

ПРОГРАММА ЛЕКЦИЙ «ОБЩАЯ ЦИТОЛОГИЯ» ДЛЯ СТУДЕНТОВ 1 КУРСА ФАКУЛЬТЕТА ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ

1. Предмет клеточной биологии (цитологии), история изучения клетки, методы клеточной биологии (световая и электронная микроскопия, флуоресцентная микроскопия, иммуоцитохимия, цитохимия, методы культуры клеток, клеточная гибридизация, компьютерная видеомикроскопия, метод выявления клеточных структур *in vivo* с помощью флуоресцентных белков); связь клеточной биологии с гистологией, молекулярной биологией, генетикой, биохимией и биологией развития; практическое применение достижений клеточной биологии.

2. Клеточная теория:

Основные постулаты теории: сходство строения клеток; эукариоты и прокариоты, закон воспроизведения клеток, тотипотентность генома клеток многоклеточных организмов; понятие дифференцировки клеток; понятие о клетке как единой системы сопряженных субклеточных подсистем, клетка как единица строения, функционирования, развития и патологии организмов.

Основные компоненты клетки: Ядро - система хранения, воспроизведения и реализации генетической информации. Цитоплазма - система основного промежуточного обмена. Мембранные и немембранные органеллы: вакуолярная система - (ЭПР, аппарат Гольджи лизосомы, эндосомы)- система синтеза и внутриклеточного транспорта биополимеров; митохондрии - органеллы энергетики клетки; плазматическая мембрана - барьерная, рецепторная и транспортная система; рибосомы - органеллы синтеза белка, цитоскелет - опорно-двигательная система.

3. Клеточное ядро - система поддержания, воспроизведения и реализации генетической информации.

1). Ядерный аппарат прокариотических клеток: нуклеоид, особенности ДНК прокариот, репликация бактериальных ДНК, упаковка ДНК в составе нуклеоида, реализация генетической информации - особенности транскрипции и трансляции.

2). Ядро эукариотических клеток: компоненты интерфазных ядер. Хроматин: альтернативные состояния хроматина (интерфаза и митоз), эухроматин и гетерохроматин; разнообразие структурной организации интерфазных ядер; общая морфология митотических хромосом, виды хромосом, их размеры, число, кариотип человека, генетическое картирование хромосом. Клеточный цикл эукариотических клеток, периоды клеточного цикла; типы клеточных популяций, регуляция клеточного цикла; понятие о ploидности, способы полиплоидизации, анеуплоидия; локализация хромосом в интерфазном ядре, хромосомные территории.

4. Структура и химия ядра.

Химия хроматина (хромосом);

1). ДНК, размеры, линейность, механизм репликации ДНК, особенности репликации на ведущей и отстающей нити ДНК, репликация по длине хромосомы, репликативные “фабрики” (ДНК полимеразные комплексы), механизм репликации хромосом; гетерогенность ядерных ДНК, уникальные и повторяющиеся последовательности, теломерная ДНК, центромерная ДНК, ДНК ядрышковых организаторов.

2). Белки хроматина: гистоны и негистоновые белки. Гистоны: общие свойства, типы гистонов, их связь с ДНК, структурная и функциональная роль гистонов; нуклеосомный уровень компактизации ДНК, структура нуклеосомы, нуклеосомы во время репликации и транскрипции; 30 нм фибрилла хроматина, способы укладки нуклеосом (суперсоленоид или сверхбусина - нуклеомер), роль гистона H1 в этом уровне укладки ДНК, коэффициент компактизации ДНК в составе 30 нм фибриллы; петлевые домены - третий уровень укладки ДНК: петлевые домены интерфазных ядер и митотических хромосом, розетки петлевых доменов - хромомеры, размер петель, роль негистоновых белков в создании и поддержании петель ДНК, “осевые” структуры и латеральные петли митотических хромосом. Негистоновые белки: легко экстрагируемые и неэкстрагируемые белки ядерного матрикса.

3). Ядерный белковый матрикс: способы выявления, химический состав, структурные компоненты, ДНК в составе матрикса, его РНК, роль ядерного белкового матрикса в функционировании ядер.

5. Ультраструктурная организация митотических хромосом: модели упаковки ДНК в составе митотических хромосом; высшие уровни структуризации ДНК - хромомеры и хромонемы.

6. Ядерная оболочка: строение и компоненты, ламина, белки ламины, их свойства и роль, строение комплекса ядерной поры, их число, размеры, участие в импорте и экспорте макромолекул в интерфазном ядре. Белки порины, транспорт белков в ядро и из ядра, поведение компонентов ядерной оболочки во время митоза. Механизмы ядерно-цитоплазматического транспорта.

7. Морфология транскрипции: типы РНК, их функции и локализация в ядерных доменах.

1). Синтез информационных РНК: единицы транскрипции у прокариот и эукариот, интроны и экзоны, сплайсинг, малые ядерные РНК, сплайсосомы, альтернативный сплайсинг, морфология активных транскрипционных единиц, маркирование концов иРНК, транспорт через ядерную пору. Биосинтез белка. Структура рибосом прокариот и эукариот. Строение и химический состав рибосом, биосинтез белка в гиалоплазме.

Трансляция. Адаптерная роль тРНК в биосинтезе белка. Укладывание белков, роль шаперонов. Деградация неправильно уложенных белков. Протеасомы.

2). Транскрипты интерфазных ядер: перихроматиновые и интерхроматиновые гранулы, малые ядерные РНК, тельца Кахаля, гранулы пuffed колец Бальбиани полированных хромосом. РНК-содержащие субдомены ядра.

3). Транскрипция рибосомных РНК: ядрышко, строение рибосом, рибосомные РНК, этапы синтеза рибосомных РНК, процессинг предшественника р-РНК, количество р-генов на геном, их локализация, характер расположения в хромосоме, морфология работающих р-генов; ультраструктура ядрышка: фибриллярные центры, плотный фибриллярный и гранулярный компоненты, их молекулярные характеристики, ядрышковые белки и их роль в синтезе рибосом, судьба компонентов ядрышка во время митоза, периферический хромосомный материал.

8. Мембранные компоненты клетки.

Общие свойства мембран, их химический состав, роль липидов, белков и гликопротеидов, асимметрия липидов и белков, их латеральная подвижность, связь с элементами цитоскелета, общность происхождения мембран вакуолярной системы, трехмерная модель организации биомембран.

9. Плазматическая мембрана – барьерно-транспортная рецепторная система.

Плазматическая мембрана как механический и диффузионный барьер. Проницаемость искусственных билипидных слоев для низкомолекулярных компонентов, трансмембранный перенос через плазматическую мембрану, свободная диффузия, облегченная диффузия, каналы белки и переносчики, пассивный и активный транспорт, ионные насосы, поддержание внутриклеточного гомеостаза. Межклеточный транспорт низкомолекулярных соединений: щелевые контакты, коннексоны, метаболическая кооперация клеток.

Рецепторная роль плазматической мембраны: природа межклеточных взаимодействий в многоклеточных организмах, кадгерин, интегрины и другие молекулы клеточной адгезии.

Рецепторы плазматической мембраны и вторичные посредники, аденилатциклазная система, фосфатидил-инозитольная система передачи сигнала с поверхности клетки. Транспорт макромолекулярных соединений: эндоцитоз – везикулярный перенос макромолекул, пиноцитоз и фагоцитоз постоянные (конститутивные – жидко-фазный, опосредованные рецепторами), опосредованный рецепторами регулируемый эндоцитоз; окаймленные ямки, пузырьки, роль покрывающих белков, клатрин, образование эндосом, их свойства, слияние, рециклирование рецепторов; транцитоз, фагоцитоз – роль рецепторов, коатомерные окаймления.

Межклеточные соединения (контакты). Простой адгезивный контакт: типы белков, участвующих в узнавании и соединении клеток (кадгерины, интегрины, селектины и др.). Заякоривающие соединения: десмосомы, полудесмосомы, фокальные контакты, адгезивный пояс, их строение, химические компоненты и функции. Плотный замыкающий контакт: строение, встречаемость, функции.

10. Вакуолярная система – система синтеза и транспорта макромолекул.

Состав: эндоплазматический ретикулум (гранулярный и гладкий), аппарат Гольджи, лизосомы, секреторные вакуоли, эндосомы. Синтез цитоплазматических белков в цитозоле и их транспорт в различные органеллы клетки. Общая схема организации вакуолярной системы, ее компартментов и функциональных нагрузок в каждом из них.

1). Эндоплазматический ретикулум гранулярный. Морфология, локализация, синтез растворимых и нерастворимых белков. Котрансляционный перенос растворимых белков, сигнальные последовательности синтезируемых пептидов, SRP-частицы, транслоконы, синтез нерастворимых – мембранных белков, стоп-сигналы, ассиметричность синтезируемых мембранных белков; первичная модификация синтезированных белков, первичное гликозилирование, синтез и встраивание липидов в мембрану ЭПР, перенос липидов в составе мембраны, перенос липидов из ЭПР в другие мембраны. Гранулярный ЭПР – источник всех мембран вакуолярной системы включая плазматическую мембрану; механизмы отщепления вакуолей от мембраны ЭПР и принципы их адресования в мембраны аппарата Гольджи.

Гладкий эндоплазматический ретикулум. Морфология и функции: участие в синтезе секретируемых гликопротеидов, стероидных гормонов, в синтезе гликогена, роль цитохрома P-450 в клетках печени при интоксикации, саркоплазматический ретикулум и его роль в депонировании кальция при мышечном сокращении.

2). Аппарат Гольджи. Ультраструктурное строение, локализация, основная роль в клеточной секреции. Биохимические превращения (вторичная модификация) белков: вторичное гликозилирование секреторных белков, их сульфатирование, фосфорилирование лизосомных белков, синтез экскретируемых полисахаридов и гликопротеидов; сортировка белков в транс-Гольджи сети, рецепторы лизосомных и секреторных белков; участие аппарата Гольджи в транспорте лизосом и секреторных вакуолей.

3). Лизосомы. Химические особенности, наличие кислых гидролаз, их активация, морфологическая гетерогенность. Роль лизосом во внутриклеточном пищеварении. Участие лизосом во внутриклеточном расщеплении биополимеров; лизосомные болезни.

11. Митохондрии: общая ультраструктурная организация, локализация отдельных этапов окислительного фосфорилирования в компонентах митохондрий; форма и число митохондрий, понятие хондриома, гигантские митохондрии и митохондриальный ретикулум, межмитохондриальные соединения и их роль в энергетике клетки; автономная

система синтеза белка митохондрий, ДНК митохондрий, количество митохондриальных генов, рибосомы и синтез белков, транспорт белков в митохондрии, гипотеза симбиотического происхождения митохондрий, роль митохондрий в апоптозе.

12. Цитоскелет - опорно-двигательная система.

Формы клеточной подвижности: перемещение в пространстве (амебоидное, жгутиковое), внутриклеточная подвижность органелл, мышечное сокращение, компоненты системы – микрофиламенты, промежуточные филаменты, микротрубочки. Общая характеристика белковых полимеров цитоскелета. Промежуточные филаменты: морфология, состав, способ организации, белки в их составе, функции. Микрофиламенты: характеристика актина, его полимеризация, нуклеация актиновых филаментов, ингибиторы полимеризации, актин-связывающие белки, участие в образовании ламеллоподий, стресс-фибриллы, регуляция сборки разных компонентов активновое цитоскелета, фокальные контакты. Миозин: классы миозинов, их свойства, взаимодействие с актином. Механизм движения с помощью акто-миозинового комплекса, сокращение фибрилл поперечно-полосатых мышц, немышечные миозины и их роль во внутриклеточном транспорте. Микротрубочки: встречаемость, типы, альтернативные распределения в клеточном цикле; строение и свойства, тубулины, ингибиторы полимеризации, полярность микротрубочек, механизмы полимеризации, динамическая нестабильность и тредмиллинг, белки, связанные с микротрубочками (MAP), их разнообразие и функциональное значение, нуклеация микротрубочек, роль гамма-тубулиновых комплексов. Моторные белки кинезины и динеины, их строение, разнообразие, роль во внутриклеточном транспорте. Центры организации микротрубочек: клеточный центр, centrosoma, центриоли и их строение, химия центриолей, центриолярный цикл, механизм удвоения центриолей формирования центриолей *de novo*, роль центриолей в организации centrosoma и аппарата клеточной подвижности. Жгутики и реснички, аксонема, базальное тело. Отличия жгутиков прокариот и эукариот. Первичная ресничка, ее сходство и отличия.

13. Митоз – единственный способ размножения клеток.

Митотический аппарат: кинетохоры хромосом, веретено деления, клеточные центры; классификация митозов: астральный митоз, его компоненты, структура кинетохоров, особенности прицентромерной ДНК, центромерные белки и их роль; профаз, расхождение centrosom, образование веретена, прометафаза: захват хромосомами микротрубочек и образование кинетохорных пучков. Метафаза, анафаза: обособление хроматид, анафаза А и В, механизмы движения хромосом к полюсам и движения полюсов веретена; телофаза, цитокинез. Гипотезы о способах образования веретена.

14. Мейоз - образование половых клеток.

“Зародышевый путь”, соматические и герминативные клетки; два клеточных цикла с одним раундом репликации ДНК; профаз 1 первого мейотического деления, ее

длительность, стадии: лептотена, зиготена, синапсис гомологичных хромосом, синтез z-ДНК, синаптонемный комплекс, пахитена, механизм кроссинговера, синтез p-ДНК, хиазмы, диплотена, активация транскрипции, хромосомы типа ламповых щеток, диакинез – расхождение бивалентов, редукция числа аллелей, второе митотическое деление, расхождение гомологичных хроматид – редукция числа хромосом, созревание половых клеток.

15. Регуляция клеточного цикла.

Характеристика фаз клеточного цикла. Общие закономерности прохождения клеточного цикла и его фаз. Открытие фазы G₀ (фазы “вне цикла”). Способность клеток выходить из цикла в фазе G₂. Представление о состоянии пролиферативного покоя. Общие принципы регулирования клеточного цикла в живых системах. Понятие об экзогенных и эндогенных факторах регуляции. Основные механизмы эндогенной регуляции клеточного цикла. Роль комплексов циклинов и циклин-зависимых киназ (Cdk-cyclin complexes). Обнаружение фактора, вызывающего митоз (MPF); состав MPF: М-циклин и Cdk-киназа, циклины и Cdk-киназы разных периодов клеточного цикла. Роль фосфорилирования/дефосфорилирования. Фосфатазы – регуляторы клеточного цикла. Ингибиторы комплексов циклинов /циклин-зависимых киназ и циклин-зависимых киназ (CKIs). Роль протеолиза в регуляции клеточного цикла (APC и SCF, протеасомная деградация регуляторных белков). Механизмы прохождения пункта ограничения (restriction point) и пунктов проверки (check points). Роль белков-факторов транскрипции в регуляции клеточного цикла. Экзогенные регуляторы: факторы роста и цитокины.

17. Клеточная гибель.

Основные понятия: программированная клеточная гибель, апоптоз и некроз. Варианты программированной клеточной гибели и их классификация: некроз, программированная клеточная смерть: апоптоз, аутофагическая гибель, программированный некроз, клеточный каннибализм. Клеточные проявления апоптоза. Сопоставление морфологических признаков апоптоза и некроза. Методы регистрации апоптоза. Молекулярные механизмы апоптоза. Рецепторный путь индукции апоптоза. Митохондриальный путь индукции апоптоза. Каскад действия каспаз. Действие нуклеаз. Генная регуляция апоптоза. Гены апоптоза млекопитающих. Эндогенные индукторы и ингибиторы апоптоза. Механизм фагоцитоза апоптотических телец. Роль апоптоза в патогенезе и лечении заболеваний. Аутофагическая гибель клеток. Механизм аутофагии. Индукция аутофагии и аутофагической гибели. Роль аутофагии в выживании клеток. Взаимосвязь между апоптозом и аутофагической гибелью. Программированный некроз. Механизм программированного некроза.