

ПРИДНЕСТРОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. Т.Г. ШЕВЧЕНКО

Естественно-географический факультет

Кафедра зоологии и общей биологии

ЦИТОЛОГИЯ

Часть I

*Методические указания
к выполнению лабораторных работ*

Тирасполь, 2016

УДК 576.3(072.8)
ББК Е05р30
Ц74

Составители:

Г.В. Золотарева, к.б.н.

Т.Н. Звездина, к.с-х.н.

Л.Г. Ионова

Рецензенты:

С.И. Филиппенко – доцент кафедры общей биологии и зоологии

А.Я. Бачу – доцент кафедры физиологии и санокреатологии

Цитология, Часть I: Методические указания для выполнения
Ц74 лабораторных работ. / Сост. Г.В. Золотарева, Т.Н. Звездина, Л.Г. Ионова, – Тирасполь, 2016. – 48 с.

Методические указания по цитологии для специальности 020400 “Биология” включают описание методики проведения лабораторных работ в соответствии с утвержденным учебным планом. В указаниях предусмотрены перечни вопросов к контрольным работам. Приведены теоретические сведения по всем работам.

УДК 576.3(072.8)

ББК Е05р30

Утверждено Научно-методическим советом ПГУ им. Т.Г. Шевченко

© Г.В.Золотарева, Т.Н. Звездина, Л.Г. Ионова, составление, 2016

© ПГУ им. Т.Г. Шевченко, 2016

ЦИТОЛОГИЯ
Часть I

Методические указания для выполнения лабораторных работ

Подписано в печать ..16. Формат 60 × 90/16.

Усл. печ. л. 3,0. Тираж экз. Заказ №

ОГЛАВЛЕНИЕ

СОДЕРЖАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ	4
ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЯХ ПО ЦИТОЛОГИИ	5
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1. Работа со световым микроскопом	7
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2. Методика приготовления микропрепаратов	11
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3. Общее строение клетки	14
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4. Строение мембран клетки. Изучение проницаемости клеточных мембран	20
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 5. Двумембранные органеллы. Митохондрии. Пластиды	23
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 6. Одномембранные органеллы. Эндоплазматическая ретикулум. Аппарат Гольджи. Лизосомы	30
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 7. Немембранные органоиды клетки	34
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 8. Включения в растительных и животных клетках	39
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 9. Органические вещества в клетке. Качественные реакции на белки. Физико-химические свойства белков	42
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 10. Органические вещества в клетке. Обнаружение углеводов в биологических объектах	45
Вопросы для промежуточного контроля № 1	47
Вопросы для промежуточного контроля № 2	47
ЛИТЕРАТУРА	48

СОДЕРЖАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

При подготовке биологов среди общих биологических дисциплин важное место занимает цитология – наука о строении и функциях клетки. Цитология – наука экспериментальная, поэтому в учебном плане подготовки биологов, кроме лекционного времени, по данной дисциплине отводится время на лабораторные занятия. Методические указания составлены в соответствии с программой курса “Цитология” и являются основным учебно-методическим руководством по проведению его лабораторного практикума.

В задачи лабораторного практикума по цитологии входят: проверка и закрепление теоретических положений, излагаемых в лекционных курсах и учебниках; ознакомление со строением клеток и тканей животных и растений; знакомство и работа с современными световыми микроскопами; получение навыков научно-исследовательской работы, способности описывать и обобщать полученный материал; приобретение навыков приготовления препаратов как временных, так и постоянных, формирование общенаучных, инструментальных и общепрофессиональных компетенций.

Уровень знаний и навыков, приобретенный студентами в ходе лабораторного практикума оценивается на зачетном занятии путем диагностики препаратов без этикеток. Приводимые в конце методических указаний контрольные вопросы служат для устной и письменной проверки теоретических знаний студентов по всему курсу.

Каждый студент ведет рабочий альбом для лабораторных работ по цитологии, оформление которого должно отвечать следующим требованиям:

- на титульном листе указывают предмет, по которому делаются записи, кем они делаются (курс, группа, подгруппа, фамилия, имя, отчество);
- каждое занятие отмечают порядковым номером, указывают его дату; при оформлении работы с методического пособия полностью переписывают ее заглавие, описывают цель и принцип метода эксперимента, указывают объект изучения;
- результаты опытов фиксируют в виде рисунков с обязательными подписями к ним, или оформляют в виде таблиц, или описывают текстом (характер оформления работы обычно указан в методическом пособии);
- в конце каждой работы делают вывод или заключение, которые обсуждаются при подведении итогов занятия.

Зарисовывание препаратов имеет исключительно важное значение в процессе изучения цитологии. Процесс зарисовки учит студента «читать» препарат, понимать своеобразие и общность клеток и тканей, глубже осмысливать их морфологические, генетические и функциональные особенности.

ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЯХ ПО ЦИТОЛОГИИ

1. Допускаются к работе в лаборатории студенты, прошедшие инструктаж по технике безопасности.
2. Нужно работать в белом халате из хлопчатобумажной ткани и иметь личное полотенце.
3. На каждом занятии назначается дежурный, который отвечает за чистоту и порядок.
4. За каждым студентом закрепляется рабочее место, которое необходимо содержать в чистоте и порядке.
5. Запрещается держать в лаборатории пищевые продукты, принимать пищу, пить воду из химической посуды.
6. Перед работой следует проверить исправность нагревательных приборов, вентиляции, защитных средств. Ремонт оборудования может производить только инженер.
7. Запрещается работать с разбитой посудой, пользоваться реактивами из банок без этикеток.
8. Необходимо переливать приготовленные растворы в склянки с надписями. Нельзя оставлять без присмотра включенные приборы и электрооборудование.
9. Работать с летучими и ядовитыми веществами можно только под тягой.
10. Использовать для отмеривания кислот, щелочей и ядовитых реактивов нужно цилиндры либо пипетки с резиновой грушей или ватным тампоном.
11. При работе с едкими веществами следует надевать предохранительные очки, резиновые перчатки и фартуки.
12. Сливать кислые и щелочные реактивы в раковину можно только после их нейтрализации.
13. Для нагревания горючих и летучих реактивов нужно пользоваться водяными банями. Нельзя их нагревать на открытом огне или вблизи пламени.
14. При внезапном отключении тока необходимо выключить все электроприборы.
15. Тушить огонь при загорании легко воспламеняющихся жидкостей нужно углекислотным огнетушителем, песком или кошмой.
16. При загорании проводов следует немедленно их обесточить, тушить огонь углекислотным огнетушителем или асбестовым покрывалом.
17. Работать с ртутными термометрами нужно очень осторожно.
18. После окончания работы привести в порядок рабочее место (убрать со стола реактивы и оборудование, из ящиков стола – мусор, стол вымыть, протереть сухой тряпкой) и сдать дежурному.

План лабораторных занятий (часть I)

№ п/п	Тема занятия	Количество часов
1	Работа со световым микроскопом	1
2	Методика приготовления микропрепаратов.	1
3	Общее строение клетки.	2
4	Строение мембран клетки. Изучение проницаемости клеточных мембран.	2
5	Двумембранные органеллы. Митохондрии. Пластиды.	4
6	Одномембранные органеллы. Эндоплазматическая ретикулум. Аппарат Гольджи. Лизосомы.	2
7	Немембранные органоиды клетки.	2
8	Включения в растительных и животных клетках	2
9	Органические вещества в клетке. Качественные реакции на белки. Физико-химические свойства белков.	2
10	Органические вещества в клетке. Обнаружение углеводов в биологических объектах.	2
	Всего:	20

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1

Тема
занятия

РАБОТА СО СВЕТОВЫМ МИКРОСКОПОМ

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Микроскоп представляет собой оптический прибор, дающий увеличенное изображение мелких объектов и их деталей. Хотя различные марки световых микроскопов имеют конструктивные отличия, в каждом из них существуют оптические и механические узлы. Устройство микроскопа наглядно показано на рис.1.

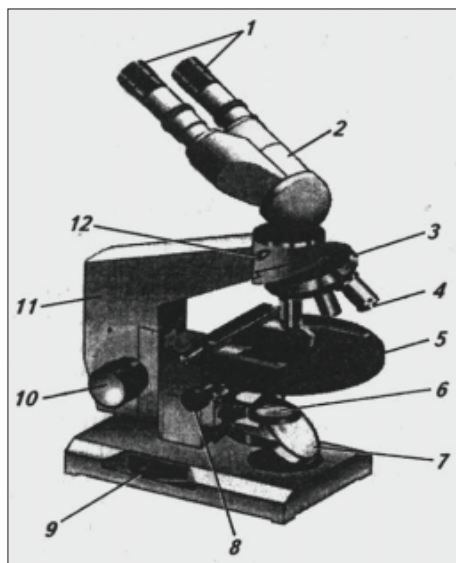


Рис. 1. Устройство микроскопа с зеркалом: 1 – окуляры; 2 – бинокулярная насадка; 3 – револьверное устройство; 4 – объектив; 5 – предметный столик; 6 – конденсор; 7 – зеркало; 8 – рукоятка перемещения кронштейна конденсора; 9 – рукоятка тонкой фокусировки; 10 – рукоятка грубой фокусировки; 11 – тубусодержатель; 12 – винт для крепления насадки

Главная часть светового микроскопа - увеличительные стекла или линзы, вставленные в тубус. Тубус - это трубка, по которой свет идет от объектива к окуляру. В верхнем конце тубуса находится окуляр, состоящий из оправы и двух увеличительных стекол – линз. Окуляр созда-

ет реальное изображение, увеличивает, но не искажает изображение, получаемое в линзах объектива; в окуляр может быть вставлена измерительная сетка, если необходимо измерить размеры объекта. На нижнем конце тубуса помещается объектив, состоящий из оправы и нескольких линз, он, так же, как и окуляр, увеличивает изображение. Тубус прикреплен к штативу. Для фокусировки изображения тубус поднимается и опускается с помощью винтов. На штативе имеется два винта: макро- и микровинт. Макровинт используется для грубой, а микровинт - точной настройки изображения. Микровинт следует поворачивать не более, чем на $\frac{1}{2}$ оборота в одну или другую сторону. К штативу прикреплен также предметный столик, в центре которого находится отверстие, и под ним последовательно располагаются ирисовая диафрагма, конденсор и зеркало либо осветитель. Конденсор фокусирует лучи от осветителя на объекте исследования. Ирисовая диафрагма позволяет регулировать величину светового потока к объекту. При уменьшении отверстия ирисовой диафрагмы интенсивность светового потока возрастает, при увеличении, соответственно, убывает. Зеркало имеет две стороны – плоскую и вогнутую. Их используют соответственно для рассмотрения объекта при нормальном освещении и рассеянном свете. Около отверстия на предметном столике имеются зажимы для фиксации препарата в определенном положении. В микроскопии важное внимание уделяется освещению. От источника света, прежде всего, зависит получаемое изображение исследуемого объекта, а также результаты микрофото съемки.

Правила работы с микроскопом

При работе с микроскопом необходимо соблюдать операции в следующем порядке:

1. Работать с микроскопом следует сидя;
2. Микроскоп осмотреть, вытереть от пыли мягкой салфеткой объективы, окуляр, зеркало или электроосветитель;
3. Микроскоп установить перед собой, немного слева на 2-3 см от края стола. Во время работы его не сдвигать;
4. Открыть полностью диафрагму, поднять конденсор в крайнее верхнее положение;
5. Работу с микроскопом всегда начинать с малого увеличения;
6. Опустить объектив - в рабочее положение, т.е. на расстояние 1 см от предметного стекла;
7. Установить освещение в поле зрения микроскопа, используя электроосветитель или зеркало. Глядя одним глазом в окуляр и пользуясь зеркалом с вогнутой стороной, направить свет от окна в объектив, а затем максимально и равномерно осветить поле зрения. Если микроскоп снабжен осветителем, то подсоединить микроскоп к источнику питания, включить лампу и установить необходимую яркость горения;
8. Положить микропрепарат на предметный столик так, чтобы исследуемый объект находился под объективом. Глядя сбоку, опускать объ-

ектив при помощи макровинта до тех пор, пока расстояние между нижней линзой объектива и микропрепаратом не станет 4-5 мм;

9. Смотреть одним глазом в окуляр и вращать винт грубой наводки на себя, плавно поднимая объектив до положения, при котором хорошо будет видно изображение объекта. **Нельзя смотреть в окуляр и опускать объектив.** Фронтальная линза может раздавить покровное стекло, и на ней появятся царапины;

10. Передвигая препарат рукой, найти нужное место, расположить его в центре поля зрения микроскопа;

11. Если изображение не появилось, то надо повторить все операции пунктов 6, 7, 8, 9;

12. Для изучения объекта при большом увеличении, сначала нужно поставить выбранный участок в центр поля зрения микроскопа при малом увеличении. Затем поменять объектив на х40, поворачивая револьвер, так чтобы он занял рабочее положение. При помощи микрометричного винта добиться хорошего изображения объекта. На коробке микрометричного механизма имеются две риски, а на микрометричном винте - точка, которая должна все время находиться между рисками. Если она выходит за их пределы, ее необходимо возвратить в нормальное положение. При несоблюдении этого правила, микрометричный винт может перестать действовать;

13. По окончании работы с большим увеличением, установить малое увеличение, поднять объектив, снять с рабочего столика препарат, протереть чистой салфеткой все части микроскопа, накрыть его полиэтиленовым пакетом и поставить в шкаф.

Памятка:

1. На предметный столик препарат помещайте покровным стеклом вверх.

2. При малом увеличении микроскопа пользуйтесь только макровинтом и, поднимая тубус, фокусируйте объект.

3. Чтобы перейти на большое увеличение, просто поворачивайте револьвер до его защелкивания на объективе большого увеличения (не опуская тубус).

4. При большом увеличении фокусируйте объект макровинтом, вращая его не более, чем на 5 делений.

5. Центровочными винтами предметного столика пользуйтесь только при большом увеличении. При малом увеличении препарат перемещайте вручную.

6. После окончания работы при большом увеличении, сначала переведите микроскоп на малое увеличение и только после этого снимайте препарат с предметного столика.

Цель работы: ознакомиться с устройством и работой светового микроскопа.

Материалы и оборудование: 1. Световой микроскоп. 2. Постоянные микропрепараты. 3. Предметные и покровные стекла. 4. Кусочки пробки.

ХОД РАБОТЫ

Задание 1. Используя микроскопы, таблицы и методические рекомендации, изучить устройство световых микроскопов (МИКМЕД-1, БИОЛАМ и МБС-1). Запомнить названия и назначение их частей. Нарисовать схему светового микроскопа в альбом.

Задание 2. При малом и большом увеличениях микроскопа научиться быстро находить объекты на постоянных микропрепаратах.

Задание 3. Отработайте навыки микроскопирования на световом микроскопе, изготовив временные микропрепараты:

1. Сделать тонкий срез пробки лезвием.
2. Рассмотреть вначале с помощью объектива малого увеличения, затем – большого увеличения.

Сделать вывод о принципах работы со световым микроскопом.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2

Тема занятия	МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ МИКРОПРЕПАРАТОВ
-----------------	---

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Основным объектом исследования в цитологии являются микропрепараты, приготовленные из фиксированных объектов. Микропрепараты позволяют проводить широкий ряд опытов. Они предназначены для детального изучения микроскопических структур под микроскопом. На лабораторных занятиях используют как временные, так и постоянные препараты. Временные препараты готовятся непосредственно на лабораторном занятии. Данные препараты так называются потому, что не сохраняются долго. Постоянные препараты хранятся долго и могут неоднократно использоваться на лабораторных занятиях. Процесс изготовления постоянных препаратов, в отличие от временных, включает в себя несколько этапов: 1. взятие материала и его фиксация; 2. уплотнение материала; 3. приготовление срезов; 4. окрашивание или контрастирование срезов; 5. заключение срезов в бальзам или другие прозрачные среды.

Цель работы: ознакомиться с основными методами приготовления временных и постоянных препаратов.

Материалы и оборудование: 1. Учебно-методический комплекс; 2. Постоянные препараты.

ХОД РАБОТЫ

Правила приготовления временных препаратов

При изготовлении временных микропрепаратов необходимо соблюдать следующую последовательность операций:

1. Вымыть и тщательно вытереть предметное и покровное стекла. Чтобы не сломать очень хрупкое покровное стекло, надо поместить его в складку салфетки между большим и указательным пальцами правой руки и осторожно вытереть его круговыми движениями пальцев;

2. Нанести на предметное стекло пипеткой каплю жидкости (воды, глицерина, раствора, реактива или красителя);

3. Сделать срез изучаемого органа при помощи лезвия. Лезвие должно быть очень острым. Затем сделать тонкий срез, ведя лезвием к себе наискось одним плавным и быстрым движением. При этом объект

держат строго вертикально, а лезвие - строго горизонтально. Обе руки должны быть совершенно свободны. Не следует ими опираться на стол или прижимать к груди. Сделать сразу несколько срезов. Лезвие и объект все время смачивать.

4. Выбрать самый тонкий срез, перенести его с помощью препаровальной иглы или тонкой кисточки в центр предметного стекла в каплю жидкости;

5. Закрыть срез покровным стеклом так, чтобы под него не попал воздух. Для этого покровное стекло взять двумя пальцами за грани и подвести под углом нижнюю грань к краю капли жидкости и плавно его опустить (Рис. 2);

6. Если жидкости много, и она вытекает из-под покровного стекла, удалить ее при помощи фильтровальной бумаги. Если же под покровным стеклом остались места, заполненные воздухом, то добавить жидкость, поместив ее каплю рядом с краем покровного стекла, а с противоположной стороны фильтровальную бумагу.

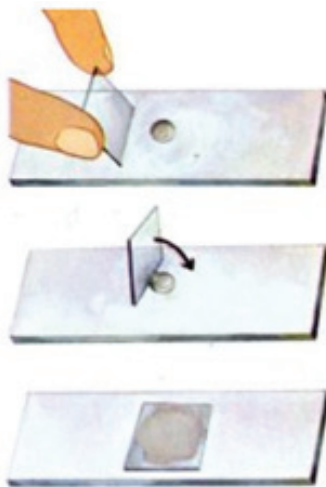


Рис. 2. Накрывание объекта покровным стеклом

Этапы приготовления постоянных препаратов

Фиксация обеспечивает предотвращение процессов разложения, что способствует сохранению целостности структур. Это достигается тем, что взятый из органа маленький образец либо погружают в фиксатор (спирт, формалин, растворы солей тяжелых металлов, осмиевая кислота, специальные фиксирующие смеси), либо подвергают термической обработке. Под действием фиксатора в тканях и органах происхо-

дят сложные физико-химические изменения. Наиболее существенным из них является процесс необратимой коагуляции белков, вследствие которого жизнедеятельность прекращается, а структуры становятся мертвыми, фиксированными. Фиксация приводит к уплотнению и уменьшению объема кусочков, а также к улучшению последующей окраски клеток и тканей.

Уплотнение кусочков, необходимое для приготовления срезов, производится путем пропитывания предварительно обезвоженного материала парафином, целлоидином, органическими смолами. Более быстрое уплотнение достигается применением метода замораживания кусочков, например в жидкой углекислоте.

Приготовление срезов производится на специальных приборах – микротоммах (для световой микроскопии) и ультрамикротоммах (для электронной микроскопии).

Окрашивание срезов в световой микроскопии применяют для увеличения контрастности изображения отдельных структур при рассмотрении их в микроскопе. Методы окраски структур клеток очень разнообразны и выбираются в зависимости от задач исследования. Красители подразделяют на кислые, основные и нейтральные. В качестве примера можно привести наиболее известный основной краситель азур II, который окрашивает ядра в фиолетовый цвет, и кислый краситель – эозин, окрашивающий цитоплазму в розово-оранжевый цвет. Избирательное сродство структур к определенным красителям обусловлено их химическим составом и физическими свойствами. Структуры, хорошо окрашивающиеся кислыми красителями, называются оксифильными (ацидофильными, эозинофильными), а окрашивающиеся основными – базофильными. Структуры, воспринимающие как кислые, так и основные красители, являются нейтрофильными (гетерофильными). Окрашенные препараты обычно обезвоживают в спиртах возрастающей крепости и просветляют в ксилоле, бензоле, толуоле или некоторых маслах. Для длительного сохранения обезвоженный гистологический срез заключают между предметным и покровным стеклами в канадский бальзам или другие вещества. Готовый препарат может быть использован для изучения под микроскопом в течение многих лет.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3

Тема занятия	ОБЩЕЕ СТРОЕНИЕ КЛЕТКИ
-----------------	-----------------------

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Клетка является элементарной самовоспроизводящейся единицей структуры и функции абсолютно всех живых существ, обнаруживаемых на планете Земля. Среди живых организмов встречается два типа организации клеток. К наиболее простому типу строения можно отнести клетки бактерий и сине-зеленых водорослей, которые принято называть прокариотическими, к более организованному – клетки всех остальных живых существ, начиная от низших растений и кончая человеком, эукариотические. Прокариотические клетки отличаются от эукариотических более простым (примитивным) строением. Прокариотическая клетка не имеет оформленного ядра – его функции выполняют нуклеоид. В прокариотической клетке отсутствуют центриоли, а также одномембранные и двумембранные органоиды – их функции выполняют мезосомы. Рибосомы, органоиды движения и оболочки прокариотических клеток имеют специфическое строение. В отличие от клеток животных клетки растений имеют плотную, обычно углеводную оболочку, окружающую живую часть клетки (протопласт), пластиды, из которых наибольшее значение имеют хлоропласты, осуществляющие процесс фотосинтеза, и крупные вакуоли, заполненные сильно обводненным клеточным соком. Однако перечисленные признаки не универсальны. Так, некоторые клетки растений, например гаметы и зооспоры водорослей, не имеют оболочки, от внешней среды они отграничены плазматической мембраной, идентичной мембране, окружающей клетку животных организмов. Зеленые пластиды свойственны лишь растениям, использующим для синтеза органических веществ энергию солнечного света. У гетеротрофных организмов, пользующихся готовыми органическими веществами (грибы), их нет. Вакуоли характерны для взрослых клеток, уже закончивших рост. В клетках образовательных тканей (меристем), находящихся в кончике корня и на верхушке побега, а также в клетках семян вакуолей обычно нет или они очень мелкие. Таким образом, специфичность структуры растительной клетки определяется характером ее жизнедеятельности, возрастным состоянием и таксономическими особенностями. У низших растений клетка нередко представляет собой целый, самостоятельно живущий организм. Примерами таких одноклеточных растений могут быть зеленые водоросли (хлорелла, хламидомонада) и некоторые грибы (дрожжи). Тело многоклеточного растения состоит из многих ком-

плексов клеток, имеющих разные размеры, форму, внутреннее строение и выполняющих разные функции. Клетки, утратившие в процессе развития живое содержимое, могут участвовать в проведении воды, некоторые из них защищают растение от механических воздействий, колебаний температур и так далее. Поэтому в ботанике термин «клетка» употребляют не только для тех структурных единиц, которые имеют протопласт, дифференцированный на цитоплазму, ядро, пластиды, митохондрии и другие органоиды, но и для оболочек, оставшихся после отмирания протопластов. Плазматическая мембрана или плазмалемма – поверхностная периферическая структура, ограничивающая клетку снаружи. Играет роль барьера, ограничивает свободный поток низко- и высокомолекулярных веществ в обе стороны через мембрану. Также она выступает как структура, рецептирующая различные химические вещества и регулирующая избирательно транс-порт этих веществ в клетку.

Цель работы: Ознакомиться с общим строением прокариотической и эукариотической (растительной и животной) клеток обозначить их структурные части на рисунках.

Материалы и оборудование: 1. Световой микроскоп. 2. Постоянные микропрепараты. 3. Лук 4. Предметные и покровные стекла. 5. Пипетка с водой. 6. Стекланный шпатель.

ХОД РАБОТЫ

Задание 1. Рассмотреть и зарисовать комбинированные схемы строения прокариотической и эукариотической клетки, сделать подписи к рисункам.

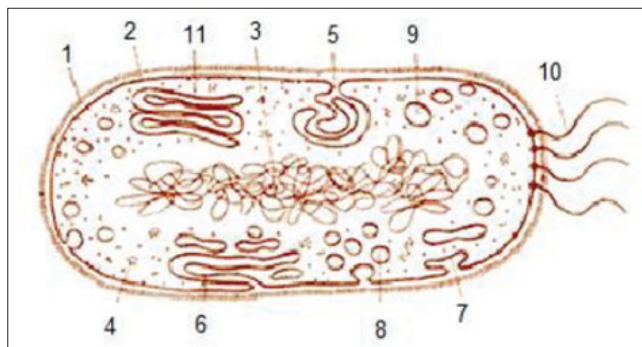


Рис. 3. Комбинированная схема прокариотической клетки: 1 – клеточная стенка; 2 – плазматическая мембрана; 3 – ДНК нуклеоида; 4 – полирибосомы цитоплазмы; 5 – мезосома; 6 – ламеллярные структуры; 7 – впячивания плазмалеммы; 8 – скопления хромофоров; 9 – вакуоли с включениями; 10 – бактериальные жгутики;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

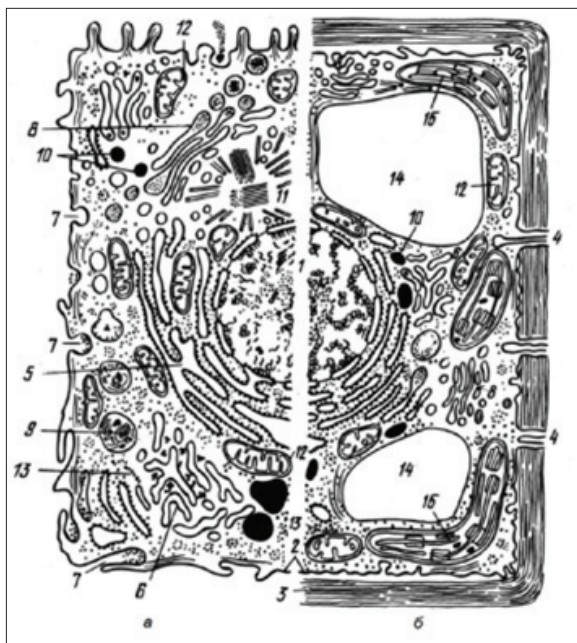


Рис. 4. Комбинированная схема строения эукариотической клетки:
 а – животного происхождения; б – растительного происхождения: 1 – ядро с хроматином; 2 – плазматическая мембрана; 3 – клеточная оболочка; 4 – плазмодесмы; 5 – гранулярная эндоплазматическая сеть; 6 – агранулярная эндоплазматическая сеть; 7 – образующиеся пиноцитозные вакуоли; 8 – комплекс Гольджи; 9 – лизосома; 10 – жировые включения; 11 – центриоль и микротрубочки; 12 – митохондрии; 13 – полирибосомы; 14 – вакуоли; 15 – хлоропласты

Задание 2. Рассмотрите на малом и большом увеличении клетки печени аксолотля (постоянный препарат). Зарисуйте в альбом.

Клетки печени имеют многоугольную форму, центральную часть их занимают крупные овальной формы ядра. В ядрах хорошо видны глыбки хроматина и ядрышки. Среди печеночных клеток расположены кровеносные капилляры с тонкими стенками, образованными веретеновидными клетками.

Задание 3. Рассмотрите на малом и большом увеличении клетки кожицы лука (временный препарат). Зарисуйте в альбом.

Клетки кожицы чешуи лука репчатого (временный препарат).

1. Снять эпидермис с блестящей поверхности чешуи лука
2. Положить снятый эпидермис на предметное стекло.
3. Капнуть одну-две капли воды.
4. Накрыть покровным стеклом.

5. Рассмотреть под световым микроскопом при малом и большом увеличении

Клетки кожицы лука репчатого многоугольные, с тонкими оболочками. В некоторых местах оболочки пересечены порами. Центральная часть клеток заполнена крупной вакуолью. Цитоплазма располагается тонким слоем вдоль стенок. Во многих клетках хорошо заметно ядро с ядрышком.

Задание 4. Приготовить препарат клеток плоского эпителия полости рта человека.

1. Стерильным стеклянным шпателем провести с легким нажимом по небу или по деснам. При этом на кончике шпателя в капельке слюны окажутся слущенные клетки эпителия, выстилающего полость рта.

2. Соскоб (беловатый налет) распределить на предметном стекле.

3. На препарат капнуть несколько капель подкрашенного физраствора.

4. Накрывать покровным стеклом.

5. Рассмотреть под световым микроскопом при малом и большом увеличении.

На препарате видны отдельные плоские клетки с округлыми ядрами; оболочка ядра четко выражена, ядрышки отсутствуют. Если взять соскоб этих клеток у женщины, то в ядрах многих клеток можно увидеть так называемые тельца Барра – это не что иное, как половая X хромосома в интерфазном ядре (половой хроматин) – плотный участок хроматина, прилежащий непосредственно к периферии ядра. В цитоплазме живых клеток можно также видеть множество мелких гранул – митохондрий и мелких пузырьков. Зарисовать в альбом. На рисунке обозначить все компоненты клетки.

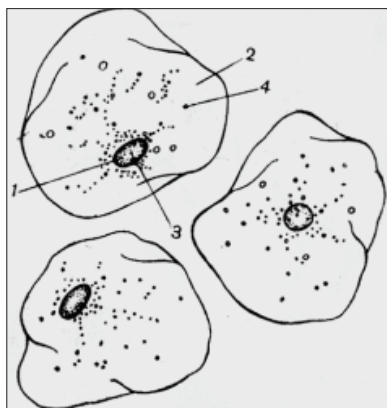


Рис. 5. Клетки плоского эпителия полости рта человека:

1 – ядра клеток; 2 – цитоплазма клеток;

3 – половой хроматин; 4 – митохондрия

Задание 5. Зарисовать таблицы 1 и 2 в альбом.

Таблица 1

Сравнительная характеристика прокариотической и эукариотической клеток

Структура	Эукариотическая клетка	Прокариотическая клетка
Ядро	Окружено двойной мембраной. Процессы транскрипции и синтеза белка отделены друг от друга по времени и пространственно	Имеется нуклеарная область, содержащая ДНК, (нуклеоид), мембраной не окружен. Транскрипция и синтез белка проходят почти одновременно
Хромосомы	Линейные; представляют собой комплекс ДНК с щелочными белками – гистонами, - по структуре напоминающий нитку жемчуга; содержат преобладающую часть генома клетки.	Имеется одна кольцевая так называемая бактериальная хромосома; ДНК в ней не образует комплекса с гистонами; часть ДНК находится в виде замкнутых в кольцо самореплицирующихся элементов – плазмид
Отделенные мембранами органеллы	Имеются; компартментализация выражена сильно	Отсутствуют; компартментализация выражена слабо
Клеточная стенка	Отсутствует у животных, имеется у растений (содержит целлюлозу) и у грибов (содержит хитин).	Имеется (отличается по химическому составу от КС растений – содержит муреин, а не целлюлозу)
Рибосомы	Имеются; 80 S	Имеются; 70 S
Реснички и жгутики	Имеются у всех организмов, за исключением высших растений. Состоят из субъединиц белка тубулина, обладают сократительной активностью.	У некоторых бактерий имеются жгутики, но они отличаются по строению (белок флагеллин) и механизму движения от жгутиков эукариот, сократительной активностью не обладают.
Синтез энергии в клетке	У животных – митохондрии, у растений – митохондрии и хлоропласты.	Мезосомы – внутренние складки мембраны (аналог митохондрий). У фотосинтезирующих бактерий – еще и фотосинтезирующие мембраны (аналог хлоропласта).

Таблица 2

Отличия в строении растительной и животной клетки

Структура	Растительная клетка	Животная клетк
Способ питания	Автотрофный	Гетеротрофный
Пластиды (хлоропласты, хромопласты, лейкопласты)	Имеются	Отсутствуют
Синтез АТФ	В митохондриях и хлоропластах	В митохондриях
Расщепление АТФ	В хлоропластах и тех частях клетки, где необходима энергия	В тех частях клетки, где необходима энергия
Клеточная стенка	Имеется, содержит целлюлозу	Отсутствует
Центриоли	Имеются только у низших растений	Имеются у всех организмов
Вакуоль	Имеется, заполнена клеточным соком	У низших животных имеются только небольшие вакуоли, выполняющие пищеварительную функцию
Реснички и жгутики	Отсутствуют у высших растений	Имеются
Запасные углеводы	В виде крахмала	В виде гликогена

Сделайте вывод о сходстве и различиях прокариотических и эукариотических (растительных и животных) клеток на светооптическом уровне.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4

Тема занятия	СТРОЕНИЕ МЕМБРАН КЛЕТКИ. ИЗУЧЕНИЕ ПРОНИЦАЕМОСТИ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН
-----------------	--

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Клеточная мембрана - это тройная липопротеиновая (т.е. «жиро-белковая») оболочка, отделяющая клетку от окружающей среды и осуществляющая управляемый обмен между клеткой и окружающей её средой, мембрана не только отделяет клетку от внешней среды но и соединяет клетку с окружающей средой.

Мембрана – это активная структура клетки, она постоянно работает. Биологическая мембрана - это ультратонкая бимолекулярная пленка фосфолипидов, инкрустированная белками и полисахаридами. Эта клеточная структура лежит в основе барьерных и механических свойств живого организма. Важнейшее свойство клеточных мембран избирательная проницаемость. Наружная цитоплазматическая мембрана, отделяя клетку от окружающей среды, контролирует транспорт веществ между клеткой и свободным пространством. Внутриклеточные мембраны благодаря присущей им избирательной проницаемости обеспечивают функцию компартментализации, которая позволяет клетке и органоидам удерживать в небольших объемах необходимые ферменты и метаболиты, создавать гетерогенную физико-химическую среду, осуществлять на разных сторонах мембраны разнообразные, иногда противоположно направленные биохимические реакции. Проницаемость клеточных мембран для различных веществ может быть критерием жизнеспособности клеток. Избирательная проницаемость мембраны сохраняется до тех пор, пока клетка остается живой.

Сравнить проницаемость плазматической мембраны для различных веществ можно на основе простых наблюдений, характеризующих продолжительность сохранения плазмолиза в растительных клетках, находящихся в гипертонических растворах исследуемых веществ. В случае достаточно низкой проницаемости плазмалеммы для растворенного вещества либо полного отсутствия способности его молекул свободно диффундировать в растительную клетку будет иметь место стойкий плазмолиз, при котором плазмолизированные клетки могут находиться в неизменном состоянии длительное время. Однако если же молекулы растворенного вещества проходят через мембрану, но медленнее, чем молекулы воды, то начавшийся плазмолиз носит времен-

ный характер и вскоре исчезает. В результате постепенного проникновения растворенного вещества в клетку будет наблюдаться поступление воды из наружного раствора по градиенту концентрации, что в конечном итоге вызовет переход клетки в деплазмолизированное состояние.

Цель работы: Изучить строение и проницаемость клеточных мембран под действием физических и химических факторов.

Материалы и оборудование: 1. Луковица лука, свекла. 2. 1 М раствор сахарозы или NaCl, 3. 1М раствор глицерина. 4. 30% раствор уксусной кислоты. 5. Лезвие. 6. Препаровальные иглы. 7. Микроскоп. 8. Предметные и покровные стекла. 9. Пробирки. 10. Стеклянная палочка. 11. Спиртовка с держателем. 11. Схема строения клеточной мембраны.

ХОД РАБОТЫ

Задание 1. Рассмотреть рисунок биологической мембраны. Зарисовать схему строения.

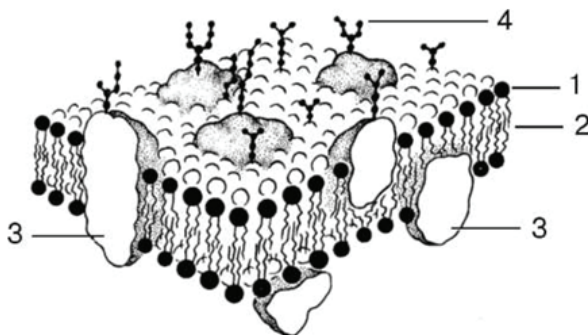


Рис.6. Строение клеточной мембраны (схема):
1 - липиды; 2 - гидрофобная зона би-слоя липидных молекул;
3 - интегральные белки мембраны; 4 - полисахариды гликокаликса

Задание 2. Проведите исследование характеристик плазмолиза растительных клеток в растворах различных веществ.

1. На два предметных стекла нанести по капле раствора: на одно – 1 М раствор сахарозы, на другое 1 М раствор глицерина. В каждую каплю поместить по фрагменту окрашенного эпидермиса лука, накрыть покровными стеклами и рассмотреть под микроскопом.

2. Найти участки с плазмолизированными клетками. Отметить время начала плазмолиза.

3. Рассмотреть препараты через 10–30 мин. В растворе сахарозы наблюдается стойкий плазмолиз, а в растворе глицерина временный.

Причиной деплазмолиза в растворе с глицерином является проницаемость плазмалеммы для молекул глицерина.

4. На основе анализа результатов экспериментов выявить различия в продолжительности сохранения плазмолизированного состояния, вызванном различными осмолитиками, и сделать вывод об относительной проницаемости плазмалеммы для исследуемых веществ.

Задание 3. Определить влияние температуры, а также кислот и спиртов на проницаемость клеточных мембран для бетацианина по его выходу в наружный раствор.

1. Корнеплоды свеклы разрезать на брусочки, длиной 2-3 см. Тщательно промыть их под водопроводной водой. Вырезать из свеклы кусочки размером 1х2 см, промыть их.

2. Опустить кусочки в пробирки с разными растворами:

а) водопроводной водой (контроль);

б) с кипящей водопроводной водой;

в) с 30% уксусной кислотой.

г) со спиртом

3. Опыт объяснить и записать результаты.

Из проведенных опытов сделать вывод о свойствах проницаемости мембран.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 5

Тема занятия	ДВУМЕМБРАННЫЕ ОРГАНЕЛЛЫ. МИТОХОНДРИИ. ПЛАСТИДЫ
-----------------	---

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Митохондрии. Основная функция митохондрий связана с окислением органических соединений и использованием освобождающейся при этом энергии для синтеза молекул АТФ. По своему строению они представляют собой цилиндрические органеллы, встречающиеся в эукариотической клетке в количестве от нескольких сот до нескольких тысяч. Размеры митохондрий различны у разных организмов так же, как и форма.

Митохондрии окружены двойной мембраной. Наружная мембрана отделяет митохондрию от цитоплазмы, в ней большое количество каналообразующего белка – порина, в результате чего она оказывается свободно проницаема для достаточно крупных молекул. Внутренняя мембрана окружает жидкий матрикс, в котором находятся ДНК, РНК, белки, рибосомы. Характерной чертой внутренней митохондриальной мембраны является образование многочисленных впячиваний (кrist), за счет которых площадь внутренних мембран увеличивается. Состав внутренней мембраны позволяет ей быть абсолютно непроницаемой для протонов водорода. В матриксе митохондрий находятся ферментные системы окисления пирувата и жирных кислот, а также ферменты цикла трикарбоновых кислот (цикла Кребса). ДНК митохондрий существует в виде замкнутой двуспиральной молекулы

Пластиды. Одним из основных отличий растительной клетки от животной является наличие пластид. К ним относятся лейкопласты (бесцветные) и хлоропласты и хромопласты (окрашенные) пластиды. К лейкопластам относят, например, амилопласты, элайопласты, а к хромопластам – каротиноидопласты. Пластиды осуществляют функции фотосинтеза (хлоропласты); синтеза крахмала (лейкопласты) и каротиноидов – каротина и ксантофилла (каротиноидопласты, красные хромопласты). Между разновидностями пластид возможен ряд взаимных превращений.

Генетическая система хлоропластов представлена циклическими молекулами ДНК достаточно большой длины – 120–180 т.п.н. (тысяч пар нуклеотидов). При этом в отличие от ядерной ДНК хлоропластов не образует комплексов с гистонами. В хлоропластах выявлены все типы РНК и рибосомы, участвующие в синтезе хлоропластных белков.

Наиболее сложное строение, приспособленное для осуществления фотосинтеза, имеют хлоропласты. Больше всего хлоропластов в клетках листа и периферической зоны молодого стебля. В строме хлоропласта погружены короткие тилакоиды в виде дисков. Они собраны стопками, расположенными перпендикулярно поверхности пластиды. Группы этих дисков называют гранами. Граны соединены между собой тилакоидами стромы, представленными многочисленными уплощенными соединениями между двойными мембранами или трубочками. Нередко встречаются хлоропласты, не имеющие гран. Пигменты ассоциированы с мембранами тилакоидов, больше всего их в гранах. В строме хлоропласта встречаются зерна ассимиляционного крахмала и липиды в виде глобул, чернеющих после фиксации осмиевой кислотой. Их называют осмиофильными глобулами.

Хромопласты – пластиды желто-оранжевого цвета. Их окраска обусловлена каротиноидами, из которых наиболее распространены различные модификации оранжево-красного каротина и желтого ксантофилла. Хромопласты могут развиваться из лейкопластов, накапливающих каротиноиды, откладывающиеся в строме пластиды в виде отдельных зерен. В клетках околоплодников и в листьях многих древесных растений осенью хромопласты образуются из хлоропластов, в которых разрушается хлорофилл, маскировавший окраску каротиноидов. Этот процесс идет одновременно с дегенерацией тилакоидов и накоплением липидов и каротиноидов. Хромопласты либо сохраняют форму хлоропластов, либо приобретают причудливые очертания вследствие кристаллизации каротина. Мелкие кристаллы каротина окружены стромой с остатками мембран, крупные – иногда свободно лежат в цитоплазме.

Лейкопласты – бесцветные пластиды. Они встречаются в клетках эпи-дермиса и запасующих тканей. В лейкопластах происходит полимеризация веществ, поступающих из цитоплазмы, и образуются высокомолекулярные соединения, откладывающиеся в запас. Лейкопласты имеют слабо развитую систему тилакоидов, которые могут быть по-разному ориентированы по отношению к оболочке пластиды.

Цель работы: изучить строение митохондрий и пластид под световым микроскопом.

Материалы и оборудование: 1. Микроскоп. 2. Предметные и покровные стекла. 3. Постоянные препараты. 4. Раствор йодида калия 5. 2М раствор сахарозы. 6. Листья элодеи. 7. Плоды томата или рябины. 8. Листья традесканции. 9. Учебно-методический комплекс.

ХОД РАБОТЫ

Задание 1. Ознакомиться со строением митохондрий в клетках печени.

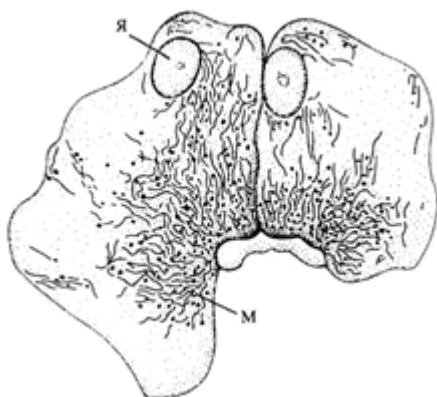


Рис. 7. Митохондрии в клетках печени
(рисунок Альтмана, 1880)
Я — ядро; М — митохондрии

Задание 2. Ознакомиться со строением митохондрий в клетках кишечного эпителия аскариды.

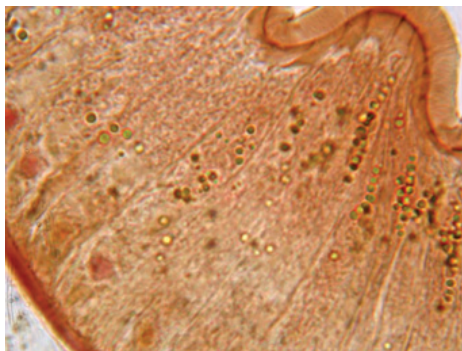


Рис.8. Митохондрии эпителия кишечника аскариды.
Окраска по Альтману, увеличение $\times 1000$

Задание 3. Ознакомиться со строением митохондрий в клетках почечных канальцев.

При малом увеличении видны располагающиеся рядами крупные и мелкие канальцы почек в поперечном и продольном сечении. Между канальцев почек заметны широкие кровеносные капилляры, в которых находятся клетки крови. При большом увеличении на желтоватом фоне цитоплазмы клеток почечных канальцев видны более или менее равномерно расположенные митохондрии розово-красного цвета, имеющие форму округлых зерен или палочек. При различном функциональном состоянии клетки митохондрии могут выстраиваться в короткие цепочки из нескольких зерен, слипаться между собой, образуя палочки и нити, которые могут вновь распадаться на зерна

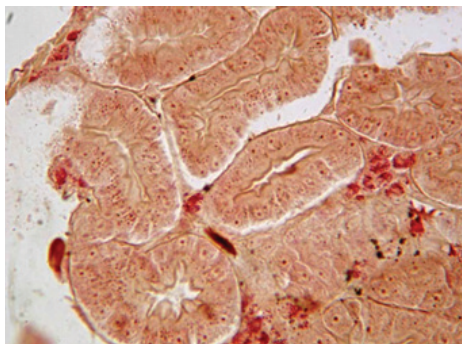


Рис.9. Митохондрии в эпителиоцитах почечных канальцев.
Окраска по Альтману, увеличение $\times 400$

Задание 4. Рассмотреть микрофотографии и зарисовать схему строения митохондрии. Обозначить на рисунке наружную мембрану, матрикс, внутреннюю мембрану, кристы.

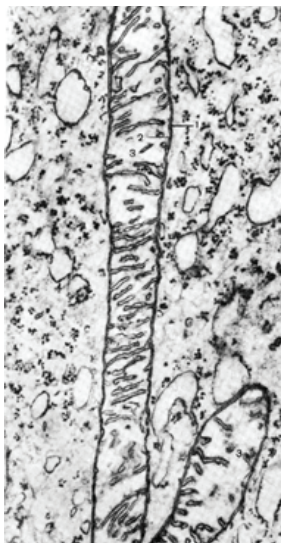


Рис.10. Митохондрия из нейросекреторной клетки. Электронная микрофотография. $\times 77000$.
1 – наружная мембрана митохондрии; 2 – внутренняя митохондриальная мембрана; 3 – кристы.

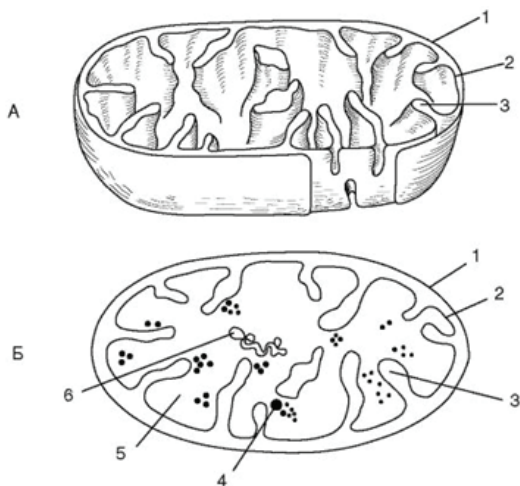


Рис.11. Схемы строения митохондрии в трехмерном изображении (А) и на срезе (Б): 1 - наружная мембрана митохондрии; 2 - внутренняя мембрана; 3 - криста; 4 - рибосома; 5 - матрикс; 6 - кольцевая нить ДНК

Задание 5. Рассмотреть микрофотографии и зарисовать внутреннее строение хлоропласта. Обозначить на рисунке наружную мембрану, строму, внутреннюю мембрану, зерна крахмала, граны, тилакоиды гран.



Рис. 12. Хлоропласт из клеток кукурузы (электронный микроскоп, увеличение $\times 40000$).

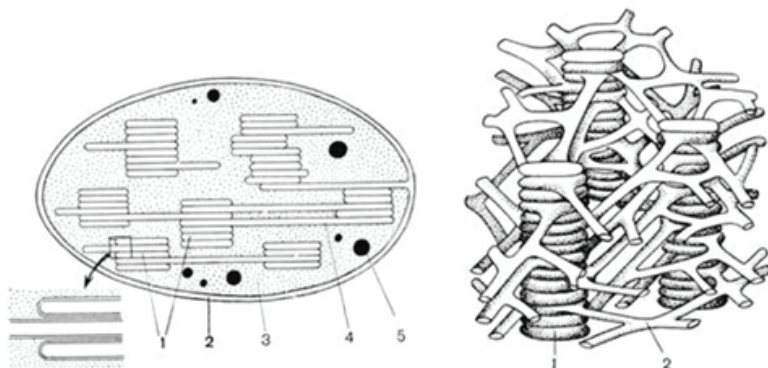


Рис. 13. Строение хлоропласта. Слева — продольный разрез через хлоропласт. Участок внизу показан в увеличенном виде:

1 — граны, образованные ламеллами, сложенными стопками; 2 — оболочка;
3 — строма (матрикс); 4 — ламеллы; 5 — капли жира, образовавшегося в хлоропласте. Справа — трехмерная схема расположения и взаимосвязи ламелл и гран внутри хлоропласта: 1 — граны; 2 — ламеллы.

Задание 6. Приготовить временный препарат листа элодеи.

1. Свежий лист элодеи, предварительно выдержанный на свету, положить в раствор йода в водном растворе йодида калия.
2. Накрывать покровным стеклом

3. Рассмотреть при большом увеличении микроскопа. Зарисовать и описать препарат. Сделать подписи к рисункам.

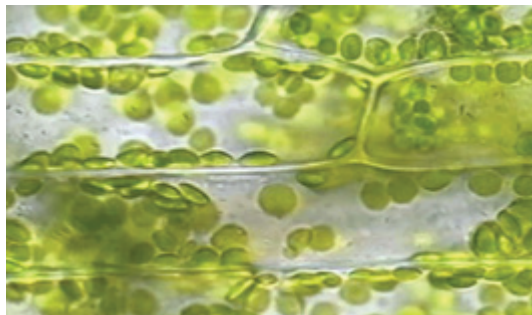


Рис. 14. Хлоропласты клеток листа элодеи при увеличении $\times 40$

Задание 7. Рассмотреть микрофотографии и зарисовать внутреннее строение хлоропласта. Обозначить на рисунке наружную мембрану, строму, внутреннюю мембрану, зерна крахмала, кристаллы каротина.

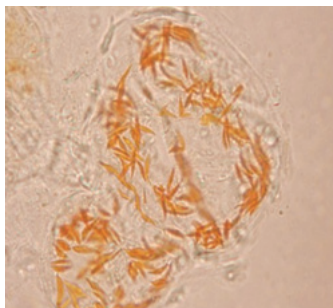


Рис. 15. Хромопласты плода рябины при увеличении $\times 40$

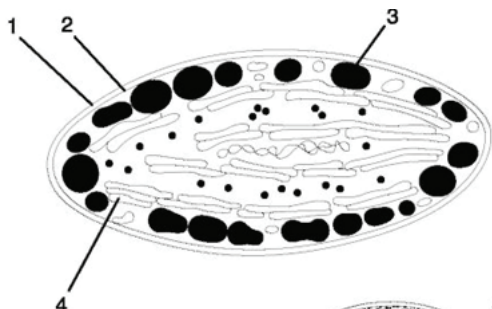


Рис. 16. Строение хлоропласта: 1 - наружная мембрана; 2 - внутренняя мембрана; 3 - жировые капли; 4 - ламеллы

Задание 8. Приготовить временный препарат мякоти плода томата или рябины.

1. Небольшой кусочек мякоти зрелого плода томата или рябины.
2. Перенести препаровальной иглой в каплю воды на предметное стекло, слегка размешать, чтобы на препарате не было комков.
3. Накрывать покровным стеклом и рассмотреть при малом и большом увеличении микроскопа.
4. Зарисовать и описать препарат. Сделать подписи к рисункам.

Задание 9. Рассмотреть микрофотографии и зарисовать внутреннее строение лейкопласта. Обозначить на рисунке наружную мембрану, строму, внутреннюю мембрану.

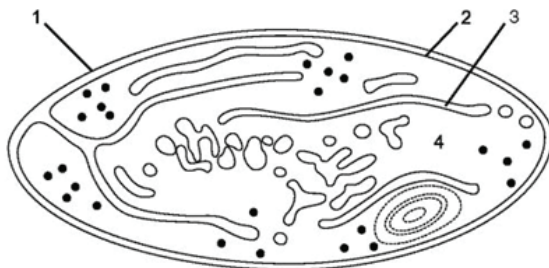


Рис. 17. Строение лейкопласта:

1 - наружная мембрана; 2 - внутренняя мембрана; 3 - ламелла; 4 - строма

Задание 10. Приготовить временный препарат листа традесканции и рассмотреть клетки имеющие лейкопласты.

1. С верхней или нижней стороны линейного листа традесканции снять эпидермис.

2. Положить эпидермис на предметное стекло в каплю 2М раствор сахарозы.

3. Накрывать покровным стеклом и рассмотреть при малом и большом увеличении микроскопа.

4. Зарисовать и описать препарат. Сделать подписи к рисункам.

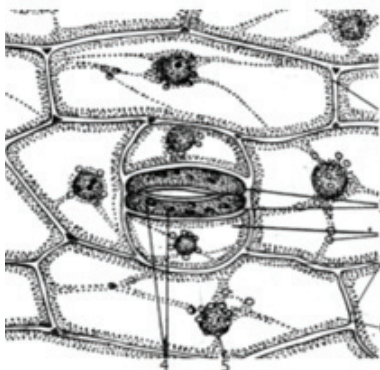


Рис. 18. Клетки эпидермиса традесканции.

1 – клетки с лейкопластами; 2 – оболочка клеток; 3 – замыкающие клетки;
4 – хлоропласт; 5 – ядро; 6 – цитоплазма

Сделать вывод о микроскопическом строении двумембранных органелл.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 6

<i>Тема занятия</i>	ОДНОМЕМБРАННЫЕ ОРГАНЕЛЛЫ. ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ РЕТИКУЛУМ. АППАРАТ ГОЛЬДЖИ. ЛИЗОСОМЫ
-------------------------	--

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Эндоплазматический ретикулум (или эндоплазматическая сеть) - это структура сетевидного строения. Производные эндоплазматической сети – лизосомы, вакуоли, пероксисомы (микротельца) и мембраны ядра. Различают два типа эндоплазматической сети – агранулярный (гладкий, деятельность которого связана с метаболизмом липидов и внутриклеточных углеводов) и гранулярный (шероховатый, на нем находятся рибосомы, благодаря чему осуществляется синтез белков). Другие функции обоих типов ЭР: движение веществ внутри клетки (транспортная), внутриклеточное переваривание (лизосомы), выделение ферментов, синтез клеточных мембран.

Аппарат Гольджи представляет собой стопку уплощенных мембранных мешочков, так называемых цистерн, и связанную с ними систему пузырьков, называемых пузырьками Гольджи. Аппарат Гольджи транспортирует вещества из эндоплазматической сети (белки, гликопротеины, углеводы, липиды). Эти вещества накапливаются в полостях комплекса и подвергаются химической модификации (процессингу), благодаря чему активизируются. Модифицированные вещества упаковываются в мембранные пузырьки (пузырьки Гольджи), которые выбрасываются клеткой в виде секретов и могут использоваться клеткой (лизосомы).

Лизосомы представляют собой простые мембранные мешочки (стенка мешочка состоит из одинарной мембраны) округлой формы, наполненные гидролитическими (пищеварительными) ферментами. Заключенные в лизосомах ферменты синтезируются на шероховатом эндоплазматическом ретикулуме и транспортируются к аппарату Гольджи. Позже от него отпочковываются пузырьки Гольджи, содержащие ферменты. Такие пузырьки называются первичными лизосомами. При слиянии с фагоцитозной (или пиноцитозной) вакуолью они образуют вторичные лизосомы, в которых происходит переваривание материалов, поступивших в клетку путем эндоцитоза. Разновидностью вторичных лизосом являются аутофагосомы, которые переваривают структурные элементы самой клетки (органойды). При неполном расщеплении и переваривании органических веществ во вторичных лизосомах образуются остаточные тельца (телосомы). Функция лизосом – трофическая или литическая.

Цель работы: ознакомиться со строением одномембранных оргanelл клеток.

Материалы и оборудование: 1. Световой микроскоп. 2. Постоянные микропрепараты 3. Учебно-методический комплекс.

ХОД РАБОТЫ

Задание 1. Рассмотреть электронную фотографию и зарисовать трехмерную модель и гладкого (агранулярного) и шероховатого (гранулярного) ЭР.

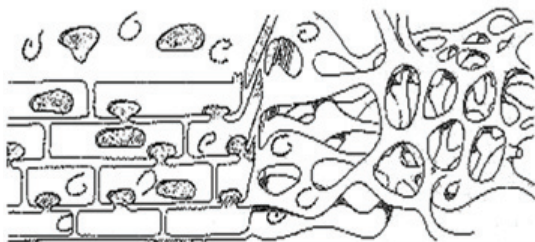


Рис. 19. Трехмерная модель ЭР: слева - шероховатый (гранулярный) ЭР; справа – гладкий (агранулярный) ЭР



Рис. 20. Электронно-микроскопическая фотография гранулярной эндоплазматической сети с рибосомами (округлые темные тельца) на поверхности ее мембран. Увеличение $\times 70000$

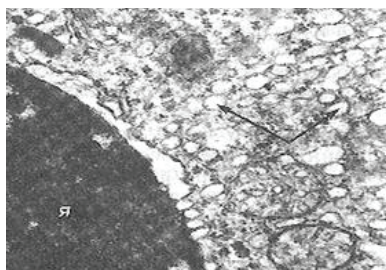


Рис. 21. Электронно-микроскопическая фотография агранулярной эндоплазматической сети. Увеличение $\times 70000$

Задание 2. Рассмотреть микрофотографию аппарата Гольджи, полученную с помощью электронного микроскопа. Зарисовать в альбом и обозначить на рисунке цистерны АГ, диктиосомы, ампулярные расширения цистерн. Зарисуйте схему метаболического пути веществ в структурах комплекса Гольджи

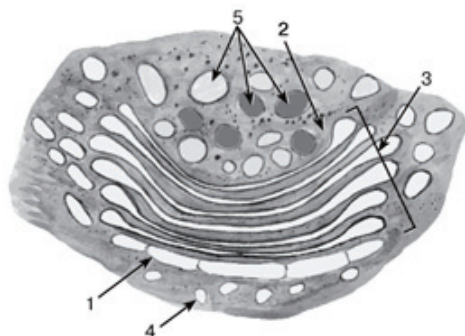


Рис. 22. Аппарат Гольджи:
1 - цис-поверхность;
2 - транс-поверхность; 3 -
цистерны (мешочки);
4 - пузырьки; 5 - вакуоли

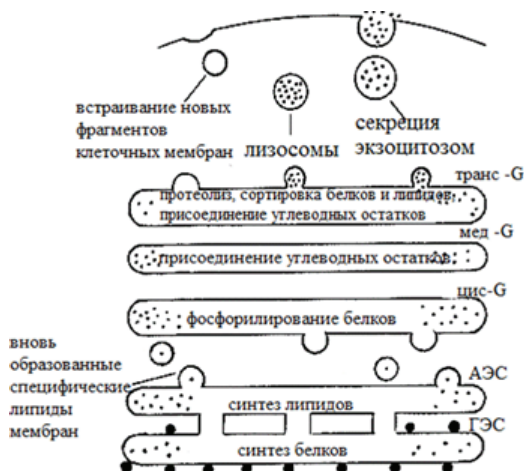


Рис.22. Схема
метаболического пути
веществ в структурах
аппарата Гольджи:
АЭС – агранулярная
эндоплазматическая
сеть; ГЭС – гранулярная
эндоплазматическая сеть;
транс-, мед- и цис-G –
поверхности диктиосом

Задание 3. Рассмотрите микрофотографию лизосом и сделайте рисунок и подпишите. Зарисуйте процессы, в которых участвуют первичные лизосомы

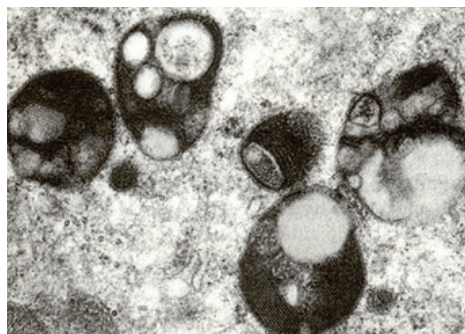


Рис. 22. Электронно-
микроскопическая
фотография лизосом

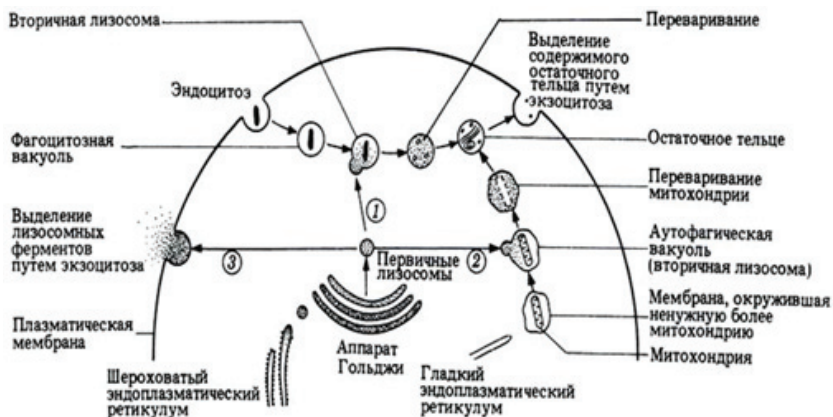


Рис. 23. Схема процесса, в котором участвуют первичные лизосомы



Рис. 24. Схема участия структур клетки в образовании лизосом и во внутриклеточном пищеварении:
 1 - образование из гранулярной эндоплазматической сети мелких пузырьков, содержащих гидролитические ферменты;
 2 - перенос ферментов в аппарат Гольджи;
 3 - образование первичных лизосом; 4 - выделение и использование (5) гидролаз при внеклеточном расщеплении;
 6 - эндоцитозные пузырьки;
 7 - слияние первичных лизосом и эндоцитозных пузырьков; 8 - образование вторичных лизосом; 9 - телолизосомы; 10 - экскреция остаточных телц;
 11 - слияние первичных лизосом с разрушающимися структурами клетки; 12 - аутофаголизосома.

Сделать вывод о микроскопическом строение одномембранных органелл и процессах, в которых они участвуют.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 7

Тема занятия	НЕМЕМБРАННЫЕ ОРГАНОИДЫ КЛЕТКИ
-----------------	-------------------------------

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

К немембранным органеллам клетки относят: центриоли, микротрубочки, микрофиламенты, реснички и жгутики, рибосомы, ядрышко (рассматривается в теме ядерный аппарат клетки).

Микротрубочки принимают участие в различных внутриклеточных процессах – формируют цитоскелет (пассивная структурная роль), осуществляют внутриклеточный транспорт, формируют веретено деления при делении клетки. Кроме того, они входят в состав центриолей, базальных телец, ресничек и жгутиков.

Микрофиламентами называют очень тонкие белковые нити диаметром 5-7 нм. Эти нити, состоят из белка актина, близкого к тому, которые содержится в мышцах. По-видимому, микрофиламенты участвуют также в эндоцитозе и экзоцитозе. В клетке обнаруживаются также и нити миозина (другого важного мышечного белка), хотя количество их значительно меньше. Взаимодействие актина и миозина лежит в основе сокращения мышц.

Центриоли - это мелкие полые цилиндры, которые располагаются парами в характерно окрашиваемой области цитоплазмы, известной под названием центросфера. Каждая центриоль построена из девяти триплетов микротрубочек. Центриоли участвуют в образовании базальных телец ресничек и жгутиков и в образовании веретена деления при митозе и мейозе. Основная функция клеточного центра - сборка микротрубочек. В веретене деления, а также в ресничках и жгутиках движение осуществляется за счет скольжения микротрубочек; в первом случае результатом скольжений является расхождение хромосом или хроматид, а во втором – сближение ресничек или жгутиков.

Реснички и жгутики состоят из 2 частей: базального тельца, расположенного в цитоплазме и состоящего из 9 триплетов микротрубочек и аксонемы — выраста над поверхностью клетки, который снаружи покрыт мембраной, а внутри имеет 9 пар микротрубочек, располагающихся по окружности, и одну пару в центре. Между соседними дуплетами имеются поперечные шивки из белка нексина. От каждого дуплета внутрь отходит радиальная спица. К микротрубочкам центральной части присоединены белки, образующие центральную капсулу. К микротрубочкам присоединен белок динеин.

Рибосомами называют сферические электронно-плотные гранулы, состоящие из белка и рибонуклеиновой кислоты. По размерам и молекулярной массе все рибосомы подразделяются на две группы. К первой относят рибосомы прокариот – наиболее мелкие рибосомы, обнаруженные у бактерий и синезеленых водорослей; они имеют размеры 16х18 нм и при ультрацентрифугировании оседают со скоростью около 70 единиц Сведберга (S), поэтому их называют 70S-рибосомами. Ко второй группе относят более крупные рибосомы эукариот (животных, высших растений, грибов и водорослей); они имеют диаметр 20 нм и оседают со скоростью 80 единиц Сведберга (80 S-рибосомы). Все рибосомы построены из двух неравных субчастиц или субъединиц – большой и малой. Функция рибосом – синтез белка под контролем ядра.

Цель работы: изучить микроскопическое и ультрамикроскопическое строение немембранных органелл.

Материалы и оборудование: Учебно-методический комплекс.

ХОД РАБОТЫ

Задание 1. Рассмотрите и зарисуйте схему строения микротрубочек, центриоли, ресничек и жгутиков

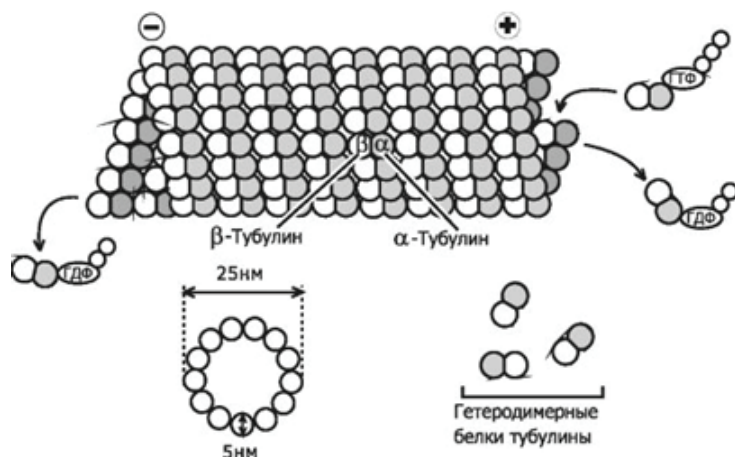


Рис. 25. Строение микротрубочки. 13 параллельно расположенных протофиламентов состоят из отдельных субъединиц - димеров α - и β -тубулина. 13 параллельно расположенных тубулиновых протофиламентов формируют полый цилиндр диаметром 25 нм. Протофиламенты образуются путём полимеризации гетеродимерного белка тубулина, состоящего из глобулярных субъединиц - α - и β -тубулина.

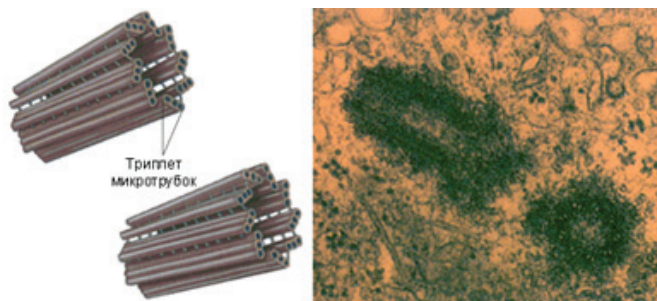


Рис. 26. Строение клеточного центра

Рис. 27. Строение центриоли в клетках позвоночных
а — трехмерная модель;
б, в, г — поперечные срезы проксимального конца (—), средней части и дистального (+)-конца

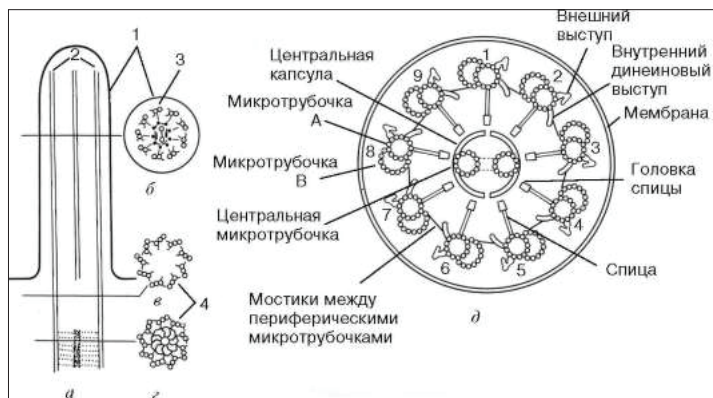
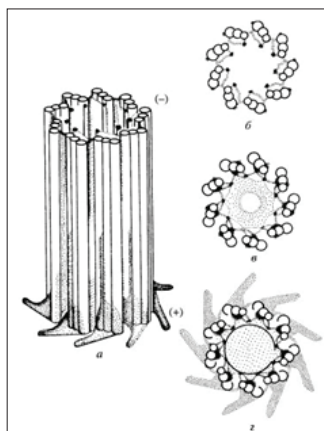


Рис. 28. Строение жгутиков и ресничек эукариота -продольный срез;
б -поперечный срез тела реснички; в, г - срезы базального тельца.

1 - плазматическая мембрана; 2 - микротрубочки; 3 - дуплеты микротрубочек (А и В); 4 - триплеты микротрубочек базального тельца;
д - схема поперечного среза реснички

Задание 2. Рассмотрите и зарисуйте микрофотографию свободных и связанных с агрегулярным ЭР рибосом.

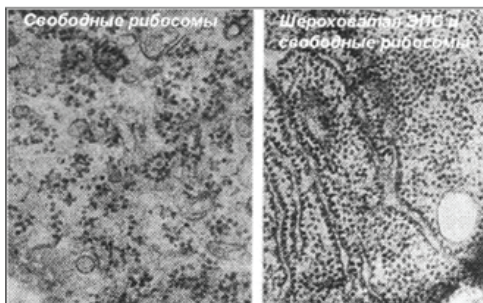


Рис. 29. Микрофотография свободных и связанных рибосом

Задание 3. Рассмотрите схему строения прокариотических рибосом. Сделайте рисунок и подпишите.

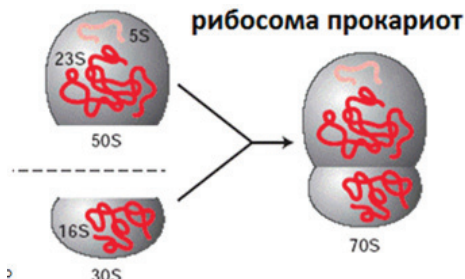


Рис. 30. Схема строения прокариотической рибосомы.

Задание 4. Рассмотрите и зарисуйте схему строения эукариотических рибосом.

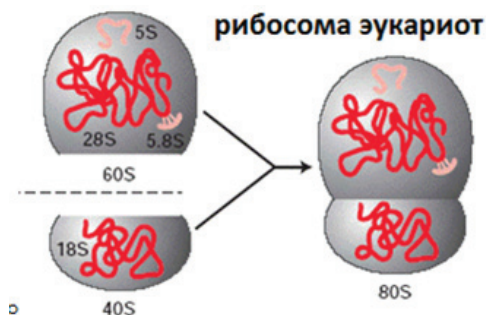


Рис. 31. Строение эукариотической рибосомы.
Рибосома 80S состоит из большой и малой субъединиц

Задание 5. Зарисуйте схему внутреннего строения функциональных центров рибосом. Подпишите.

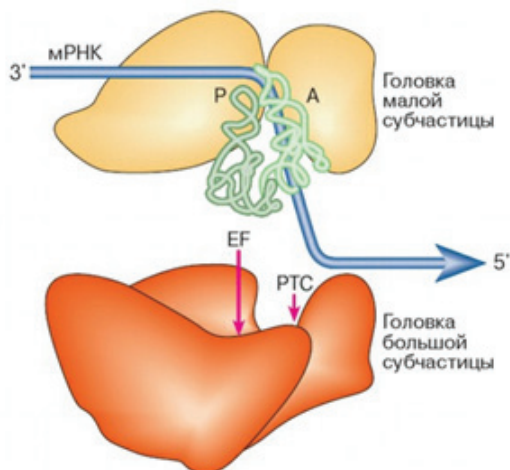


Рис.32. Функциональные центры рибосомы: P – пептидил-тРНК-связывающий участок; A – аминоацил-тРНК-связывающий участок; EF-центр связывания факторов элонгации; PTC-пептидилтрансферазный центр.

Сделать вывод о микроскопическом и ультрамикроскопическом строении немембранных органелл.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 8

Тема
занятия

ВКЛЮЧЕНИЯ В РАСТИТЕЛЬНЫХ И ЖИВОТНЫХ КЛЕТКАХ

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Включения – необязательные, непостоянные структуры клетки; подразделяются на: трофические (запас питательных веществ в клетке – липиды, гликоген); секреторные (секреторные продукты клетки); экскреторные (отработанные ненужные вещества, хранящиеся внутри клетки); пигментные (гемоглобин, гемосидерин, меланин, липофусцин), пигментные могут быть экзогенными (попавшие в клетку извне) и эндогенными (образовавшиеся в самой клетке).

Цель работы: изучить виды включений в растительных и живых клетках.

Материалы и оборудование: 1. Микроскоп. 6. Предметные и покровные стекла. 2. Клубни картофеля свежие. 3. Луковица 4. Лезвие. 5. Препаровальные иглы. 5. Постоянные препараты

ХОД РАБОТЫ

Задание 1. Рассмотреть и зарисовать зерна крахмала в клетках клубня картофеля.

Отрезать маленький кусочек клубня картофеля и сделать им мазок на предметном стекле в капле воды. При этом из разрушенных клеток в воду переходят крахмальные зерна, в результате чего она мутнеет. Каплю накрыть покровным стеклом и рассмотреть при малом и большом увеличении. При большом увеличении хорошо видны овальные и яйцевидные зерна крахмала с эксцентрической слоистостью. При рассмотрении слоистости следует прикрыть диафрагму конденсора и слегка вращать микрометрический винт. Найти и зарисовать простые, сложные и полусложные крахмальные зерна.

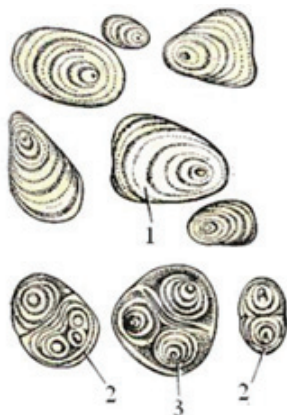


Рис. 34. Крахмальные зерна картофеля 1 - простое крахмальное зерно, 2 - сложное, 3 - полусложное

Задание 2. Изготовить препарат сухой чешуйки лука и найти при малом увеличении клетки с одиночными палочковидными и крестообразными кристаллами оксалата кальция. Внешнюю светло-коричневую чешую лука (небольшой кусочек) поместите на предметное стекло в каплю воды, расправьте чешую иглой и накройте покровным стеклом. Рассмотрите препарат под малым и большим увеличением микроскопа, найдите отдельные призматические кристаллы в клетках. Зарисуйте несколько клеток с одиночными кристаллами.

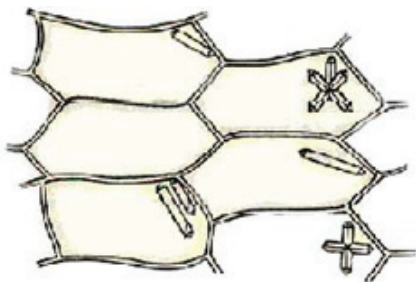


Рис. 35. Клетки с кристаллами оксалата кальция эпидермы чешуи луковичи

бразными кристаллами оксалата кальция. Внешнюю светло-коричневую чешую лука (небольшой кусочек) поместите на предметное стекло в каплю воды, расправьте чешую иглой и накройте покровным стеклом. Рассмотрите препарат под малым и большим увеличением микроскопа, найдите отдельные призматические кристаллы в клетках. Зарисуйте несколько клеток с одиночными кристаллами.

Задание 3. Рассмотреть и зарисовать жировые включения в клетках печени аксолотля. При малом увеличении необходимо найти большие многоугольные или круглые печеночные клетки в центральной части органа и большое количество круглых жировых капель разного размера черного цвета в цитоплазме этих клеток; зарисовать печеночные клетки их ядра и жировые включения в цитоплазме.

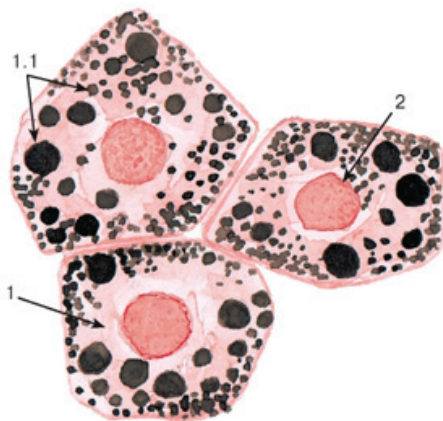
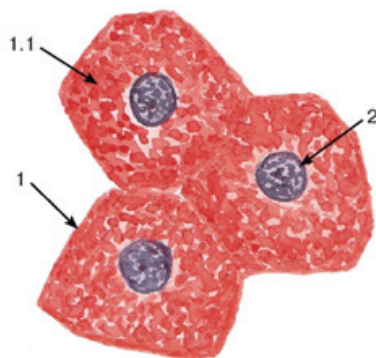


Рис. 36. Жир в клетках печени аксолотля
1 - цитоплазма гепатоцита: 1.1 - липидные капли; 2 – ядро

Задание 4. Рассмотреть и зарисовать включения гликогена в клетках печени аксолотля. Следует изучить препарат с помощью малого и большого увеличения; зарисовать глыбки гликогена в цитоплазме по периферии клеток.



*Рис. 37. Включения гликогена в клетках печени аксолотля
1 - цитоплазма гепатоцита: 1.1 - гранулы гликогена; 2 - ядро*

Задание 5. Рассмотреть и зарисовать пигментные включения в клетке кожи аксолотля. Необходимо изучить препарат при малом увеличении; при большом увеличении рассмотреть отростчатые клетки; в цитоплазме отметить коричневые зерна пигмента.



*Рис. 38. Пигментные включения :1 - цитоплазма пигментной клетки,
1.1 - отростки, 1.2 - гранулы пигмента (меланина); 2 - ядро*

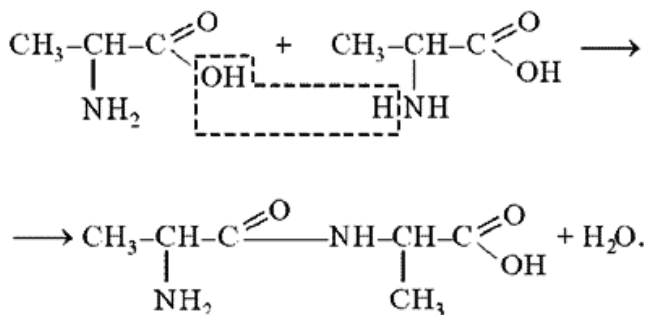
Сделать вывод о различных клеточных включениях в клетках растений и животных.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 9

Тема занятия	ОРГАНИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА В КЛЕТКЕ. КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА БЕЛКИ. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ
--------------	---

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Белки в клетках содержатся в составе цитоплазмы, ядра и различных органоидов клетки. Наличие белков можно обнаружить цветными реакциями. Наиболее универсальной качественной реакцией на белки является биуретовая реакция. В белках аминокислоты связаны друг с другом по типу полипептидов. Образование полипептидов из аминокислот происходит путем отщепления молекулы воды от аминогруппы одной молекулы аминокислоты и карбоксильной группы другой молекулы:



Образующаяся группа ---C(O)---NH--- называется пептидной группой, связь C---N , соединяющая остатки молекул аминокислот, – пептидной связью.

При взаимодействии дипептида с новой молекулой аминокислоты получается трипептид и т. д. Наличие в белке повторяющихся пептидных групп подтверждается тем, что белки дают фиолетовое окрашивание при действии небольшого количества раствора медного купороса в присутствии щелочи (биуретовая реакция). Хорошие результаты дает эта реакция на меристемах (на примере зародыша гороха или пшеницы). Поскольку окрашивание может возникнуть не только с белками, но и в присутствии таких аминокислот, как аспарагин и гистидин, необходимо провести предобработку материала 5%-ной трихлоруксусной кислотой. Белки построены из аминокислот. Все клетки содержат белки, а

следовательно, и аминокислоты. Растения синтезируют все известные аминокислоты. Нингидриновая реакция свидетельствует о присутствии аминогрупп. Вещества, нарушающие структурную организацию белковой молекулы (т. е. четвертичную, третичную и далее вторичную структуры), приводят к изменению физико-химических и биологических свойств белка. Это явление называется денатурацией. Денатурация изменяет физико-химические свойства белка, в частности его растворимость. При этом белок становится менее гидрофильным и легко осаждается. Денатурация чаще всего необратима, но в ряде случаев удаление денатурирующих агентов приводит к восстановлению исходной конформации молекулы белка и его природных свойств – ренатурации. При необратимых реакциях осаждения белки претерпевают глубокие изменения и не могут быть растворимы в первоначальном растворителе. К необратимым реакциям относятся: осаждение белка солями тяжелых металлов, минеральными и органическими кислотами, алкалоидными реактивами и осаждение при кипячении. Осаждение белков солями тяжелых металлов, в отличие от высаливания, происходит при небольших концентрациях солей. Белки при взаимодействии с солями тяжелых металлов (свинца, меди, ртути и др.) адсорбируют их, образуя солеобразные и комплексные соединения, растворимые в избытке этих солей, но нерастворимые в воде. Растворение осадка в избытке солей называется адсорбционной пептизацией. Концентрированные минеральные кислоты вызывают денатурацию белка и образуют комплексные соли белка с кислотами. В избытке всех минеральных кислот, за исключением азотной, выпавший осадок белка растворяется. Для органических кислот характерен сложный механизм денатурации, связанный с воздействием на водородные связи, с блокированием полярных группировок и с нейтрализацией заряда молекулы белка, что приводит к нарушению пространственной структуры и осаждению белка. Органические растворители приводят к денатурации белков в результате резкого уменьшения диэлектрической константы их водных растворов. При этом нарушаются их гидрофобные взаимодействия в молекулах белков. Кроме того, увеличиваются электростатические силы взаимодействия между заряженными группами, образование прочных внутри- и межмолекулярных связей приводит к денатурации белков.

Цель работы: ознакомиться с методами обнаружения белков и их физико-химическими свойствами.

Материалы и оборудование: 1. Зародыши гороха и пшеницы 2. 7% раствор CuSO_4 3. Часовые стекла. 4. Фильтровальная бумага. 5. 30% раствор NaOH или KOH 6. Дистиллированная вода. 7. Предметные стекла. 8. 0,5—1% водный раствор нингидрина. 9. 5% раствор трихлоруксусной кислоты. 10. 1%-ного раствора яичного белка. 11. 96% этилового спирта или ацетона 12. концентрированная серная или соляная кислота. 13. сульфосалициловая кислота. 14. трихлоруксусная кислота. 15. 5% раствор хлорного железа 16. 5% раствор уксуснокислого свинца, 17. 7% раствор сернокислой меди.

ХОД РАБОТЫ

Задание 1. Провести биуретовую реакцию для выявления в молекулах белков пептидных связей.

1. Объекты помещают на 5–15 мин в 7%-ный медный купорос в часовом стекле.

2. Отсасывают раствор фильтровальной бумагой.

3. Объекты промывают в воде и переносят их на предметное стекло в каплю 30%-ного раствора NaOH или KOH на 10–40 мин до появления окраски.

Задание 2. Провести нингидриновую реакцию на аминокруппы.

1. Реакцию проводят в двух вариантах: с предобработкой материала и без предобработки трихлоруксусной кислотой в течение 10–15 мин. и последующей промывкой водой.

2. Подогревают до появления синей окраски. Окраска свидетельствует о присутствии аминокрупп. Сохранение окраски объекта после обработки кислотой указывает на выявление аминокрупп белка. Окрашенное соединение (синее, фиолетовое) возникает после присоединения азота аминокислоты к нингидрину. Реакция без предобработки выявляет все аминокруппы как белка, так и свободных аминокислот.

Задание 3. Осаждение белка при нагревании.

1. В пробирку налить 0,5мл 1%-ного раствора яичного белка.

2. Содержимое пробирки нагреть над пламенем спиртовки и наблюдать появление опалесценции (помутнение раствора).

3. Объяснить, с чем связано осаждение белка.

Задание 4. Осаждение белков:

1. *Осаждение белка органическими растворителями:*

К 5 каплям 1%-ного раствора яичного белка добавить 20–25 капель 96%-ного этилового спирта или ацетона и 1 каплю насыщенного раствора хлористого натрия.

2. *Осаждение белка концентрированными минеральными кислотами:*

В пробирку накапать 10–15 капель концентрированной азотной кислоты и, наклонив ее под углом 45°, осторожно, по стенке пробирки добавить из пипетки равный объем 1%-ного раствора какого-либо белка. То же можно проделать, взяв вместо азотной кислоты концентрированную серную или соляную кислоты.

3. *Осаждение белка некоторыми органическими кислотами:*

К 0,5мл раствора яичного белка добавить 1–2 капли 10%-ного раствора сульфосалициловой кислоты. То же проделать с 10%-ным раствором трихлоруксусной кислоты.

4. *Осаждение белка солями тяжелых металлов.*

В три пробирки налить по 0,5 мл 1%-ного раствора яичного белка и добавить в первую 1 каплю 5%-ного раствора хлорного железа, во вторую – 1 каплю 5%-ного раствора уксуснокислого свинца, в третью – 1 каплю 7%-ного раствора сернокислой меди. К такой же порции белка прибавить вначале 1 каплю раствора соли тяжелого металла, а затем еще 5–6 капель. Пронаблюдать ход реакции и объяснить.

На основании проведенных опытов сделать выводы о физико-химических свойствах белков.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 10

Тема занятия	ОРГАНИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА В КЛЕТКЕ. ОБНАРУЖЕНИЕ УГЛЕВОДОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ
-----------------	--

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

В составе клетки углеводы чаще всего встречаются в виде сахаров в клеточном соке. Также они представлены запасными питательными веществами (крахмал) и входят в состав клеточной оболочки. Крахмал встречается в виде зерен, величина и форма которых неодинакова у различных растений. В клубнях картофеля крахмальные зерна слоистые, неправильной формы, простые (имеют один центр крахмалообразования) и реже сложные (состоящие из нескольких простых зерен), крупные (45–110 мкм). Намного мельче крахмальные зерна эндосперма пшеницы, ржи, капусты. В бобовых культур крахмальные зерна овальные, ветвистой формы. В клетке крахмал образуется с участием пластид.

Углеводы делятся на следующие группы:

- а) моносахара
- б) ди- или олигосахара
- в) полисахара.

Моносахара благодаря присутствию альдегидной или кетонной группы являются редуцирующими (т.е. обладают восстанавливающими способностями). К альдозам относят такие моносахара как глюкоза, галактоза, манноза. В число кетоз входит фруктоза.

Дисахариды (в частности сахароза) являются нередуцирующими сахарами.

Характерной реакцией на редуцирующие сахара является реакция с раствором Фелинга: при взаимодействии редуцирующего сахара (альдозы) с раствором Фелинга происходит восстановление оксида меди (II) (CuO) в оксид меди (I) (Cu_2O), который выпадает в виде красного осадка.

Качественные реакции на сахара осуществляют на свежем материале. Если необходимо сделать срезы, то они не должны быть тонкими, чтобы можно было выбрать для исследования неповрежденные слои клеток.

Цель работы: обнаружить запасные сахара в различных растительных объектах и определить их принадлежность к определенной группе углеводов.

Материалы и оборудование: 1. Морковь, картофель. 2. 1 М раствор сахарозы, 20% HCl , раствор Фелинга, 30-50% раствор альдозы

или глюкозы. 3. Лезвие. 4. Терка и плоская чашка. 5. Электроплитка. 6. Фильтровальная бумага. 7. Пробирки и воронка. 9. Стеклянная палочка. 10. Спиртовка с держателем. 11. Раствор йодида калия. 12. Раствор L-нафтола в 96%-ном этиловом спирте. 13. Серная кислота.

ХОД РАБОТЫ

Реакции на сахара обычно проводят на свежем материале.

Задание 1. Провести йодную реакцию на крахмал. Срезы картофеля не должны быть тонкими, чтобы можно было выбрать неповрежденные слои клеток для исследования. Для наблюдения реакции используют раствор йода в йодиде калия. На объект, находящийся на предметном стекле, наносят каплю реактива и накрывают покровным стеклом. Реактив действует моментально, окрашивая крахмал в сине-фиолетовый цвет.

Задание 2. Провести реакцию с L-нафтолом на простые и сложные углеводы. Объект помещают на предметное стекло в раствор L-нафтола в 96%-ном этиловом спирте, добавляют две капли серной кислоты и накрывают покровным стеклом. При наличии глюкозы быстро появляется фиолетовая окраска. Если реакция наблюдается через 30–45 мин, то это свидетельствует о том, что под действием кислоты другие углеводы превратились в глюкозу. Данная реакция не является специфичной.

Задание 3. Качественные реакции с раствором Фелинга.

1. Провести контрольную реакцию раствора Фелинга с раствором альдозы (глюкозы, галактозы): 30-50% раствор альдозы (1-2 мл) смешать с таким же объемом раствора Фелинга и нагреть до кипения.

2. Провести такую же реакцию с сахарозой.

3. Раствор сахарозы смешать с 2-3 каплями 20% соляной кислоты, прокипятить в течение 1 минуты, добавить равный объем раствора Фелинга и прокипятить. Результаты записать в тетради и объяснить.

4. Нарезать мелко растительный материал, (морковь и т.д.), добавить немного воды и нагревать на водяной бане в течение 5 минут. Профильтровать.

5. Половину фильтрата смешать с раствором Фелинга и нагреть до кипения.

6. Вторую половину фильтрата смешать с 2-3 каплями 20% соляной кислоты, затем, после гидролиза сахарозы, провести реакцию Фелинга.

7. Заполнить таблицу:

Объект исследования	Количество оксида меди (I), балл	
	без гидролиза	после гидролиза

Сделать выводы из проведенных опытов.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ПРОМЕЖУТОЧНОГО КОНТРОЛЯ № 1

1. Предмет и методы цитологии.
2. Клетка как структурная и функциональная единица живой материи.
3. Отличие прокариотических и эукариотических клеток.
4. Отличие растительной и животной клетки.
5. История изучения клетки.
6. Взаимосвязь цитологии с другими биологическими науками.
7. Развитие цитологии в XVIII – XX веках.
8. Этапы развития клеточной теории.
9. Клеточная теория Шванна – Вирхова.
10. Основные постулаты современной клеточной теории.
11. Типы микроскопов, особенности работы со световым микроскопом.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ПРОМЕЖУТОЧНОГО КОНТРОЛЯ № 2

1. Клеточная стенка: основные компоненты, строение, функции.
2. Плазмолемма: ее строение и функции.
3. Цитоплазма: ее строение и функции.
4. Цитоскелет: строение, функции.
5. Эндоплазматическая сеть: строение, функции.
6. Рибосомы, строение: функции.
7. Аппарат Гольджи: строение, функции.
8. Лизосомы, строение: функции.
9. Митохондрии: строение, функции.
10. Пластиды: строение, функции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Быков В.Л. Цитология и общая гистология. СПб «Сотис». 2001 г
2. Верещагина, В. А. Основы общей цитологии / В. А. Верещагина. – М.: Академия, 2007. – 176 с.
3. Общая цитология: руководство к практическим занятиям/ сост.: Мальцев А.В. – Екатеринбург: Издательство Уральского университета, 2001. – 66с.
4. Паушева, З. П. Практикум по цитологии растений / З.П. Паушева. – М.: Колос, 1978. – 256 с.
5. Ролан, Ж.-К. Атлас по биологии клетки / Ж.-К. Ролан, А. Селоши, Д. Селоши. – М.: Мир, 1978. – 113 с.
6. Свенсон К, Уэбстер П. Клетка: Пер. с англ. - М.: Мир, 1980.
7. Цитология и гистология: метод. указания к лаб. занятиям по курсу для студентов биол. фак. / сост.: С.В. Глушен, В.В. Гринев, М.П. Куницкая, М.А. Титок. – Минск, 2004.
8. Ченцов, Ю. С. Введение в клеточную биологию / Ю. С. Ченцов. – М.: Академкнига, 2004. – 495 с.
9. Ченцов, Ю. С. Практикум по цитологии / Ю. С. Ченцов. – М.: Изд-во МГУ, 1998 . – 295 с.