білка називається процес відновлення правильної вторинної, третинної і четвертинної структури білка, яка була порушена під час дії тих чи інших денатуруючих агентів (підвищеної температури, опромінення, певних хімічних сполук).

Шаперони забезпечують і власне згортання. При цьому іноді трапляються і помилки. Неправильно згорнутий шаперон стає **пріоном** – білком, який забезпечує невірне згортання інших білків. Оскільки невірно згорнуті білки стають менш уразливими до дії внутрішньоклітинних протеаз, пріони поступово накопичуються в організмі, що врешті-решт призводить до важких захворювань (куру, скреїпі, "коров'ячий сказ" та ін.).

При обробці певними агентами та дії деяких фізичних впливів (наприклад, підвищення температури) білок може втратити визначену конформацію, розгорнутися (денатурація). По закінченні дії денатуруючого агента білок може відновити вихідну конформацію як самостійно, так і за допомогою шаперонів, білків теплового шоку.

Посттрансляційні модифікації білка. Більшість білкових молекул у клітині перебувають у модифікованому стані. На сьогодні описано понад 100 ковалентних модифікацій, яких зазнають білки в цитозолі. Це найрізноманітніші форми метилування, ацетилювання, аденілування, урідинування, приєднання коферментів тощо. Ці модифікації носять, як правило, оборотний характер, що робить їх надзвичайно цінними для регуляції метаболічних процесів у клітині. Одні посттрансляційні модифікації регулюють функціональну активність білків (наприклад, фосфорилювання і дефосфорилювання), інші – необхідні для набуття ферментом функціональної активності (наприклад, приєднання коферментів). Є посттрансляційні модифікації, потрібні для доставки білків за місцем призначення. Прикладом останньої може бути приєднання до білка жирної кислоти. Ця кислота у подальшому вбудовується у ліпідний бішар мембрани з цитозольного боку і в такий спосіб приєднує білок до мембрани.

Але найпоширенішим типом ковалентних модифікацій білків у цитозолі є **фосфорилювання** ОН-груп бічних ланцюгів серину, треоніну і тирозину в білку. За існуючими оцінками, у тваринних клітинах цим способом модифікується близько 10 % білків цитозолу. Зрідка в цитозолі зустрічається і **глікозилювання**. У незначній кількості цитоплазматичних білків до бічної ОН-групи серину або треоніну приєднується N-ацетилглюкозамін (рис. 7.3).

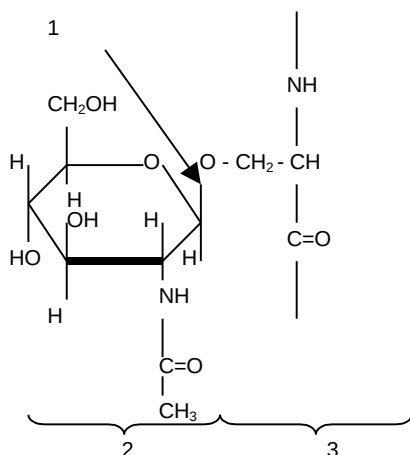


Рис. 7.3 [9]. Єдина відома форма глікозилювання, що відбувається в цитозолі клітин ссавців – приєднання N-ацетилглюкозаміну до залишків серину чи треоніну в білку: 1 – O-глікозидний зв'язок; 2 – N-ацетилглюкозамін; 3 – залишок серину в білку

Термін життя білкової молекули. Кожна молекула білка існує в клітині певний час, після чого вона піддається протеолізу, тобто розщеплюється на амінокислоти. Цей механізм захищає клітину від старих білкових молекул, які за час свого довгого життя можуть зазнавати помилкових модифікацій, що змінюють їхню активність. Також це є засобом більш тонкої регуляції у відповідь на швидку зміну умов навколишнього середовища, що робить необхідним постійну зміну складу білкового пулу в клітині. Крім того, процеси протеолізу мають захистити клітину від мутантних, помилково синтезованих білків і білків, які не потрапили вчасно в компартмент, де вони функціонують у нормі (наприклад, в ендоплазматичну сітку).

Існують декілька механізмів знищення старих білків. Для одного з цих механізмів має значення перша амінокислота в білковій послідовності. Так, амінокислоти Met, Ser, Thr, Ala, Val, Cys, Gly і Pro, які займають перше положення (на N-кінці поліпептиду), стабілізують його і захищають від негайної протеолітичної атаки. Решта амінокислот викликають швидкий протеоліз білка. "Дестабілізуючі" амінокислоти практично ніколи не займають перше положення в білках цитозолу, проте часто зустрічаються на N-кінці білків, що функціонують в інших компартментах (наприклад, в ендоплазматичній сітці). Унаслідок цього поліпептид, який помилково не був відправлений до ЕПС, не буде функціонувати в цитозолі, а розпадеться через невеликий проміжок часу.

Усі білки одразу після синтезу несуть на N-кінці стабілізуючу амінокислоту *метіонін*, який майже зразу видаляється специфічним ферментом. Замість нього іншим ферментом до N-кінця білка може бути приєднана "дестабілізуюча" амінокислота. У цьому разі також буде утворений білок з малим терміном існування.

В еукаріотів має місце **убікітинозалежний протеоліз**. При такому протеолізі з білком, що підлягає руйнуванню, зв'язується велика кількість копій невеликого білка **убікітину (убіквітину)**. При цьому убікітин приєднується до тих білків, що на N-кінці несуть "дестабілізуючу" амінокислоту. До першої молекули убікітину згодом приєднується друга, третя і так далі, поки не утворюється великий розгалужений ланцюг з убікітинів. Цей ланцюг розпізнається убікітин-залежною протеазою, яка розщеплює білок і вивільняє окремі молекули убікітину.

Убікітин в першу чергу приєднується до денатурованих, аномально згорнутих білків, а також білків, що містять окиснені чи інші аномальні амінокислоти, навіть якщо на N-кінці у них є "стабілізуюча" амінокислота. Протеоліз денатурованих білків починається з розпізнавання гідрофобних амінокислот, які в нормі мають розташовуватися всередині глобули, тоді як у неправильно згорнутому поліпептиді вони можуть опинитися на поверхні глобули. Після цього від пошкодженої білкової молекули відщеплюється N-кінцевий фрагмент таким чином, щоб тепер білок починався саме з "дестабілізуючої" амінокислоти. Далі поліпептид руйнується завдяки убікітин-залежному механізму, як він був описаний вище.

Під час синтезу поліпептиду на рибосомі він захищений від протеолізу апаратом трансляції. Також захист від протеолізу забезпечує ацетилювання N-кінцевої амінокислоти. У такий спосіб захищені, наприклад, білки-гістони, що, як правило, містяться в ядрі, однак під час поділу потрапляють до цитозолю. Кожен з гістонів несе на собі одну молекулу убікітину, проте не зазнає передчасного протеолізу.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ

1. Як відбувається ініціація біосинтезу білка?
2. Що відбувається на стадії елонгації в процесі біосинтезу білка?
3. Як відбувається термінація біосинтезу білка?
4. Які типи РНК ви знаєте та які функції вони виконують?
5. Що таке фолдинг білка?
6. Які посттрансляційні модифікації білків вам відомі?
7. Яка функція убікітину?
8. Що необхідно для ініціації біосинтезу білка?
9. Що потрібно для елонгації біосинтезу білка?
10. Що необхідно для термінації біосинтезу білка?
11. Яка функція шаперонів?
12. Що таке пріони?
13. Як визначається термін життя білкової молекули?

Розділ 8

ВАКУОЛЯРНА СИСТЕМА

Вакуолярною системою називають систему одномоембранних органел, які виконують загальну функцію синтезу, модифікації, сортування та виведення з клітини біополімерів (як правило, глікопротеїдів), а також функцію синтезу складових мембран цієї системи, плазмолем та інших клітинних мембран.

До вакуолярної системи належать гладенька й гранулярна ендоплазматична сітка, апарат Гольджі, різні типи лізосом, екзоцитозних пухирців та секреторних гранул тощо.

8.1. Ендоплазматична сітка

Ендоплазматична сітка (ЕПС, ендоплазматичний ретикулум, ЕР) є типовою органелою всіх еукаріотичних організмів. Ця органела має звивисту мембрану, що може становити більше половини всіх клітинних мембран. При цьому мембрана утворює безперервну поверхню, що оточує єдиний внутрішній простір органели. Порожнина ЕПС може займати до 10 % загального об'єму клітини. ЕПС – це набір витягнутих і сплосчених цистерн, що оточують ядро й зливаються з його зовнішньою поверхнею.

Ендоплазматична сітка поділяється на два субкомпартменти – дві функціонально та морфологічно відмінних частини, які іноді розглядають як дві окремі органели. Це гладенька, або агранулярна ЕПС (глЕПС, або аЕПС) і гранулярна, або шорстка ЕПС (грЕПС, або шЕПС), що містить на своїй поверхні рибосоми. Хоча цистерни гладенької та гранулярної сітки безпосередньо сполучаються одна з одною, мембранні білки, які забезпечують функціональні особливості обох видів ЕПС, утримуються в межах субкомпартментів.

Крім того, виділяють ще проміжний ретикулум, який за своїми властивостями подібний до гранулярного, але не містить на своїй поверхні рибосом. Саме від нього відокремлюються мембранні мікропухирці, що переносять мембранний і глікопротеїдний матеріал до апарату Гольджі.

Гладенька ендоплазматична сітка. Цистерни глЕПС є дрібнішими, вони не утворюють широких сплосчених структур. глЕПС нагадує ажурну сіточку, сплетену з тендітних трубочок, які перебувають у стані постійного руху, зміни. Гладенька ендоплазматична сітка не несе на своїй поверхні зв'язаних рибосом і білків, що здатні забезпечувати таке зв'язування.

Основними функціями глЕПС є синтез ліпідів і олігосахаридів, участь у процесах детоксикації, депонування іонів кальцію.

У мембрані глЕПС утворюються майже всі ліпіди, необхідні для побудови мембран, включаючи фосфоліпіди й холестерол. Основним фосфоліпідом, який синтезується на глЕПС, є фосфатидилхолін.

Фосфатидилхолін утворюється з двох жирних кислот, гліцерофосфату й холіну в три етапи на цитозольному боці мембрани (Р-поверхні). На першому етапі фермент ацилтрансфераза додає до гліцерофосфату дві жирні кислоти, у результаті утворюється фосфатидилова кислота, яка занурюється залишками жирних кислот у біліпідний шар. Унаслідок цього відбувається збільшення розмірів бішару. На наступних етапах формується полярна "голова" ліпиду. Подібним чином утворюються й інші фосфоліпіди.

Деякі ліпідні молекули потребують особливих перетворень, що не відбуваються у глЕПС, проте здійснюються на мітохондріальних мембранах. Так, фосфатидилетаноламін може утворитися з фосфатидилсерину шляхом декарбоксилювання полярної головки лише там. Також на мембранах мітохондрій проходять процеси модифікації стероїдів. Мітохондрії (так само як пероксисоми) не пов'язані з ЕПС системами мембранного транспорту, а тому не можуть отримати ліпіди з мікропухирцями. Ліпіди їм доставляють специфічні білки-переносники, які здатні екстрагувати ліпід з бішару однієї органели, перенести його до іншої й вивільнити його там (рис. 8.1). Розчинні білки-переносники фосфоліпідів можуть перерозподіляти фосфоліпіди між мембранними органелами. Перенесення фосфатидилхоліну з ЕПС до мітохондрій загалом може відбуватись спонтанно, оскільки його концентрація в мембрані ЕПС (де він синтезується) висока, а в зовнішній мітохондріальній мембрані – низька.

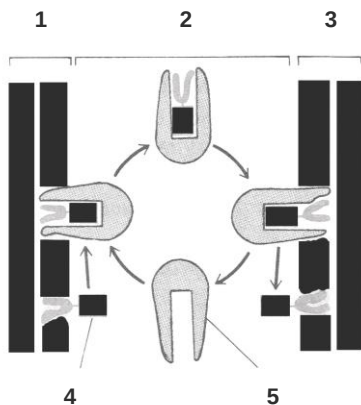


Рис. 8.1 [9]. Схема транспорту мітохондріальних ліпідів: 1 – мембрана ЕПС, 2 – цитозоль, 3 – зовнішня мембрана мітохондрії, 4 – головна група фосфатидилхоліну, 5 – білок, що обмінює фосфоліпіди

Завдяки подібній системі кооперації органел мітохондрія отримує всі необхідні їй ліпіди, а органели вакуолярної системи – фосфатидилетаноламін.

Як було зазначено вище, ліпіди формуються на цитоплазматичному боці мембрани ЕПС. Перенесення новосинтезованих молекул ліпідів на внутрішній бік мембрани ЕПС має відбуватись завдяки процесу, відомому як "фліп-флоп"-перехід. Цей процес час від часу відбувається в мембрані спонтанно, проте частота подібного спонтанного переходу дуже низька. У мембрані глЕПС цей процес триває зі швидкістю в 100000 разів більшою, ніж можна очікувати при спонтанному перебігу цього процесу.

Імовірно, у глЕПС є специфічний транслокатор фосфоліпідів ("ліпаза"), що переносить холіновмісні фосфоліпіди (але не етаноламіно-, серино- чи інозитоловмісні) з однієї половини бішару в іншу. Саме цей транслокатор відповідальний за асиметричне розташування фосфоліпідів у бішарі. Крім того, у глЕПС синтезується керамід – попередник сфінгомієліну та глікосфінголіпідів, які утворюються з нього вже в апараті Гольджі.

глЕПС безпосередньо бере участь у метаболізмі вуглеводів. Так, глікоген відкладається в ділянках, вільних від цистерн грЕПС, проте збагачених канальцями глЕПС. Іншою функцією глЕПС є синтез олігосахаридів – попередників бічних глікозильних груп глікопротеїдів. Цей процес відбувається за участю великого гідрофобного ліпиду – доліхолу, який спочатку приєднує залишки N-ацетилглюкозаміну й манози на Р-поверхні мембрани ЕПС, а потім переходить на Е-поверхню (рис. 8.2). Доліхол є досить гідрофобною молекулою, тому "фліп-флоп"-перехід відбувається в цьому разі порівняно просто. Уже в середині цистерни ЕПС відбувається добування олігосахариду залишками манози та глюкози.

Гладенька ЕПС також бере участь у процесах детоксикації (разом з пероксисомами й мітохондріями). Одним з ферментів глЕПС, що каталізує реакції детоксикації (наприклад, при барбітуратних отруєннях, прийомі деяких фармакологічних препаратів тощо) є цитохром р450. Цей білок використовує високоенергетичні електрони, отримані від NADPH для приєднання гідроксильних груп до шкідливих водонерозчинних вуглеводів, які потрапляють до бішару. Потім до цих гідроксильних груп додаються залишки сульфатів чи глюкуронової кислоти, у результаті чого токсична молекула стає водорозчинною й може залишити клітину і згодом виділитися із сечею. У випадку гострої детоксикації об'єм глЕПС може збільшуватися в декілька разів, по закінченні ж цих процесів зайвий глЕПС знищується за допомогою аутофагосом.

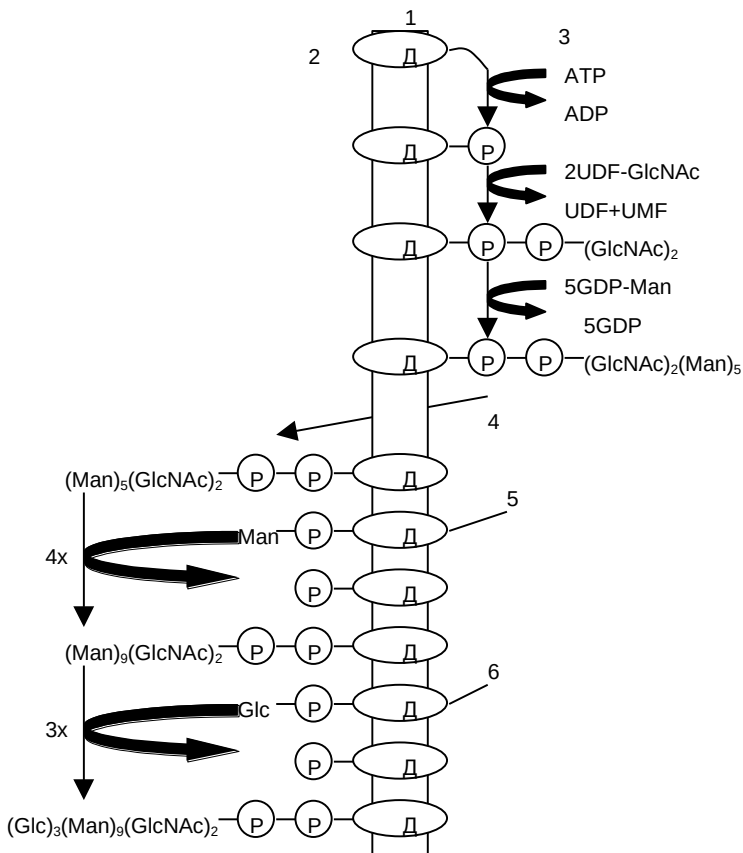


Рис. 8.2 [9]. Синтез ліпід-зв'язаного олігосахариду, що переноситься до залишків аспарагіну на внутрішньому боці мембрани ЕС:
GlcNAc – N-ацетилглюкозамін, **Man** – маноза, **Glc** – глюкоза,
АТР – АТФ, **АДР** – АДФ, **GDP** – ГТФ, **UDP** – УДФ, **UMP** – УМФ, **Д**-доліхол,
Р – фосфат, **1** – ліпідний бішар мембрани ЕПС, **2** – просвіт ЕПС,
3 – цитозоль, **4** – "перескакування в мембрані", **5** – донор манози,
 що складається з фосфату доліхолу та ГТФ-манози, **6** – донор глюкози,
 який складається з фосфату доліхолу й УДФ-глюкози

Ще однією функцією глЕПС є депонування іонів кальцію. Особливого розвитку ця функція набуває у м'язових клітинах, де глЕПС перетворюється на саркоплазматичну сітку (чи ретикулум). Основна функція цього спеціалізованого варіанта глЕПС – захоплення з цитозолу, депонування і швидке вивільнення Ca^{2+} під час м'язового скорочення. Строго кажучи великі обсяги кальцію депонуються і в мітохондрії, однак лише глЕПС

може швидко звільняти і так само швидко захоплювати з цитозоллю великі об'єми кальцію. Ці функції забезпечують селективні кальцієві канали та Ca^{2+} -АТФаза відповідно.

Гранулярна ендоплазматична сітка. ГРЕПС є другою складовою частиною ЕПС. Її цистерни, як правило, містять на своїй поверхні рибосоми, які активно синтезують білки, які під час трансляції надходять до порожнини цистерн ендоплазматичної сітки. Цистерни гРЕПС, широкі й пласкі, лежать правильними стопками, при цьому відстань між окремими цистернами порівняно більша, ніж товщина цистерн. У деяких випадках, коли на гРЕПС іде інтенсивний білковий синтез, цистерни можуть розширюватись і навіть займати більшу частину цитоплазми клітини.

Гранулярна ЕПС може бути представлена в клітинах або у вигляді окремих розрізнених цистерн, або ж їхніми локальними скупченнями (ергастоплазма). Перший тип гранулярної ЕПС характерний для недиференційованих клітин або клітин з низкою метаболічною активністю. Ергастоплазма характерна для клітин, які активно синтезують секреторні білки. Так, у клітинах печінки гранулярна ЕПС зібрана в окремі зони (тільця Берга), так само як у деяких нервових клітинах (тигроїд). У клітинах підшлункової залози гранулярна ЕПС (ергастоплазма) у вигляді щільно упакованих мембранних цистерн займає базальну й навіколоядерну ділянки клітини.

Головною функцією гРЕПС є участь у синтезі білків, їхньому згортанні та глікозилюванні. На відміну від вільних рибосом цитозоллю, які синтезують так звані "білки хатнього господарства", тобто білки для власних потреб клітини, рибосоми на гРЕПС синтезують експортні білки, білки лізосом та інтегральні білки мембран (табл. 8.1).

Таблиця 8.1. Місця синтезу деяких груп білків

Група білків	Місце синтезу
Білки "хатнього господарства", у тому числі ферменти, гістони, негістонові білки, складові цитоскелету тощо	Вільні рибосоми в цитозолі
Мітохондріальні білки	Вільні рибосоми в цитозолі та власні рибосоми мітохондрій
Білки пероксисом	Вільні рибосоми в цитозолі
Заякорені й поверхневі білки Р-поверхні органел вакуолярної системи та плазмолемі	" – "
Заякорені й поверхневі білки Е-поверхні органел вакуолярної системи й плазмолемі	Рибосоми на гРЕПС
Інтегральні білки органел вакуолярної системи та плазмолемі	" – "
Експортні білки й глікопротеїни, у тому числі гормони, антитіла, складові позаклітинної речовини тощо	" – "

Усі білки, що мають синтезуватись на мембранах грЕПС, починають свій синтез на вільній рибосомі в цитозолі, проте досить швидко цей процес припиняється, і рибосома разом з іРНК і новосинтезованим олігопептидом переноситься до цистерни грЕПС, де й продовжує свій синтез. Причиною цього є наявність на початку поліпептиду, який має синтезуватись на зв'язаних з грЕПС рибосомах так званої **сигнальної послідовності**, або **N-кінцевого лідерного пептиду**, який складається з гідрофобних амінокислот. Цей сигнальний пептид розпізнається рибонуклеопroteїдною часткою – **CPЧ (частка, що розпізнає сигнал)**, або **SRP (signal-recognition particle)**. CPЧ є складним комплексом з шести поліпептидних ланцюгів і молекули 7SL-РНК (рис. 8.3).

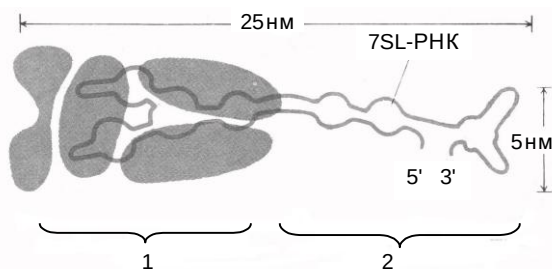


Рис. 8.3 [9]. Спрощена схема частки, що розпізнає сигнал:
1 – домен, що розпізнає сигнальний пептид;
2 – домен, який може зв'язуватись з А-ділянкою рибосоми

Однією частиною CPЧ зв'язується з N-сигнальною послідовністю, а іншою – з рибосомою поблизу А-ділянки. При цьому блокується надходження до А-ділянки нової аміноацил-тРНК і синтез білка тимчасово припиняється.

Синтез білка відновлюється лише після зв'язування CPЧ з інтегральним білковим рецептором, розташованим у мембрані цистерни грЕПС. Зв'язуючись з рецептором, CPЧ водночас зв'язує з грЕПС і рибосому.

При цьому стає можливим продовження трансляції. N-сигнальна послідовність захоплюється **транслоконом** – великим білковим комплексом – і переноситься через мембрану, утворюючи структуру на зразок петлі. N-кінець білкової молекули залишається з боку Р-поверхні мембрани. Під час синтезу поліпептид (як правило, побудований з гідрофільних амінокислот) переноситься через ліпідний бішар і опиняється в просвіті грЕПС. Тепер лише N-сигнальна послідовність підтримує його зв'язок з мембраною. Якщо ця послідовність відрізається, то отриманий водорозчинний білок вільно пересувається всередині цистерни ЕПС і згодом буде виведений поза межі клітини. Тобто це є класичний експортний білок (рис. 8.4, А).

Якщо при перенесенні поліпептиду крізь мембрану зустрінеться послідовність з гідрофобних амінокислот (**стоп-послідовність**) перенесення пептиду крізь мембрану буде переринено. Після відрізання N-сигнальної послідовності утвориться пептид, який міститиме один домен у порожнині цистерни грЕПС, другий – у порожнині мембрани (стоп-послідовність) і третій – обернений до цитозолу (рис. 8.4, Б). Крім цих випадків можливе приєднання частини білка до "якоря" з жирної кислоти або глікозилфосфатидилінозиту (рис. 8.5).

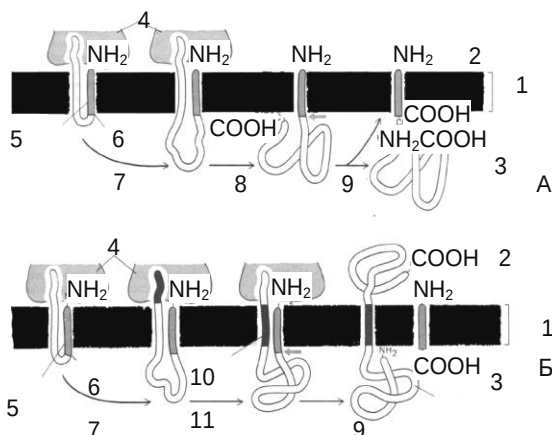


Рис. 8.4 [9]. Два випадки перенесення білка через мембрану грЕПС:
1 – ліпідний бішар, 2 – цитозоль, 3 – просвіт ЕПС, 4 – рибосома,
5 – специфічно зв'язаний сигнальний пептид (старт-пептид),
6 – сайт розщеплення, 7 – перенесення, 8 – перенесення завершено,
9 – відщеплення старт-пептиду, 10 – стоп-пептид,
11 – перенесення зупинено

Якщо присутній лише лідерний пептид, що індукуює початок перенесення, а стоп-пептид відсутній, поліпептид переноситься крізь мембрану повністю, а після відрізання лідерного пептиду в просвіт грЕПС вивільнюється зрілий розчинний білок (А). Якщо ж є і лідерний (стартовий) пептид і стоп-пептид, який зупиняє перенесення поліпептидного ланцюга крізь мембрану, то після закінчення синтезу і відрізання лідерного пептиду утворюється інтегральний білок (Б), що пронизує мембрану один раз.

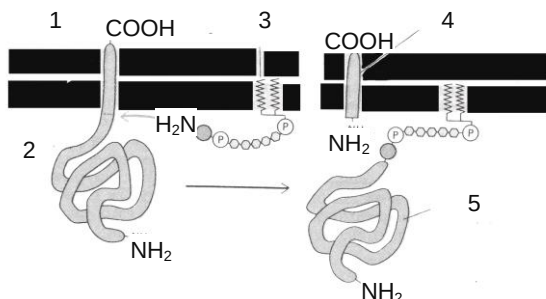


Рис. 8.5 [9]. Утворення білка, зв'язаного з мембраною за допомогою "якоря" з фосфатидилінозиту. По завершенні синтезу білка, фермент у грЕПС відрізає білок від його мембранної С-кінцевої частини, одночасно приєднуючи його до глікозилфосфатидилінозиту. 1 – цитозоль; 2 – порожнина ЕПС; 3 – глікозилфосфатидилінозит; 4 – відщеплений С-кінцевий пептид; 5 – білок, ковалентно приєднаний до ліпідного "якоря" у мембрані

Окремо слід обговорити механізм утворення білків, які декілька разів пронизують мембрани. У цьому разі пептид містить декілька стартових і стопових гідрофобних послідовностей, які відповідно починають або припиняють перенесення білкової молекули через мембрану грЕПС. Знаючи послідовність амінокислот у білка, а отже, і положення цих гідрофобних послідовностей, можна в першому наближенні передбачити розташування білкових доменів (табл. 8.2).

Таблиця 8.2. Орієнтовне розташування доменів у трансмембранному білку, що кілька разів пронизує мембрану

№ домену	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Гідрофобний або гідро-фільний	+	–	+	–	+	–	+	–	+	–	+
Розташування	Р	І	Е	І	Р	І	Е	І	Р	І	Е
Примітки	N	ЛП	СР	стоп		старт		стоп		старт	С

Примітки: "+" – гідрофільний; "–" – гідрофобний; Р – розміщений на цитоплазматичному боці; Е – розміщений у просвіті цистерни; І – розміщений у середині бішару; N – N-кінцевий домен; ЛП – містить лідерну (N-сигнальну) послідовність; СР – може містити сайт розрізання; стоп – містить сигнал закінчення перенесення поліпептидного ланцюга через мембрану грЕПС; старт – містить сигнал початку перенесення поліпептидного ланцюга через мембрану грЕПС; С – С-кінцевий пептид.

Після перенесення білка через мембрану грЕПС він має згорнутися. Під час фолдингу білки в ЕПС стикаються з проблемою, яка практично відсутня в цитозолі: простір грЕПС переповнений незгорнутими білками. У правильно згорнутому білку гідрофобні послідовності сховано всередині білко-

вої глобули, і новоутворений білок, який набув відповідної конформації, не має шансів "зацепитися" своїми гідрофобними ділянками за функціонально активний білок цитозолу, яких у цьому компартменті більшість.

В грЕПС ситуація інша: більшість білків у порожнині її цистерн є тимчасовими, вони з часом надходять до апарату Гольджі. Тому у відносно невеликому об'ємі цистерни сконцентровано багато незгорнутих білків, які легко зчеплюються своїми гідрофобними послідовностями, утворюючи страшенне сплетення, розібратися в якому досить важко.

Згортання білків, що потрапили до грЕПС допомагає **зв'язувальний білок** (BiP), який має шаперонну активність. Він зв'язується із зовнішніми гідрофобними ділянками неправильно згорнутих білків і запобігає їхньому переходу в інші компартменти, аж поки вони не згорнуться правильно.

Білки в цистерні грЕПС зустрічаються ще з однією проблемою, яка не властива цитоплазматичним білкам. Це – формування дисульфідних містків. Залишки амінокислоти цистеїну в цитозолі підтримуються у відновленій (–SH) формі завдяки наявності відновлювальних агентів: трипептиду глутатіону та невеликого білка тіоредоксину. У грЕПС цих агентів немає і між різними залишками цистеїну утворюються дисульфідні (–S–S–) містки. Оскільки в цистерні ЕПС одночасно згортається багато білків, цей процес часто проходить з помилками.

Виправляти такі помилки допомагає фермент дисульфідізомераза. Цей білок прикріплений до внутрішньої поверхні мембрани ЕПС. Він розрізає дисульфідні містки неправильно згорнутих білків, даючи їм можливість за невеликий відрізок часу перебрати багато варіантів конформації, доки не буде досягнуто такої, яка є найбільш енергетично вигідною. Це буде означати, що білок згорнуто вірно.

Після того, як новоутворений білок згорнувся правильно, він зазнає посттрансляційної модифікації. На відміну від цитозолу, де найчастішою модифікацією є фосфорилування залишків серину або треоніну, у порожнині грЕПС більшість білків зазнають глікозилювання. При цьому олігосахарид, що містить у своєму складі залишки 14 моносахаридів (два N-ацетилглюкозаміну, дев'ять манози та три глюкози) відщеплюється від доліхолу, на якому його було синтезовано, і приєднується до –NH₂ бічної групи амінокислоти аспарагіну (рис. 8.6). Тому таке глікозилювання називається N-глікозилюванням. Сигналом приєднання олігосахариду є послідовність амінокислот Asn–X–Ser або Asn–X–Thr (де X – будь-яка амінокислота, крім проліну). Цікаво, що подібних послідовностей менше саме в білках ЕПС, а в цитоплазматичних білках цих послідовностей порівняно багато. Імовірно, зменшення у білків ЕПС кількості цих послідовностей було пов'язано зі складностями згортання білків, що мали багато бічних N-глікозильних груп.

Усі білки й глікопротеїди, які повинні залишитися в порожнині чи в складі мембран ЕПС, мають невелику амінокислотну послідовність, що отримала назву **"сигнал утримання"**. Решта білків і олігосахаридів мають бути направлені до апарату Гольджі, де вони зазнають нових модифікацій.

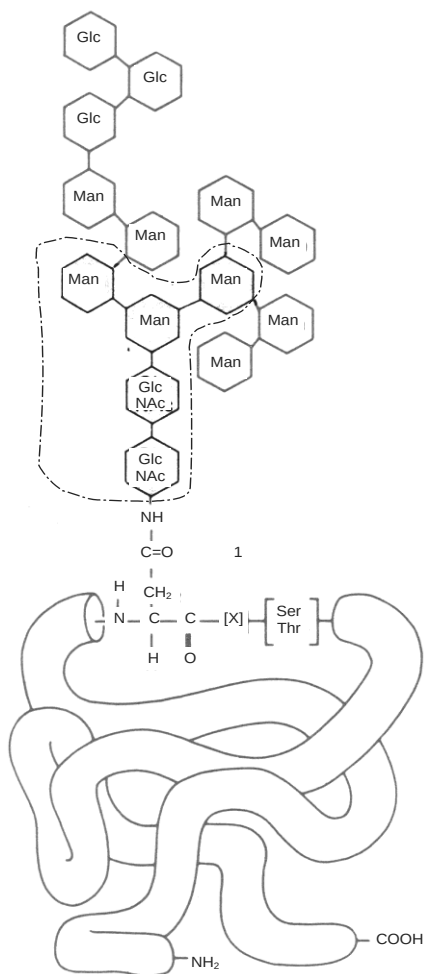


Рис. 8.6 [9]. Структура зв'язаного з аспарагіном олігосахариду, що додається до більшості білків на внутрішньому боці мембрани грЕПС. GlcNAc – N-ацетилглюкозамін; Man – маноза, Glc – глюкоза. Виділено пунктиром моносахариди, що складають стабільний "кор" олігосахариду. Інші моносахариди є замінними

Процес переправлення мембранних везикул до апарату Гольджі здійснює *проміжний ретикулум*, або *везикулярно-тубулярна група* – позбавлена рибосом ділянка грЕПС, яка утворює мембранні вирости та від якої час від часу відшнуровуються невеликі мікропухирці. Останні вкриті

білковим шаром, побудованим комплексом COP II, що складається з кількох гетеродимерів, зв'язаних з мембраною за допомогою білка *Sar 1p*.

Від зони проміжного ретикулуму до апарату Гольджі тягнеться велика кількість мікротрубочок, що забезпечують потрапляння мікропухирців до апарату Гольджі.

Після втрати білкової облямівки пухирці зливаються один з одним і транспортуються до цис-компарменту апарату Гольджі, з мембранами якого вони мають злитися. За точність злиття відповідають **SNARE-білки**. **V-SNARE** – інтегральний білок облямованих пухирців. На цис-компарменті апарату Гольджі розташовані білки **T-SNARE** та **SNAP25**, з якими V-SNARE має взаємодіяти для успішного злиття обох мембран.

Зміни грЕПС при патології. Найчастіше патологічні зміни ЕПС виражаються гіперплазією та атрофією. Зустрічаються також спрощення структури й дезагрегація (дисоціація) рибосом і полісом.

Гіперплазія грЕПС і рибосом – тобто збільшення кількості цистерн і рибосом – світлооптично визначається підвищенням базофілії цитоплазми і свідчить про підвищення інтенсивності білкового синтезу в клітині. При електронно-мікроскопічному дослідженні можна виявити підвищення синтезу та екскреції білка або на фоні посилення його синтезу, або гальмування виведення з клітини.

У клітинах, які інтенсивно секретують і екскретують білок (наприклад, у активних фібробластів), спостерігається гіперплазія грЕПС, цистерни якої розширені та майже порожні. При цьому апарат Гольджі, що бере участь у виведенні з клітини синтезованого білка, добре розвинений. У клітинах, які інтенсивно секретують білок, але з порушенням його екскреції, у розширених гіперплазованих цистернах ЕПС, на яких розташована велика кількість рибосом і полісом, накопичується електронно-щільний матеріал, іноді відбувається його кристалізація. Апарат Гольджі в таких випадках недостатньо розвинений.

Атрофія грЕПС – зменшення її розмірів – світлооптично виявляється зниженням базофілії цитоплазми, а електронно-мікроскопічно – зменшенням розмірів каналців і загального об'єму сітки, кількості й розмірів рибосом. Це свідчить про зниження білковосинтетичної функції клітини (і, як результат, про зниження його секреції) і виявляється при білковому дефіциті під час голодування, при хворобах печінки, старінні.

Спрощення структури грЕПС сітки клітин свідчить про недостатність клітинного диференціювання і зустрічається найчастіше в клітинах злоякісних пухлин.

Дезагрегація (дисоціація) рибосом і полісом – виявляється в порушенні рибосомально-мембранних взаємовідносин, "неорганізований" асоціації рибосом у полісоми. Ця патологія є виразом спрощення будови ЕПС. Зустрічається в недиференційованих і пухлинних клітинах, а також у диференційованих при кисневому голодуванні й дефіциті білка в організмі.

ЕПС і система оксигеназ зі змішаною функцією. Деякі чужорідні речовини, які зазнають метаболічних перетворень в ЕПС, здатні взаємодіяти

з макромолекулами клітини, що призводить до її пошкодження. Каталізаторами таких метаболічних процесів в ЕПС є група споріднених NADH- і O_2 -залежних ферментів. Це – монооксигенази (гідроксилази) або оксигенази зі змішаною функцією (ОСФ). Оксигенази – гемовмісні ферменти класу оксиредуктаз, що каталізують процеси вільного окиснення субстрату шляхом приєднання двох атомів кисню. Монооксигенази приєднують один атом кисню до субстрату, другий використовують для окиснення НАДФ· H_2 . Кисень включається до субстрату безпосередньо. Функція оксигеназ – пластична, її субстратами є холестерин, стероїди, ненасичені жирні кислоти.

Головною оксигеназою цієї системи є цитохром-Р-450. Її знайдено в ЕПС клітин багатьох органів (печінка, легені, кишки, кора надиркових залоз, шкіра). Ця система може, крім гідроксилування стероїдів, утилізувати деякі ліпофільні ендogenous (жирні кислоти) та екзогенні (лікарські препарати, органічні розчинники, карциногени) речовини. Метаболізм сторонніх ліпофільних речовин потребує складної взаємодії ряду ферментативних процесів, в яких система ОСФ – цитохром Р-450 посідає центральне місце. Такий метаболізм не завжди призводить до інактивації метаболічних речовин. Можливим є утворення реакційноздатних оксигенованих продуктів, які взаємодіють з нуклеїновими кислотами і білками клітини, що викликає їхнє пошкодження. Основний механізм такого пошкодження – це генерація супероксидних радикалів O_2 і пероксиду водню, що індують переокиснення ліпідів.

Патологія рибосом, пов'язаних з ЕПС. При патології рибосоми зазнають суттєвих морфологічних змін, набуваючи вигляду добре окреслених геометричних фігур. Так, у пухлинних клітинах лімфому Беркіта вони мають вигляд спіралі. Аналогічні зміни спостерігаються в клітинах і при гіпотермії, кисневому голодуванні та дефіциті білка в організмі.

Зміни гЛЕПС при патології. Серед найпоширеніших патологічних змін органели визначають гіперплазію та атрофію.

Гіперплазія мембран гЛЕПС проявляється збільшенням і розширенням її каналців, при цьому спостерігається, як правило, посилення синтетичної активності. Цей процес часто супроводжується порушенням внутрішньоклітинного транспорту, у розширених каналцях ЕПС накопичуються продукти синтезу, апарат Гольджі при цьому редукований. Показано, що в разі дефіциту певних ферментів (при ферментопатіях) уповільнюється внутрішньоклітинний транспорт, що супроводжується накопиченням у розширених цистернах ЕПС води, спричиняючи гідрофічну дистрофію або жирову дистрофію ліпідів і ліпопротеїдів.

Біохімічно показано, що в каналцях гЛЕПС при отруєнні збільшується кількість ензимів, які відповідають за детоксикацію. Подібні зміни є неспецифічними й спостерігаються за дії афлотоксину, тетрахлористого вуглецю, ДДТ, диметилнітрозаміну, фосфору, прогестерону, при вірусних інфекціях або пухлинах (гепатома).

Атрофія, а потім і редукція гЛЕПС виникає при гострому або хронічному пошкодженні клітин різними отрутами й токсичними речовинами, а також при білковому голодуванні.

8.2. Апарат Гольджі

Структура й функції апарату Гольджі. Апарат Гольджі (або комплекс Гольджі) розташований біля клітинного центру та ядра. Він є стопкою цистерн, проміжки між якими менші за товщину цистерн. Часто апарат Гольджі має форму кубка (рис. 8.7), зовнішнім боком якого є **цис-полюс**, або **поверхня формування**, а з внутрішнього боку містяться **транс-полюс** і секреторні пухирці. Основною функцією апарату Гольджі є модифікація олігосахаридів, які входять до складу глікопротеїдів. Апарат Гольджі складається з трьох функціонально відмінних компартментів: **цис-, проміжного та транс-компартментів**. Також окремим функціональним компартментом постає **транс-сітка Гольджі** (ТСГ) – трубчастий ретикулум, розташований біля транс-полюса апарату Гольджі. До складу апарату Гольджі входять також дрібні мембранні пухирці (пухирці Гольджі), що транспортують білки й ліпіди з одного компартменту в інший.

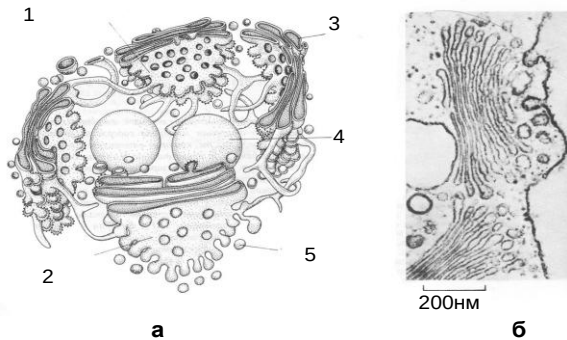


Рис. 8.7 [9]. Будова апарату Гольджі: А – тривимірна структура апарату Гольджі у секреторній клітині тварини; Б – електронна мікрофотографія
1 – транс-поверхня, 2 – цис-поверхня, 3 – внутрішній компартмент цистерни Гольджі, 4 – секреторний пухирець, 5 – пухирець апарату Гольджі

Усі компартменти апарату Гольджі мають біохімічні та функціональні особливості. Так, осміє забарвлює головним чином лише цистерни цис-компартменту. Фермент нуклеозиддифосфатаза – транс-компартменту, а кисла фосфатаза є маркерним ферментом ТСГ. Також у кожному з компартментів відбуваються притаманні лише йому реакції модифікації N-з'язаних олігосахаридів (рис. 8.8). Саме тому в стопці апарату Гольджі (у рослин така стопка носить назву диктіосоми) не буває менше 3–4 цистерн. У тих випадках, коли кількість цистерн перевищує 20 припускають, що один компартмент представлений кількома функціонально еквівалентними цистернами. Однак, можливо, що в цьому випадку має місце більш тонка спеціалізація окремих цистерн.

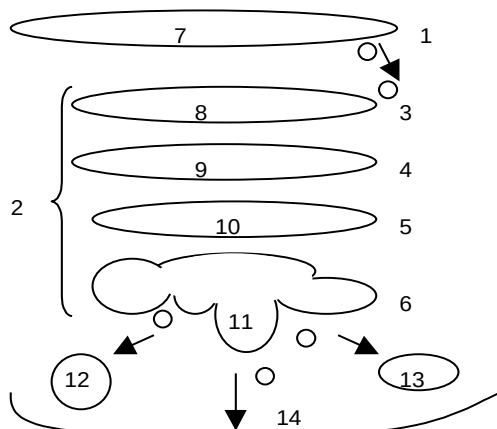


Рис. 8.8. Місця перебігу деяких реакцій модифікацій N-зв'язаних олігосахаридів: 1 – ЕПС; 2 – апарат Гольджі; 3 – цис-, 4 – проміжний та 5 – транс-компарменти апарату Гольджі; 6 – транс-сітка Гольджі; 7 – синтез білка; 8 – фосфорилювання лізосомних олігосахаридів; 9 – видалення манози й додавання N-ацетилглюкозаміну; 10 – додавання галактози й сілової кислоти; 11 – сортування; 12 – лізосома; 13 – секреторний пухирець; 14 – плазматична мембрана

Перші етапи модифікації олігосахаридів відбуваються вже в цис-компаратменті апарату Гольджі. Тут деякі з них зазнають фосфорилювання. Ця модифікація може кардинальним чином вплинути на подальшу долю глікопротеїду.

Частина глікопротеїдів має втратити більшу частину молекули N-зв'язаного олігосахариду. У цьому випадку від вихідної молекули залишається лише "кор" (два залишки N-ацетилглюкозаміну й три – манози (див рис. 8.8)). Натомість до олігосахариду в наступних компарментах приєднується цілий ряд різноманітних олігосахаридів. Таким чином формуються "складні олігосахариди". Фосфорилювання окремих залишків може унеможливити процес утворення "складного олігосахариду", і тоді утвориться "олігосахарид, багатий на манозу", що зазнає порівняно мало змін під час свого утворення.

У проміжному компарменті локалізовані ферменти, які починають радикально переробляти олігосахаридний компонент глікопротеїдів (у першу чергу, звичайно, "складні олігосахариди"). Тут від олігосахариду відщеплюються декілька залишків манози. Замість неї до олігосахаридного остову приєднуються залишки N-ацетилглюкозаміну.

Завершується утворення "складного олігосахариду" у транс-компаратменті апарату Гольджі, де до молекули олігосахариду додається галактоза й сілова (N-ацетилнейрамінова) кислота. Остання є надзви-

чайно важливою для глікопротеїдів, оскільки є єдиним їхнім компонентом, що має власний негативний заряд.

У транс-сітці Гольджі відбувається сортування білкових і глікопротеїдних молекул, їхній розподіл на такі, що ввійдуть до складу лізосом, що мають негайно покинути клітину завдяки механізму конститутивного екзоцитозу (див. нижче), що ввійдуть до складу секреторних гранул і залишать клітину лише у відповідь на певний зовнішній сигнал.

Також у ТСГ відбувається процес **обмеженого протеолізу** білкових продуктів. Такої процедури зазнають невеликі молекули (наприклад, екнефаліни), що просто не можуть бути синтезовані на рибосомах у дозрілій олігопептидній формі. Обмеженому протеолізу піддаються також активні ферменти, які мають почати працювати лише за межами клітини. У деяких білках, наприклад інсуліні, значна частина молекули на початкових етапах відіграє структурну роль і забезпечує правильне згортання молекули та утворення дисульфідних містків. Для активації ж дозрілого продукту потрібно видалити більшу частину молекули. Активна форма інсуліну являє собою два невеликі поліпептиди, які з'єднані між собою двома дисульфідними містками. Саме утворення цих містків є можливим лише за наявності великої молекули, в якій обидва поліпептиди інсуліну з'єднані великим поліпептидним ланцюгом (рис. 8.9).

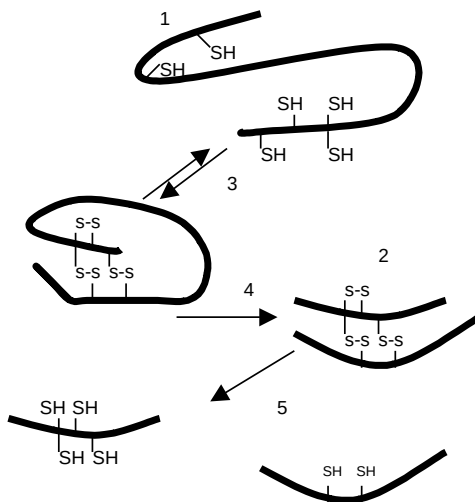


Рис. 8.9 [9]. Післятрансляційний процесинг молекули інсуліну:
1 – проінсулін; 2 – інсулін; 3 – згортання білкової молекули з утворенням конформації, яка стабілізується дисульфідними зв'язками;
4 – видалення сполучного пептиду дає готову молекулу інсуліну, що складається з двох ланцюгів; 5 – відновлення призводить до необерненого розділення двох ланцюгів

Обмежений протеоліз може призводити також до синтезу кількох різних молекул з різною функціональною активністю. Так, АКТГ, α - і β -МСГ, мет-енкефалін, β -ліпотропін і деякі інші біологічно активні молекули синтезуються шляхом протеолізу молекули-попередника проопіомеланокортину.

В апараті Гольджі відбуваються також інші реакції, зокрема О-глікозилювання (приєднання олігосахаридних залишків до -ОН груп серину та треоніну). Також тут утворюються сфінголіпіди: приєднання холестерину до залишку до кераміду призводить до утворення сфінгомиеліну, а глікосфінголіпіди виникають у результаті глікозилювання кераміду. Також у апараті Гольджі відбувається збирання протеогліканів позаклітинного матриксу.

Окремою проблемою є перенесення білків і глікопротеїдів з одного компартменту в інший. Установлено, принаймні для деяких речовин, що загальним правилом ("по замовчанню") є постійне перенесення білків і глікопротеїдів за маршрутом: ЕПС $\rightarrow$ цис-компартмент $\rightarrow$ проміжний компартмент $\rightarrow$ транс-компартмент $\rightarrow$ ТСГ $\rightarrow$ облямовані пухирці $\rightarrow$ плазмолема.

У результаті проходження за цим маршрутом глікопротеїд виводиться назовні в результаті процесу, який називається **конститутивний екзоцитоз**. Цей процес відбувається в клітині постійно. У результаті за межі клітини виводяться молекули, які є складовими позаклітинного матриксу (муцини і глікопротеїди), білки й глікопротеїди глікокаліксу та плазмолеми, спеціальні білки, які забезпечують приєднання клітини до субстрату, а також дефектні чи аномальні форми білків.

Разом з описаним нерегульованим шляхом існують і шляхи, для проходження по яких необхідний той чи інший сигнал – маркер. Так, білки, що мають потрапити в лізосоми фібробластів, повинні нести на своїй поверхні маннозо-6-фосфатну (М-6-Ф) групу. Цей маркер утворюється в цис-компартменті апарату Гольджі при фосфорилуванні N-зв'язаного олігосахаридного залишку.

Якщо ж з якихось причин цей маркер не може утворитись (наприклад, при дефекті ферменту, який здійснює фосфорилування, або мутації в гені самого лізосомного білка, або при дефекті в рецепторних молекулах ТСГ, що мають розпізнати М-6-Ф), лізосомні білки не потрапляють у лізосоми, проте їх можна виявити в зовнішньому середовищі. Тобто в цьому випадку молекули виводяться назовні шляхом конститутивного екзоцитозу. Цікаво, що при І-клітинній хворобі (*inclusion cell disease*), викликаній якраз пошкодженням ферменту, що утворює М-6-Ф, N-зв'язаний олігосахарид, який у нормі залишається багатим на манозу, зазнає перетворень, як "складний".

За нормальних умов М-6-Ф-маркер розпізнається у ТСГ специфічними рецепторами, які збираються разом і переносять лізосомні білки і глікопротеїди до складу *клатринових облямованих пухирців*. Після розбирання клатринової облямівки ці пухирці можуть злитися з лізосомами і передати їм пул необхідних білків і глікопротеїдів. При цьому М-6-Ф-рецептори не залишаються у складі лізосом назавжди, а знов об'єднуються разом і відокремлюються від лізосом з утворенням нового клатринового пухи-

рця, який здатен перенести М-6-Ф-рецептори назад до ТСГ. Механізм такого "повернення мембран" зображено на рис. 8.10.

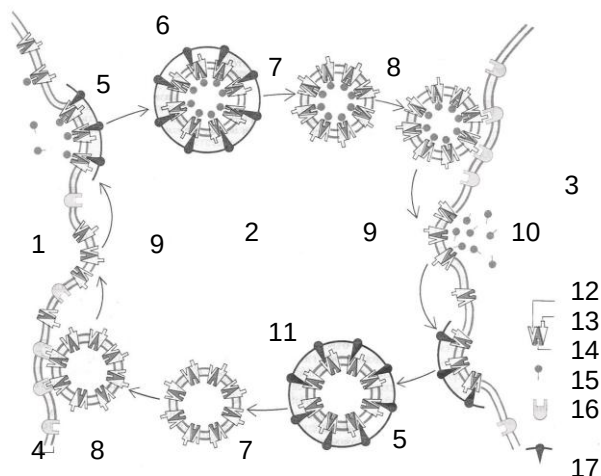


Рис. 8.10 [9]. Механізм перенесення лізосомних гідролаз від ТСГ до лізосом і повернення рецепторів М-6-Ф на мембрани ТСГ: 1 – порожнина апарата Гольджі; 2 – цитозоль; 3 – порожнина лізосоми; 4 – ліпідний бішар; 5 – відокремлення; 6 – завантажений облямований транспортний пухирець; 7 – "роздягання"; 8 – стикування; 9 – злиття; 10 – доставлений вантаж; 11 – порожній облямований транспортний пухирець; 12 – клатриновий акцептор; 13 – маркер стикування; 14 – рецептор для молекули "вантажу"; 15 – молекула "вантажу"; 16 – акцептор для маркера стикування; 17 – молекула клатрину

Слід зазначити, що М-6-Ф не є єдиним маркером лізосомних білків. Під час І-клітинної хвороби, про яку йшлося вище, порушується транспорт ферментів лише у лізосоми фібробластів, але не у лізосоми клітин печінки.

Завдяки іншим сигналам білки та глікопротеїди можуть опинитися в секреторних гранулах. Ще один тип маркера потребують клітини, в яких різні частини плазмолемі розрізняються за хімічним складом і специфікою функціонування. Прикладом подібних клітин є епітеліальні. У них чітко розрізняється апікальна (звернена до порожнин, наприклад, до порожнини кишки) і базолатеральна (що контактує з внутрішнім середовищем організму, поверхні). При цьому, якщо на одну з поверхонь ще можна виводити продукти конститутивним шляхом, то для виведення речовин на іншу потрібен спеціальний сигнал. Наявність розбіжностей між цими двома поверхнями демонструють віруси, що використовують білок-синтезуючу систему клітини для утворення і виведення в зовнішнє сере-

довище своїх копій. Так, вірус грипу виводиться лише на апікальну поверхню, а вірус везикулярного стоматиту – лише на базолатеральну.

Іноді необхідно, щоб білок залишився в певному компартменті. У цьому разі його молекула повинна містити той чи інший "сигнал утримання", що розпізнається рецепторами в потрібному компартменті.

Зміни апарату Гольджі при патології. Морфологічні прояви порушень секреторної функції апарату виявляються у вигляді гіпертрофії, гіперплазії або атрофії.

Гіпертрофія апарату Гольджі проявляється у збільшенні площі його мембран і кількості секреторних гранул за рахунок гіперплазії мембран, що призводить до підвищення секреції білків, глікопротеїдів і полісахаридів. При цьому зростає кількість секреторних гранул і везикул у цитоплазмі за межами апарату Гольджі. Як правило, гіпертрофія останнього поєднується з гіперплазією ЕПС. Коли ж синтез тих або інших речовин є більшим за можливість їхньої секреції та виведення, ці речовини вибірково накопичуються в гіпертрофованому апараті Гольджі, що може спричинити його пошкодження. Таким є, наприклад, накопичення жовчі в апараті Гольджі гепатоцитів при холестазі (зупинці виведення жовчі з жовчних протоків).

Атрофія апарату Гольджі супроводжується зниженням його функціональної активності й редукцією (зменшенням) числа і навіть повною втратою секреторних гранул і вакуоль. Однією з причин такого зниження може бути недостатність білкових запасів у організмі (білкове голодування), у разі якого спостерігається також атрофія ЕПС. Іншою причиною зниження функції апарату Гольджі є пошкодження клітинного конвеєра, тобто порушення взаємодії з ЕПС. У таких випадках розвивається гіперплазія ЕПС і підвищується її функціональна активність, у цитоплазмі ж з'являється багато секреторних гранул і вакуоль.

8.3. Лізосоми

Структура, функції та типи лізосом. Лізосомами називають одномембранні органели, які представляють собою невеликі мембранні везикули, наповнені гідролітичними ферментами, необхідними для контролюваного внутрішньоклітинного розщеплення макромолекул. Понад 40 ферментів, виявлених у лізосомах (це різноманітні нуклеази, протеази, глікозидази, ліпази, фосфатази, сульфатази, фосфоліпази тощо) належать до групи кислих гідролаз, які є найактивнішими при рН 5,0. Саме такий рівень рН виявляється у "робочих" лізосомах. Необхідність підтримання кислого середовища у лізосомах зумовлює наявність у їхніх мембранах специфічних протонних насосів, що працюють з використанням енергії АТФ. Такі затрати окупаються, оскільки при порушенні цілісності мембрани лізосоми більш лужне середовище в цитозолі автоматично

"вимикає" гідролітичні ферменти, які б за інших умов були б для клітини дуже небезпечними.

Захист від перетравлення лізосомними протеазами своїх власних, лізосомних, білків забезпечується високим рівнем глікозильованості останніх. До того ж деякі гідролітичні ферменти зв'язані з мембраною лізосоми таким чином, що не можуть досягти своїми активними центрами мембранних білків.

Лізосоми є складною, гетерогенною популяцією цитоплазматичних структур, які мають на перший погляд відносно просту будову, яка нагадує вакуолю. Поліморфізм лізосом визначається їхнім призначенням – виконання функції своєрідної внутрішньоклітинної травневої системи, характерними рисами якої є дискретний характер, постійна мінливість та їхня безперервна взаємодія. Крім того, лізосоми тісно пов'язані з процесами ендо- й екзоцитозу, аутофагії, секреції та кринофагії. Сучасні уявлення про генез лізосом базується на численних дослідженнях, виконаних за допомогою різних методологічних підходів, що об'єднують як методи електронної мікроскопії, цитохімії та радіоавтографії, так і прийоми біохімічного аналізу.

За класифікацією Де Дюва (1971) лізосоми можна поділити на три головні підгрупи – прелізосоми, власне лізосоми та постлізосоми.

До **прелізосом** відносять утворені шляхом ендоцитозу гетерофагосом (фагосом, ендоцитозні вакуолі, периферійні ендосоми, ранні ендосоми, фагоцитозні, піноцитозні, травневі вакуолі в одноклітинних) та утворені в процесі аутофагії аутофагосом (аутофагічні вакуолі, аутолітичні вакуолі, аутофагічні тільця, сегресом, цитосегресом, цитолізосом, ділянки вогнища розпаду). Їхньою характерною рисою є відсутність лізосомних ферментів: як гетеро-, так і аутофагосом містять лише речовини, призначені для перетравлення, але не мають у своєму складі гідролаз.

Власне лізосоми поділяють на дві великі підгрупи – первинні та вторинні.

Первинні лізосоми (протолізосоми, перинуклеарні ендосоми, гранули накопичення, щільні тільця, цитоплазматичні гранули лейкоцитів, кортикальні гранули ооцитів, інколи пухирці Гольджі тощо) є новоутвореними структурами, які містять лише недавно синтезовані ферменти (гідролази), але не залучені до процесу перетравлення певних речовин.

Вторинні лізосоми, на відміну від первинних, мають у своєму складі як гідролази, так і речовини, призначені для перетравлення, частково перетравлені речовини, або їхні рештки. Оскільки речовини, що залучаються до процесу перетравлення можуть бути екзогенного та ендогенного походження, то і вторинні лізосоми відповідно поділяють на **вторинні лізосоми гетерофагічного типу** (гетеролізосоми, гетерофаголізосоми, фаголізосоми, перетравлювальні вакуолі) та **аутофагічного типу** (аутолізосоми, аутофаголізосоми, цитолізосоми, аутофагічні вакуолі). Вторинні лізосоми як гетеро-, так і аутофагічного типу також диференці-

ють залежно від стадії перетравлення замкненого в них матеріалу на **ранні** та **пізні гетеро-** й **аутолізосоми**. При цьому, якщо в ранніх вторинних лізосомах, особливо аутолізосомах, ще чітко розпізнається структура перетравлювального матеріалу (у випадку аутолізосом – структура сегрегованих мітохондрій, фрагментів ендоплазматичного ретикулума тощо), то в пізніх вторинних лізосомах їхні структурні особливості вже неможливо диференціювати. Необхідно відмітити, що пізні гетеро- та аутолізосоми внаслідок численних взаємодій як одна з одною, так і з первинними лізосомами часто набувають вигляду **мультивезикулярних тілець**. Найпізніша стадія морфогенезу вторинних лізосом обох типів характеризується поступовим накопиченням у них неперетравлених решток. На цій стадії вторинні лізосоми прийнято називати телолізосомами.

До **постлізосом** (третинних лізосом, мультивезикулярних тілець) належать вакуолеподібні структури, які мають у своєму складі лише неперетравлений матеріал як екзогенного, так і ендогенного походження й не містять гідролітичних ферментів (залишкові тільця, інколи – щільні тільця, мієліноподібні фігури, ліпофусцинові гранули).

Фізіологічні функції лізосом. Нині є практично безсумнівним, що лізосоми залучені до численних внутрішньоклітинних процесів, виконуючи при цьому важливі фізіологічні функції. До функцій, пов'язаних з гетерофагічним процесом відносять участь лізосом у внутрішньоклітинному перетравленні біополімерів, у лізисі мікроорганізмів і вірусів (захисна функція), у початковій стадії імуногенезу та в біосинтезі біологічно-активних речовин, а також у позаклітинному гідролізі біополімерів. А до функцій, пов'язаних з аутофагічним процесом – участь лізосом у ферментативному очищенні від структур і макромолекул, що втратили функціональне значення, у процесах ембріонального й постембріонального розвитку (у процесах клітинного диференціювання, регресії, інволюції тощо), у регуляції рівня секреції (кринографія), в утилізації надлишку акумульованих у клітині поживних речовин, в ендогенному живленні при дефіциті поживних речовин (реконструктивна функція), у початковій стадії імуногенезу.

Розглядаючи лізосоми в еволюційному плані, можна перекоонатися, що в найпростіших одноклітинних переважають явища гетерофагічного типу, а з розвитком їх поступово зростає значення аутофагічних процесів у клітинах високо розвинених організмів.

Зміни лізосом при патології. Фізіологічна і патологічна активність лізосом залежить в основному від двох факторів:

- стану (стабілізації) мембран лізосом;
- активності їх ферментів.

Патологія лізосом пов'язана з дестабілізацією лізосомних мембран і лізосомними ферментопатіями, які призводять до накопичення в клітині деяких початкових або проміжних продуктів обміну.

Дестабілізація мембран лізосом. До дестабілізації (лабілізації) мембран лізосом можуть призвести впливи різних речовин і агентів – **лабілізаторів** мембран лізосом (наприклад, вітамінів А, D, К тощо). Пошкоджуючий вплив на мембрани лізосом можуть справляти деякі мікотоксини, різні канцерогенні речовини, фосфоліпази, активатори і продукти пероксидного окиснення, діоксид кремнію. Дестабілізацію мембран лізосом можуть викликати гіпоксія, порушення кислотно-лужної рівноваги, голодування, білкова недостатність, зміни гормонального статусу, шок, травми, а також великі оперативні втручання.

Дестабілізація (лабілізація) лізосомних мембран визначається появою тріщин і розривів. У цих випадках гідролази дифундують у клітину, що призводить до її некрозу або прогресуючого руйнування шляхом самоперетравлення.

Антагоністами лабілізаторів лізосомальних мембран є їхні **стабілізатори**, які захищають їх від зовнішнього впливу. До них належать холестерол, кортикоїди, вітамін Е в малих дозах, антигістамін, речовини, здатні підвищувати резистентність клітин.

Серед патологічних станів, пов'язаних з пошкодженням лізосомних мембран, найбільш вивченими є хвороби суглобів. Важливу роль у їхньому патогенезі відіграють комплекси ферментів, які вивільнюються з лізосом. В основному, це кислі гідролази, і передусім протеази типу катепсину Д, які здатні руйнувати глікопротеїдні структури хряща, а також глюкуронідази, колагенази і катіонні білки. Речовини, що стабілізують лізосомні мембрани (до них належать, наприклад, саліцилати – солі саліцилової кислоти, і серед них – аспірин), значно зменшують ступінь запалення.

Одним з перспективних напрямків лікування пухлин є розробка лікарських препаратів, які діють на лізосомні ферменти. Так, при застосуванні цитотоксину або його комбінацій з вітаміном А виявлено збільшення кількості лізосом у клітинах, активація кислої фосфатази та вихід її в цитоплазму, що призводить до виникнення дистрофічних змін у клітинах пухлин і затримує їхній ріст.

Хвороби накопичення. Серед спадкових хвороб, пов'язаних з порушенням функції лізосом, які називають **лізосомними хворобами**, перш за все слід назвати спадкові **лізосомні ензимопатії**. Вони є наслідками первинних генних мутацій і проявляються недостатністю чи повною відсутністю певного ферменту або синтезом білкових молекул із зниженою біокаталітичною активністю. Дефект (або відсутність) одного або декількох лізосомних ферментів призводить до накопичення в клітині речовин. Тому спадкові лізосомні ензимопатії віднесені до групи **хвороб накопичення, або тезауризмозів**.

Група спадкових лізосомних ензимопатій досить велика. Вона включає глікогенози (хвороба Помпе), гангліозидози (хвороби Тея – Сакса, Сандхофа, ювенільний гангліозидоз), гепатози (хвороби печінки, за якої

виявляється дистрофія паренхіми внаслідок первинного порушення обміну речовин у гепатоцитах), ожиріння (недостатність ліпаз адипоцитів).

Спадкові паренхіматозні диспротейнози. До групи паренхіматозних диспротейнозів відносять ряд дистрофій, в основі яких лежать порушення внутрішньоклітинного метаболізму деяких амінокислот через спадкову недостатність ферментів, тобто внаслідок спадкової ферментопатії. Такі дистрофії відносять також до хвороб накопичення.

Найяскравішими прикладами спадкових дистрофій, пов'язаних з порушенням внутрішньоклітинного метаболізму амінокислот, є цистиноз, тирозиноз, фенілпіровиноградна олігофренія (фенілкетонурія) (табл. 8.3).

Спадкові ліпідози. До групи спадкових ліпідозів слід віднести системні ліпідози, які виникають внаслідок спадкового дефіциту ферментів, які беруть участь у метаболізмі певних ліпідів (табл. 8.4). Системні ліпідози належать до спадкових ферментопатій (хвороби накопичення), оскільки дефіцит ферменту означає накопичення субстрату, тобто ліпідів, у клітинах.

Таблиця 8.3. Види спадкових дистрофій, пов'язаних з порушенням внутрішньоклітинного метаболізму амінокислот

Назва	Дефіцит ферменту	Локалізація накопичень амінокислоти
Цистиноз	Невідомий	Печінка, нирки, селезінка, очі, кістковий мозок, лімфатичні вузли, шкіра
Тирозиноз	Тирозинамінотрансфераза або оксидаза параоксифенілпіровиноградної кислоти	Печінка, нирки, кістки
Фенілпіровиноградна олігофренія	Фенілаланін-4-гідроксилаза	Нервова система, м'язи, шкіра, кров, сеча

Таблиця 8.4. Хвороби, пов'язані з накопиченням ліпідів у клітинах

Назва хвороби	Дефіцит ферменту	Локалізація	Діагностичний критерій при біопсії
Гоше – цереброзидліпідоз	Глюкоцереброзидаза	Печінка, селезінка, кістковий мозок, ЦНС (у дітей)	Клітини Гоше
Німанна – Піка (сфінгомієлінліпідоз)	Сфінгомієліназа	Печінка, селезінка, кістковий мозок, ЦНС	Клітини Піка
Тя – Сакса (гангліозидліпідоз)	Гексозамінідаза	ЦНС, нервові сплетення, печінка, селезінка	Зміни сплетення Мейснера
Норманна – Ландінга (генералізований гангліозидоз)	β -галактозидаза	ЦНС, нервові сплетення, печінка, селезінка, кістковий мозок, нирки	Відсутній

Залежно від типу ліпідів, що накопичуються в клітинах, розрізняють: цереброзидліпідоз (хвороба Гоше), сфінгомієлінліпідоз (хвороба Німанна – Піка), гангліозидліпідоз (хвороба Тея – Сакса), генералізований гангліозидоз (хвороба Нормана – Ландінга) та ін. Найчастіше ліпіди накопичуються в печінці, селезінці, кістковому мозку, ЦНС і нервових сплетеннях. При цьому з'являються характерні для того чи іншого типу ліпідозу клітини (клітини Гоше, Піка), що має діагностичне значення при вивченні біоптатів.

Спадкові глікогенози. Спадкові вуглеводні дистрофії, в основі яких лежать порушення обміну глікогену, називаються глікогенозами. Вони зумовлені відсутністю або недостатністю ферменту, який бере участь у розщепленні глікогену, що депонується (тому глікогенози відносять до спадкових ферментопатій, або хвороб накопичення). На сьогодні добре вивчені шість типів глікогенозів, зумовлених спадковою недостатністю шістьох різноманітних ферментів. Це хвороби Гірке (I тип), Помпе (II тип), Мак-Ардля (V тип) і Герса (VI тип), при яких структура глікогену, що накопичується в тканинах, не порушується, і хвороби Форбса – Корі (III тип) та Андерсена (IV тип), при яких вона різко змінюється.

Морфологічна діагностика глікогенозу того чи іншого типу можлива при дослідженні біопсії за допомогою гістоферментних методів, а також з урахуванням локалізації глікогену, який накопичується (табл. 8.5).

Таблиця 8.5. Типи глікогенозів

Назва хвороби	Дефіцит ферменту	Локалізація накопичень глікогену
<i>Без порушення структури глікогену</i>		
Гірке (I тип)	Глюкозо-6-осфатаза	Печінка, нирки
Помпе (II тип)	Кисла α -глюкозидаза	Гладкі та скелетні м'язи, міокард
Мак – Ардля (V тип)	Система фосфорилаз м'язів	Скелетні м'язи
Герса (VI тип)	Фосфорилаза печінки	Печінка
<i>З порушенням структури глікогену</i>		
Форбса-Корі, ліміт-декстриноз (III тип)	Аміло-1,6-глюкозидаза	Печінка, м'язи, серце
Андерсена, амілопектиноз (IV тип)	Аміло-(1,4-1,6)-трансглюкозидаза	Печінка, селезінка, лімфатичні вузли

Вираз "лізосомні хвороби" відображає генетичний дефіцит лізосомних ферментів, а не власне пошкодження лізосом. Існує рідкісна хвороба Шедіака – Хігачі, при якій виявляються великі гранули в пошкоджених лізосомах нейтрофілів крові.

Феномен накопичення в лізосомах міді й феритину при гемохроматозі лежить в основі хвороби Вільсона.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ

1. Дайте порівняльну характеристику гладенької та гранулярної ендоплазматичної сітки.

2. Чим відрізняється синтез білків "на експорт" від синтезу трансмембранних білків плазмолемі?

3. У чому полягає різниця між синтезом білків "домашнього господарства" і синтезом білків для плазмолемі?

4. Чим відрізняється синтез білків "домашнього господарства" від синтезу білків на "на експорт"?

5. У клітині сильно розвинена гладенька ендоплазматична сітка. Про яку функцію клітини це свідчить?

6. Як відбувається фіксація рибосом на ендоплазматичній сітці?

7. Синтез яких речовин активується в клітині при збільшенні кількості мембран гладенької ендоплазматичної сітки? Відповідь обґрунтуйте.

8. Що таке N-сигнальна послідовність? Яка її функція?

9. Як зміниться подальша доля пептиду, якщо під час його синтезу видалити N-сигнальну послідовність?

10. Що таке тигроїд?

11. Поясніть, про що свідчить збільшення товщини і кількості цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки.

12. Що таке саркоплазматична сітка? В яких клітинах вона є? Опишіть її функції в цих клітинах.

13. Які види ендоплазматичної сітки ви знаєте? Які їхні функції?

14. Як на електронограмі відрізнити гранулярну ендоплазматичну сітку від гладенької, а також від інших органел клітини?

15. Яка роль гладенької ендоплазматичної сітки в процесах детоксикації?

16. Яка будова та функції сигнал-розпізнавальної частки (СРЧ-частки)?

17. З якими органелами пов'язаний синтез білкових гормонів у клітині? Відповідь обґрунтуйте.

18. Що таке проміжний ретикулум (проміжна ендоплазматична сітка)?

19. В яких органелах клітини відбувається синтез мембранних ліпідів та збирання біомембран? Опишіть цей процес.

20. Які посттрансляційні модифікації білків відбуваються у гранулярній ендоплазматичній сітці?

21. Які сучасні уявлення про механізм транспорту поліпептидного ланцюга через мембрану гранулярної ендоплазматичної сітки?

22. Що таке ергастоплазма? Про що свідчить її наявність у клітині?

23. Яких змін зазнає гЛЕПС при патології?

24. Яких змін зазнає грЕПС при патології?

25. За допомогою мікроманіпулятора з клітини видалили апарат Гольджі. Що трапиться?

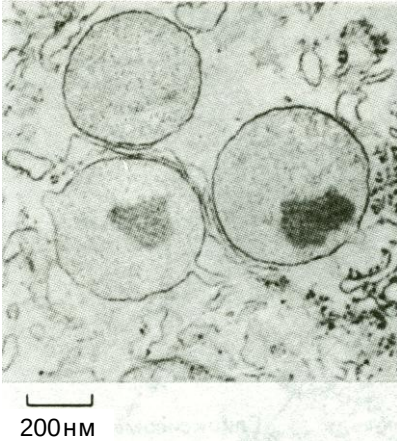
26. Що таке цис- та транс-полюси апарату Гольджі? Яка між ними різниця?
27. Будова диктіосоми апарату Гольджі.
28. Чому в апараті Гольджі не може бути менше 3–4 цистерн?
29. Яка мінімальна кількість цистерн може бути в складі диктіосоми апарату Гольджі? Чому?
30. Які процеси відбуваються у транс-компартменті апарату Гольджі?
31. Які процеси відбуваються у цис-компартменті апарату Гольджі?
32. Які процеси відбуваються у транс-сітці апарату Гольджі?
33. Які процеси відбуваються у проміжному компартменті апарату Гольджі?
34. Як забезпечується компартменталізація апарату Гольджі?
35. Які функції виконує комплекс Гольджі?
36. Опишіть механізм сортування білків у апараті Гольджі.
37. Біогенез апарату Гольджі.
38. Як здійснюється транспорт білків між цистернами апарату Гольджі?
39. Як розрізнити апарат Гольджі на електроннограмі?
40. Яка роль клатринових облямованих пухирців?
41. Які посттрансляційні модифікації білків відбуваються в апараті Гольджі?
42. Які органели беруть участь в утворенні секреторних гранул?
43. В яких компартментах клітини відбувається приєднання олігосахаридів до білків та їхня модифікація?
44. Яких змін зазнає апарат Гольджі при патології?
45. Як утворюються аутофагосоми? Яку функцію вони виконують?
46. Класифікація лізосом.
47. Чим відрізняються лізосоми різних типів?
48. Біогенез лізосом.
49. Які зміни відбуваються в клітині при порушенні мембрани лізосом?
50. Який рівень рН у лізосомах? Завдяки якому механізму він підтримується на цьому рівні? Яке це має значення для забезпечення функціонування лізосом?
51. Як відбувається руйнування пошкоджених чи старих частин клітини (органел, мембран тощо)?
52. Які ферменти містяться в первинних лізосомах (прелізосомах)? Яку функцію виконують ці органели?
53. Що таке первинні лізосоми (прелізосоми)? Як вони утворюються?
54. Що таке постлізосоми? Як вони утворюються?
55. Чому при порушенні цілісності однієї чи декількох лізосом лізису клітини не відбувається?
56. У клітині виявлено велику кількість вторинних лізосом, залишкових тілець, фагосом. На якій функції спеціалізується ця клітина?
57. Навіщо в мембрані лізосом є H^+ -насос (H^+ -помпа)?

58. Які є порушення в клітині, якщо в ній накопичуються постлізосоми?
59. Як зміниться подальша доля пептиду, якщо в цис-цистерні апарату Гольджі до нього помилково не буде приєднаний маннозо-6-фосфатний маркер?
60. У лізосомах клітин хворої людини немає кислих гідролаз. Проте вони виявляються в міжклітинній речовині. Яка можлива причина цього явища? Як воно називається?
61. У кровоносну судину щура ввели трипановий синій. В яких видах лізосом і в яких клітинах можна буде знайти цей барвник? Відповідь обґрунтуйте.

Розділ 9

ПЕРОКСИСОМИ

Структура й функції пероксисом. Морфологія. Пероксисоми (мікротільця) – це невеликі кулеподібні одномембранні органели, які мають вигляд мембранних пухирців діаметром до 0,5 мкм. Характерною особливістю цієї групи органел є наявність нуклеоїда – електронощільної кристалоїдної структури всередині органели. Незважаючи на назву, ця структура не містить нуклеїнових кислот. Вона складається з ферменту уратоксидази й мікротрубочок (рис. 9.1).



200nm

Рис. 9.1 [9]. Пероксисоми в клітині печінки щура (електронограма)

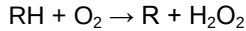
Функції пероксисом. Пероксисоми є постійною складовою практично всіх еукаріотичних клітин. Проте функції їх можуть суттєво відрізнятися в різних організмів та в різних типах тканин.

Подібно до мітохондрій, пероксисоми є одним з центрів утилізації кисню в клітині. Тут є декілька окиснювальних ферментів: *каталаза*, *оксидаза D-амінокислот*, *уратоксидаза*. Вважається, що пероксисоми є залишком давньої органели, що в анаеробних безмітохондріальних предків еукаріотів виконувала функції "захисту" від кисню. У цих організмів протопероксисома перетворювала кисень у пероксид водню

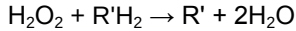
(H_2O_2), який потім утилізувався в реакціях окиснення різних органічних речовин. При цьому енергія, що виділялась під час подібних реакцій, втрачалась для клітини.

Наступна поява мітохондрій зробила пероксисоми певною мірою непотрібними, оскільки більшість реакцій, які відбувались в пероксисомах без вироблення енергії, тепер за допомогою окисного фосфорилування в мітохондріях були спряжені з утворенням АТФ. Та незважаючи на часткову втрату функцій, пероксисома залишилась важливою клітинною органелою, змінивши в процесі еволюції свою роль у клітинному метаболізмі.

Пероксисома, як і її еволюційний попередник, опікується в клітині, перш за все, реакціями синтезу та утилізації перекису водню. H_2O_2 утворюється в пероксисомі в результаті реакції:

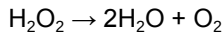


Потім каталаза (фермент, що становить до 40 % від загального білка пероксисом) використовує H_2O_2 для окиснення різноманітних субстратів (фенолів, мурашиної кислоти, формальдегіду, спиртів) у реакції:



Реалізація пероксисомою цих реакцій дає змогу знешкоджувати отруйні для організму речовини й залучатися до реакцій детоксикації. При цьому слід зазначити, що пероксисоми в цьому процесі тісно взаємодіють з глЕПС і мітохондріями. У клітинах печінки, що спеціалізуються на реакціях детоксикації, саме ці три органели виявляються в найбільшій кількості.

Слід зазначити, що коли в клітині накопичується надлишок H_2O_2 , пероксисома перетворює його у реакції



У цій реакції кисень утворюється, проте він не становить загрози для організму, оскільки утилізується мітохондріями, з якими пероксисома, як правило, перебуває "в тісному контакті".

Залежно від потреб пероксисома може перемикатись з виконання однієї функції на виконання іншої. Клітини дріжджів, що вирощуються на середовищі з підвищеним вмістом метанолу, мають великі пероксисоми, які окиснюють метанол за описаною схемою. Якщо ж вирощувати дріжджі на культурі з високим вмістом жирних кислот, то пероксисоми починають розщеплювати і їх на ацетил-СоА.

У рослинному насінні пероксисоми виконують подібну функцію, беручи участь у гліюксилатному циклі (серії реакцій, які забезпечують перетворення жирів на цукри). Такий спеціалізований тип пероксисом називають **гліюксисомами**.

Унікальною є участь пероксисом у процесі фотодихання в рослинах. Цей процес викликаний помилкою ферменту $RuBisCo$, відповідального за фіксацію CO_2 . Іноді цей фермент помилково приєднує O_2 замість CO_2 . Виправляється помилка в результаті серії реакцій, які відбуваються в хлоропласті, мітохондрії та пероксисомі, які перебувають у функціональній взаємодії (так звана "тріада"). Таким чином, сучасні пероксисоми виконують ряд спеціалізованих функцій, пов'язаних з метаболізмом кисню та перексиду водню.

Біогенез пероксисом. Пероксисоми не містять власного генетичного й білоксинтезуючого апарату, а також не входять до складу вакуолярної системи, тому що не пов'язані процесами везикулярного транспорту з її

органелами (ЕПС, апаратом Гольджі, лізосомами). Водночас показано, що нові пероксисоми утворюються шляхом поділу.

Ліпіди пероксисоми отримують завдяки діяльності білків-переносників ліпідів, що здатні екстрагувати ліпіди з мембрани глЕПС і переносити їх до інших органел. Фосфатиділхолін чи фосфатиділсерин надходить до пероксисоми безпосередньо від глЕПС, а фосфатиділетаноламін попередньо проходить обробку на зовнішній мембрані мітохондрії.

Білки пероксисоми отримують з цитозолю завдяки специфічним білкам-рецепторам для імпорту. Усі білки пероксисом (у тому числі й самі рецептори) утворюються на рибосомах у цитозолі. Усі вони містять специфічну послідовність амінокислот, яка розпізнається рецепторами пероксисоми. Після цього білок або "протягується" в порожнину пероксисоми, або вбудовується в її мембрану. Пероксисома не може утворитися *de novo*. Щоб почалося її збирання потрібна хоча б одна пероксисома, яка спочатку збільшиться в розмірах, завдяки описаним процесам, а потім поділиться (рис. 9.2).

Зміни пероксисом при патології. При багатьох хворобах людини виявлені як кількісні, так і якісні зміни пероксисом.

Збільшення кількості пероксисом і підвищення каталазної активності в гепатоцитах і нефроцитах спричинюється цілим рядом медикаментозних препаратів з гіполіпопротеїнічними властивостями, а в кардіоміоцитах – у разі тривалого вживання етанолу. Збільшення кількості пероксисом у гепатоцитах описано також при вірусному гепатиті.

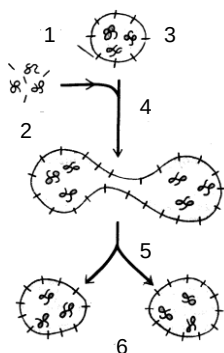


Рис. 9.2 [9]. Збирання та поділ пероксисом: 1 – специфічний білок-рецептор, що каталізує імпорт білків; 2 – захоплення специфічних білків цитозоллю; 3 – пероксисома; 4 – ріст; 5 – поділ; 6 – дочірні пероксисоми

Зменшення кількості пероксисом (особливо в гепатоцитах) спричинюється використанням речовин, які гальмують синтез каталаз, у лю-

дини виявляється при запаленні та пухлинних процесах. Значні дефекти пероксисом виявлені при гіперліпідемії та гіперхолестеринемії (руйнування пероксисом відбувається шляхом аутолізу або аутофагії).

Зміни нуклеоїду та матриксу пероксисом. У людини патологічні зміни матриксу пероксисом виявляють при ішемічному некрозі й вірусному гепатиті. Стосовно нуклеоїду, то можлива як його деградація (при гепатоцеребральній дистрофії), так і новоутворення (при ідіопатичному холестазі).

Пероксисомні хвороби. Сьогодні відомо три синдроми, які розглядають як спадкові пероксисомні хвороби: акаталаземія, цереброгепаторенальний синдром Целвегера й системна недостатність карнітину.

Акаталаземія – захворювання, в основі якого лежить різке зниження активності каталази в клітинах печінки та інших органах унаслідок зниження її термостабільності. Основним клінічним проявом цього захворювання є гангренозна ротова порожнина, укрита виразками.

Цереброгепаторенальний синдром Целвегера характеризується відсутністю пероксисом у гепатоцитах; зниженням каталазної активності печінки до 20 і більше відсотків; редукцією ендоплазматичного ретикулу-му; атрофією і зменшенням числа мітохондрій; збільшенням у гепатоцитах кількості гранул глікогену та ліпідних вакуоль. Головним клінічним проявом недостатності пероксисом є порушення синтезу жовчних кислот.

Система недостатності карнітину (вітамінної сполуки) характеризується міопатією з періодичними порушеннями функції печінки та головного мозку. Значний дефіцит карнітину виявляється в скелетних м'язах, печінці, плазмі крові. Ця патологія супроводжується окисненням жирних кислот у скелетних м'язах, печінці, плазмі крові. У клініці спостерігається міопатія з періодичними порушеннями функції печінки й головного мозку.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ

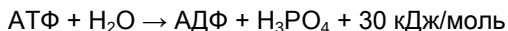
1. Які функції виконують пероксисоми?
2. Як можна на електронограмі відрізнити пероксисоми від лізосом у клітині?
3. Які ферменти пероксисом ви знаєте? Які функції вони виконують?
4. Який вигляд має нуклеоїд у пероксисомі на електронограмі? З чого складається нуклеоїд?
5. Як відбувається окиснення субстратів у пероксисомах?
6. Яка роль пероксисом у процесах детоксикації?
7. Яку роль виконують пероксисоми в нейтрофілах?
8. Що таке пероксисомні хвороби?
9. Які пероксисомні хвороби ви знаєте?

Розділ 10

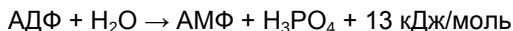
СИСТЕМИ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ КЛІТИН

У відповідності до закону збереження енергії всі функції живого організму реалізуються за рахунок зовнішніх джерел енергії, які можуть бути двох типів. **Автотрофні організми** (прокаріоти й рослини) можуть утворювати органічні сполуки (насамперед вуглеводи з CO_2 і води) з неорганічних сполук, використовуючи як додаткове джерело енергії світло (*фотосинтез* у зелених рослин) або окиснення неорганічних сполук (*хемосинтез* у бактерій). **Гетеротрофні організми** (багато видів грибів, бактерій, усі тварини) самі не можуть створювати органічні сполуки з неорганічних, а повинні споживати органічні сполуки, створені автотрофними організмами, і використовувати енергію перенесення електронів при окисненні органічних субстратів (*дихання*).

Енергія не використовується у клітинах одразу, а спочатку запасається у вигляді високоенергетичних (*макроергічних*) молекул – як правило, у формі **АТФ (аденозинтрифосфату)**. АТФ складається з аденіну (пуринова сполука), рибози (5-вуглецевий цукор) і трьох молекул фосфорної кислоти. Фосфатні групи поєднані між собою так званими "високоенергетичними" зв'язками. Один такий зв'язок віддає при його гідролізі 25–30 кДж/моль енергії – набагато більше, ніж при роз'єднанні звичайного фосфатного ефірного зв'язку (8–13 кДж/моль). У результаті гідролітичного відщеплення однієї (кінцевої) фосфатної групи від молекули АТФ утворюється **аденозиндифосфат (АДФ)**.



При відщепленні другої фосфатної групи утворюється **аденозинмонофосфат (АМФ)**, причому при від'єднанні останньої фосфатної групи вивільняється лише 13 кДж/моль.



АТФ є універсальним носієм енергії для забезпечення будь-яких клітинних процесів: активний транспорт речовин, синтетичні процеси, механічна робота тощо. АТФ здатна до дуже швидкого відновлення. У людини кожна молекула АТФ розщеплюється і знову відтворюється 2400 разів на добу, таким чином, середня тривалість її життя менше 1 хв.

У клітинах тварин синтез АТФ відбувається у спеціальних органелах – **мітохондріях**. У рослинних клітинах, крім мітохондрій, в енергозабезпеченні велику роль відіграють **хлоропласти** – один з видів пластид. Мітохондрії та хлоропласти загалом мають подібну структуру, виконують подібні енергетичні функції та, імовірно, мають спільне походження.

Спільним у їхній будові є те, що вони відділені від гіалоплазми двома мембранами – **зовнішньою** та **внутрішньою**. Тому в мітохондрій і пластид розрізняють дві порожнини (простори): **міжмембранну** – між зовнішньою та внутрішньою мембранами й **матрикс**, обмежений внутрішньою мембраною. Внутрішня мембрана мітохондрій і пластид утворює у матриксі вп'ячування, складки різної форми, на яких локалізуються поліферментні комплекси, відповідні за виконання основних функцій: окисного фосфорилування в мітохондріях або фосфорилування у хлоропластах.

Існують свідчення того, що хлоропласти й мітохондрії виникли еволюційним шляхом з вільноіснуючих автотрофних клітин, які утворили симбіотичний комплекс з гетеротрофними клітинами (*гіпотеза ендосимбіозу*). Так, у матриксі мітохондрій і пластид містяться власні елементи авторепродукції цих органел: кільцева ДНК, РНК, рибосоми, які певною мірою визначають їхні автономні властивості. Крім того, розмножуються обидві органели поділом навпіл, відносно незалежно від поділу клітини.

За іншими уявленнями, мітохондрії та пластиди утворились із вп'ячувань плазмолем, які оточили або плазмиди (короткі кільцеві позагеномні подвійні спіралі ДНК), або частини примітивного геному клітини.

10.1. Мітохондрії

Мітохондрії, або хондріосоми (від грец. *mitos* – нитка, *chondrion* – зернівка, *soma* – тільце) – двомембранні органели енергетичного обміну, які зустрічаються практично в усіх еукаріотичних клітинах. Хоча мітохондрії настільки великі, що їх можна спостерігати у світловому мікроскопі, їхні функції були визначені лише після 1948 р., коли була розроблена методика отримання інтактних мітохондрій.

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

Розміри мітохондрій хоча й варіюють, однак у більшості клітин товщина цих структур відносно стала (близько 0,5 мкм), а довжина змінюється, досягаючи в нитчастих форм десятків мікрометрів. Форма мітохондрій є дуже різноманітною: кулястою, ниткоподібною тощо. Крім того, досить часто мітохондрії галузяться. Необхідно підкреслити, що достовірно оцінювати кількість і розміри мітохондрій у клітині дуже складно. У світловому мікроскопі на пофарбованих препаратах далеко не завжди

можна дослідити реальні розміри мітохондрій. Вивчаючи мітохондрії за допомогою електронного мікроскопа на ультратонких зрізах, також важко з'ясувати справжню довжину мітохондрій, бо на зріз потрапляє лише незначний об'єм даної мітохондрії. Більше того, на зрізі можна одночасно побачити декілька площин перерізу однієї й тієї самої мітохондрії. Сьогодні лише просторова тривимірна реконструкція (засобами електронної мікроскопії або томографії з використанням комп'ютерної обробки зображень) дозволяє відповісти, чи маємо справу з багатьма простими мітохондріями чи з однією органелою складної форми.

Розміщені мітохондрії в клітинах, як правило, у тих місцях, де виникає особлива потреба в АТФ, наприклад: у скелетних м'язах мітохондрії містяться безпосередньо серед міофібрил, у сперматозоїдах і джгутикових найпростіших мітохондрії утворюють скупчення біля основи джгутика – це пов'язано з необхідністю використання АТФ для руху джгутиків і війок. У секреторних клітинах, які синтезують велику кількість білків, мітохондрії тісно пов'язані із зонами ергастоплазми, оскільки, найпевніше, вони постачають АТФ для активації амінокислот і синтезу білка на рибосомах. В аксонах нервових клітин мітохондрії розміщуються біля синапсів, де відбувається процес передачі нервового імпульсу.

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

У прокаріотів мітохондрій немає, а вивільнення енергії при окисненні субстратів відбувається у плазматичній мембрані та її структурованих вп'ячуваннях, або тилакоїдах.

Ультраструктурні особливості мітохондрій. Мітохондрія оточена двома мембранами, між якими знаходиться міжмембранний простір. Внутрішній вміст мітохондрії називається матриксом (рис. 10.1).

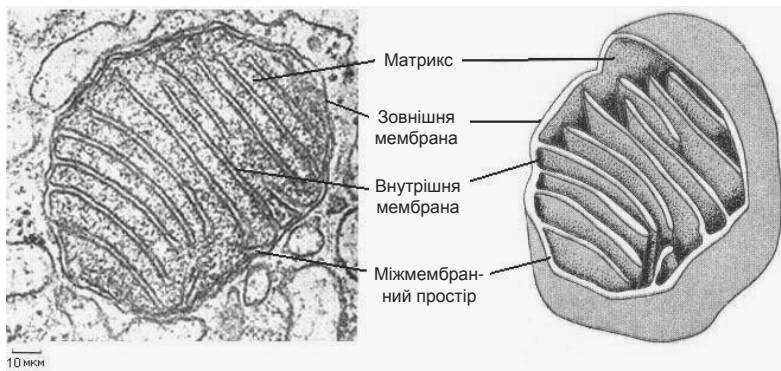


Рис.10.1. Електронोगрама (ліворуч) і схема будови мітохондрії (праворуч)

Зовнішня мітохондріальна мембрана відокремлює мітохондрію від гіалоплазми, її товщина близько 7–10 нм. Вона замкнена сама на се-

бе, оскільки не пов'язана з іншими мембранами клітини, має рівні контури, не утворює вп'ячувань і складок. За хімічним складом вона подібна до інших мембран еукаріотичної клітини (за винятком плазмолемми): містить 40 % ліпідів (багато холестеролу, фосфатидилетаноламіну, лецитину, фосфатидилінозиту, не містить кардіоліпіну), 60 % білків.

Зовнішня мембрана містить багато білків **поринів**, між молекулами яких у ній утворюються гідрофільні канали і через це вона нагадує сито, проникне для досить великих молекул масою до 10000 Д (іони, амінокислоти, АДФ, АТФ, сахароза, проміжні продукти дихання). Крім того, зовнішня мембрана містить ферменти обміну фосфоліпідів і активації жирних кислот (ацил-СоА-синтетаза), а також моноаміноксидазу.

Основною функцією зовнішньої мітохондріальної мембрани є відокремлення внутрішніх частин мітохондрії (у тому числі й внутрішньої мембрани) від гіалоплазми.

Міжмембранний (перимітохондріальний) простір має товщину близько 10–20 нм, але може розширюватись або звужуватись. Тут є декілька АТФ-залежних ферментів фосфорилування нуклеотидів (нуклеозид-дифосфатів, креатиніну, АМФ).

Внутрішня мітохондріальна мембрана (її товщина близько 7 нм) утворює численні випини – **кристи**, – які збільшують загальну поверхню мембрани. У 1953 р. вперше було опубліковано електронні мікрофотографії мітохондрій і описано кристи. Орієнтація крист щодо довгої осі мітохондрії є різною в різних клітинах: вона може бути перпендикулярною у клітинах печінки, нирок, тоді як у серцевому м'язі – поздовжньою. Часто кристи можуть галузитись або утворювати пальцеподібні відростки, звиватись і не мати вираженої орієнтації. У найпростіших, одноклітинних водоростей, у деяких клітинах вищих рослин і тварин кристи мають вигляд трубок.

Внутрішня мембрана дуже багата на білки (до 75 %, з яких 2/3 – інтегральні), містить мало холестеролу, фосфотидилетаноламіну, дуже багато фосфоліпиду **кардіоліпіну** (він зустрічається ще тільки в мембранах тилакоїдів пластид і в прокаріотів) і **лецитину**, майже нема фосфатидилінозиту – цим вона подібна до мембран бактерій (табл. 10.1). Кардіоліпін робить мембрану непроникною для іонів. У цілому внутрішня мітохондріальна мембрана майже непроникна для речовин з масою більше ніж 100 Д, тому вона містить транспортні білки для активного (енергозалежного) транспорту (іонів, глюкози, проміжних продуктів дихання, амінокислот, АТФ і АДФ, фосфату тощо). До складу внутрішньої мембрани та крист входять також:

- інтегральні білки ферментів перенесення електронів (**дихального ланцюга**);
- периферичні мембранні білки **дегідрогенази**, які окиснюють субстрати дихання, які є в матриксі, і передають протони до дихального ланцюга;

- АТФ-синтетазний комплекс (у внутрішній мембрані та кристах з боку мітохондріального матриксу): білкові частки 7–9 нм діаметром на ніжці 4 нм завдовжки, їх може бути до 400 на 1 $\mu\text{м}^2$;
- транспортні білки, що регулюють транспорт метаболітів у матрикс і з нього.

Таблиця 10.1. Морфологічна, фізична й хімічна характеристика внутрішньої та зовнішньої мембран мітохондрій клітин печінки

Внутрішня мембрана		Зовнішня мембрана
Морфологічні особливості		
Товщина	5–7 нм	5–7 нм
Форма	Складчаста	Гладенька
Поверхня	Зовнішня поверхня гладенька; внутрішня складається з регулярно розташованих фрагментів	Зовнішня поверхня гладенька; внутрішня поверхня має нерегулярно розташовані канали
Вплив екстракції фосфоліпідів	Двошарова структура залишається незачепленою	Двошарова структура руйнується
Фізичні властивості		
Щільність	1,192–1,230	1,094–1,122
Проникність	Селективна	Навіть великі молекули проникають вільно
Рентгеноструктурні дані	Цілком подібні	
Хімічні властивості		
Масове співвідношення фосфоліпідів і білків	0,27	0,82
Вміст кардіоліпіну	Високий	Низький
Вміст фосфатидилінозиту	Низький	Високий
Вміст холестерину	Низький	Високий
Убіхінон	Присутній	Відсутній
Моноаміноксидаза	Відсутній	Присутній
Цитохромоксидаза	Присутній	Відсутній

Матрикс має тонкозернисту гомогенну будову й містить деякі ферменти циклу трикарбонових кислот (циклу Кребса, або лимонної кислоти) та окиснення жирних кислот, а також проміжні продукти обміну. Оскільки інші ферменти окисного фосфорилування є периферичними білками внутрішньої мембрани, то всі процеси відбуваються безпосередньо поблизу неї, тоді як у центральній частині матриксу відбувається дегідрогенізація пірувату, що передує циклу Кребса, а також мітохондріальний біосинтез (амінокислот, стероїдів). Відповідно, мітохондрії, спеціалізовані для продукції енергії (наприклад, у м'язових клітинах), багаті на кристи,

а мітохондрії з високою інтенсивністю біосинтетичних процесів (наприклад, у печінці) є бідні на кристи й багаті на матрикс.

У матриксі спостерігаються округлі гранули розміром до 20–50 нм, які містять білок, фосфоліпіди, фосфат, іони кальцію й магнію та, як вважають, пов'язані з накопиченням цих іонів. Крім того, у матриксі міститься **генетична система мітохондрій**: декілька (2–6) ідентичних копій мітохондріальної ДНК (кільцева, дволанцюгова, завдовжки до 25 мкм у найпростіших і рослин і 5 мкм – у вищих, вільна від гістонів і негістонових білків, містить інтрони, рибосоми, тРНК, рРНК, мРНК. Всі мітохондріальні ДНК представлені численними копіями, зібраними в групи – кластери. Загальна кількість мітохондріальної ДНК на клітину складає близько 1 %.

Синтез мітохондріальної ДНК не зв'язаний із синтезом ДНК у ядрі. Як і у бактерій, мітохондріальна ДНК зібрана в окрему зону – нуклеоїд. У довгих мітохондріях може бути від 1 до 10 нуклеоїдів.

рРНК і рибосоми мітохондрій різко відрізняються від цитоплазматичних. Якщо в цитоплазмі є 80S рибосоми, то рибосоми мітохондрій рослинних клітин належать до 70S рибосом (складаються з 30S і 50S субодиниць, містять 16S і 23S РНК, характерних для прокаріотичних клітин), а в мітохондріях тваринних клітин знайдено дрібніші рибосоми (близько 50S). Рибосомні РНК мітохондрій синтезуються на мітохондріальних ДНК. У матриксі на рибосомах відбувається синтез білків. Мітохондріальний геном забезпечує синтез 22 тРНК і 13 білків. Триплетний код мітохондріальної синтетичної системи відрізняється від того, який використовується в цитозолі. Незважаючи на наявність начебто всіх компонентів, необхідних для синтезу білків, невеликі молекули мітохондріальної ДНК не можуть кодувати всі мітохондріальні білки, а лише невелику частину їх. Так, ДНК розміром 15 т.п.н. може кодувати білки із сумарною молекулярною масою близько 6×10^5 . У той же час сумарна молекулярна маса білків частки дихального ансамблю мітохондрії досягає близько 2×10^6 . Беручи до уваги, що крім білків окисного фосфорилування мітохондрії містять ферменти циклу трикарбонових кислот, ферменти синтезу ДНК і РНК, ферменти активації амінокислот тощо, зрозуміло, що для кодування цих численних білків, а також рРНК і тРНК, кількості мітохондріальної ДНК явно не вистачає. Тепер є переконливі докази того, що більша частина білків мітохондрій перебуває під генетичним контролем клітинного ядра й синтезується поза мітохондріями. Так, цитохром с утворюється в цитозолі, а з дев'яти поліпептидних ланцюгів у складі АТФсинтетази лише одна синтезується в матриксі мітохондрій тварин. Мітохондріальна ДНК кодує лише деякі мітохондріальні структурні білки мембран, які відповідають за правильну інтеграцію в мітохондріальних мембранах окремих функціональних компонентів. Більшість мітохондріальних білків синтезується на рибосомах у цитозолі. Ці білки мають спеціальні сигнальні послідовності, які розпізнаються рецепторами на зовнішній мембрані мітохондрій. Вони можуть вбудовуватись у зовнішню мітохондріальну мембрану, після чого переміщуватись на внутрішню. Це перенесення

відбувається в точках контакту зовнішньої та внутрішньої мембран. Більшість ліпідів мітохондрій також синтезується в цитоплазмі.

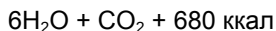
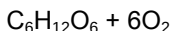
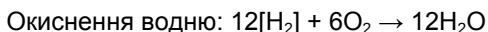
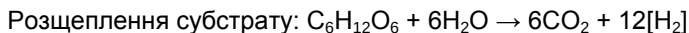
Мітохондрії живуть декілька днів і розмножуються поперечним поділом або відокремленням, яким передує реплікація ДНК.

Функції мітохондрій. Основною функцією мітохондрій є аеробний синтез АТФ, який відбувається в результаті окиснення органічних субстратів (*дихання*).

Дихання полягає в аеробному окисненні субстрату (у першу чергу, вуглеводів, а також жирів і білків) до бідних енергією неорганічних сполук і спрямоване на утилізацію енергії, яка при цьому вивільнюється.

Щоб забезпечити себе енергетичним "паливом", клітина запасає жири як джерело жирних кислот, глікоген (тваринні клітини) або крохмаль (рослинні клітини) як джерело вуглеводів (глюкози). При окисненні жирів вивільняється в 6 разів більше енергії, ніж при окисненні рівної кількості глікогену. Запасів глікогену в організмі дорослої людини середньої ваги вистачає на один день нормальної активності, тоді як запасів жирів вистачить на місяць. Однак основним субстратом дихання є вуглеводи, тоді як запаси жирів використовуються під час голодування (навіть після нічного голодування відбувається мобілізація запасів жиру). Надлишок вуглеводів іде на поповнення запасів глікогену й жирів. Слід відмітити, що хоча вуглеводи у клітинах тварин легко перетворюються на жири, зворотне перетворення неможливе.

Сутність дихання полягає у двох процесах. По-перше, поступовому **розщепленні субстрату** з відбиранням водню $[H_2]$, який зв'язується з коферментами. По-друге, поступовому **окисненні водню** $[H_2]$ у результаті перенесення його на кисень. Сумарне рівняння дихання виглядає так (для вуглеводів):



Процеси окиснення та накопичення енергії в клітині здійснюються в декілька етапів.

Жири перетворюються на жирні кислоти за допомогою ферментів, розташованих на зовнішній і внутрішній мембрані мітохондрій і переносяться в її матрикс. Тут молекула жирної кислоти поступово піддається повному розщепленню в циклі реакцій, за один оберт якого вона втрачає два вуглецеві атоми з утворенням однієї молекули ацетил-СоА. Далі відбувається подальше окиснення ацетил-СоА в циклі лимонної кислоти.

Початкові процеси окиснення *вуглеводів* проходять у цитозолі й не потребують участі кисню. Вони називаються анаеробним окисненням,

або гліколізом. **Гліколіз** – окиснення шестивуглецевої молекули глюкози до двох тривуглецевих молекул пірувату.

У результаті гліколізу глюкоза розпадається до тріоз, при цьому витрачається дві молекули АТФ, і синтезується чотири молекули АТФ. У кінцевому результаті клітина отримує дві молекули АТФ. В енергетичному відношенні цей процес є малоефективним: з 680 ккал, які є у зв'язках 1 моля глюкози, вивільнюється менше 10 % енергії, тому піруват бере участь у подальшому окисненні, яке відбувається в мітохондріях.

Наступний етап здійснюється в матриксі мітохондрій. Спочатку піруват (тривуглецева сполука) окиснюється до ацетил-СоА (двуглецевої сполуки), втрачаючи молекулу CO_2 . Ацетил-СоА вступає в **цикл лимонної кислоти** (цикл Кребса, або цикл трикарбонових кислот (рис. 10.2).

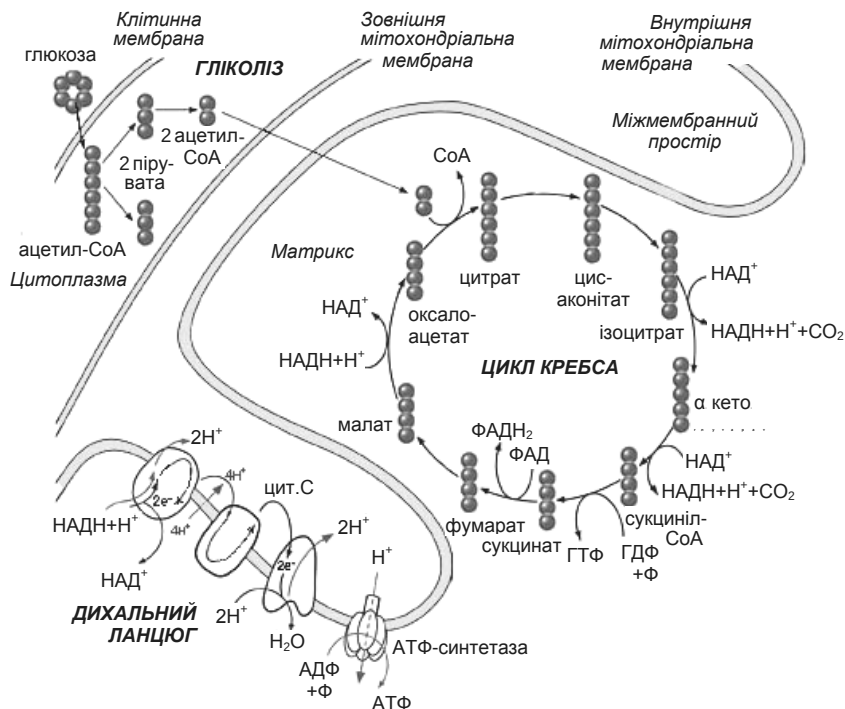


Рис. 10.2. Схема окиснення глюкози й синтезу АТФ

Цикл названо на честь Ханса Кребса, який описав багато з цих реакцій, за що в 1953 р. отримав Нобелівську премію. Ацетил-СоА, зв'язуючись з оксалоацетатом (чотиривуглецева сполука) утворює лимонну кислоту (шестивуглецеву сполуку). Далі проходить цикл окиснення її до чо-

тиривуглецевого оксалоацетату, який знову зв'язується з ацетил-CoA, і цикл повторюється. При цьому окисненні виділяються дві молекули CO_2 , а електрони, які звільнились при окисненні, переносяться на акцепторні молекули коферментів (НАД – нікотинамідаденіндинуклеотид і ФАД – флавінаденіндинуклеотид), які передають їх до ланцюга перенесення електронів (дихального ланцюга). Отже, у циклі трикарбонових кислот нема самого синтезу АТФ, а відбувається окиснення молекул, перенесення електронів на акцептори й виділення CO_2 .

Електрони й протони водню переносяться за допомогою молекули НАД до **дихального ланцюга** (до кисню) (див. рис. 10.2). Дихальний ланцюг є головною системою перетворення енергії в мітохондріях, по ньому здійснюється транспорт електронів у міжмембранний простір. У цю транспортну систему електронів входять три великі білкові комплекси (у складі яких є два флавіни (сукцинатдегідрогеназа та НАД-дегідрогеназа) і чотири цитохроми, залізо й мідь); а також убіхінон, який являє собою невелику гідрофобну молекулу, не зв'язану з білком, розчинену в ліпідному бішарі й відповідальну за поступове перенесення високоенергетичних електронів, які приносяться НАД, на молекулярний кисень.

На дихальному ланцюгу відбувається окиснення водню (а не вуглеводів, як при гліколізі). Цьому процесу передують розщеплення водневих атомів на електрони й протони. Атом водню (H) складається з одного електрона (e^-) і одного протона (H^+). Електрони переходять на перший з численних переносників електронів, розміщених у внутрішній мітохондріальній мембрані. На цьому етапі електрони володіють великою енергією, яка поступово зменшується під час проходження електронів через ланцюг різних переносників у дихальному ланцюгу. Найчастіше електрони переходять від одного атома металу до іншого. Кожен з металів міцно пов'язаний з білковою молекулою, яка впливає на його спорідненість з електронами; кожному комплексу властива більша спорідненість з електронами, ніж попередньому. Електрони передаються по ланцюгу доти, поки не з'єднуються з молекулярним киснем, який найбільш споріднений з електронами.

Отже, у результаті перенесення електронів по дихальному ланцюгу відбувається перехід позитивно заряджених іонів водню (протонів) через мембрану з матриксу в міжмембранний простір і, відповідно, виникнення електрохімічного градієнта протонів на мембрані (внутрішній бік мембрани заряджений негативно, а зовнішній – позитивно).

Енергія електронів запасується за участю ланцюга перенесення електронів, локалізованого на внутрішній мембрані, у вигляді енергії трансмембранного електрохімічного протонного градієнта. Цей градієнт у свою чергу використовується специфічним білковим комплексом внутрішньої мембрани **АТФсинтетазою** для синтезу АТФ з АДФ (аденозиндифосфат) і неорганічного фосфату.

Фермент АТФсинтетаза є білковим комплексом, через який протони перетікають назад у матрикс, і який використовує енергію протонного току

для синтезу АТФ. В електронному мікроскопі АТФсинтетази виглядають як грибоподібні тіла, що вистеляють поверхню мембран, яка обернена до матриксу. Ці тілця мають "ніжку" і голівку діаметром 8–9 нм. АТФсинтетазу можна розділити на F_0 - і F_1 -субодиниці. F_0 компонент АТФсинтетази складається з шести окремих субодиниць, більшість з яких зв'язані з мембранним бішаром F_1 – це сферичний компонент білкового комплексу.

Дихальний ланцюг є головною системою перетворення енергії в мітохондріях. У ній послідовно окиснюються і відновлюються елементи дихального ланцюга, у результаті чого вивільнюється невеликими порціями енергія. За рахунок цієї енергії з АДФ і фосфату утворюється АТФ. Тому говорять, що процес окиснення (перенесення електронів) sprzęжений з фосфорилуванням ($\text{АДФ} + \text{P}_i \rightarrow \text{АТФ}$), тобто відбувається процес окиснювального фосфорилування.

Перенесення АТФ, що утворюється в мітохондріях, у цитозоль здійснюється завдяки *обмінній дифузії*. Мітохондріальна мембрана містить високоспецифічний переносник АДФ/АТФ-транслоказу, яка каталізує перенесення однієї молекули АТФ з матриксу в цитоплазму з одночасним перенесенням однієї молекули АДФ в іншому напрямку (антипорт).

Завершуючи розгляд головних функцій мітохондрій, підкреслимо, що крім описаних вище процесів у мітохондріях відбувається синтез деяких амінокислот (глутаміну, цитруліну), стероїдних гормонів, а також активне накопичення неорганічних іонів. Мітохондрії відіграють ключову роль у депонуванні іонів кальцію, що вкрай важливо для реалізації кальцій-опосередкованої внутрішньоклітинної сигналізації. При дегенеративних змінах у клітинах мітохондрії можуть виступати основним джерелом вільних радикалів і деяких сигнальних молекул (АТФ, глутамат, цитохром С), поява яких спричиняє апоптоз.

Хондріом – це сукупність усіх мітохондрій в одній клітині. У багатьох клітинах хондріом представлений розрізненими численними мітохондріями, які розкидані досить рівномірно по всій цитоплазмі. В інших випадках мітохондрії локалізуються групами в місцях інтенсивного витрачання АТФ. В обох випадках мітохондрії функціонують поодиноці, але їхня кооперативна робота координується (можливо, якимись сигналами з цитоплазми).

Однак існує і зовсім інший тип хондріома, коли замість дрібних розрізнених мітохондрій у клітині розміщується одна гігантська розгалужена мітохондрія. У цьому випадку йдеться не про окремі мітохондрії, а складну мітохондріальну систему, або мітохондріальний ретикулум. У цій гігантській розгалуженій мітохондріальній системі внутрішні й зовнішні мембрани об'єднуються в одне ціле. За хеміосмотичною теорією, електрохімічний протонний градієнт, який виник на поверхні внутрішньої мембрани, рівномірно розподіляється по поверхні внутрішньої мембрани мітохондрій. Тому в будь-якій точці поверхні внутрішньої мембрани такої розгалуженої мітохондрії може здійснюватися синтез АТФ, яка буде надходити в будь-яку точку цитоплазми, де є в цьому необхідність. Мітохондріальний ретикулум є електричним провідником, що сполучає віддалені точки такої системи.

Мітохондріальний ретикулум може бути корисним не лише для дрібних рухомих клітин, таких як хлорела, але й для більших, там, де необхідна кооперація і синхронізація в роботі багатьох структурних одиниць, таких як, наприклад, міофібрили в скелетних м'язах. Відростки м'язових мітохондрій галузяться на великі відстані, при цьому оточують кожну міофібрилу в м'язовому волокні, утворюючи типовий мітохондріальний ретикулум. Уздовж міофібрили розміщуються й нитчасті мітохондрії, які поєднують мітохондріальний ретикулум. Між розгалуженими й нитчастими мітохондріями існують спеціальні міжмітохондріальні контакти (ММК), утворені щільно прилягаючими мітохондріальними мембранами контактуючих мітохондрій. Через ці структури відбувається об'єднання сусідніх мітохондрій і мітохондріального ретикулума в єдину енергетичну систему. Усі міофібрили в м'язовому волокні скорочуються синхронно по всій довжині, отже, і АТФ повинна надходити на будь-якій ділянці цієї складної машини синхронно, а це може відбуватись лише в тому разі, якщо величезна кількість розгалужених мітохондрій буде зв'язана між собою контактами (ММК).

ММК виявлені й у волокнах скелетних м'язів, і в кардіоміоцитах. Кількість їх у кардіоміоцитах змінюється залежно від функціонального навантаження на серце. Збільшується число ММК і при підвищенні фізичних навантажень на серце. Навпаки, при обмеженні навантаження на серцевий м'яз відбувається різке скорочення числа ММК. Узагалі наявність ММК характерна для хондріомів скорочувальних структур.

Патології мітохондрій. Незважаючи на те, що в мітохондріях є власна ДНК, вона має обмежений об'єм кодування, і більшість мітохондріальних білків кодується ядерними генами. Описано велику кількість мутацій генів, які кодують ферменти окисного фосфорилування. Наприклад, деякі рідкісні генетичні хвороби у людини пов'язані з порушенням метаболізму пірувату на етапі, коли піруват перетворюється на ацетил-СоА перед входженням у цикл трикарбонових кислот.

Узагалі, дефекти на будь-якому етапі окисного фосфорилування можуть приводити до порушення роботи м'язів і головного мозку.

Гіпоглікемія. Глюкоза є головним субстратом для синтезу АТФ у більшості тканин і єдиним джерелом енергії в нейронах головного мозку. При гіпоглікемії, яка супроводжується зниженням рівня глюкози в крові, порушується синтез АТФ, що найвідчутніше відбивається саме в мозку.

Гіпоксія. Гіпоксія – це нестача кисню в клітинах, яка може виникати за різних обставин:

- за наявності механічної перепони для дихання або при хворобах легень, що супроводжуються порушенням оксигенації крові;
- при ішемії, або порушенні припливу артеріальної крові до тканин унаслідок загальних порушень циркуляції або з виникненням місцевої перепони для течії крові;
- при анемії (тобто, коли знижується кількість еритроцитів і/або рівень гемоглобіну в крові), що призводить до зниження транспорту кисню кров'ю;

• у разі порушення структури гемоглобіну (наприклад, при отруєнні чадним газом (CO)), при якому утворюється карбоксигемоглобін, не здатний переносити кисень).

Пригнічення ферментів. Наприклад, при отруєнні ціаністим калієм. Ця речовина пригнічує цитохромоксидазу – кінцевий фермент у дихальному ланцюзі, що призводить до гострого дефіциту АТФ в усіх клітинах органів і швидкої смерті.

Роз'єднання окисного фосфорилування. Роз'єднання окиснення й фосфорилування відбувається шляхом хімічних реакцій або ж фізичного відокремлення ферментів від мітохондріальної мембрани. Мітохондріальне набухання, яке є загальною ознакою для більшості типів пошкоджень, є причиною роз'єднання окиснювального фосфорилування.

Збільшення кількості мітохондрій (гіперплазія). Кількість мітохондрій є непостійною. Їх гіперплазія відображає посилення окиснювального фосфорилування у клітині. Світлова мікроскопія дозволяє визначити збільшення числа мітохондрій на основі появи в цитоплазмі клітин оксифільних гранул. Така поява спостерігається при гіпертрофії, проліферації та трансформації клітин, особливо після пошкодження тканини. Значне зростання кількості мітохондрій виявляється у онкоцитах в щитовидній, парашитовидних, слинних, бронхіальних і молочних залозах. Збільшення числа мітохондрій у клітинах спостерігається і при інших патологічних станах, наприклад при запаленнях.

Зменшення кількості мітохондрій характерне для так званих гіпобіотичних процесів, таких як, наприклад, старіння клітин та їх атрофія.

Зміна розмірів мітохондрій. Розміри мітохондрій можуть коливатися в досить значних межах – від гігантських до різко редукованих форм. Мітохондрії здатні до аутореплікації (як і пластиди рослинних клітин). Вони можуть рости й ділитися, досягати гігантських розмірів, інколи розміру, більшого за ядро. Такі гіганти називаються *мегамітохондріями*. У світловому мікроскопі їх можна побачити у вигляді світлих круглих, дуже оксифільних кульок. Мегамітохондрії утворюються в гепатоцитах при алкоголізмі й цирозах печінки, в епітеліальних клітинах каналців нирок при нефротичному синдромі, при інтоксикації бромідами та при деяких м'язових захворюваннях. Зауважимо, що після усунення інтоксикації вже через декілька годин відбувається повернення гігантських мітохондрій до нормальних розмірів.

Зміна форми мітохондрій найчастіше зумовлена їхнім набуханням, спричиненим проникненням у мітохондрію води. Спостерігається, як правило, при голодуванні, гіпоксії, інтоксикаціях, пропасниці, м'язових захворюваннях, застосуванні тироксину тощо.

Конденсація й набряк мітохондрій можуть відображати функціональну напругу клітини, але найчастіше це пов'язано з кисневим голодуванням. Ці зміни нерідко оборотні. Але коли процес прогресує, це призводить до тяжкої деструкції мітохондрій і, як результат, до загибелі клітини. У мітохондріях при цьому відбувається ущільнення вмісту внутрішньої камери, деформація крист, гомогенізація матриксу й поява в ньому пластинчас-

того матеріалу. У подальшому спостерігається кальцифікація матриксу (на внутрішній мембрані утворюються преципітати фосфату кальцію), потім зникнення мітохондріальних гранул, і врешті виникають розриви зовнішньої мембрани мітохондрій.

In vitro було визначено два типи набухання. До першого вважають належним незначне набухання, при якому можливі оборотні зміни, тобто мітохондрії здатні повернутися до нормального стану. До другого типу відносять незворотне набухання, що виникає в результаті збільшення проникності внутрішньої мітохондріальної мембрани. Наслідком цього є розкладання й фрагментація крист, що супроводжується *in vivo* зникненням гранул мітохондріального матриксу, які спочатку просвітлюються, потім ущільнюються, утворюючи пластівці у внутрішній камері. Завершальний етап характеризується тим, що обидві мембрани – внутрішня й зовнішня – розриваються.

Зміни структури крист мітохондрій – це зміни їхніх розмірів, форми й кількості. *Деформація крист і зменшення кількості* їх спостерігається при пониженій активності мітохондрій. *Збільшення кількості* є свідченням зростаючих функціональних потреб клітини.

Зміна структури щільних гранул мітохондріального матриксу. Однією з важливих функцій мітохондрій є транспорт кальцію. Кальцій може накопичуватися мітохондріями у значній кількості разом з неорганічним фосфатом у вигляді гранул діаметром від 20 до 50 нм. Окрім кальцію, магнію, фосфору й інших неорганічних речовин, до складу щільних гранул можуть входити протеїни та ліпіди.

У нормі в клітинах, залучених до активного транспорту кальцію (остеокластах, остеобластах тощо), виявляється значна кількість таких гранул. При розвитку деяких хвороб (коронарна хвороба серця), синдромів (хронічна ниркова недостатність) і патологічних станів (отруєння тіоацетамідом, папаїном, йодоформом тощо) клітини відповідають на пошкодження також численною появою в мітохондріальному матриксі великих щільних гранул кальцію. Часом така кальцифікація мітохондрій може призвести до смертельного пошкодження клітини, інколи вона є процесом оборотним. Гіперплазія таких гранул виявлена при ішемії міокарда, у гепатоцитах – при інтоксикації чотирихлористим вуглецем, у м'язових клітинах при тетанусі (комплексі симптомів, що включає судоми, нападах, порушення ЦНС, ПНС). Зменшення ж або навіть зникнення щільних гранул відбувається в онкоцитах, гепатоцитах і клітинах кишкового епітелію при ішемії.

Внутрішньомітохондріальна кальцифікація може бути пов'язана як з надмірним надходженням кальцію в клітину внаслідок первинного пошкодження плазматичної мембрани, так і з первинними порушеннями транспорту кальцію мітохондріями. У випадках первинного пошкодження плазматичної мембрани надмірне надходження кальцію в клітину призводить до накопичення його в мітохондріях, що спричинює порушення синтезу АТФ. Первинні порушення мітохондріального транспорту кальцію зустрічаються при захворюваннях скелетних м'язів – різноманітних міо-

патіях (хворобі Люфта, синдромі Кернса – Сайра). Незважаючи на високий рівень ендogenousного кальцію, при розвитку цих хвороб мітохондрії можуть додатково накопичувати значну його кількість. У такому разі можна говорити про "хвороби" порушеного мітохондріального транспорту.

10.2. Пластиди

Пластиди – мембранні органели, які зустрічаються у фотосинтезуючих еукаріотичних організмах (вищі рослини, нижчі водорості, деякі одноклітинні організми). Подібно до мітохондрій, вони оточені двома мембранами, в їхньому матриксі є власна геномна система, функції пластид пов'язані з енергозабезпеченням клітини, що йде на потреби фотосинтезу.

Ембріональні клітини містять незрілі незабарвлені **пропластиди**, які мають неправильну форму, дві мембрани та здатні до амебоїдних рухів. Під дією світла вони, залежно від типу тканини, розвиваються в зелені **хлоропласти** або в їхні похідні, філогенетично більш пізні форми пластид – у жовті чи червоні **хромопласти** або в безбарвні **лейкопласти**.

Хлоропласти. Містяться в клітинах рослин, які перебувають на світлі: у листі, біля поверхні стебла, у молодих плодах тощо. Ці клітини містять зелені пігменти **хлорофіли** та зазвичай самі зелені, якщо цей колір не маскується іншими наявними пігментами (як, наприклад, у бурих чи червоних водоростей).

В основі організації хлоропластів лежать ті самі принципи, що і в будові мітохондрій. Як правило, хлоропласти досить численні (десятки й сотні на клітину), різної форми, розміром 3–10 мкм. У клітинах деяких зелених водоростей зустрічаються поодинокі гігантські хлоропласти (хроматофори), що сягають у довжину 50 мкм.

Хлоропласти, як і мітохондрії, є структурами, які оточені двома мембранами – зовнішньою та внутрішньою, завтовшки близько 7 мкм кожна. Мембрани відділені одна від одної **міжмембранним простором**, що сягає близько 20-30 нм. Зовнішня мембрана, як і зовнішня мембрана мітохондрій дуже проникна, внутрішня – менш проникна, містить спеціальні транспортні білки. Внутрішня мембрана оточує велику безбарвну центральну область – **строму**, – яка аналогічна матриксу мітохондрій і містить велику кількість розчинних ферментів. Крім них, строма хлоропластів містить молекули ДНК, рибосоми; в ній відбувається первинне відкладання основного запасного полісахариду **крохмалю** у вигляді крохмальних зерен.

На відміну від мітохондрій, в еукаріотичних клітинах внутрішня мембрана хлоропластів не утворює кристи, на ній нема ланцюга перенесення електронів. Фотосинтезуюча, поглинаюча світло система, електронно-транспортний ланцюг і АТФсинтетаза знаходяться у третій мембрані, що формує групу сплосчених дископодібних зелених мішків (цистерн) – **тилакоїдів**, – які пронизують строму. Розрізняють **тилакоїди строми** та **тилакоїди гран**; останні є групою тилакоїдів, що утворюють щільні стопки (**грану**) розміром 0,3–0,5 мкм. Кількість тилакоїдів у гранах дуже ва-

ріює: від декількох до 50 і більше. Внутрішні порожнини більшості (або навіть усіх) тилакоїдів поєднані між собою, утворюючи третій компартмент хлоропласту – **тилакоїдний простір**. Розмір міжмембранного простору в них становить 20–30 нм (рис. 10.3).

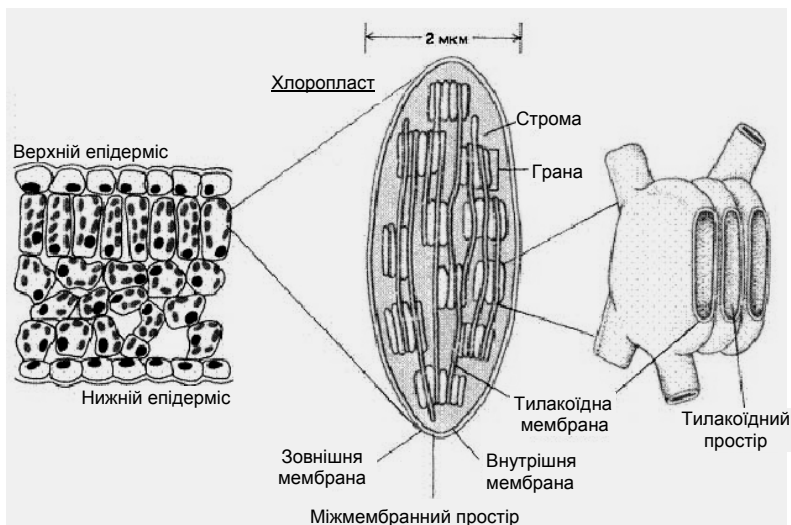


Рис. 10.3. Схема будови хлоропласту

Хлоропласти мають три мембрани – зовнішню, внутрішню і тилакоїдну, які ділять органелу на три внутрішні компартменти: міжмембранний простір, строму й тилакоїдний простір. У тилакоїдній мембрані містяться всі енергетичні системи хлоропласту. На електронній мікрофотографії ці мембрани виглядають розбитими на окремі фрагменти, які мають вигляд сплюснених пухирців, але в хлоропласті вони, можливо, поєднані в одну мембрану, що утворює численні складки. Як видно з рисунка 10.3, окремі тилакоїди зв'язані між собою в стопкоподібні структури, що називаються гранами .

Хлоропласти зелених водоростей, які не мають гран, містять **пиреноїди** – круглі щільні ділянки строми, пронизані нечисленними тилакоїдами, в яких накопичуються крохмальні зерна або краплини жиру. Фотосинтезуючі прокаріоти не мають хлоропластів, але в них є численні тилакоїди, оточені плазматичною мембраною.

Мембрани тилакоїдів завтовшки 7–12 нм, дуже багаті на білки (близько 50 %, понад 40 різних білків), серед ліпідів переважають гліколіпіди (моногалактозилдігліцерид), є також фосфоліпіди (у тому числі кардіоліпін) і специфічний сульфоліпід, зустрічаються різні хінони.

У мембранах тилакоїдів відбувається та частина реакцій фотосинтезу, з якою пов'язане перетворення енергії сонячного світла – **світлові**

Пластиди, у яких є проламелярні тіла називають **етіопластами**. Їх можна розглядати як певну стадію розвитку хлоропластів. Етіопласти утворюються в первинних листках або сім'ядолях проростків до їхнього виходу на світло.

Лейкопласти. Лейкопласти – невеликі безбарвні пластиди круглої або видовженої форми, розміщені, як правило, у клітинах підземних частинах рослин, насіння, серцевині стебла тощо. Вони відрізняються від хлоропластів відсутністю розвиненої ламелярної системи, мають ДНК, зерна крохмалю, одинокі тилакоїди та **пластидні центри** (це скупчення пухирців або мережа розгалужених трубочок). На світлі лейкопласти здатні до утворення нормальних тилакоїдних структур, що призводить до перетворення їх на хлоропласти.

Частіше зустрічаються **амілопласти**, які утворюють крохмаль з глюкози й накопичують його у бульбах, кореневищах, ендоспермі тощо.

Хромопласти. Хромопласти обумовлюють жовтий, жовтогарячий і червоний колір квітів, пагонів, плодів, коренів тощо. Вони можуть бути різної форми, не мають тилакоїдів, містять більше 50 **каротиноїдів** у різних білкових структурах. Утворюються ці органели з хлоропластів (шляхом руйнування тилакоїдів і хлорофілу й посиленого відкладання каротиноїдів) або з інших типів пластид. Процеси зміни хлоропластів і їхнє знебарвлення спряжені з поступовим зменшенням кількості мембран в пластиді й зникненням хлорофілу та крохмалю. Таким чином, хромопласти можна вважати дегенеруючою формою пластид, в якій спостерігається ліпофанекроз – розпад ліпопротеїдних комплексів.

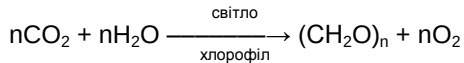
Біологічна роль хромопластів полягає в тому, що вони створюють зорову принаду для тварин, чим сприяють запиленню квітів і поширенню плодів рослин.

Функції хлоропластів (фотосинтез). Хлоропласти – це структури, в яких відбуваються фотосинтетичні процеси, суть яких полягає в перетворенні енергії світла на хімічну енергію органічних речовин, насамперед вуглеводів, які синтезуються у хлоропластах з енергетично бідних сполук – з CO_2 і H_2O . Додатковим результатом цих реакцій є продукція молекулярного кисню (O_2).

Хлоропласти містять спеціальні зелені пігменти **хлорофіли**, здатні поглинати світло для фотосинтезу. Крім них, усі хлоропласти мають жовті, жовтогарячі або червоні **каротиноїди**, а також інші пігменти.

Поглинання світла з певною довжиною хвилі світла призводить до зміни у структурі молекули хлорофілу, при цьому вона переходить у збуджений, активований стан. Енергія, яка вивільнюється з активованого хлорофілу, через ряд проміжних етапів передається певним синтетичним процесам, які призводять до синтезу АТФ і відновлення акцептора електронів **НАДФ (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату)** з утворенням НАДФ·Н, які далі використовуються в реакції зв'язування CO_2 у синтезі вуглеводів.

Сумарна реакція фотосинтезу може бути виражена наступним чином:



Отже, головний кінцевий процес – це зв'язування двоокису вуглецю з використанням води для утворення різних вуглеводів і виділення кисню. Молекула кисню, що виділяється у процесі фотосинтезу, утворюється за рахунок гідролізу молекули води. Біохімічні дослідження показали, що процес фотосинтезу є складним ланцюгом подій, що містить дві фази – світлову й темнову. Перша, що проходить лише на світлі, пов'язана з поглинанням світла хлорофілами з перебігом фотохімічної реакції (*реакція Хілла*). У другій фазі, яка може йти в темряві, відбувається фіксація й відновлення CO_2 , що призводить до синтезу вуглеводів.

У результаті **світлової фази** енергія світла збуджує електрони в молекулах хлорофілу, що робить можливим перенесення цих електронів по окиснювальному ланцюгу в тилакоїдній мембрані, подібно до того, як електрони транспортуються по дихальному ланцюгу на внутрішній мембрані мітохондрій. Енергія, що вивільнюється під час такого перенесення електронів, використовується для перекачування протонів через тилакоїдну мембрану, а протонорушійна сила, яка виникає внаслідок цього, приводить у дію АТФсинтетазу, утворюючи АТФ. У ході описаного процесу високоенергетичні електрони врешті відновлюють НАДФ до НАДФ·Н. Джерелом електронів, які беруть участь у цих реакціях, є вода, при окисненні якої виділяється молекулярний кисень (O_2).

У **темнову фазу** здійснюється перетворення CO_2 на вуглеводи (*фіксація вуглецю*), причому як джерело енергії та відновник використовуються відповідно АТФ і НАДФ·Н, що були синтезовані протягом світлової фази. Темнові реакції починаються у стромі хлоропластів і продовжуються в цитозолі. Хоча ці реакції залежать від продуктів світлової фази, їх називають темновими, оскільки вони не потребують прямої участі світла.

Отримані при фотосинтезі АТФ і НАДФ є джерелом енергії для різних біосинтетичних реакцій, які відбуваються у стромі, у тому числі й для життєво важливого циклу фіксації CO_2 , що призводить до утворення вуглеводів. Ці вуглеводи, у вигляді тривуглецевих фосфоукрів, разом з іншими продуктами метаболізму хлоропластів транспортуються в цитоплазму клітини.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ

1. Охарактеризуйте зовнішню мітохондріальну мембрану. Яка її роль?
2. Дайте визначення зовнішньої мітохондріальної камери (міжмембранного простору).
3. Дайте визначення внутрішньої мітохондріальної мембрани. Які процеси відбуваються в ній?

4. Охарактеризуйте внутрішню мітохондріальну камеру (матрикс мітохондрій). Які процеси відбуваються в матриксі мітохондрій?

5. Роль АТФсинтетазного комплексу в мітохондріях. Охарактеризуйте дихальні ансамблі мітохондрій.

6. Які структури мітохондрії забезпечують існування електрохімічного градієнту? Відповідь обґрунтуйте.

7. Який хімічний склад матриксу мітохондрій?

8. Охарактеризуйте білок-синтезуючу систему мітохондрій.

9. Що таке порин? Як забезпечується транспорт речовин із цитоплазми до матриксу мітохондрій? Які речовини транспортуються таким чином?

10. Про що свідчить наявність великої кількості крист у мітохондріях?

11. Як може змінюватись структура мітохондрій?

12. Охарактеризуйте генетичний апарат мітохондрій.

13. Де синтезуються білки для мітохондрій?

14. За допомогою мікроманіпулятора з клітини видалили мітохондрії. Як це відобразиться на життєдіяльності клітини?

15. Яке значення має цикл трикарбонових кислот (цикл Кребса) у життєдіяльності клітин еукаріотів? Де він відбувається?

16. Що таке кристи? Яка їхня роль? Яку форму вони можуть мати?

17. Порівняйте зовнішню та внутрішню мембрани мітохондрій, їхній хімічний склад.

18. Назвіть процеси, в яких бере участь мітохондрія.

19. Які ознаки в будові мітохондрій указують на їхнє ендосимбіотичне походження? Відповідь поясніть.

20. Охарактеризуйте мітохондріальний ретикулум і гігантський мітохондріон.

21. Чим відрізняється генетичний апарат мітохондрій від генетичного апарату ядра?

22. У мембранах крист мітохондрій клітин бурої жирової тканини присутній білок, що дозволяє протонам проходити крізь внутрішню мембрану, оминаючи АТФсинтетазний комплекс. Як змінюється при цьому функція мітохондрій? Відповідь поясніть.

23. Які процеси здійснюються у стромі хлоропластів?

24. Які процеси відбуваються на мембранах тілакоїдів?

25. Поясніть терміни: тілакоїд, ламела, грани, кристи.

26. Яке значення має цикл Кальвіна – Бенсона в життєдіяльності клітин рослин. Де він відбувається?

27. Яке значення має фотодихання в життєдіяльності клітин рослин. З якими органелами пов'язаний цей процес?

28. Які типи включень можна побачити у хлоропласті на електронограмі?

29. Де у хлоропласті містяться пігменти: хлорофіл і каротиноїди? Яку функцію вони виконують?

30. Порівняйте процеси, які відбуваються на мембранах тілакоїдів і крист.

31. Поясніть терміни: хлоропласт, хромопласт, лейкопласт.

32. На електронограмі у стромі хлоропласта видно велику кількість дрібних гранул. Що це може бути? Яка їхня функція?

33. Опишіть Z-схему фотосинтезу (нециклічна схема).
34. Опишіть циклічну схему фотосинтезу.
35. Порівняйте Z-схему фотосинтезу з циклічною схемою. Які продукти утворюються в обох випадках?

Розділ 11

ВІДТВОРЕННЯ КЛІТИН. КЛІТИННИЙ ЦИКЛ

Один з постулатів клітинної теорії проголошує, що відтворення кількості клітин, їхнє розмноження відбуваються шляхом поділу вихідної клітини. Поділу клітин передують редуплікація їхньої генетичної матриці, синтез ДНК. Це правило є загальним для прокаріотичних і еукаріотичних клітин.

Клітини мають різну тривалість життєвого циклу, який *визначається як період від одного поділу до іншого, чи (у випадку виходу клітини з циклу репродукції) включає час диференціації, функціонування, старіння й загибелі*. У тваринних клітин інтервал між мітозами (клітинний цикл, точніше – мітотичний) становить приблизно 10–24 год. Клітинам (навіть спорідненим генетично) визначені різні шляхи розвитку й неоднакова тривалість життя.

У тканинах існують стовбурові, камбіальні (малодиференційовані) і спеціалізовані (чи диференційовані) клітини. Стовбурові клітини, однак, виявлені не в усіх видах тканин і основною їхньою функцією є необмежена в часі підтримка популяції малодиференційованих клітин. Як правило, стовбурові клітини перебувають у фазі проліферативного спокою.

Камбіальні клітини не вступають на шлях спеціалізації, а у визначеному режимі проліферують, забезпечуючи процеси фізіологічної регенерації тканин. У різних тканинах камбіальні клітини мають неоднакову тривалість життя, що зв'язано з активністю відновлення й регенерації тканини, специфікою функцій та ін. Тривалість життя камбіальних клітин у тканинах з високим рівнем відновлення структурних елементів, наприклад епідермісу, порівняно невелика, а в кістковій і м'язовій тканині – міосателітоцитів – порівнянна з тривалістю життя організму.

Тривалість життя спеціалізованих клітин теж різна і залежить від багатьох причин, у тому числі від характеру функціональної спеціалізації. Наприклад, гранулоцити крові живуть недовго (після виходу в сполучну тканину гинуть через 7–8 діб). Високоспеціалізовані еритроцити (які в ході спеціалізації втратили практично все й і перетворилися на унікальну за своєю структурою частину диферона) – живуть близько 120 діб. Більшість клітин нервової та м'язових тканин живуть довго.

Розподіл клітин на камбіальні й спеціалізовані доволі умовний тому, що нерідко клітина, почавши спеціалізацію, може зупинитися й вступити в цикл поділу.

В організмі є тканини, що постійно оновлюються – різні епітелії, кровотворні тканини. У таких тканинах існує частина клітин, які постійно діляться, замінюючи клітинні типи, що гинуть (наприклад, клітини базального шару покривного епітелію, клітини крипт кишечника, кровотворні клітини кісткового мозку). Багато клітин, що не розмножуються у звичайних умовах, знову отримують цю властивість під час процесів репаративної регенерації органів і тканин. Клітини, які розмножуються, мають різну кількість ДНК залежно від стадії клітинного циклу. Це спостерігається при розмноженні як соматичних, так і статевих клітин.

Як відомо, гамети (статеві чоловічі й жіночі клітини) несуть одиничний (гаплоїдний) набір хромосом, а отже, містять ДНК у два рази менше, ніж усі інші клітини організму. Такі статеві клітини (сперматозоїди й овоцити) з одиничним набором хромосом називають гаплоїдними. Плоїдність позначають буквою n . Так, клітини з $1n$ – гаплоїдні, з $2n$ – диплоїдні, з $3n$ – триплоїдні й т. д. Відповідно кількість ДНК на клітину (c) залежить від її плоїдності: клітини з $2n$ кількістю хромосом містять $2c$ кількості ДНК. При заплідненні відбувається злиття двох клітин, кожна з яких несе $1n$ набір хромосом, тому утворюється диплоїдна ($2n$, $2c$) клітина – зигота. Надалі в результаті поділу диплоїдної зиготи і наступного поділу диплоїдних клітин розвивається організм, клітини якого (крім дозрілих статевих) будуть диплоїдними.

При вивченні клітинного циклу диплоїдних клітин у їхній популяції можна спостерігати як диплоїдні ($2n$), так і тетраплоїдні ($4n$) й інтерфазні клітини з проміжною кількістю ДНК. Така гетерогенність визначається тим, що подвоєння ДНК відбувається у визначений період інтерфази.

Клітинний цикл. Весь клітинний цикл складається з чотирьох періодів: власне **мітозу** (M), **пресинтетичного** (G_1 , від англ. *gap* – проміжок), **синтетичного** (S) (від англ. *synthesis*) і **постсинтетичного** (G_2) періодів **інтерфази**. У G_1 -періоді, що настає відразу після поділу, клітини відновлюють вміст цитоплазматичних білків, збільшують розмір дочірніх клітин до материнських. Клітини мають диплоїдну кількість ДНК на одне ядро ($2c$). У цей період починається підготовка клітини до синтезу ДНК (S-період).

Виявлено, що пригнічення синтезу білка чи іРНК у G_1 -періоді запобігає настанню S-періоду, тому що протягом G_1 -періоду відбуваються синтези ферментів, необхідних для утворення попередників ДНК (наприклад, нуклеотидфосфокіназ), ферментів метаболізму РНК і білка. Це збігається зі збільшенням синтезу РНК і білка. При цьому різко підвищується активність ферментів, що беруть участь в енергетичному обміні. У G_1 -періоді "приймається рішення" про вступ клітини до чергового мітичного циклу або припинення поділів. Цей момент назвали **точкою рестрикції**. Клітини, які пройдуть її, неминуче завершать клітинний цикл незалежно від зовнішніх умов.

На початку G_1 -періоду утворюються цитоплазматичні мікротрубочки, які заповнюють всю цитоплазму. В їхньому формуванні візьме участь материнська центріоль, на поверхні якої виникають сателіти, у котрих є ніжка й голівка, від якої починають рости в довжину мікротрубочки.

У S-періоді відбувається подвоєння ДНК (крім центромерних ділянок) і хромосомних білків. Інтенсивний синтез усіх фракцій гістонів необхідний для забезпечення нуклеосомної упаковки синтезованої ДНК. У цитоплазмі подвоюються центріолі. У цей час біля кожної центріолі (як материнської, так і дочірньої), які розійшлися ще в телофазі, закладаються нові центріольярні циліндри – процентріолі. Важливо відмітити, що розмноження центріоль не пов'язано з їхнім поділом, брунькуванням чи фрагментацією, а відбувається шляхом утворення зачатка (процентріолі) поблизу й перпендикулярно до материнської центріолі. Деякі вчені припускають, що центріоль належить до компонентів цитоплазми, здатних до саморедуплікації, як і мітохондрії і пластиди, хоча прямих доказів про наявність ДНК у складі центріоль немає. У S-періоді під час дуплікації материнська центріоль продовжує бути центром утворення цитоплазматичних мікротрубочок. У результаті процесу дуплікації біля кожної центріолі виростає нова дочірня центріоль, тому по завершенні цього періоду в клітині є вже дві диплосоми.

До кінця періоду клітина стає тетраплоїдною. У різних клітинах, що перебувають у S-періоді, можна знайти різні кількості ДНК – від 2 до 4 с. Це пов'язано з тим, що дослідженню підлягають клітини на різних етапах синтезу ДНК (тільки-но почали синтез або вже завершили його). S-період є вузловим у клітинному циклі. Без проходження синтезу ДНК невідомо жодного випадку переходу клітин до мітотичного поділу. Єдиним винятком є другий поділ дозрівання статевих клітин у мейозі, коли між двома поділами немає синтезу ДНК.

У S-періоді рівень синтезу РНК зростає відповідно до збільшення кількості ДНК, досягаючи свого максимуму в G_2 -періоді.

Постсинтетична (G_2) фаза називається також премітотичною. У клітині починається підготовка до чергового поділу. У цей час зникають сателіти на материнській диплосомі (так називають стару материнську центріоль з новою дочірньою), а обидві материнські центріолі в обох диплосомах покриваються фібрилярним гало, від якого в профазі починають відростати мітотичні трубочки. Паралельно цьому в цитоплазмі мікротрубочки зникають і клітина прагне набути кулеподібної форми. У даній фазі відбувається синтез іРНК, необхідний для проходження мітозу. Трохи раніше синтезується рРНК. Серед білків, які синтезуються в цей час, особливе місце посідають білки мітотичного веретена.

Наприкінці G_2 -періоду чи в мітозі з конденсацією мітотичних хромосом синтез РНК різко знижується і цілком припиняється під час мітозу. Синтез білка під час мітозу спадає до 25 % від вихідного рівня і потім у наступ-

них періодах досягає свого максимуму в G_2 -періоді, повторюючи в цілому характер синтезу РНК. Стадії G_1 , S і G_2 разом складають інтерфазу.

У дозріваючих тканинах рослин і тварин завжди є клітини, що перебувають ніби поза циклом. Такі клітини прийнято називати клітинами G_0 -періоду. Це клітини, які після мітозу не вступають у пресинтетичний період (G_1). Саме вони являють собою так звані спочиваючі клітини, які тимчасово чи остаточно перестали розмножуватися. У деяких тканинах такі клітини можуть існувати тривалий час, не змінюючи особливо своїх морфологічних властивостей: вони зберігають здатність до поділу. Це камбіальні клітини (наприклад, стовбурові в кровотворній тканині). Частіше втрата (хоча б і тимчасова) здатності поділятися супроводжується спеціалізацією й диференціацією. Клітини, що диференціюються, виходять із циклу, але в особливих умовах можуть знову входити в нього. Повертаючись під дією зовнішніх сигналів у мітотичний цикл, клітини вступають в його S-період. Наприклад, більшість клітин печінки перебуває в G_0 -періоді: вони не синтезують ДНК і не діляться. Однак при видаленні частини печінки в експериментальних тварин багато клітин починають підготовку до мітозу (G_1 -період), переходять до синтезу ДНК і можуть мітотично ділитися. В інших випадках, наприклад в епідермісі шкіри, після виходу з циклу розмноження й диференціації клітини якийсь час функціонують, а потім гинуть (зроговілі клітини покривного епітелію). Багато клітин цілком втрачають здатність повертатися в мітотичний цикл. Так, нейрони головного мозку і кардіоміоцити постійно перебувають у G_0 -періоді (до смерті організму).

Отже, клітинні цикли достатньо різноманітні. Вони можуть розрізнятися у клітин навіть однієї популяції, наприклад: одні стовбурові клітини можуть покоїтись, інші – ділитись, треті – вступати в диференціацію, четверті – гинути шляхом некрозу або апоптозу, п'яті – перероджуватись у пухлинні клітини.

11.1. Поділ клітин: мітоз

Мітоз (*mitosis*), каріокінез, чи непрямий поділ, – універсальний спосіб поділу будь-яких еукаріотичних клітин. При цьому конденсовані й уже редульковані хромосоми переходять у компактну форму мітотичних хромосом, утворюється веретено поділу, що бере участь у сегрегації й перенесенні хромосом (ахроматиновий мітотичний апарат), відбуваються розходження хромосом до протилежних полюсів клітини й поділ тіла клітини (цитокінез, цитотомія).

Необхідність у складному процесові мітотичного поділу виникла у процесі еволюції з появою клітин з різко збільшеною кількістю ДНК, упакованої в хромосоми. Реалізація такого поділу стала можливою завдяки виникненню мітотичного апарату, що дозволив точно розділити подвоєні хромосоми між дочірніми клітинами.

Поділ усіх еукаріотичних клітин пов'язаний з утворенням спеціального апарату клітинного поділу. Розходження редуплікованих хромосом здійснюється за допомогою веретена поділу, яке складається з мікротрубочок (рис. 11.1).

В утворенні веретена поділу в усіх еукаріотичних клітин беруть участь полярні тільця веретена (полюси) і кінетохори хромосом. Полярні тільця, або centrosomi є центрами організації мікротрубочок.

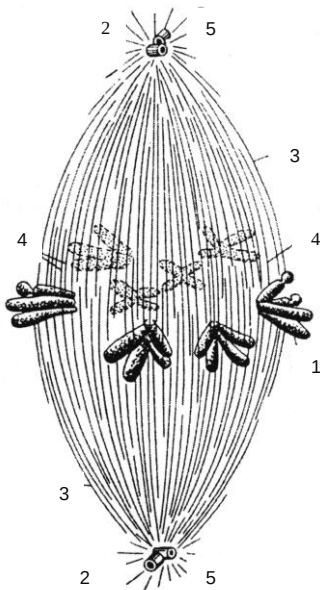


Рис. 11.1 [7]. Схема будови веретена поділу: 1 – хромосоми; 2 – полюси веретена, centrosomi; 3 – міжполюсні мікротрубочки; 4 – кінетохорні мікротрубочки; астральні мікротрубочки

Від них своїми "+"-кінцями відростають мікротрубочки, які тягнуться до хромосом. У клітин тварин до centrosom входять і центріолі. Але в багатьох еукаріотів центріоль немає, а центри організації мікротрубочок присутні у вигляді безструктурних зон, від яких відходять численні мікротрубочки. Другою структурною, характерною для мітотичного поділу, є кінетохори, які зв'язують мікротрубочки веретена з хромосомами. Саме кінетохори відповідають за переміщення хромосом під час клітинного поділу. Отже, полярні тільця (centrosomi), мікротрубочки веретена й кінетохори хромосом є в усіх еукаріотичних клітин і забезпечують складний процес розходження реплікованих хромосом.

Різні типи мітозу еукаріотів. Найпростіший тип мітозу – **плевромітоз** (рис. 11.2). Він децю нагадує бінарний поділ прокаріотичних клітин.

При закритому плевромітозі (закритий тому, що розходження хромосом відбувається без порушення ядерної оболонки) центрами організації мікротрубочок є не центріолі, а інші структури, які містяться на внутрішній боці ядерної мембрани. Це так звані полярні тільця невизначеної морфології, від яких відходять мікротрубочки. Весь процес утворення мітотичного апарату й розходження хромосом відбувається під ядерною оболонкою. Такий тип мітозу зустрічається серед найпростіших, у грибів. Існують форми напівзакритого плевромітозу, коли на полюсах сформованого веретена ядерна оболонка руйнується.

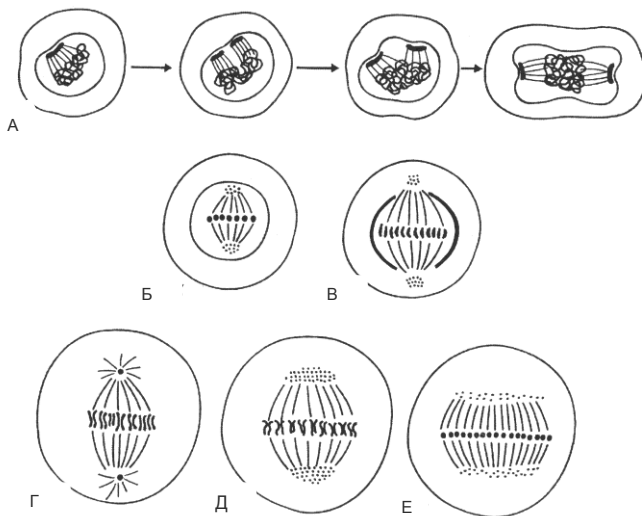


Рис. 11.2 [7]. Типи мітотичного поділу клітин еукаріотичних організмів:
а – плевромітоз дріжджової клітини; **б** – ортомітоз закритий;
в – ортомітоз напівзакритий; ортомітоз відкритий: **г** – мітоз тваринної клітини;
д – мітоз клітини вищих рослин; **е** – мітоз амеби

Другою формою мітозу є **ортомітоз** (рис. 11.2). У цьому випадку центр організації мікротрубочок розміщується в цитоплазмі й із самого початку йде утворення двохполюсного веретена. Є три форми ортомітозу: *відкритий* (звичайний мітоз), *напівзакритий* і *закритий*. При напівзакритому ортомітозі ядерна оболонка зберігається протягом усього мітозу, за виключенням полярних зон. Центром організації мікротрубочок може бути гранулярний матеріал або навіть центріолі. Ця форма мітозу зустрічається в зооспор зелених, бурих і червоних водоростей, у деяких нижчих грибів. При закритому ортомітозі повністю зберігається ядерна оболонка, під якою утворюється справжнє веретено. Такого типу мітози характерні для поділу мікронуклеусів інфузорій і в інших найпростіших. При відкритому ортомітозі

ядерна оболонка повністю розпадається. Цей тип поділу характерний для клітин тварин, деяких найпростіших і для клітин вищих рослин. Ця форма мітозу представлена **астральним** і **анастральним** типами (рис. 11.3).

Головною особливістю мітозу є виникнення структур веретена поділу, яке утворюється за участю різноманітних за своєю будовою центрами організації мікротрубочок. **Мітотичне веретено** – це сукупність хромосом, полюсів і волокон. Волокнами веретена можуть бути поодинокі мікротрубочки або їхні пучки. Починаються мікротрубочки від полюсів веретена, частина їх направляється до центромерів, де розміщені кінетохори хромосом (**кінетохорні мікротрубочки**), частина проходить у напрямку до протилежного полюсу, але до нього не доходить (**міжполюсні мікротрубочки**). Крім того, від полюсів відходять **астральні мікротрубочки**, які утворюють "променисте сійво" навколо полюсів.

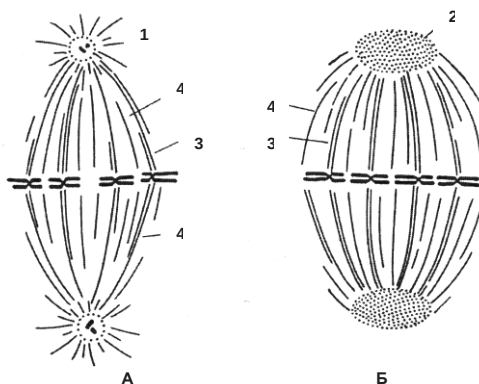


Рис. 11.3 [7]. Астральний (А) та анастральний (Б) типи веретена поділу в метафазі відкритого ортомітозу: 1 – астер – променеве сійво навколо центріолі на полюсі веретена; 2 – аморфна полярна "шапочка" на полюсі веретена; 3 – кінетохорні мікротрубочки; 4 – міжполюсні мікротрубочки

Мітотичні фігури поділяються на два типи. **Астральний** тип веретена характеризується тим, що його полюси представлені невеликою областю, до якої сходяться мікротрубочки. Як правило, у полюсах астральних веретен розміщуються centrosomi, які містять центріолі. Полярні зони при **анастральному** типі веретена широкі, їх називають полярними шапочками, до їхнього складу не входять центріолі. Волокна веретена розходяться від усієї зони полярних шапочок, а не від однієї точки. Цей тип веретена характерний для клітин вищих рослин.

Динаміка мітозу. Процес непрямого поділу клітин прийнято підрозділяти на кілька основних фаз: профаза, метафаза, анафаза, телофаза (рис. 11.4). Межі між фазами встановити точно дуже важко, оскільки сам мітоз – це

безперервний процес і зміна фаз відбувається поступово. Єдина фаза, яка має реальний початок, це анафаза – початок руху хромосом до полюсів. Тривалість окремих фаз мітозу різна, найкоротша за часом анафаза.

Профаза. Після закінчення S-періоду кількість ДНК у інтерфазному ядрі дорівнює 4 с, оскільки відбулося подвоєння хромосомного матеріалу. Однак морфологічно реєструвати подвоєння кількості хромосом у цій стадії не завжди вдається. Власне хромосоми, як щільні ниткоподібні тіла, починають виявлятися мікроскопічно на початку процесу поділу клітини, а саме в профазі мітотичного поділу клітини. Якщо спробувати підрахувати кількість хромосом у профазі, то їхня кількість дорівнюватиме 2 *n*. Але це помилкове враження, адже в профазі кожна з хромосом подвійна, що є результатом їхньої редуплікації в інтерфазі. У ранній профазі ці сестринські хромосоми – хроматиди – зв'язані між собою за допомогою білків-когезинів, які утворюють ці зв'язки ще в S-періоді під час подвоєння хромосом.

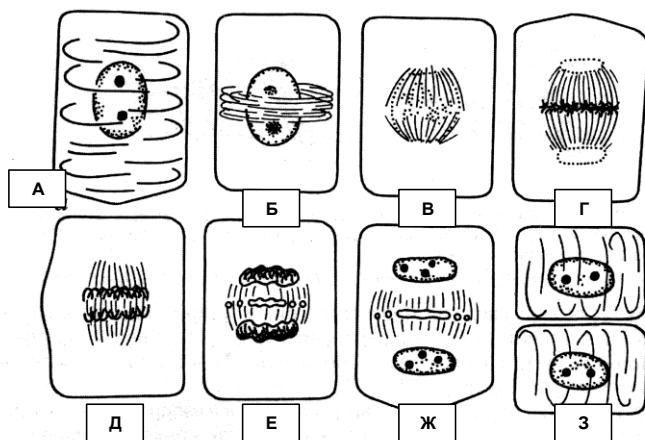


Рис. 11.4 [7]. Стадії мітозу рослинної клітини: а – мікротрубочки в кортикальному шарві цитоплазми інтерфазної рослинної клітини; б – препрофазне кільце мікротрубочок; в – профаза, утворення веретена; г – метафаза; д – анафаза; е – телофаза, утворення фрагмопласту; ж – перехід до інтерфази; з – інтерфаза

У пізній профазі зв'язок між сестринськими хроматидами зберігається тільки в ділянці кінетохорів. Кінетохори – спеціальні білкові структури, які розміщуються в ділянках центромер хромосом. Це складні комплекси з багатьох білків. Морфологічно вони дуже подібні, мають однакову будову, починаючи від діатомових водоростей і закінчуючи людиною. Кінетохори є тришаровими структурами, вони мають *внутрішній щільний шар*, що прилягає до тіла хромосоми, *середній пухкий* і *зовнішній щільний шар*. Від зовнішнього шару відходить багато фібрил, утворюючи так звану

фіброзну корону кінетохору. У загальній формі кінетохори мають вигляд пластинок або дисків, які містяться в центромері. Функціональна роль кінетохорів полягає у зв'язуванні між собою сестринських хроматид, у закріпленні мітотичних мікротрубочок, у регуляції роз'єднання хромосом і в русі хромосом під час мітозу за участю мікротрубочок. Кінетохори в цілому білкові структури, подвоюються в S-періоді.

Подвійність хромосом у мітозі спостерігається в живих клітинах наприкінці профазі, коли видно, що загальна їхня кількість у клітині, яка починає ділитися, дорівнює $4n$. Отже, уже на початку профазі хромосоми складаються з двох хроматид. Кількість їх ($4n$) у профазі точно відповідає кількості ДНК ($4c$).

Паралельно конденсації хромосом у профазі відбуваються зникнення й дезінтеграція ядерця у результаті інактивації рибосомних генів у зоні ядерцевих організаторів. Більша частина ядерцевих білків дисоціює і у вільному вигляді зустрічається в цитоплазмі клітини або зв'язується з поверхнею хромосом.

Одночасно з цим у середині профазі відбувається фосфорилювання деяких білків ядерної ламіни, яка починає розпадатись. При цьому губиться зв'язок ядерної оболонки з хромосомами, зникають ядерні пори, оболонка розпадається спочатку на фрагменти, а потім на дрібні мембранні пухирці. У цей час змінюються і структури, пов'язані із синтезом білка. Відбувається зменшення кількості гРЕПС, він розпадається на короткі цистерни й вакуолі, кількість рибосом на його мембранах різко зменшується. Значно (до 25 %) редукується кількість полісом як на мембранах, так і в цитозолі, що є ознакою загального падіння рівня синтезу білка в клітинах, що діляться. Дезорганізується й апарат Гольджі, який втрачає свою локалізацію, розпадається на окремі диктіосоми, які хаотично розміщуються в цитоплазмі.

Друга найважливіша подія мітозу теж відбувається під час профазі – це утворення веретена поділу. У профазі дві диплосомі (кожна з яких – це пара центріоль) починають розходитися до протилежних кінців клітини, де будуть пізніше формуватися полюси веретена. До кожного полюса відходить по подвійній центріолі, диплосомі. На початку профазі розбираються мікротрубочки в цитоплазмі й починається бурхливий ріст астральних мікротрубочок навколо кожної диплосомі. Усі мікротрубочки, які відходять від центросом, ростуть вперед своїми "+"-кінцями. Активовані центросомі – це майбутні полюси поділу – починають розходитись на деяку відстань. Механізм такого профазного розходження полюсів такий: антипаралельні мікротрубочки, які йдуть назустріч одна одній, взаємодіють між собою, що призводить до розштовхування полюсів. Це відбувається за рахунок взаємодії з мікротрубочками динеїноподібних білків, які в центральній частині веретена розміщують міжполюсні мікротрубочки паралельно одна одній. Одночасно з цим продовжується їхня полімеризація і ріст, які супроводжуються їхнім розштовхуванням у напрямку до

полюсів за рахунок роботи кінезиноподібних білків. У цей час при утворенні веретена мікротрубочки з кінетохорами хромосом ще не зв'язані.

До складу сформованого веретена поділу, який у тваринних клітинах має веретеноподібну форму, входять мікротрубочки трьох видів:

- кінетохорні – зв'язують кожну хроматиду, відходячи від її кінетохору, з однією з диплосом;
- полярні – ідуть від однієї з диплосом до центра веретена, де перекриваються з мікротрубочками від другого полюса;
- астральні – направлені від диплосом до поверхні клітини.

Метафаза триває близько третини часу всього мітозу. Хромосоми досягають максимального ступеня конденсації. Під час метафази закінчується



Рис. 11.5 [7]. Вигляд метафазної хромосомної пластинки саламандри з полюса

створення веретена поділу шляхом полімеризації білка тубуліну. Незважаючи на деяку стабілізацію пучків мікротрубочок, продовжується їхнє постійне оновлення за рахунок збирання і розбирання тубулінів. Під час метафази хромосоми розміщуються таким чином, що їхні кінетохори обернені до протилежних полюсів. Якщо подивитись на метафазну клітину з боку полюса, то можна бачити, що центромерні ділянки хромосом повернені до центра веретена, плечі – до периферії (рис. 11.5). Таке розміщення хромосом називають материнською зіркою. До кінця метафази завершується процес розмежування

сестринських хроматид за рахунок руйнування когезинових комплексів між ними. До кінця метафази поділ хроматид завершується. Плечі хроматид лежать паралельно одне одному, між ними добре помітно щілину їхнього поділу. Останнім місцем, де контакт між хроматидами зберігається, є центромера.

Анафаза починається раптово. Хроматиди всі одночасно втрачають зв'язок одна з однією в області центромер і синхронно починають віддалятися одна від одної у напрямку до протилежних полюсів клітини. У цей час відбувається одночасна деградація центромерних когезинів, які зв'язували до цього часу сестринські хроматиди. Таке одночасне відділення хроматид дозволяє почати їхнє синхронне розходження. Швидкість руху хромосом рівномірна, вона може досягати 0,5–2 мкм/хв. Анафаза – найкоротша стадія мітозу (кілька відсотків від усього часу), але за цей період відбувається ряд подій. Головними з них є відокремлення двох хроматид кожної хромосоми до протилежних полюсів. Розходження хромосом у напрямку до полюсів відбувається одночасно з розходженням самих полюсів.

При руху хромосоми змінюють свою орієнтацію і часто набувають V-подібної форми. Центромерні ділянки хромосом направлені в бік полюсів поділу, а теломери – до центру веретена.

Власне розходження хромосом складається з двох процесів:

- розходження хромосом за рахунок кінетохорних мікротрубочок;
- розходження хромосом разом з полюсами за рахунок подовження міжполюсних мікротрубочок.

Доведено, що розходження хромосом пов'язано з укорочуванням, деполімеризацією мікротрубочок у ділянці кінетохорів хромосом (рис. 11.6). Мікротрубочки розбираються з "+"-кінців, які прилягають до кінетохорів, а хромосома рухається в напрямку до "-"-кінця мікротрубочок, розміщеного в ділянці centrosomi. Виявилось, що такий рух хромосом залежить від присутності АТФ і від наявності достатньої кількості Ca^{2+} . До складу корони кінетохору, в яку вмонтовані "+"-кінці мікротрубочок, входить білок динейн, що є мотором, який підтягає хромосому до полюсу (рис. 11.7). Одночасно з цим відбувається деполімеризація кінетохорних мікротрубочок на "+"-кінці. Додаткове розходження полюсів у анафазі забезпечується за рахунок нарощування "+"-кінців міжполюсних мікротрубочок, які значно збільшуються в довжину, що спричиняє віддалення полюсів один від одного. Взаємодія між цими антипаралельними мікротрубочками, яка призводить до їх ковзання, визначається іншими моторними кінезиноподібними білками. Крім того, полюси додатково підтягуються до периферії клітини за рахунок взаємодії з астральними мікротрубочками динейноподібних білків на плазматичній мембрані.

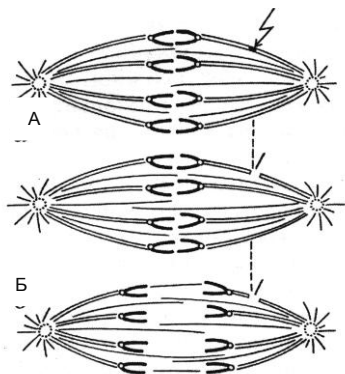


Рис. 11.6 [7]. Розходження хромосом в анафазі, зумовлене деполімеризацією мікротрубочок в районі кінетохорів: а – забарвлений флуоресцентними барвниками пучок мікротрубочок (показано стрілкою); б – наближення хромосоми до опроміненої ділянки

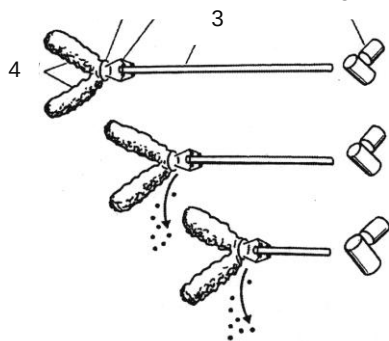


Рис. 11.7 [7]. Схема участі динейнових молекул у підтягуванні хромосоми до полюса при одночасному розбиранні мікротрубочок (показано стрілками): 1 – кінетохор, 2 – динейнові ручки, 3 – мікротрубочка, 4 – плечі хромосоми, 5 – клітинний центр

Телофаза починається із зупинки розходження диплоїдних ($2n$) наборів хромосом (рання телофаза) і закінчується початком реконструкції

нового інтерфазного ядра (пізня телофаза, ранній G_1 -період) і поділом вихідної клітини на дві дочірні (цитокинез, цитотомія). У ранній телофазі хромосоми, не змінюючи своєї орієнтації (центромерні ділянки – до полюса, теломерні – до центра веретена), починають деконденсуватися і збільшуватися в об'ємі. У місцях їхніх контактів з мембранними пухирцями цитоплазми утворюється нова ядерна оболонка, в яку вбудовуються комплекси ядерних пор. Через останні проникають білки, які формують ядерну ламіну. Після замикання ядерної оболонки починається формування нових ядерець. Клітина переходить у новий G_1 -період.

У телофазі починається і закінчується процес руйнування мітотичного апарата – мікротрубочок. Він іде від полюсів до екватора, у середній частині веретена мікротрубочки зберігаються найдовше.

Важлива подія телофази – поділ клітинного тіла, **цитотомія**, або **цитокинез**, що відбувається в клітинах тварин шляхом утворення перетяжки в результаті вгинання плазматичної мембрани всередину клітини. При цьому в кортикальному, підмембранному шарі цитоплазми розташовуються скорочувальні елементи типу актинових фібрил і короткі паличкоподібні молекули з полімеризованого міозину II. Взаємне ковзання цих компонентів призводить до зменшення діаметра кільця й до вгинання плазматичної мембрани в ділянці цього кільця, що завершується поділом материнської клітини перетяжкою на дві дочірні.

Процес цитотомії рослинних клітин різко відрізняється від ділення перетяжкою клітин тваринного походження (рис. 11.8).

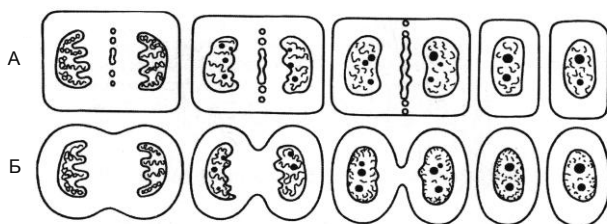


Рис. 11.8. Порівняння цитотомії клітин вищих рослин (А) і тварин (Б)

У кінці телофази відбувається розбирання мікротрубочок у полярних областях, але мікротрубочки між двома новими ядрами залишаються, крім того, утворюються ще й нові. З пучками мікротрубочок зв'язуються численні дрібні вакуолі, які є похідними апарату Гольджі й містять пектинові речовини. За допомогою мікротрубочок численні вакуолі рухаються до екваторіальної площини, де зливаються один з одним і утворюють у середині клітини плоску вакуоль – **фрагмопласт**, який розростається до периферії клітини, включаючи все нові й нові вакуолі. Так створюється первинна клітинна стінка. Урешті-решт мембрани фрагмопласту зливаються з плазматичною мембраною, відбувається відособлення двох нових клітин.

При ушкодженні мітотичного апарату, викликаному дією холоду чи агентами, що спричиняють деполімеризацію тубулінів, може відбутися затримка мітозу в метафазі, або розсіювання хромосом. При порушеннях репродукції центріолей можуть виникати багатополюсні й асиметричні мітози тощо. Порушення цитотомії призводять до появи гігантських ядер або багатоядерних клітин. Тривалість мітозу залежить від деяких факторів, особливо температури середовища. Ушкодження хромосом і мітотичного апарата під впливом несприятливих факторів, у тому числі токсичних хімічних речовин, супроводжуються утворенням атипичних мітозів (розсіювання хромосом у профазі, утворення анафазних мостів, багатополюсних мітозів і т. д.).

Поліплоїдія – утворення клітин з підвищеним вмістом ДНК. Такі поліплоїдні клітини з'являються в результаті повної відсутності чи незавершеності окремих етапів мітозу. Поява поліплоїдних соматичних клітин може спостерігатися при блокаді поділу клітинного тіла. У печінці дорослих ссавців крім диплоїдних зустрічаються тетра- і октаплоїдні ($4n$ і $8n$) клітини, а також двоядерні клітини різного ступеня плоїдності. Процес поліплоїдизації цих клітин відбувається в такий спосіб. Після S-періоду клітини, які мають $4c$ ДНК, вступають у мітотичний поділ, проходять усі його стадії, включаючи телофазу, але не приступають до цитотомії. Утворюється двоядерна клітина ($2 \times 2n$). Якщо вона знову проходить S-період, то обидва ядра в такій клітині міститимуть по $4c$ ДНК і $4n$ хромосом. Така двоядерна клітина входить у мітоз, на стадії метафазі відбувається об'єднання хромосомних наборів (загальна кількість хромосом дорівнює $8n$), а потім – нормальний поділ, у результаті якого утворюються дві тетраплоїдні клітини. Цей процес поперемінної появи двоядерних і одноядерних клітин приводить до появи ядер з $8n$, $16n$, навіть $32n$ кількістю хромосом. Подібним чином утворюються поліплоїдні клітини в печінці, в епітелії сечового міхура, у пігментному епітелії сітківки, в ацинарних відділах слинних і підшлункової залоз, мегакаріоцити червоного кісткового мозку. Необхідно відзначити, що поліплоїдизація соматичних клітин зустрічається на термінальних періодах розвитку клітин, тканин і органів. Вона здебільшого характерна для спеціалізованих, диференційованих клітин. Немає її при генеративних процесах, таких як ембріогенез (крім провізорних органів), і утворення статевих клітин; немає поліплоїдії та серед стовбурових клітин.

Особливий спосіб поліплоїдизації – **ендоредуплікація**. При цьому в клітині відбувається кілька циклів редуплікації ДНК без наступного утворення мітотичних хромосом і мітозу. Це призводить до прогресивного збільшення кількості ДНК у ядрі. У деяких випадках інтерфазні репліковані хромосоми залишаються зв'язаними одна з одною, унаслідок чого всередині інтерфазного ядра помітні так звані політенні (багатонитчасті) хромосоми, які містять багато сотень копій ДНК. Такі хромосоми виявляються в клітинах слинних залоз деяких комах навіть за звичайної світлової мікроскопії.

11.2. Регуляція клітинного циклу

Клітинний цикл регулюється численними поза- і внутрішньоклітинними механізмами. До позаклітинних відносять впливи на клітину цитокінів, факторів росту, гормональних і нейрогенних стимулів. Роль внутрішньоклітинних регуляторів відіграють специфічні білки цитоплазми.

Протягом кожного клітинного циклу існують кілька критичних періодів, що відповідають переходу клітини з однієї фази циклу в іншу. При порушенні внутрішньої системи контролю клітина під впливом власних факторів регуляції елімінується **апоптозом** або на якийсь час затримується в одній з фаз циклу. Ключове значення в проходженні кожної фази циклу й підготовці клітини до вступу в наступну фазу має спільний вплив внутрішньоклітинних **циклінів, циклінозалежних кіназ (Cdk – cyclin-dependent kinases), анафазу-стимулюючого білкового комплексу** й інших протеолітичних ензимів. Кожна з циклінозалежних кіназ активує чи пригнічує шляхом фосфорилування певні білки, які включаються у відповідну фазу циклу.

Молекула будь-якої *Cdk* складається лише з одної субодиниці, для активації якої необхідне приєднання спеціального білка – цикліну, концентрація якого в клітині змінюється циклічним чином (звідси й назва). Отже, в активній формі протеїнкінази (*Cdk*) є комплексами циклін-*Cdk*, де циклін є активуючою, а *Cdk* – каталітичною субодиницею.

Група **циклінів** включає G_1 -цикліни, цикліни S- і М-фаз.

Відповідно до цих форм циклінів у клітині існують **циклінозалежні кінази** G_1 -, S- і М-фаз клітинного циклу. У ході циклу вміст циклінів істотно змінюється, тоді як рівні циклінозалежних кіназ залишаються відносно стабільними. Збільшення рівня тих чи інших циклінів є сигналом, що спонукає клітину до проходження чергової фази циклу. Наприклад, збільшення рівня G_1 -циклінів є сигналом для підготовки хромосом до реплікації, а входження клітини в S-фазу здійснюється при збільшенні рівня S-фази стимулюючого фактора, що приводить до реплікації ДНК і центріоль.

По завершенні реплікації ДНК рівень зазначених циклінів знижується й зростає рівень мітотичних циклінів (у G_2 -фазу циклу). Так, мітоз виникає при активації М-фаза-стимулюючого фактора, що є комплексом мітотичних циклінів і циклінозалежної кінази М-фази.

Даний пептидний комплекс ініціює формування мітотичного веретена, руйнування ядерної оболонки, конденсацію хромосом і входження клітини в метафазу мітозу. З цього моменту активується інший пептидний комплекс – стимулюючий анафазу, завдяки якому сестринські хроматиди починають розходитися до полюсів клітини, при цьому цикліни М-фази руйнуються й у клітині ініціюється синтез G_1 -циклінів для наступного циклу. Назва "циклін" не зв'язана ані з циклічністю в будові білку, ані з залежністю його активності від певних циклічних молекул (наприклад, цАМФ). Термін відображає лише той факт, що концентрація циклінів у клітині протягом клітинного циклу змінюється циклічним чином.

Отже, усі критичні періоди проходження клітинного циклу перебувають під контролем комплексу внутрішньоклітинних протеїнів. Мутації генів, що кодують деякі з них, називаються онкогенними. Наприклад, у нормі білок p53 сприймає порушення структури ДНК і зупиняє клітину при проходженні нею G₁- чи G₂-фаз клітинного циклу. У випадку виникнення порушень у реплікації ДНК білок p53 бере участь в ініціації апоптозу. Ген, який кодує даний білок, є пухлино-супресивним. Існують і деякі інші білки, що беруть участь у визначенні ушкоджень синтезу ДНК, завдяки яким переривається клітинний цикл і стає неможливим мітотичний поділ (за рахунок блокування розходження сестриних хроматид у анафазі мітозу).

Регуляція клітинного циклу здійснюється за допомогою оборотного фосфорилування/дефосфорилування регуляторних білків. Ключовим білком, що регулює вступ клітини в мітоз (G₂/M-перехід), є специфічна серин/треонін-протеїнкіназа, яка називається *фактор дозрівання* (ФД (MPF, від англ. *mitosis promoting factor*)). В активній формі фермент каталізує фосфорилування багатьох білків, що беруть участь у мітозі, таких, наприклад, як гістон H1, що входить до складу хроматину, ламін (компонент цитоскелета, виявлений у ядерній мембрані), фактори транскрипції, білки мітотичного веретена й деякі ферменти. Фосфорилування цих білків запускає процес мітозу. Після завершення мітозу регуляторна субодиниця ФД, циклін, маркується убікітином і піддається протеолізу. Тепер настає черга протеїнів-фосфатаз, що дефосфорилують білки, які брали участь у мітозі, після чого клітина повертається в стан інтерфази.

ФД – гетеродимерний фермент, що включає регуляторну субодиницю, циклін, і каталітичну субодиницю, циклінозалежну кіназу [ЦЗК (CDK від англ. *cyclin dependent kinase*) чи p34^{cdc2}, 34 кДа]. Активною формою ферменту є лише димер ЦЗК+циклін. Крім того, активність протеїнкінази регулюється шляхом оборотного фосфорилування самого ферменту.

Клітини хребетних тварин містять різні цикліни й циклінзалежні кінази. Різноманітні сполучення двох субодиниць ферменту регулюють запуск мітозу, початок процесу транскрипції у G₁-фазі, перехід критичної точки після завершення транскрипції, початок процесу реплікації ДНК у S-періоді інтерфази (стартовий перехід) та інші ключові переходи клітинного циклу.

В овоцитах жаби входження в мітоз (G₂/M-перехід) регулюється шляхом зміни концентрації цикліну. Циклін безупинно синтезується в інтерфазі до досягнення максимальної концентрації у фазі М, коли запускається весь каскад фосфорилування білків, каталізований ФД. До закінчення мітозу циклін швидко руйнується протеїназами, які також активуються ФД. В інших клітинних системах активність ФД регулюється за рахунок різного ступеня фосфорилування самого ферменту.

У ході мітотичного циклу в клітині, крім реалізації відповідних процесів, має здійснюватися контроль за їхніми результатами, найголовніше – за станом хромосом. Виділяють чотири точки перевірки циклу: у G₁-, S-, G₂ періодах і в метафазі мітозу. Зокрема, у точці перевірки G₁-періоду контролюється стан ДНК (на наявність у ній двох ланцю-

гових розривів), правильність сегрегації хромосом під час попереднього поділу та структура системи мікротрубочок. У метафазі в точці перевірки визначається правильність збирання веретена поділу. Якщо результат контролю незадовільний, то клітина або затримується на даній стадії циклу (для усунення дефектів), або вступає в апоптоз – процес самознищення.

11.3. Патологія мітозу

Ефективність контролю клітинного циклу не завжди буває стовідсотковою. Цим пояснюється поява як пухлинних клітин (утворення котрих завжди пов'язано з трансформацією певної сукупності генів), так і вікових змін у популяції клітин, які діляться.

Процес мітотичного поділу клітин дуже чутливий до дії найрізноманітніших факторів. Найчастіше зустрічається **зупинка мітозу на стадії метафазу**. Це відбувається в результаті змін веретена поділу. Багато речовин, що зупиняють мітоз (наприклад, такі *цитостатики*, як *колхіцин* і *колцемід*), перешкоджають полімеризації тубулінів. У результаті цього нові мікротрубочки веретена не утворюються, а готові цілком розкладаються. При цьому мітотичні хромосоми збираються в центрі клітини, але не утворюють метафазну пластинку, а розташовуються без усякого порядку (К-мітоз). До подібних результатів приводить дія на клітину інгібіторів синтезу АТФ (*динітрофенол*, *олігоміцин*) і деяких отруйних речовин (*меркаптоетанол*). Якщо дія цих факторів короточасна, то можливі відновлення мікротрубочок веретена і клітинний поділ. Якщо впливи помірні, то клітини можуть не загинути, а без мітозу входити в наступний клітинний цикл. У цьому випадку хромосоми, які не розійшлися, деконденсуються, утворюється нова ядерна оболонка і нове, але вже тетраплоїдне ядро, яке переходить у G_1 -фазу. Так виникають поліплоїдні клітини за дії колхіцину.

До аномалій поділу клітин відносять і **багатополюсні мітози**. У цьому разі в метафазі утворюється не біполярне веретено, а веретено з трьома чи чотирма полюсами. Така аномалія пов'язана з порушеннями функцій центріоль: диплосома розпадається на дві активні моноцентріолі. Ці зміни можуть відбуватися спонтанно (що характерно для пухлинних клітин) або після дії різних інгібіторів мітотичного поділу. Такі аномальні три- і чотиріполюсні мітотичні фігури можуть вступати в анафазу і брати участь у розходженні хромосом до полюсів, після чого може настати цитотомія з утворенням трьох або чотирьох клітин. У цих випадках не відбувається рівномірного поділу хромосом, а утворені клітини мають випадкові та зменшені набори хромосом. Клітини з ненормальною кількістю хромосом називають **анеуплоїдними**. Вони, як правило, швидко гинуть.

Порушення мітотичного поділу можуть бути пов'язані зі **структурними змінами самих хромосом**. Так, вплив різних форм променистої енергії (ультрафіолетове світло, рентгенівські промені тощо) або різних алкілювальних сполук (іприт та ін.) може привести до порушень структури хро-

мосом і, як результат, до змін перебігу мітозу. У результаті таких впливів виникають *хромосомні аберації*. При розриві хромосоми та її частина, яка не містить центромер, не бере участі у хромосомному поділі, відстає від основної маси хромосом і випадково виявляється в одній з дочірніх клітин. Такий фрагмент хромосоми в інтерфазі покривається власною ядерною оболонкою (виникає додаткове мікроядро). Зрозуміло, що при цьому дочірні клітини будуть анеуплоїдними.

В інших випадках у результаті об'єднання двох ушкоджених хромосом виникає одна, але з двома центромерами, що розтягуються до протилежних полюсів. При цьому між двома групами хромосом у анафазі й телофазі спостерігається "місток", виникає розтягнута аберантна хромосома.

Аномалії мітотичного поділу можуть бути спричинені порушеннями цитотомії. У цьому випадку виникають дво- й багатоядерні клітини, що пов'язано з пригніченням утворення актинових мікрофіламентів, які беруть участь у формуванні клітинної перетяжки наприкінці телофазі.

11.4. Реакція клітин на зовнішні впливи

Організм і його клітини постійно піддаються впливу найрізноманітніших хімічних, фізичних або біогенних факторів. Ці фактори можуть викликати первинне порушення однієї чи декількох клітинних структур, що у свою чергу призводить до функціональних порушень. Залежно від інтенсивності ушкодження, його тривалості й характеру частка клітини може бути різною. Змінені в результаті ушкодження клітини можуть пристосуватися до фактора, що впливає, відновлюватися, реактивуватися після зняття ушкоджувального впливу чи змінитися необоротно й загинути. Виходячи з цього, функціональні та морфологічні картини клітин у цих станах дуже різноманітні. На різні фактори у разі оборотного ушкодження клітини відповідають низкою змін.

Одним із проявів загальноклітинної реакції на ушкодження є *зміна здатності клітини зв'язувати різні барвники*. Так, нормальні клітини, поглинаючи з позаклітинного середовища розчинені в ньому барвники, відкладають їх у вигляді гранул. Таке гранулоутворення відбувається в цитоплазмі, ядро при цьому залишається безбарвним. При ушкодженні клітин багатьма фізичними (нагрівання, тиск) чи хімічними факторами (зміна рН середовища, додавання спирту чи якого-небудь іншого денатуючого агента) гранулоутворення припиняється, цитоплазма та ядро дифузно забарвлюються барвником, що проникає в клітину. Якщо дія фактора оборотна і в разі усунення його клітина повертається до норми, то знову відновлюється її здатність до гранулоутворення. При різних ушкодженнях клітин значно знижується окисне фосфорилування: припиняється синтез АТФ і зростає споживання кисню. Для ушкоджених клітин характерне посилення гліколітичних процесів, зменшення кількості АТФ, активація про-

теолізу. Сукупність оборотних неспецифічних змін цитоплазми, що виникають під впливом різних агентів, була позначена терміном "паранекроз".

Найчастішою зміною структури ядра за різних впливів на клітину є *конденсація хроматину*, що може свідчити про зменшення інтенсивності синтетичних процесів. При загибелі клітини відбуваються агрегація хроматину, збирання його в грубі згустки всередині ядра (*півноз*), що часто завершується розпадом на частини (*каріорексис*) чи розчиненням ядра (*каріолізис*). Ядерця при пригніченні синтезу рРНК зменшуються в розмірах, втрачають гранули, фрагментуються.

Зміни каріолеми найчастіше спостерігаються у вигляді звивистості її контуру, що нерідко поєднується з півнозом ядра, розширенням перинуклеарного простору (набряклості). На ранніх етапах ушкоджені клітини часто набувають кулястої форми і втрачають численні клітинні вирости й мікроворсинки. Надалі, навпаки, зміни плазмалеми зводяться до появи на поверхні клітин різних виростів чи дрібних міхурів. На початкових стадіях порушення окисного фосфорилування відбувається стискання мітохондріального матриксу й деяке розширення міжмембранного простору. Надалі цей тип реакції мітохондрій може змінитися їхнім набряканням, що особливо часто має місце за всіляких патологічних змін клітин. Мітохондрії при цьому набувають сферичної форми і збільшуються в розмірах, відбувається обводнювання матриксу, він стає світлим. Набухання мітохондрій, як правило, супроводжується редукцією кількості й розміру крист. При необоротному ушкодженні мітохондрій відбувається розрив їхніх мембран, матрикс змішується з гіалоплазмою.

Система ендоплазматичної сітки найчастіше піддається вакуолізації й розпаду на дрібні пухирці. При цьому на мембранах гранулярної сітки кількість рибосом зменшується, що однозначно вказує на зниження активності білкового синтезу. Цистерни апарата Гольджі також можуть збільшуватися в об'ємі або розпадатися на дрібні вакуолі. В ушкоджених клітинах відбувається активація лізосом, збільшується кількість аутофагосом. При важких клітинних ушкодженнях мембрани лізосом розриваються і лізосомні гідролази починають руйнувати самі клітини – відбувається лізис клітин.

Ушкоджені клітини різко знижують мітотичну активність, часто затримуються на різних стадіях мітозу, головним чином, через порушення мітотичного апарата, дуже чутливого до змін внутрішньоклітинного середовища.

Якщо зміни в клітині не зайшли занадто далеко, відбувається репарація клітинних ушкоджень, повернення клітини до нормального функціонального стану. Процеси відновлення внутрішньоклітинних структур називають *внутрішньоклітинною регенерацією*.

Репарація клітин буває повною, коли відновлюються всі властивості даних клітин, чи неповною. В останньому випадку після зняття дії ушкоджувального фактора нормалізуються деякі функції клітин, однак через якийсь час вони вже без усякого впливу гинуть. Особливо часто це спостерігається при ушкодженні клітинного ядра.

Ушкодження клітин зовнішніми та внутрішніми факторами може привести до порушень регуляції їхнього метаболізму. При цьому відбувається інтенсивне відкладення чи, навпаки, резорбція ряду клітинних включень. Крім того, спостерігається порушення регуляції проникності клітинних мембран, що приводить до вакуолізації мембранних органел. У патологічній анатомії такі зміни у структурі клітин називають *дистрофіями*. Так, при жировій дистрофії у клітинах накопичуються жирові включення. Часто в цитоплазмі змінених клітин виявляються скупчення ліпопротеїдних комплексів, що мають вигляд багатошарових мембранних структур. Порушення регуляторних процесів метаболізму цукрів викликає патологічне відкладення й нагромадження глікогену (вуглеводна дистрофія), що, імовірно, пов'язано з недостатністю ферменту, який розщеплює глікоген (глюкозо-6-фосфатази). Часто в змінених клітинах тварин відбувається відкладення різних пігментів, білкових гранул (білкова дистрофія) і ін.

Особливою формою патологічного порушення регуляторних процесів можуть бути порушення спеціалізації клітин, одним із проявів яких є злоякісний пухлинний ріст. Пухлинні клітини характеризуються невимовним, необмеженим розмноженням, порушенням рівня диференціації, змінами будови клітин, відносною автономністю від регуляторних впливів з боку організму, здатністю до метастазування. Усі ці властивості пухлинні клітини зберігають від покоління до покоління, тобто властивості злоякісності є спадкоємною особливістю таких клітин. Тому ракові клітини вважають мутантами зі зміненою генетичною структурою. Саме зміною генотипу клітини можна пояснити безупинну передачу дочірнім клітинам дефектної (у відношенні регуляції) інформації.

11.5. Онкогенез

Онкогенами називають гени, що викликають розвиток пухлин. Вірусні онкогени спочатку були виявлені в онкогенних вірусів. Клітинні онкогени – протоонкогени – є майже точними копіями (гомологами) вірусних онкогенів. Кодовані такими генами білки беруть участь у регуляції процесів росту і диференціації, особливо клітинної проліферації. У свою чергу контроль за функціонуванням цих генів здійснюється генами-онкосупресорами (антионкогенами).

Протоонкогени здобувають властивості онкогенів за рахунок мутації, делеції, суперекспресії, тобто вони можуть викликати розвиток пухлини, якщо одночасно є порушеною регуляція з боку генів-супресорів.

Продукти онкогенів: біохімічні функції. Загальною ознакою всіх онкогенів є кодування білків, які беруть участь у передачі сигналу, пов'язаного з ростом і поділом клітини. Ліганди, кодовані протоонкогенами, виявляються як позаклітинні продукти. Вони гомологічні факторам росту. Кодовані протоонкогенами мембранні рецептори подібні до рецепторів

першого типу з одним трансмембранним доменом, який має тирозинкіназну активність і здатний зв'язувати гормони й ростові фактори.

У нормальних клітинах білки, що зв'язують ГТФ, присутні як у плазматичній мембрані, так і в цитоплазмі. Мембранні G-білки передають сигнал від рецепторів третього типу, які мають сім трансмембранних тяжів, на ефекторні системи плазматичної мембрани. Внутрішньоклітинні G-білки беруть участь у регуляції синтезу й транспорту білків. G-білки повільно гідролізують ГТФ до ГДФ і переходять у неактивний стан. Білки, кодовані протоонкогеном *ras* та іншими онкогенами, споріднені з білками, котрі зв'язують ГТФ.

Ядерні рецептори гормонів передають сигнал від ліпофільних сигнальних речовин шляхом регуляції транскрипції визначених генів. Деякі протоонкогени належать до цієї родини ліганд-активованих факторів транскрипції.

Ядерні онкосупресори блокують вступ диференційованих клітин у мітотичний цикл. Їхні кодувальні гени також можуть бути віднесені до антионкогенів.

ДНК-зв'язувальні білки хроматину мають різноманітні функції. Деякі онкогени виявляють подібність до факторів транскрипції.

Протеїнкінази відіграють центральну роль у механізмі внутрішньоклітинної передачі сигналу. Ці ферменти каталізують фосфорилування білків, модулюючи їхню біологічну активність, що повертається до норми лише після дії протеїнів-фосфатаз. Конверсія білків шляхом фосфорилування (протеїнкіназами) і дефосфорилування (протеїнфосфатазами) вважається основним механізмом регуляції багатьох внутрішньоклітинних процесів. До родини протеїнкіназ належать багато білків, кодованих протоонкогенами.

Велика родина протеїнкіназ підрозділяється на групи як за механізмом активації, так і за типом субстрату. Протеїнкінази А активуються цАМФ, G – цГМФ, C – діацилгліцирином (ДАГ), Ca^{2+} /кальмодулінзалежні кінази – іонами кальцію. Класифікація за типом субстрату залежить від того, яка амінокислота фосфорилується даним ферментом. Відомі тирозинкінази й серин/треонінкінази. При цьому кінази можуть мати широкий спектр специфічності за субстратом чи фосфорилувати тільки деякі білки. Багато які з протеїнкіназ є розчинними білками, інші належать до мембранних білків з трансмембранними доменами або можуть бути закорені на мембрані за допомогою жирних кислот.

Канцерогенез. Клітини організму звичайно перебувають під суворим "соціальним" контролем: вони діляться до утворення контактів із сусідніми клітинами, після чого поділ зупиняється. Таке явище відоме як *контактне гальмування*. Винятком є ембріональні клітини, епітелії кишечника (постійна заміна клітин, що відмирають), клітини кісткового мозку (кровотворна система) і пухлинні клітини. Неконтрольована проліферація вважається найважливішою ознакою пухлинних клітин.

Якщо в нормальних клітин в умовах *in vitro* поділ відбувається до встановлення контакту із сусідніми клітинами (20–60 циклів), то пухлинні клітини діляться необмежено довго й не підлягають контактному гальмуванню.

Трансформація клітин. Перетворення нормальної клітини в пухлинну називають *трансформацією*. У медицині прийнято розрізняти до-

боякісні та злоякісні види пухлин. Доброякісні ростуть відносно повільно і складаються з диференційованих клітин. Злоякісні ж, навпаки, демонструють здатність до швидкого й інвазивного росту і до метастазування (утворення вторинних пухлин). Відповідно до походження розрізняють близько 100 різних видів пухлин. В Європі та Північній Америці смертність від онкозахворювань становить понад 20 % від загальної кількості летальних випадків.

Для нормальних клітин характерні всі властивості цілком диференційованих клітин, що виконують в організмі визначені функції. Вони не поділяються і звичайно перебувають у фазі спокою (G_0 -фазі). Ці клітини поліморфні, їхня форма визначається структурованим цитоскелетом.

Навпаки, пухлинні клітини часто недиференційовані, за деякими властивостями вони нагадують ембріональні клітини й діляться необмежено; у них змінена клітинна мембрана і вони нечутливі до контактного гальмування. Цитоскелет у пухлинних клітин також змінений, часто редукований, через що вони мають більш-менш округлу форму. Пухлинні клітини можуть містити кілька ядер, не типових за формою й розмірами.

Для клінічної ідентифікації пухлин важливо мати у своєму розпорядженні пухлинні маркери. Звичайно це білки, які продукуються пухлинною клітиною (група 1) або синтезуються іншими клітинами, взаємодіючими з пухлинними (група 2). До пухлинних маркерів групи 1 належать пухлино-асоційовані антигени, секретовані гормони й ферменти.

Перетворення нормальної клітини на трансформовану – процес багатостадійний.

Ініціація. Майже кожна пухлина починається з ушкодження ДНК в окремій клітині. Цей генетичний дефект може бути викликаний канцерогенами, наприклад, канцерогенними речовинами (зокрема компонентами тютюнового диму), фізичними факторами (УФ-випромінювання, рентгенівські промені) чи онкогенними вірусами. Очевидно, протягом людського життя чимало клітин організму із загальної їхньої кількості 10^{14} отримує ушкодження ДНК. Однак для ініціації пухлини важливі лише ушкодження протоонкогенів. Ці ушкодження є найважливішим фактором, що визначає трансформацію соматичної клітини в пухлинну. До ініціації пухлини може привести й ушкодження антионкогену (гена-онкосупресора).

Промоція пухлини – це переважно розмноження змінених клітин, ушкоджених пухлин-ініціюючими факторами. Такий процес може тривати роками. Як модельні речовини, що ініціюють розвиток пухлини, використовуються форболові ефіри – речовини рослинного походження (з рослин родини молочайних), що є активаторами протеїнкіназ С.

Прогресія пухлини – це процеси розмноження пухлинних клітин, інвазії та метастазування, що ведуть до появи злоякісної пухлини.

Цитостатики. Пухлина складається з трансформованих клітин, які завдяки мутації ростуть безконтрольно. Більшість трансформованих клітин розпізнаються й усуваються імунною системою. Ослаблення захисних сил організму спричиняє швидкий розвиток пухлини. Можна намага-

тися стримати ріст пухлини методами фізіо- чи хіміотерапії. З цією метою використовують рентгенівське опромінення, яке завдяки мутагенній дії блокує розмноження клітин. Ще більшого поширення набуло стримування пухлинного росту за допомогою хіміотерапії. Речовини, які застосовуються з цією метою називаються цитостатиками. На жаль, як опромінення, так і хіміотерапія – методи недостатньо селективні, тобто при такому впливові на організм ушкоджуються й нормальні клітини, унаслідок чого часто спостерігаються побічні ефекти.

Більшість цитостатиків прямо чи побічно гальмують подвоєння ДНК у S-фазі клітинного циклу. Перша група речовин (А) взаємодіє з молекулами ДНК, блокуючи при цьому процеси транскрипції й реплікації. Друга група цитостатиків (Б) гальмує синтез попередників ДНК.

До агентів, що алкілюють відносять хімічні сполуки, які утворюють ковалентні зв'язки з нуклеїновими основами. Якщо в таких речовинах присутні два реакційноздатні угруповання, то у двонитковій ДНК утворюються внутрішньо- й міжмолекулярні містки, що призводить до вигину подвійної спіралі. Як приклад можна навести циклофосфамід і неорганічний комплекс цисплатин. Агенти, що інтеркалюють, такі як адриаміцин, вбудовуються між площинами нуклеїнових основ за рахунок нековалентних зв'язків і викликають локальні зміни просторової структури ДНК.

Антиметаболіти. Антиметаболітами називають інгібітори ферментів, які вибірково блокують метаболічні шляхи. Більшість важливих у клінічному відношенні цитостатиків утручаються в біосинтез нуклеотидів. Багато хто з них є похідними нуклеїнових основ чи нуклеотидів і служать конкурентними інгібіторами відповідних ферментів. Деякі антиметаболіти вбудовуються в ДНК і тим самим перешкоджають реплікації.

Уведені в організм цитостатики часто діють опосередковано, тобто набувають активності в результаті метаболічної трансформації. Так, аналог аденіну 6-меркаптопурин спочатку перетворюється на мононуклеотид, тіоінозинмонофосфат [tІМФ (tІMP)]. З tІМФ через низку проміжних стадій виходить тдГТФ (tdGTP) (сірковмісне похідне дГТФ), що вбудовується в ДНК, де утворює поперечні зв'язки й викликає інші аномалії. Ще одним активним похідним 6-меркаптопурину є S-метил-tІМФ, інгібітор амідифосфорибозилтрансферази.

Гідроксимочевина вибірково пригнічує рибонуклеотид-редуктазу. Ця сполука як пастка вільних радикалів нейтралізує тирозин-радикал, необхідний для функціонування редуктази.

Два інші важливі цитостатики перешкоджають синтезу тиміну на стадії дезоксимононуклеотиду. Дезоксимононуклеотид, який утворюється з 5-фторурацилу чи відповідного нуклеозиду, пригнічує тимідилат-синтазу. Пригнічення засновано на тому, що атом фтору в піримідиновому циклі не заміщується на метильну групу. Крім того, фторовмісний аналог вбудовується в ДНК.

Для тимідилат-синтази допоміжним ферментом є дигідрофолатредуктаза. Цей фермент бере участь у регенерації коферменту N^5,N^{10} -мети-

лен-ТГФ (N^5, N^{10} -methylene-THF): із споживанням НАДФН він відновлює ДГФ до ТГФ. Аналог фолієвої кислоти метотрексат – цитостатик, що часто застосовується, є надзвичайно ефективним конкурентним інгібітором дигідрофолат-редуктази. Дія цитостатика приводить до виснаження клітин щодо N^5, N^{10} -метилен-ТГФ, а отже, до зупинки синтезу ДНК.

При необоротному ушкодженні клітини гинуть. Дати визначення моменту клітинної смерті дуже важко (так само, як і при смерті цілого організму), тому що умирання – це не одномоментне явище, а процес.

11.6. Загибель клітин

Кількість клітин у тканині регулюється двома процесами – проліферацією клітин і програмованою, або фізіологічною загибеллю клітин (апоптозом). Обидва процеси в організмі перебувають під контролем стимулюючих або пригнічувальних факторів, які присутні в розчинній формі чи експресуються на поверхні сусідніх клітин.

Розрізняють дві форми загибелі клітин – некроз і апоптоз. **Некроз** викликається, головним чином, різними зовнішніми факторами, хімічними або фізичними, котрі прямо чи опосередковано впливають на проникність мембран або на клітинну енергетику. Некроз розвивається при дуже сильному пошкодженні клітини або в разі такої ж сильної зміни умов її існування. В усіх цих випадках спостерігається досить монотонна послідовність порушення клітинних функцій і структур. Загальним є те, що в клітині змінюється іонний склад, уже на ранніх стадіях пошкоджується плазмолема, підвищується її проникність для води та іонів. Це призводить до набрякання клітини в цілому, ядра й інших мембранних структур, тобто об'єм клітини при некрозі збільшується. Через пошкодження лізосомних мембран відбувається самоперетравлювання клітини ферментами лізосом. Спостерігається припинення синтезу АТФ, білків, нуклеїнових кислот, деградація ДНК. У результаті каріолізісу хроматин зникає. Закінчується некроз розривом плазмолем та вивільненням продуктів клітинного розпаду в міжклітинне середовище. Це викликає пошкодження сусідніх клітин (де також починаються процеси апоптозу або некрозу) і початок запального процесу. Весь процес некрозу може завершитись за одну годину.

Апоптоз – це генетично запрограмована загибель клітин, яка призводить до "акуратного" розбирання й видалення клітин. На відміну від некрозу, апоптоз – активний процес. Він може проходити без первинного порушення клітинного метаболізму. При цьому в результаті впливу різних стимулів відбувається активація в ядрі деяких генів, відповідальних за самознищення клітини. Це гени "запрограмованої" загибелі клітини. Програма такого самознищення може включатися в результаті впливу на клітину сигнальних молекул (часто це різні білкові фактори або гормони). Так, деякі лейкоцити гинуть самі по собі, якщо на них

діють глюкокортикоїди. До активації генів самознищення може призводити припинення регулюючого сигналу. Наприклад, після видалення сім'яників гинуть клітини передміхурової залози. Така, начебто без причини, загибель зустрічається дуже часто при нормальному ембріональному розвитку організму. Клітини тканин хвоста пуголовків гинуть під впливом тиреоїдних гормонів. Гинуть клітини ембріональних зачатків: клітини протоки первинної нирки, нейробласти периферійних гангліїв тощо. У дорослому організмі апоптозу піддаються клітини молочної залози при її інволюції, клітини жовтого тіла яєчника та ін.

Процес апоптозу значно відрізняється від некрозу. На ранніх його стадіях рівень кальцію в цитоплазмі зростає, але при цьому мембранні органели не змінюються, синтез РНК і білка не падає. Пізніше в ядрі активуються спеціальні ендонуклеази, відбувається розщеплення ДНК не до нуклеотидів а лише до нуклеосомних фрагментів, хроматин характерно конденсується, утворюючи грубі скупчення по периферії ядра. Починається фрагментація ядер, вони розпадаються на "мікроядра", кожне з яких покрите ядерною мембраною. Після цього процесу або одночасно з ним цитоплазма також починає фрагментуватися. Від клітини відокремлюються великі фрагменти, що часто містять "мікроядра" – *апоптичні тільця*. При цьому клітина начебто розсипається. Апоптичні тільця в нормі фагоцитуються й підлягають лізису.

Механізм запуску програми самознищення такий. У складі плазмолемі ідентифіковані рецептори загибелі клітин (Fas, рецептор TNF тощо), функція яких пов'язана з передачею цитотоксичних сигналів у цитозоль. Шляхи передачі сигналів апоптозу від різних рецепторів подібні. Внутрішньоклітинними ферментами, що ініціюють апоптоз (фрагментацію ДНК, порушення структури протеїнів, активацію кіназ і порушення клітинного циклу), є ферменти родини цистеїновмісних протеаз, іменованих *каспазами* (каспази 1–14). Очевидно, каспази (точніше, неактивні попередники каспаз – прокаспази) є в цитоплазмі практично всіх клітин. Серед них виділяють ряд ключових активаторів (ефекторів, або "виконавців") апоптозу. Передача сигналу для початку апоптозу від рецептора до ефектора здійснюється великою групою адаптерних білків, що містять домени клітинної загибелі (наприклад, FADD-Fas-асоційований білок клітинної загибелі). При дії ліганду на рецептор виникає реакція, у результаті якої адаптерні білки взаємодіють одним кінцем своєї молекули з рецепторним білком, а іншим – зі специфічним фрагментом молекули каспази. Останнє призводить до виникнення каскаду реакцій, підсумком якого є загибель клітини. Апоптоз – енергозалежний процес, оскільки з мембранами мітохондрії зв'язані адаптерні білки, котрі активізують каспазу-9. Порушення внутрішньоклітинних процесів і енергозабезпечення клітин несуть зміни в природний для апоптозу хід подій, змінюючи тип загибелі клі-

тини. Визначену роль у перебігу апоптозу відіграє апарат Гольджі, оскільки порушення білково-ліпідних взаємодій і внутрішньоклітинного транспорту білків є дуже значимим для розвитку клітинної загибелі.

Апоптоз запускається зовнішніми сигналами, що надходять різними сигнальними шляхами, більшість з яких дійсно запускають апоптоз, однак деякі шляхи його блокують.

Фактор некрозу пухлин [α -ФНП (TNF- α)] зв'язується із ФНП-рецептором першого типу й запускає апоптоз. Центральне місце в регуляції апоптозу належить цистеїновим протеїназам, спорідненим інтелейкін-1 β -конвертазі (ІК). Припускають, що активація цих протеїніназ через ФНП-рецептор відбувається як багатоступінчастий процес білок-білкової взаємодії. ІК-подібні протеїнази специфічним чином розщеплюють полі-(Адф-рибозил)-полімеразу (ПАРП), білки sn-рибонуклеопротеїдного комплексу, ламін (білок ядерної мембрани) та інші білки. Ці змінені за рахунок протеолізу білки запускають процес апоптозу.

Аналогічним чином реалізується сигнал від Fas-ліганду, білка клітинної мембрани сусідніх клітин. Fas-ліганд у вигляді тримера зв'язується з Fas-рецептором. Потім, за аналогією з ФНП-рецептором, сигнал передається на цистеїнові протеїнінази. Для ФНП- і Fas-специфічних рецепторів характерно, що вони активуються шляхом утворення олігомерів.

Джерелом сигналу може бути й клітинне ядро. Так, білок p53, продукт онкосупресорного гена, що теж активує цистеїнові протеїнінази, може бути активований за допомогою нерепарабельного розриву ДНК, порушення розходження хромосом у мітозі, руйнування мікротрубочок. Сам білок p53 регулює активність декількох груп генів: активує гени, які відповідають за зупинку клітинного поділу, які запускають апоптоз, а також репресує гени, котрі його стримують. Через посередництво білка p53 клітина у відповідь на порушення своєї структури або затримується на тій або іншій стадії мітотичного циклу й виправляє свої пошкодження, або взагалі припиняє поділ і вступає в процес клітинного старіння, або здійснює апоптоз. У клітинах білок p53 постійно синтезується і постійно руйнується. Тому в клітинах більшості тканин середня тривалість життя молекул білка та їхня концентрація досить низька. Втрата клітиною білка p53 веде до підвищеної швидкості росту пухлини.

Сигналам, які активують апоптоз, протистоять інші сигнали, що блокують його. Таким сигналом можуть бути білки родини Bcl2/ Bax, яка включає більше двох десятків членів. Найважливіші представники Bcl-2 і Bcl-x у нормальних клітинах містяться у складі мітохондріальних мембран і закривають канали для білків, які активують каспазний каскад. Цим вони захищають клітину від спонтанного апоптозу. Хоча ці білки і вбудовані в мітохондріальні мембрани, їхні гени локалізуються не в мітохондріальній, а в ядерній ДНК. Ген цього білка присутній у ге-

номі деяких вірусів. За допомогою продукту цього гена віруси перешкоджають передчасній загибелі клітини-хазяїна за допомогою апоптозу.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ

1. Які періоди можна виділити у клітинному циклі?
2. Які механізми регуляції клітинного циклу ви знаєте?
3. Що таке G_0 -період? Для яких клітин він характерний?
4. Охарактеризуйте пресинтетичний G_1 -період. Які процеси відбуваються в цей період у клітині?
5. Охарактеризуйте синтетичний S-період. Які процеси відбуваються в цей період в клітині?
6. Що таке постсинтетичний G_2 -період. Назвіть, які процеси проходять у цей період у клітині?
7. Як змінюється кількість ДНК протягом клітинного циклу?
8. Що таке точка рестрикції?
9. Як регулюється клітинний цикл?
10. Що відображає термін "циклін"?
11. До чого призводить збільшення вмісту циклінів під час клітинного циклу?
12. Чи змінюється під час клітинного циклу рівень циклінозалежних кіназ?
13. Яку роль відіграє білок p 53 під час мітотичного циклу?
14. Який білок регулює вступ клітини в мітоз?
15. Що являє собою фактор дозрівання?
16. Назвіть фази, з яких складається процес мітотичного поділу клітини? Як на світлооптичному рівні можна відрізнити клітини, що перебувають на різних стадіях мітозу?
17. Що таке профаза. Які процеси відбуваються в цей період у клітині?
18. Дайте визначення метафази. Які процеси проходять у цей період у клітині?
19. Що забезпечує розташування хромосом у метафазі у вигляді метафазної пластинки?
20. Дайте визначення анафази. Які процеси відбуваються в цей період у клітині?
21. Як переміщуються хромосоми під час мітозу? Який механізм забезпечує ці рухи?
22. Що таке кінетохор? Яку він має функцію?
23. Дайте визначення телофази. Які процеси відбуваються в цей період у клітині?
24. Що таке цитокінез? Як відбувається цитокінез у клітинах рослин?
25. Порівняйте процес цитокінезу у тваринних і рослинних клітинах.
26. Чим відрізняється мітоз від амітозу?
27. Чим відрізняється мітоз тваринної та рослинної клітин?

28. Як відрізняється будова цитоскелета у клітинах в інтерфазі й під час мітозу?

29. Які зміни протягом клітинного циклу відбуваються з цитоскелетом?

30. Яких змін протягом клітинного циклу зазнає ядро та хроматин?

31. Яких змін протягом клітинного циклу зазнають одномембранні органели клітин?

32. У клітину ввели речовину, що блокує роботу ферментів ДНК-полімераз. Які процеси в клітині та в які періоди клітинного циклу постраждають? Відповідь обґрунтуйте.

33. Які етапи клітинного циклу будуть порушені, якщо вводити в клітину колхіцин? Відповідь обґрунтуйте.

34. У результаті порушення нормального перебігу клітинного циклу утворилась одна поліплоїдна клітина. Які етапи клітинного циклу пройшли нормально? На якому етапі нормальний перебіг подій було порушено? Укажіть можливі причини цього.

35. У результаті порушення нормального перебігу клітинного циклу утворилась одна двоядерна клітина. Які етапи клітинного циклу пройшли нормально? На якому етапі нормальний перебіг подій було порушено? Укажіть можливі причини цього.

36. Які речовини можуть зупинити мітоз?

37. Чи можливе відновлення мікротрубочок веретена поділу після дії на клітину отруйних речовин?

38. Що являють собою багатополюсні мітози?

39. Які клітини називають анеуплоїдними?

40. Які морфологічні ознаки пікнозу, каріорексису й каріолісису?

41. Що відбувається з клітиною у разі неповної репарації?

42. Що називається трансформацією клітин?

43. Які морфологічні зміни спостерігаються в пухлинних клітинах?

44. Які речовини називаються цитостатиками і навіщо вони застосовуються?

45. Що таке апоптоз?

46. Що таке некроз?

Розділ 12

ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ І РЕАКТИВНІ ЗМІНИ КЛІТИН

Диференціація – це сукупність процесів, у результаті яких між клітинами спільного походження виникають стабільні морфологічні, фізіологічні та функціональні відмінності. Процеси диференціації проходять на всіх етапах розвитку. У передзародковому розвитку в яйцеклітині відбувається ооплазматична сегрегація, яка у ряду видів тварин визначає напрямок розвитку бластомерів. Цей етап диференціювання називається **овотиповим**. На цьому етапі існують біохімічні відмінності не між окремими клітинами, а між різними ділянками цитоплазми зиготи. Ці ділянки називають презумптивними. Потрапляючи при дробленні в той або інший бластомер, кожна з них визначає напрямок його диференціації надалі.

Бластомерний етап – між бластомерами виникають біохімічні й морфологічні відмінності, які підсилюються в міру дроблення.

Гастрюляційний етап – між клітинами посилюються біохімічні й морфологічні відмінності, можливості ж їхнього подальшого розвитку все звужуються. Підкреслимо, що стимулювати диференціацію клітин можуть зовнішні індуктори, які виробляються сусідніми клітинами, або такі, які виробляються в самій клітині раніше запущеною програмою власного розвитку.

Ранній гістогенетичний етап – поява зачатків тканин.

Пізній гістогенетичний етап – формування тканин і органів.

У ході гастрюляції, закладки і розвитку органів відбуваються різноманітні процеси морфологічної, фізіолого-біохімічної та функціональної диференціації клітин. При цьому клітини, які диференціюються, стають усе більш залежними одна від одної та від організму як цілісної системи, а отже, стають усе менш здатними до самозабезпечення. Процеси диференціювання відбуваються і в дорослому організмі, вони лежать в основі оновлення багатьох тканин. Таким чином, здатність до диференціації характерна не лише для клітин організму, який розвивається, але й зберігається в клітинах дорослої особини.

Диференціація клітин – це поява стійких розходжень у їхній будові у зв'язку зі спеціалізацією. В основі диференціації клітин лежать процеси синтезу специфічних білків, тобто диференціальна експресія генів. Молекулярні основи синтезу білків складаються з транскрипції первинної структури мРНК на основі інформації ДНК; процесингу мРНК, у результаті якого з новоствореного ланцюга видаляються незмістовні послідовності нуклеотидів (сплайсинг), переходу новоствореної мРНК у цитоплазму й трансляції – синтезу білка на апараті синтезу білків клітини.

Диференціація супроводжується змінами якісних, кількісних і тимчасових параметрів, тобто характеризується змінами клітинної структури, темпом розвитку (прискорена чи уповільнена) і ступенем (малодиференційовані – високодиференційовані клітини). Вона, як правило, пов'язана з ускладненням структури клітини й включає характерні морфологічні зміни: придбання визначеної форми та розмірів ядра й клітини; установлення закономірних відносин між ядром і цитоплазмою; розвиток органел загального значення; утворення спеціальних органел; синтез специфічних включень; утворення міжклітинної речовини (ступінь її розвитку); поява міжклітинних взаємодій і встановлення міжклітинних і спеціалізованих контактів. Змінюється форма клітин. Так, епітеліальні клітини набувають кубічної, призматичної чи плоскої форм. Клітини тканин внутрішнього середовища різноманітніші за формою. Сполучнотканинні клітини виробляють міжклітинну речовину. М'язові клітини містять міофібрили. Між нейронами формуються синаптичні контакти.

Для різних клітин характерні визначені взаємини між процесами диференціації й поділу. Однак у цілому в міру підвищення ступеня диференціації здатність клітин до поділу закономірно зменшується.

У гістогенезі клітини визначеного цитотипу інтегруються й частково втрачають свою відносну автономність, властиву ранній (проліферативній) стадії. Останнє відбувається внаслідок формування надклітинних регуляторних механізмів, що здійснюють вплив на цитодиференціацію. У період формування міжклітинної інтеграції провідну роль відіграє плазмолема та її рецепторний комплекс. При цьому клітини одного цитотипу характеризуються мозаїкою за феноменом циторецепції, що створює умови для адаптивної селекції клітин. Останнє є одним з механізмів формування оптимального співвідношення базисних процесів гістогенезу – проліферації, диференціації та загибелі.

Реактивні процеси у клітинах за дії на організм екстремальних факторів середовища супроводжуються зміною клітинних органел, набряканням мітохондрій, розпадом мітохондріальних крист, дезорганізацією ЕПС, пікнозом ядра. При наростанні ступеня ушкодження ці дистрофічні зміни стають необоротними, і клітина розпадається, піддаючись некрозу.

Розглядаючи клітину як елементарну одиницю живої матерії із загальнобіологічних позицій, важливо визначити її положення й роль у складі ієрархічно більш високоорганізованої біологічної системи – організму. Тут вона виступає як провідна структурно-функціональна одиниця самостійного рівня структурної організації живого – тканини.

У тканині кожен тип клітин запрограмований на виконання ряду спеціальних функцій, і якщо клітини характеризуються в складі тканини морфологічною індивідуальністю, це означає, що така форма організації є найдоцільнішою для виконання тканинами специфічних функцій.

Щоб виконувати запрограмовані функції відповідно до потреб і адаптивних потенцій тканини, клітина повинна активно сприймати тканинне

оточення, реагувати на нього і змінювати свою функціональну активність залежно від загальнотканинного гомеостазу. Для цього у клітині значна її частина представлена мембранними структурами, найважливішою з яких у цьому відношенні є плазмолема. Будучи прикордонним мембранним комплексом клітини, плазмолема за допомогою свого рецепторного апарату зв'язує внутрішньоклітинне середовище з тканинним, роблячи клітину лише відносно автономною структурно-функціональною одиницею тканини; забезпечує міжклітинні відносини і взаємодію регуляторних механізмів тканини з внутрішньоклітинними структурами і є найважливішою частиною системоутворювального механізму гістогенезу.

Сприймаючи зміни тканинного середовища (мікрооточення), плазмолема передає цю інформацію з трансдукторної мережі всередину клітини на ключові функціональні комплекси (ензимні білки, депо кальцію, ядро та ін.), що забезпечують перебудову фізіологічної активності клітини в повній відповідності до реактивності тканини в цілому. Плазмолема, будучи своєрідною винесеною на периферію частиною загальноклітинної мембранної системи, є прямим продовженням цього складного внутрішньоклітинного мембранного конвеєра, представленого ендоплазматичною сіткою, апаратом Гольджі, ядерною мембраною, що реалізує всі загальнометаболічні й спеціальні функції клітини.

Завдяки тісному посередницькому контакту плазмолемі з тканинним середовищем, з одного боку, і прямому зв'язку з ключовими внутрішньоклітинними функціональними комплексами, з іншого, клітина є цілісною, стійкою та надзвичайно динамічною біологічною системою на всіх етапах свого життєвого циклу й діяльності в складі тканин. Останні, у силу ієрархічної організації живого, розвиваються й функціонують на основі своїх власних законів.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ

1. Що таке диференціація клітин?
2. Які морфологічні зміни відбуваються в клітині під час диференціювання?
3. Чи існує залежність між диференціацією і поділом клітини?
4. Які етапи диференціації клітин вам відомі?
5. Яка роль плазмолемі в утворенні міжклітинної інтеграції?
6. Яким чином клітина сприймає тканинне оточення?
7. Чому клітина порівняно автономна структурно-функціональна одиниця тканини?
8. Чому клітина є цілісною стійкою і разом з тим надзвичайно динамічною біологічною системою?

Розділ 13

ЗАГАЛЬНІ ПРИНЦИПИ МІЖКЛІТИННИХ ВЗАЄМОДІЙ

Термін "міжклітинні взаємодії" відносять до тих ситуацій, коли окрема клітина, або група клітин тим чи іншим шляхом отримує вплив з боку інших клітин. За характером такі "впливи" можуть бути найрізноманітнішими, як і відповідь клітини на них. Так, бактеріофаг певного штаму взаємодіє лише з певними видами бактеріальних клітин. Клітини пилкової трубки рослин чітко розпізнають "свій" пилок, так же як і тваринні клітини при трансплантації тканин чітко відрізняють "своє" та "чуже". Подібний феномен розпізнавання лежить в основі процесів ембріонального диференціювання та органогенезу. Клітини ранніх зародків амфібій на всій поверхні утворюють псевдоподії, намагаючись приєднатися до інших клітин. Фібробласти – витягнуті веретеноподібні клітини, що зустрічаються у сполучній тканині і мезенхімі, - виділяють тонкий шар цитоплазми, відомий під назвою ундулюючої мембрани. Саме за рахунок її формування фібробласти здатні злипатися один з одним, втрачаючи свою рухливість (так зване "*контактне гальмування*"). У протилежність, клітини нервового гребня, з яких утворюються нервові ганглії та меланофори, взаємовідштовхуються за рахунок виділених ними самими хімічних речовин, що спричиняють негативний хемотаксис.

З іншого боку, тканина, орган, система органів будь якого організму, як і сам організм в цілому – не є лише механічною сумою гістологічних елементів. Система гістологічних елементів конструюється, оновлюється та функціонує лише за умови їх взаємного впізнання, утворення контактів між ними та інформаційних взаємодій, тобто численних процесів, які об'єднуються терміном **міжклітинні взаємодії**.

Наведені приклади поєднує спільна для них схема: певний позаклітинний чинник, певний позаклітинний сигнал → певна клітинна відповідь. Клітина, сприймаючи різні сигнали, трансформує їх певним чином, відповідаючи тим самим на зміни оточуючого середовища. Плазматична мембрана при цьому є місцем прикладання подразників зовнішнього (стосовно клітини) середовища. Останні можуть бути різні за природою: *фізичні* (наприклад, кванти світла у фоторецепторах), *хімічні* (наприклад, смакові та нюхальні молекули, pH), *механічні* (наприклад, тиск або розтягнення у механорецепторах), або *сигнали інформативного характеру* (наприклад, гормони та нейромедіатори) *із внутрішнього середовища організму*. За участю плазмолемі відбувається формування клітинної відповіді на отриманий сигнал. Як характер самої відповіді, так і процес її формування залежить від багатьох чинників (наприклад, природи зовнішнього подразника, хіміч-

ної природи сигнальної молекули (у випадку сигналу інформативного характеру), типу сприймаючої клітини, її віку, фізіологічного стану тощо).

13.1. Загальна структурно-функціональна характеристика позаклітинного матриксу

Будь-яка клітина багатоклітинного організму перебуває у специфічному "оточенні", структурно-морфологічні та хімічні особливості якого визначаються багатьма факторами. Але беручи до уваги той факт, що клітини всіх організмів подібні за своєю будовою, резонно припустити, що їхнє мікрооточення повинно мати спільні риси.

Практика біологічних досліджень підтвердила подібне припущення. Так, було з'ясовано, що **позаклітинний матрикс** (тканинний матрикс, міжклітинна речовина) складається з основної речовини й волокон, що містяться в ній (*колагенових, еластичних, ретикулінових*). Структури тканинного матриксу побудовані з молекул, які синтезуються самими клітинами й секретуються в позаклітинне середовище. У свою чергу компоненти позаклітинного матриксу впливають на клітини (наприклад, контролюють їхню проліферацію та диференціювання).

Основна речовина складається з аморфного, відносно прозорого матеріалу з властивостями *гелю*. Її компоненти, з одного боку, пов'язуються з тканинною речовиною, формуючи середовище для проходження молекул і обміну речовин з кров'ю. А з іншого боку, вони міцно зв'язані з волокнами позаклітинного матриксу.

У складі основної речовини визначають *глікозаміноглікани, протеоглікани, глікопротеїни*.

Волокнистий компонент є складним угрупованням мережі переплетених макромолекул *колагену, полісахаридів і глікопротеїнів*.

Ураховуючи той факт, що позаклітинний матрикс є певним "середовищем існування" клітини, недооцінити його роль як у житті окремої клітини, так і в процесах створення та підтримання клітинних угруповань (клітинних ансамблів) неможливо. До базових функцій позаклітинного матриксу можна віднести його роль як "пакувального матеріалу", який амортизує й підтримує клітини, бере участь у процесах передачі сигналу, підтримання форми клітин, розвитку клітин, їхньої міграції та росту.

Молекули позаклітинного матриксу синтезуються локально. У цьому беруть участь різні клітини, у тому числі **фібробласти**, які секретують *глікозаміноглікани, колаген, еластин, фібронектин, ламінін* тощо (рис. 13.1).

Глікозаміноглікани представлені полісахаридними ланцюгами, які складаються з нерозгалужених ланцюгів дисахаридних залишків, що пов'

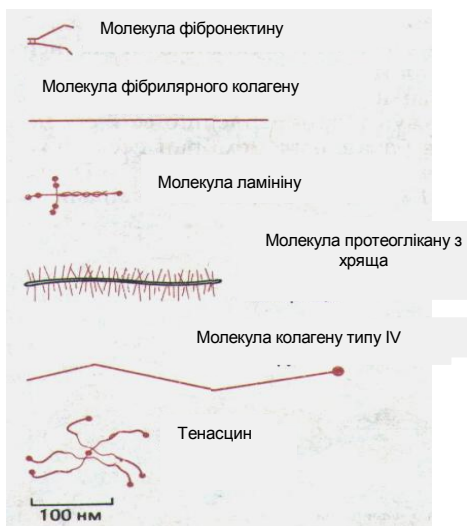


Рис. 13.1 [9]. Порівняння форми і розмірів деяких макромолекул позаклітинного матриксу

туються та ковалентно зв'язуються з білками з утворенням **протеогліканів** (рис. 13.2). Один з вуглеводів при цьому обов'язково є **аміносахаром** – **N-ацетилглюкозаміном** або **N-ацетілгалактозаміном**, які найчастіше є сульфатованими. Другий – представлений або **глюкуроною**, або **ідуруною кислотою**. З'єднуючись з водою, протеоглікани утворюють рухливу гелеподібну речовину, що й забезпечує реалізацію головних функцій позаклітинної речовини. Колагенові волокна, занурені в гелевий матрикс, при цьому забезпечують йому міцність, фібронектин – прикріплення до клітин елементів позаклітинного матриксу, ламінін – прикріплення до базальної мембрани.

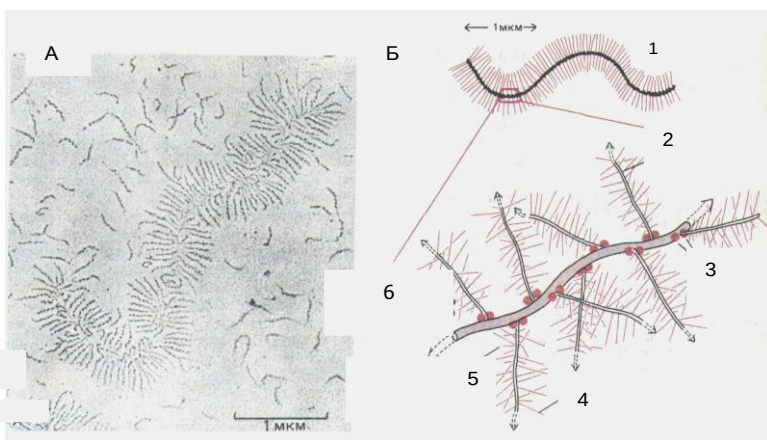


Рис. 13.2 [9]. Електронна мікрофотографія агрегату протеогліканів з ембріонального хряща корови (А) та схема його будови (Б).
1 – протеоглікановий агрегат, 2 – серцевинний білок, 3 – зв'язувальні білки, 4 – хондроїтин-сульфат, 5 – кератан-сульфат, 6 – серцевина з гіалуроновою кислотою

Глікозаміноглікани є кислими, негативно зарядженими сполуками: їхні дисахаридні одиниці містять багато *гідроксильних, карбоксильних і сульфатних* груп (наявність сульфатної або карбоксильної групи надає ланцюгу від'ємний заряд). Будучи гідрофільними, глікозаміноглікани адсорбують воду, що приводить до значного набухання матриксу створює умови для протистояти тиску (тому глікозаміноглікани входять до складу хрящів більшості суглобів).

До численної групи глікозаміногліканів належать ***гіалуронова кислота, хондроїтинсульфат, дерматансульфат, гепарансульфат, гепаринсульфат, кератинсульфат***.

Глікопротеїни складаються з поліпептидних ланцюгів, з'єднаних розгалуженими полісахаридами. Розрізняють глікопротеїни, які формують фібрилярні структури (***фібронектин, фібрин, еластин***), і неволокнисті глікопротеїни (***ламінін, ентактин, тенасцин***).

Найпоширенішими білками позаклітинного матриксу ссавців є **колагени**, родина фібрилярних білків (їх сьогодні нараховують 19 типів), що секретуються клітинами сполучної тканини (фібробластами, хондробластами, остеобластами тощо). Колаген є головним компонентом і самої сполучної тканини.

Молекули колагенів мають характерну будову – довгу жорстку потрійну спіраль: три поліпептидні ланцюги колагену – α -ланцюги – скручені один з одним у правозакручену суперспіраль, що утворює стрижневу структуру, довжина спіралі – 300 нм, діаметр – 1,5 нм.

Колаген синтезується у вигляді попередників (про- α -ланцюгів, які підлягають значним післятрансляційним змінам) із сигнальним пептидом, що направляє їх до гранулярної ендоплазматичної сітки. Крім того, на N- та C-кінцях проколагенів є **пропептиди** (20 і 30 кДа відповідно), які відщеплюються вже після того, як потрійні спіралі колагену секретуються у позаклітинний простір. Після перенесення колагену в порожнину гранулярної ендоплазматичної сітки специфічні **гідроксилази** у присутності кофактора – аскорбінової кислоти (вітаміну С) гідроксильють залишки проліну й лізину з утворенням **гідроксипроліну** та **гідроксिलізину**. Після цього між про- α -ланцюгами утворюються водневі зв'язки й формується потрійна спіраль **проколагену**.

Припускають, що гідроксильні групи гідроксипроліну й лізину утворюють внутрішній ланцюг водневих зв'язків, який стабілізує потрійну спіраль. Молекули проколагену накопичуються в секреторних гранулах і вивільняються в позаклітинний простір, після чого специфічні аміно- та карбоксипептидази відщеплюють N- і C-кінцеві пропептиди, і проколаген перетворюється у зрілий колаген, триспіральні молекули якого збираються у волокна.

13.2. Упізнання та адгезія клітин

При формуванні тканини та в ході її функціонування важливу роль відіграють такі процеси міжклітинної комунікації як упізнання та адгезія. **Впізнання** є специфічною взаємодією клітин з іншою клітиною або елементами позаклітинного матриксу. У результаті впізнання реалізуються такі процеси, як регуляція міграції та адгезії клітин шляхом утворення адгезивних і спеціалізованих міжклітинних контактів, формування клітинних ансамблів (морфопоез) і регуляція взаємодії клітин у межах таких ансамблів, а також з клітинами інших структур.

Адгезію визначають як здатність клітин вибірково прикріплюватися одна до одної або до компонентів позаклітинного матриксу. Реалізують клітинну адгезію спеціальні глікопротеїни плазматичних мембран – **молекули адгезії**. Саме вони забезпечують прикріплення клітин до компонентів позаклітинного матриксу з формуванням точкових (**фокальних**) **адгезивних контактів** і клітин між собою з утворенням **міжклітинних контактів**. Кожна тканина формується в результаті такої специфічної адгезії клітинних ансамблів, їхніх зв'язків з внутрішнім цитоскелетом і взаємодій з позаклітинним матриксом.

Зникнення молекул адгезії з плазматичних мембран і розбирання адгезивних контактів дозволяє клітинам починати міграцію. Так, в ембріогенезі клітини нервового гребня зв'язані між собою за допомогою трансмембранних глікопротеїнів – молекул адгезії нервових клітин (*N-CAM*) і *N-кадгерину*. Момент зникнення цих молекул адгезії збігається з початком активного виселення клітин з нервового гребня. Крім того, упізнання мігруючими клітинами молекул адгезії на поверхні інших клітин або в позаклітинному матриксі забезпечує не випадкову, а направлену міграцію клітин. Так, у наведеному прикладі міграція частин клітин нервового гребня закінчується в зачатку гангліїв, де клітини зв'язуються за допомогою молекул адгезії (*N-CAM*) і диференціюються в нейрони. Таким чином, кінець міграції клітин відзначається початком адгезії.

Крім того, клітинна адгезія є важливим фактором формування клітинних скупчень практично всіх типів тканин. Молекули адгезії при цьому є специфічними для кожного типу тканин. Так, *E-кадгерини* зв'язують клітини ембріональних тканин, *P-кадгерини* – клітини плаценти й епідерміса, *N-CAM* – клітини нервової системи тощо.

І нарешті, адгезія дозволяє клітинним партнерам обмінюватися інформацією через сигнальні молекули плазматичних мембран і спеціалізовані комунікаційні контакти. Утримання у стані контакту за допомогою трансмембранних молекул адгезії взаємодіючих клітин дозволяє іншим мембранним молекулам зв'язуватися між собою для передачі міжклітинних сигналів. Так, за взаємодії адгезивно зв'язаних відростків нейрону зі шванівськими клітинами спеціальний мітоген, вбудований у мембрану нейрону, отримує можливість зв'язатися зі своїм рецептором у мембрані шванівських клітин і стимулювати їхню проліферацію.

Як уже зазначалося, впізнання та адгезія клітин реалізуються за участю спеціалізованих молекул адгезії. Нині відомо принаймні чотири класи таких білків.

Кадгерини. За їхньою участю формуються **гомофільні** адгезивні контакти (контакти типу "клітина – клітина") за наявності іонів кальцію. До цього класу відносять понад 20 інтегральних високомолекулярних білків. Так, *Е-кадгерини* експресуються на поверхні епітеліальних клітин у складі проміжних міжклітинних контактів і клітин концептусу до імплантації (увоморулін), а потім на пізніших стадіях розвитку (наприклад, у клітинах нейроектодерми). Вони зменшують рухливість клітин пухлин епітеліальних тканин. *N-кадгерин* присутній у нейронах, скелетному та серцевому м'язах, клітинах кришталика (бере участь у процесі подовження відростка нейрона). *M-кадгерин* з'являється в мітогенезі скелетного м'яза на етапі формування трубочок. *P-кадгерин* виявлений у кератиноцитах і клітинах плаценти.

Другий клас молекул адгезії складають **імуноглобуліни**, які здійснюють як гомофільні, так і **гетерофільні** адгезивні контакти (тобто контакти типу "клітина-клітина" і "клітина-субстрат").

Інтегрини (третій клас) об'єднує понад 20 відомих складних білків, які забезпечують зв'язок клітин з позаклітинним матриксом. Це трансмембранно локалізовані **сіалоглікопротеїни**, які беруть участь в утворенні трьох типів адгезивних контактів: "клітина-клітина", "клітина-матрикс" і "клітина-розчинний фактор".

Інтегрини – гетеродимерні білки: вони складаються з двох нековалентно зв'язаних субодиниць – α - і β -. Кожна субодиниця має цитоплазматичний, трансмембранний і позаклітинний домени. Цитоплазматичний домен взаємодіє з цитоскелетом клітини, позаклітинний – зв'язується з компонентами позаклітинного матриксу. Така взаємодія забезпечує двобічну передачу сигналу, наприклад, актинові філаменти цитоскелета клітин здатні змінювати орієнтацію молекул фібронектину, що секретуються, у позаклітинному матриксі.

Інтегрини виявляють активність за наявності іонів кальцію та магнію і беруть участь у передачі сигналів, які регулюють експресію генів і проліферацію.

Селектини – велика група *кальцієзалежних білків* позаклітинного матриксу з наявністю *лектиноподібного домену*, які здатні забезпечувати гетерофільну адгезію.

13.3. Міжклітинні контакти

У процесі еволюційного переходу від одно- до багатоклітинного організму сформувався механізм забезпечення з'єднання клітин і міжклітинного обміну інформацією. Під час нормального ембріогенезу морфогенетичні зміни обов'язково опосередковуються адгезивними взаємодіями, до яких відносять і контакти між сусідніми клітинами, і зв'язок клітин з позаклітин-

ним матриксом. Для таких процесів, як проліферація, диференціювання та рухливість клітин необхідна узгоджена активація поверхневих рецепторів і внутрішньоклітинного цитоскелету. Локальні зміни клітинної адгезії можуть призвести до змін у цитоскелеті. Крім того, у процесі клітинного диференціювання може змінитися експресія генів, які кодують молекули адгезії або генів, що кодують білки цитоскелету. Сьогодні вже не викликає сумніву, що з'єднання ліганду з рецептором і керований цитоскелетом морфогенез є взаємозалежними процесами, які визначають поведінку клітин.

Міжклітинні контакти – це спеціалізовані клітинні структури, які з'єднують клітини при формуванні тканин, створюють бар'єри проникності й залучаються до процесів міжклітинної комунікації.

Міжклітинні контакти поділяють на три структурно-функціональні групи: **щільні** (замикаючі), **прикріплюванні (адгезивні контакти)** (місце прикріплення актинових філаментів цитоскелетів (між клітинами – **адгезивні пояси**, а між клітиною та позаклітинним матриксом – **фокальні контакти**, або адгезивні пластинки), **десмосоми** й **напівдесмосоми** (місце прикріплення проміжних філаментів цитоскелетів між клітинами (десмосоми) і між клітинами та позаклітинним матриксом (напівдесмосоми)), і **комунікаційні (щільні контакти, синапси, плазмодесми** (єдиний тип з'єднання між рослинними клітинами)).

Щільні контакти. Цей тип міжклітинних з'єднань широко представлений в епітеліальній тканині. Він вносить суттєвий вклад у функціональну асиметрію епітеліоцитів і впливає на характер вибіркової проникності, зумовлюючи структурну асиметрію плазматичної мембрани.

Молекулярний склад щільних контактів ще недостатньо вивчено. З погляду морфології вони є безперервними ланцюжками трансмембранних білків – точковими (фокальними) з'єднаннями між зовнішніми шарами сусідніх плазматичних мембран (рис. 13.3).

Такі з'єднання непроникні для великих молекул, а проникність для малих молекул та іонів зменшується в логарифмічній залежності від кількості таких контактів, ніби кожний контакт функціонує як незалежний бар'єр. Так, в епітелії тонкого кишечника щільні з'єднання в 10000 разів більш проникні для іонів, ніж у епітелії сечового міхура.

Крім того, сформовані щільні контакти лежать в основі структурно-функціональної поляризації багатьох епітеліїв. Мембрана, обернена до зовнішнього середовища – **апикальна мембрана** – активно транспортує певні молекули до клітини. Друга поверхня клітин (**базолатеральна**) складається з двох компонентів: **латеральної мембрани** – поверхні, що стикається з сусідніми клітинами, і **базальної мембрани** – поверхні контактування з позаклітинною рідиною та позаклітинним матриксом. Це означає, що певні клітинні білки (наприклад, переносники вуглеводів і амінокислот, іонні насоси тощо) розташовані або лише на апикальній, або на базолатеральній поверхні клітин.

Крім того, аналіз взаємодії епітеліальних клітин з різними мембранними білками вірусів, виявив їх вибіркове зв'язування або з апикальною,

або з базолатеральною плазматичними мембранами. Відбруньковування вірусних часток також здійснюється від різних поверхонь інфікованих клітин. Це є можливим лише за умови підтримання асиметрії плазматичних мембран, що й забезпечується щільними контактами, які перешкоджають дифузії мембранних білків між апікальною та базолатеральною поверхнями мембрани й щільно змикають сусідні клітини, попереджаючи проходження розчинних молекул між ними.

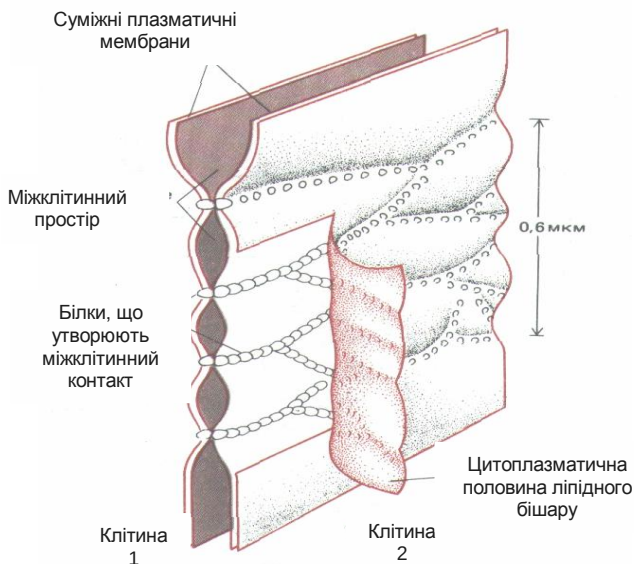


Рис. 13.3 [9]. Модель будови щільного міжклітинного контакту

Прикріплювальні контакти. Цей тип контактів з'єднує сусідні клітини та клітини з позаклітинним матриксом за участю з'єднань плазмолеми й білків цитоскелету, що перешкоджає механічному розтягненню клітини.

Прикріплювальні контакти складаються з білків двох функціональних типів: **внутрішньоклітинних прикріплювальних**, до яких приєднуються філаменти цитоскелета, і **трансмембранних лінкерних глікопротеїнів**, які своїми внутрішньоклітинними доменами зв'язані з прикріплювальними білками, а позаклітинними – або з аналогічними білками сусідніх клітини, або з білками базальної мембрани позаклітинного матриксу (рис. 13.4).

Прикріплювальні контакти особливо поширені в клітинах, які відчувають механічні навантаження, наприклад, у клітинах епідермісу шкіри та серцевого м'яза. За особливостями структурно-функціональної організації виділяють три типи прикріплювальних контактів: **адгезивні контакти, десмосоми й напівдесмосоми**.

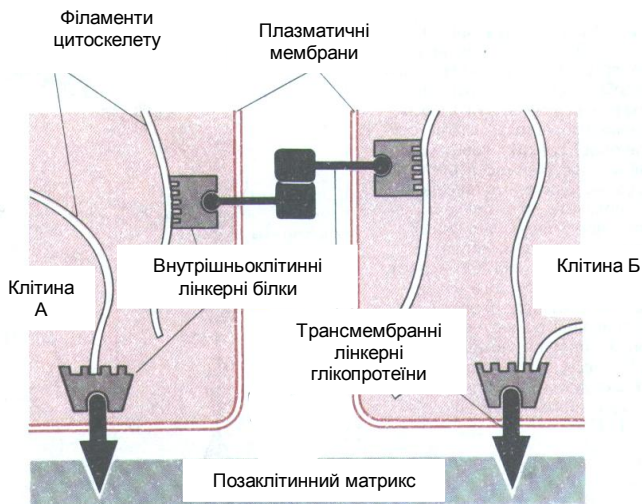


Рис. 13.4 [9]. Схема функціональної ролі двох груп білків (внутрішньоклітинних прикріплювальних і трансмембранних лінкерних глікопротеїнів) у формуванні прикріплювальних контактів

Серед **адгезивних** контактів на сьогоднішній день описано два типи: *міжклітинні* та *контакти між клітинами та матриксом*. У кожному з них виділяють три структурні ділянки. Перша містить актинові філаменти цитоскелета, друга є пластичною структурою, яка зв'язує філаменти з мембранами, третя складається з мембранних компонентів, що безпосередньо беруть участь у адгезивних взаємодіях.

Усі адгезивні контакти мають багато спільних компонентів, однак у кожного з них є спеціалізовані білки. Так, кадгерини виявляються лише в міжклітинних контактах, а інтегрини — і в міжклітинних, і в клітинно-матриксних.

Прикріплення клітин до молекул адгезії позаклітинного матриксу реалізують **точкові (фокальні) адгезивні** контакти. В їхньому утворенні беруть участь трансмембранні рецептори — інтегрини (рецептори до фібронектину, наприклад), які об'єднують позаклітинні та внутрішньоклітинні структури.

Характер розподілу макромолекул адгезії, таких як, наприклад, фібронектин і вітронектин, у позаклітинному матриксі визначає місце остаточної локалізації клітин у тканині, що формується.

Крім згаданих інтегринів, до формування адгезивних контактів залучені **α -актинін** (бере участь у зв'язуванні актину з клітинною мембраною), **вінкулін** (зв'язує цитоплазматичну поверхню мембрани в адгезивних точкових і міжклітинних контактах з корковим F-актином), **талін** (зв'язує вінкулін та інтегрин).

Слід підкреслити, що клітини здатні до переміщення лише після дезінтеграції адгезивних контактів. Таку картину спостерігають при метаста-

зуванні, коли окремі трансформовані клітини відділяються від злоякісної пухлини, мігрують і утворюють нові вогнища (метастази). Причиною таких ускладнень є дефекти генів, які кодують глікопротеїни клітинної адгезії. Так, метастази й розростання карцином шлунка, ендометрія та яєчника виникають унаслідок порушення адгезії пухлинних клітин, що містять мутантний ген Е-кадгерину та експресії його дефектного продукту.

Міжклітинні адгезивні контакти. У багатьох тканинах адгезивні контакти з'єднують актинові філаменти цитоплазми кори сусідніх клітин. У епітеліальних тканинах вони утворюють безперервний пояс – **адгезивний пояс** – навкруги кожної клітини нижче щільного контакту. Мембрани сусідніх клітин при цьому розділені проміжком шириною 10–20 нм, заповненим аморфним або фібрилярним матеріалом.

Пучки скоротливих актинових філаментів ідуть паралельно плазматичній мембрані епітеліального покриву і прикріплюються до смуги адгезії за допомогою внутрішньоклітинних прикріплювальних білків, таких як **α , β , та γ катеніни, вінкулін, α -актинін.**

Слід підкреслити роль трансмембранних Ca^{2+} -залежних рецепторів адгезії – трансмембранних лінкерних глікопротеїнів – кадгеринів у формуванні адгезивних поясів. Такий трансмембранний інтегрин позаклітинним доменом зв'язується з білками базальної мембрани, а внутрішньоклітинним – з елементами цитоскелета.

Отже, адгезивні пояси не лише з'єднують мембрани сусідніх клітин, але й стабілізують їхні цитоскелети, об'єднують клітин з їхнім вмістом у єдину жорстку систему.

Зустрічаються адгезивні пояси в миготливому епітелії кишки (оперезувальна десмосома), у секреторному епітелії (ацинозні клітини екзокринної частини підшлункової залози), у міокарді (вставні диски), в епіндімних клітинах ЦНС.

Десмосомні з'єднання. Десмосоми (рис. 13.5) є найпоширенішим типом міжклітинних контактів і найскладніше організованою спеціалізованою структурою клітинної адгезії, яка з'єднує клітинну мембрану з проміжними філаментами цитоскелета. Десмосоми та проміжні філаменти формують неперервну мережу, яка пронизує всю тканину й забезпечує значну стійкість тканини до розтягнення.

У більшості епітеліальних клітин до десмосом прикріплюються **цитокератинові філаменти**, тоді як у кардіоміоцитах – **десмінові**. Десмосоми об'єднують дві форми з'єднань. Одна з них – **цитоплазматична пластинка** – здійснює зв'язок проміжних філаментів клітини з плазмолемою, друга – зв'язок плазмолем з позаклітинним міжмембранним матеріалом (**десмоглією**) у межах десмосоми.

Білки проміжних філаментів прикріплюються до внутрішньої цитоплазматичної пластинки, утвореної комплексом білків – **десмоплакнинів і плакоглобінів**, які зв'язані з цитоплазматичними хвостами трансмембранних білків родини кадгеринів – **десмоглейнами й десмоколінами**.

Ділянки клітинних мембран, що входять до складу десмосоми, розділені шаром десмоглії товщиною 20–30 нм. З внутрішнього боку до плаз-

молеми прилягає цитоплазматична пластинка товщиною 10–40 нм із вплетеними в неї проміжними філаментами.

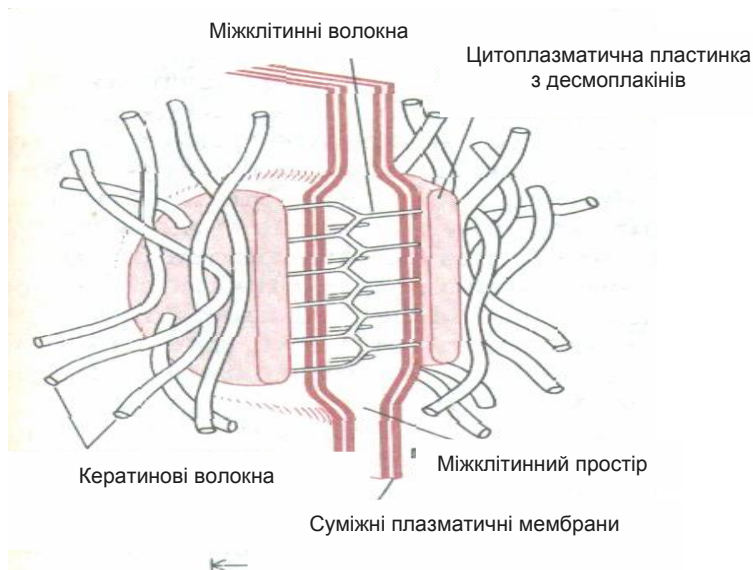


Рис. 13.5 [9]. Схема будови десмосоми

У десмосомах усіх клітинних типів, як уже згадувалось, присутні білки *плакоглобін*, *десмоплакіни*, *десмоглеїни*, *десмоколіни*, які формують дві лінії зв'язку в десмосомі. По-перше, *плакоглобін* (цитоплазматична пластинка) – *десмоглеїн* (Ca^{2+} -зв'язувальний трансмембранний білок у плазмолемі однієї клітини) – *десмоглеїн* (Ca^{2+} -зв'язувальний трансмембранний білок у плазмолемі іншої клітини) – *плакоглобін* (цитоплазматична пластинка). По-друге, *десмоплакіни* (цитоплазматична пластинка) – *десмоколін* (Ca^{2+} -зв'язувальний трансмембранний білок у плазмолемі однієї клітини) – *десмоколін* (Ca^{2+} -зв'язувальний трансмембранний білок у плазмолемі іншої клітини) – *десмоплакіни* (цитоплазматична пластинка).

Таким чином, лінкери внутрішньоклітинними доменами зв'язуються з пластинкою, а позаклітинними – між собою, утримуючи разом суміжні плазматичні мембрани та "об'єднуючи" проміжні філаменти кожної клітини в безперервну мережу всього епітеліального шару. Такий зв'язок є дуже важливим. Він підтримує структурну цілісність тканини і в комплексі з проміжними філаментами надає тканині пружність і підтримує в ній зусилля натягнення.

За деяких форм захворювання шкіри (пемфігус, наприклад) утворюються антитіла до десмосомних лінкерних глікопротеїнів. Це призводить до руйнування десмосом між клітинами епідерміса, утворення численних пухирів у результаті проникнення тканинних речовин у розпушений епітелій. Важливо,

що антитіла до таких глікопротеїнів руйнують десмосоми тільки у шкірі, а це означає, що десмосоми в інших тканинах мають іншу біохімічну природу.

Напівдесмосоми. Напівдесмосоми морфологічно подібні до десмосом, але за функціональними й біохімічними особливостями це різні структури. По-перше, вони з'єднують не плазматичні мембрани сусідніх клітин, а базальну поверхню клітин з базальною мембраною позаклітинного матриксу. По-друге, проміжні філаменти прикріплюються до десмосомних пластинок бічною поверхнею, а в напівдесмосомах – закінчуються в них. По-третє – трансмембранні білки, що прикріплюють клітину до матриксу, належать до родини інтегринових рецепторів, а не до кадгеринів, як у десмосомах. По-четверте, цитоплазматична пластинка напівдесмосоми містить **пемфігоїдний антиген**, відсутній у десмосомі.

Пемфігоїдний антиген – Ca^{2+} -зв'язувальний трансмембранний білок з родини кадгеринів, близький за амінокислотною послідовністю до десмоглеїну I. При захворюванні на пухирчатку, неакантолітичну до пемфігоїдного антигена вироблюються антитіла, взаємодіючи з цим антигеном. Це призводить до відшарування епітелію шкіри від базальної мембрани та утворення пухирців.

Напівдесмосоми зустрічаються у кератиноцитах базального шару епідермісу, а також міоепітеліальних клітинах.

Комунікаційні контакти – це міжклітинні контакти, залучені до процесів передачі сигналів від клітини до клітини. До контактів цієї групи відносять **щілинні контакти й синапси**.

Щілинні контакти. Найпоширенішими є міжклітинні з'єднання комунікаційного типу. Через такі з'єднання з клітини в клітину можуть переходити іони й невеликі молекули (до 1,5 кДа), у тому числі й внутрішньоклітинні месенджери, що забезпечує електричне й метаболічне спряження контактуючих клітин.

Щілинний контакт складається з двох **конексонів** двох сусідніх плазматичних мембран, між якими є щілина шириною 2–4 нм (звідки й назва "щілинний"). Кожний конексон складається з шести трансмембранних білків (280 амінокислотних залишків, чотири рази перетинають мембрану) з водною порою в центрі, діаметром 1,5 нм. Два конексони сусідніх клітин з'єднуються у міжмембранному просторі з утворенням каналу між клітинами (рис. 13.6).

Білки, що входять до складу конексонів, називаються **конексинами** (мол. маса 26000–54000). Серед гетерогенної групи конексинів виділяють **конексин-43** (експресується у кардіоміоцитах), **конексин-32** (входить до складу щілинних контактів між гепатоцитами, знайдений у складі мієлінових волокон периферичного нерва); **конексин-37** (експресують клітини різних тканин і органів, включаючи серце, матку, яєчник, ендотеліальні клітини кровеносних судин).

Білки конексонів еволюційно древні, тому в культурі клітин щілинні контакти утворюються між клітинами, різними за походженнями.

Проникність щілинних контактів регулюється рН і концентрацією іонів Ca^{2+} , що робить ці контакти подібними до іонних каналів. При пошко-

дженні клітини концентрація внутрішньоклітинного кальцію значно збільшується, а висока концентрація Ca^{2+} (10^{-4} моль/л і більше) є причиною закриття клітиною свого власного конексону. Як результат, щілинний контакт припиняє пропускати в сусідню клітину будь-що, чим і перешкоджає поширенню пошкодження по тканині.

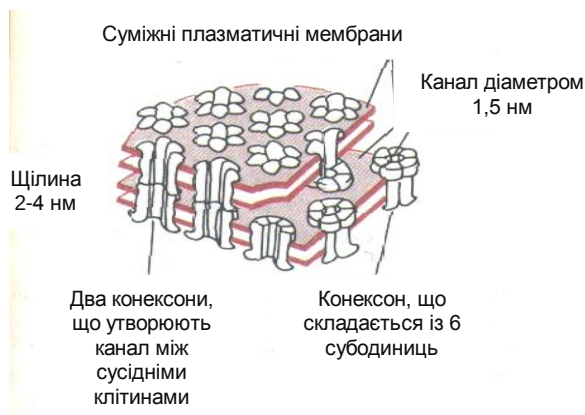


Рис. 13.6 [9]. Модель щілинного контакту

Функціонування щілинних контактів забезпечує реалізацію метаболічної кооперації клітин, прикладом якої може бути дія глюкагону на клітині печінки. При такій дії у гепатоцитах збільшується кількість цАМФ, що сприяє (через відповідні протеїнкінази) розщепленню глікогену та фосфорилюванню білків конексонів. Останнє збільшує проникність щілинних контактів, цАМФ дифундує в сусідню клітину (на яку не діяв глюкагон) і сприяє розщепленню в ній глікогену – концентрація глюкози в крові зростає.

Щілинні контакти контролюють проникність між взаємодіючими клітинами, регулюють рівень внутрішньоклітинного Ca^{2+} , беруть участь у процесах регуляції росту та розвитку клітин (через щілинні контакти проходять низькомолекулярні речовини, що регулюють зазначені процеси), а також забезпечують поширення збудження (перехід іонів між м'язовими клітинами міокарду та між гладенькими міоцитами).

Щілинні контакти зустрічаються у клітинах середньої частини морули, у вставних дисках міокарду, у гладеньких міоцитах.

Синапс. Мозок людини складається з приблизно 10^{11} нервових клітин, серед яких можна виділити понад 1000 різних типів. Утворення та функціонування такої складної структури є можливим лише за наявності високоспеціалізованої комунікаційної мережі.

На відміну від інших типів клітин, нейрони можуть специфічно контактувати з багатьма різними типами клітин: іншими нервовими клітинами, клітинами залоз, м'язовими клітинами тощо, які можуть розташовані при

цьому на великій відстані. Цей зв'язок відрізняється високою швидкістю й точністю, які забезпечуються спеціалізованими структурними утвореннями – **синапсами** (від гр. зв'язок, застібка або гачок).

Термін і саме поняття синапсу було введено в біологію англійським фізіологом Чарльзом Шеррінгтоном у 1897 р. Але ще в 1850 р. Клод Бернард припустив, що контакт між нервовою клітиною та її мішенню має бути високоспеціалізованим, тому характер сигналу в точці їхнього контакту повинен змінюватися. Однак незаперечні морфологічні докази існування синапсу було отримано лише в 1911 р. Сантьяго Рамон-і-Кахалом, який визначив два обов'язкові елементи синапсу: **пресинаптичне закінчення** та **постсинаптична сприймаюча ділянка**. Він також припустив існування третього елементу синапсу – **синаптичної щілини** між пресинаптичною та постсинаптичною мембранами. Понад 30 років потому електронно-мікроскопічні дослідження нервово-м'язового сполучення сформували уявлення про синапс як про спеціалізовану ділянку, що містить малі **секреторні (синаптичні) пухирці** (близько 40 нм у діаметрі) і специфічні ущільнення, пов'язані з мембраною. У 1950-х рр., завдяки роботам Палая, де Робертиса, Беннета, інших дослідників, це уявлення поширилось і на центральну нервову систему.

Сьогодні синапс визначають як спеціалізований міжклітинний контакт, що забезпечує передачу сигналів з однієї клітини на іншу, сформований клітинами збудливих тканин (нервовими клітинами між собою (синапс) і нервовими клітинами та м'язовими клітинами (нервово-м'язовий синапс)). Сигнальну молекулу називають **нейромедіатором**.

У синапсі розрізняють декілька частин. По-перше, **пресинаптичну**, до складу якої входить **пресинаптична мембрана** й **синаптичні пухирці** з нейромедіатором. У нервовому закінченні локалізовані також мітохондрії, котрі забезпечують необхідною енергією процес вивільнення нейромедіатора, ендосоми й мембранні пухирці, які залучені до мембранного кругообігу. Виявляють також елементи гладенької ендоплазматичної сітки, що виконує роль внутрішньоклітинних сховищ іонів Ca^{2+} .

Нервові закінчення містять два класи секреторних пухирців: **власне синаптичні** та **з електронно-щільним центром**. Вони розрізняються як за будовою, так і за своїми властивостями. Синаптичні пухирці – це високоспеціалізовані секреторні утворення, які зберігають і секретують небілкові нейромедіатори, такі як ацетилхолін, гліцин, глутамат, γ -аміномасляну кислоту. Такі нейромедіатори можуть синтезуватися за допомогою ферментів, які містяться як у тілі нейрона, так і в його закінченнях. Тому запаси медіатора в синапсі можуть відновлюватись досить швидко. Швидкий екзоцитоз синаптичних пухирців відбувається виключно в активній зоні в результаті електронної стимуляції нервового закінчення. Після екзоцитозу мембрани синаптичних пухирців формують мембранні пухирці, що повторно беруть участь у формуванні синаптичних пухирців. У кожному циклі екзо-ендоцитозу вони "перезаряджаються" нейромедіатором завдяки спеціалізованому транспортеру, який є в їхній мембрані.

Пухирці з електронно-щільним центом містять білкові нейромедіатори та аміни. Нейропептиди утворюються на рибосомах гранулярного ендоплазматичного ретикулулу в тілі клітини, "дозрівають" у апараті Гольджі й переносяться упакованими в мембранні пухирці у нервові закінчення за допомогою аксонного (антероградного) транспорту зі швидкістю до 400 мм на добу вздовж шляхів, утворюваних у відростках мікротрубочками. За своїми властивостями пухирці з електронно-щільним центром нагадують секреторні гранули ендокринних клітин, що містять білкові гормони та аміни. Їхній екзоцитоз не обмежується активними зонами.

Синаптичні пухирці й пухирці з електронно-щільним центром відіграють різну роль у нейронній передачі. Секреція через синаптичні пухирці відповідає за швидку передачу сигналу від точки до точки, тоді як інші залучені переважно до модуляторної передачі сигналу на велику відстань між нейронами й нейронами та іншими клітинами.

Постсинаптична частина представлена постсинаптичною мембраною з рецепторами для нейромедіатору, а також мітохондріями й елементами гладенької ендоплазматичної сітки. Головною ознакою постсинаптичної ділянки є потовщення мембрани і присутність електронно-щільного матеріалу (**постсинаптичного ущільнення**), який вистилає її цитоплазматичну поверхню.

Головними функціональними елементами постсинаптичної ділянки є мембранні рецептори, які зв'язують молекули нейромедіатора, що призводить до відкриття іонних каналів. Перший тип рецепторів складають рецептори, пов'язані з каналами. Це фактично лігандозалежні канали. Приєднання нейромедіатора змінює їхню конформацію так, що в мембрані утворюється відкритий канал для певних іонів. Такі рецептори опосередковують швидкі, прості й короточасні ефекти. Місце їхнього впливу визначено з великою точністю: медіатор, який вивільнюється нервовим закінченням, впливає лише на одну постсинаптичну клітину. До цієї групи належать рецептори ацетилхоліну, глутамату, γ -аміномасляної кислоти та гліцину.

Другий тип рецепторів – це неканальні білки, які після приєднання нейромедіатора запускають каскад ферментативних реакцій, що призводить до утворення внутрішньоклітинних вторинних посередників. Останні викликають зміни в постсинаптичній клітині, у тому числі й модифікацію іонних каналів клітинної мембрани. Такі рецептори опосередковують повільні, складні та тривалі ефекти. У цьому випадку медіатор, вивільнюваний нервовим закінченням, може впливати одночасно на декілька клітин, розташованих поблизу. Рецептори, не зв'язані з каналами, виконують нейромодуляторну роль у синаптичній передачі: вони впливають на швидкі відповіді, опосередковані рецепторами, пов'язаними з каналами, що локалізовані в тій же самій клітині.

Деякі небілкові нейромедіатори, наприклад глутамат, можуть зв'язуватись з рецепторами обох типів, викликаючи і швидку відповідь, і модуляторний ефект. Білкові нейромедіатори зв'язують тільки другий тип рецепторів. Активація рецепторів обох типів викликає послідовність реакцій, таких як фосфорилування ферментів і білків, що призводить до ра-

дикальних змін мембрани, цитоскелета й метаболізму як у нервовому закінченні, так і в нейроні в цілому. Означені зміни можуть бути як короткочасними, так і досить тривалими.

Проміжок між пре- та постсинаптичними мембранами шириною 20–35 нм називають **синаптичною щілиною**. У цю щілину із синаптичних пухирців вивільнюється нейромедіатор і через неї проходить синаптична базальна мембрана.

З використанням техніки заморожування-сколювання та електронної мікроскопії були виявлені специфічні внутрішньомембранні частки білкової природи між внутрішніми й зовнішніми листками постсинаптичної мембрани. При високій щільності їхнього розташування в мембрані вони можуть слугувати додатковою ознакою визначення типу синапсу. Так, збудливі синапси містять на постсинаптичній мембрані в означеній зоні лігандозалежні канали (білкові канали, які відкриваються у відповідь на приєднання специфічного ліганда-медіатора). Пресинаптична мембрана може мати подібну зону внутрішньомембранних часток з високою щільністю розташування каналів для іонів Ca^{2+} , які відіграють критичну роль у синаптичній передачі та клітинному метаболізмі.

Хімічний синапс. Його основною функцією є передача через синаптичну щілину нервових імпульсів, які приходять до пресинаптичної мембрани. У результаті деполяризації пресинаптичної мембрани під дією нервового імпульсу відкриваються потенціалзалежні Ca^{2+} -канали, що призводить до збільшення мембранної провідності до іонів кальцію. Зростання концентрації цих катіонів і є початковим етапом екзоцитозу нейромедіаторів. Медіатор дифундує через синаптичну щілину, зв'язується з рецепторними білками в мембрані постсинаптичної клітини і викликає генерацію постсинаптичних потенціалів. Час від моменту надходження нервового імпульсу до пресинаптичного закінчення до виникнення постсинаптичного потенціалу називають синаптичною затримкою.

Електричний синапс. У синапсах з **електричним механізмом** імпульс із пресинаптичної мембрани на постсинаптичну передається **електротонічно**. Така передача забезпечується завдяки дуже вузькій синаптичній щілині та наявності в обох мембранах каналів (подібних щілинним), які й забезпечують проходження іонів з однієї контактуючої клітини в сусідню. У процесі еволюції нервової системи число електричних синапсів зменшується. У **синапсах із змішаним механізмом** передавання сигналів відбувається одночасно як через медіатори, так і через потік іонів.

Вивільнення медіатора залежить від функціонування потенціалзалежних кальцієвих каналів. У стані спокою концентрація внутрішньоклітинних іонів кальцію має значення близько 10^{-7} моль/л, що відповідає приблизно 100 іонам Ca^{2+} у $\mu\text{м}^3$. При збудженні через один Ca^{2+} -канал проходять сотні іонів Ca^{2+} , що збільшує концентрацію катіона в 100 разів. Такої концентрації Ca^{2+} достатньо, щоб активувати екзоцитоз медіатора та запустити процес фосфорилування (через Ca^{2+} -кальмодулінозалежні протеїнкінази) білка **синапсину** мембрани синаптичного пухирця, білка, який у фос-

форильованому стані перестає "стримувати" синаптичні пухирці. Медіатор дифундує до постсинаптичної мембрани та активує два типи рецепторів: зв'язаних і незв'язаних з іонними каналами. Перші, лігандозалежні іонні канали, викликають швидкі (тривалістю мілісекунди) постсинаптичні ефекти, які закінчуються генерацією електричного імпульсу в постсинаптичній клітині. Приєднання медіатора до рецептора, не зв'язаного з каналами, запускає в постсинаптичній клітині каскад ферментативних реакцій. У більшості випадків такий каскад веде до активації мембранного G-білка, який або сам взаємодіє з іонними каналами, або регулює утворення внутрішньоклітинних посередників. Посередники або безпосередньо впливають на іонні канали, або активують кінази, що фосфорилують різні білки, у тому числі й каналні. Останні процеси є тривалими і впливають на ефективність наступної синаптичної передачі, що лежить в основі деяких форм пам'яті.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ

1. Хімічний склад і головні функції міжклітинної речовини.
2. Чим зумовлена міжклітинна адгезія?
3. Які структури забезпечують міжклітинну адгезію?
4. Які компоненти поверхневого апарату клітини забезпечують його адгезивні властивості?
5. Яке значення мають білки родини інтегринів?
6. Яке значення мають білки родини кадгеринів?
7. Охарактеризуйте простий контакт.
8. На електронограмі видно, що плазматичні мембрани сусідніх клітин утворюють складки. Який тип контакту представлений на електронограмі? Яку функцію він виконує?
9. Ультраструктура десмосоми.
10. Яка будова і роль десмосом?
11. Яка будова і роль напівдесмосом?
12. Порівняйте будову десмосоми та проміжного контакту (зони злипання).
13. Будова й функції щільного контакту.
14. Яка будова і роль нексусів?
15. Будова щільного контакту. Його функції.
16. Яка будова і роль щілинних контактів?
17. Які типи контактів забезпечують перехід органічних молекул з клітини в клітину?
18. Охарактеризуйте комунікаційні контакти клітини.
19. Які молекули можуть переміщуватись з однієї клітини до іншої? Які структури забезпечують їхнє переміщення?
20. Як на електронограмі відрізнити десмосому від щільного контакту?
21. Як на електронограмі відрізнити щільний контакт від простого контакту?
22. Як на електронограмі відрізнити десмосому від простого контакту?
23. Які структури клітини беруть участь в утворенні клітинних агрегатів?
24. Яка будова та функції синапсу?
25. Які існують типи синапсів?

Розділ 14

ІНФОРМАЦІЙНІ МІЖКЛІТИННІ ВЗАЄМОДІЇ

Усе різноманіття інформаційних міжклітинних взаємодій вкладається у схему послідовних подій, концепцію якої запропонував Пауль Ерліх (**концепція сигнал – відповідь**): **сигнал → рецептор → вторинний посередник → відповідь**. У відповідь на специфічний сигнал клітина, як правило, запускає молекулярний каскадний механізм, який реалізує **інтегративний** шлях біохімічної відповіді.

Найвідомішими **екзогенними сигнальними молекулами (первинними посередниками)** є гормони, але клітини здані реагувати й на інші біомолекулярні сигнали. Сигнальними молекулами можуть бути, по-перше, **гідрофільні молекули** (наприклад, нейромедіатори, цитокіни, пептидні гормони, антигени), які зв'язуються з рецепторами плазмолемі (**мембранними рецепторами**). І по-друге, **ліпофільні молекули**, здатні проходити через ліпідний бішар плазмолемі до цитозолу та зв'язуватися з внутрішньоклітинними рецепторами. Їхній транспорт до клітин-мішеней найчастіше здійснюється за допомогою білків-переносників, які утримують ліганд. Сигнальні молекули цієї групи, а до неї відносять стероїди (наприклад, глюкокортикоїди, мінералокортикоїди, статеві стероїди), тиреоїдні гормони, тироксин, ретиноїди, велику групу молекул, структурно подібних до вітамінів А та D, регулюють клітинні процеси розвитку, диференціювання та метаболізм організму в цілому.

Слід наголосити, що за виключенням незначних відмінностей, засоби передачі сигналу однакові для більшості клітин, а внутрішньоклітинні каскади ферментативних реакцій часто не залежать від типу сигнальної молекули. Коли сигнальна молекула зв'язується з клітинною поверхнею, запускається каскад реакцій, які викликають певні внутрішньоклітинні процеси, наприклад, початок проліферації. Підкреслимо, що різні клітини по-різному реагують на один і той самий сигнал: специфічність клітинної відповіді у більшості випадків визначається типом рецептора клітини, яка генерує відповідь (**клітини-мішені**). У клітинах кожного конкретного типу є характерний набір рецепторів, розташованих або на клітинній поверхні, або в цитозолі, або безпосередньо в ядрі, які слугують для отримання **специфічного** сигналу та запуску **специфічного** каскаду ферментативних реакцій, що й спричиняє клітинну відповідь.

Слід відмітити, що фосфорилування та дефосфорилування є основними механізмами внутрішньоклітинної передачі сигналу. Фосфорилу-

вання відіграє суттєву роль у формуванні генетичного матеріалу, трансляції білка, побудові біологічних мембран тощо. Відповідно, два типи ферментів, залучених до цих процесів – **кінази** та **фосфатази**, відіграють важливу роль у сигнальних процесах. Більшість сигналів, що надходить у клітину, обробляється за допомогою кіназ.

Кіназами називаються ферменти, які забезпечують утворення фосфатних ефірів у білкових молекулах. Клітина має понад тисячу різних кіназ, але серед них можна виділити два основні типи: **тирозинкінази** (утворюють фосфатні зв'язки на тирозинових залишках специфічних субстратів) і **серин-треонінкінази** (утворюють фосфатні зв'язки на залишках серину й треоніну).

Фосфорилування виконує дві основні функції в процесі передачі сигналу. По-перше, при фосфорилуванні змінюється конформація білків і активуються ферменти, які також можуть виявляти кіназну активність, тобто передача сигналу полягає у хвилеподібній активації білків. І по-друге, фосфорилування, особливо тирозину, створює в молекулах білків **стикувальні ділянки**, з появою яких до процесу залучаються нові білки, що взаємодіють з уже активованими елементами сигнального шляху.

Дефосфорилування забезпечується специфічними **фосфатазами**, ферментами, які видаляють фосфати лише з певного субстрату. Рівень процесів фосфорилування у клітині залежить від балансу між активними кіназами й фосфатазами.

Як вважають сьогодні, у процесі еволюції фосфатази практично не зазнали змін. Це означає, що вони залучені до реалізації життєво важливих функцій в усіх еукаріотичних клітинах. На підтвердження цього слугує той факт, що фосфорильовані залишки серину та треоніну становлять понад 97 % фосфатів, зв'язаних з білками активованих клітин.

14.1. Типи надходження сигнальних молекул до клітин

Результатом тривалих досліджень принципів міжклітинної комунікації стало з'ясування того факту, що для перенесення сигнальних молекул використовуються різні позаклітинні механізми: **телекринні** (у тому числі й ендокринні), **паракринні** (у тому числі синаптичні), **аутокринні** та **юкстакринні**.

Ендокринний механізм є найбільш вивченим способом міжклітинної сигналізації. За класичним визначенням, гормон синтезується клітинами ендокринної залози й переноситься до клітин мішеней з током крові. Оскільки поширення ендокринного сигналу визначається дифузією та кровотоком, воно відбувається досить повільно: час знаходження гормону відповідної клітини-мішені вимірюється, як правило, хвилинами.

Специфічність сигналів у ендокринній системі визначається хімічною природою сигнальної речовини та природою рецепторів клітини-мішені:

кожний тип ендокринної клітини секретує у кров свій тип гормону, клітина ж, що має комплементарний до цього гормону рецептор, дає відповідь, характерну для даної клітини.

Концентрація гормонів у крові та інтерстиційній рідині є достатньо низькою (менше 10^{-8} моль/л). Але гормони здатні викликати адекватну відповідь навіть за такої низької концентрації.

У випадку **паракринної** сигналізації клітини секретують сигнальні молекули, які активують клітини найближчого оточення. Розведення сигнальної хімічної речовини при цьому відбувається незначно. Такі **локальні хімічні медіатори** не надходять у кров у більш-менш значних кількостях, бо швидко поглинаються клітинами, руйнуються позаклітинними ферментами або іммобілізуються в позаклітинному матриксі.

Слід підкреслити, що хімічний сигнал нервової клітини може діяти як за паракринним (клітина→клітини), так і за синаптичним (клітина→клітина) механізмом. Нейрон секретує нейротрансмітер у синаптичну щілину, інший нейрон/нейрони (чи клітина-мішень) зв'язуються з цим нейротрансмітером і генерують біоелектричний сигнал. Концентрація сигнального ліганду в інтерстиційній рідині є достатньо високою. Так, концентрація ацетилхоліну в синаптичній щілині нервово-м'язового з'єднання становить 5×10^{-4} моль/л.

Відповідно до цього, рецептори нейромедіатору в синапсі мають низьку спорідненість зі своїм лігандом і не можуть помітним чином реагувати на низькі концентрації нейромедіатору, що надходить шляхом дифузії від сусідніх синапсів. Специфічність визначається тісним контактом між закінченням нервового волокна та специфікою системи "сигнального реагування" клітини-мішені. Нейромедіатор швидко видаляється з синаптичної щілини спеціальними гідролітичними ферментами або мембранними транспортними білками, які перекачують його назад до нервового закінчення. Цим досягається точність дії сигналу не лише у просторі, але й у часі.

Паракринний механізм є головним у процесах міжклітинної сигналізації, при загоюванні ран, відновленні тканин і процесах ембріонального розвитку.

При **аутокринному механізмі** клітина відповідає на свій власний сигнал: клітина виробляє сигнальну молекулу і в той же час несе на своїй поверхні рецептори, необхідні для відповіді на неї. Цей тип передачі сигналу – специфічна аутостимуляція – характерний для клітин імунної системи. Аутокринна й паракринна стимуляція часто здійснюються одночасно.

Юкстакринна сигнальна система залучена до процесу прикріплення клітин (наприклад, у прикріпленні клітин крові до ендотеліоцитів, клітин судинної стінки, при гемостазі або запаленні). При стимуляції юкстакринних клітин сигнал може передаватися від однієї клітини до іншої через адгезійні контакти. Міжклітинна адгезія (зв'язування клітин) і передача сигналу є процесами, що тісно взаємопов'язані. Юкстакринний механізм зв'язує не лише клітини між собою, а також клітини з позаклітинним матриксом.

14.2. Клітинні рецептори та їхня участь у процесах міжклітинної сигналізації

Усі клітини організму постійно обмінюються різною інформацією. Щоб ідентифікувати в інформаційному потоці певну сигнальну молекулу клітина має експресувати специфічний набір рецепторів. Отже, клітина здатна відповісти лише на той сингал, до якого вона має рецептор. Здатність клітини виконувати або не виконувати певну функцію часто базується саме на наявності або відсутності в неї певного рецептора.

Набір рецепторів може змінюватися у процесі розвитку та диференціювання. Експресія або втрата рецептора є запрограмованими процесами клітинної диференціації.

Рецептори є високоспецифічними, їхня специфічність є однією з основних особливостей сигнальної системи. Але різні клітини здатні експресувати однакові рецептори, а отже, і зв'язувати однакові ліганди. Специфічність клітинної відповіді залежить не лише від специфічності ліганду та рецептора, але й від специфічності внутрішньоклітинної ланки передачі сигналу. Так, ацетилхолін викликає скорочення скелетних м'язів, розслаблення серцевого м'яза, посилення секреції секреторних клітин.

У процесах міжклітинної сигналізації важливою є не лише здатність клітини сприймати інформаційний сингал за участю механізму активації рецепторів специфічним лігандом, але й здатність клітини пригнічувати його.

Існують різні механізми інактивації сигналу, що використовують клітинами в процесі їхнього росту та диференціювання. По-перше, **поглинання** сигнального ліганд-рецепторного комплексу шляхом ендоцитозу. По-друге, **десенсибілізація** (зниження чутливості) рецептора, яка часто пов'язана з фосфорилуванням. Коли G-білок активує черговий елемент сигнального шляху, рецептор, який розташований на іншому боці білка, аутофосфорилується, що й знижує його чутливість до ліганду. Цей процес називають **гомологічною десенсибілізацією**. Якщо ж інша молекула фосфорилує рецептор і зменшує його здатність до активації наступного компонента сигнального шляху, то це – **гетерологічна десенсибілізація**. І по-третє, руйнування ефекторної молекули, або розділення пулів активуючих молекул.

За хімічною природою, як вже йшлося, сигнальні молекули можуть бути ліпофільними й гідрофільними, що й зумовлює відповідний розподіл рецепторів.

Рецептори ліпофільних сигнальних молекул. Не зв'язані з лігандом рецептори цієї родини найчастіше знаходяться в цитозолі, утворюючи комплекси з іншими білками. При проникненні ліганду в клітину, він зв'язується з рецептором, утворений комплекс переноситься до ядра, де з'єднується зі специфічною послідовністю ДНК, розташованою в регуляторних ділянках гена. Іншими словами, ядерні рецептори – це **фактори транскрипції**, які активуються лігандом.

Деякі ядерні рецептори є протоонкогенами (наприклад, трансформуючий ген *ERBA*, що кодує рецептори T_3 і T_4).

Рецептори **стероїдних гормонів** є у складі великих білкових комплексів **шаперонів**, включаючи **білок теплового шоку 90** (hsp 90) та **імуннофілін hsp 56**. Ці цитоплазматичні комплекси підтримують неактивну, але зручну для зв'язування з лігандом конформацію рецепторів. Зв'язування ліганду (гормону) з рецептором призводить до вивільнення білків теплового шоку. Після цього ліганд-рецепторний комплекс транспортується до ядра, де зв'язується із специфічними послідовностями ДНК у промоторних ділянках специфічних генів. Ділянка ДНК гена-мішені, яка зв'язується з рецептором і називається **елементом гормональної відповіді**, є ідентичною для всіх стероїдних рецепторів.

Деякі рецепторні білки цієї групи здатні зв'язуватися з відповідними елементами гормональної відповіді навіть у неактивному стані. Такі незв'язані з лігандом рецептори часто діють як репресори гена. При зв'язуванні гормону з ліганд-зв'язувальним доменом рецептора відбуваються **алостеричні зміни**, які призводять до активації гена. До такої репресорно-індукторної системи належать рецептори естрогенів і гормонів щитоподібної залози.

Слід підкреслити, що ефекти стероїдної сигнальної системи виявляються після характерного **періоду затримки**, яка триває декілька годин: сигнальна система ліпофільних гормонів не активує гени швидкої відповіді. Фактично реакція клітини на збільшення концентрації стероїдних гормонів може зберігатися протягом декількох годин або днів.

Рецептори гідрофільних сигнальних молекул належать до групи інтегральних мембранних глікопротеїнів. Вони залучаються до численних процесів, включаючи:

- контроль проникності плазмолемі шляхом зміни конформації білкових іонних каналів (наприклад, н-холінорецептор);
- регуляцію надходження молекул у клітину (наприклад, холестерину за допомогою рецепторів ліпопротеїнів низької щільності);
- зв'язування молекул позаклітинного матриксу з елементами цитоскелету (наприклад, інтегринів, які беруть участь в утворенні міжклітинних контактів і контактів клітин з позаклітинним матриксом);
- реєстрацію присутності інформаційних сигналів (наприклад, нейромедіаторів, квантів світла, нюхальних молекул, антигенів, цитокінів, гормонів пептидної природи).

Розподіл мембранних рецепторів на підродини (підгрупи) ґрунтується на їхніх біохімічних відмінностях і функціональній специфіці. Мембранні рецептори поділяють на каталітичні, пов'язані з іонними каналами та такі, що оперують через G-білок.

Каталітичні рецептори. Це трансмембранні білки, зовнішня частина яких містить ліганд-зв'язувальну ділянку, а цитоплазматична частина при активації функціонує як фермент.

Виділяють групу рецепторів з **кіназною** та **фосфатазною** каталітичною активністю. У першому випадку приєднання ліганду до рецептора

спричинює активацію його кіназного каталітичного домену, який фосфорилює цитоплазматичні субстрати, утворюючи фосфатні зв'язки на тирозинових залишках специфічних субстратів (*тирозинкінази*) або на залишках серину й треоніну (*серин-треонінкінази*). При зв'язуванні ліганду з рецептором може активуватися також тирозинкіназа, яка нековалентно зв'язана з поверхневим рецептором.

У другому випадку ліганд активує фосфатазний каталітичний домен, здатний видаляти фосфати з певного субстрату. Так само як є два типи кіназ, існує й два типи основних фосфатаз – *тирозинфосфатаза* та *серин-треонінфосфатаза*.

Рецептори як іонні канали. Зв'язування ліганду з рецепторним білком викликає відкриття каналу, яке призводить до виходу або входу певних іонів.

Іонні канали всіх клітин є інтегральними мембранними білками, які регулюють надходження специфічних іонів через мембрану. Пори іонних каналів (специфічне молекулярне сито) вузькі, тому під час проходження через них іони скидають гідратну оболонку, утворюючи після цього слабкі електростатичні зв'язки з полярними амінокислотами вздовж стінок каналу. Оскільки втрата іоном молекули води є енергетично не вигідною, іон переходить по каналу лише тоді, коли електростатичні взаємодії компенсують цю втрату. Через сформований каналними рецепторами в бішарі канал можуть проходити лише іони певного розміру. Найчастіше в еукаріотичних клітинах зустрічаються канали для іонів Na^+ , Ca^{2+} , K^+ , Cl^- .

Рецептори, спряжені з G-білками. Зв'язування ліганду з рецептором призводить до активації специфічних G-білків. Активований G-білок у свою чергу спричинює зміну активності молекулярних мішеней (аденілатциклази, фосфоліпази, іонних каналів, цГМФ-фосфодієстерази).

G-білки не належать до класичних мембранних білків. Вони приєднані до цитоплазматичного боку плазмолемі за допомогою специфічних ліпідних зв'язків.

Гетеротримерний G-білок складається з трьох субодиниць – α , β , γ , нековалентно зв'язаних між собою. α -субодиниця є ГТФазою, здатною зв'язувати ГТФ і гідролізувати її до ГДФ. Існують різні форми α -субодиниць, кожна з яких виконує різні функції в процесі передачі сигналу, по-різному впливаючи на ефекторні молекули.

β - і γ -субодиниці утворюють димер, щільно з'єднуючись нековалентними зв'язками. Агрегація α -субодиниці-ГДФ і димеру з β - і γ -субодиниць утворює неактивний комплекс, який прикріплюється до С-кінцевої ділянки рецептора. Зв'язування ліганду з цим рецептором призводить до зміни конформації цитоплазматичного домену рецептора й наступної зміни конформації α -субодиниці. Останнє знижує спорідненість α -субодиниці до ГДФ і, як результат, ГДФ відщеплюється від активної ділянки α -субодиниці.

На зміну ГДФ до активної ділянки α -субодиниці приєднується ГТФ, чия внутрішньоклітинна концентрація в 10 разів вища за концентрацію ГДФ. Після зв'язування ГТФ α -субодиниця набуває активної конформації і від-

щеплюється від рецептора та від $\beta\gamma$ -димеру. ГТФ-зв'язана α -субодиниця активує різні ефекторні молекули (наприклад, аденілатциклазу, що утворює цАМФ). α -субодиниця залишається в активному стані, поки ГТФаза, що входить до її складу, не гідролізує ГТФ до ГДФ. Одразу після гідролізу ГТФ α - і $\beta\gamma$ -субодиниці з'єднуються й повертаються до рецептора.

Слід підкреслити, що не лише α -субодиниця, але й $\beta\gamma$ -комплекс залучений до регуляції клітинної відповіді: він здатний також активувати ефекторні молекули (наприклад, мускаринові K^+ -канали).

G-білки відіграють ключову роль у активації каскаду ефекторних молекул, до яких належать аденілатциклаза, фосфоліпаза C (ФЛС), фосфоліпаза A_2 (ФЛА $_2$), фосфоінозитид-3-кіназа (ФІ $_3$ -кіназа), кіназа β -адренорецептора (β АРК).

Взаємодія G-білків з аденілатциклазою. Хоча в регуляції беруть участь і α -субодиниця, і $\beta\gamma$ -комплекс, механізм регуляції є специфічним для кожного ефектора. Наприклад, існує декілька різних форм аденілатциклази, кожна з яких активується різними субодиницями G-білка: або α -субодиницею, або $\beta\gamma$, або обома субодиницями разом.

Аденілатциклаза каталізує утворення молекули вторинного месенджера cAMP.

Взаємодія G-білків з фосфоліпазою C. Нині виявлено близько 30 рецепторів клітинної поверхні, через які відбувається передача сигналу за такою схемою: активація G-білка (G_p білка) $\rightarrow$ активація ФЛС $\rightarrow$ швидкий гідроліз міnorних фосфоліпідів плазмолемі (інозитолфосфоліпідів; серед яких найважливішу роль у передачі сигналу грають дві фосфорильовані похідні **фосфатиділінозиту** – **фосфатиділінозитолфосфат** і **фосфатиділінозитол-4,5-біфосфат**, які містяться у внутрішньому ліпідному моношарові плазмолемі) $\rightarrow$ утворення **інозитол-1,4,5-трифосфату** й **діацилгліцеролу**.

На цьому етапі шлях передачі сигналу розділяється на дві гілки.

1. Інозитол-1,4,5-трифосфат (невелика гідрофільна молекула) зв'язується з рецепторами на цитоплазматичній поверхні внутрішньоклітинних органел – Ca^{2+} -депо, що призводить до відкриття кальцієвих каналів у їхній мембрані й до викиду Ca^{2+} у цитозоль.

2. Діацилгліцерол (ліпідний компонент фосфоінозитолфосфату) у свою чергу, з одного боку, може розпадатися далі з вивільненням **арахідонової кислоти**, необхідної для синтезу **простагландинів** і близьких їм медіаторів ліпідної природи, а з іншого боку, що не менш важливо, разом із фосфоліпідом внутрішнього шару плазматичної мембрани – **фосфатиділсерином** – залучатися до активації **протеїнкінази C**, посилюючи її спорідненість з Ca^{2+} настільки, що вона стає активною вже за низьких концентрацій Ca^{2+} у цитозолі.

Активована ж C-кіназа у свою чергу переносить кінцеву фосфатну групу з АТФ на специфічні серинові або треонінові залишки білків-мішеней, активуючи тим самим, наприклад, Na^+/H^+ -обмінник плазматичної мембрани, та іонні канали нейронів, змінюючи їхні властивості, збудли-

вість самої клітини, а в деяких випадках посилюючи транскрипцію певних генів (у промоторній зоні деяких генів є енкастерна послідовність, що упізнається регуляторним білком, активність якого зростає при активації С-кінази), залучаючись тим самим до принципових внутрішньоклітинних процесів, таких як ферментативна регуляція розвитку нейронів, виділення нейротрансмітерів, активація рецепторів та іонних каналів, синаптична пластичність.

Вторинні посередники – це невеликі молекули, які швидко й у великих кількостях синтезуються в клітині у відповідь на активацію рецептора і слугують для посилення молекулярного сигналу. Вони діють, як правило, протягом дуже короткого часу, після чого інактивуються за допомогою різних механізмів.

Сьогодні виділяють п'ять типів вторинних посередників (передавачів або месенджерів), які є головними в процесах міжклітинної сигналізації: циклічний аденозинмонофосфат (цАМФ); циклічний гуанозинмонофосфат (цГМФ); діацилгліцерол (ДАГ); інозитолтрифосфат (IP_3); кальцій.

цАМФ регулює різні функції клітини, у тому числі експресію різних генів, шляхом активації та інгібування специфічних клітинних білків за участю цАМФ-залежної протеїнкінази А (ПКА).

цГМФ швидко синтезується **гуанілатциклазою** і руйнується **цГМФ-фосфодіестеразою**. цГМФ залучений до перетворення зорових сигналів у хребетних.

ДАГ та інозитолтрифосфат (IP_3) утворюються зі спеціалізованого мембранного ліпиду, **інозитолфосфоліпиду (фосфатидилінозитулу, ФІ)**. ДАГ складає внутрішньомембранний компонент цього ліпиду. ДАГ зв'язується з головною клітинною серин-треонінкіназою – мембранною **протеїнкіназою С (PKC)** і бере участь у її короточасній (декілька секунд) активації. Активація цього ферменту більш тривалий час відбувається за участю інших ліпаз, активованих агоністами. Однак ДАГ розглядається як найважливіший інгібітор такої активації PKC.

IP_3 – водорозчинний головний компонент фосфоінозитольного ліпиду. Після відщеплення від ліпиду IP_3 надходить у цитозоль, де зв'язується з білками Ca^{2+} -каналів, розташованих на внутрішньоклітинних мембранах. При цьому канали відкриваються і Ca^{2+} переходить із внутрішньоклітинних депо в цитозоль.

Кальцій – один з головних вторинних посередників, який бере участь у передачі сигналу в клітину.

У клітині іони Ca^{2+} діють як алостеричні ефектори: вони приєднуються до специфічних кальцієзв'язувальних білків, змінюючи їхню конформацію і викликаючи тим самим їхню активацію. Більшість клітин містять різні за функціональною спрямованістю цитозольні кальцієзв'язувальні білки, які здатні модулювати або медіювати дію іонів Ca^{2+} , акцептуючи їх з високою вибірковістю. Ці білки виявляють різноманітну активність, залучаючись до таких ключових процесів у клітині, як проліферація, організація цитоскелету,

секреторні процеси, а в нервових клітинах – регуляція швидкого транспорту речовин, синтез і вивільнення нейротрансмітерів, збудливість мембрани.

Невеликі кислі білки, які належать до родини кальційзв'язувальних, поділяють на два типи – **"тригерні" та "буферні"**. Одним з найпоширеніших представників білків першого типу, виявленим у всіх тваринних і рослинних клітинах, є **кальмодулін** – невеликий поліпептид (14 кДа), з чотирма Ca^{2+} -зв'язувальними центрами. Комплекс Ca^{2+} -кальмодулін не виявляє власної ферментативної активності й діє лише зв'язуючись з іншими білками-мішенями (ферментами, мембранними транспортними білками) і змінюючи їхню активність. Зрозуміло, що саме ці Ca^{2+} -кальмодулінозалежні білки й зумовлюють специфічність відповіді клітини-мішені на підвищення концентрації вільного Ca^{2+} у цитозолі.

Представником кальційзв'язувальних білків "буферного" типу є, наприклад, **кальбіндин**, відкритий понад 20 років тому в нервовій і деяких інших тканинах. Він працює як дуже чутлива система контролю внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} , виконуючи роль кальцієвого буфера. Вилучаючи іони Ca^{2+} з цитозолу, він бере участь у їхньому депонуванні.

Іони Ca^{2+} депонуються в Ca^{2+} -запасальних цистернах глЕПС у стані неміцної асоціації з Ca^{2+} -зв'язувальними білками (такими як **кальсеквестрин**, **кальретікулін** тощо) і вивільнюються в цитозоль за градієнтом концентрації через Ca^{2+} -канали, які регулюються рецепторами інозитолтрифосфату й ріанодину.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ

1. Охарактеризуйте сучасну концепцію формування відповіді клітини на позаклітинний сигнал.
2. Дайте визначення процесів фосфорилування та дефосфорилування як важливої ланки внутрішньоклітинної передачі сигналу.
3. Що таке "сигнальна молекула".
4. Які типи сигнальних молекул ви знаєте?
5. Надходження сигнальних молекул до клітини: типи та стратегія реалізації.
6. В чому полягають рецепторні функції плазмолем?
7. Що таке "вторинні посередники" (медіатори)? Які вторинні посередники ви знаєте?
8. Як побудований рецептор біологічної мембрани?
9. Яку хімічну природу має рецептор біологічної мембрани?
10. Механізми інактивації клітиною отриманого сигналу.
11. Рецептори ліпофільних сигнальних молекул: локалізація у клітині та стратегія участі у формуванні клітинної відповіді.
12. Рецептори гідрофільних сигнальних молекул: типи, загальні принципи будови, стратегія участі у клітинній сигналізації.
13. Дайте визначення поняття "вторинні посередники".
14. Які типи вторинних посередників ви знаєте?

ПРИКЛАДИ ТЕСТОВИХ ЗАПИТАНЬ

1. Яким чином за допомогою конденсора й діафрагми можна збільшити інтенсивність освітлення об'єктива: а) опустити конденсор; б) збільшити отвір ірисової діафрагми; в) підняти конденсор; г) зменшити отвір ірисової діафрагми?

2. Для дослідження живих об'єктів можна використовувати мікроскопію: а) метод світлого поля; б) електронну; в) метод темного поля; г) метод фазового контрасту?

3. Прилад для препарування об'єктів, проведення тонких операцій на клітині й різних впливів на неї називається

4. Відомо, що до складу нуклеїнових кислот входять різні азотисті основи. Яку азотисту основу необхідно помітити радіоактивним ізотопом, щоб вибірково виявити методом радіоавтографії місця синтезу й транспорту РНК: а) аденін; б) тимін; в) гуанін; д) урацил; е) цитозин?

5. До систем активного транспорту відносяться: а) $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -насос; б) H^+ -насос; в) полегшена дифузія; г) ендоцитоз; д) екзоцитоз; е) транспорт за допомогою білків-переносників; ж) Ca^{2+} -канал.

6. Полегшена дифузія відбувається завдяки: а) насосам; б) переносникам; в) рецепторам; г) каналам.

7. Білки, що перетинають бішари мембран, є

8. Який пігмент містять пігментні включення, що є в клітинах шкіри людини: а) білірубін; б) меланін; в) мелатонін; г) міозин; д) ліпофусцин?

9. Які трофічні включення можуть міститись у клітинах рослин: а) жовткові включення; б) включення глікогену; в) включення крохмалю; г) жирові краплини; д) алейронові зерна?

10. Золь – це стан гіалоплазми.

11. Мікротрубочки складаються з: а) актину; б) віментину; в) десміну; г) кератину; д) білків нейрофіламентів; ж) тубуліну.

12. Центріолі мають формулу: а) $9 \times 3 + 0$; б) $9 \times 2 + 2$; в) $9 \times 3 + 2$; г) $9 \times 2 + 0$.

13. Мікротрубочки (виберіть вірні твердження): а) є стійкими структурами; б) взаємодіють з кінезином; в) беруть участь у внутрішньоклітинному транспорті макромолекул і органел; г) забезпечують рухомість війок; д) полярні; е) складаються з актину.

14. Де знаходиться ядерцевий організатор: а) біля теломерів; б) на плечах хромосоми; в) на первинній перетяжці; г) на вторинній перетяжці; д) на супутнику?

15. Функції ядерної ламіни: а) є ЦОМТ веретена поділу; б) є ЦОМТ інтерфазної клітини; в) є місцем приєднання кінетохору хромосоми; г) є місцем утворення скоротливого кільця при цитокінезі; д) є місцем приєднання теломерів хромосоми.

16. Білки, що приєднують рибосоми до мембран гранулярної ендоплазматичної сітки, називаються

17. Що є маркером лізосомних ферментів при їх сортуванні в транс-сітці апарату Гольджі: а) глюкозо-6-фосфат; б) фруктозо-6-фосфат; в) манозо-6-фосфат; г) фруктозо-1, 6-біфосфат.

18. Чи вірно твердження, що цис-поліус апарату Гольджі повернутий до плазмолемі?

19. Який фермент у пероксисомах каталізує реакцію розщеплення пероксиду водню: а) каталаза; б) пероксидаза; в) оксидаза?

20. Де в мітохондріях міститься АТФ-синтетаза: а) у зовнішній мітохондріальній мембрані; б) у внутрішній мітохондріальній мембрані; в) у матриксі мітохондрії (у внутрішній мітохондріальній камері); г) у міжмембранному просторі (у зовнішній мітохондріальній камері)?

21. Що є акцептором іонів H^+ , які вивільняються в циклі Кребса: а) НАД; б) НАДФ; в) АТФ; г) ФАД; д) АДФ.

22. Де відбуваються реакції темної фази фотосинтезу: а) у ламелах; б) у гранах; в) у стромі?

23. Розташуйте у правильній послідовності стадії клітинного циклу: телофаза, S-період, метафаза, G1-період, профаза, прометафаза, G2-період, анафаза.

24. Кількість ДНК в ядрі дорівнює 4с. На якій стадії клітинного циклу може перебувати клітина: а) G1; б) G2; в) S; г) M; д) G0?

25. Під час мітозу у тваринній клітині можна виявити: а) ядерце; б) веретено поділу; в) фрагмопласт; г) центріолі; д) скоротливе кільце.

26. На стадії метафази мітозу кожна хромосома складається з: а) двох хроматид; б) чотирьох хроматид; в) однієї хроматиди; г) двох гомологічних хромосом.

27. Які з перерахованих міжклітинних контактів належать до ізолюючих: а) десмосома; б) напівдесмосома; в) проміжний контакт (зона злипання); г) щілинний контакт; д) щільний контакт; е) простий контакт; ж) контакт типу “замок”; з) плазмодесма?

28. Чи вірним є твердження, що до складу десмосоми входять проміжні філаменти?

29. Міжклітинну адгезію забезпечують: а) кадгерини, б) кальбіндіни, в) інтегрини, г) фібронектини, д) колаген, е) ліпіди.

30. Вторинними медіаторами в клітинах можуть бути:

31. Речовина, яка взаємодіє з рецептором, називається

ПРЕДМЕТНИЙ ПОКАЖЧИК

- "фліп-флоп"
β-складчаста структура
α-спіраль
(фокальні) адгезивні контакти
G₀-період
SNARE-білки
А-актинін
автотрофні організми
адгезивний пояс
адгезивні контакти
адгезивні пояси
адгезія клітин
аденілатциклаза
аденін
аденозиндифосфат (АДФ)
аденозинмонофосфат (АМФ)
аденозинтрифосфат (АТФ)
аеробні організми
акаталаземія
акроцентричні хромосоми
аксонема
активний транспорт
актин
акцепторна зона
алейронові зерна
алкалоїди
алкогольний гіалін
альтернативний сплайсинг
амінокислоти
анаероби
анкірин
антикодон
антиметаболіти
антипорт
апарат Гольджі
апертура
апоптичні тільця
апоптоз
арахідонова кислота
астральні мікротрубочки
атрофія
АТФаза (АТФсинтетаза)
АТФсинтетазний комплекс
аутолізосоми
аутосоми
базальна мембрана
бактерії
бактеріородопсин
барвник Май-Грюнвальда
барвники
білки
білки, асоційовані з мікротрубочками
білки-переносники
білок нейрофіламентів
бінокулярна насадка
біогенез
біологічні мембрани
біосинтез білка
біотехнологія
вакуолярна система
везикулярний транспорт
веретено поділу
високовольтний електронний мікроскоп
війка
вілін
вільна ("лінкерна") ДНК
віментин
вітальні барвники
включення
включення глікогену
власне лізосоми
внутрішньоядерна фібрилярно-гранулярна сітка
внутрішня мітохондріальна мембрана
волокнистий компонент матриксу
ворітний механізм
вроджений синдром Картагенера
вторинна перетяжка
вторинні лізосоми

вторинні посередники	десмосоми
вуглеводи	джгутик
гамети	дзеркальце
гангліозиди	динейн
гель	диплосома
гельзолін	дисульфідізомераза
гематоксилін	дисульфідні зв'язки
ген	дисфункціональний (токсичний)
генетична система мітохондрій	набряк
генетичний код	диференціація клітин
гепатоцеребральна дистрофія	дифузія
гетерогенна ядерна РНК (гяРНК)	дихальний ланцюг
гетеротрофні організми	дихання
гетерохроматин	діафрагма
гідроксилази	діацилгліцерол
гідролітичні ферменти	ДНК
гіпертрофія	ДНК-полімераза
гіперхроматоз	еволюція клітини
гіпотеза ендосимбіозу	ейкозаноїди
гістологія	екзон
гістони	екзоцитоз
гістохімія	екскреторні включення
гліальний фібрилярний кислий	експортини
білок	ексцизійна репарація
глікозаміноглікани	еластин
глікозиди	електричний синапс
глікозилювання	електронний мікроскоп
глікокалікс	електрохімічний градієнт
гліколіз	елонгація трансляції
глікопротеїни	ембріологія
глікофорин	ендоплазматична сітка
гліоксисома	ендоплазматична сітка (гладенька)
глутатіон	ендоплазматична сітка (гранулярна)
грани	ендоредуплікація
гранулярний компонент	ендосоми
гриби	ендоцитоз
гуанілатциклаза	ензим
гуанін	ентактин
дегідрогенази	еозин
денатурація	ергастоплазма
десенсибілізація	еритроцит
десмін	еукаріоти
десмоглеїни	еухроматин
десмоколіни	ефект Тиндаля
десмоплакини	

ефірні олії	каріоплазма
жири	каріорексис
жирні кислоти	каріотип
жирові краплини	каротиноїди
жовткові включення	каспази
забарвлення зрізів клітин	каталаза
загальне збільшення мікроскопа	каучук
заливка у пластичні середовища	кепіруючий білок
залишкові ядерця	кеппінг
заморожувальні мікротомми (кріо- томи)	кератини
затравка, або праймер	кінази
захисні включення	кінезин
зв'язувальний білок (BiP)	кінетохор
зовнішня мітохондріальна мем- брана	кінетохорні мікротрубочки
золь	клатрин
ідіограма	клітини-мішені
ізоформи	клітинна теорія
імерсійна рідина	клітинний центр
імпортини	клітинний цикл
імуноглобулін	клітинні рецептори
імуноцитохімія (імуногістохімія)	клонування
ініціатор	колаген
ініціація трансляції	колхіцин
інозитол	колцемід
інтегральні білки	компаратменталізація
інтегрини	конденсор
інтерференційний мікроскоп	конексини
інтрон	конексон
іонні канали	конститутивна секреція
іонофори	конститутивний гетерохроматин
кадгерини	конститутивний екзоцитоз
кальбіндин	контактне гальмування
кальмодулін	конфокальна мікроскопія
кальретикулін	котранспортні системи
кальсеквестрин	кристи
канадський або піховий бальзам	кросинговер
канал-утворювальні білки	крохмальні зерна
каналутворювальні іонофори	ламіни
канцерогенез	ламінін
кардіоліпін	ланцюг перенесення електронів
кардіоміопатії	лейкопласти
каріолема	лецитин
каріолізис	лігандозалежні ворітні канали
	лізосоми
	лізосомні ензимопатії

ліофільна сушки
ліпіди
ліпофусцин
локальні хімічні медіатори
люмінесцентний мікроскоп
мала ядерна РНК (мяРНК)
мала ядерцева РНК
маннозо-6-фосфатна група
маргінація хроматину
матрикс
матрична, або інформаційна
(мРНК, іРНК)
мезосоми
мейоз
меланін
мембранний потенціал
мембранний транспорт
метафаза
метацентричні хромосоми
метиленовий синій
метод заморожування-сколювання
метод культури тканин і клітин
метод прижиттєвого (вітального)
забарвлення
міжклітинні взаємодії
міжклітинні контакти
міжклітинноа сигналізація
міжмембранний (перимітохондрі-
альний) простір
міжмітохондріальні контакти (мМК)
міжполюсні мікротрубочки
мікро- й макрогвинт
мікроворсинки
мікроскоп
мікроскоп порівняння
мікроскопічна техніка
мікротомний ніж
мікротрубочки
мікрофіламенти
мікрохірургія
мікрургія
міні-міозин
мітоз
мітотичне веретено
мітохондрії

міцела
монотопні білки
мультивезикулярні тільця
НАД (нікотинамідаденіндинуклео-
тид)
НАДФ (нікотинамід-аденін-
динуклеотидфосфат)
напівдесмосоми
нейромедіатор
нейротрансмітери
нейтральний червоний
некроз
нуклеоїд
нуклеолін
нуклеопорини
нуклеосома
об'єкти
облямовані пухирці
облямовані ямки
обмежений протеоліз
обмінна дифузія
овоцити
окисне фосфорилування
оксалат кальцію
оксидаза d-амінокислот
окуляр
онкогенез
оперон
органели
ортомітоз
основа мікроскопа
основна речовина
парафін
пасивний транспорт
пемфігоїдний антиген
пептидил-дисульфід-ізомераза
первинні лізосоми
передядерцеві (пренуклеоларні)
тільця
перинуклеарний простір (люмен)
периферійні білки
пероксисоми
перфузія
пиреноїди
пігментні включення

пiкноз	процесинг
пiноцитоз	псевдоподії
плазмолема	пурини
плазмодесми	пуфи
плакоглобiн	радіоавтографія
пластиди	реакції проміжного обміну
пластидні центри	револьверна голівка
плевромітоз	регульована секреція
позаклітинний матрикс	ренатурація
полегшена дифузія	рентгенівський аналіз структур
полінуклеотидні ланцюги	репарація
поліпептиди	реплікація
поліплоїдія	реплікон
полісахариди	рефолдинг
полісоми	рецептори
політенні хромосоми	рецепторно-опосередкований ен-
політопні білки	доцитоз
поляризаційна мікроскопія	рибосомальна РНК (рРНК);
порин	рибосоми
постлізосоми	рибосомний повтор (РП)
постсинаптична сприймаюча ділянка	РНК
постсинаптичне ущільнення	РНК-полімераза
постсинтетичний період	роздільна здатність мікроскопа
посттрансляційні модифікації білка	розмноження
предметний столик	рослини
пресинаптичне закінчення	рухливі переносники іонів
пресинтетичний період	сайти термінації
пріон	самосплайсинг
прогресивне й регресивне забарв-	саркоплазматична сітка
лення	світловий мікроскоп
прокаріоти	секреторні (синаптичні) пухирці
проколаген	секреторні включення
проміжний ретикулум проміжні фі-	секреторні пухирці
ламенти	секреція
промотор	селектини
проопіомеланокортин	сигнали ядерного експорту
пропептиди	сигнали ядерної локалізації
пропластиди	сигнальна послідовність або <i>n</i> -
проста дифузія	кінцевий лідерний пептид
прості фіксатори	симбіоз
протеїнкіназа с	симпорт
протеоглікани	синапс
протеосома	синапсин
профаза	синаптична щілина
профілін	синтетичний період

скануюча (растрова) електронна мікроскопія	тимозин-β4
сканувальний близькопольний мікроскоп	топоізомераза
сканувальний тунельний мікроскоп	транскрипційні фактори (TF)
складні фіксатори	транскрипція
скорочення м'яза	транслокази
смоли	транслокація
спадкова нейропатія гігантських аксонів	транслокон
спадкові глікогенози	трансляція
спадкові ліпідози	трансмембранні білки
спадкові паренхіматозні диспротеїнози	транспептидація
спектрин	транс-поліус
сперматозоїд	транспортини
сплайсинг	транспортна РНК (тРНК);
сплайсосома	транспортні білки
старт-кодон	транс-сітка Гольджі
статеві хромосоми (гоносоми)	трансформація клітин
стериди	транскитоз
стоп-послідовність	тредмілінг
строма	тритій
субметацентричні хромосоми	тропоміозин
судан Ж	трофічні включення
судан чорний	тубулін
сфінгозин	тубус
сфінголіпід	убікітин
сфінгомієлін	ультрамикротом
талін	ультрафіолетовий мікроскоп
тандеми	уніпорт
тата-послідовність	уратоксидаза
тварини	урацил
тезауризмози	фагосоми
теломераза	фагоцитоз
теломери	ФАД (флавінаденіндинуклеотид)
телофаза	фазово-контрастна мікроскопія
темнопольна мікроскопія	фактор дозрівання
темнопольний мікроскоп	фактори термінації
тенасцин	фактори ініціації
термінальна сітка	факультативний гетерохроматин
термінальне кільце	фасцин
термінація трансляції	фермент
тигроїд	фібрилін
тилакоїди	фібрилярний центр
	фібробласти
	фібрoneктин
	фіксація
	філамін

фібрин	цереброзиди
фокальний контакт	цикл Кребса (цикл лимонної кислоти)
фолдази	циклінозалежні кінази
фолдинг	цикліни
фосфатаз	цис-поліус цистинурія
фосфатидилінозитол	цитозин
фосфогліцерид	цитозоль
фосфодіестераза	цитологія
фосфоліпаза С	цитоплазма
фосфоліпіди	цитоскелет
фосфорилювання	цитостатики
фотосинтез	цитотомія, чи цитокінез
фотосистема I	цитофотометрія
фотосистема II	цитохімія
фрагменти Оказакі	ціанобактерії
фрагмопласт	частка, що розпізнає сигнал
фузійний білок	шаперони
хвороба Альцгеймера	штатив
хвороби накопичення	щільні контакти
хімічний синапс	щільний фібрилярний компонент (зона)
хлоропласти	щільні контакти
хлорофіли	ядерна ламіна
холестерол	ядерний кошик
хондріом	ядерний матрикс
хроматиди	ядерно-поровий комплекс
хроматин	ядерно-цитоплазматичне співвідношення
хроматофори	ядерце
хромопласти	ядерцевий організатор
хромосоми	ядерцеорганізуючі регіони (ЯОР),
хромосоми типу лампових щіток	або ядерцеві організатори
хромосомні аберації	ядро
центр організації мікротрубочок	янус зелений
центріоль	
цераміди	
цереброгепаторенальний синдром	
Целвегера	

ІМЕННИЙ ПОКАЗЧИК

Аббе Е.	Мур
Альтман Р.	Мюреталера
Ардене фон	Негеллі К.
Барнет	Нікольсон Дж.
Бейкер	Ніренберг М.
Бенда К.	Нісль Ф.
Бенеден Е. Ван	Номарський
Бенш	Овертон Е.
Бернар К.	Освальд В.
Бідл Дж.	Палладе
Бінніг Г.	Піз
Блюм	Пол Д.В.
Браше	Портер
Бреннер	Портер
Бреннер С.	Портер
Брентон	Пфеффер В.
Броун Р.	Распайль Ф.-В.
Віков	Робертсон
Вільямс	Робертсон Дж.
Вірхов Р.	Роре Г.
Гертвіг О.	Россенбек
Глаурт	Руска
Гоморі	Сабатіні
Гортер Е.	Сенгер С.
Гофмейстер	Сіменс
Грендел Ф.	Сінгер
Грю Н.	Стир
Гук Р.	Страсбургер Е.
Даніеллі Л.	Такамацу
Даусон Г.	Татум Е.
Дюв Де	Уілкінс М.
Евері О.	Уотсон Дж.
Жакоб Ф.	Фельген
Касперсон	Флеммінг
Клобі де	Фонтана Ф.
Клод	Фуллам
Кноль	Хакслі
Колікер А.	Хартсекер Н.
Кребс Х.	Херші Д.
Крік Ф.	Холл
Кунс А.	Хорн
Лебедєв	Цейс К.
Левенгук А. ван	Чаргафф Е.
Лекассан	Чейз М.
Лінк	Шабадаш А.Л.
Мак-Карті М.	Шванн Т.
Мак-Леод К.	Шестранд
Мальпігі М.	Шлейден М.
Мано М.	Шнейдер
Маттеї Г.	Янсен Г.
Мінські М.	

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Основна

- Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки. – М., 1994.
- Дзержинський М.Е., Гарматіна С.М., Данілова О.В., Пазюк Л.М. Навч. посіб. до лабораторних занять з нормативного курсу "Загальна цитологія та гістологія" для студентів біологічного факультету. – К., 2002.
- Кузнецов С.Л., Мушамбаров Н.Н., Горячкина В.Л. Атлас по гистологии, цитологии и эмбриологии. – М., 2002.
- Лабораторные занятия по курсу гистологии, цитологии и эмбриологии / Под ред. Ю.И. Афанасьева, А.Н. Яцковского. – М., 1999.
- Трускавецький Є.С. Цитологія. – К., 2004.
- Фаллер Д.М., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки. – М., 2003.
- Ченцов Ю.С. Введение в клеточную биологию. – М., 2004.
- Ченцов Ю.С. Общая цитология. – М., 1995.
- Alberts B., Johnson A., Lewis J. et al. Molecular Biology of the Cell. – N.Y., 2002.
- Lodish H., Berk A., Zipursky S.L. et al. Molecular cell biology. – N.Y., 2002.
- Cooper G.M. The cell: a molecular approach. – N.Y., 2000

Додаткова

- Артишевский А.А., Леотюк А.С., Слука Б.А. Гистология с техникой гистологических исследований. – Минск, 1999.
- Афанасьев Ю.И., Котовский Е.Ф., Ноздрин В.И. Лабораторные занятия по курсу гистологии, цитологии и эмбриологии. – М., 1990.
- Бьков В.Л. Цитология и общая биология. – СПб., 1998.
- Волков К.С., Пасечко Н.В. Ультраструктура клітин і тканин (навчальний посібник – атлас з цитології і загальної гістології). – Тернопіль, 1997.
- Волкова О.В., Елецкий Ю.К. Основы гистологии с гистологической техникой. – М., 1982.
- Волкова О.В., Елецкий Ю.К., Дубовая Т.К. и др. Гистология, цитология и эмбриология. Атлас. – М., 1996.
- Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження в нормі та при патології. – Житомир, 2005.
- Гордієнко В.М., Дзержинський М.Е., Гарматіна С.М. Методичні рекомендації до лабораторних занять з курсу "Загальна цитологія та гістологія" для студентів біологічного факультету. – К., 1997.
- Грин Н., Стаут У., Тейлор Д. Биология : В 3 т. – М., 1990.
- Дюв К. де. Путешествие в мир живой клетки. – М., 1987.
- Елисеев В.Г., Афанасьев Ю.И., Котовский Е.Ф. Атлас микроскопического и ультрамикроскопического строения клеток, тканей, органов. – М., 1970.
- Зенгбуш П. Молекулярная и клеточная биология: В 3 т. – М., 1982.
- Карупу В.Я. Электронная микроскопия. – К., 1984.
- Кононский А.И. Гистохимия. – К., 1976.
- Кучеренко М.С., Бабенюк Ю.Д., Васильев О.М. Біохімія. – К., 2002.
- Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – М., 1969.
- Малый практикум по цитологии / Под ред. Ю.С. Ченцова. – М., 1977.
- Меркулов П.И. Курс патологистологической техники. – Л., 1969.
- Микроскопическая техника. / Под ред. Д.С. Саркисова Ю.Л. Перова. – М., 1996.

- Мушамбаров Н.Н., Кузнецов С.Л. Молекулярная биология. – М., 2003.
- Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М., 1988.
- Ролан Ж.-К., Селоши А., Селоши Д. Атлас по биологии клетки. – М., 1978.
- Роскин Г.И., Левинсон Б.Л. Микроскопическая техника. – М., 1951.
- Свенсон К., Узбстер П. Клетка. – М., 1980.
- Струков А.И., Серов В.В. Патологічна анатомія. – Харків, 1999.
- Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. – М., 1975.
- Шлопов В.Г. Основи патологічної анатомії людини. – К., 1999.

Навчальний посібник

**Держинський М.Е., Скрипник Н.В.,
Гарматіна С.М., Островська Г.В.,
Варенюк І.М., Пустовалов А.С.,
Вороніна О.К., Пазюк Л.М.,
Бужинська Н.О.**

ЗАГАЛЬНА ЦИТОЛОГІЯ ТА ГІСТОЛОГІЯ

НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК

ЧАСТИНА I

ЗАГАЛЬНА ЦИТОЛОГІЯ

Навчальний посібник

Редактор *В.Р. Філь*

Оригінал-макет виготовлено Видавничо-поліграфічним центром "Київський університет"



Підписано до друку 29.05.06. Формат 60х84^{1/16}. Вид. № 352. Гарнітура Arial. Папір офсетний.
Друк офсетний. Наклад 100. Ум. друк. арк. 6,77. Обл.-вид. арк. 7,92. Зам. № 26-3350.

Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет"
01601, Київ, б-р. Т. Шевченка, 14, кімн. 43,
☎ (38044) 239 3222; (38044) 239 3172; факс (38044) 239 3128.
Свідоцтво внесено до державного реєстру ДК № 1103 від 31.10.02.
E-mail: vydav_polygraph@univ.kiev.ua
WWW: <http://vpc.univ.kiev.ua>