

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
Биологический факультет
Кафедра клеточной биологии и гистологии

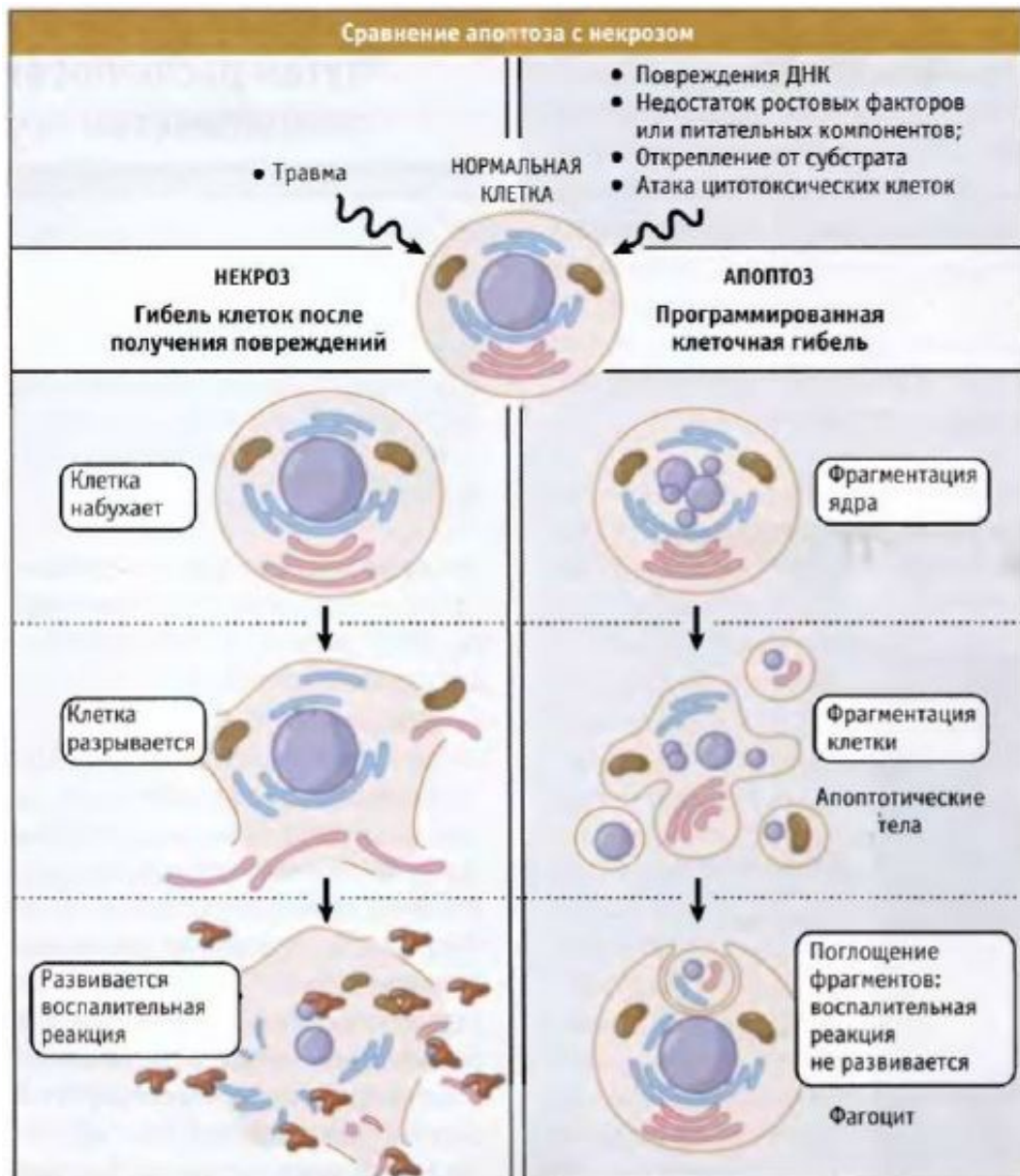
Занятие 14.

АПОПТОЗ

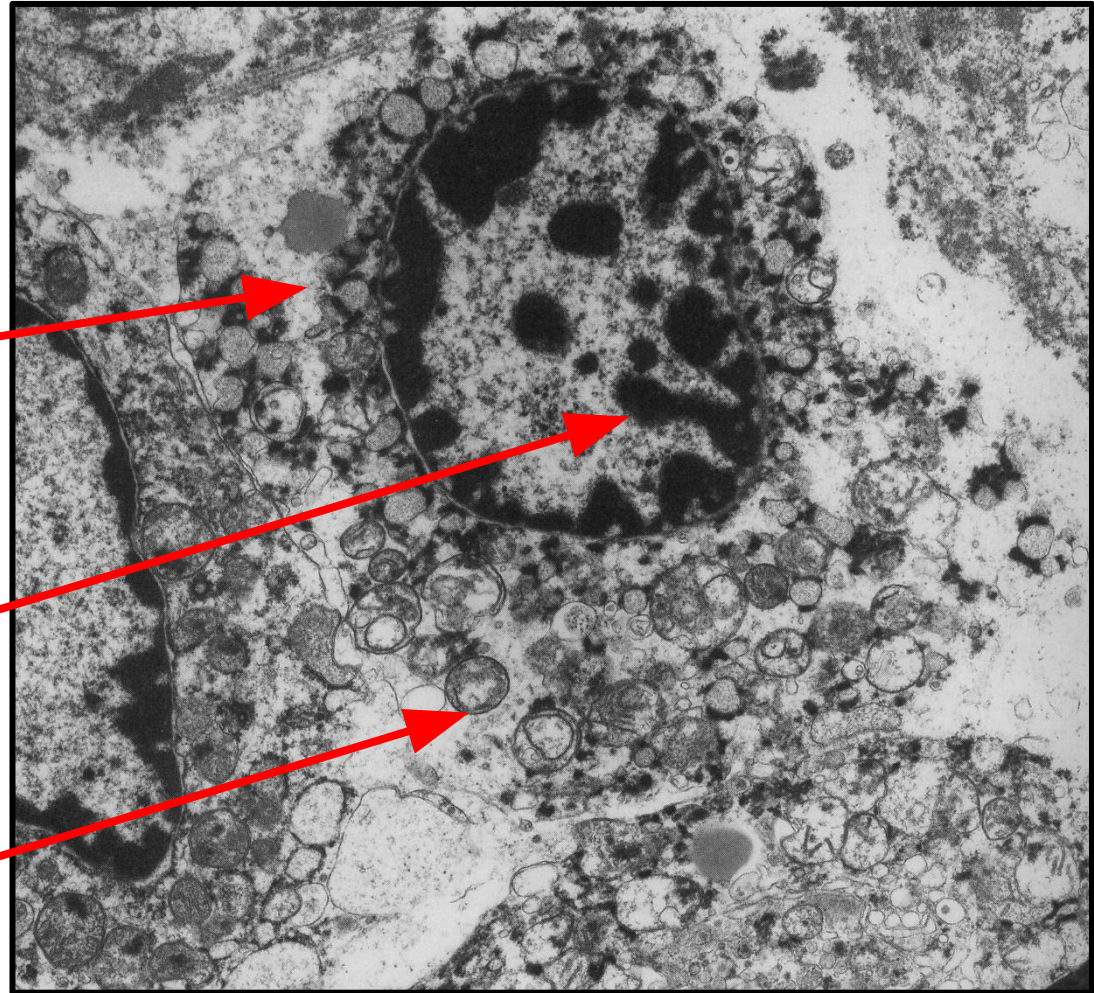
Доронина Татьяна Валерьевна

2019 год

Сравнение апоптоза и некроза



Некроз опухолевой клетки мышцы при ишемии. ТЭМ

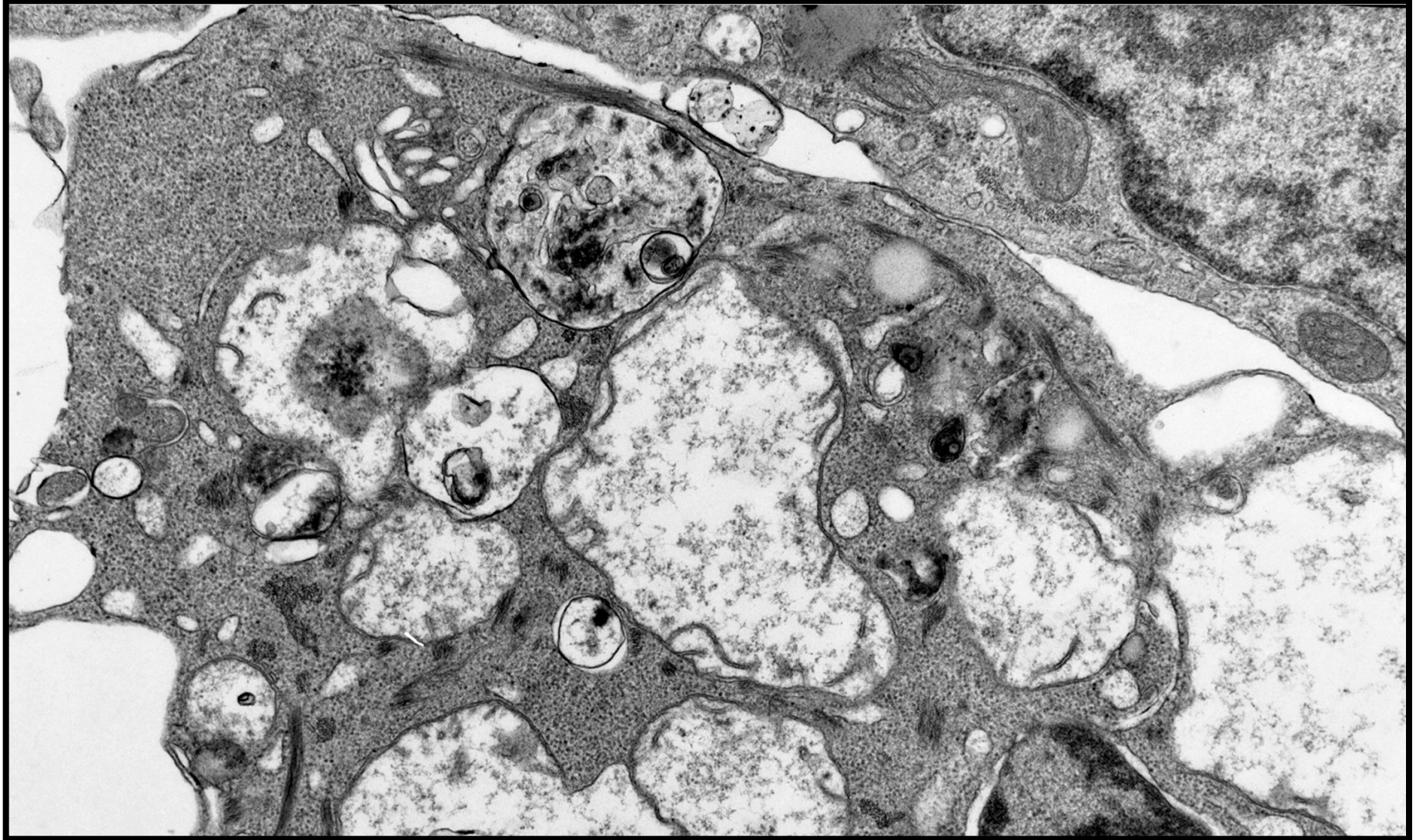


разрыв
плазматическо
й мембраны

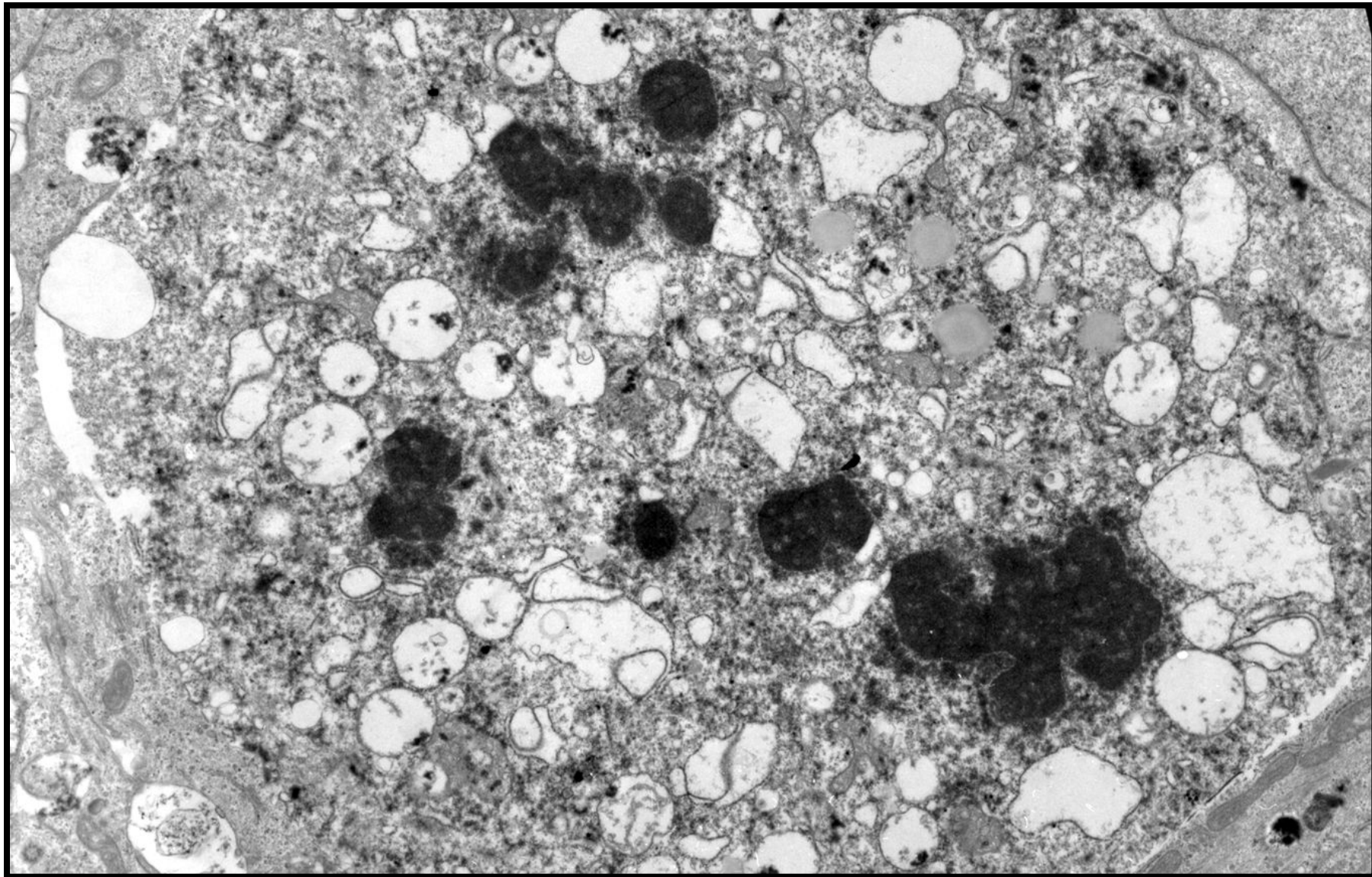
кариорекси
с

деградация
цитоплазматических
структур

Некроз. ТЭМ.



Некроз. ТЭМ.

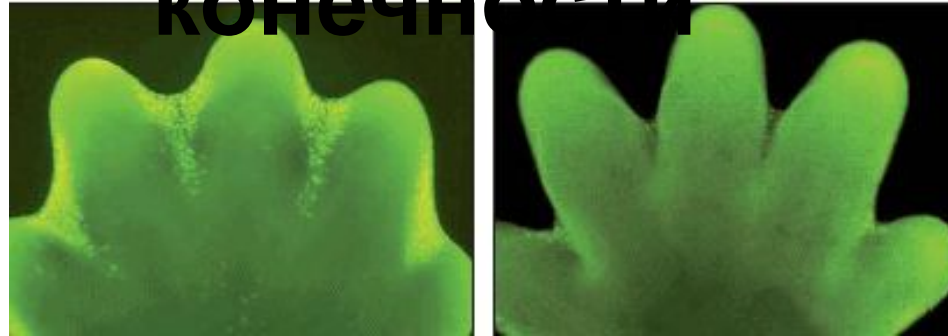


Признаки некроза

1. Набухание клеток и их мембранных органелл
2. Неспецифическая компактизация хроматина
3. Вакуолизация цитоплазмы
4. Нарушение целостности плазматической мембраны
5. Выход содержимого клетки во внеклеточное пространство
6. Развитие в области некроза воспалительной реакции

Апоптоз при формировании

конечности



Гибель клеток межпальцевых перегородок лапки мыши при формировании конечности



Нога человека со сросшимися указательным и средним пальцами

Апоптоз в онтогенезе лягушки

Головастик

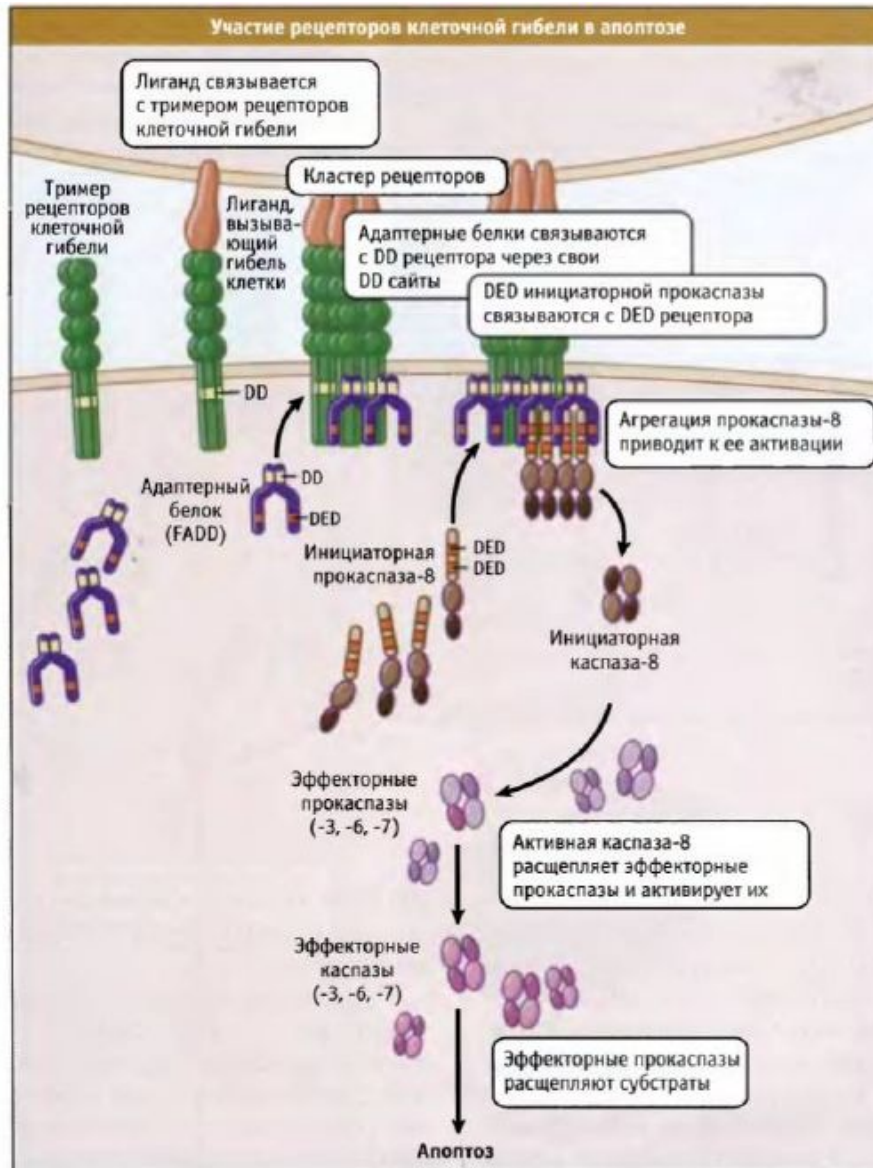


Лягушка



Гибель клеток хвоста головастика происходит с помощью апоптоза

Внешний путь апоптоза



Белки семейства Bcl-2

а) антиапоптотические Bcl2-белки (например, Bcl2, Bcl-X_L)



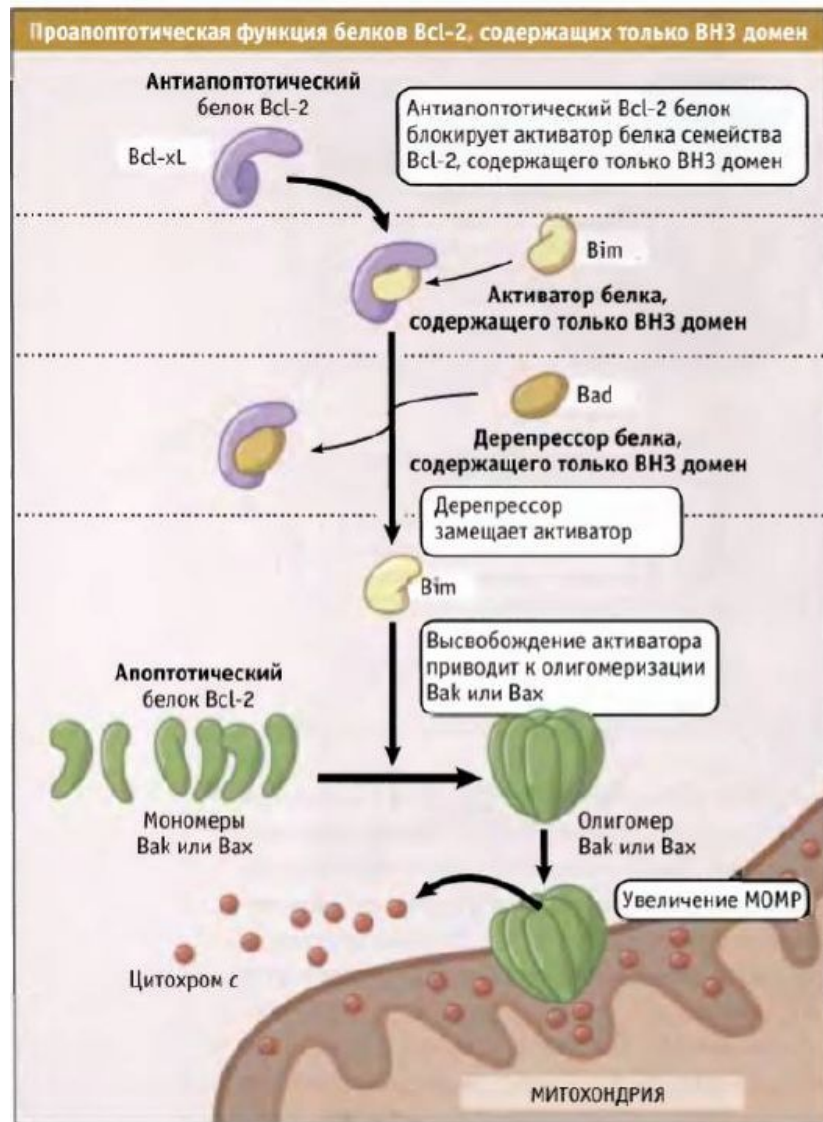
б) проапоптотические BH123 белки (например, Bax, Bak)



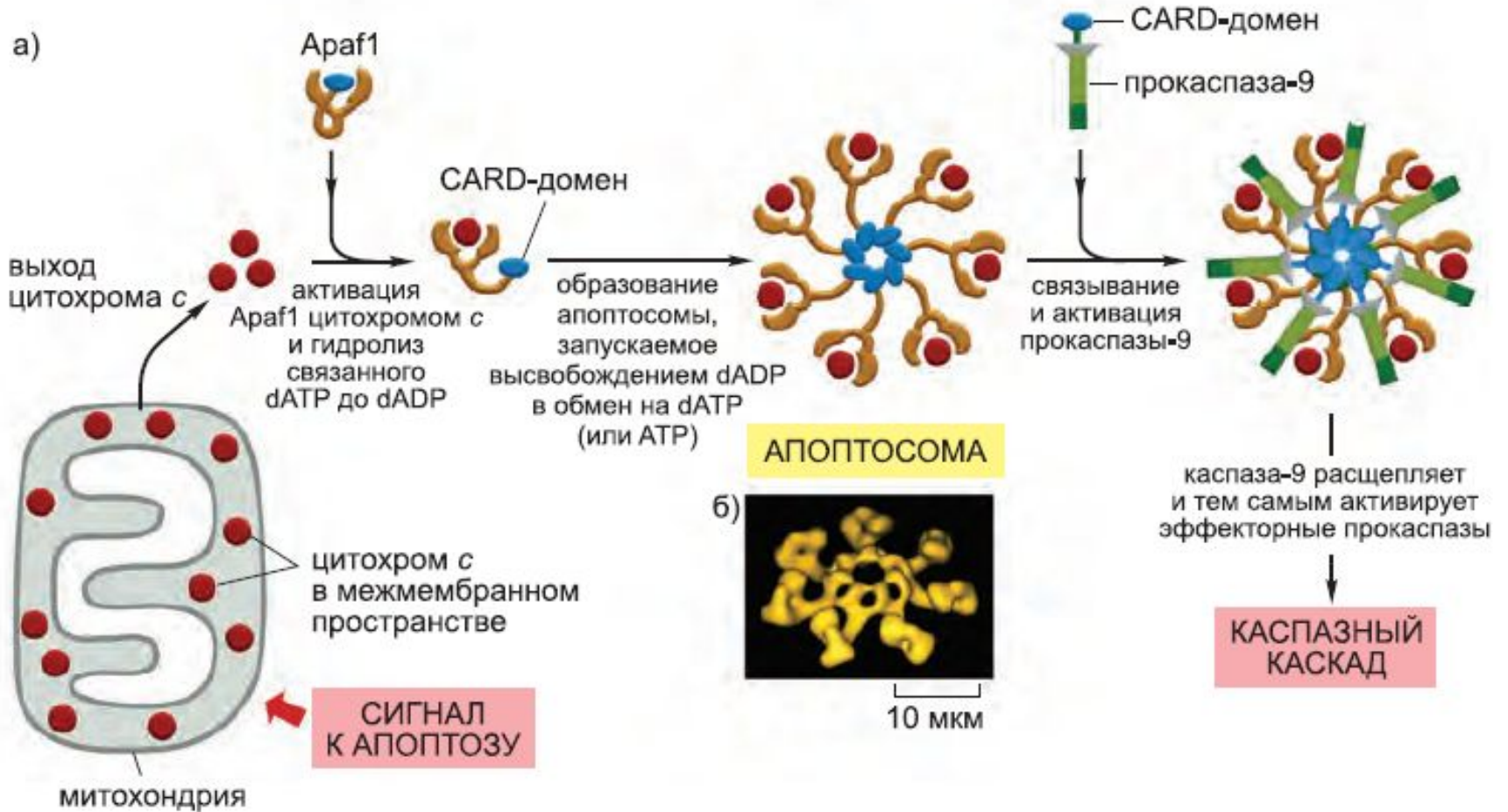
в) проапоптотические белки с одним только BH3-доменом (например, Bad, Bim, Bid, Puma, Noxa)



Bcl2 белок

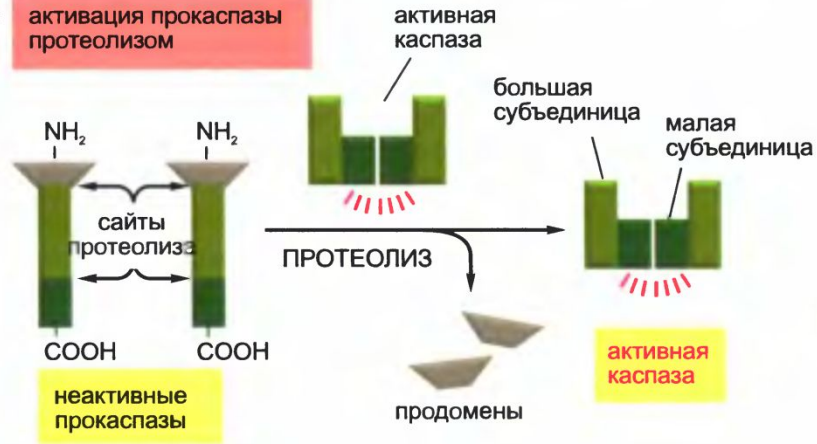


Внутренний путь апоптоза

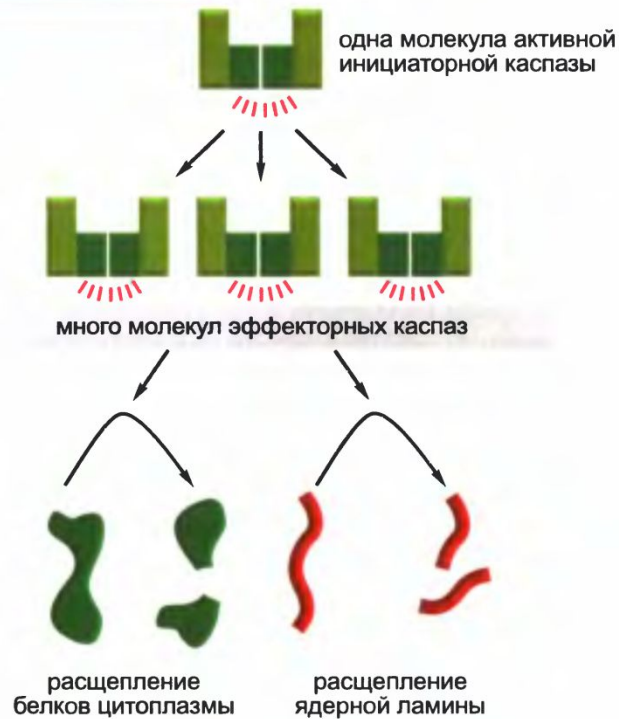


Работа каспаз

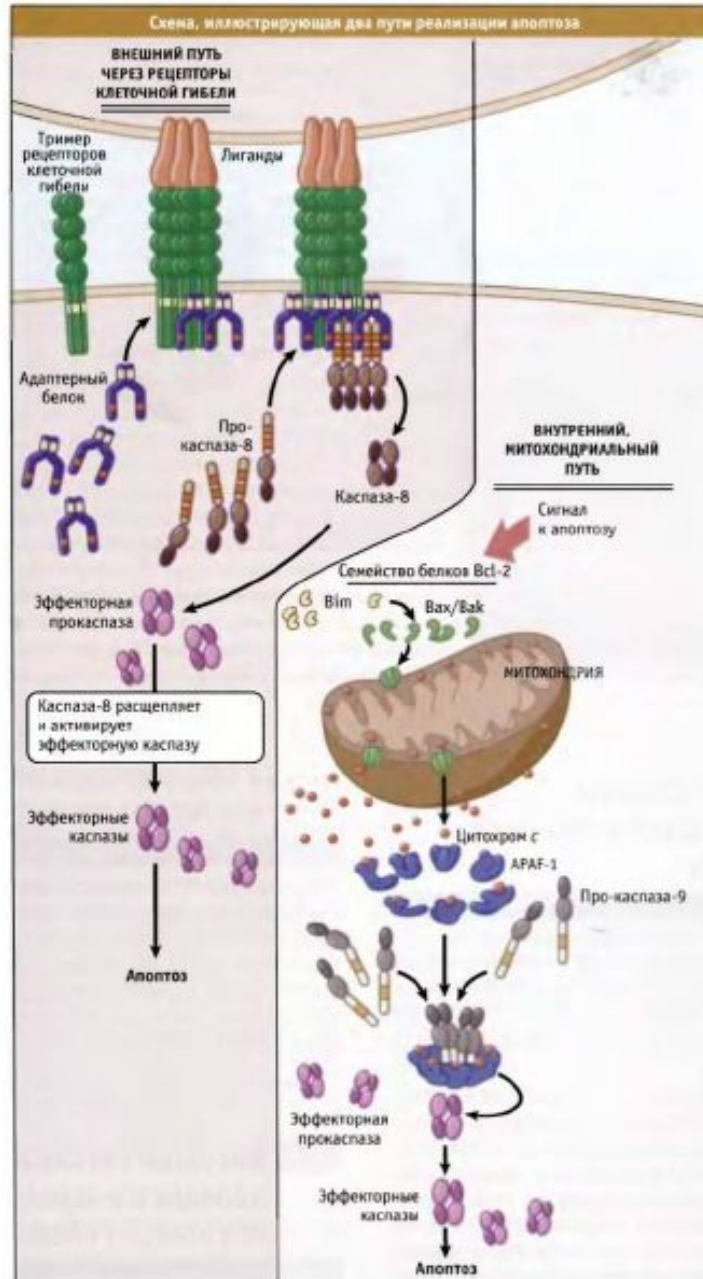
а) активация прокаспазы протеолизом



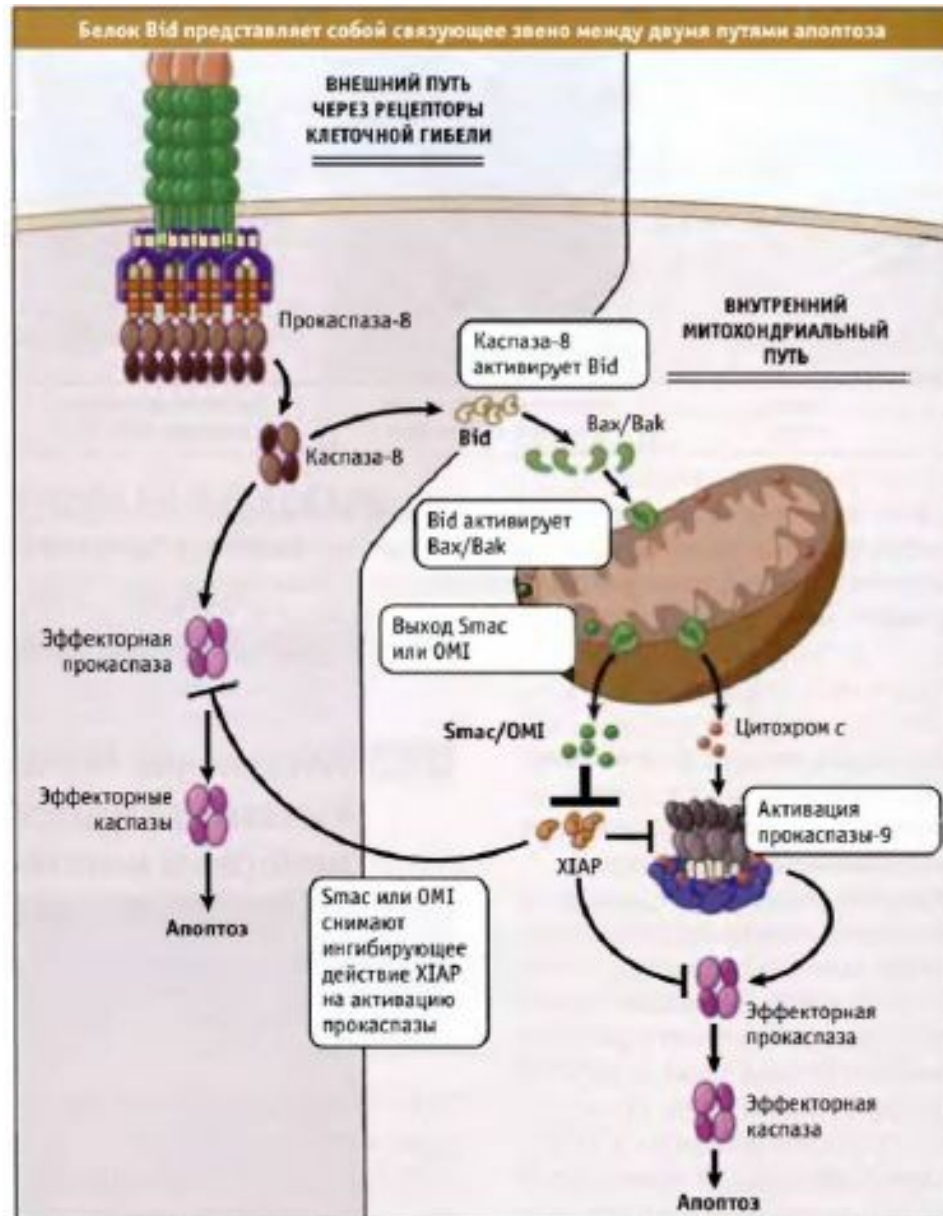
б) каспазный каскад

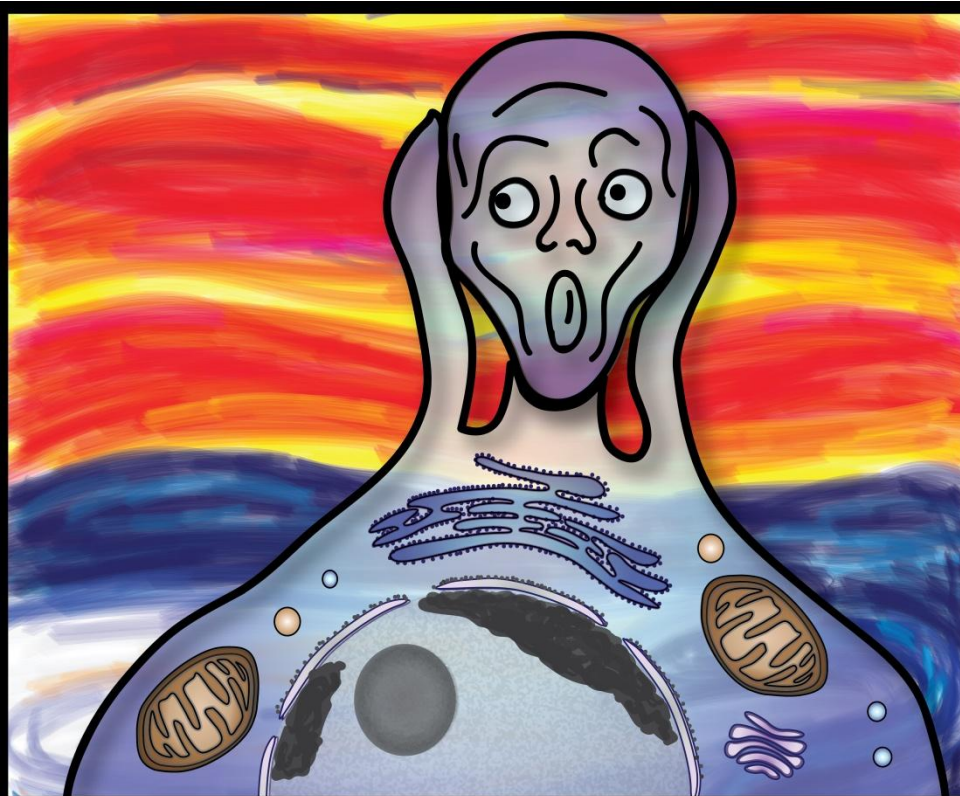


Два пути апоптоза



Связь между двумя путями апоптоза





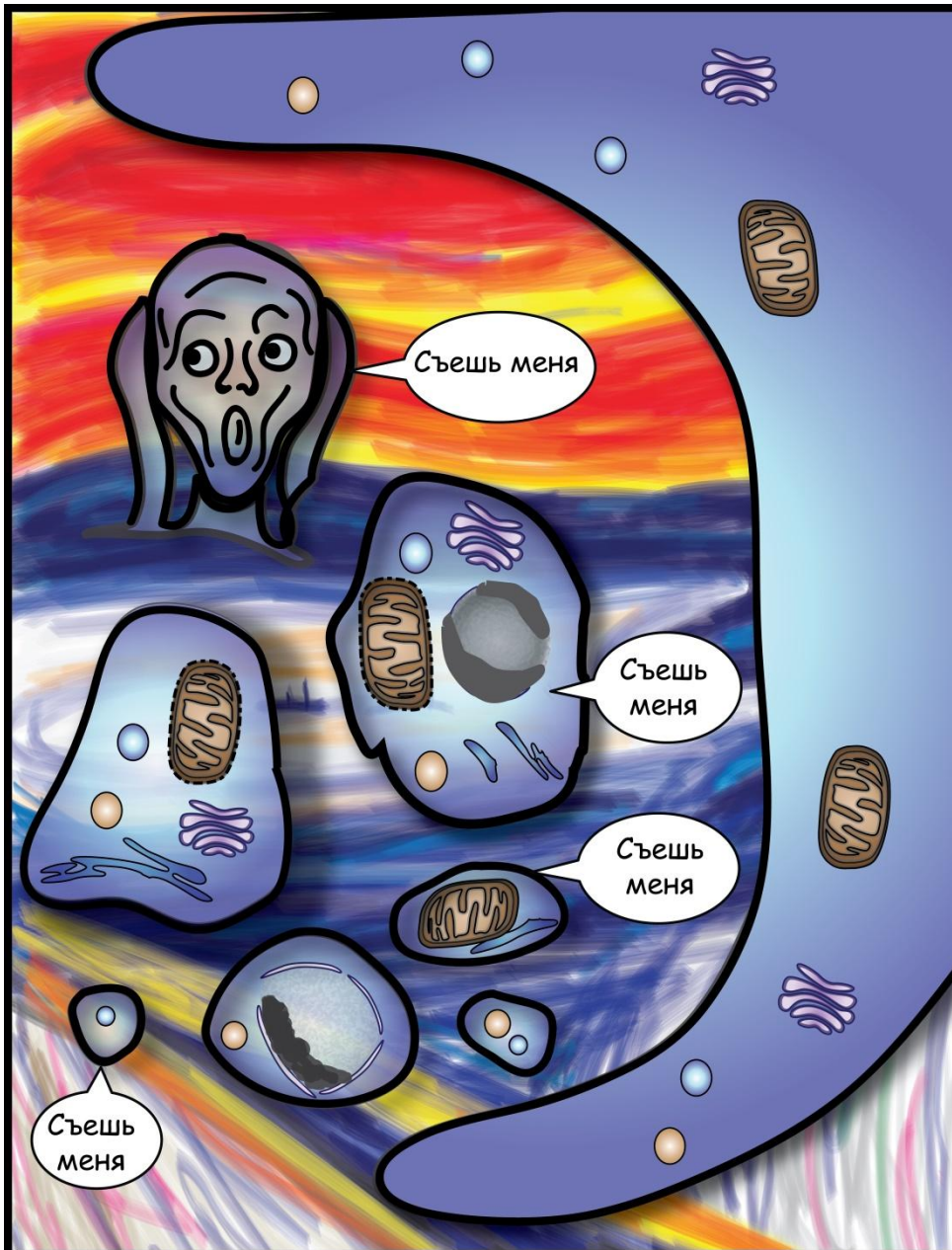
Клетка сжимается, хроматин ядра уплотняется...



... потом ядро фрагментируется,
мембрана формирует пузырьки -
блеббы...

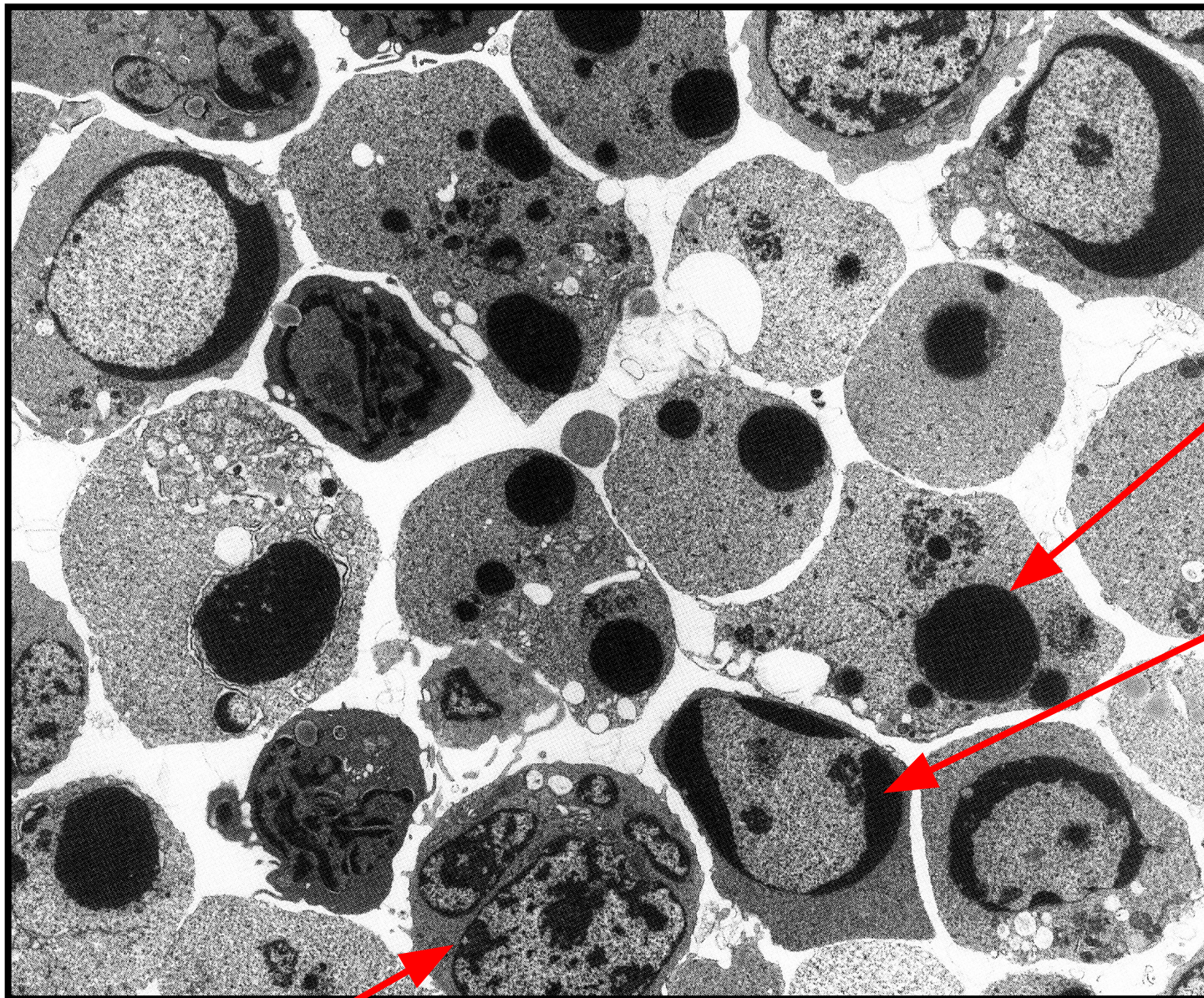


... и в конце концов клетка
фрагментируется на
апоптотические тельца



Когда клетка фрагментировалась на апоптотические тельца, она подает сигнал другим клеткам, чтобы они поглотили ее

Апоптоз. 4 часа индукции тепловым шоком. ТЭМ.

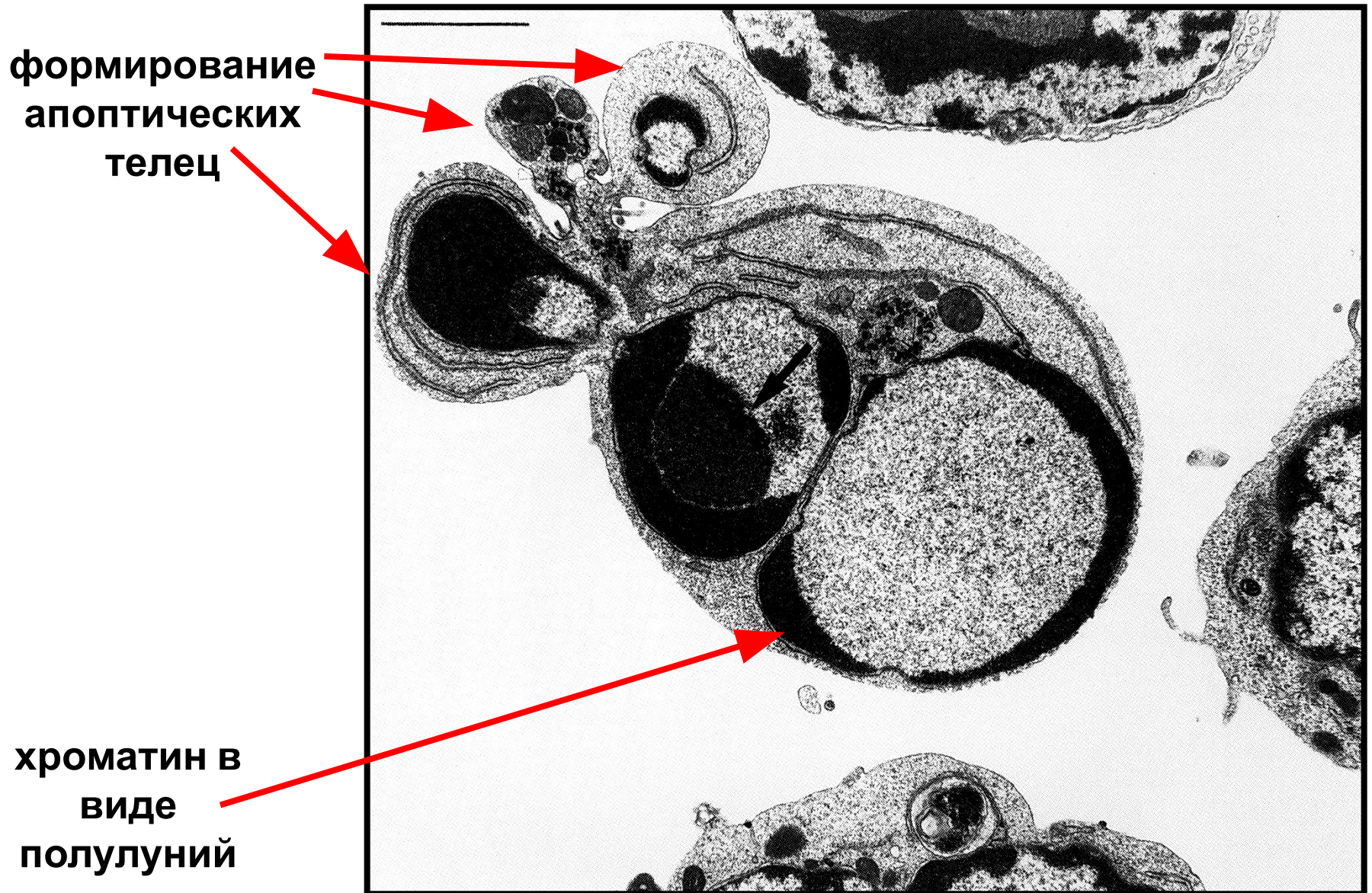


глыбки
хроматина в
цитоплазме

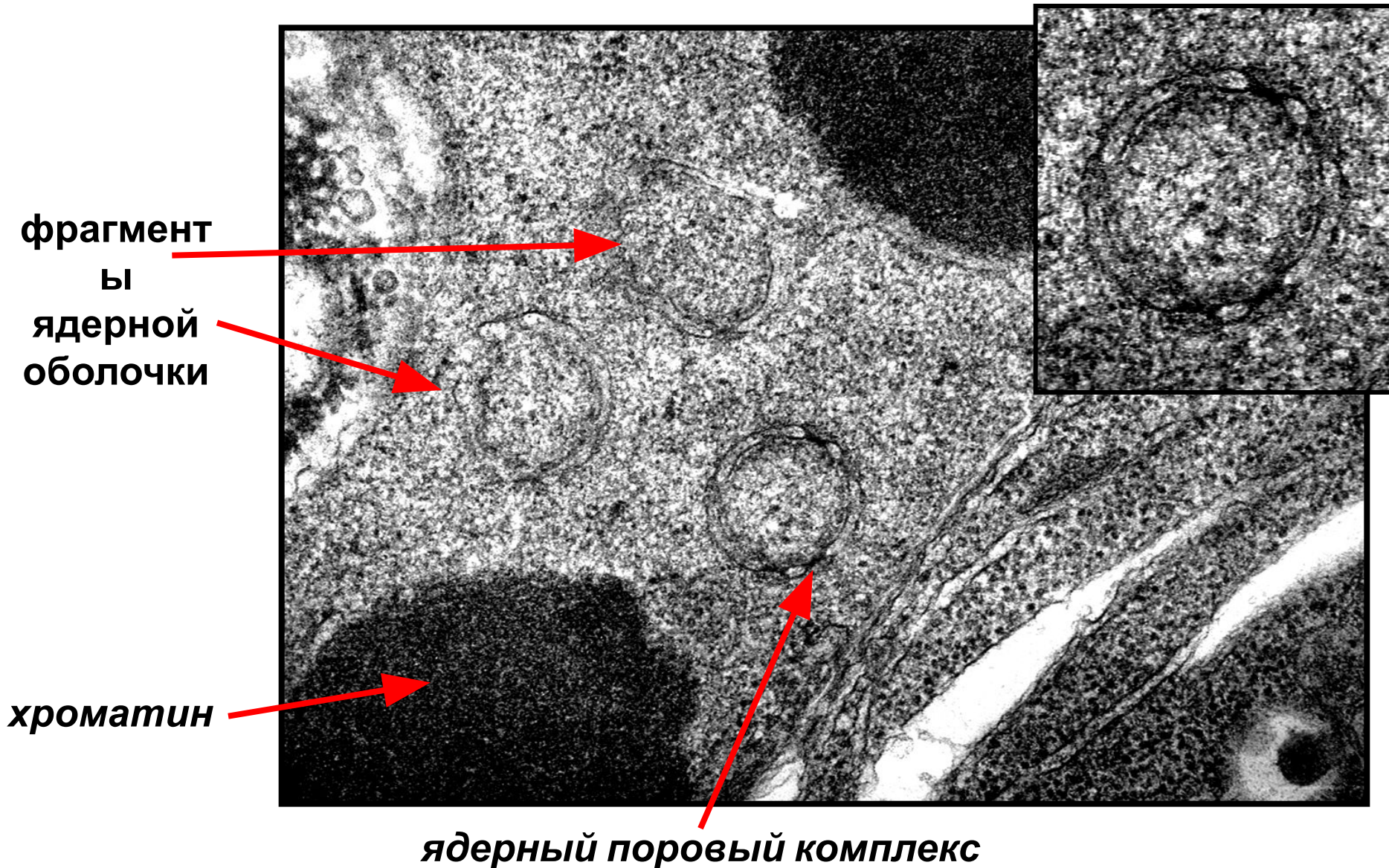
хроматин в
виде
полулуний

многоядерная клетка

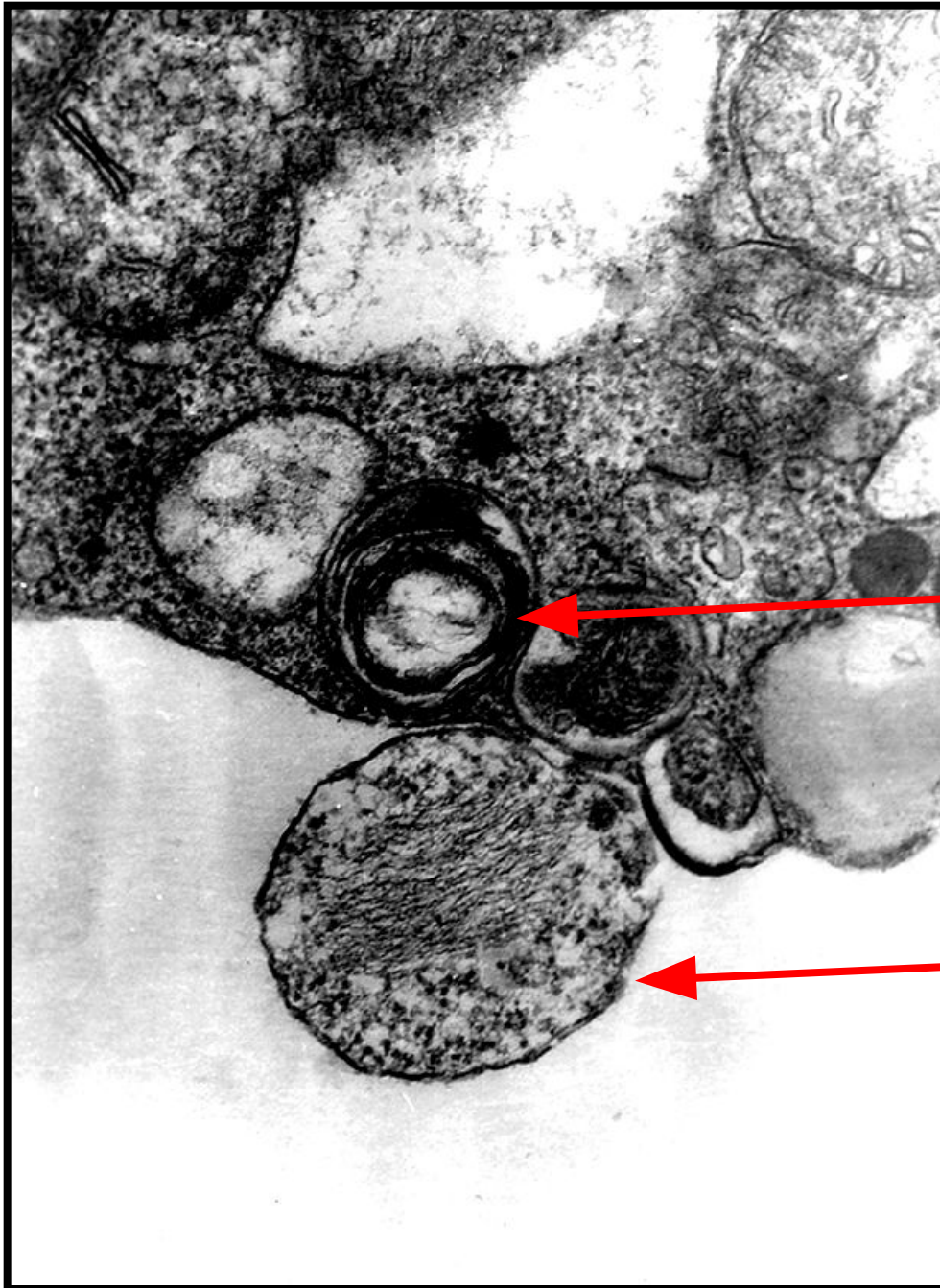
Апоптоз в культуре мышечной миеломы NS-1. Блеббинг апоптотической клетки. ТЭМ.



Культура СПЭВ после воздействия циклогексимидом. Поздняя стадия апоптоза. ТЭМ.



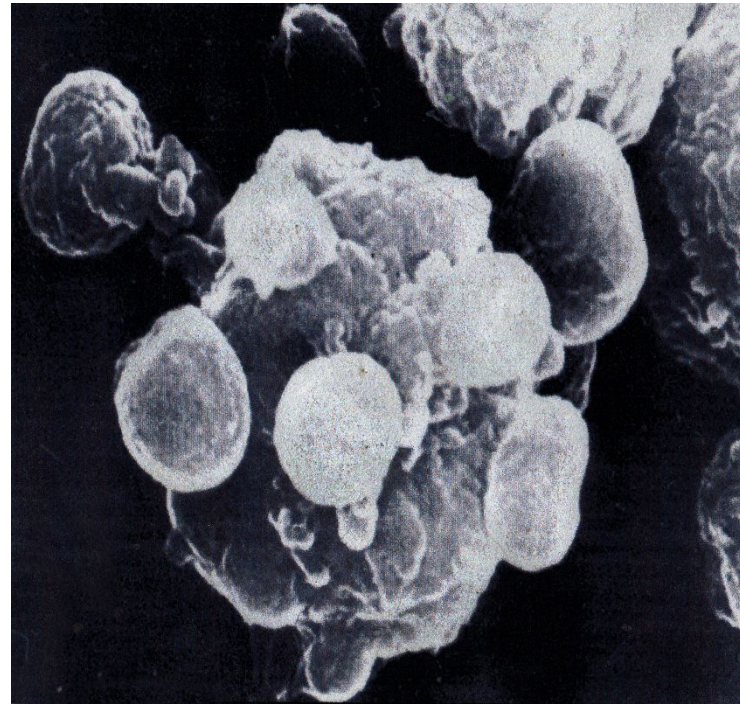
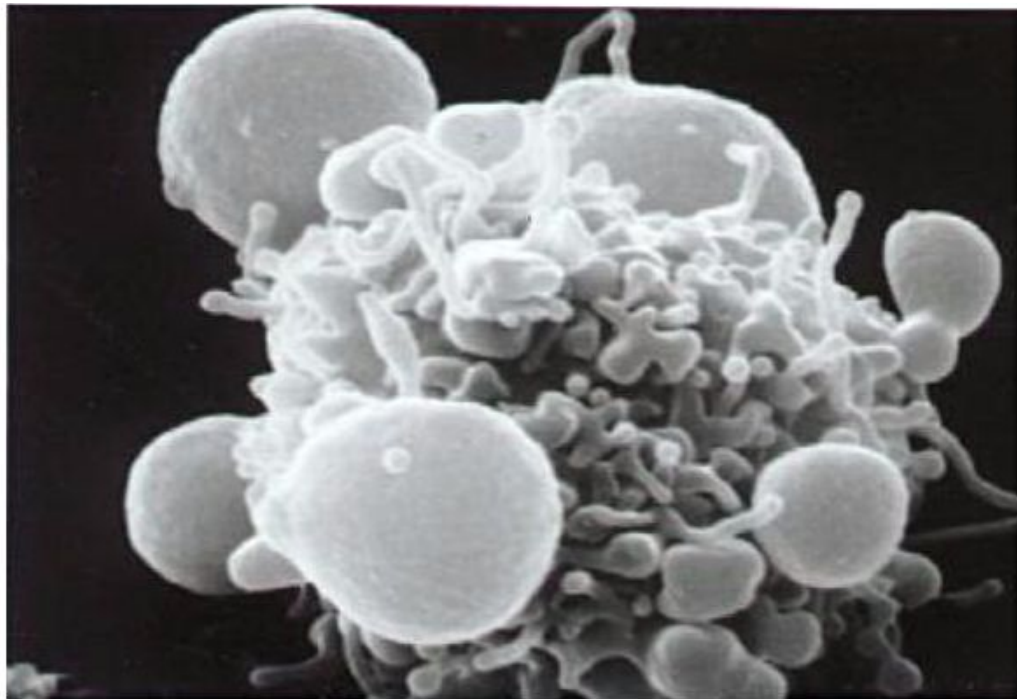
Блеббинг. ТЭМ.



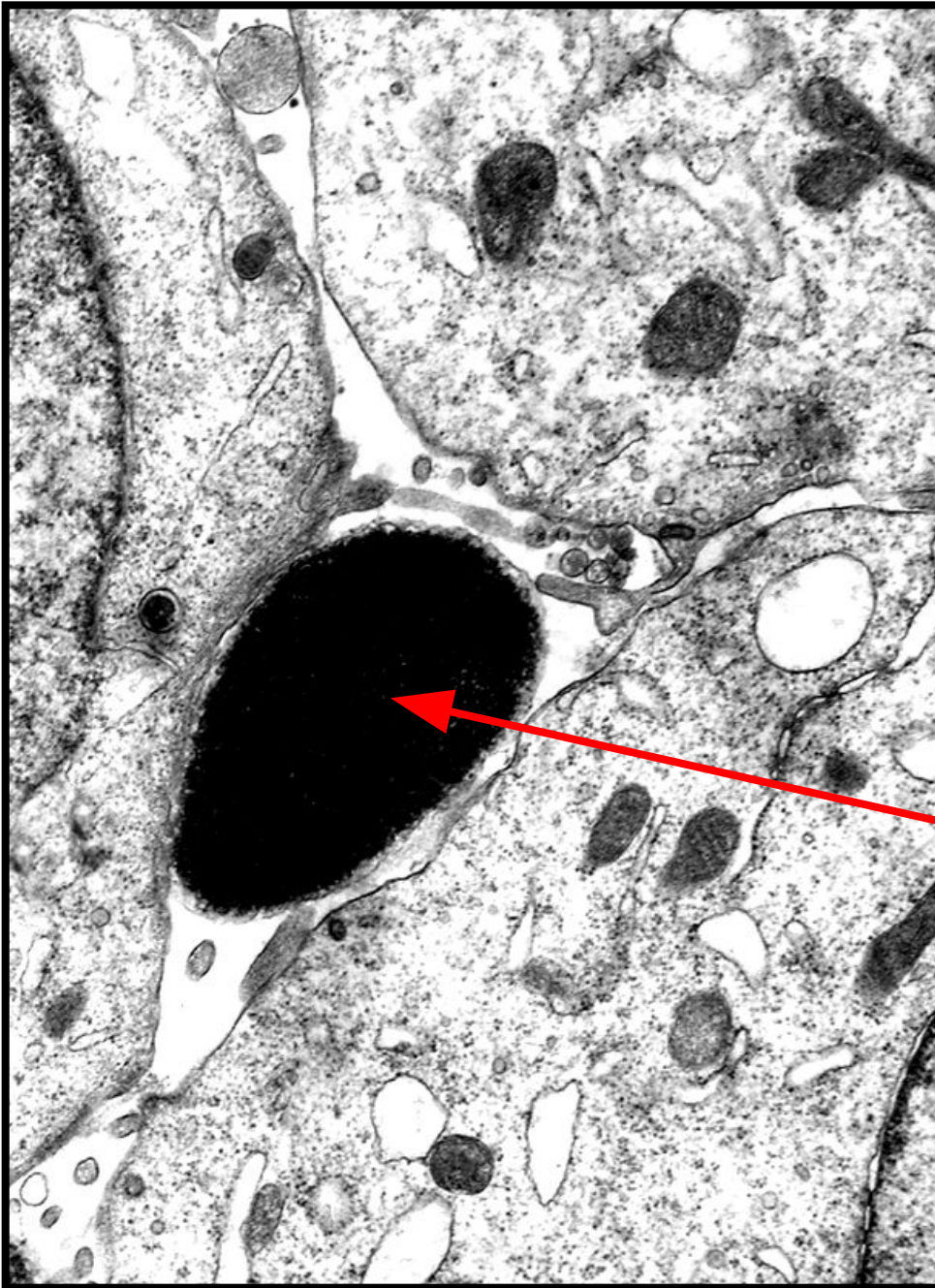
аутофагосомы

блебб с
элементами
цитоскелета

Блеbbing апоптотической клетки. СЭМ



**Апоптическое
тельце в
культуре. ТЭМ.**



**хроматиновое
апоптотическое
тельце**

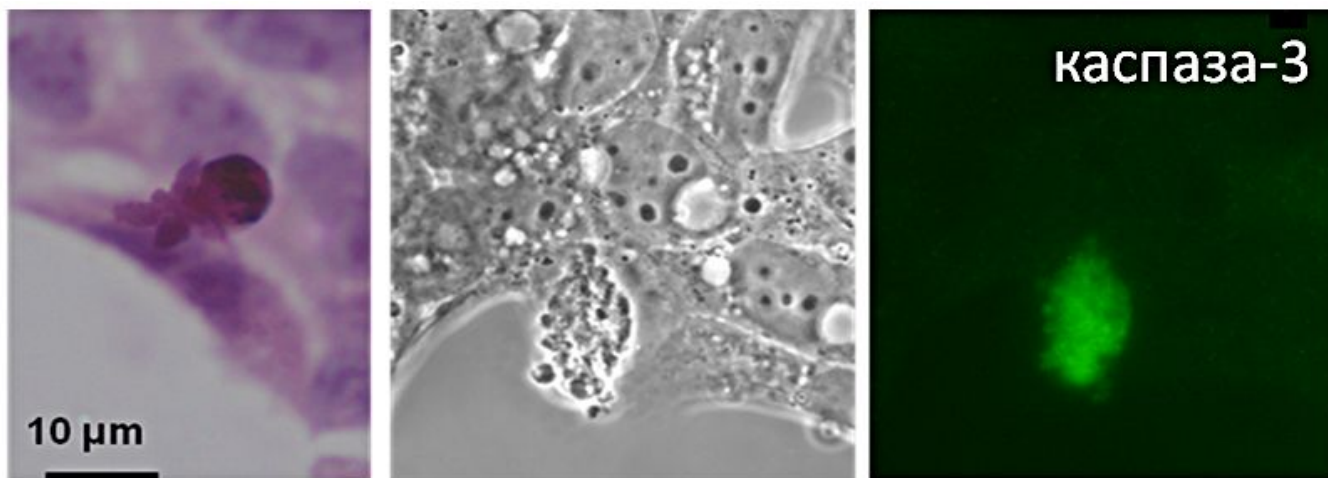
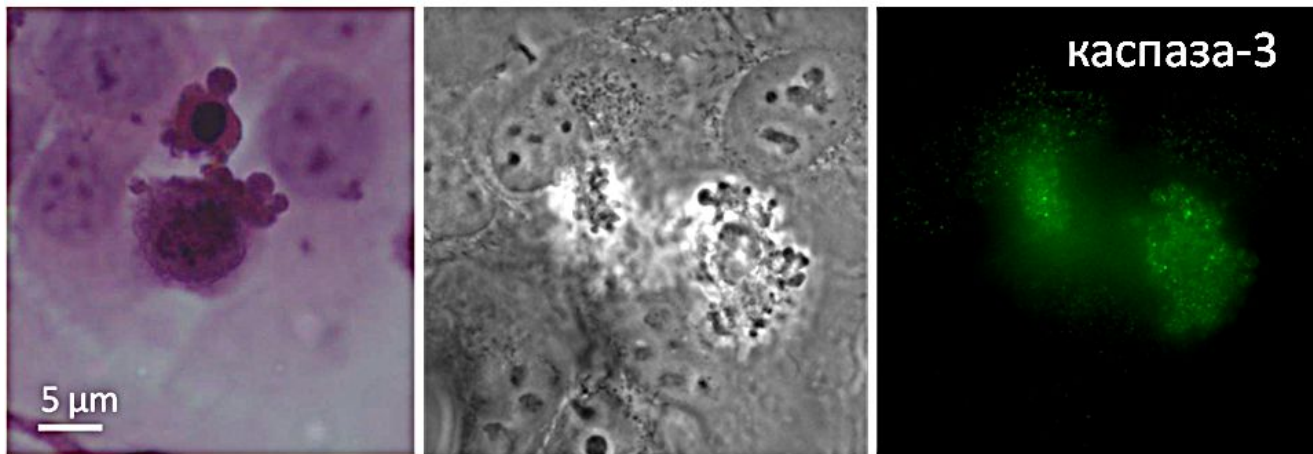
Признаки апоптоза

1. Конденсация хроматина
2. Пикноз ядра
3. Расщепление ДНК до нуклеосомного уровня
4. Фрагментация ядра
5. Конденсация цитоплазмы
6. Блэббинг плазматической мембраны
7. Отделение рибосом от эндоплазматического ретикулума
8. Выход лизосомных протеаз в цитозоль
9. Нарушение проницаемости митохондрий
10. Реорганизация и распад компонентов цитоскелета
11. Активация каспаз
12. Фрагментация клетки на апоптотические тельца
13. Поглощение другими клетками

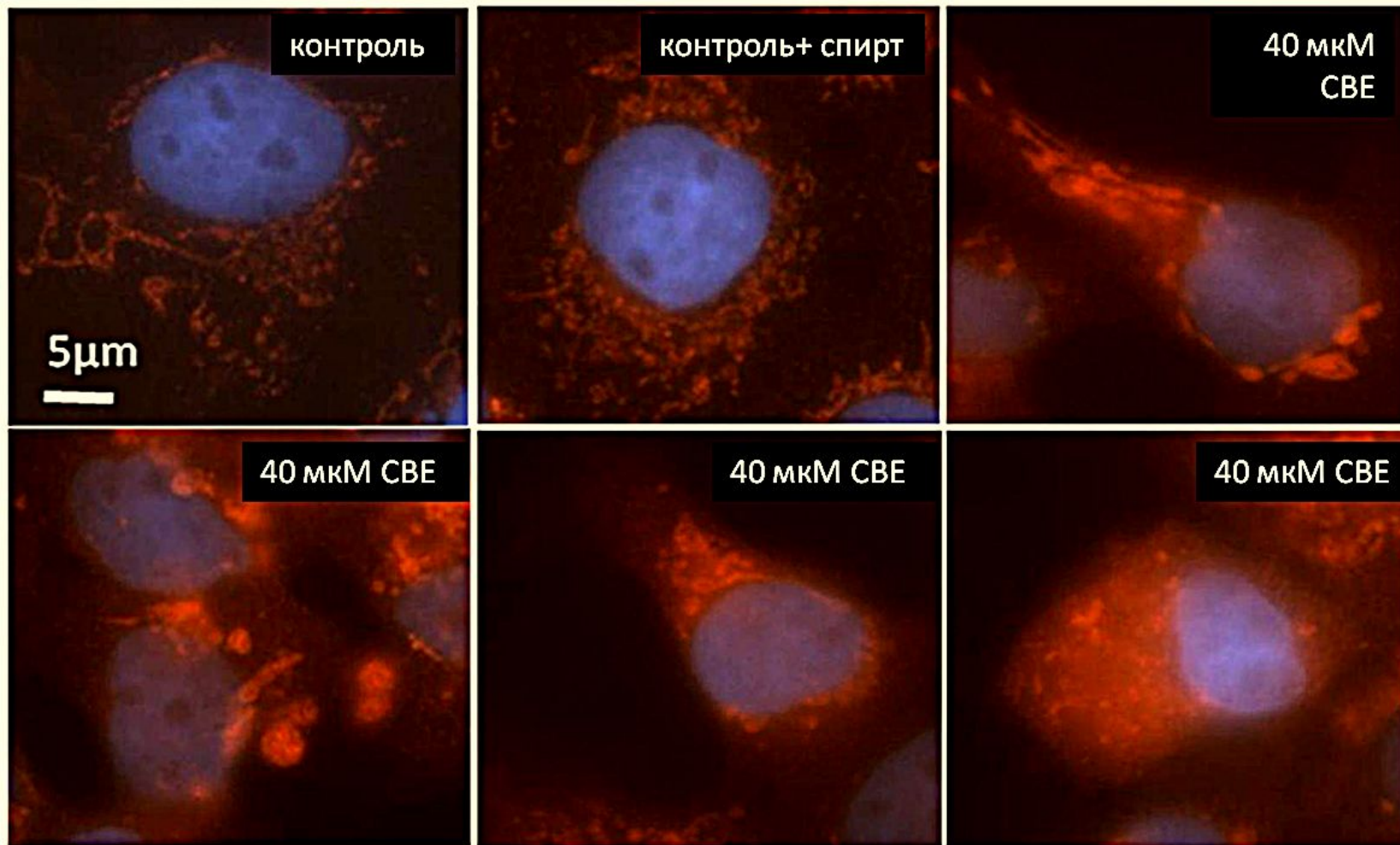
Выявление апоптоза

1. Световая микроскопия – выявление апоптотических клеток, подсчет апоптотического индекса
2. Электронная микроскопия – выявление морфологических признаков апоптоза
3. Флуоресцентная микроскопия – аннексин V – выявление экспозиции фосфотадилсерина
4. TUNEL (Terminal deoxynucleotide transferase dUTP Nick End Labeling), электрофорез ДНК – выявление фрагментации ДНК
5. Иммуноцитохимическое выявление каспаз, выхода цитохрома c из митохондрий и т.д.
6. Флуорогенные субстраты каспаз

Иммуноцитохимическое выявление каспазы-3

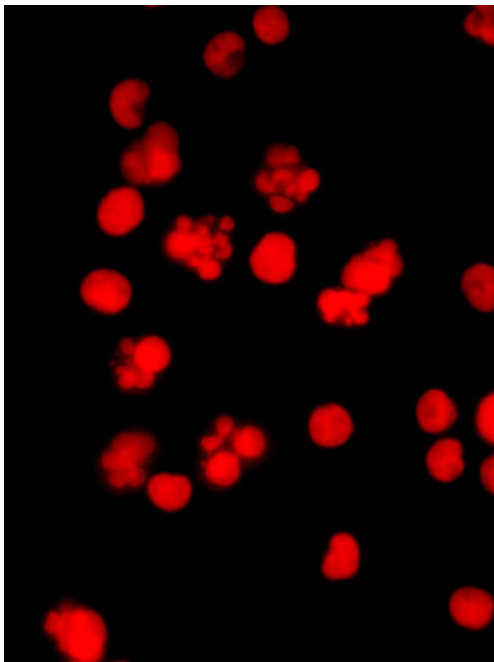


Иммуноцитохимическое выявление цитохрома с

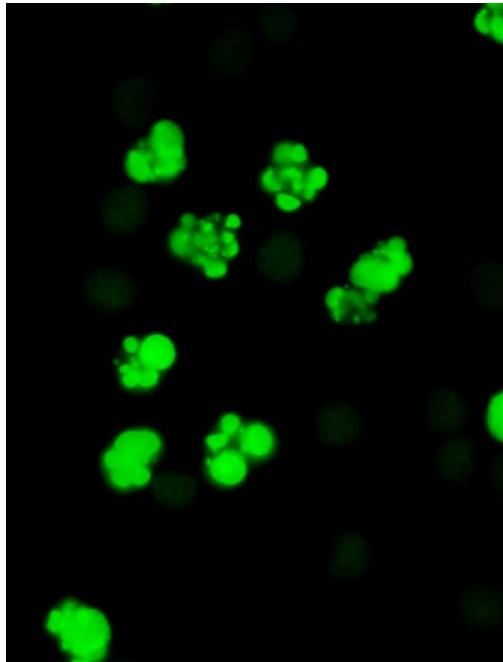


Выявление разрывов ДНК по методу TUNEL

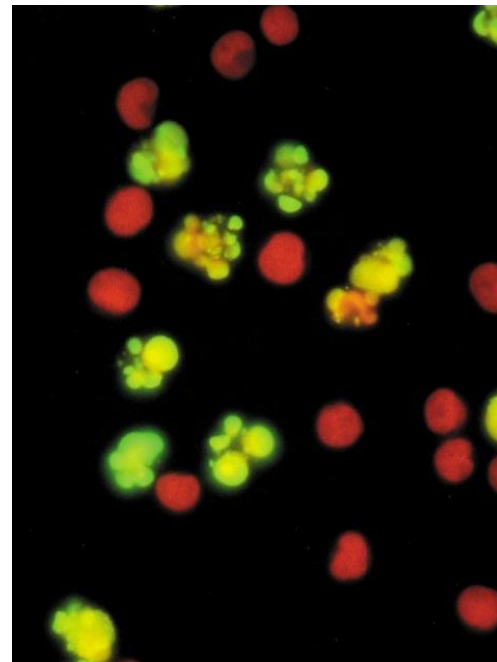
Хроматин ядер



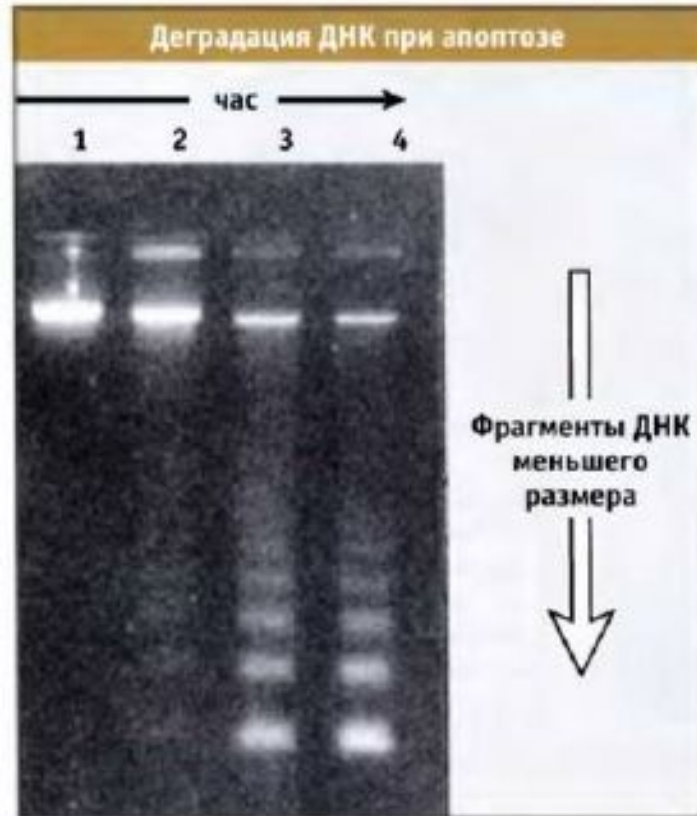
Метод TUNEL



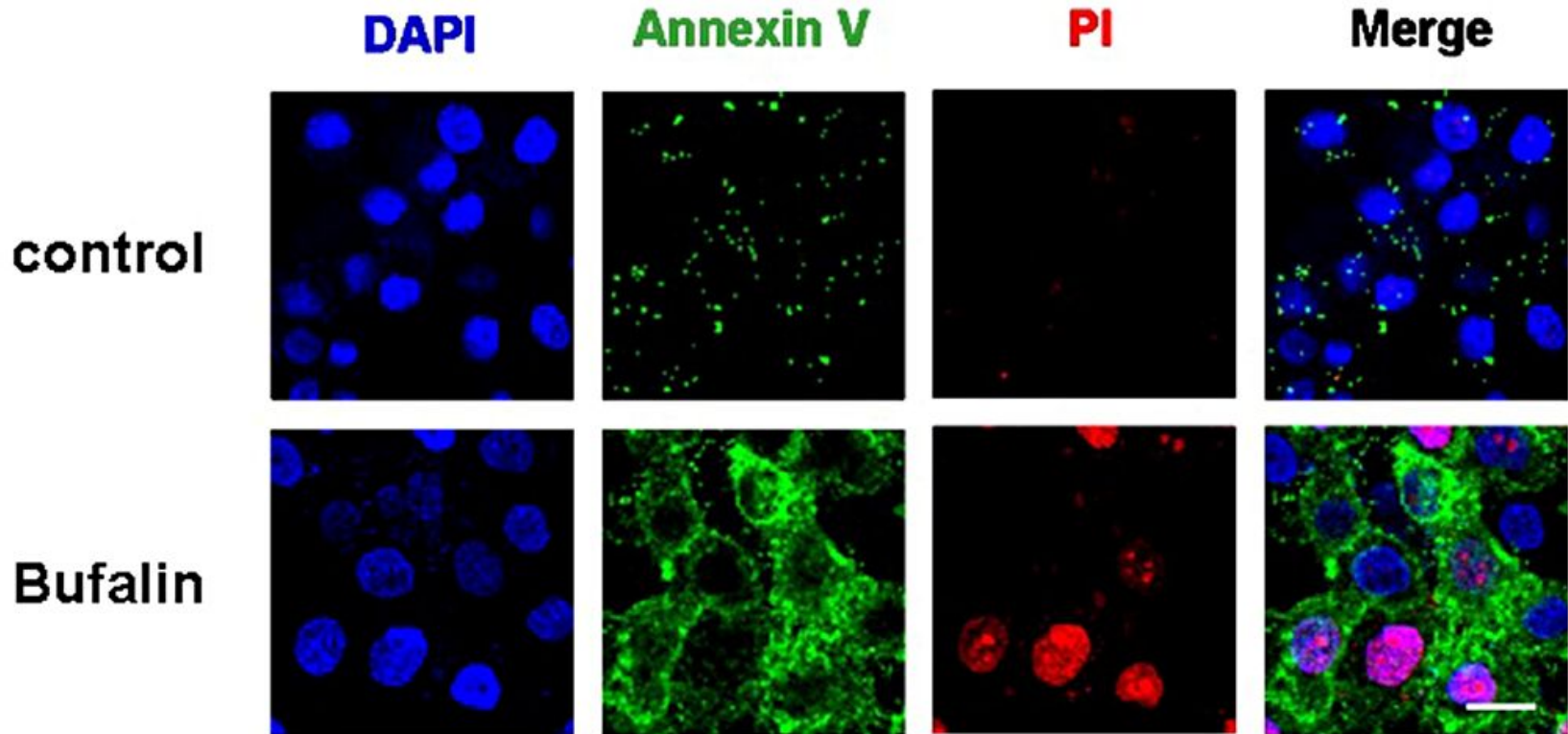
Совмещение



Выявление фрагментации ДНК с помощью электрофореза



Выявление некроза и апоптоза



Аннексин V - связывает фосфатидилсерин. Пропидиум иодид окрашивает ядра мертвых клеток.

Комбинация аннексина V с иодидом пропидия позволяет разделить три различных фенотипа: клетки, не находящиеся в апоптозе, не связываются с меткой, апоптотические клетки связываются только с аннексином V, некротические клетки связываются с аннексином V и окрашиваются иодидом пропидия.

Рисунки

1. ТЭМ Некроз опухолевой клетки мышцы при ишемии. Кариорексис, деградация цитоплазматических структур
2. ТЭМ Деградация митохондрий в некротической клетке
3. ТЭМ Общая картина апоптотических клеток лимфомы при тепловом шоке
4. ТЭМ Апоптоз клеток в культуре ткани. Фрагментация ядра, периферическая конденсация хроматина, образование цитоплазматических выростов (blebbing), (апоптотические тельца)
5. ТЭМ Апоптоз в культуре мышечной миеломы NS-1
6. СЭМ Блеббинг апоптотической клетки
7. Фл Выявление каспазы-3
8. Фл TUNEL
9. Фл Выход цитохрома c из митохондрий
10. Фл Аннексин V и пропидий иодид