

Министерство образования и науки Российской Федерации  
Федеральное агентство по образованию  
Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова

**И.П. Комарова**

# **ЦИТОЛОГИЯ**

*Текст лекций*

*Рекомендовано*

*Научно-методическим советом университета для студентов  
специальностей Биология, Экология и направления подготовки  
Экология и природопользование*

Ярославль 2006

УДК 576.3+574  
ББК Е 05я73  
К 63

*Рекомендовано  
Редакционно-издательским советом университета  
в качестве учебного издания. План 2006 года*

Рецензенты:

А.Г. Соломонов, канд. биол. наук, доцент кафедры анатомии  
ЯГПУ им. К.Д. Ушинского;  
кафедра гистологии Ярославской государственной медицинской академии

К 63      **Комарова, И.П.** Цитология: текст лекций / И.П. Комарова; Яросл.  
гос. ун-т. – Ярославль : ЯрГУ, 2006. – 83 с.  
ISBN 5-8397-0466-0

В тексте лекций излагаются основы синтетической науки – биологии клетки, освещается современное состояние общецитологических проблем, приводятся общие закономерности организации клетки во всем многообразии их проявления у разных объектов. Широко используется сравнительный материал.

Текст лекций предназначен для студентов, обучающихся по специальностям 020201 Биология и 020801 Экология, а также направлению 020800 Экология и природопользование (дисциплина "Цитология", блоки ЕН и ОПД), очной и заочной форм обучения.

Ил. 8. Библиогр.: 5 назв.

УДК 576.3+574  
ББК Е 05я73

ISBN 5-8397-0466-0      © Ярославский государственный  
университет им. П.Г. Демидова, 2006  
© И.П. Комарова, 2006

# Лекция 1.

## Введение в биологию клетки

За последние 50 лет произошло значительное развитие биологической науки: гигантский шаг вперед сделали молекулярная биология и молекулярная генетика, клеточная и молекулярная инженерия, что позволило внедрить в практику, в промышленность многие, казалось бы, чисто теоретические разработки в различных областях современной биологии. Резкое расширение интересов исследователей и развитие многих принципиально новых методических подходов привели к накоплению за последние годы множества новых фактов и представлений, касающихся практически всех аспектов биологии клетки как в изучении ее строения, так и в молекулярной и генетической ее организации. Поэтому чисто структурные, «цитологические», по представлению некоторых авторов, уровни изучения клетки как таковой уже просто невозможны хотя бы потому, что невозможно оторвать структуру от функции. Следовательно, и обучение предмету должно также строиться на структурно-функциональном подходе в изучении клетки.

В тексте лекций значительно изменен материал о клеточном ядре, о мембранной вакуолярной системе, о цитоскелете, о клеточном делении; другой особенностью является то, что оно дает сведения о строении и функционировании клеток разного происхождения: бактерий, растений, животных. Это важно, так как будущие зоологи, ботаники, микробиологи и вирусологи, не говоря уже о биохимиках, должны знать не только клетку во всех ее формах, но и главные закономерности, являющиеся общими для клеток вне зависимости от их органного, тканевого или видового происхождения.

Представляется важным в курсе клеточной биологии не только давать объем конкретных знаний, но и показывать, как эти знания были получены. Поэтому часто в описании клеточных структур и их свойств введены описания экспериментов и методических приемов современной науки и основных методов современной клеточной биологии. Это делать необходимо потому, что нередко именно новые методические приемы и разработки

могут быть основанием для развития новых направлений в изучении клетки.

## ***Предмет цитологии***

Цитология (от греч. *kútos* – ячейка, клетка) – это наука о клетке, в современном звучании – биология клетки. Из среды других биологических наук она выделилась более ста лет назад. Впервые обобщенные сведения о строении клеток были собраны в книге Ж.-Б. Карнуа «Биология клетки», вышедшей в 1884 г.

За последние десятилетия цитология из описательно-морфологической превратилась в экспериментальную науку, ставящую перед собой задачи изучения физиологии клетки, ее основных жизненных функций и свойств, ее биологии. Другими словами, современная цитология – это биология клетки. Возможность такого переключения интересов исследователей возникла в связи с тем, что цитология тесно сопряжена с научными и методическими достижениями биохимии, биофизики, молекулярной биологии и генетики. Это послужило основанием для углубленного изучения клетки как таковой, для изучения ее общих свойств и функционирования уже с позиций этих наук, что и дало основание для появления некой синтетической науки о клетке, а именно биологии клетки, или, как ее чаще называют, клеточной биологии. В этой науке плодотворно сочетаются как морфологические, так и молекулярно-биологические подходы; это позволяет в настоящее время считать, что термины "цитология" и "биология клетки" совпадают, так как предметом их изучения является клетка, имеющая свои собственные закономерности организации и функционирования. Цитология, или биология клетки, имеет большое значение для медицины, так как любые заболевания человеческого организма своей основой имеют патологию конкретных клеток или их групп, что важно для понимания развития болезни, ее диагностики и выбора методов лечения и профилактики заболевания. Длительное и тщательное изучение клетки как таковой привело к формулированию важного теоретического обобщения – так называемой клеточной теории, имеющей огромное общебиологическое значение.

## ***Клеточная теория***

Клеточная теория – это обобщенные представления о строении клеток как единиц живого, об их размножении и роли в формировании многоклеточных организмов. Появлению и формулированию отдельных положений клеточной теории предшествовал довольно длительный (более трехсот лет) период накопления наблюдений над строением различных одноклеточных и многоклеточных организмов растений и животных. Этот период был связан с усовершенствованием различных оптических методов исследований и расширением их применения.

Роберт Гук (1665) первым с помощью увеличительных линз наблюдал подразделение тканей пробки на «ячейки», или «клетки». Его описания послужили толчком для появления систематических исследований анатомии растений (Мальпиги, 1671; Грю, 1671), которые подтвердили наблюдения Роберта Гука и показали, что разнообразные части растений состоят из тесно расположенных «пузырьков», или «мешочков». Позднее А. Левенгук (1680) открыл мир одноклеточных организмов и впервые увидел клетки животных (эритроциты). Позднее клетки животных были описаны Ф. Фонтана, но эти и другие многочисленные исследования не привели в то время к пониманию универсальности клеточного строения, к четким представлениям о том, что же являет собой клетка. Прогресс в изучении микроанатомии клетки связан с развитием микроскопирования в XIX в. К этому времени изменились представления о строении клетки: главным в ее организации стала считаться не клеточная стенка, а собственно ее содержимое.

Дальнейшее развитие эти представления получили в работах Р. Вирхова (1868). Создание клеточной теории стало важнейшим событием в биологии, одним из решающих доказательств единства всей живой природы. Клеточная теория оказала значительное влияние на развитие биологии, послужила фундаментом для развития таких дисциплин, как эмбриология, гистология и физиология. Она дала основы для понимания жизни, для объяснения родственной взаимосвязи организмов, для понимания индивидуального развития.

Основные положения клеточной теории сохранили свое значение и на сегодняшний день, хотя за более чем сто пятьдесят лет

были получены новые сведения о структуре, жизнедеятельности и развитии клеток. В настоящее время клеточная теория постулирует следующее:

1. Клетка – элементарная единица живого: вне клетки нет жизни.

2. Клетка – единая система, включающая множество закономерно связанных друг с другом элементов, представляющих собой определенное целостное образование, состоящее из сопряженных функциональных единиц – органелл или органоидов.

3. Клетки сходны (гомологичны) по строению и по основным свойствам.

4. Клетки увеличиваются в числе путем деления исходной клетки после удвоения ее генетического материала (ДНК): клетка от клетки.

5. Многоклеточный организм представляет собой новую систему, сложный ансамбль из множества клеток, объединенных и интегрированных в системы тканей и органов, связанных друг с другом с помощью химических факторов, гуморальных и нервных (молекулярная регуляция).

6. Клетки многоклеточных организмов тотипотентны, т.е. обладают генетическими потенциями всех клеток данного организма, равнозначны по генетической информации, но отличаются друг от друга разной экспрессией (работой) различных генов, что приводит к их морфологическому и функциональному разнообразию – к дифференцированию.

## Лекция 2.

### **Клетка – элементарная единица живого**

Представление о клетке как о самостоятельной жизнедеятельной единице было дано еще в работах Т. Шванна. Р. Вирхов (1858) также считал, что каждая клетка несет в себе полную характеристику жизни: она есть последний морфологический элемент всех живых тел, и мы не имеем права искать настоящей жизнедеятельности вне ее.

Современная наука полностью доказала это положение. В популярной литературе клетку часто называют «атомом жизни»,

«квантом жизни», подчеркивая тем самым, что клетка — это наименьшая единица живого, вне которой нет жизни.

Такая общая характеристика клетки должна в свою очередь опираться на определение живого: что такое живое, что такое жизнь. Очень трудно дать окончательное определение живого, жизни. М.В. Волькенштейн (1965) дает следующее определение жизни: «Живые организмы представляют собой открытые (т.е. обменивающиеся с окружающей средой веществом и энергией), саморегулирующиеся и самовоспроизводящиеся системы, важнейшими функционирующими веществами которых являются белки и нуклеиновые кислоты. Живому свойствен ряд совокупных признаков, таких, как способность к воспроизведению (репродукции), использование и трансформация энергии, метаболизм, чувствительность, изменчивость. И такую совокупность этих признаков можно обнаружить на клеточном уровне. Нет меньшей единицы живого, чем клетка. Мы можем выделить из клетки отдельные ее компоненты или даже молекулы и убедиться, что многие из них обладают специфическими функциональными особенностями. Так, выделенные актомиозиновые фибриллы могут сокращаться в ответ на добавление АТФ; вне клетки прекрасно «работают» многие ферменты, участвующие в синтезе или распаде сложных биологических молекул; выделенные рибосомы в присутствии необходимых факторов могут синтезировать белок, разработаны не-клеточные системы ферментативного синтеза нуклеиновых кислот и т.д. Можно ли считать все эти клеточные компоненты, структуры, ферменты, молекулы живыми? Можно ли считать живым актомиозиновый комплекс? Думается, что нет, хотя бы потому, что он обладает лишь частью набора свойств живого. То же относится и к остальным примерам. Только клетка как таковая является наименьшей единицей, обладающей всеми вместе взятыми свойствами, отвечающими определению «живое».

Что же такое клетка, какое ей можно дать общее определение? Из школьного курса известно, что разнообразные клетки имеют совершенно несходную морфологию, их внешний вид и величины значительно расходятся. Действительно, что общего между звездчатой формой некоторых нервных клеток, шаровидной формой лейкоцита и трубкообразной формой клетки эндотелия? Такое же разнообразие форм встречается и среди микроорганизмов. Поэто-

му мы должны находить общность живых объектов не в их внешней форме, а в общности их внутренней организации.

Среди живых организмов встречаются два типа клеток. К наиболее простому типу строения можно отнести клетки бактерий и сине-зеленых водорослей, к более высокоорганизованным – клетки всех остальных живых существ, начиная от низших растений зеленых водорослей и кончая человеком. Принято называть клетки бактерий и сине-зеленых водорослей прокариотическими (доядерными клетками), а других представителей живого – эукариотическими (собственно ядерными), потому что у последних обязательной структурой служит клеточное ядро, отделенное от цитоплазмы ядерной оболочкой.

Содержимое прокариотической клетки одето плазматической мембраной, играющей роль активного барьера между собственно цитоплазмой клетки и внешней средой (рис. 1 и 2). Обычно снаружи от плазматической мембраны расположена клеточная стенка, или оболочка, – продукт клеточной активности.

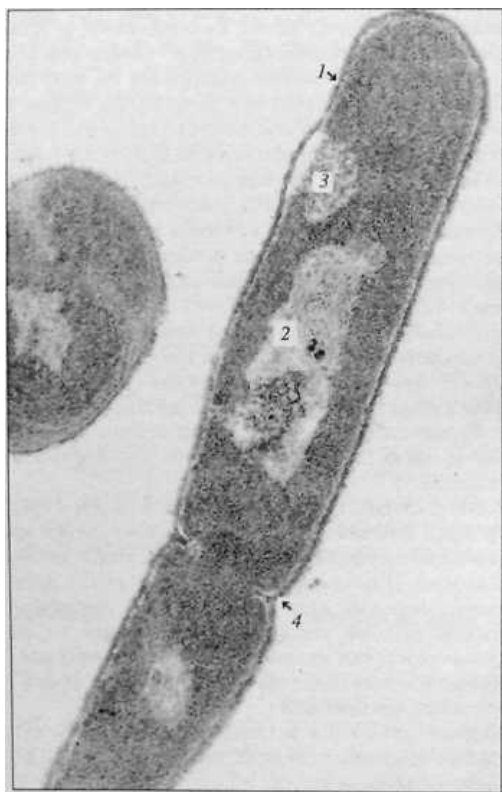
У прокариотических клеток морфологически выраженного ядра нет, но присутствует так называемый нуклеоид – зона, заполненная ДНК.

В основном веществе (или матриксе) цитоплазмы прокариотических клеток располагаются многочисленные рибосомы. Цитоплазматические же мембраны обычно выражены не так сильно, как у высшего типа (эукариотических). Кроме ядра, в цитоплазме существует целый набор специальных обязательных структур – органелл, выполняющих отдельные специфические функции. К числу органелл относят мембранные структуры: систему эндоплазматической сети (ретикулума), аппарат Гольджи, лизосомы, митохондрии, пластиды.

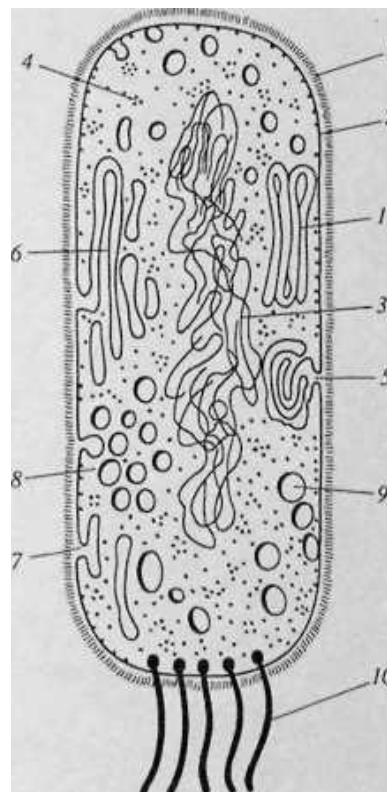
Несмотря на четкие морфологические отличия, и прокариотические и эукариотические клетки имеют много общего, что и позволяет отнести их к одной – клеточной – системе организации живого. И те и другие одеты плазматической мембраной, обладающей сходной функцией активного переноса веществ из клетки и внутрь ее; синтез белка у них происходит на рибосомах; сходны и другие процессы, такие, как синтез РНК и репликация ДНК, похожи и биоэнергетические процессы. Исходя из вышесказанного, клетке можно дать общее определение. Клетка – это ограниченная



активной мембраной, упорядоченная структурированная система биополимеров (белков, нуклеиновых кислот) и их макромолекулярных комплексов, участвующих в единой совокупности метаболических и энергетических процессов, осуществляющих поддержание и воспроизведение всей системы в целом.



**Рис. 1. Ультратонкий срез пропионовой бактерии (фото Л.И. Воробьевой):**  
1 – клеточная стенка; 2 – зона нуклеоида; 3 – мезосома; 4 – образование септы при делении клетки



**Рис. 2. Комбинированная схема прокариотической клетки:**  
1 – клеточная стенка; 2 – плазматическая мембрана; 3 – ДНК нуклеоид; 4 – полирибосомы цитоплазмы; 5 – мезосома; 6 – ламеллярные структуры; 7 – впячивания плазмалеммы; 8 – скопления хроматофоров; 9 – вакуоли с включениями; 10 – бактериальные жгутики; 11 – пластинчатые тилакоиды

Клетка – это самоподдерживающаяся и самовоспроизводящаяся система биополимеров. Это определение дает описание основных свойств «живого» – воспроизведение подобного себе из неподобного себе.

У многоклеточных организмов часть клеток утрачивает свойство размножаться, но они остаются клетками до тех пор, пока

способны осуществлять синтетические процессы, регулировать транспорт веществ между клеткой и средой, использовать для этих процессов энергию. Есть примеры безъядерных клеток (эритроциты и тромбоциты млекопитающих, некоторые мышечные клетки моллюсков), это скорее не собственно клетки, а их остатки – одетые мембраной участки цитоплазмы с ограниченными функциональными потенциями.

Одно время первый постулат клеточной теории подвергался многочисленным нападкам и критике. Некоторые авторы указывали, что в многоклеточных организмах, особенно у животных, кроме клеток, существуют и межклеточные, промежуточные вещества, которые тоже, казалось бы, обладают свойствами живого. Однако было показано, что межклеточные вещества (основное вещество и волокна соединительной ткани) представляют собой не самостоятельные образования, а продукты активности отдельных групп клеток.

Другие возражения касались того, что часто у животных, кроме отдельных клеток, встречаются так называемые симпласты и синцитии (соклетия), а у растительных клеток – плазмодии. По морфологическому описанию это крупные цитоплазматические образования со множеством ядер, не разделенные на отдельные клеточные территории. Примерами таких симпластов могут быть мышечные волокна позвоночных или эпидермис у ленточных червей, а также плазмодии у низших грибов миксомицетов. Однако если проследить за развитием таких неклеточных» форм, то легко убедиться в том, что они возникают вторично, за счет слияния отдельных клеток, или же в результате деления одних ядер без деления цитоплазмы, т.е. без цитотомии.

### ***Клетка – единая система сопряженных функциональных единиц***

В начале нашего изложения в согласии с клеточной теорией мы обсуждали первый ее постулат: клетка – наименьшая единица живого. Однако мы знаем о сложности строения этой «единицы», которая содержит в себе множество типов внутриклеточных структур, выполняющих разнообразные функции. При этом каждый компонент «специализирован» на выполнение одной собст-

венной группы функций, другие компоненты не могут работать «по совместительству», не могут принять на себя основные функции других внутриклеточных структур. Важно отметить, что каждая из функций является обязательной, без выполнения которой клетка не может существовать. Все это в значительной степени напоминает многоклеточный организм, который также является особой живой системой, обеспечивающей свое собственное существование и воспроизведение. Все тело организма может быть подразделено на ряд подсистем или систем: пищеварительную, выделительную, мышечную, нервную, половую и др., обеспечивающих отправление целого ряда организменных функций. Эти функции выполняются отдельными органами или группой органов: кишечник, почки, мозг и т.д. И в данном примере эти системы в основном монофункциональны и незаменимы. В общей системе организма как целого все они играют главные, а не подчиненные роли. Жизнь организма становится невозможной при выключении любой из этих систем.

Формально любую клетку можно «разложить» на ряд как бы независимых структурных и функциональных компонентов, выполняющих свои специфические функции. Так, эукариотические клетки принято разделять на ядра и цитоплазму. В цитоплазме, в свою очередь, выделяют гиалоплазму, или основную плазму клетки (цитозоль – растворимый компонент цитоплазмы по терминологии биохимиков), а также мембранные (митохондрии и пластиды) и немембранные органоиды (включения).

Рибосомы выполняют функции синтеза белка; цитоскелет – опорно-двигательная система клетки, вакуолярная система – система синтеза и внутриклеточного транспорта белковых биополимеров и генезиса многих клеточных мембран; митохондрии – органеллы энергообеспечения клетки за счет синтеза АТФ; пластиды растительных клеток – система синтеза АТФ и фотосинтеза; плазматическая мембрана – барьерно-рецепторно-транспортная система клетки.

Аналоги этих систем есть и у прокариот: это – плазматическая мембрана, которая кроме пограничной роли, участвует в процессах синтеза АТФ и фотосинтеза, цитозоль, рибосомы и даже элементы цитоскелета.

Важно подчеркнуть, что все эти подсистемы клетки, образуя некое сопряженное единство, находятся во взаимозависимости. Например, нарушение функции ядра сразу сказывается на синтезе клеточных белков, нарушение работы митохондрий прекращает все синтетические и обменные процессы в клетке, разрушение элементов цитоскелета прекращает внутриклеточный транспорт и т.д. Клетку можно сравнить с часовым механизмом, в котором повреждение любой его части приводит к остановке всей системы в целом.

### Лекция 3. Гомологичность клеток

Термин «гомологичность» означает сходство по коренным свойствам и отличие по второстепенным. Например, руки человека, крыло птицы, передняя нога лошади гомологичны не только по плану строения, но и по своему происхождению. Подобно этому можно говорить, что разные клетки организмов растительного или животного происхождения сходны, гомологичны.

Это обобщение, сделанное еще Т. Шванном, нашло свое подтверждение и развитие в современной цитологии, использующей новые достижения техники, такие, как электронный микроскоп. Гомологичность строения клеток наблюдается внутри каждого из типов клеток: прокариотическом и эукариотическом. Хорошо известно разнообразие клеток как бактериальных, так и высших организмов. Такое одновременное сходство строения и разнообразие форм определяются тем, что клеточные функции можно грубо подразделить на две группы: обязательные и факультативные. Обязательные функции, направленные на поддержание жизнеспособности самих клеток, осуществляются специальными внутриклеточными структурами.

Так, у всех прокариотических клеток плазматическая мембрана не только ограничивает собственно цитоплазму, но и функционирует как структура, обеспечивающая активный транспорт веществ и клеточных продуктов, как система окислительного фосфорилирования, как источник образования клеточных бактериальных стенок. ДНК нуклеоида бактерий и сине-зеленых водорослей обеспечивает генетические свойства клеток и т.д. Рибосомы цитоплазмы – единственные аппараты синтеза полипептидных цепей –

также обязательный компонент цитоплазмы прокариотической клетки. Разнообразие же прокариотических клеток – это результат приспособленности отдельных бактериальных одноклеточных организмов к условиям среды обитания. Прокариотические клетки могут отличаться друг от друга толщиной и устройством клеточной стенки, складчатостью плазматической мембраны, количеством и структурой цитоплазматических выростов этой мембраны, количеством и свойствами внутриклеточных вакуолей и мембранных скоплений и др. Но «общий план» строения прокариотических клеток остается постоянным.

Та же картина наблюдается и для эукариотических клеток. При изучении клеток растений и животных бросается в глаза разительное сходство не только в микроскопическом строении этих клеток, но и в деталях строения их отдельных компонентов. У эукариот, как и у прокариот, клетки отделены друг от друга или от внешней среды активной плазматической мембраной, которая может принимать участие в выделении веществ из клетки и построении внеклеточных структур, что особенно выражено у растений. У всех эукариотических клеток от низших грибов до позвоночных всегда имеется ядро, принципиально сходное по построению у разных организмов. Строение и функции внутриклеточных структур также в принципе определяются гомологичностью общеклеточных функций, связанных с поддержанием самой живой системы (синтез нуклеиновых кислот и белков, биоэнергетика клетки и т.д.).

Одновременно мы видим и разнообразие клеток даже в пределах одного многоклеточного организма. Например, по форме мало похожи друг на друга такие клетки, как мышечная или нервная. Современная цитология показывает, что различие клеток связано со специализацией их функций, с развитием особых клеточных аппаратов. В мышечной клетке, кроме общеклеточных структур (ЭПС, АГ, рибосомы и др.), встречаются в большом количестве фибриллы белка, которые и обеспечивают функцию сокращения.

В нервной клетке можно обнаружить те же компоненты, что присутствуют практически в любых эукариотических клетках, хотя они будут и не так обильны. Например, филаменты, сходные по химизму с актиновыми фибриллами мышечных клеток, имеются в цитоплазме фибробластов. В ней же обнаруживаются и микротрубочки. Следовательно, и микрофиламенты и микротрубочки пред-

ставляют собой обязательные обще клеточные структуры. Известно, что микрофиламенты клеток представлены актином, что указывает на их обще клеточное значение – обеспечивать подвижность клеток. В мышечных клетках эта функция стала главной, поэтому так сильно в них выражен сократительный аппарат.

Структурное разнообразие клеток многоклеточного организма можно объяснить отличием их специальных функций, осуществляющихся данной клеткой как бы на фоне общих, обязательных клеточных функций.

Другими словами, гомологичность в строении клеток определяется сходством обще клеточных функций, направленных на поддержание жизни самих клеток и на их размножение. Разнообразие же в строении клеток многоклеточных организмов – результат функциональной специализации.

### ***Клетка от клетки***

Формулировка положения «всякая клетка от клетки» («*omnis cellula et cellula*») связана с именем знаменитого ученого Р. Вирхова. Т. Шванн в своих обобщениях подчеркивал одинаковость принципа развития клеток как у животных, так и у растений. Это представление базировалось на выводах Шлейдена о том, что клетки могут образовываться из зернистой массы в недрах клеток заново (теория цитобластемы). Р. Вирхов как противник идеи о самозарождении жизни настаивал на «преемственном размножении клеток». Сегодня сформулированное Р. Вирховым афористическое определение можно считать биологическим законом. Размножение прокариотических и эукариотических клеток происходит только путем деления исходной клетки, которому предшествует воспроизведение ее генетического материала (редупликации ДНК).

У эукариотических клеток единственно полноценным способом деления является митоз (или мейоз при образовании половых клеток). При этом образуется специальный аппарат клеточного деления – клеточное веретено, с помощью которого равномерно и точно по двум дочерним клеткам распределяются хромосомы, до этого удвоившиеся в числе. Этот тип деления наблюдается у всех эукариотических (как растительных, так и животных) клеток.

Прокариотические клетки, делящиеся так называемым бинарным образом, также используют специальный аппарат деления клеток, значительно напоминающий митотический способ деления эукариот. Современная наука отвергает иные пути образования клеток и увеличение их числа. Появившиеся одно время описания образования клеток из «неклеточного живого вещества» оказались в лучшем случае результатом методических недостатков или даже ошибок, а в худшем – плодом научной недобросовестности.

Считалось, что клетки могут размножаться прямым делением, путем так называемого амитоза. Однако прямое деление клеточного ядра, а затем и цитоплазмы наблюдается только у некоторых инфузорий. При этом амитотически делится только макронуклеус, в то время как генеративные микронуклеусы делятся исключительно путем митоза, вслед за которым наступает деление клетки – цитотомия. Часто появление дву- или многоядерных клеток также считали результатом амитотического деления ядер. Однако появление многоядерных клеток является результатом либо слияния друг с другом нескольких клеток (гигантские многоядерные клетки тел воспаления, остеокласты и др.), либо нарушения самого процесса цитогонии.

### ***Клетка и многоклеточный организм***

Роль отдельных клеток в многоклеточном организме подвергалась неоднократному обсуждению и критике и претерпела наибольшие изменения. Т. Шванн представлял себе многогранную деятельность организма как сумму жизнедеятельности отдельных клеток. Это представление было в свое время принято и расширено Р. Вирховым и получило название теории «клеточного государства». Вирхов писал: «...всякое тело, сколько-нибудь значительного объема, представляет устройство, подобное общественному, где множество отдельных существований поставлено в зависимость друг от друга, но так, однако же, что каждое из них имеет свою собственную деятельность, и если побуждение к этой деятельности оно и получает от других частей, зато самую работу свою оно совершает собственными силами» (Вирхов, 1859). Ансамбли клеток объединяются в ткани, а ткани – в органы.

Организмы представляют собой сложные целостные интегрированные системы, связанные межклеточными, межтканевыми, межорганными формами регуляции. Вот почему мы говорим об организме как о целом. Специализация частей многоклеточного единого организма, расчлененность его функций дают ему большие возможности приспособления для размножения отдельных индивидуумов, для сохранения вида.

В итоге можно сказать, что клетка в многоклеточном организме – это единица функционирования и развития. Кроме того, первоосновой всех нормальных и патологических реакций целостного организма является клетка. Действительно, все многочисленные свойства и функции организма выполняются клетками. Когда в организм попадают чужеродные белки, например бактериальные, то развивается иммунологическая реакция. При этом в крови появляются белки-антитела, которые связываются с чужими белками и их инактивируют. Эти антитела представляют собой продукты синтетической активности определенных клеток – плазмоцитов. Но чтобы плазмоциты начали вырабатывать специфические антитела, необходимы работа и взаимодействие целого ряда специализированных клеток-лимфоцитов и макрофагов. Другой пример: простейший рефлекс – слюноотделение в ответ на предъявление пищи. Здесь проявляется очень сложная цепь клеточных функций: зрительные анализаторы (клетки) передают сигнал в кору головного мозга, где активируется целый ряд клеток, передающих сигналы на нейроны, которые посылают сигналы к разным клеткам слюнной железы, где одни клетки вырабатывают белковый секрет, другие выделяют слизистый секрет, третьи, мышечные, сокращаясь, выдавливают секрет в протоки, а затем в полость рта. Такие цепи последовательных функциональных актов отдельных групп клеток можно проследить на множестве примеров функциональных отправок организма.

Жизнь нового организма начинается с зиготы – клетки, получившейся в результате слияния женской половой клетки (ооцита) со спермием. При делении зиготы возникает клеточное потомство, которое также делится, увеличивается в числе и приобретает новые свойства, специализируется, дифференцируется. Рост организма, увеличение его массы есть результат размножения клеток и



выработки ими разнообразных продуктов (например, вещества кости или хряща).

И наконец, именно поражение клеток или изменение их свойств является основой для развития всех без исключения заболеваний. Данное положение было впервые сформулировано Р. Вирховым (1858) в его знаменитой книге «Клеточная патология». Классическим примером клеточной обусловленности развития болезни может служить сахарный диабет, широко распространенное заболевание современности. Его причина – недостаточность функционирования лишь одной группы клеток – так называемых В-клеток островков Лангенгарса в поджелудочной железе. Эти клетки вырабатывают гормон инсулин, участвующий в регуляции сахарного обмена организма.

Все эти примеры показывают важность изучения структуры свойств и функций клеток для самых различных биологических дисциплин и для медицины.

### ***Тотипотентность клеток***

Как же возникают разнообразные типы клеток в многоклеточных организмах? Известно, что организм человека, развившийся всего из одной исходной клетки – зиготы, содержит более 200 различных типов клеток. Каким образом возникает это разнообразие, сегодня до конца не ясно, так как еще мало конкретных данных, касающихся путей появления тех или иных клеточных типов.

Современная биология на базе представлений эмбриологии, молекулярной биологии и генетики считает, что индивидуальное развитие от одной клетки до многоклеточного зрелого организма – результат последовательного, избирательного включения работы разных генных участков хромосом в различных клетках. Это приводит к появлению клеток со специфическими для них структурами и особыми функциями, т.е. к процессу, называемому дифференцировкой.

Дифференцировка – это результат избирательной активности разных генов в клетках по мере развития многоклеточного организма. Другими словами, дифференцировка – это результат дифференциальной активности генов. Следовательно, можно утверждать, что любая клетка многоклеточного организма обладает

одинаковым полным фондом генетического материала, всеми возможными потенциями для проявления этого материала, т.е. тотипотентна, но в разных клетках одни и те же гены могут находиться или в активном, или в репрессированном состоянии. Эти представления базируются на большом экспериментальном материале. Стало возможным вырастить зрелое растение из одной его соматической клетки. Многочисленные опыты на лягушках показали, что ядра дифференцированных клеток сохраняют все те потенции, которые есть у ядра в зиготе.

Из этого вытекает, что клетки многоклеточных организмов обладают полным набором генетической информации, свойственной для данного организма, и в этом отношении они равнозначны. Но одновременно клетки отличаются по объему проявления этой информации, что и создает возможность появления специализированных клеток. Однако эти представления не могут быть приняты полностью, так как имеются исключения, показывающие, что при дифференцировке происходит количественное изменение генетического материала. Так, при дроблении яиц аскариды клетки, дающие начало соматическим тканям, теряют часть хромосомного материала (диминуция). Сходный процесс описан у насекомых – галлин. В этом случае при обособлении соматических ядер происходит значительная редукция хромосомного материала. При этом клетки половых зачатков содержат 40 хромосом, а соматические – всего 8. Следует помнить, что такие различия были обнаружены только между половыми и соматическими клетками; различий в хромосомных наборах между разными соматическими клетками не обнаружено. Однако в последнее время появились данные о том, что плазмоциты в результате специфической дифференцировки при иммунном ответе претерпевают молекулярные перестройки в области генов, ответственных за синтез антител, и тем самым генетически отличаются от остальных клеток.

Общим же законом для многоклеточных растительных и животных организмов является то, что, несмотря на структурные и функциональные различия клеток данного организма, в генетическом отношении они однородны, тождественны и тотипотентны.

Подводя итог рассмотрению современного состояния клеточной теории, нужно сказать, что именно клетка является единицей

развития многоклеточных, единиц их строения, функционирования и единиц патологических изменений организма.

Для того чтобы понять не только значение структурных особенностей клетки, но и, главное, разобраться в функциональных отправлениях ее отдельных компонентов и всей клетки в целом, чтобы сочетать изучение морфологии клетки с главнейшими биохимическими и генетическими особенностями ее устройства и работы, чтобы изучать клетку именно с позиций современной клеточной биологии, необходимо хотя бы вкратце вспомнить основные молекулярно-биологические закономерности, еще раз кратко обратиться к содержанию центральной догмы молекулярной биологии.

## **Лекция 4. Методология и методы изучения биологии клетки**

На современном этапе развития цитологии существуют два подхода к изучению общих закономерностей организации и эволюции клеток – дискретный и интегративный.

В эпоху научно-технической революции наибольшими успехами и интенсивным развитием характеризуется дискретный подход, поскольку большинство современных методов нацелено на детальное исследование химической организации субклеточных структур. При этом не всегда удастся провести четкую грань между структурно-биохимическими и цитологическими исследованиями, поскольку интересы цитологов и биохимиков часто совпадают. Правда, классические методы структурной биохимии основаны на разрушении клеток и получении в дальнейшем отдельных фракций исследуемых субклеточных структур с помощью дифференциального центрифугирования. «Классические» цитологические методы предполагают максимально возможное сохранение нативных субклеточных структур и локализацию в них конкретных химических соединений с помощью цитохимии и авторадиографии.

У каждого подхода в классическом исходном варианте есть и достоинства, и недостатки. Так, биохимики имеют возможность использовать мощный аппарат качественного и количественного анализа, однако им далеко не всегда удастся выделять «чистые»

фракции исследуемых структур, особенно при работе с гетерогенными клеточными системами. Для снятия подобных ограничений цитологические и биохимические подходы приходится сочетать в одном исследовании, а также специально разрабатывать пограничные методы, такие как гибридизация нуклеиновых кислот на срезах или иммуноцитохимия с применением моноклональных антител на электронно-микроскопическом уровне. По мере углубления наших представлений о химической природе субклеточных структур при дискретном подходе не всегда удастся провести четкую грань между исследованиями биохимиков и молекулярных биологов, с одной стороны, и цитологов – с другой. Обычно считается, что первые занимаются молекулярным и надмолекулярным уровнями организации, а вторые – субсистемным и органоидным. Но, естественно, такое подразделение весьма условно. Так, структурно-химическую организацию рибосом изучают в основном специалисты в области молекулярной биологии, а АТФ-синтазные комплексы во внутренней мембране митохондрий впервые были описаны цитологами.

Помимо структурно-химического анализа в современной цитологии существенную роль играют экспериментально-физиологические методы исследования. Они весьма многообразны. Обширную область здесь составляют работы на модельных объектах, таких как культуры эукариотных клеток. При этом возможно получение однородного клеточного материала в больших количествах, что весьма важно для биохимических исследований. Кроме того, на клеточных культурах можно изучать воздействие химических и физических агентов на отдельные субклеточные системы и клетки в целом, используя методы современного ультраструктурно-химического анализа, что дополняет исследование темой функционального значения субклеточных структур в нормальных условиях.

На культурах клеток разработан также комплекс специальных методов, в том числе гибридизация соматических клеток и получение гетерокарионов клеток филогенетически отдаленных организмов и др. Подобные экспериментальные методы позволяют манипулировать с такими клеточными системами, как ядро и цитоплазма, делают возможным не только дискретный, но и интегративный подход к исследованию общих закономерностей клеточной организации. Особенно большое значение для развития интегративного

подхода в современной цитологии имеют непрерывно расширяющиеся сравнительно-цитологические исследования.

Они развиваются в трех взаимно дополняющих друг друга направлениях. Суть первого из них заключается в выборе из большого многообразия метазойных клеток и клеток одноклеточных объекта, удобного для решения данной проблемы, и служит основой такого подхода, как представления о множестве (универсализме) основных субклеточных структур, что наиболее ярко отражено в концепции универсальных блоков. Суть ее заключается в том, что ныне существующие клетки претерпели длительную эволюцию еще в период становления многоклеточных организмов. В это время и были найдены исходные системы и доведены до совершенства все ключевые механизмы и «узлы» клеточной организации. У современных организмов (многоклеточных и одноклеточных) эволюция клеток идет путем комбинаторики давно возникших консервативных универсальных функциональных блоков. С этих позиций, особенно при дискретном анализе, естественно использовать те объекты (клетки), где таких блоков особенно много, они интенсивно функционируют и есть возможность их выделить методами дифференциального центрифугирования. Именно такой подход и был широко распространен на первых этапах современного периода развития цитологии. Результатом этого явилось детальное исследование довольно широкого, но все же ограниченного круга объектов, например культивируемых в культурах клеток фибробластов (для анализа организации цитоскелета), нервных клеток в культурах (как в период гистогенеза, так и дефинитивных – для исследования механизмов внутриклеточного транспорта), всасывающих клеток кишечного эпителия и клеток нефронов почки млекопитающих (для анализа принципов организации транспорта в асимметричных клетках). Этот подход широко применяется и в настоящее время и, вероятно будет применяться в будущем, особенно при дискретном анализе организации эукариотных клеток.

Второе направление сравнительно-цитологических исследований связано с использованием сравнительного метода по принципу гомологии – подхода, традиционного для эволюционной морфологии. Этот подход преследует ряд целей: уточнить естественную систему одноклеточных организмов, выявить их истинные филогенетические отношения и путем сопоставления древних клеточных

систем с более совершенными понять принципы эволюционного усложнения клеток. Если первое направление сравнительно-цитологических исследований носит скорее частно цитологический характер, то второе имеет прямое отношение к общебиологическим проблемам. Обычно при такого рода сопоставлениях признавалось прокариотное происхождение эукариотных клеток и, следовательно, признаки организации эукариотных клеток, сходные с прокариотными, рассматривались как примитивные. Примером такого подхода может служить создание многочисленных схем эволюции митоза, согласно которым участие ядерной оболочки в расхождении хромосом рассматривается как признак, первично унаследованный эукариотами от прокариотных клеток. С этих же позиций оценивается наличие у некоторых низших эукариот кольцевых молекул ДНК, отсутствие гистонов и цикла спирализации и деспирализации хромосом. В конечном счете результатами являются широко распространенные теории симбиотического происхождения митохондрий и хлоропластов.

Третье и наиболее важное направление сравнительных исследований в общей цитологии – это применение сравнительного метода по принципу функциональной аналогии. Теоретической основой такого подхода является идея о сосуществовании внутренних закономерностей эволюции живой материи в рамках клеточной организации при наличии ограничений на субклеточном и молекулярном уровнях. Изменения в эволюции далеко не во всех случаях сводятся к перекомбинации сходных или идентичных функциональных блоков в разных клетках. Более того, идентичность этих блоков скорее исключение, чем правило, поскольку эволюционируют целостные интегрированные клетки, а не отдельные их компоненты. Естественно при этом, что в разных клетках вполне возможно ожидать наличия значительных и нетождественных модификаций функционально аналогичных субклеточных структур. А следовательно, изучение наиболее существенных модификаций играет важнейшую роль в выяснении общебиологического значения этих структур и в понимании основных принципов их структурно-химической организации.

Таким образом, этот подход свободен от недостатка, присущего первому направлению сравнительно-цитологических иссле-

дований, отрицающему возможность существенных модификаций на низших субклеточных уровнях организации.

Следует еще раз подчеркнуть, что в основе применения сравнительного метода по принципу функциональной аналогии лежит именно признание факта эволюционных изменений целостной клетки как интегрированной системы, а не свободной комбинации отдельных функциональных блоков.

По мере расширения круга объектов, изучаемых методами цитологического и молекулярно-биологического анализа, становится очевидным, что прежние представления о филогенетических отношениях между одноклеточными организмами были весьма поверхностными; кроме того, безоговорочно принятая схема о прокариотном происхождении эукариотных клеток оказывается несостоятельной. Сейчас практически общепризнана идея о длительной параллельной эволюции по крайней мере трех типов клеток-организмов – предшественников эубактерий, архебактерий и эукариот. В связи с этим далеко не все их сходные черты являются результатом общности происхождения, ряд признаков и структур могли возникнуть независимо на сходной основе в результате параллельной эволюции в составе разных целостных клеток.

Такая логика рассуждений может быть применена и при сопоставлении некоторых современных протистов и метазойной клетки: находя у них общие признаки организации, вряд ли можно безоговорочно утверждать, что эти признаки отражают непосредственное родство этих клеток и были выработаны в эволюции в период преобладания одноклеточного уровня организации. Вполне возможно, что сходные признаки могли независимо появиться в результате направленных эволюционных изменений этих клеток в связи с выполнением сходных функциональных задач на какой-то общей основе и далеко не в тождественной форме. Во всяком случае сравнительный анализ в таком виде получает все большее применение в современной клеточной биологии при исследовании органоидного и высших надмолекулярных уровней организации.

Имеются попытки серьезной ревизии общепринятых представлений о молекулярной эволюции на уровне нуклеиновых кислот и отдельных белков: безоговорочность оценки степени родства по количеству совпадений последовательностей нуклеотидов или аминокислотных остатков сейчас сомнительна.

Обнаружены, например, функционально сходные, но не гомологичные белки фоторецепторов – бактериородопсин и родопсин. С другой стороны, в ряде случаев показано, что совпадение последовательности аминокислотных остатков функционально сходных белков далеко не всегда отражает действительное родство организмов, поскольку это постоянство может поддерживаться и параллельными, и возвратными мутациями. Многочисленные примеры весьма специфических функционально аналогичных белков у прокариот и метазойных клеток, что трудно объяснить с позиций гомологии. Разрешить это противоречие может представление о возможности естественного горизонтального переноса генетической информации от прокариотов к эукариотам.

Большим достоинством сравнительного метода является его акцент на представлении о клетке как элементарной целостной системе живой материи – как наиболее специфический для общей цитологии (как самостоятельной науки) подход к проблеме исследования общих закономерностей организации и эволюции клеток.

По сути дела, ведущая роль в новой синтетической науке о клетке должна принадлежать общей цитологии – науке об общих закономерностях клеточного уровня организации живой материи. Из современных биологических наук, исследующих этот уровень организации, общая цитология, расширяя целенаправленный сравнительно-цитологический подход, базирующийся на структурно-биохимических методах, наиболее подготовлена к глубокому обобщению огромного фактического материала, полученного при дискретном анализе отдельных клеточных структур в многочисленных разновидностях клеток. Ведущее положение должна занять общая цитология и в анализе клеточных интегративных механизмов. Важной предпосылкой к этому является интенсивная разработка новых экспериментальных моделей. Их углубленный анализ современными методами и широкое внедрение экспериментальных моделей в целенаправленные сравнительно-цитологические исследования должны обеспечить прогресс в решении одной из основных проблем организма и клеток – проблемы клеточной интеграции.

По мере накопления фактического материала об элементарных универсальных механизмах интеграции клетки и размахе их модификаций именно перед общей цитологией стоит задача про-



вести глубокий анализ исторической обусловленности организации частных клеточных систем и клеточной организации в целом, а также специфики эволюционного процесса на клеточном и субклеточном уровнях организации живой материи. Решению этой задачи способствует отчетливо проступающая сейчас в общецитологических исследованиях тенденция к сочетанию дискретного анализа отдельных компонентов клетки с изучением ее как целостной системы.

## Лекция 5. Поверхностный аппарат

Все прокариотные и эукариотные клетки состоят из трех частей: поверхностного аппарата, цитоплазмы и ядерного аппарата. Через поверхностный аппарат клетка взаимодействует с внешней средой и с соседними клетками. Этим определяются универсальные, общие для всех разновидностей клеток функции поверхностного аппарата: барьерная, транспортная и рецепторная. Кроме того, в специализированных клетках, наряду с общими, он может осуществлять и ряд специфических функций, присущих лишь данному типу клеток (например, механическая, тургорная функция клеточной стенки растительных клеток).

В поверхностном аппарате эукариотных клеток различают три субсистемы: плазматическую мембрану, надмембранный комплекс и субмембранную часть опорно-сократимого аппарата.

Одним из крупных достижений цитологических исследований последнего времени следует считать выяснение структурно-химической организации субсистем поверхностного аппарата с помощью дискретного и интегративного анализа. Результаты этих исследований, полученные вначале на ограниченном круге объектов (главным образом на культивируемых ин-витро клетках млекопитающих), стимулировали работы по выявлению особенностей поверхностных аппаратов у различных специализированных эукариотных и прокариотных клеток. Таким образом возникло и специальное направление в биологии клетки – изучение закономерностей организации поверхностного аппарата – направление, равноценное анализу рабочего аппарата цитоплазмы и ядерных структур.

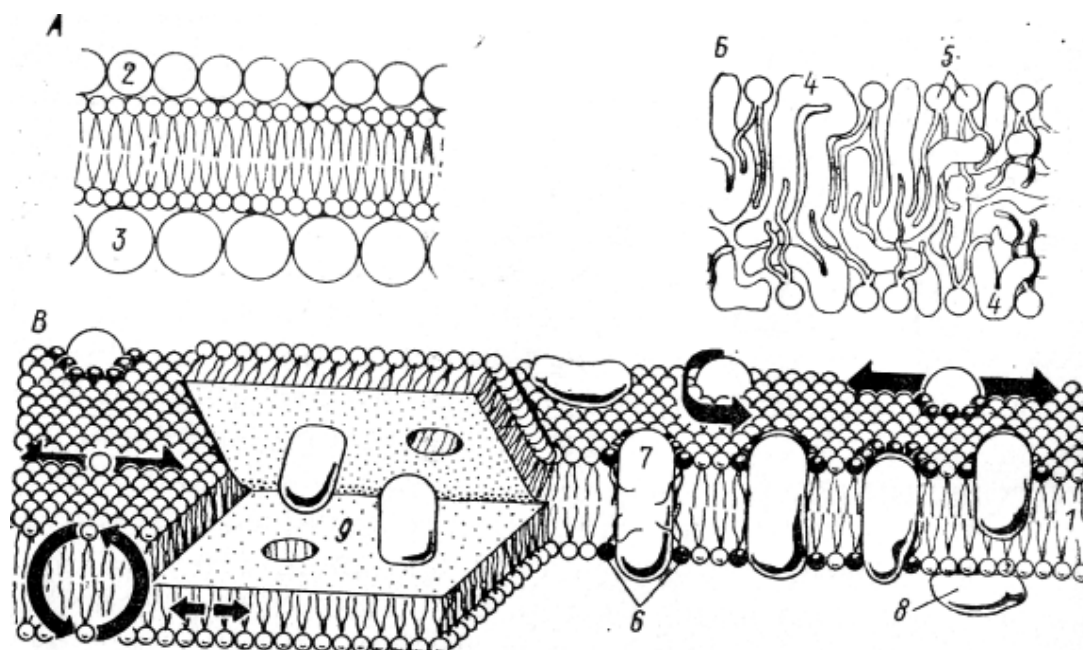
Мы рассмотрим состояние проблемы исследования структурно-химической организации поверхностного цитоскелета и на примере реализации некоторых функций покажем взаимосвязь и единство субсистем поверхностного аппарата.

### ***Плазматическая мембрана***

Плазматическая мембрана – основная, универсальная для всех клеток субсистема поверхностного аппарата. Основные ее химические компоненты – белки и липиды. В 1935 г. Д. Даниэли и Г. Дэвсон предложили первую, так называемую «бутербродную» модель организации мембраны (рис. 3). Согласно этой модели основу мембраны составляет двойной слой липидных молекул, обращенных друг к другу гидрофобными участками, а внешняя и внутренняя поверхности билипидного слоя, образованные гидрофильными головками молекул, покрыты сплошными слоями белка. Эта умозрительная модель получила морфологическое подтверждение в первых ультраструктурных исследованиях, выполненных в середине 50-х гг. XX в. В клетках была выявлена универсальная структура – трехслойные мембраны толщиной до 10 нм, состоящие из двух периферических электронно-плотных слоев и более толстого промежуточного слоя. Эта структура отвечала бутербродной модели Даниэли и Дэвсона: светлый слой представлял собой гидрофобную часть билипидной фазы, а электронно-плотные слои – гидрофильные головки липидных молекул и сплошные поверхностные слои белка (рис. 3, А).

Соответствие умозрительной модели результатам морфологических наблюдений создало впечатление о том, что проблема организации биологических мембран в принципе решена и «бутербродная» модель Даниэли и Дэвсона вполне справедлива. Кроме того, интенсивное изучение клеточных мембранных структур на первом этапе электронно-микроскопических исследований свидетельствовало в пользу универсальности их организации, в связи с чем в 60-х гг. Дж. Робертсоном была сформулирована теория унитарной биологической мембраны, в которой постулировалось трехслойное строение всех клеточных мембран. (В учебной литературе эти представления были вульгаризированы допущением

возможности прямого перехода плазматической мембраны в мембраны эндоплазматической сети.)



**Рис. 3. Модели организации мембран: бутербродная (А), плетеного коврика (Б), жидкостно-мозаичная (В)**

1 – билипидный слой; 2 – внутренний и 3 – наружный белковые слои; 4, 5 – сложные комплексы белков (4) и липидов (5); 6 – липиды, прилегающие к белковым глобулам; 7 – интегральные и 8 – периферические белки; 9 – участок скола мембраны. Стрелками указаны возможные направления перемещения белковых и липидных молекул.

Однако уже с середины 60-х гг. начали накапливаться факты, прямо или косвенно свидетельствующие против унитарной теории организации мембран и основных положений «бутербродной» модели. В частности, оказалось, что четкую трехслойную структуру при электронно-микроскопическом исследовании обнаруживают далеко не все мембраны. Появилось значительное количество данных, свидетельствующих о глобулярной структуре мембраны, причем это касалось как отдельных разновидностей мембран, так и разных участков одной и той же мембраны. Более того, оказалось, что ультраструктура мембран в значительной степени зависит от способа фиксации материала. И в связи с этим даже стали высказывать мнения о непригодности обычных электронно-микроскопических методов фиксации и обработки материала для изучения организации мембран.

Много фактов, труднообъяснимых с позиций «бутербродной» модели, было получено в цитофизиологических исследованиях. В частности, анализ процессов трансмембранного транспорта показал, что мембрана, по-видимому, гораздо лабильнее и динамичнее, чем это следует из «бутербродной» модели. Кроме того, значительная часть мембранных белков имеет глобулярную структуру, что также противоречит положениям этой модели, а легко экстрагируемые белки, т.е. те, которые удаляются агентами, разрушающими электростатические взаимодействия, составляют лишь малую часть мембранных белков. В основном же это трудноэкстрагируемые белки, связанные с липидами не электростатическими, а более прочными взаимодействиями.

Веским аргументом против трехслойной модели служит и термодинамическая неустойчивость такого рода системы. Так как гидрофильные компоненты липидного слоя, согласно Даниэлю и Дэвсону, изолированы от водной фазы сплошным слоем белковых молекул, то для поддержания такой структуры требуются значительные затраты энергии. В то же время белково-липидная система мембран в живой природе должна строиться на более выгодных термодинамических условиях. Среди многочисленных моделей мембран, предложенных в середине 60-х гг., начали выделяться те, в которых постулировалось наличие гидрофобно-гидрофильных взаимодействий, причем не только между липидными молекулами, но и между липидами и белками.

Согласно одной из таких моделей – модели липопротеинового коврика – мембраны образованы переплетением липидных и белковых мицелл (рис. 3, Б). Однако эта жесткая система реализуется, по-видимому, лишь в определенных участках некоторых мембран.

Наиболее универсальной и жизнеспособной из рассматриваемых оказалась так называемая жидкостно-мозаичная модель Зингера – Николсона (рис. 3, В), которая также постулирует наличие двойного слоя строго ориентированных липидных молекул. Однако в отличие от взглядов Даниэли и Дэвсона по жидкостно-мозаичной модели белки мембраны не образуют сплошного слоя на внутренней и внешней ее поверхностях. Согласно представлениям С. Зингера и Г. Николсона, в состав мембраны входят белки двух разновидностей: периферические и интегральные. Периферические белки действительно связаны с полярными головками

липидных молекул электростатическими взаимодействиями. Но они никогда не образуют сплошного слоя и, по сути дела, не являются белками собственно мембраны, а скорее связывают ее с над- или субмембранной системами поверхностного аппарата клетки. Основную роль в организации мембраны играют интегральные глобулярные белки, связанные с липидами гидрофобными взаимодействиями. Как правило, эти белки либо более или менее глубоко погружены в мембрану, либо пронизывают ее насквозь (рис. 3, В).

Такая организация мембраны предполагает возможность латерального смещения интегральных белковых глобул, т. е. динамичность и лабильность системы. Большим достоинством жидкостно-мозаичной модели является также ее термодинамическая устойчивость: для поддержания этой структуры не нужны затраты энергии.

Как следует из вышеизложенного, жидкостно-мозаичная модель организации мембраны значительно лучше соотносится с биохимическими данными по кинетике экстракции белков из мембранных фракций; кроме того, она находится в полном соответствии с реальными фактами преобладания в клеточных мембранах глобулярных белков.

К настоящему времени накопилось много морфобиохимических и экспериментально-цитологических данных в пользу жидкостно-мозаичной модели. Например, такие данные получены при использовании метода замораживания-скалывания, наиболее адекватного для морфологического исследования мембран. Сколы чаще всего проходят по середине гидрофобной фазы мембраны, и на репликах сколотых поверхностей удается видеть или бугорки глобул интегральных белков, выступающих над липидным слоем, или углубления на его поверхности, соответствующие местам расположения белковых глобул (рис. 3, В). Это связано с тем, что белковая молекула не раскалывается и отходит целиком в одну из половин «расщепленной» мембраны. Оказалось, что количество глобул интегральных белков и характер их расположения в мембране специфичны не только для плазматических мембран клеток различной специализации, но даже и для разных участков плазматических мембран одной и той же клетки (чаще всего узкоспециализированной, например, мембраны мужской половой клетки — сперматозоида).

Доказательства латерального перемещения белковых глобул в плоскости мембраны были получены в опытах по гибридизации клеток разных видов млекопитающих и определению видоспецифичных белков в плазматической мембране гибридной клетки методами иммуноцитохимии. Результаты экспериментов показывают, что через некоторое время после объединения плазматических мембран клеток человека и мыши «человеческие» и «мышинные» белки равномерно распределяются в плазматической мембране гибридной клетки (гетерокариона). Выравнивание концентрации белковых молекул может происходить благодаря свободной диффузии в плоскости мембраны, совершающейся без затраты энергии.

Итак, по жидкостно-мозаичной модели интегральные белки, мозаично распределенные в мембране, способны к латеральному перемещению в жидкостной липидной фазе. Такая модель предполагает возможность изменения степени жидкостности мембраны (рис. 3, В).

Создание жидкостно-мозаичной модели организации биологических мембран стимулировало изучение конкретных физико-химических свойств разнообразных липидов и белков, входящих в состав клеточных мембран.

*Липиды.* Липидный состав клеточных мембран многообразен и специфичен. Липидная фаза мембран у большинства клеток образована главным образом фосфолипидами. Наиболее распространенные из них – фосфоглицериды – производные фосфатидной кислоты: фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозит и фосфатидилсерин. Они имеют сходную структуру и состоят из гидрофильной полярной головки, образованной соответственно спиртами холином, этаноламином или инозитом и аминокислотой серином, и двух гидрофобных «хвостов углеводородных цепей остатков жирных кислот, связанных со спиртом глицерином.

Мембранные липиды другого класса – сфинголипиды – также состоят из полярной головки и двух неполярных «хвостов», один из которых образован остатком жирной кислоты, а другой – остатком длинноцепочечного аминоспирта сфингозина или его производных. Липиды этого класса, содержащие остатки сахаров, относят к гликолипидам.

Гликолипидов в мембране сравнительно немного. Их углеводная часть может достигать больших размеров. Среди гликоли-

пидов выделяют класс ганглиозидов, содержащих остатки моносахаров и один или несколько остатков N-ацетилнейраминовой или сиаловой кислоты. Такие липиды входят в состав гликокаликса (основного надмембранного компонента поверхностного аппарата клетки). Гликолипидам приписывают важную роль в рецепторной функции мембраны. Например, большое значение для работы химических синапсов имеют ганглиозиды. Их состав меняется при злокачественном перерождении клетки. Гликолипиды плазматической мембраны эритроцитов у человека определяют группу крови. Предполагают, что именно липиды необходимы для осуществления межклеточных коммуникаций в процессах эмбрио- и гистогенеза.

Важным компонентом плазматической мембраны животных клеток является стероидный липид холестерол. Молекула холестерола состоит из четырех конденсированных колец углеводорода. Одна ее часть гидрофильна, а другая – гидрофобна и погружена в билипидный слой. Количество холестерола в мембране не может варьировать и в значительной мере определяет степень жидкостности мембраны: чем больше холестерола, тем ниже жидкостность мембраны. У прокариот стероидные липиды встречаются довольно редко; в частности, они обнаружены у микоплазм и цианобактерий. У растительных клеток такие липиды представлены фитостеролами. Повышает жидкостность мембраны также и присутствие одноцепочечных диольных липидов (в их состав входит один остаток жирной кислоты); этими липидами обогащены мембраны клеток прорастающих ее и интенсивно регенерирующих тканей.

Степень жидкостности мембраны может определяться не только количественным составом липидов (в частности, относительным содержанием холестерола), но и соотношением насыщенных и ненасыщенных остатков жирных кислот в липидных молекулах. Чем больше в мембране остатков ненасыщенных жирных кислот, тем выше степень ее жидкостности.

Пластичность липидного компонента мембран ярко проявляется при адаптации животных к изменениям температуры окружающей среды. Так, в клеточных мембранах в зависимости от температуры может в широких пределах меняться степень насыщенности жирных кислот. Регуляция жидкостности мембранной фазы имеет большое значение, так как состояние липидного ком-

понента влияет на активность мембранных ферментов. Одним из основных свойств липидов плазматической мембраны является их способность к свободному латеральному перемещению и вращению. Возможен и переход молекул из одного монослоя в другой, как бы перекувыркивание (так называемый «флип-флоп»), но это происходит достаточно редко и с меньшей скоростью, чем латеральная диффузия.

Бислойная плазматическая мембрана асимметрична по составу липидов. В наружном монослое сосредоточены практически все гликолипиды; различные фосфолипиды распределены в бислое также неравномерно. Например, в плазматической мембране эритроцита в наружном монослое преобладает фосфатидилхолин, а во внутреннем – фосфатидилэтаноламин. Углеводородные цепи жирных кислот во внешнем монослое более длинные и, как правило, более насыщенные, чем во внутреннем. Асимметрия бислоя обеспечивает ряд важных свойств мембран и поддерживается в процессе функционирования с помощью разных механизмов, в частности, если истощить клетку по АТФ, то асимметрия будет нарушена и липидный состав монослоев выровняется.

Особое положение в бислое занимают и липиды, непосредственно примыкающие к глобулярным интегральным белкам. Они, как правило, более упорядочены и менее подвижны, чем в безбелковых участках мембраны. Белково-липидные молекулярные взаимодействия имеют существенное функциональное значение. Например, многие белки или белковые комплексы вообще не могут нормально функционировать без соответствующего липидного окружения.

Несмотря на универсальный характер рассмотренного типа организации липидного бислоя плазматической мембраны про- и эукариотных клеток, его нельзя считать единственно возможным. В последнее время появляются данные о том, что в функционирующих плазматических мембранах гораздо чаще, чем предполагалось, встречаются участки с временными или более-менее постоянными нарушениями типичной билипидной структуры. Такие нарушения могут происходить, если в мембране увеличено относительное количество интегральных белков (клетки прокариот, специализированные участки мембран метазойных клеток).



Весьма своеобразно устроена наружная мембрана грациликотных бактерий, значительная часть которой представлена липопротеинами и липополисахаридами. У прокариот можно найти и другие варианты необычной организации мембран. Например, у некоторых археобактерий вместо фосфолипидного бислоя имеется монослой дибифитанилтетраглицерида. Мембрана хлоросомы зеленых анаэробных фототрофных бактерий образована гликолипидным монослоем. Своеобразно построены мембраны бактериальных включений – газовых везикул, серных частиц, карбоксисом и др., достаточно широко распространенных у прокариот. Они состоят из монослоя белка толщиной 3,5 – 4 нм. При этом гидрофильные и гидрофобные аминокислоты распределены в белковой молекуле таким образом, что образуют срединный гидрофобный и наружные гидрофильные участки. Эти примеры отступления от обычного типа организации мембраны свидетельствуют о возможности варьирования мембранных компонентов при сохранении основного принципа гидрофобно-гидрофильных взаимодействий.

*Белки.* Если липиды являются идеальными соединениями для реализации универсальных барьерных свойств мембран, то белки обеспечивают выполнение важнейших клеточных функций – регулируемого транспорта, рецепции, структурной организации процессов метаболизма и др. Интегральные белки мембраны прочно связаны с липидами; в отличие от легко экстрагируемых периферических белков их нельзя выделить из мембран, не разрушив билипидный слой. Интегральные белки можно разделить на следующие группы: белки, пересекающие мембрану (трансмембранные), и белки, прилегающие к липидному слою, ковалентно связанные с ним, либо непосредственно, либо через олигосахарид. Среди трансмембранных белков можно выделить белки, закрепленные в мембране лишь концевым участком (т.е. большая часть их молекулы располагается вне бислоя), и белки, прошивающие мембрану несколько раз и образующие глобулу. Белки первого типа часто связаны с многочисленными углеводными остатками и являются, по существу, гликопротеинами. Их основная часть находится за пределами билипидного слоя и входит в состав гликокаликса. Такие белки выполняют рецепторные функции, антигенраспознавание. К такому же типу относят белки-ферменты. Белки второго типа осуществляют транспортную функцию.

Итак, мембрана представляет собой липидно-белковую систему, для которой характерны сложные взаимодействия как внутри липидной фазы и в белковых комплексах, так и между липидами и белками. Кроме того, и мембрана, и другие части поверхностного аппарата также участвуют в поддержании стабильности белков в мембране.

## **Лекция 6. Субмембранная часть поверхностного аппарата и цитоскелет**

У эукариотических клеток субмембранная часть поверхностного аппарата расположена в периферическом слое гиалоплазмы (примембранном цитозоле). Она занимает промежуточное положение и играет связующую роль между мембраной, цитоскелетом и основной гиалоплазмой. К субмембранным компонентам поверхностного аппарата следует отнести периферическую примембранную часть цитоскелета с белками, обеспечивающими связь с мембраной.

Идея о существовании сложной структурной организации основной цитоплазмы эукариотных клеток была широко распространена в цитологии в конце XIX – начале XX в. Однако по мере углубления представлений об организации живой цитоплазмы большинство наблюдаемых на фиксированных и окрашенных препаратах структур было признано артефактами, основную цитоплазму стали рассматривать как сложную коллоидную систему, не имеющую постоянных структурных компонентов. Элементы постоянного цитоскелета обнаруживались и на светооптическом уровне лишь в специализированных метазойных клетках (например, тонофибриллы в шиповатых клетках эпидермиса) и у одноклеточных организмов. Строгие научные доказательства наличия сложного цитоскелета как универсальной структуры в матриксе эукариотных клеток появились лишь в эру электронно-микроскопических исследований. При этом наиболее детальные работы вначале были выполнены на культивируемых фибробластах – излюбленном модельном объекте общей цитологии.

В настоящее время исследования организации цитоскелета, его связь с поверхностным аппаратом клетки, процессами внутрикле-

точного транспорта и клеточной подвижности составляют одну из актуальных общецитологических проблем. Накоплено много данных об организации цитоскелета и его примембранной периферической части как на модельных объектах, так и на специализированных метазойных клетках. Углубляются и расширяются представления об организации цитоскелета в клетках растений и у одноклеточных организмов. Все это позволяет дать довольно обстоятельную характеристику общих закономерностей организации цитоскелета – структур матрикса цитоплазмы эукариотных клеток.

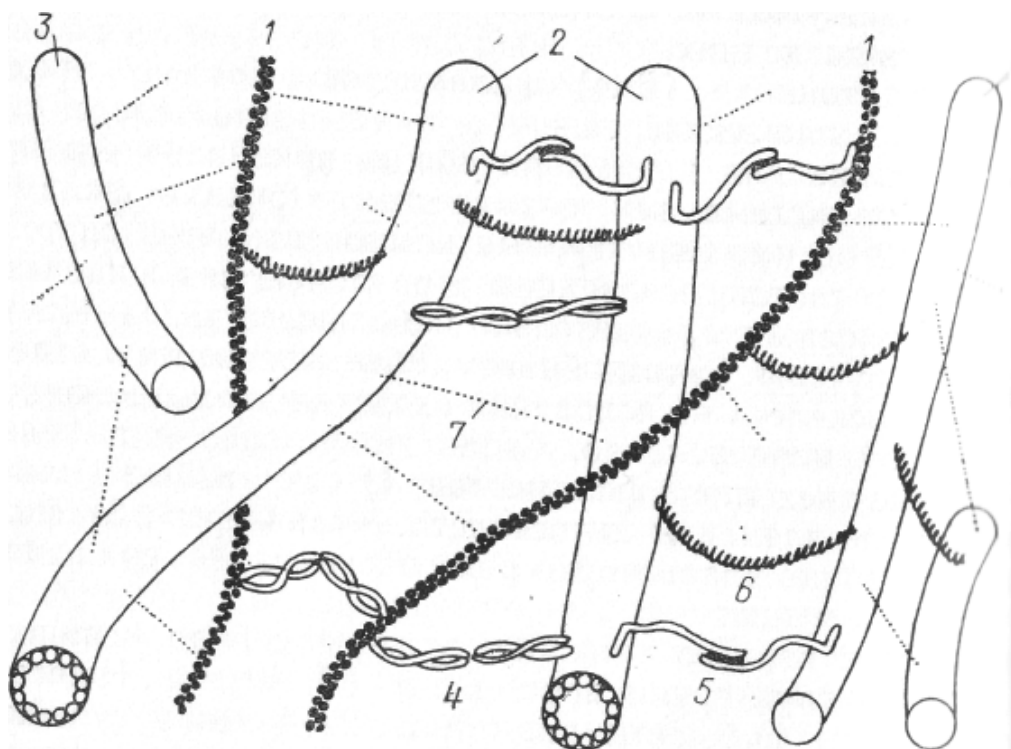
В наиболее полном виде он представлен тремя тесно взаимосвязанными, но достаточно индивидуализированными системами: 1) системой микрофиламентов (микрофибрилл), основу которой составляют чаще всего актиновые фибриллы толщиной 7 нм; 2) системой, основным компонентом которой являются тубулиновые микротрубочки диаметром 22 – 24 нм; 3) гетерогенной по белковому составу системой промежуточных филаментов диаметром около 10 нм.

Детальные исследования некоторых специализированных метазойных клеток, например мышечных, а также сравнительно-цитологический анализ клеток протистов и некоторых растений позволяют сейчас выделить четвертую, гетерогенную по происхождению цитоскелетную субсистему так называемых тонких филаментов диаметром  $< 5$  нм.

Еще одна разновидность тонких сократимых фибрилл обнаружена в спермиях нематод, лишенных жгутиков и вращающихся с помощью псевдоподий. Для этих клеток характерно отсутствие всех трех цитоскелетных систем: в них не выявляются ни актиновые микрофибриллы, ни микротрубочки, ни промежуточные филаменты. Тонкие филаменты сперматод состоят из белка, представленного тремя подтипами по 15 кДа и не похожего по свойствам ни на спазмин, ни на белок корневых нитей.

Другую группу тонких филаментов составляют структуры, представляющие собой связующие элементы цитоскелета – «линкеры» (рис. 4). Эти филаменты были обнаружены в псевдоподиях фораминифер, где они как бы сопровождают микротрубочки по всей длине псевдоподии, образуя связи между ними. Позднее такие структуры были выявлены в митотическом аппарате некоторых водорослей. В профазе они расположены диффузно, а в про-

метафазе собираются вблизи кинетохорных участков хромосом. Некоторые авторы приписывают им существенную роль в аккумуляции сил натяжения, обеспечивающих движение хромосом в анафазе. В культивируемых клетках при особых условиях обработки детергентами с помощью высоковольтной ультрамикроскопии удается наблюдать густую сеть тонких фибрилл диаметром 2,5 – 3 нм, пронизывающую всю цитоплазму и описанную под названием микротрабекулярной решетки. Однако до сих пор не удалось выделить белки, входящие в состав этой решетки, и многие исследователи склонны считать ее артефактом.



**Рис. 4. Взаимосвязь основных компонентов цитоскелета:**

1 – микрофиламенты, 2 – микротрубочки, 3 – промежуточные филаменты, 4, 5 – белки MAP-2, 6 – плектин, 7 – тонкие филаменты

Третью группу тонких филаментов составляют структуры, представляющие собой как бы основу саркомера поперечно-полосатых мышц. В максимально растянутых саркомерах выявляются многочисленные тонкие, параллельно расположенные фибриллы, идущие от одного зет-диска к другому. Особенно отчетливо они видны в участках саркомера, где заканчиваются миозиновые протофибриллы. Тонкие филаменты поперечно-полосатых мышц представляют собой структуры диаметром 4 – 5 нм, образованные

высокомолекулярным белком – коннектином, или титином (1 000 кДа). Предполагают, что эти структуры не только формируют эластичную решетку в саркомере, но и создают пассивное напряжение при растягивании мышцы. Титиноподобные белки обнаружены в эритроцитах, лейкоцитах, яйцеклетках морского ежа, но соответствующих им фибрилл в этих клетках выявить пока не удалось. Немышечные титины найдены также у миксомицета физариум полицефалум, где выявляется и система филаментов диаметром 2 – 3 нм.

Итак, за недостатком информации, мы должны довольствоваться весьма условной классификацией тонких филаментов, тем более многочисленные структуры подобного типа, выявленные у беспозвоночных (главным образом протистов) морфологическими методами, все еще ожидают биохимического анализа. Дальнейшие сравнительно-цитологические исследования, несомненно, внесут ясность в эти вопросы и приблизят нас к пониманию роли данных структур в целостной системе цитоскелета.

### ***Надмембранные структуры поверхностного аппарата***

Надмембранные структуры как эукариотных, так и прокариотных клеток весьма многообразны по химическому составу, взаимоотношениям с плазматической мембраной и функциональному значению. Первичное и основное назначение надмембранных структур – осуществление взаимодействия клеток с внешней средой или с другими клетками, т. е. реализация первых этапов рецепции в широком понимании этой функции. Однако в процессе эволюции и у прокариот, и у клеток эукариот надмембранные структуры стали играть важнейшую роль в реализации различных специфических функций: тургорной, механической, функции «ловушки» ионов, структурной организации ферментов и др.

У прокариот (эубактерии) эти структуры представлены клеточной стенкой, специфика которой служит основой для разделения их на две таксономические группы – грациликотные и фирмикотные. У фирмикотных бактерий клеточная стенка представлена сравнительно просто. К цитологической мембране прилегает жесткий муреиновый слой; возможно, он является одной гигантской

молекулой – мешком, обеспечивающим ригидность клеточной стенки и ее индивидуальную форму. В тесном контакте с муреиновым слоем находится второй полимер – тейхоевые кислоты. Он аккумулирует катионы и регулирует ионный обмен со средой. Наружные слои клеточной оболочки образованы белком в комплексе с липидами.

Клеточная стенка грациликотных бактерий гораздо сложнее. Над муреиновым слоем располагается вторая белково-липидная мембрана, в ее состав входят липополисахариды. Она ковалентно связана с муреином сшивками из молекул липопротейна мембраны. Отличается от обычной и наличием уникальных участков – поринов, участвующих в пассивном транспорте низкомолекулярных веществ, что позволяет наружной мембране грациликотных бактерий (так же как клеточной стенке фирмикотных) играть роль молекулярного сита. Липополисахариды наружной мембраны обеспечивают иммуноспецифичность и отвечают за первые этапы взаимодействия клеток друг с другом и паразитами прокариот – бактериофагами.

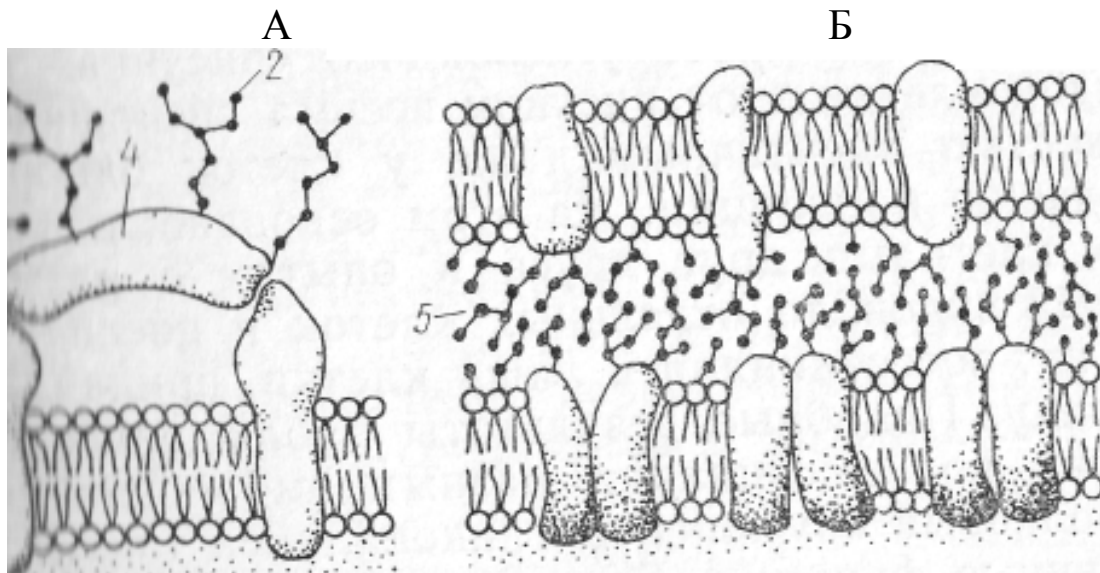
Пространство, ограниченное наружной и цитоплазматической мембранами, носит название периплазматического пространства и является уникальной принадлежностью грациликотных бактерий. В нем локализуется целый набор ферментов – фосфатаз, гидролаз, нуклеаз и т. д. Они расщепляют сравнительно высокомолекулярные питательные субстраты, а также разрушают собственный клеточный материал, выделяемый в окружающую среду из цитоплазмы. В известной степени периплазматическое пространство можно уподобить лизосоме эукариот. В зоне периплазмы оказывается возможным не только максимально эффективное протекание ферментативных реакций, но и изолирование от цитоплазмы соединений, представляющих угрозу для нормального функционирования. У бактерий, обладающих способностью к активному движению за счет жгутиков, клеточная стенка является компонентом локомоторного механизма.

Надмембранные структуры прокариот могут значительно варьировать по составу. Так, компонентом клеточной стенки некоторых археобактерий является псевдомуреин (в отличие от муреина большинства видов), у других археобактерий в клеточной стенке обнаруживаются гетерополисахариды и т.д. Однако все эти

разнообразные соединения образуют сходную в морфофункциональном отношении структуру, чрезвычайно важную для жизнедеятельности клеток. Надмембранные структуры характерны для огромного большинства прокариотных организмов; отсутствие же этих структур (как у микоплазмы и некоторых термоацидофильных архебактерий и т.д.) является результатом вторичной редукции.

## **Надмембранные структуры эукариотных клеток**

Все многообразие надмембранных структур эукариотных клеток можно разделить на две основные категории: собственно надмембранный комплекс (или гликокаликс) и производные надмембранного комплекса (или сложные надмембранные структуры). Гликокаликс, или собственно надмембранный комплекс (рис. 5), по структурно-функциональным особенностям можно подразделить на несколько разновидностей. К первой относится гликокаликс, в состав которого входят периферические белки мембраны, углеводные компоненты мембранных гликолипидов и гликопротеинов, а также рабочие части интегральных белков заякоренных в мембране одним  $\alpha$ -спиральным гидрофобным участком.



**Рис. 5. Организация надмембранного комплекса:**

А – эукариотная клетка, Б – область холинэргического синапса:

- 1 – плазматическая мембрана, 2, 3 – углеводные компоненты гликопротеидов (2) и гликолипидов (3), 4 – адсорбированный гликопротеин,  
5 – ганглиозиды в синаптической щели

Гликокаликс максимально развит в клетках мета- и протозойных организмов, имеется он и у клеток растений. Он играет важную роль в рецепторной функции поверхностного аппарата. В поверхностном аппарате эритроцитов млекопитающих мощно развитый углеводный компонент гликофорина создает отрицательный заряд на поверхности эритроцита, что препятствует их агглютинации.

В пре- и постсинаптических мембранах нервных клеток имеются в больших количествах специфические гликолипиды-ганглиозиды, которые участвуют в процессах, обуславливающих явление долговременной памяти. В солевых клетках гликокаликс играет роль ловушки ионов, участвует в реабсорбции. Углеводы гликокаликса являются и маркерами, придающими «свое лицо» клеткам.

Белки гликокаликса играют роль рецепторов (к иммуноглобулинам у В-лимфоцитов), ферментов, стабилизаторов интегральных белков в жидкой липидной фазе, участвуют в пристеночном пищеварении, адсорбирующих структурах и др.

## **Лекция 7. Цитоплазма**

### ***Общая характеристика***

Цитоплазма представляет собой рабочий аппарат клетки, в котором протекают основные метаболические процессы, сосредоточены общие и специальные органоиды. Специфическая дифференцировка клеток метазойных организмов и протистов чаще всего связана с гипертрофией одного либо нескольких органоидов или каких-то систем цитоплазмы.

В последние десятилетия достигнуты большие успехи в изучении отдельных органоидов и мембранных систем цитоплазмы. Понимание функционального значения этих образований возможно только через исследование их структурно-химической организации. В этом плане проведен детальный анализ основных органоидов белкового синтеза (рибосом) и систем, обеспечивающих энергетический обмен (митохондрий, хлоропластов, плазматических мембран прокариотных клеток). Большие успехи достигнуты



и в изучении аппарата Гольджи. Открытие новых сортировочных органоидов существенно изменило наши представления о взаимодействии внутриклеточных мембранных органоидов с плазматической мембраной клетки и ее поверхностным аппаратом в целом.

По современным воззрениям метаболический аппарат цитоплазмы представляет собой систему, которая состоит из основной цитоплазмы (гиалоплазмы), немембранных органоидов, мембранных структур и их содержимого. Если раньше гиалоплазму считали однородной коллоидной системой, то теперь ясно, что это гетерогенная фаза цитоплазмы, способная к формированию сложных структур. Особая субсистема гиалоплазмы – цитозоль – формируется в области всех мембранных и немембранных структур цитоплазмы; морфобиохимическая организация и функции такого цитозоля в области разных органоидов неодинаковы.

В цитозолях органоидов осуществляются основные этапы метаболического цикла клетки. Здесь же сосредоточены и основные запасные питательные вещества, совершенные катаболические структуры.

*Рибосомы.* Рибосомы – сравнительно недавно открытые органоиды клетки. В цитоплазме клеток животных они обнаружены в 50-е гг. XX в. с помощью электронного микроскопа. Затем их удалось выделить биохимическими методами, показать в них наличие РНК. Тогда же установили их участие в синтезе белка.

Рибосомы есть у про- и эукариотов. Различают две их разновидности у эукариотов: рибосомы цитоплазмы и рибосомы органоидов (пластид и митохондрий). Константа седиментации рибосом у прокариот 70 S, у эукариот – 80 S, у грибов и эвгленовых – 70 – 74 S, у высших животных – 55 – 60 S. Структура рибосом принципиально одинакова у всех организмов, она содержит две субчастицы: большую и малую. При сильном изменении среды цитоплазмы рибосома обратимо распадается на две субъединицы. В состав рибосомы входят РНК и белки, упакованные в рибонуклеопротеид. При снижении концентрации ионов магния в цитоплазме происходит разворачивание рибонуклеопротеидного тяжа и возникает более рыхлая структура, константа седиментации ее равна 35 S, затем переход в состояние 22 S и далее до 5 S.

Рибосомные РНК имеют характерную вторичную структуру, которая создается за счет коротких двуспиральных участков с

преобладанием «шпилек» (участки молекулы, образованные комплементарно связанными нуклеотидами, как в молекуле ДНК). Белковый состав рибосом гетерогенен. Молекулярная масса варьирует от 10 до 30 – 70 кДа. Число белков также разное: у эукариотов в рибосомах около 70 белков, у прокариот – 50.

Идентификацию рибосомных белков проводят с помощью электрофореза. Рибосомные белки обозначают по порядку их расположения на электрофореграммах малой субъединицы как S1, S2 и т.д., а большой субъединицы – L1, L2, L3 и др. Почти каждый белок рибосомы уникален, представлен одной молекулой на рибосому. Большая часть рибосомных белков относится к основным, но в рибосоме есть и небольшое количество нейтральных и кислых белков.

Одним из основных объектов исследования структурно-функциональной организации рибосом была *Escherichia coli*; оказалось, что в состав малой субъединицы рибосом *E. coli* входит 21 белок, в состав большой – 32. Определена также и первичная структура рибосомных белков *E. coli*; почти все их кислотные последовательности уникальны. Исключение составляет белок S20, идентичный белку L26, и белки L7 и L12 по сути являются одним и тем же белком (L7 – это ацетилированный по N-концу L12). L7/ L12 *E. coli* – кислый белок, составленный четырьмя молекулами на рибосому. И у про- и у эукариот в рибосомах имеются белки, аналогичные L7/ L12.

Рибосомные белки эволюционно весьма консервативны: гомология по аминокислотным последовательностям у филогенетически отдаленных групп может достигать 40 – 50%.

В составе рибосомы ее белки имеют в основном глобулярную конформацию, которую могут сохранять и при выделении. Белок L7/ L12, образующий в растворе димер, представляет собой палочкообразную молекулу; мономеры имеют глобулярный C-концевой домен и вытянутый N-концевой.

Важное значение для понимания работы рибосомы имеет выяснение характера взаимодействия ее компонентов. Некоторые белки рибосом связаны между собой в достаточно стабильные комплексы; 5S РНК взаимодействует с определенными белками большой субчастицы, образуя нуклеопроteidный комплекс, способный связывать тРНК. Интересно отметить, что наборы белков,

образующих комплексы с 5S тРНК, сходны у про- и эукариот. Ряд рибосомных белков специфичны и независимы от других белков и связываются с определенными участками высокомолекулярных РНК, это так называемые «коровые» белки. Наличие одного или нескольких «коровых» белков необходимо для связывания с РНК других рибосомных белков. Все эти взаимодействия играют важную роль в формировании функциональных (активных) центров рибосом, образующихся при укладке тРНК в субъединицы. Так, в рибосоме находятся иРНК-связывающий участок; участок для удержания аминоацил-тРНК (А-центр); пептидил-тРНК-связывающий участок (Р-центр), а также пептидил-трансферазный центр, в котором происходит образование пептидных связей.

Уже к концу XX в. охарактеризован рабочий цикл рибосом. Основные этапы синтеза белка можно представить следующим образом. Процесс белкового синтеза подразделяется на три этапа: инициацию (начало синтеза), элонгацию (образование пептидной цепочки) и терминацию (окончание) синтеза. Детали биосинтеза белка хорошо изучены у прокариот.

Приведенные примеры касаются именно этих организмов. При инициации синтеза белка происходит сборка рибосомы из субчастиц и присоединение к ней иРНК и формилметионил-тРНК. На этом этапе требуется участие внерибосомных белков и ГТФ. После сборки готового к синтезу белка комплекса происходит высвобождение белковых факторов, для чего необходимо расщепление ГТФ на ГДФ и неорганический фосфат. В рибосоме иРНК располагается между большой и малой частицами; формилметионил-тРНК, связанная с иницирующим кодоном иРНК, занимает Р-центр.

Стадия элонгации начинается с присоединения к рибосоме аминоацил-тРНК в А центре, что требует участия внерибосомных факторов и ГТФ. Затем образуется пептидная связь между карбоксильной группой формилметионильного остатка и аминогруппой аминоацильного остатка, находящегося в А-центре. Этот процесс получил название "транспептизация", т.е. перенос пептидильного остатка (в первом цикле элонгации эту роль выполняет формилметионин) на аатРНК, локализованную в А-центре. Затем наступает стадия транслокации – перемещение рибосомы вдоль иРНК на один кодон. В результате этого пептидил-тРНК из А-центра

попадает в Р-центр, а освободившаяся тРНК в Р-центре уходит из рибосомы. В этом процессе участвуют вне ribосомный фактор в комплексе с ГТФ. После стадии транслокации происходит гидролиз ГТФ с образованием ГДФ и неорганического фосфата и высвобождения фактора. В освободившийся А-центр садится новая молекула aa-тРНК; выбор aa-тРНК осуществляется кодоном, который в этот момент находится в непосредственной близости от А-центра. Стадия элонгации заканчивается, когда на малой рибосоме оказывается один из терминирующих кодонов иРНК.

Последняя стадия синтеза белка – терминация – происходит с участием вне ribосомных факторов, а также ГТФ; присоединение этих факторов вызывает отщепление готового полипептида от последней пептидил-тРНК. Освобождение рибосом от факторов терминации и иРНК и диссоциация рибосом на субъединицы требует участия дополнительных белковых факторов и ГТФ.

Таким образом, первый этап изучения рибосом ознаменован установлением принципов их структурной организации и созданием схемы их работы в процессе синтеза белка. Задачей дальнейшего исследования структурно-химической организации и функционирования рибосом стало уточнение морфологии субчастиц, выяснение конкретной роли каждого компонента в сложном процессе белкового синтеза.

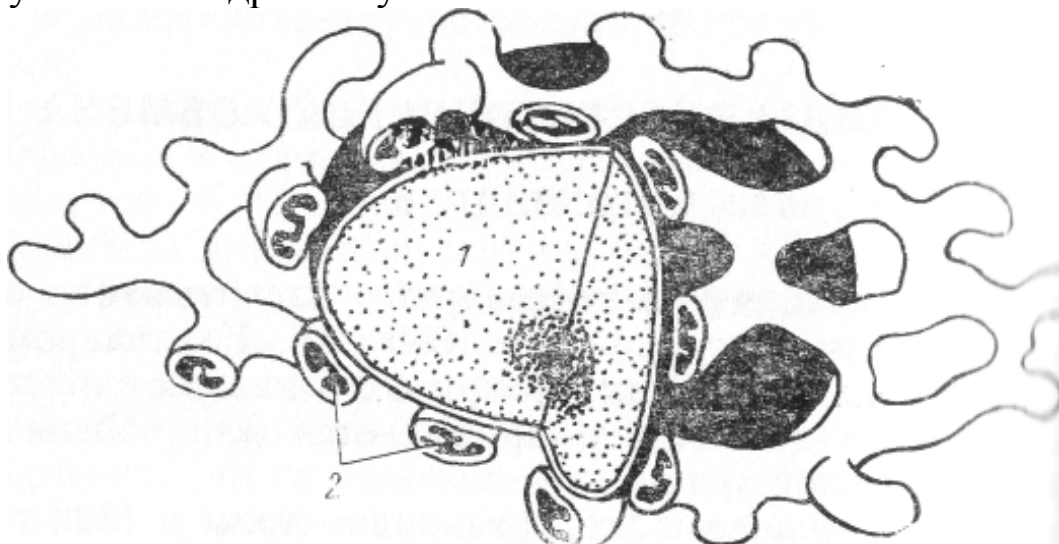
## ***Митохондрии***

История изучения митохондрий насчитывает около 130 лет. Называть митохондриями эти органоиды стали в 1898 г. Однако планомерное их изучение началось лишь в 40 – 50-х гг. XX в. К настоящему времени получены многочисленные сведения о морфофункциональной организации этих органоидов.

Митохондрии отсутствуют у прокариот и встречаются практически во всех клетках эукариот, за исключением некоторых паразитических протиста. Количество митохондрий в клетке значительно варьирует: клетки водорослей содержат по одной митохондрии, в сперматозоидах животных – от 20 до 72, в соматических клетках млекопитающих – 500 – 1 000, а у гигантской амёбы – до 500 000.

Однако объемные реконструкции митохондрий на срезах, полученные для многих объектов с помощью микроскопических исследований, показали, что количество митохондрий в клетках, по видимому, значительно меньше, чем предполагалось раньше.

Так, у дрожжей, грибов, в гаметах хламидомонады находится одна гигантская, сильно разветвленная митохондрия (рис. 6). Естественно, что на обычных срезах при этом выявляются многочисленные мелкие митохондрии. В фибробластах и нервных клетках мозга, культивируемых *in vitro*, при реконструкции обнаруживаются длинные нитевидные митохондрии, а в лимфоцитах — две-три крупные митохондрии, расположенные вокруг ядра. В поперечно-полосатых мышцах обнаруживается небольшое количество сильно разветвленных митохондрий, где они образует так называемую митохондриальную сеть.



**Рис. 6. Гигантская митохондрия гриба:**

1 — ядро, 2 — участки гигантской митохондрии на поперечном срезе

Пластичность организации митохондрий проявляется при изменениях в онтогенезе. Например, вначале в зооспоре одного из оомицетов всего одна крупная митохондрия. По мере развития она утончается, в ней появляются сквозные отверстия, в конечном итоге образуются четыре митохондрии: одна большая и три мелкие. У отдельных представителей большая часть мелких митохондрий в ооцитах по мере роста этих клеток сливаются, и возникает гигантская кольцевидная митохондрия, окружающая обычные мелкие митохондрии и некоторые другие органоиды (в частности, аппарат Гольджи). После попадания ооцитов в морскую воду про-

исходит развитие, а затем и фрагментация гигантской кольцевой митохондрии на многочисленные мелкие. Одновременно наблюдается активизация дыхания ооцита. Подобные изменения отмечаются в ходе клеточного цикла эвглен. Мелкие митохондрии объединяются в гигантскую, которая затем фрагментируется. И в этом случае активизация дыхания совпадает с образованием многочисленных мелких митохондрий из одной гигантской.

Размеры и форма митохондрий, выявляемых на обычных их срезах, сильно варьируют. По форме они могут быть нитевидными, палочковидными, округлыми и гантелевидными в пределах одной клетки. Кроме того, фазовоконтрастная микроскопия живых клеток показала, что митохондрии – очень динамичные структуры: они могут расти в длину, сжиматься, делиться – и все это быстрее, чем за одну минуту. Митохондрии, как правило, располагаются в клетке или около участков, где расходуется энергия, или около скоплений жира (липидных капель). Строгая ориентация имеется вдоль жгутика у сперматозоидов; в эпителиальных клетках почечных канальцев митохондрии локализуются в складках базальной мембраны, образуя вместе с нею аппарат активного транспорта ионов, свойственный выделительным и осморегулирующим эпителиям. Скопление митохондрий обнаруживается в области синапсов и в фоторецепторных клетках у основания наружного членика, где они составляют особую структуру – миоид. Естественно, что такое расположение уменьшает потери АТФ во время ее диффузии.

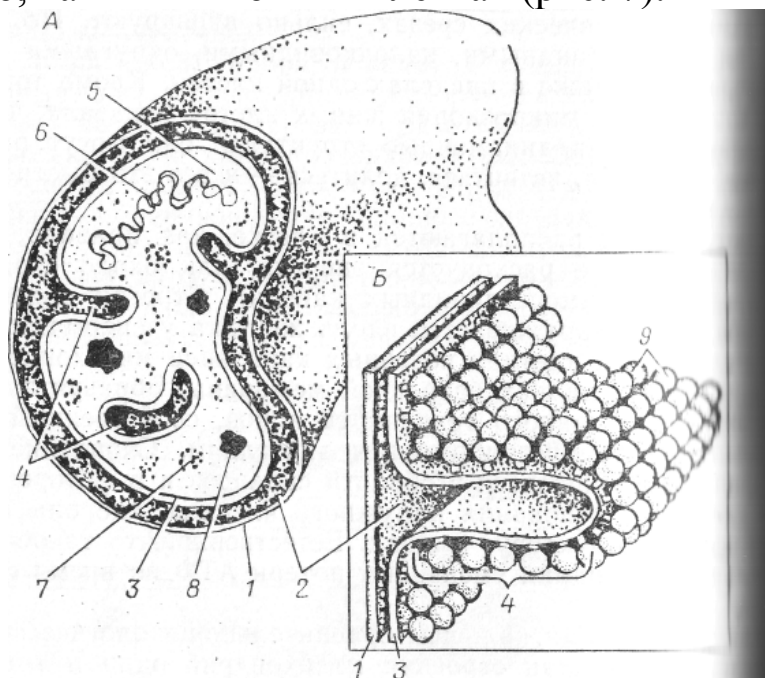
При электронно-микроскопических и сравнительно-цитологических исследованиях установлен один и тот же план строения митохондрий всех организмов – от дрожжей до высших животных.

Они окружены двумя мембранами, между которыми – межмембранное пространство. Внутренняя мембрана образует выросты в митохондриальный матрикс – кристы, в матриксе содержатся ДНК, рибосомы и различные включения. Рибосомы иногда прикрепляются к внутренней мембране или образуют полисомные цепочки.

Форма крист может быть пластинчатой или трубчатой, они располагаются либо параллельно длинной оси митохондрии (аксоны нервных клеток, поперечно-полосатые мышцы), либо перпендикулярно ей (клетки печени, почек). Кристы митохондрий

весьма лабильные образования и легко переходят из одной формы в другую, а иногда могут и редуцироваться. Например, при анаэробном развитии дрожжей кристы почти исчезают. Если вновь создать аэробные условия, то кристы восстанавливаются. Структура митохондрий зависит от функциональной активности ткани и организма. При этом может изменяться не только количество митохондриальных крист, но и количество самих митохондрий. В функционально аналогичных структурах у филогенетически отдаленных животных митохондрии больше схожи между собой, чем в разных органах одного и того же вида. Например, в структуре митохондрий летательных мышц голубя и стрекозы больше сходства, чем между митохондриями летательных и скелетных мышц стрекозы.

Количество и степень развития крист определяется функциональной активностью ткани. Так, в митохондриях спороцист *Fasciola hepatica*, паразита печени моллюсков, кристы единичны. У церкарии, ведущей активный свободный образ жизни, количество крист очень велико. Митохондрии большинства клеток обычно имеют мало крист, но в секреторных клетках растений их так же много, как и в животных клетках (рис. 7).



**Рис. 7. Общая схема организации митохондрии (А)  
и участка с грибовидными телами (Б):**

- 1 – наружная мембрана, 2 – межмембранное пространство, 3 – внутренняя мембрана, 4 – кристы, 5 – митохондриальный матрикс, 5 – ДНК, 7 – рибосомы, 8 – конкреции фосфата кальция, 9 – грибовидные тела

Будучи лабильной структурой, митохондрии легко поддаются адаптивным перестройкам. Так, при гиподинамии у крыс количество как крист в митохондриях, так и самих митохондрий в поперечно-полосатых мышцах резко уменьшается. Если этих животных заставить активно двигаться (например, плавать), митохондрии столь же быстро принимают прежний вид и восстанавливается их исходное количество.

Наружная и внутренняя мембраны митохондрий значительно различаются между собой. При повышении или понижении осмотического давления внутренняя мембрана соответственно сморщивается или расправляется, легко переходя из одного состояния в другое. А наружная мембрана способна лишь к необратимому растяжению, ведущему к разрыву.

Мембраны митохондрий неодинаковы и по структуре. Так, соотношение липидов и белков в наружной мембране составляет 0,88 (т.е. в ее состав входит меньше 20% белка, во внутренней мембране их 75%). Липиды внутренней и внешней мембран также различны – насыщенных жирных кислот во внутренней мембране больше. Неодинаков состав липидов в мембранах. Так, во внутренней мембране очень низок уровень содержания холестерина и высок – кардиолипина, двойного фосфоглицерида, состоящего из двух остатков фосфатидной кислоты, связанных друг с другом глицерином. Этот липид практически не встречается в других мембранах эукариотических клеток и, по-видимому, обуславливает малую проницаемость внутренней митохондриальной мембраны для ионов.

Неспецифическая проницаемость наружной мембраны определяется наличием в ней белков поринов, формирующих в липидном слое многочисленные каналы, через которые могут проходить молекулы массой до 10 кДа (своеобразное молекулярное сито, напоминающее наружную мембрану грациликутных бактерий).

Наружная мембрана митохондрий бедна ферментами; немного их и в межмембранном пространстве. Зато внутренняя мембрана и митохондриальный матрикс буквально насыщены ими. Так, в матриксе сосредоточены ферменты цикла Кребса и окисления жирных кислот. Во внутренней мембране локализованы цепь переноса электронов, дыхательная цепь, ферменты фосфорилирова-



ния и многочисленные транспортные системы, обеспечивающие ее избирательную проницаемость.

Порядок расположения переносчиков электронов был определен с помощью различных ингибиторов, блокирующих разные звенья дыхательной цепи.

Еще одной стороной деятельности митохондрий является специфический синтез, в котором они участвуют, это синтез стероидных гормонов (корковое вещество надпочечников) и отдельных липидов.

Митохондрии имеют свою собственную ДНК и собственный белоксинтезирующий аппарат.

Среди дрожжей есть как виды, геном которых по своей организации близок к митохондриальному геному позвоночных, так и виды, занимающие промежуточное положение. Однако широкий сравнительный подход к исследованию этой проблемы позволил обнаружить в организации митохондриальных геномов и черты, свидетельствующие об их эволюционной консервативности. К числу таких признаков относится относительное постоянство информационной емкости ДНК митохондрий. Как уже говорилось, в геномах многих типов подавляющего большинства изученных объектов митохондриальная ДНК кодирует все собственные вспомогательные и белоксинтезирующие системы (две высокомолекулярные рРНК и тРНК) и около 7 – 8 белков внутренней мембраны (ферменты дыхательной цепи и АТФ-синтазного комплекса).

Однако и в этом случае не обходится без исключений. Так, в митохондриях растений кодируется низкомолекулярная РНК рибосом. В митохондриальных геномах хламидомонады и инфузории тетрахимены содержится информация не обо всех тРНК: часть тРНК, работающих в митохондриях, закодирована в геноме ядра. А в ядерном геноме трипаносом представлена информация обо всех тРНК митохондриальной белоксинтезирующей системы. Существенные различия наблюдаются между разными объектами и в кодировании белков дыхательной цепи и АТФ-синтазного комплекса. Таким образом, на фоне относительного постоянства информационной емкости митохондриального генома выявляется и значительная эволюционная пластичность этого признака.

## **Пластиды**

Пластиды – специфические «энергодающие» органоиды растительных клеток – подробно рассматриваются в курсе анатомии и физиологии растений, поэтому мы уделяем этому органоиду значительно меньше внимания, чем митохондриям. Впервые пластиды были описаны А. Левенгуком в 1676 г. Интенсивное их изучение началось с конца XIX в. и продолжается в настоящее время в связи с анализом процессов фотосинтеза.

У высших растений выделяют следующие виды пластид – хлоропласты, лейкопласты и хромопласты, представляющие собой ряд взаимных превращений одного вида пластид в другой. Первые имеют преимущественно зеленый цвет, обусловленный присутствием хлорофилла, вторые бесцветны, а в третьих – красного, желтого или оранжевого цвета – хлорофилл маскируется большим количеством каротиноидов. Пластиды имеются во всех тканях у большинства высших растений, однако функционирующие хлоропласты обнаруживаются только в фотосинтезирующих тканях.

Число пластид на клетку значительно варьирует: от одной (у некоторых видов хламидомонад) до десятков и нескольких сотен (у высших растений). Обычно клетки высших растений содержат около 30 хлоропластов. Их размеры в среднем составляют 4 – 6 мкм. Общий план строения хлоропластов одинаков и у водорослей, и у высших растений.

Подобно митохондриям, хлоропласты имеют наружную и внутреннюю мембраны (также различающиеся по проницаемости) и строму, содержащую ДНК, рибосомы и включения (пластоглобулы, крахмальные зерна, белковые кристаллы). Кроме того, хлоропласты имеют систему внутренних мембран, формирующих плоские мешочки, которые называются тилакоидами. В строме хлоропласта тилакоиды могут располагаться поодиночке (агранулярные тилакоиды) или собираться в стопки, образуя так называемые граны. Число тилакоидов в гранах разных клеток может быть неодинаковым, так же как число гран в хлоропластах. Обычно пластиды имеют эллипсоидную форму.

Варьируя условия содержания растений, можно изменить структуру хлоропластов, которая зависит от различных факторов, в том числе изменений уровня освещенности, минерального пита-

ния, оттока сахаров, содержания гормонов и др. Лабильность хлоропластов выражается еще и в том, что мембраны соседних хлоропластов могут сливаться; это явление наблюдалось с помощью микрокино съемки.

Организация генома хлоропластов сходна с таковой у прокариот.

Сходство с митохондриями в том, что хлоропласты имеют собственную генетическую систему – ДНК хлоропласта – и собственный белок-синтезирующий аппарат. Так же как и митохондрии, хлоропласты делятся, их делению предшествует деление их ДНК, кроме того, деление происходит независимо от клеточного деления.

Наследование хлоропластов чаще всего смешанное. Ни у одной из исследованных групп растений не наблюдается наследования строго по какой-то одной родительской линии, встречаются случаи как материнского, так и отцовского наследования (хвойные), а также смешанные варианты (цветковые).

ДНК хлоропластов не гомологична ядерной и отличается от нее плавучей плотностью и содержанием ГЦ-пар. ДНК имеет кольцевую форму. ДНК хлоропластов содержит больше информации, чем у митохондрий, хлоропласты синтезируют также свои липиды.

## **Лекция 8. Мембранные структуры метаболического и катаболического обменов**

### ***Эндоплазматическая сеть (эндоплазматический ретикулум)***

Эндоплазматическая сеть (ЭПС) – сравнительно «молодой» мембранный органоид. История ее изучения началась с внедрения в практику цитологических исследований ультраструктурного анализа. Открытие эндоплазматической сети и доказательство наличия ее во всех эукариотных клетках нанесли серьезный удар по взглядам на цитоплазму как на бесструктурную коллоидную систему и легли в основу современных представлений о трехфазной организации цитоплазмы и универсальности принципа компартментализации и структурированности биохимических процессов.

Существуют две разновидности ЭПС: шероховатая и гранулированная; они ограничены мембраной толщиной 6 – 7 нм. Шероховатая ЭПС представляет собой уплощенные цистерны, на поверхности которых располагаются многочисленные рибосомы. Гладкая ЭПС, как правило, представлена тубулярными образованиями – системой переплетающихся трубочек, каналов и пузырьков небольшого диаметра. Между шероховатой и гладкой ЭПС существует структурная взаимосвязь вследствие прямого перехода мембран одного типа в мембраны другого, каналы и цистерны этих разновидностей ЭПС не разграничены специальными структурами. В некоторых клетках можно выделить промежуточный тип эндоплазматической сети, представляющий собой часть шероховатого ретикулума, утратившего рибосомы. Обычно такая сеть контактирует с аппаратом Гольджи. Именно в этих участках ЭПС происходит образование транспортных пузырьков, обеспечивающих связь ЭПС с аппаратом Гольджи.

Развитие двух типов эндоплазматической сети в онтогенезе идет не одновременно. Так, у гепатоцитов в эмбриональном гистогенезе гладкая ЭПС возникает только на относительно поздних этапах развития, когда клетки уже обладают выраженной системой шероховатой ЭПС.

Несмотря на структурную связь, обе разновидности ЭПС представляют собой достаточно дифференцированные органоиды метаболического аппарата, обеспечивающие выполнение разных функций.

Одна из главных и важнейших функций шероховатых ЭПС – обеспечение синтеза белков на прикрепленных рибосомах и внутриклеточного их транспорта. Выделяют три основные группы таких белков: секреторные белки, транспортируемые во внеклеточное пространство, некоторые белки клеточных мембран, специфические белки внутренней фазы мембранных органоидов (ЭПС, аппарата Гольджи, лизосом, матрикса митохондрий).

Степень развития шероховатой ЭПС может варьировать. Так, в клетках, специализирующихся на реализации общих функций организма (экзокринная часть поджелудочной железы позвоночных), шероховатая ЭПС представлена комплексом уплощенных цистерн, расположенных в базальном отделе клетки, причем ее цистерны занимают здесь основную часть цитоплазмы. Число

прикрепленных рибосом в этом случае так велико, что они образуют сплошной слой, контактирующий с таким же слоем рибосом соседней мембраны. В других клетках шероховатая ЭПС может быть представлена одиночными цистернами, разбросанными по цитоплазме. Шероховатая ЭПС может специализироваться на синтезе и транспортировке как одного вида белка (например, плазматических лимфоидной системы позвоночных), так и нескольких. В последнем случае возможны два варианта осуществления мультисинтетической деятельности клетки: без видимой морфологической дифференцировки белоксинтезирующего аппарата (секреторные клетки поджелудочной железы, гепатоциты и др.) и при отчетливой дифференцировке шероховатой сети и комплекса Гольджи на различные участки соответственно разным типам вырабатываемого клетками белкового секрета (полиплоидные клетки слюнных желез некоторых двукрылых).

### ***Аппарат Гольджи***

В отличие от плазматической сети, аппарат Гольджи открыт в конце XIX в. Его мембранные структуры способны осаждать соли осмия, что делает возможным изучение данной структуры в световом микроскопе. Разработка биохимических методов исследования, электронной микроскопии и цитохимии дала много новых и интересных подробностей в строении и функционировании АГ.

АГ – это особая часть метаболической системы цитоплазмы. В его состав входят цистерны, трубочки, различные вакуоли и транспортные пузырьки, содержимое этих мембранных компонентов и специальная зона гиалоплазмы – цитозоль АГ. В периферическом цитозоле расположены скопления полирибосом, синтезирующих ряд ферментов, специфических для мембран аппарата Гольджи.

АГ может быть представлен в клетке одним относительно крупным комплексом мембранных структур, находящимся в специальном участке гиалоплазмы. Однако чаще встречается целая система связанных между собой или изолированных комплексов, расположенных в разных участках цитоплазмы – диктиосомы, локализованные в апикальной, центральной и базальной частях цитоплазмы, они специализированы на обработке разных синтезируемых или поглощаемых из гемолимфы веществ.

Центральная, наиболее типичная и постоянная структура аппарата Гольджи – это стопка прилегающих друг к другу, уплощенных цистерн. Эта система цистерн поляризована как по вертикальной, так и по горизонтальной оси – от центра к периферии каждой цистерны. Вертикальная поляризация часто выражается в наличии двух полюсов, иногда различающихся по морфологии. Раньше их именовали выпуклым и вогнутым, проксимальным и дистальным, регенераторным и секреторным. Сейчас более принято называть соответственно цис- и трансполюсами. Выделяют также и среднюю (или медиальную) часть АГ. На цисполюсе комплекса краевые цистерны обычно находятся в тесном контакте с эндоплазматической сетью; они уплощены и изогнуты таким образом, что их выпуклая поверхность обращена к ЭПС. На трансполюсе цистерны обычно расширены и заполнены секретом. Здесь иногда наблюдается непосредственный переход целых цистерн или их периферических участков в секреторные гранулы. Цистерны трансполюса своей вогнутой поверхностью обращены к цитоплазме.

Цис- и трансчасти аппарата Гольджи существенно различаются и по химическому составу. С помощью цитохимических методов показано, например, что кислая фосфатаза локализуется и в трансчасти и не обнаруживается в цисчасти комплекса. Некоторые ферменты эндоплазматической сети, напротив, выявляются только в цисчасти АГ. Теми же методами можно продемонстрировать и дифференцировку цистерн по горизонтали. Так, в цисцистернах ферменты ЭПС концентрируются в их периферических участках. Аденилатциклаза локализуется в расширенных концевых участках трансцистерн и отсутствует в их центральной части. На периферии трансцистерн часто наблюдается и клатриновое «опушение».

Один из примеров типичной организации АГ дают слизистые бокаловидные клетки кишечного эпителия млекопитающих. Методом автордиографии на ультраструктурном уровне в них детально изучена динамика синтеза мукопротеидного секрета. Аппарат Гольджи в этих клетках занимает значительную область надъядерной цитоплазмы и представлен в основном одним крупным комплексом сильно изогнутых цистерн.

Особую роль в функционировании аппарата Гольджи играет собственно сортировочный компартмент, или так называемый трансраспределительный отдел (распределительный отдел транс-

части) комплекса – периферическая (по вертикали) часть трансцистерн. В этом компартменте, по-видимому, имеет место окончательное разделение трех потоков веществ – секреторных белков, мембранных и лизосомальных ферментов.

На примере многих клеток в настоящее время показано, что не характерный для надмембранной части поверхностного аппарата углеводный ансамбль, определяющий специфику данной клетки, формируется в пузырьках аппарата Гольджи и уже в готовом виде встраивается в систему поверхностного аппарата. Таким образом, именно через аппарат Гольджи может в конечном счете регулироваться состояние основной рецепторной системы клеток. В то же время наблюдаются не менее тесные отношения аппарата Гольджи с мембранами ЭПС и ядерной оболочки, что обуславливает возможность опосредованного или прямого генетического контроля за его синтетической деятельностью.

Аппарат Гольджи является органоидом, в котором протекают ключевые звенья анаболических процессов, но при этом не исчерпывается его исключительно важная роль в жизнедеятельности клетки. Функционирование АГ обеспечивает и нормальное протекание катаболических процессов, поскольку он принимает непосредственное участие в образовании лизосом.

В аппарате Гольджи проходят посттрансляционную обработку лизосомальные ферменты – гидролазы. Кроме того, он может тем или иным образом участвовать и в их структурной упаковке, т. е. образовании мукополисахаридного матрикса и мембран первичных лизосом. Основная часть этих процессов у некоторых клеток может осуществляться в специализированном отделе ЭПС, непосредственно связанном с АГ. В других клетках для этой цели используются отдельные цистерны аппарата Гольджи, по периферии которых формируются первичные лизосомы. В случае узкой специализации, например при образовании гигантской лизосомы сперматозоидов (акросомы), деятельность аппарата целиком направлена на образование этой структуры.

Участие аппарата Гольджи в катаболических процессах иногда не ограничивается образованием лизосом. Например, в клетках жирового тела насекомых за счет пузырьков АГ формируется мембрана аутофагической вакуоли, на первых этапах процесса не содержащей лизосомных гидролаз.

Итак, аппарат Гольджи – универсальный органоид эукариотных клеток, играющий важнейшую роль в организации внутриклеточного метаболизма. Функция его в клетках разных типов может проявляться неодинаково, что и обуславливает большое разнообразие морфофункциональной организации этого органоида. Однако, несмотря на многочисленные модификации комплекса, его общее функциональное значение и взаимосвязь с другими системами метаболического аппарата цитоплазмы, а также с поверхностным и ядерным аппаратами основаны на общих для всех клеток принципах. Этот органоид, в частности, обеспечивает заключительные этапы формирования и созревания всех секретируемых клеткой продуктов, ферментов лизосом, а также белков и гликопротеидов плазматической мембраны поверхностного аппарата клетки.

*Лизосомы.* Лизосомы – это мелкие пузырьки, ограниченные мембраной и содержащие набор гидролитических ферментов, основная функция которых – осуществление внутриклеточного пищеварения.

В отличие от ЭПС и митохондрий – органоидов, которые характеризуются активной компартментализацией, связанной с векторной организацией метаболических процессов, лизосомам свойственна так называемая пассивная компартментализация. Она заключается в необходимости временной изоляции, выключения из метаболизма гидролитических ферментов, и достигается это путем формирования мембранных везикул, содержащих гидролазы. Барьерная роль мембран лизосом дополняется разнообразными механизмами инактивации. Около 20% ферментов лизосом встроено в мембрану, временно инактивировано в ней благодаря связям с липидами. Остальная часть ферментов (около 80%) не связана с мембраной и находится в мукополисахаридном матриксе лизосом. Их инактивация, по-видимому, обеспечивается углеводными компонентами, входящими в состав молекул большинства ферментов, а также сложными мукополисахаридами типа гликозаминогликанов, имеющимися в матриксе лизосом. Определенную роль в инактивации лизосомальных ферментов играет кислая среда, которая поддерживается в лизосомах (РН 5).

В изучении механизмов регуляции рН среды в лизосомах достигнуты определенные успехи. Относительно давно был разработан и надежный метод определения величины рН вакуолярных



структур с помощью липофильных слабых оснований. Они проникают через мембраны, будучи незаряженными при нейтральных значениях pH, и аккумулируются в пузырьках с низким pH в тем больших количествах, чем ниже pH. Хорошие результаты дает применение в подобных исследованиях прижизненной окраски акридин-оранжем, поскольку при изменении его концентрации меняется интенсивность флюоресценции. Анализ с использованием липофильных оснований можно проводить и на светооптическом, и на электронно-микроскопическом уровнях с использованием меченых атомов.

Сложность организации мембран лизосом заключается в том, что их барьерная изолирующая функция носит относительный характер, т.е. при определенных условиях они способны и пропускать внутрь высокомолекулярные соединения, и обеспечивать регулируемый выход в цитоплазму гидролитических ферментов.

Лизосомы содержат ферменты, способные разрушить практически все природные полимерные органические соединения. В настоящее время в лизосомах выявлено около 40 гидролаз.

Лизосомы играют важную роль в процессах гетерофагии. После слияния первичных лизосом с фагосомой и образования фаголизосомы происходит активация гидролаз и они переваривают содержимое фаголизосомы. Продукты гидролиза поступают в гиалоплазму, а фаголизосома превращается во вторичную лизосому. Вторичная лизосома, накопив большое количество непереваренных остатков, образует остаточное тело – телолизому. Разновидностью лизосом, связанной с реализацией защитной функции, являются лизосомы гранулярных амебоцитов беспозвоночных, обеспечивающие свертывание гемолимфы. У мечехвоста они могут фагоцитировать бактерии, попавшие в тело животного. У насекомых такие клетки образуют склеротизированные защитные белковые пленки, у позвоночных лизосомы в клетках эпителия почек могут фагоцитировать, разлагая крупные органические молекулы, попадающие в первичную мочу.

## Лекция 9. Ядерный аппарат

### *Общая характеристика*

Биологическое значение ядерного аппарата определяется его главным компонентом – гигантскими молекулами ДНК, способными к репликации и транскрипции. Эти свойства лежат в основе важнейших функций ядерного аппарата любой клетки:

- удвоения наследственной информации и передачи ее в ряду клеточных поколений;

- регулируемой транскрипции участков молекул ДНК и транспорта синтезируемой РНК в цитоплазму клеток.

По характеру организации ядерного аппарата все клетки подразделяются на три группы: прокариотные, мезокариотные и эукариотные. Клетки прокариот не имеют ядерной оболочки, их кольцевая ДНК реплицируется по моноцистронному принципу, а ее регуляция – преимущественно по принципу положительной и отрицательной обратной связи.

Клетки эукариот, напротив, отличаются наличием сложного поверхностного аппарата ядра и мультирепликонным типом репликации молекул ДНК. Укладка ДНК в хромосомы осуществляется с помощью комплекса белков-гистонов. При прохождении клетками фаз цикла репродукции происходят закономерные изменения упаковки ДНК. Мезокариотные клетки по организации ядерного аппарата занимают как бы промежуточное положение. У мезокариот имеется хорошо развитый поверхностный аппарат, а укладка хромосом существенно отличается от эукариот.

В ядерном аппарате эукариот можно выделить ряд субсистем. Центральное место занимает совокупность интерфазных хромосом – хроматин, или ДНП. Другой подсистемой является «скелет» ядра, представляющий собой комплекс фибриллярных белков, который обеспечивает структурную организацию всех компонентов ядра и участвует в регуляции процессов репликации, транскрипции, созревания продуктов транскрипции (процессинге) и их выведения в цитоплазму.

Еще одна подсистема – это поверхностный аппарат ядра, в состав которого входит ядерная оболочка с поровыми комплексами и субмембранная пластинка, или ламина.

Последняя субсистема – кариоплазма – аналогична гиалоплазме; бесструктурная фаза, создающая специфическое для ядерных структур окружение обеспечивает возможность их нормального функционирования. Через систему поровых комплексов и мембран ядерной оболочки кариоплазма постоянно взаимодействует с гиалоплазмой.

### ***Ядерная оболочка***

Наличие на поверхности ядра мембраны отмечали еще в 1833 г. Затем последовали длительные дискуссии о реальности ядерной оболочки, но уже к 1880 г. ее существование не вызывало сомнений. Постулировалось и наличие в оболочке отверстий, или пор. Глубокое изучение этой и других частей поверхностного аппарата стало возможным только в электронно-микроскопическую эру. Биохимический анализ этой системы был длительное время затруднен из-за отсутствия надежных методов выделения чистых фракций отдельных субсистем поверхностного аппарата.

Ядерная оболочка является специализированной частью общей мембранной системы цитоплазмы. Она образована уплощенными цистернами и имеет соответственно наружную и внутреннюю мембраны и перинуклеарное пространство. Наружная мембрана ядерной оболочки переходит во внутреннюю в области ядерных пор. В этих участках располагаются белковые структуры порового комплекса, представленные системой упорядоченно ориентированных глобул. Внутреннюю мембрану ядерной оболочки на всем протяжении выстилает плотная пластинка (см. рис. 8), находящаяся в тесной структурной связи с белковыми глобулами порового комплекса.

Основное биологическое значение поверхностного аппарата ядра эукариотных клеток заключается в обеспечении регулируемого двустороннего взаимодействия ядра и цитоплазмы. Это взаимодействие осуществляется и через систему поровых комплексов, и за счет функциональной и структурной связи мембранных компонентов ядерной оболочки с мембранными структурами метаболического аппарата цитоплазмы. Таким образом, ядерная оболочка обеспечивает и компартментализацию ядерного аппарата, и его связь с мембранными органоидами цитоплазмы: наруж-

ная мембрана ядерной оболочки непосредственно переходит в мембраны эндоплазматической сети и перинуклеарное пространство оказывается связанным с полостью каналов и цистерн ЭПС.

Помимо таких постоянных структурных отношений во многих клетках наблюдаются и временные связи цистерн ядерной оболочки с аппаратом Гольджи, который часто локализуется в околоядерной области. Эти временные динамичные связи чаще образуются путем формирования транспортных пузырьков, отделяющихся от наружной мембраны ядерной оболочки и встраивающихся в цистерны Гольджи. Возможны и обратные отношения: например, аппарат Гольджи может принимать участие в формировании цистерн ядерной оболочки. Многие исследователи приписывают эту роль аппарату Гольджи при новообразовании ядерной оболочки после митоза или, по крайней мере, при экспериментальных нарушениях постмитотической ядерной оболочки.

Временные связи ядра и цитоплазмы могут, по-видимому, осуществляться путем локального разрушения ядерной оболочки, это обнаруживается, например, в нейронах млекопитающих. Предполагают, что таким способом может происходить экспорт субъединиц рибосом из ядра в цитоплазму.

Что касается тонкой морфологической организации мембран ядерной оболочки, то она принципиально не отличается от аналогичной организации других мембран метаболического аппарата цитоплазмы. В наружной мембране ядерной оболочки могут быть локализованы специфические белки для рецепции и транспортировки синтезируемых на рибосомах гистонов и, возможно, рецепторы к некоторым гормонам; удалось здесь обнаружить и ряд ферментов. Специфическими для внутренней мембраны являются интегральные белки, контактирующие с компонентами плотной пластинки. В области ядерных пор, на границе между наружной и внутренней мембранами, также локализуются особые интегральные белки.

### ***Поровые комплексы и плотная пластинка***

Субмембранная плотная пластинка (ламина), выстилающая внутреннюю ядерную мембрану, и связанные с ней сложные белковые структуры – поровые комплексы – представляют собой спе-

специализированную часть ядерного матрикса. Эта часть поверхностного аппарата ядра выполняет преимущественно две функции: обеспечивает взаимосвязь ядра и цитоплазмы, регулирует контакт карио- и гиалоплазмы в области ядерных пор, и играет структурно-организующую роль в отношении интерфазных хромосом, определенные участки которых связаны с плотной пластинкой.

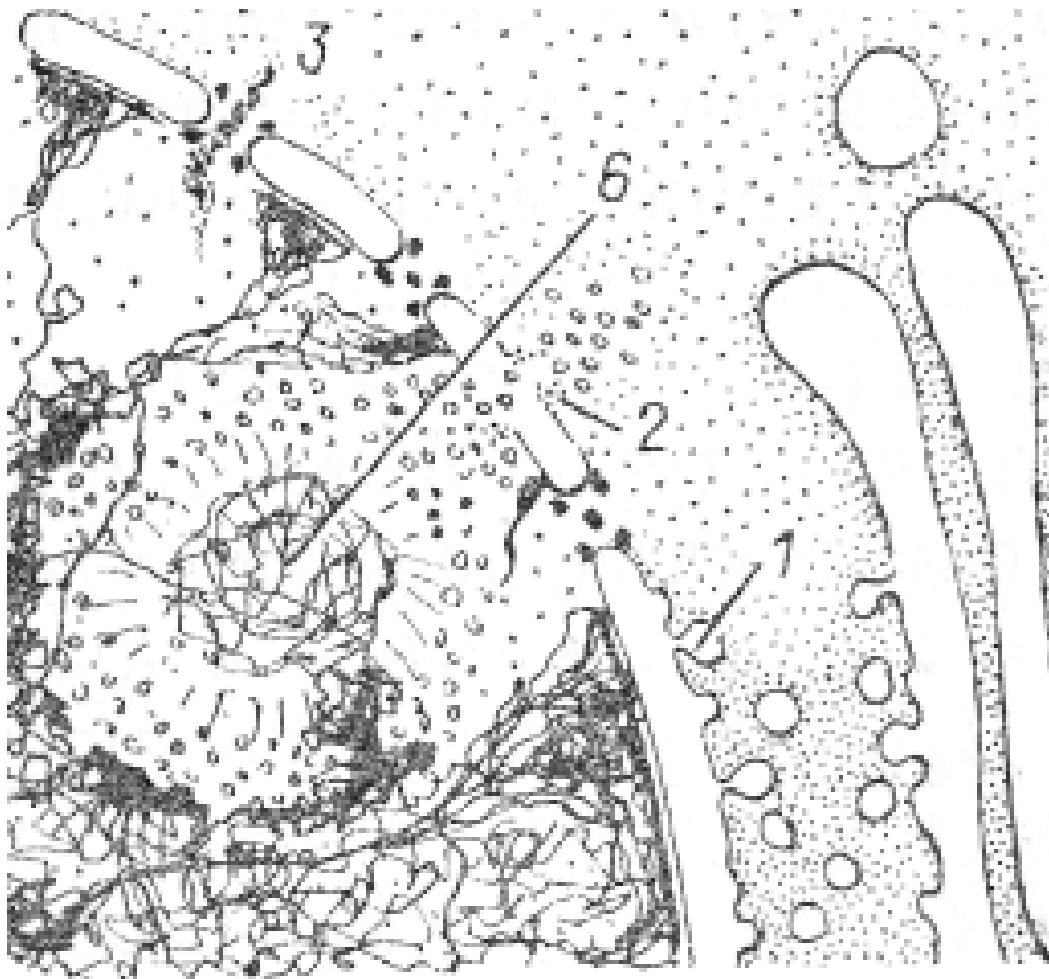
Поровый комплекс представляет собой два кольца из восьми белковых молекул (глобул) диаметром от 10 до 25 нм, расположенных по периферии отверстия в ядерной оболочке – в области слияния наружной и внутренней мембран. Иногда имеется и третье кольцо, расположенное между двумя другими. В центре поры находится гранула, связанная с периферическими глобулами и тонкими филаментами. В центральной грануле может располагаться канал, через который из ядра могут проходить высокомолекулярные соединения – белки и РНК.

В исследованиях 60 – 70-х гг. доказывалось, что существует тесная структурная связь поровых комплексов с плотной пластинкой. При действии детергентов удаляется ядерная оболочка, но форма ядра не изменяется. Таким образом, основную роль в скелетоорганизующей функции поверхностного аппарата играет именно плотная пластинка. При удалении ядерной мембраны поровые комплексы остаются связанными с пластинкой (рис. 8).

Многочисленные факты свидетельствуют об изменении количества ядерных пор, а значит, и поровых комплексов в разные периоды жизнедеятельности клетки, в разном функциональном состоянии и при эксперименте. Если активность ядерного аппарата возрастает, то количество поровых комплексов возрастает, то же самое происходит и при дифференцировке клетки.

Через поровый комплекс осуществляется транспорт различных соединений из ядра в цитоплазму (все типы РНК) и из цитоплазмы в ядро (различные белки). Низкомолекулярные соединения свободно диффундируют через пору. Так, полипептиды молекулярной массой до 30 – 35 кДа легко проходят в ядро, диффузия овальбумина (43 кДа) уже затруднена, а бычий альбумин (68 кДа) не может пройти барьер порового комплекса. Для транспортировки в ядро крупномолекулярных белков они должны иметь определенную сигнальную последовательность – сигнал ядерной локализации.

Хорошо изучена важная структура – плотная пластинка, или ламина. Степень ее развития может варьировать в широких пределах: от едва заметной (толщиной 20 – 80 нм) субмембранной сети до мощного (250 – 300 нм) сотового слоя ядра у некоторых простейших. Субмембранная пластинка обеспечивает прочную связь периферического ядерного матрикса с внутренней мембраной ядерной оболочки. Еще одна важная функция плотной пластинки – связь с цитоскелетом, в частности, с его промежуточными филаментами.



**Рис 8. Ядерная пора:**

- 1 – мембраны ядерной оболочки в направлении цистерн аппарата Гольджи,
- 2 – локальная разборка ядерной оболочки в области ядрышка транспорта субъединиц рибосом); 3 – прохождение частицы через глобулу порового комплекса; 4 – структурный переход оболочки ядра в мембраны ЭПС;
- 5 – поровые пластинки в цитоплазме клеток; 6 – ядрышко; 7 – ДНП

## ***Ядерный матрикс***

Представления о существовании интерхроматинового ядерного матрикса возникли еще до применения в цитологических исследованиях электронного микроскопа. Уже в 1942 г. в ядрах описывали мощную сеть остаточных белков после экстракции хроматина солевыми растворами. К 70-м гг. накопилось достаточно данных о существовании ядерного матрикса. При обработке ядра некоторыми агентами (хлорид натрия, детергенты, ДНКазой, РНКазой) извлекается до 99% ДНК, РНК, фосфолипидов и 90% белка. Остаточный компонент представляет собой ядерный матрикс или нехроматиновые структуры ядерного аппарата. Он состоит из 92,4% белка, 1,1% – РНК, 0,1% – ДНК, 1% – фосфолипидов, 5,5% – углеводов. Определенные участки молекул ДНК и РНК образуют тесные структурные и химические связи с белками ядерного матрикса и при обработке извлекаются вместе с ними.

Ядерный матрикс образует следующие морфологические структуры:

- 1) периферическую сеть (плотную пластинку и поровые комплексы);
- 2) остаточную ядрышковую сеть;
- 3) гранулярно-фибрилярную интерхроматиновую сеть. Избирательное удаление поверхностного аппарата ядра (оболочки и плотной пластинки с поровыми комплексами) не вызывает изменения формы ядра, сохраняющейся за счет остаточной сети ядерного матрикса.

Эти данные еще раз доказывают реальность существования ядерного матрикса и указывают на его скелетоорганизующую роль.

## ***Центральная догма молекулярной биологии***

Для того чтобы не только понять значение структурных особенностей клетки, но и, главное, разобраться в функциональных отправлениях ее отдельных компонентов и всей клетки в целом, чтобы сочетать изучение морфологии клетки с главнейшими биохимическими и генетическими особенностями ее устройства и работы, чтобы изучать клетку именно с позиций современной клеточной биологии, необходимо хотя бы вкратце вспомнить основ-

ные молекулярно-биологические закономерности, еще раз обратиться к содержанию центральной догмы молекулярной биологии.

Клетка как таковая выполняет множество разнообразных функций. Как мы уже говорили, часть из них – общеклеточные, часть – специальные, характерные для особых клеточных типов. Главными рабочими механизмами выполнения этих функций являются белки или их комплексы с другими биологическими макромолекулами, такими, как нуклеиновые кислоты, липиды и полисахариды. Например, известно, что процессы транспорта в клетке разнообразных веществ, начиная с ионов и кончая макромолекулами, определяются работой специальных белков или липопротеиновых комплексов, входящих в состав плазматической и иных клеточных мембран. Практически все процессы синтеза, распада, перестройки разных белков, нуклеиновых кислот, липидов, углеводов происходят в результате активности специфических для каждой отдельной реакции белков-ферментов. Синтезы отдельных биологических мономеров, нуклеотидов, аминокислот, жирных кислот, сахаров и других соединений также осуществляются огромным числом специфических ферментов – белков. Сокращение, приводящее к подвижности клеток или к перемещению веществ и структур внутри клеток, осуществляется также специальными сократительными белками. Многие реакции клеток в ответ на воздействие внешних факторов (вирусов, гормонов, чужеродных белков и др.) начинаются с взаимодействия этих факторов со специальными клеточными белками-рецепторами.

Белки – это основные компоненты практически всех клеточных структур. Множество химических реакций внутри клетки определяется множеством ферментов, каждый из которых ведет одну или несколько отдельных реакций. Структура каждого отдельно взятого белка строго специфична, что выражается в специфичности их первичной структуры – в последовательности аминокислот вдоль полипептидной белковой цепи. Причем специфичность этой аминокислотной последовательности безошибочно повторена во всех молекулах данного клеточного белка.

Такая правильность в воспроизведении однозначной последовательности аминокислот в белковой цепи детерминируется структурой ДНК того генного участка, который в конечном счете отве-



чает за структуру и синтез данного белка. Эти представления служат основным постулатом молекулярной биологии, ее «догмой».

Из общей схемы белкового синтеза видно, что начальным пунктом, с которого начинается поток информации для биосинтеза белков в клетке, является ДНК. Следовательно, именно ДНК содержит ту первичную запись информации, которая должна сохраняться и воспроизводиться от клетки к клетке, из поколения в поколение.

Кратко касаясь вопроса о месте хранения генетической информации, т.е. о локализации ДНК в клетке, можно сказать следующее. Уже давно известно, что в отличие от всех прочих компонентов белок синтезирующего аппарата ДНК имеет особую, весьма ограниченную локализацию: местом ее нахождения является ядро. Основа строения – гены, последовательность которых вдоль цепи уникальна и специфична для каждой молекулы ДНК и каждого ее участка. Различные достаточно длинные участки молекулы ДНК ответственны за синтез разных белков. Тем самым одна молекула ДНК может определить синтез большого числа функционально и химически различных белков клетки. За синтез каждого одного типа белков ответствен лишь определенный участок молекулы ДНК. Такой участок молекулы ДНК, связанный с синтезом одного какого-либо белка в клетке, часто обозначают термином «цистрон». В настоящее время понятие цистрон рассматривают как эквивалентное понятию ген. В уникальной структуре гена – в определенном последовательном расположении его нуклеотидов вдоль цепи – заключена вся информация о структуре одного соответствующего белка.

Информация о будущей молекуле белка передается в места его синтеза (в рибосомы) посредником – информационной РНК (иРНК), нуклеотидный состав которой отражает состав и последовательность нуклеотидов генного участка ДНК. В рибосоме строится полипептидная цепь, последовательность аминокислот в которой определяется последовательностью РНК, последовательностью их триплетов. Тем самым, **центральная догма молекулярной биологии подчеркивает однонаправленность передачи информации: только от ДНК к белку, через посредство иРНК.**

Указанный структурный принцип, лежащий в основе двутяжного строения молекулы ДНК, позволяет легко понять точное

воспроизведение исходной структуры, т.е. точное воспроизведение информации, записанной в цепях молекулы в виде определенной последовательности из четырех сортов нуклеотидов. Действительно, синтез новых молекул ДНК в клетке происходит только на базе уже имеющихся молекул ДНК. При этом две цепи исходной молекулы ДНК начинают с одного из концов расходиться, и на каждом из разошедшихся однотяжных участков начинает собираться из присутствующих в среде свободных нуклеотидов вторая цепь в точном соответствии с принципом комплементарности. Процесс расхождения двух цепочек исходной молекулы ДНК продолжается, и соответственно обе цепи дополняются комплементарными цепями. В результате вместо одной возникают две молекулы ДНК, в точности идентичные исходной. В каждой получившейся «дочерней» молекуле ДНК одна цепь целиком происходит от исходной, а другая является заново синтезированной.

Необходимо подчеркнуть, что потенциальная способность к точному воспроизведению заложена в самой двутяжной комплементарной структуре ДНК как таковой, и открытие этого, безусловно, составляет одно из главных достижений биологии.

Однако проблема воспроизведения (редупликации) ДНК не исчерпывается констатацией потенциальной способности ее структуры к точному воспроизведению своей нуклеотидной последовательности. Дело в том, что ДНК сама по себе вовсе не является самовоспроизводящей молекулой. Для осуществления процесса синтеза – воспроизведения ДНК по описанной выше схеме – необходима деятельность специального ферментативного комплекса, носящего название ДНК-полимеразы. Именно этот фермент осуществляет последовательно идущий от одного конца молекулы ДНК к другому процесс расхождения двух цепей с одновременной полимеризацией на них свободных нуклеотидов по комплементарному принципу. Таким образом, ДНК, подобно матрице, лишь задает порядок расположения нуклеотидов в синтезирующихся цепях, а сам процесс ведет белок. Работа фермента в ходе редупликации ДНК представляет собой на сегодня одну из наиболее интересных проблем. Вероятно, ДНК-полимераза как бы активно ползет вдоль двутяжной молекулы ДНК от одного ее конца к другому, оставляя позади себя раздвоенный редуплицирован-

ный «хвост». Физические принципы такой работы данного белка пока не ясны.

Однако ДНК и отдельные ее функциональные участки, несущие информацию о структуре белков, сами непосредственного участия в процессе создания белковых молекул не принимают. Первым этапом на пути к реализации этой информации, записанной в цепях ДНК, является так называемый процесс транскрипции, или «переписывания».

В этом процессе на одной цепи ДНК, как на матрице, происходит синтез химически родственного полимера – рибонуклеиновой кислоты (РНК). Молекула РНК представляет собой одну цепь, мономерами которой являются четыре сорта рибонуклеотидов, которые рассматриваются как небольшая модификация четырех сортов дезоксирибонуклеотидов ДНК. Последовательность расположения четырех сортов рибонуклеотидов в образующейся цепи РНК в точности повторяет последовательность расположения соответствующих дезоксирибонуклеотидов одной из двух цепей ДНК. Таким путем нуклеотидная последовательность генов копируется в виде молекул РНК, т.е. информация, записанная в структуре данного гена, целиком переписывается на РНК. С каждого гена может сниматься большое, теоретически неограниченное количество таких «копий» – молекул РНК. Эти молекулы, переписанные во многих экземплярах как «копии» генов и, стало быть, несущие ту же информацию, что и гены, расходятся по клетке. Они уже непосредственно входят в связь с белоксинтезирующими частицами клетки и принимают «личное» участие в процессах создания белковых молекул. Другими словами, они переносят информацию от места, где она хранится, в места ее реализации.

Соответственно эти РНК обозначают как информационные (иРНК) или матричные, доказывая, что цепь иРНК синтезируется, прямо на ДНК выбирая соответствующий участок ДНК в качестве матрицы. Сочетание нескольких десятков макромолекул образует идеально организованную и надежную «машину», обладающую свойством прочитывать информацию, заключенную в цепи мРНК, и реализовать ее в виде готовой белковой молекулы специфического строения. Поскольку существо процесса состоит в том, что линейная расстановка 20 различных аминокислот в цепи белка однозначно детерминируется расположением четырех разных

нуклеотидов в цепи химически совсем иного полимера – нуклеиновой кислоты (мРНК), то этот процесс, происходящий в рибосоме, принято обозначать термином «трансляция», или «перевод», – перевод как бы с четырехбуквенного алфавита цепей нуклеиновых кислот на двадцатибуквенный алфавит белковых (полипептидных) цепей. Как видно, в процессе трансляции участвуют все три известных класса РНК: информационная РНК, являющаяся объектом трансляции; рибосомная РНК, играющая роль организатора белоксинтезирующей рибонуклеопротеидной частицы – рибосомы; и адапторные РНК, осуществляющие функцию переводчика.

Процесс синтеза белка начинается при образовании соединений аминокислот с молекулами адапторных РНК, или тРНК. При этом сначала происходит энергетическая «активация» аминокислоты за счет ее ферментативной реакции с молекулой аденозинтрифосфата (АТФ), а затем «активированная» аминокислота соединяется с концом относительно недлинной цепочки тРНК, приращение химической энергии активированной аминокислоты запасается при этом в виде энергии химической связи между аминокислотой и тРНК.

Одновременно с этим решается и вторая задача. Дело в том, что реакцию между аминокислотой и молекулой тРНК ведет фермент, обозначаемый как аминоацил-тРНК-синтетаза. Для каждой из 20 аминокислот имеются свои особые ферменты, осуществляющие реакцию с участием только данной аминокислоты. Таким образом, существует не менее 20 ферментов (аминоацил-тРНК-синтетаза), каждый из которых специфичен для одной определенной аминокислоты. Каждый из этих ферментов может вести реакцию не с любой молекулой тРНК, а лишь с теми, которые несут строго определенное сочетание нуклеотидов в своей цепи. Таким образом, благодаря существованию набора столь специфических ферментов, различающих, с одной стороны, природу аминокислоты и, с другой – нуклеотидную последовательность тРНК, каждая из 20 аминокислот оказывается «приписанной» только к определенным тРНК с данным характерным нуклеотидным сочетанием.

Схематически некоторые моменты процесса биосинтеза белка, насколько мы их представляем на сегодняшний день, следующие: прежде всего молекула информационной РНК соединена с рибосомой, или, как говорят, рибосома «запрограммирована» ин-

формационной РНК. В каждый данный момент непосредственно в самой рибосоме находится лишь относительно короткий отрезок цепи мРНК. Но именно этот отрезок при участии рибосомы может действовать с молекулами адапторных РНК. И здесь снова главную роль играет принцип комплементарности.

В этом и состоит объяснение механизма того, почему данному триплету цепи мРНК соответствует строго определенная аминокислота. Необходимым промежуточным звеном, или адаптером, при «узнавании» каждой аминокислотой своего триплета на мРНК является транспортная РНК (тРНК). В рибосоме, помимо молекулы тРНК с навешенной аминокислотой, находится еще одна молекула тРНК. Но, в отличие от рассмотренной выше молекулы тРНК, эта молекула тРНК своим концом присоединена к концу находящейся в процессе синтеза белковой (полипептидной) цепочки.

Такое положение отражает динамику событий, происходящих в рибосоме в процессе синтеза белковой молекулы. Эту динамику можно представить себе следующим образом. Начнем с некоего промежуточного момента, характеризующегося наличием уже начавшей строиться белковой цепочки, присоединенной к ней тРНК и только что вошедшей в рибосому и связавшейся с триплетом новой молекулы тРНК с соответствующей ей аминокислотой. По-видимому, сам акт присоединения молекулы тРНК к расположенному в данном месте рибосомы триплету мРНК приводит к такой взаимной ориентации и тесному контакту между аминокислотным остатком и строящейся цепью белка, что между ними возникает ковалентная связь. Связь возникает таким образом, что конец строящейся белковой цепи переносится от этой тРНК на аминокислотный остаток, постепенно создавая цепочку полипептидов.

## Лекция 10. Морфология ядерных структур

### ***Роль ядерных структур в жизнедеятельности клетки***

Приведенный выше краткий обзор основных процессов, связанных с синтезом белка и в принципе одинаковых у всех форм живого, указывает на особое значение клеточного ядра. Ядро осуществляет две группы общих функций: одна из них – хранение генетической информации, другая – ее реализация, обеспечение синтеза белка.

В первую группу входят процессы, обуславливающие поддержание наследственной информации в виде неизменной структуры ДНК. Эти процессы связаны с наличием так называемых репарационных ферментов, ликвидирующих спонтанные повреждения молекулы ДНК (разрыв одной из цепей ДНК, часть радиационных повреждений), что сохраняет строение молекул ДНК практически неизменным в ряду поколений клеток или организмов. Далее в ядре происходят воспроизведение, или редупликация, и разъединение (сегрегация) молекул ДНК, что дает возможность двум клеткам получить совершенно одинаковые и в качественном и количественном смысле объемы генетической информации. В ядре эукариот происходят процессы изменения и рекомбинации генетического материала, что наблюдается во время мейоза (кроссинговер). Наконец, ядра непосредственно участвуют в процессах распределения молекул ДНК при делении клеток.

Второй группой клеточных процессов, обеспечивающихся активностью ядра, является создание собственного аппарата белкового синтеза. Это не только синтез (транскрипция) на молекулах ДНК разных информационных РНК, но и транскрипция всех видов трансферных РНК и рибосомных РНК. В ядрах эукариотических клеток происходит «созревание» (процессинг, сплайсинг) первичных транскриптов. В ядре эукариот образуются также субъединицы рибосом путем комплексования синтезированных в ядрышке рибосомных РНК с рибосомными белками, которые синтезируются в цитоплазме и переносятся в ядро. Таким образом, ядро представляет собой не толькоместилище генетического материала, но и структуру, где этот материал воспроизводится

и функционирует. Поэтому выпадение или нарушение любой из перечисленных выше функций губительно для клетки в целом. Так, нарушение репарационных процессов приведет к изменению первичной структуры ДНК и автоматически к изменению структуры белков. Это непременно скажется на их специфической активности, которая может просто исчезнуть или измениться так, что не будет обеспечивать клеточные функции, в результате чего клетка погибает. Нарушения редупликации ДНК приведут к остановке размножения клеток или к появлению клеток с неполноценным набором генетической информации, что тоже губительно для клеток. Такой же результат будет наблюдаться при нарушении процессов распределения генетического материала (молекул ДНК) при делении клеток. Выпадение в результате поражения ядра или в случае нарушений каких-либо регуляторных процессов синтеза любой формы РНК автоматически приведет к остановке синтеза белка в клетке или к грубым его нарушениям.

Все это указывает на ведущее значение ядерных структур в процессах, связанных с синтезом нуклеиновых кислот и белков – основных функционеров в жизнедеятельности клетки.

Необходимо еще раз подчеркнуть, что функционирование ядра как системы хранения и реализации генетической информации неразрывно связано с другими функциональными системами клетки, которые обеспечивают работу ядра специальными белками, потоком предшественников, энергией и пр.

## ***Ядро эукариотических клеток***

Термин «ядро» впервые был применен Брауном в 1833 г. для обозначения шаровидных постоянных структур в клетках растений. Позднее такую же структуру описали во всех клетках высших организмов. Ядерный аппарат эукариотических клеток имеет ряд отличий от прокариотических. Во-первых, ДНК-содержащий компонент отделен от цитоплазмы специальной оболочкой (ядерная оболочка); во-вторых, количество ДНК в ядрах эукариот в тысячи раз больше, чем в составе нуклеотидов бактерий; в-третьих, ДНК эукариот представляет собой сложный нуклеопротеидный комплекс, образующий специальную структуру – хроматин, из которого и состоят эукариотические хромосомы. Далее, в состав

ядер эукариот входят несколько физически не связанных хромосом, каждая из которых содержит одну линейную гигантскую молекулу ДНК. Каждая хромосомная ДНК представляет собой полирепликонную структуру, т.е. содержит множество автономно реплицирующихся участков. Синтез и образование транскриптов эукариотических клеток сопровождаются процессами вторичной их перестройки, «созревания», включающей в себя как фрагментацию (процессинг), так и сращивание отдельных фрагментов ДНК (сплайсинг). Наконец, в ядрах не происходит синтеза белков, т.е. в эукариотических клетках процессы синтеза ДНК и РНК разобщены.

При наблюдении многих живых клеток, особенно растительных или же клеток после фиксации и окраски, внутри ядра выявляются тоны плотного вещества, которые хорошо окрашиваются разными красителями, особенно основными. Благодаря этому свойству выявленный компонент ядра получил название «хроматин» (Флемминг, 1880). Способность хроматина воспринимать основные (щелочные) красители указывает на его кислотные свойства, которые определяются тем, что в состав хроматина входит ДНК в комплексе с белками. Такими же свойствами окрашиваемости и содержанием ДНК обладают и хромосомы, которые можно наблюдать во время митотического деления клеток.

В отличие от прокариотических клеток ДНК-содержащий материал хроматина эукариот может пребывать в двух альтернативных состояниях: деконденсированном в интерфазе и в максимально уплотненном во время митоза в составе митотических хромосом.

При стимуляции этих клеток к синтезу ДНК по мере включения предшественника ДНК Н-тимидина происходит постепенная деконденсация хроматина. Таким же образом меняется структура хроматина при синтезе РНК. Падение синтеза ДНК и РНК в клетках обычно сопровождается увеличением зон конденсированного хроматина. В эритроцитах низших позвоночных практически весь хроматин ядер находится в конденсированном состоянии, и в этих ядрах не происходит синтеза ни РНК, ни ДНК. Если же ядра этих клеток стимулировать к синтезу РНК, например в гетерокарионах, то они переходят в диффузное состояние.

Максимально конденсирован хроматин во время митотического деления клеток, когда он обнаруживается в виде телец —



хромосом. В этот период хромосомы не несут никаких синтетических нагрузок, и в них не происходит включения предшественников ДНК и РНК.

Исходя из этого, можно считать, что хромосомы клеток могут находиться в двух структурно-функциональных состояниях: в рабочем, частично или полностью деконденсированном, когда с их участием в интерфазном ядре происходят процессы транскрипции и репликации, и в неактивном – в состоянии метаболического покоя при максимальной их конденсации, когда они выполняют функцию распределения и переноса генетического материала в "дочерние" клетки.

## **Лекция 11. Хроматин. Эухроматин и гетерохроматин**

Многими исследователями было отмечено, что степень структуризации, конденсации хроматина в интерфазных ядрах может быть выражена в разной мере. Так, в интенсивно делящихся и в мало специализированных клетках ядра они имеют диффузную структуру, в них кроме узкого периферического ободка конденсированного хроматина встречается небольшое число мелких хромоцентров, основная же часть ядра занята диффузным, деконденсированным хроматином. В то же время в высокоспециализированных клетках или в клетках, заканчивающих свой жизненный цикл, хроматин представлен в виде массивного периферического слоя и крупных хромоцентров, блоков конденсированного хроматина. Такую структуру имеют, например, ядра нормобластов (одна из стадий дифференцировки эритроцитов), ядра зрелых лейкоцитов. Эти два примера могут иллюстрировать общее правило: чем больше в ядре доля конденсированного хроматина, тем меньше метаболическая активность ядра. При естественной или экспериментальной инактивации ядер происходит прогрессивная конденсация хроматина, и, наоборот, при активации ядер увеличивается доля диффузного хроматина.

Однако при метаболической активации не всякие участки конденсированного хроматина могут переходить в диффузную форму. Еще в начале 1930-х гг. Э. Гейтцем было замечено, что в

интерфазных ядрах существуют постоянные участки конденсированного хроматина, наличие которого не зависит от степени дифференцированности или от функциональной активности клеток. Такие участки получили название гетерохроматина, в отличие от остальной массы хроматина – эухроматина (собственно хроматина). По этим представлениям гетерохроматин – компактные участки хромосом, которые в профазе появляются раньше других частей в составе митотических хромосом, а в телофазе не деконденсируются, переходя в интерфазное ядро в виде интенсивно красящихся плотных структур (хромоцентров). Первоначально понятие гетерохроматина имело сугубо морфологическое значение, потому что при изучении препаратов окрашенных ядер нельзя знать, может ли данный участок конденсированного хроматина – хромоцентр – перейти в будущем в разрыхленное, эухроматическое состояние или нет. В связи с этим в специальной цитологической литературе часто без всякого основания любой участок конденсированного хроматина стали называть гетерохроматином. Процесс общей конденсации хроматина, например в ядрах лейкоцитов, называли гетерохроматизацией ядер. На самом же деле в составе ядерного хроматина только лишь некоторые участки практически никогда не теряют особого конденсированного состояния. Такими постоянно конденсированными зонами чаще всего являются центромерные и теломерные участки хромосом. Кроме них, постоянно конденсированными могут быть некоторые участки, входящие в состав плечей хромосом – вставочный, или интеркалярный, гетерохроматин.

Эухроматические неактивные участки, которые находятся в конденсированном состоянии, стали называть факультативным гетерохроматином, подчеркивая необязательность такого его состояния. Хорошим примером факультативного гетерохроматина может служить X-хромосома в организме человека. В клетках мужской особи X-хромосома деконденсирована, она активна, транскрибируется и морфологически не выявляется из-за своего рыхлого, диффузного состояния. В клетках женского организма, где присутствуют две X-хромосомы, одна из них находится в активном, диффузном состоянии, а вторая – в неактивном, конденсированном и временно гетерохроматизована. В этом состоянии она может существовать в течение всей жизни организма. Но по-

томки ее, попадая в клетки мужского организма следующего поколения, снова будут активированы.

В дифференцированных клетках всего лишь около 10% генов находится в активном состоянии, остальные гены инактивированы и входят в состав конденсированного хроматина (факультативный гетерохроматин). Это обстоятельство объясняет, почему большая часть хроматина ядра структурирована ламинами, подстилающими ядерную оболочку, и участвует в закоривании растянутых деконденсированных интерфазных хромосом, тем самым определяя порядок в локализации хромосом в объеме интерфазного ядра.

В углублении наших представлений о структурной роли организации интерфазных хромосом существенную роль сыграли многочисленные исследования на политенных хромосомах клеток слюнных желез двукрылых насекомых и особенно на хромосомах типа ламповых щеток (по внешнему виду они напоминают ершики для чистки керосиновых ламп). Такие хромосомы состоят из участков спирализованного хроматина (хромомерных участков – более окрашенных), петель деспирализованной ДНК и интерхромомерных участков ДНК, связывающих между собой хромомеры. Политенные хромосомы содержат многочисленные параллельно расположенные нити ДНК. Они, так же как и предыдущий тип хромосом, состоят из спирализованных, плотно упакованных участков молекул ДНК-дисков и связывающих их неспирализованных участков. Спирализованные, или хромомерные, участки способны деспирализовываться и образовывать петли – так называемые пuffs политенных хромосом.

В пuffs политенных хромосом и на петлях хромосом типа ламповых щеток происходит интенсивная транскрипция.

При биохимическом анализе ДНК эукариотных клеток выделяют три фракции, содержащие уникальные, умеренно повторяющиеся и часто повторяющиеся последовательности нуклеотидных пар.

Как оказалось, фракция умеренно повторяющихся (от  $10^2$  до  $10^3$  раз) последовательностей принадлежит к пестрому классу участков ДНК, играющих важную роль в процессах создания аппарата белкового синтеза. В нее входят гены рибосомных ДНК, которые могут быть повторены у разных видов от 100 до 1 000 раз. В эту же фракцию входят многократно повторенные участки для синтеза всех тРНК. Более того, некоторые структурные гены, от-

ветственные за синтез определенных белков, также могут быть многократно повторены, представлены многими копиями. Это гены для белков хроматина – гистонов, повторяющихся до 400 раз. Кроме того, в эту фракцию входят участки ДНК с разными последовательностями (по 100 – 400 п.н.), также многократно повторенными, но рассеянными по всему геному. Их роль еще не до конца ясна. Высказывается предположение, что такие участки ДНК могут представлять собой акцепторные или регуляторные участки разных генов.

Итак, ДНК эукариотических клеток гетерогенна по составу, содержит несколько классов последовательностей нуклеотидов: часто повторяющиеся последовательности ( $>10^6$  раз), входящие во фракцию сателлитной ДНК и нетранскрибирующиеся; фракция умеренно повторяющихся последовательностей ( $10^2 - 10^3$ ), представляющих блоки истинных генов, а также короткие последовательности, разбросанные по всему геному; фракция уникальных последовательностей, несущая информацию для большинства белков клетки.

Сделано предположение, что сателлитная ДНК может участвовать в узнавании гомологичных районов хромосом при мейозе. По другим предположениям, участки с часто повторяющимися последовательностями играют роль разделителей (спейсеров) между различными функциональными единицами хромосомной ДНК, например между репликонами.

Исходя из этих представлений, становятся понятными те различия в количестве ДНК, которые наблюдаются у разных организмов: они могут быть связаны с неодинаковой долей тех или иных классов ДНК в геноме организмов. Так, у амфибий (у которых ДНК в 20 раз больше, чем у человека) на долю повторяющихся последовательностей приходится до 80% всей ДНК, у луков – до 70, у лосося – до 60% и т.п. Истинное же богатство генетической информации должна отображать фракция уникальных последовательностей. В нативной нефрагментированной молекуле ДНК хромосомы все участки, включающие уникальные, умеренно и часто повторяющиеся последовательности, связаны в единую гигантскую ковалентную цепь ДНК.

## **Основные белки хроматина – гистоны**

Роль ДНК в составе как интерфазных хромосом (хроматин интерфазного ядра), так и митотических хромосом достаточно ясна: хранение и реализация генетической информации. Однако для выполнения этих функций в составе интерфазных ядер необходимо иметь четкую структурную основу, которая позволила бы расположить огромные по длине молекулы ДНК в строгом порядке.

В клеточном ядре ведущая роль в организации расположения ДНК, ее компактизации и регулировании функциональных нагрузок принадлежит ядерным белкам. Как уже указывалось, хроматин представляет собой сложный комплекс ДНК с белками – дезоксирибонуклеопротеин (ДНП), где на долю белков приходится около 60% сухой массы. Белки в составе хроматина очень разнообразны, но их можно разделить на две группы: гистоны и негистоновые белки. На долю гистонов приходится до 80% всех белков хроматина. Их взаимодействие с ДНК происходит за счет солевых или ионных связей и неспецифично в отношении состава или последовательностей нуклеотидов в молекуле ДНК. Несмотря на преобладание в общем количестве, гистоны представлены небольшим разнообразием белков: эукариотические клетки содержат всего 5-7 типов молекул гистонов. В отличие от гистонов так называемые негистоновые белки большей частью специфически взаимодействуют с определенными последовательностями молекул ДНК (очень велико разнообразие типов белков: входящих в эту группу несколько сотен), велико разнообразие функций, которые они выполняют.

Гистоны связаны с ДНК в виде молекулярного комплекса, в виде субъединиц или нуклеосом. До недавнего времени считалось, что хромосома равномерно покрыта этими белками, связь которых с ДНК определялась теорией «гистоновой шубы»: равномерно покрыта белковым комплексом, в который входят линейные высокополимерные молекулы ДНК и огромное множество молекул гистонов (до 60 млн. копий каждого типа гистонов на ядро). Гистоны – наиболее хорошо биохимически изученные белки.

Гистоны – относительно небольшие по молекулярной массе белки. Практически у всех эукариот они обладают сходными свойствами, обнаруживаются одни и те же классы гистонов. Классы гистонов отличаются друг от друга по содержанию разных ос-

новых аминокислот. Так, гистоны H3 и H4 относят к аргининбогатым из-за относительно высокого содержания в них этой аминокислоты. Эти гистоны являются наиболее консервативными из всех исследованных белков: их аминокислотные последовательности практически одинаковы даже у таких отдаленных видов, как корова и горох (всего две аминокислотные замены).

Два других гистона – H2A и H2B – относятся к белкам, умеренно обогащенным лизином. У различных объектов внутри этих групп гистонов обнаруживаются межвидовые вариации в их первичной структуре, в последовательности аминокислот.

Гистон H1 представляет собой не уникальную молекулу, а класс белков, состоящих из нескольких достаточно близкородственных белков с перекрывающимися последовательностями аминокислот. У этих гистонов обнаружены значительные межвидовые и межтканевые вариации. Однако их общим свойством является обогащенность лизином, что делает их самыми основными белками, которые легко отделяются от хроматина в солевых (0,5 M) растворах. В растворах с высокой ионной силой (1-2 M NaCl) все гистоны полностью отделяются от ДНК и переходят в раствор.

Для гистонов всех классов (особенно для H1) характерно кластерное распределение основных аминокислот – лизина и аргинина – на N и C-концах молекул. Срединные участки молекул гистонов образуют несколько (3-4)  $\alpha$ -спиральных участков, которые компактизуются в глобулярную структуру в изотонических условиях. По-видимому, в части клеток могут происходить посттрансляционные изменения (модификации) гистонов: ацетилирование и метилирование некоторых остатков лизина, что приводит к потере числа положительных зарядов, и фосфорилирование сериновых остатков, приводящее к появлению отрицательного заряда. Ацетилирование и фосфорилирование гистонов могут быть обратимыми. Эти модификации значительно меняют свойства гистонов, их способность связываться с ДНК. Например, повышенное ацетилирование гистонов предшествует активации генов, а фосфорилирование и дефосфорилирование связаны соответственно с конденсацией и деконденсацией хроматина.

Гистоны синтезируются в цитоплазме, транспортируются в ядро и связываются с ДНК во время ее репликации в S-периоде, т.е. синтеза гистонов и ДНК синхронизированы. При прекраще-

нии клеткой синтеза ДНК гистоновые информационные РНК за несколько минут распадаются и синтез гистонов останавливается. Включившиеся гистоны очень стабильны, имеют низкую скорость замены.

## **Функциональные свойства гистонов**

Широкое распространение гистонов, их сходство даже у очень отдаленных видов, обязательность вхождения их в состав хромосом – все это говорит об их чрезвычайно важной роли в процессе жизнедеятельности клеток. Еще до открытия нуклеосом существовали две взаимодополняющие друг друга группы гипотез о функциональной роли гистонов, о регуляторной и структурной их роли.

Обнаружено, что выделенный хроматин при добавлении к нему РНК-полимеразы может быть матрицей для транскрипции, однако активность его составляет всего лишь около 10% от активности, соответствующей активности выделенной чистой ДНК. Эта активность прогрессивно возрастает по мере удаления групп гистонов и может достичь 100% при полном удалении гистонов. Отсюда следовало, что общее содержание гистонов может регулировать уровень транскрипции. Это наблюдение совпадает с тем фактом, что по мере удаления гистонов, особенно Н1, происходит прогрессивная деконденсация – разворачивание фибрилл ДНП, что, возможно, облегчает взаимодействие РНК-полимеразы с матричной ДНК. Обнаружено также, что модификация гистонов приводит к усилению транскрипции и одновременной декомпактизации хроматина. Следовательно, напрашивается вывод о том, что количественное и качественное состояние гистонов влияет на степень компактности и активности хроматина. Однако оставался открытым вопрос о специфичности регуляторных свойств гистонов: какова роль гистонов при синтезе специфических иРНК в различных дифференцированных клетках? Этот вопрос до сих пор еще не решен, хотя можно сделать некоторые обобщения: на эту роль могут претендовать те группы гистонов, которые наименее консервативны, такие как Н1 или как Н2А и Н2В, которые могут в значительной мере модифицироваться и тем самым изменять свои свойства в определенных участках генома.

Была очевидна и структурная – компактизирующая – роль гистонов в организации хроматина. Так, постепенное добавление фракции гистонов к растворам чистой ДНК приводит к выпадению в осадок комплекса ДНП, и, наоборот, частичное удаление гистонов из препаратов хроматина ведет к его переходу в растворимое состояние. В то же время в цитоплазматических экстрактах ооцитов земноводных или яиц морских ежей, содержащих свободные гистоны, добавление любой ДНК (включая фаговую) приводит к образованию хроматиновых фибрилл (ДНП), длина которых в несколько раз короче исходных ДНК. Эти данные говорят о структурной, компактизирующей роли гистонов. Для того чтобы огромные сантиметровые молекулы ДНК уложить по длине хромосомы, имеющей размер всего несколько микрометров, молекула ДНК должна быть скручена, компактизирована плотностью упаковки, равной 1:10 000. Оказалось, что в процессе компактизации ДНК существуют несколько уровней упаковки, свойства которых прямо определяются взаимодействием гистонов с ДНК.

### ***Негистоновые белки***

Негистоновые белки составляют около 20% всех белков хроматина. По определению, негистоновые белки – это все белки хроматина (кроме гистонов), выделяющиеся с хроматином или хромосомами. Это сборная группа белков, отличающихся друг от друга как по общим свойствам, так и по функциональной значимости. Около 80% негистоновых белков относится к белкам ядерного матрикса, обнаруживаемым как в составе интерфазных ядер, так и митотических хромосом.



## Литература

1. Албертс, Б. Молекулярная биология клетки: в 5 т. / Б. Албертс, Д. Брей, М. Рэфф, К. Робертс, Дж. Уотсон. – М., 1986.
2. Введение в мембранологию / под. ред. А.А. Болдырева. – М., 1990.
3. Заварзин, А.А. Биология клетки / А.А. Заварзин, А.Д. Харазова, М.Н. Молитвин. – СПб., 1992.
4. Мюррей, Э.У. Чем регулируется клеточный цикл / Э.У. Мюррей, М.У. Киршер // В мире науки. – 1991. – № 5.
5. Ченцов, Ю.С. Введение в клеточную биологию: учебник для вузов / Ю.С. Ченцов. – М., 2004.

## **Оглавление**

Лекция 1. Введение в биологию клетки.....	3
Лекция 2. Клетка – элементарная единица живого .....	6
Лекция 3. Гомологичность клеток.....	12
Лекция 4. Методология и методы изучения биологии клетки ..	19
Лекция 5. Поверхностный аппарат.....	25
Лекция 6. Субмембранная часть поверхностного аппарата и цитоскелет .....	34
Лекция 7. Цитоплазма .....	40
Лекция 8. Мембранные структуры метаболического и катаболического обменов.....	51
Лекция 9. Ядерный аппарат .....	58
Лекция 10. Морфология ядерных структур .....	70
Лекция 11. Хроматин. Эухроматин и гетерохроматин .....	73

Учебное издание

**Комарова Ирина Павловна**

## **Цитология**

Текст лекций

Редактор, корректор В.Н. Чулкова  
Компьютерная верстка И.Н. Ивановой

Подписано в печать 23.10.2006. Формат 60х84/16. Бумага тип.  
Усл. печ. л. 4,88. Уч.-изд. л. 4,01. Тираж 100 экз. Заказ .

Оригинал-макет подготовлен  
в редакционно-издательском отделе  
Ярославского государственного университета.

Отпечатано на ризографе.

Ярославский государственный университет.  
150000 Ярославль, ул. Советская, 14.

Для заметок



**И.П. Комарова**

# **Цитология**

