



Способы изучения клетки

Презентация подготовлена
ученицей 10-2 класса
гимназии №92
Васильевой Василисой

Содержание

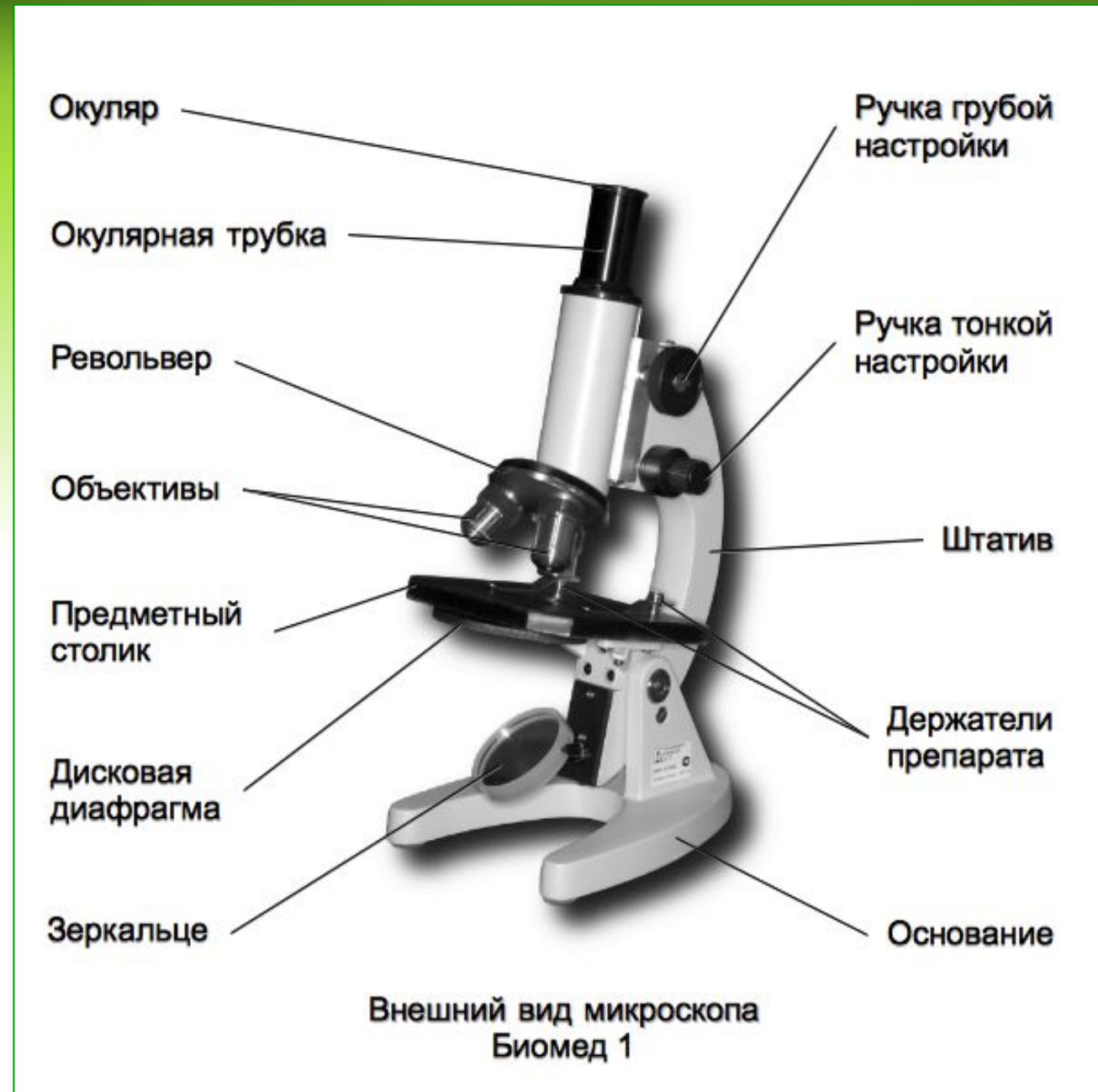
1. Микроскопия
2. Световой микроскоп
3. Электронный микроскоп
4. Флуоресцентный микроскоп
5. Авторадиография (радиоавтография)
6. Метод дифференциального центрифугирования
7. Метод меченых атомов
8. Электрофорез
9. Цитохимические методы
10. Культивирование клеток
11. Метод рекомбинантных ДНК
12. Микрохирургия
13. Хроматография

Микроскопия

Микроскопия — изучение объектов с использованием микроскопа.

Как обычно происходит процесс микроскопии:

1. Делают достаточно тонкие срезы, чтобы отличать клетки от растительных и животных организмов;
2. Окрашивают препарат с помощью особого красителя (это необходимо для увеличения контрастности);
3. Производят фиксацию препарата, осуществляя обработку специальными веществами (формалином, например), направленными на профилактику разрушения и растекания биологических молекул (по этой причине в большинстве случаев изучению подвергаются уже отмершие клетки).



Микротом

Микротом — инструмент для приготовления срезов фиксированной и не фиксированной биологической ткани, а также небиологических образцов для оптической микроскопии толщиной 1—50 микрон. Обычно используются металлические ножи. Существует несколько основных разновидностей микротомов: с подачей материала на нож, с подачей ножа на материал, микротомы-криостаты (криомикротомы).

Микротомы, позволяющие получать срезы толщиной 10—100 нм получили название ультрамикротомов. Они используются для подготовки образцов для электронной и сканирующей зондовой микроскопии. Используются стеклянные или (предпочтительно) алмазные ножи. Ультрамикротомы, совмещенные с криокамерами для приготовления срезов в условиях низких температур, получили название криоультрамикротомов.



Световой микроскоп

В большинстве случаев находят применение световые микроскопы. Здесь освещение объекта происходит посредством видимого света. Таковым называют свет, представляющий собой электромагнитное излучение. Существуют ограничения в плане длины волны. Она предполагает минимальный размер объектов, которые можно исследовать под микроскопом. Важно, чтобы волна огибала объект, вот почему нет возможности изучать предмет, который меньше по размеру, по сравнению с длиной световой волны. Световой микроскоп имеет разрешение около 0,5 микрометров, когда применяется белый свет. С его помощью можно увидеть ядро, большинство органоидов, хромосомы и деление клеток.



Электронный микроскоп

Имеют преимущество перед световыми микроскопами, так как обеспечивают большее разрешение, нежели они. Здесь находит применение пучок электронов. Фиксация данных исследования производится детекторами электронов. В такое устройство нельзя смотреть через окуляр. Вакуум позволяет избежать ситуации, когда электронный пучок рискует рассеяться.

Подготовка клетки к изучению на электронном микроскопе:

1. Фиксация объекта;
2. Извлечение влаги;
3. Перемещение в более плотное пространство;
4. Применение микротомы для получения тончайших срезов.

Обязательными этапами являются напыление с применением солей тяжелых металлов либо окрашивание. Только такие соединения способны существенно замедлить движение электронов. В итоге получается изображение, которое не является цветным. В дальнейшем можно искусственным путем раскрасить его.

В настоящее время для исследования клеток на системном и субсистемном уровнях их организации все чаще с успехом применяется метод высоковольтной электронной микроскопии. Благодаря большей энергии проникающего пучка электронов этот метод позволяет изучать под микроскопом «толстые» срезы или даже целые распластанные клетки.



Электронный микроскоп

Электронные микроскопы подразделяются на трансмиссионные (просвечивающие) и сканирующие.

Трансмиссионный микроскоп

Высокие разрешения обычных трансмиссионных (просвечивающих) микроскопов позволяют анализировать не только все органоиды ядерного и цитоплазматического аппаратов, но и некоторые структуры, находящиеся на надмолекулярном уровне организации.

Сканирующий микроскоп

В исследовании функции поверхностного аппарата клетки, взаимосвязи отдельных субсистем поверхностного аппарата ядра и ряда других вопросов общей цитологии существенное значение приобретает метод сканирующей электронной микроскопии, дающий возможность объемного изучения поверхности объекта.



Флуоресцентный микроскоп

В ультрафиолетовом свете (его лучи короче лучей видимого света) клеточные компоненты могут светиться. Также они могут светиться при добавлении специальных красителей. С использованием данного метода можно видеть места, где скапливаются нуклеиновые кислоты, жиры, витамины и др.



Авторадиография (радиоавтография)

Метод изучения распределения радиоактивных веществ в исследуемом объекте, при котором эти вещества как бы сами себя фотографируют. Например, при изучении фотосинтеза биологи с помощью этого метода могут увидеть след радиоактивного диоксида углерода. Авторадиография дает возможность проследить присутствие того или иного химического компонента в клетках.

Принцип:

Делают специальную радиоактивную метку на молекуле, заменяя при этом на радионуклид отдельно взятый атом. Далее, применяя особый счетчик, находят местоположение вещества. Также в определении локализации помогает и засвечивание фотопленки.



Метод дифференциального центрифугирования

При быстром вращении в ультрацентрифуге органоиды клеток располагаются слоями в соответствии со своей плотностью и массой. Более плотные органеллы осаждаются при более низких скоростях, а менее плотные — при более высоких скоростях. Далее исследователи эти слои отделяют и изучают. Данный метод позволяет наблюдать свойства и структуру каждого органоида или макромолекулы клетки.

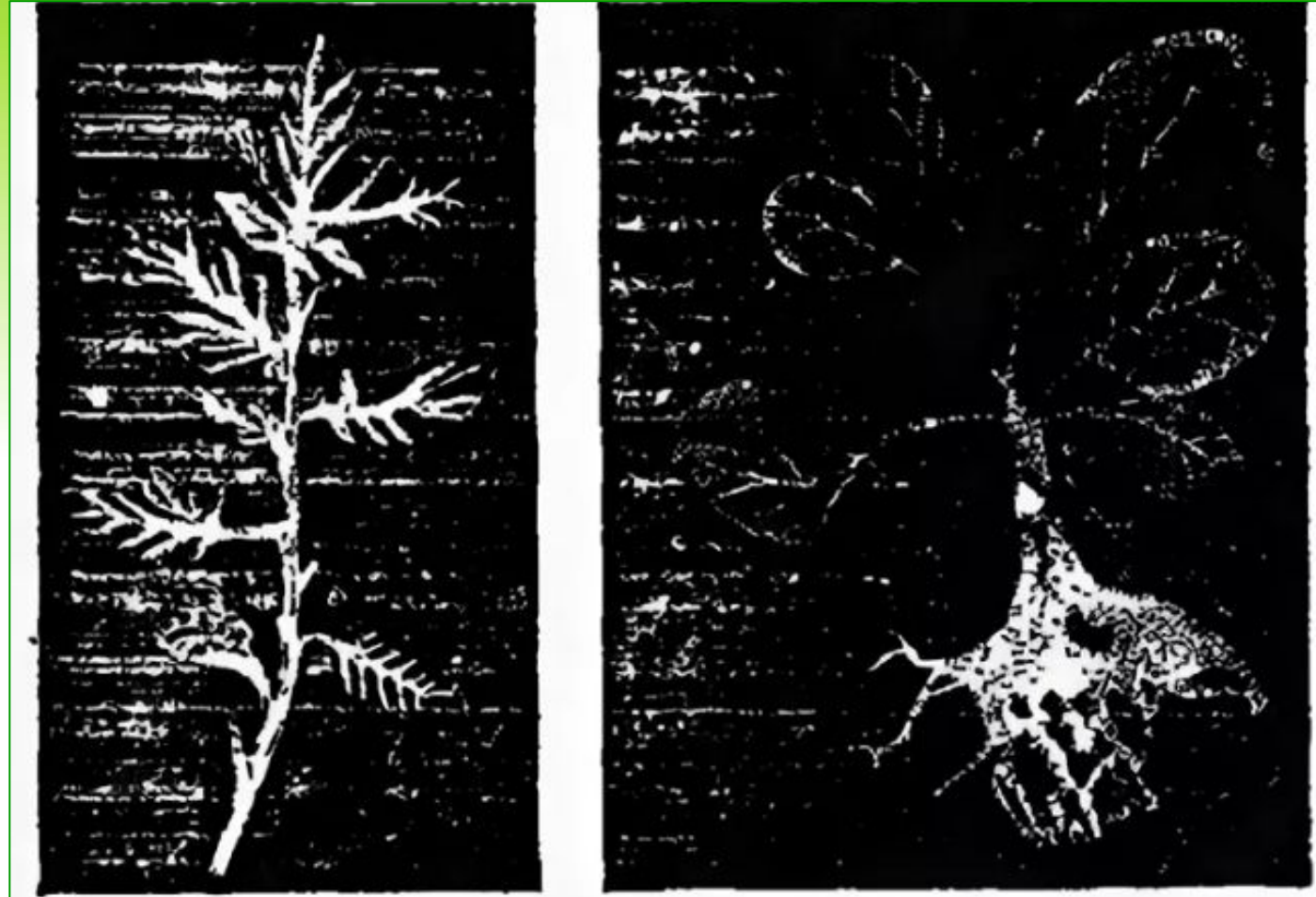


Рис. 5. Схема дифференциального центрифугирования: Г — гомогенат; Я — ядерная фракция; Ма — макросомальная фракция (митохондрии, лизосомы); Ми — микросомальная фракция (фрагменты мембран, микропузырьки, рибосомы)



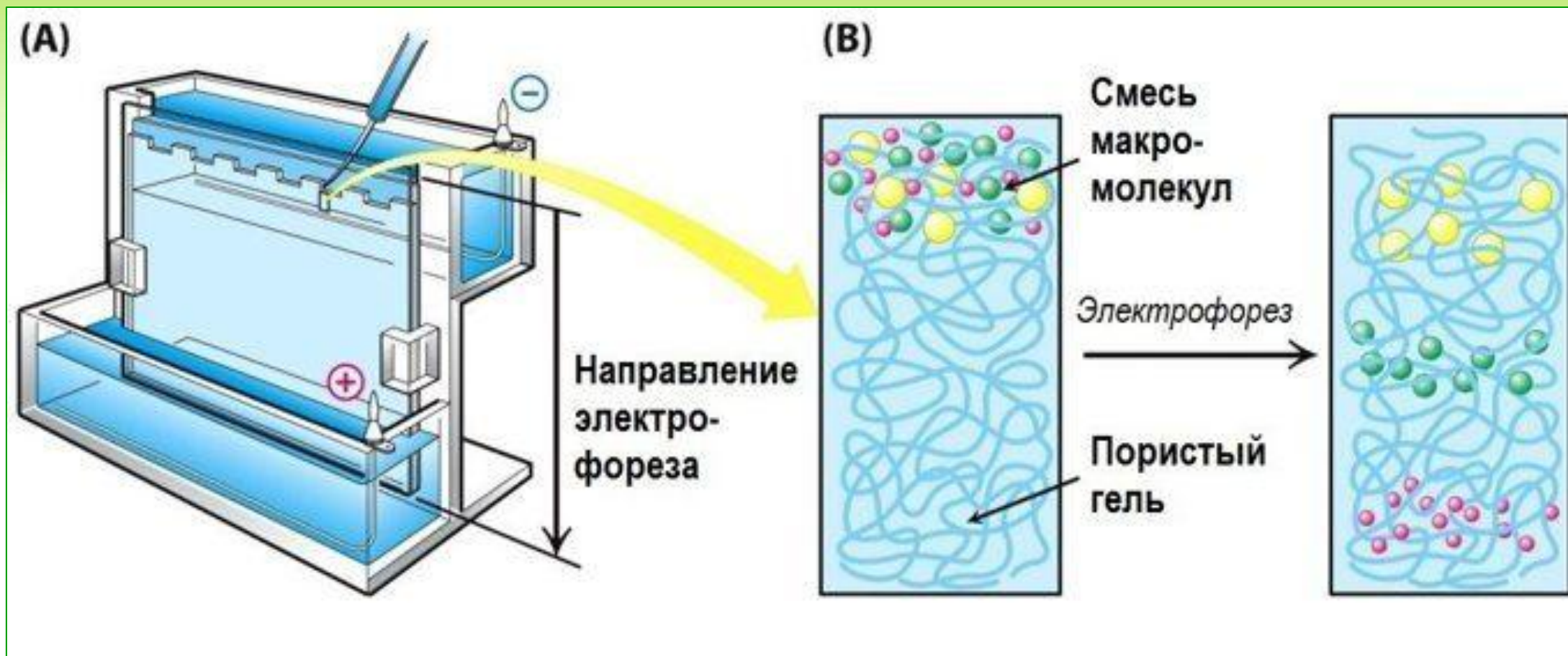
Метод меченых атомов

Используется для изучения биохимических процессов в живых клетках. Чтобы отследить превращения вещества из его предшественника, один из атомов заменяют соответствующим изотопом (водорода, фосфора, углерода). Радиоактивное излучение позволяет наблюдать за соединением, установить этапы его превращения, их продолжительность, зависимость от внешних условий.



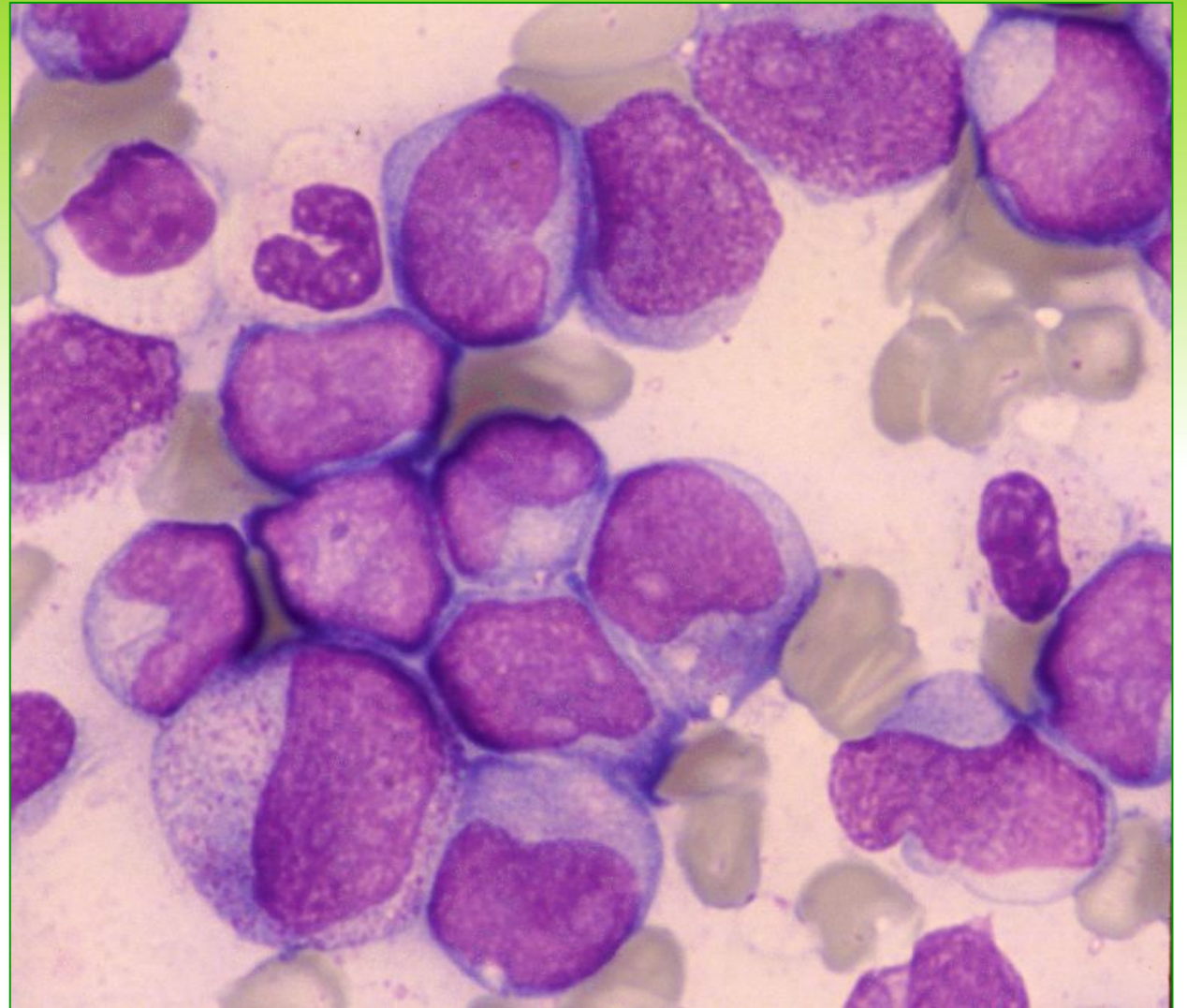
Электрофорез

Разделение смеси веществ в растворе обеспечивает электрический ток (в геле). Это помогает разделить смеси веществ в клетке, выделить качественный и количественный состав веществ.



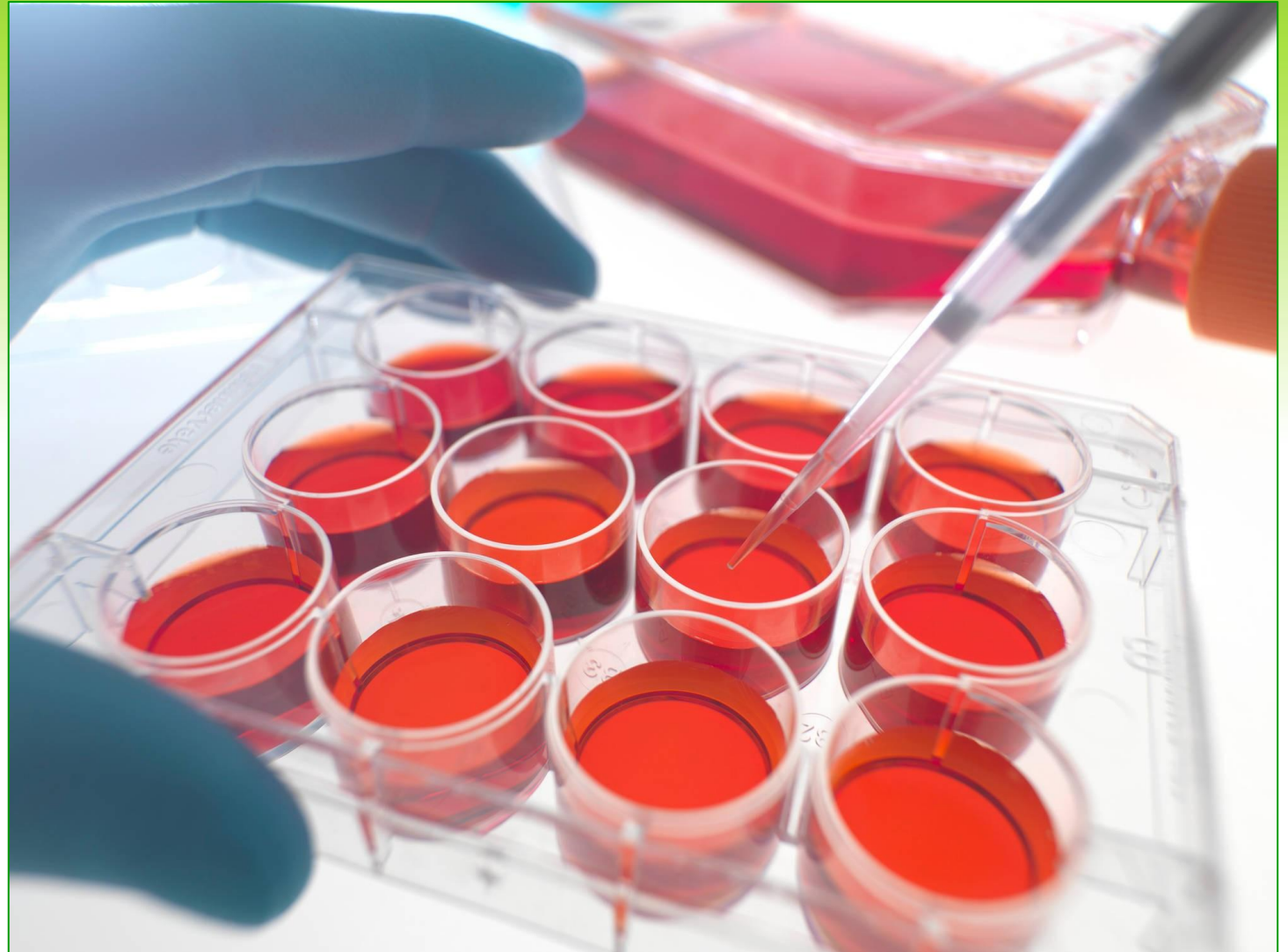
Цитохимические методы

Этими методами исследуют препараты костного мозга, крови, различных органов и новообразований. Они основаны на использовании специфических химических цветных реакций для определения в клетках различных веществ. Под действием специально подобранных реактивов происходит окрашивание тех или иных веществ в цитоплазме, а по степени и характеру окраски судят о количестве или активности исследуемых веществ.



Культивирование клеток

Культивирование нередко требуется для исследования клеток. Это означает, что их приходится выращивать, задействовав при этом питательные среды. Такой подход дает возможность изучить их потребность в тех или иных веществах, а также молекулы, выделяемые такими клетками. Организмы, которые подвергают культивированию, зачастую выделяют полезные для человека вещества в окружающую среду.



Метод рекомбинантных ДНК

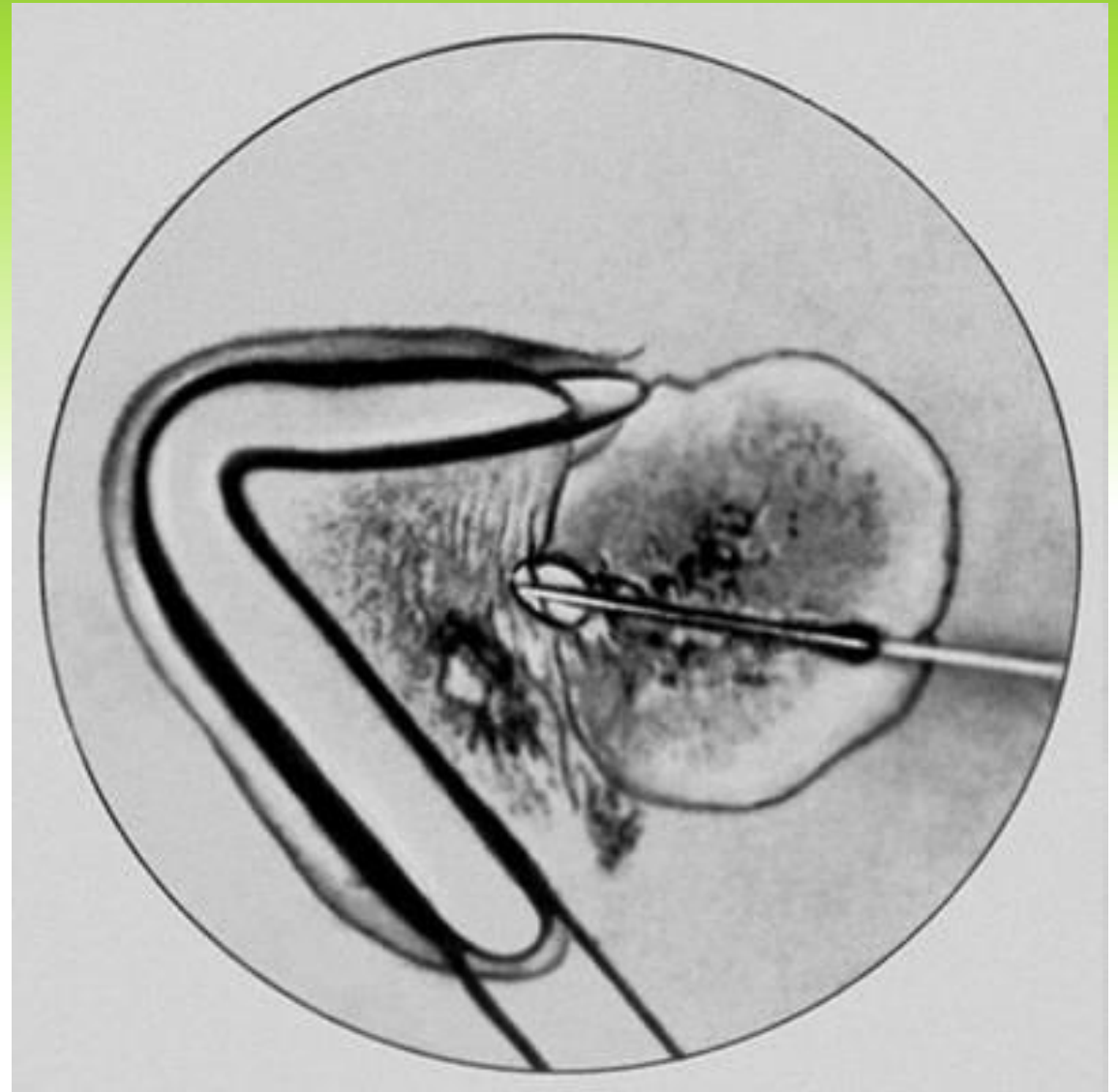
Эти методы позволяют анализировать фрагменты ДНК, находить и изолировать отдельные гены и сегменты генов и устанавливать в них последовательность нуклеотидов.

ДНК «вырезают» из клетки, встраивают ее в генетический аппарат бактерии или вируса и изучают ее структуру, синтезируют новые гены, переносят их из эукариотных клеток в бактериальные и стимулируют их работу



Микрохирургия

Микрохирургия также является одним из используемых сегодня методов изучения клетки. При этом производится удаление тех или иных компонентов, пересаживание клеток друг друга, внедрение разных веществ в форме микроинъекции и т. д. Целью здесь выступает изучение деления, специализации и дифференциации клеток и их групп.



Хроматография

Метод основан на разнице скорости движения растворенных веществ через адсорбент. Вещества имеют разную молекулярную массу и поэтому с разной скоростью двигаются через волокна фильтровальной бумаги, порошок целлюлозы, другие пористые вещества. Изучаемые вещества, например, основные пигменты экстракта листьев — ксантофилы, каротин, хлорофиллы а, в.

