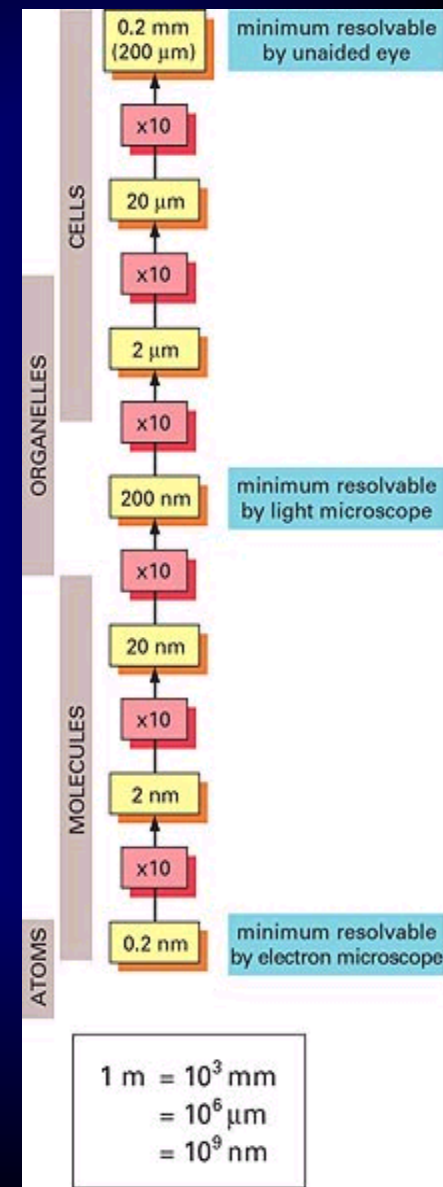
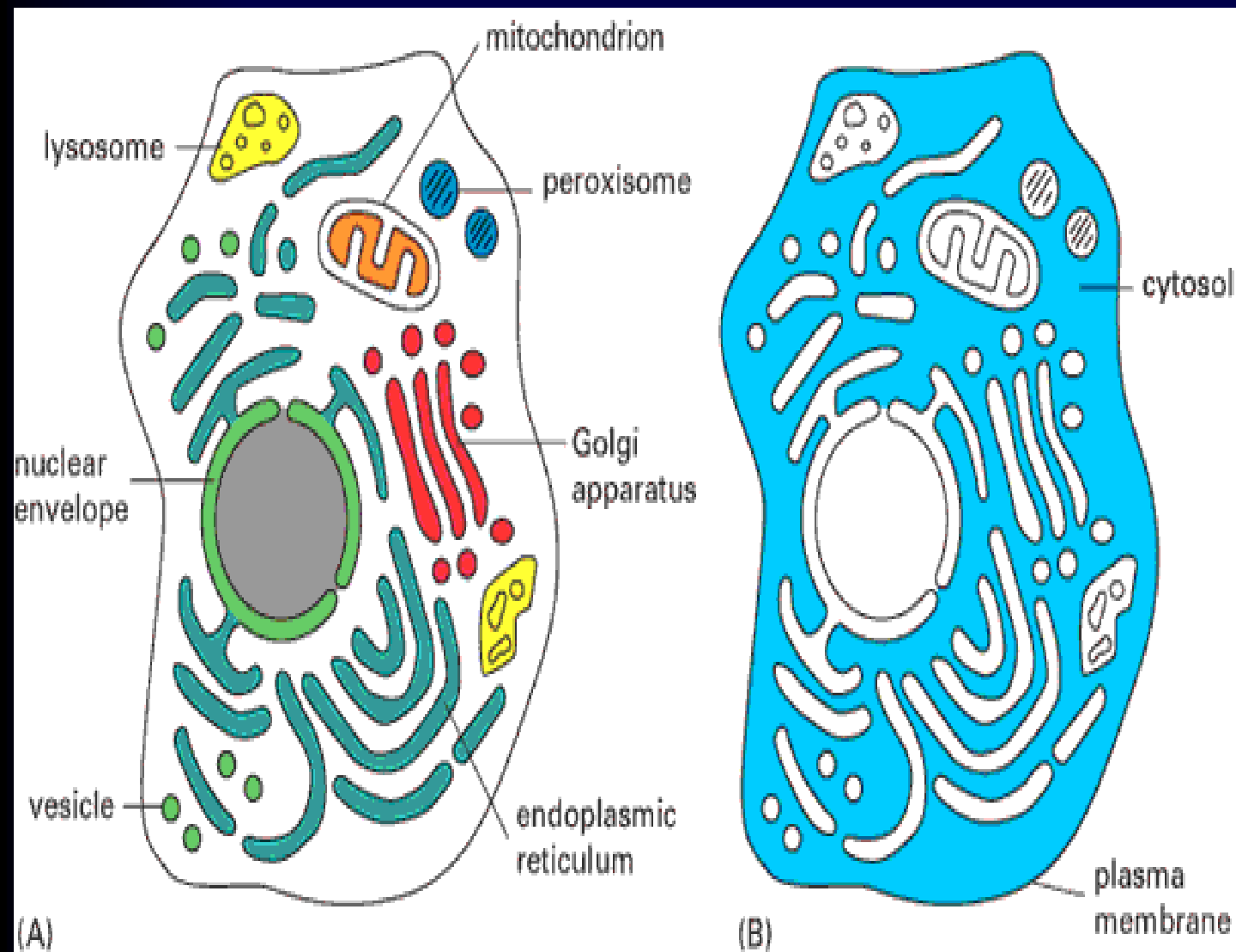
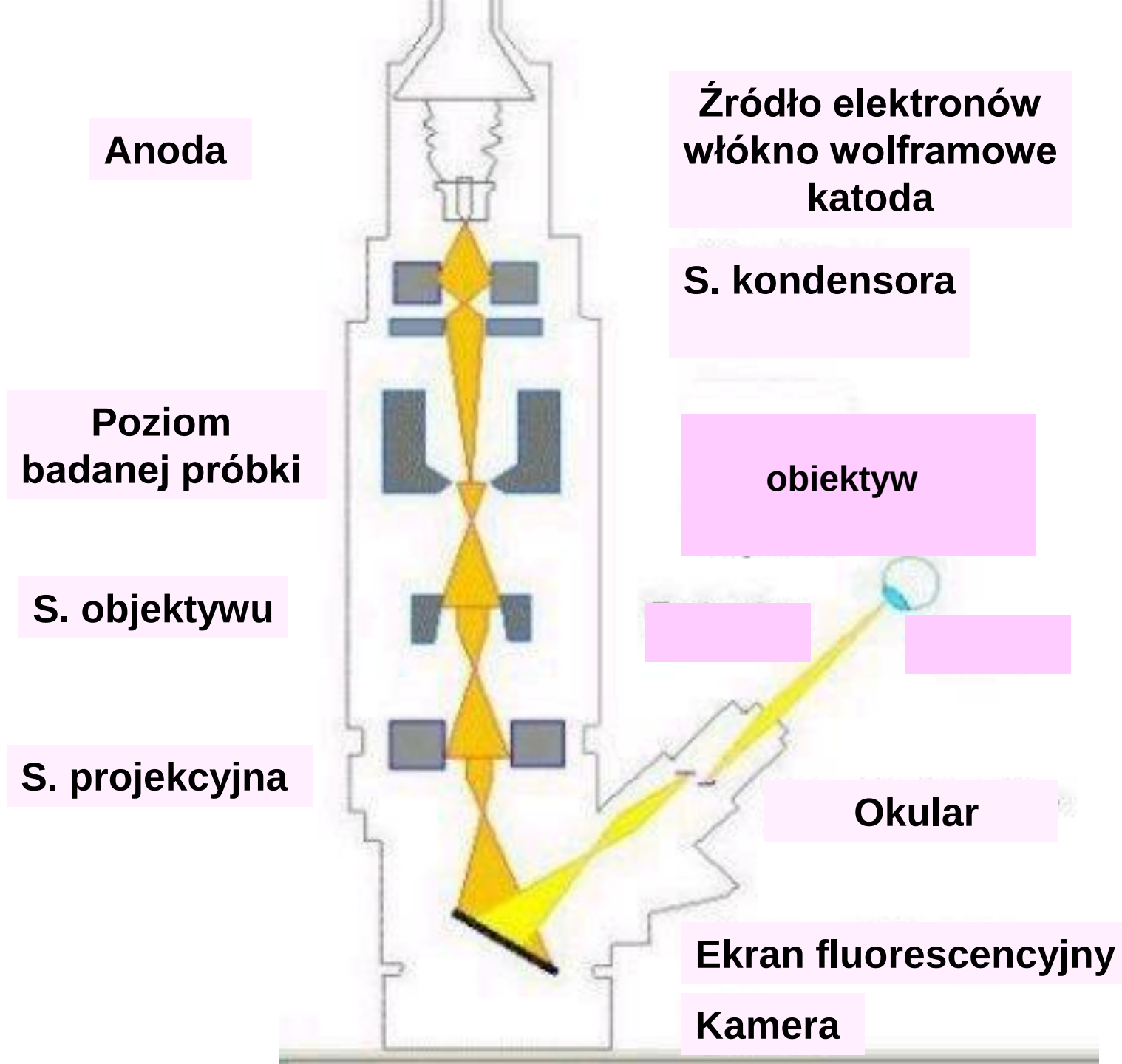
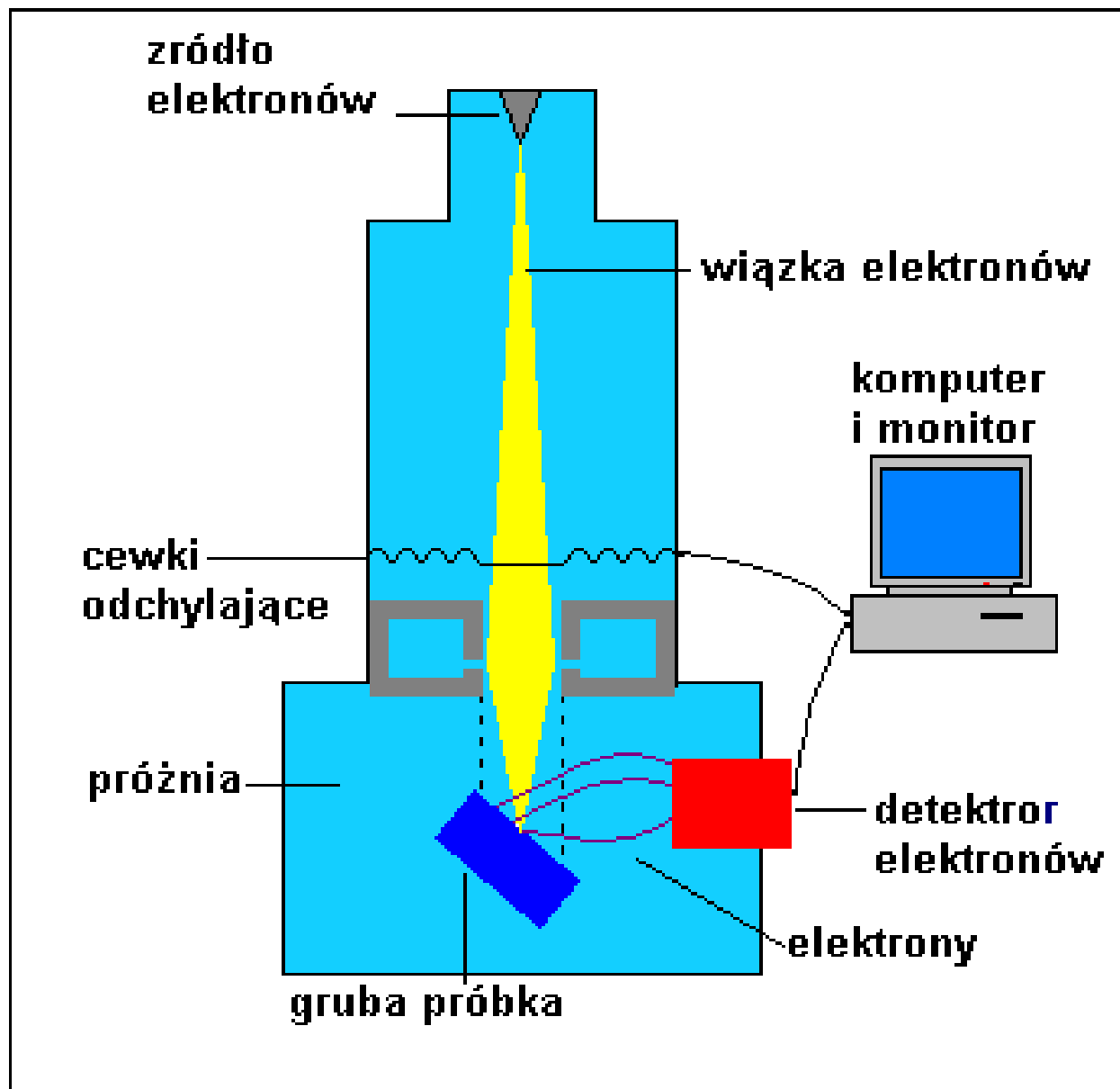


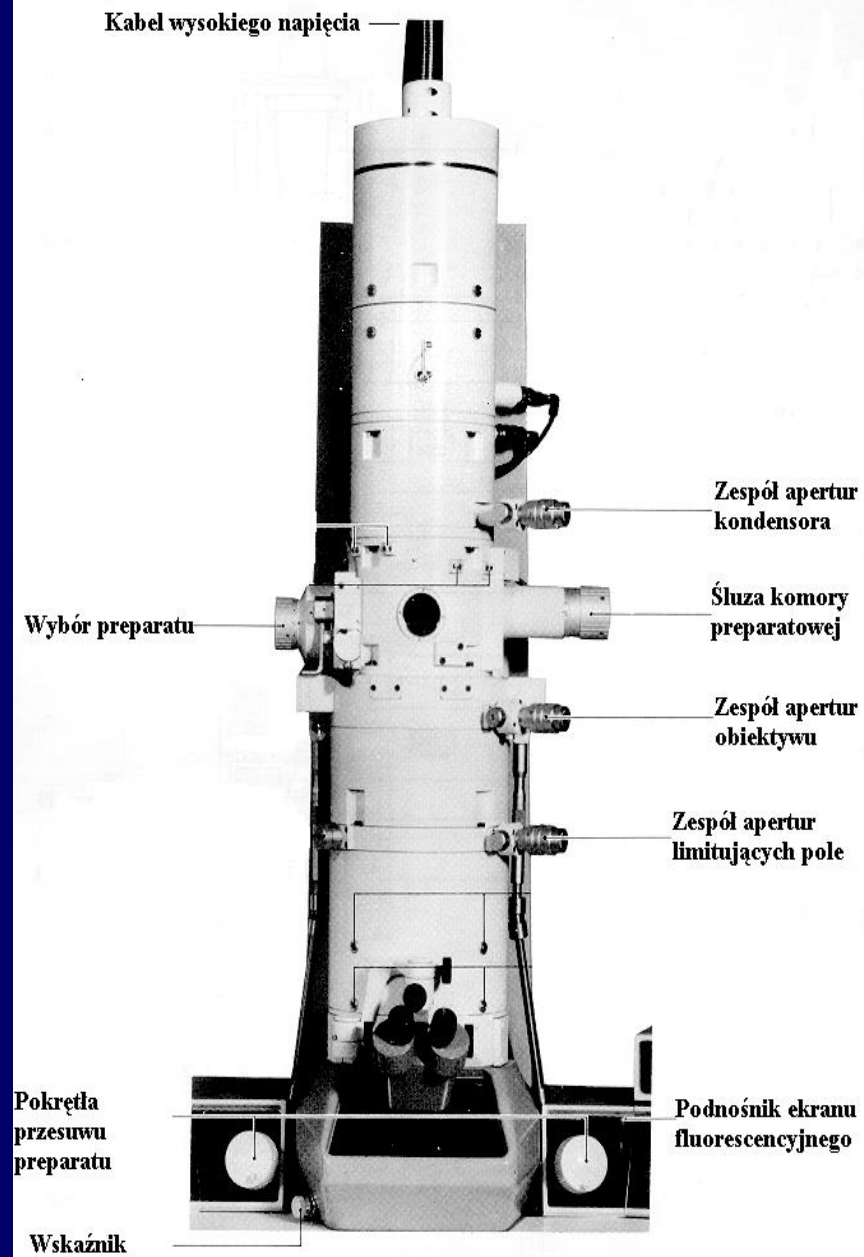
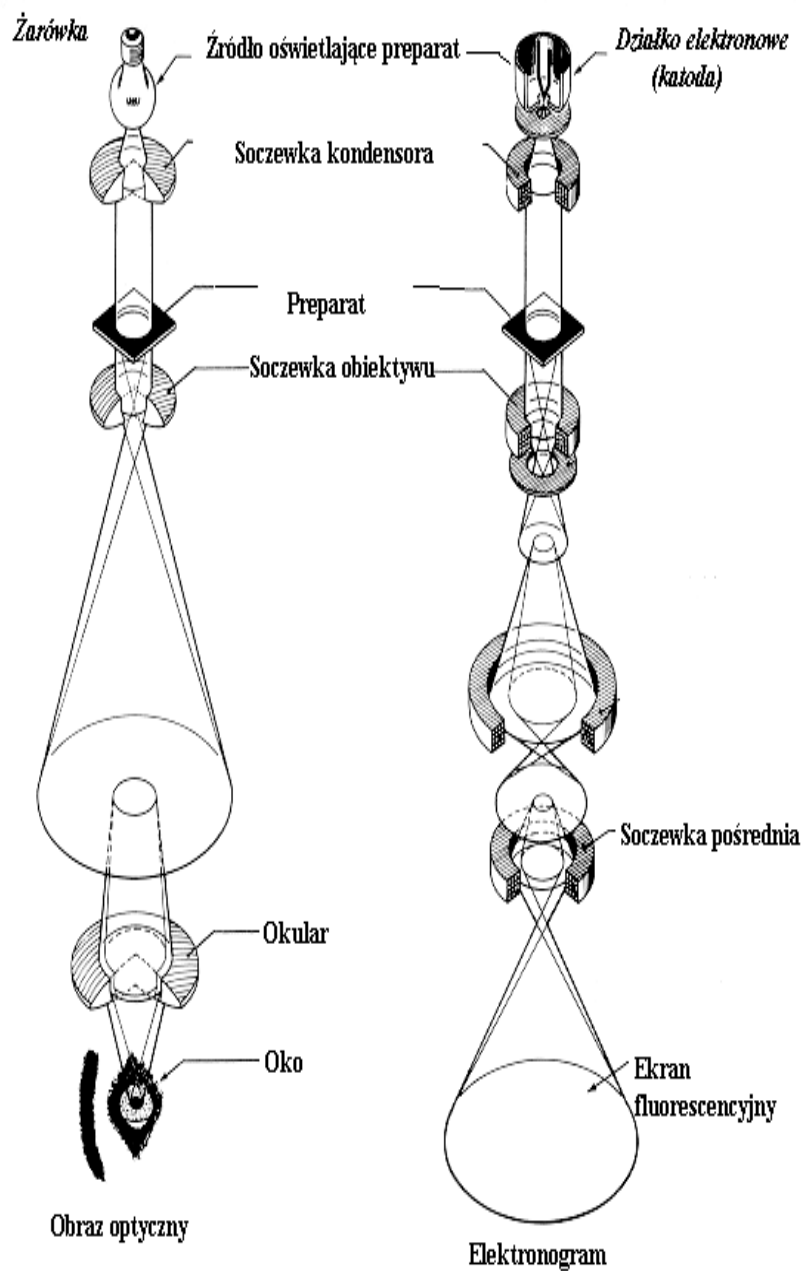
ULTRASTRUKTURA KOMÓRKI



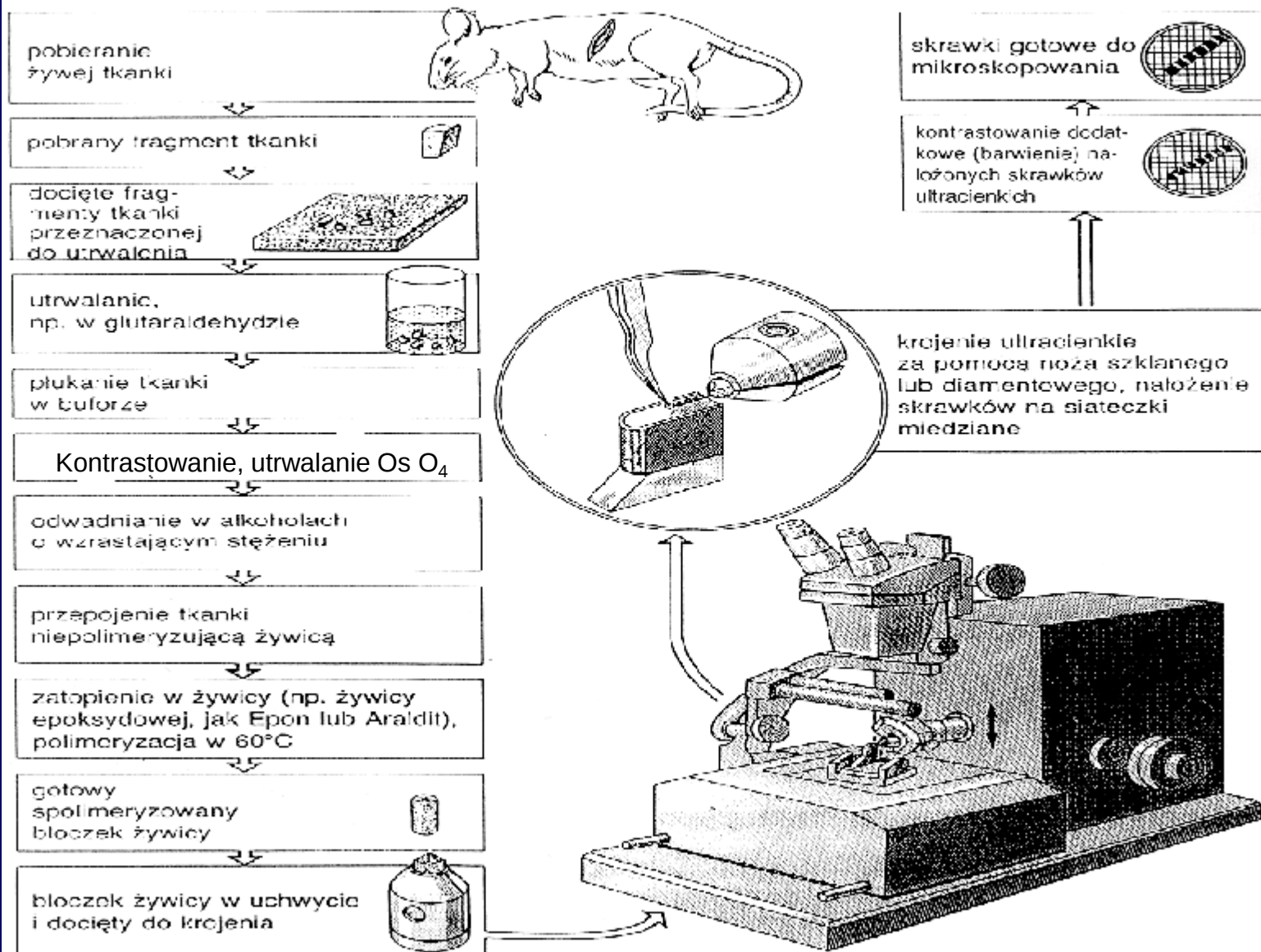




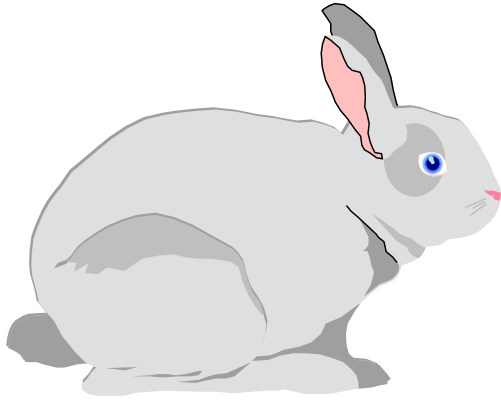
Skaningowy Elektronowy Mikroskop



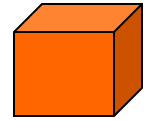
Etapy preparatyki w mikroskopii elektronowej



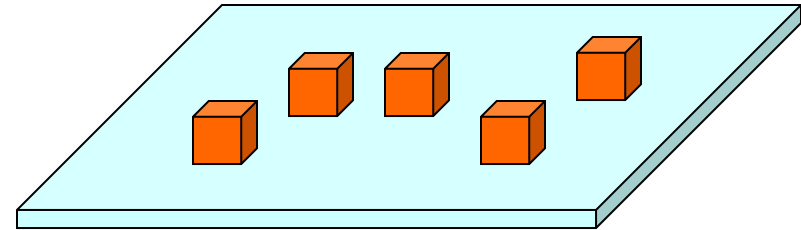
ETAPY PREPARATYKI W MIKROSKOPII ELEKTRONOWEJ TRANSMISYJNEJ



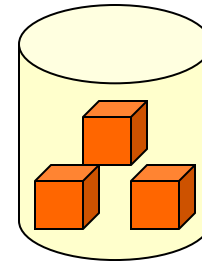
Pobieranie żywej tkanki



Docięcie fragmentów przeznaczonych
do utrwalenia

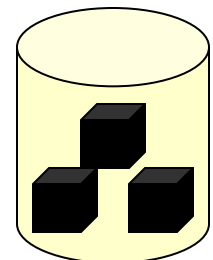


Utrwalanie np. w glutaraldehydzie



Płukanie tkanki w buforze

Utrwalanie i kontrastowanie w czterotlenku osmu



Płukanie tkanki w buforze

Odwadnianie w alkoholach o wzrastającym stężeniu

Przepojenie tkanki niepolimeryzującą żywicą

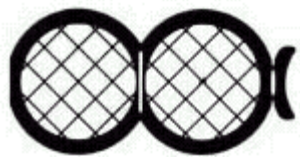
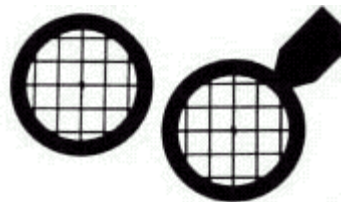
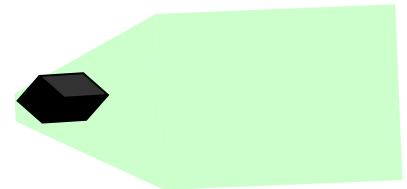
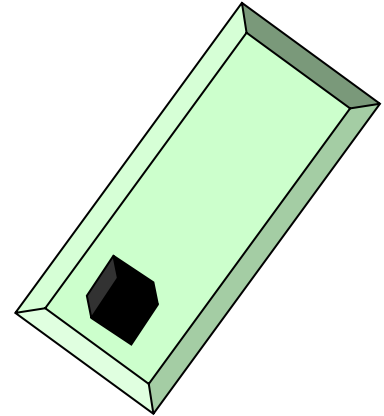
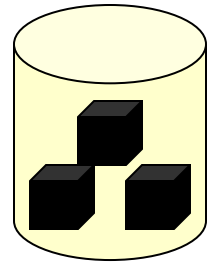
Zatopienie w żywicy epoksydowej polimeryzującej w 60°C

Spolimeryzowany bloczek żywicy

Bloczek przygotowany do krojenia

Krojenie i zbieranie skrawków na siatki miedziane

Kontrastowanie skrawków solami metali ciężkich



Reagowanie utrwalaczy i substancji kontrastujących z podstawowymi składnikami komórki

	Kwasy nukleinowe	białka	fosfolipidy	polisacharydy	tłuszcze
OsO ₄					 Nienasycone +
aldehydy					
octan uranylu					
związki ołowiu				 Glikogen +	
 Silna reakcja	 Umiarkowana reakcja	 Słaba lub brak reakcja			





MITOCHONDRIA

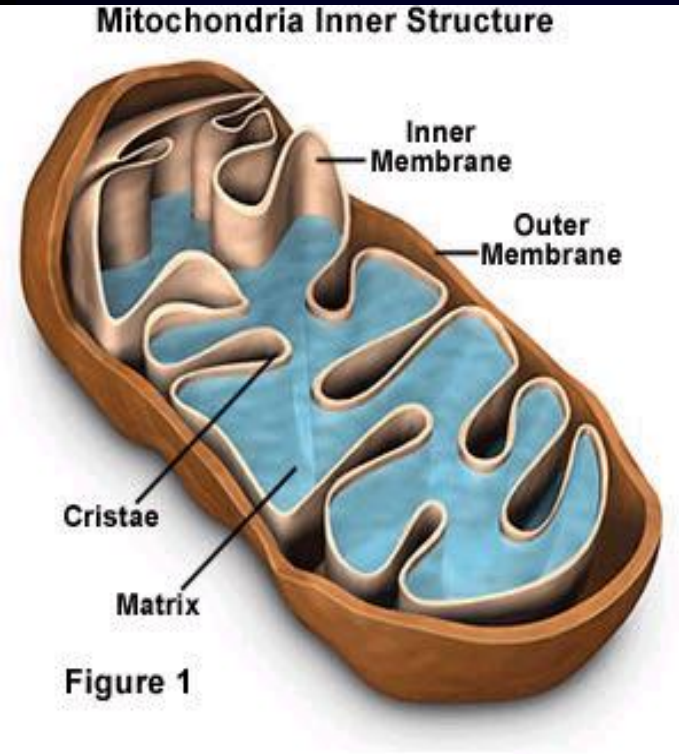
20% objętości komórki

liczba grzebieni proporcjonalna do aktywności komórki

tyroksyna, trójiodotyronina



wzrost liczby mitochondriów i grzebieni



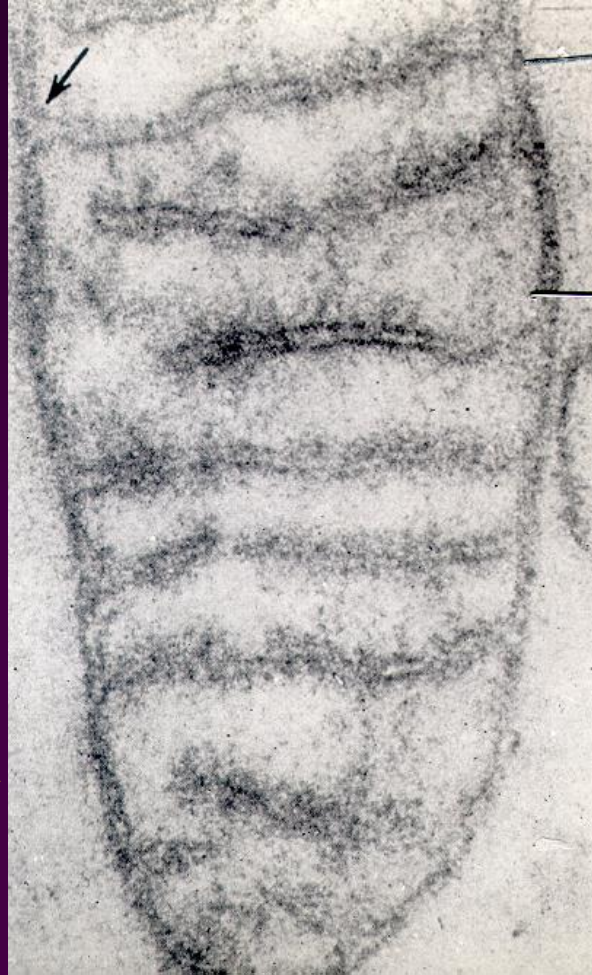
grzebień mitochondrialne: prostopadłe lub podłużne do długiej osi komórki

mitochondria tubularne kształt rurek o przekroju okrągłym (komórki syntetyzujące steroidy)
kształt rurek o przekroju trójkątnym (astrocyty)

macierz mitochondrium: H_2O poniżej 50%, enzymy katalityczne (przemiany kwasów tłuszczowych i kwasu pirogronowego, wytwarzanie acetylokoenzymu A, cykl kwasu cytrynowego)
mt rybosomy, enzymy replikacji i transkrypcji
mitochondrialne DNA, RNA,
białka szoku termicznego
peptydazy

ziarnistości gęste elektronowo (20-50 nm)
- precypitaty fosforanów wapnia - kalcyfikacja mitochondriów - warunki niedotlenienia lub działania czynników toksycznych

**wewnętrzna
błona mitochondrialna**



**zewnętrzna
błona mitochondrialna**

oksydaza monoaminowa,
heksokinaza II,
cytochrom b5,
dehydrogenaza NADH,
syntaza acylo-CoA,
palmilotransferaza
karnitynowa I,
kanał VDAC - poryna
(transport ATP, ADP,
kreatyny, cholesterolu),
PBR - receptor benzodiazepiny
białka rodziny BCL-2

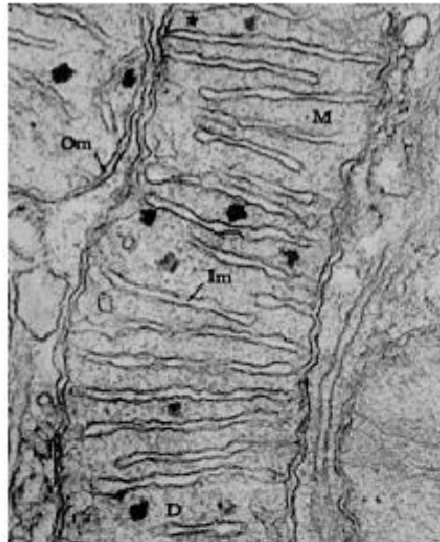
przestrzeń międzymbłonowa

enzymy fosforylujące nukleotydy
kinaza adenilanova,
kinaza kreatynowa,
kinaza nukleozydodifosforanowa,
peptydazy,
liaza hemu cytochromu c

* AIF (apoptosis inducing factor) - aktywacja kaspaz

* cytochromu C, który wiąże się z z APAF (apoptosis protease activating factor)

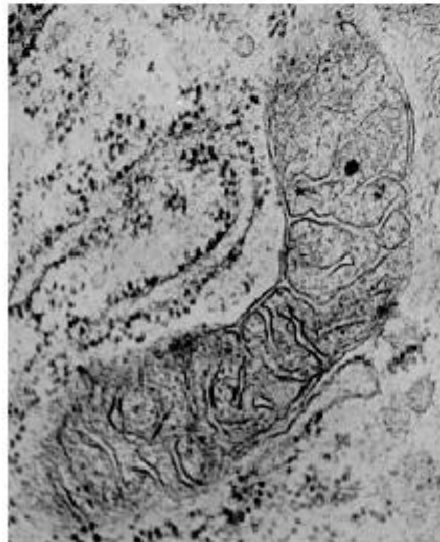
**Komórka
kanalika nerkowego**



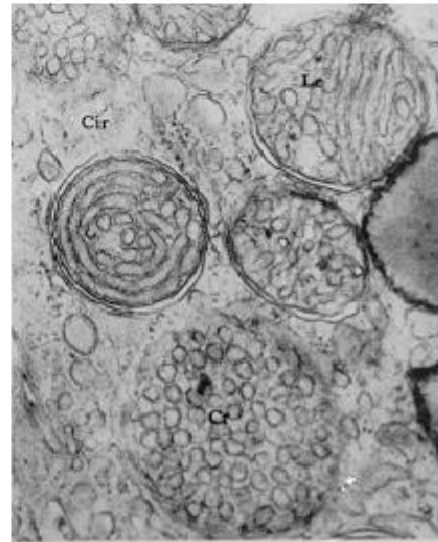
Hepatocyt



**Komórka nabłonka
pęcherzyka żółciowego**



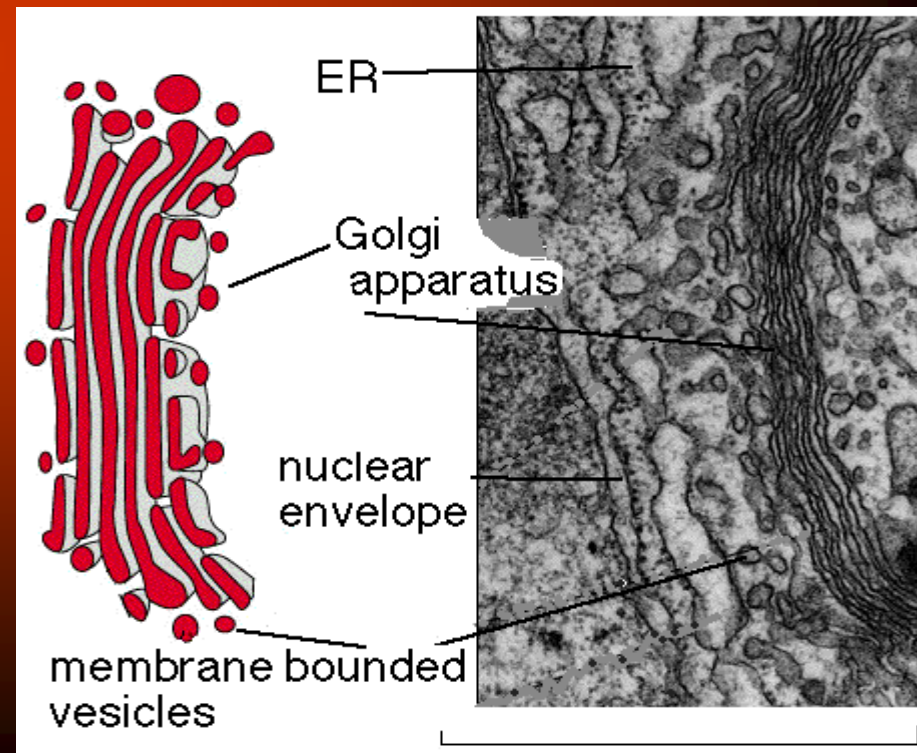
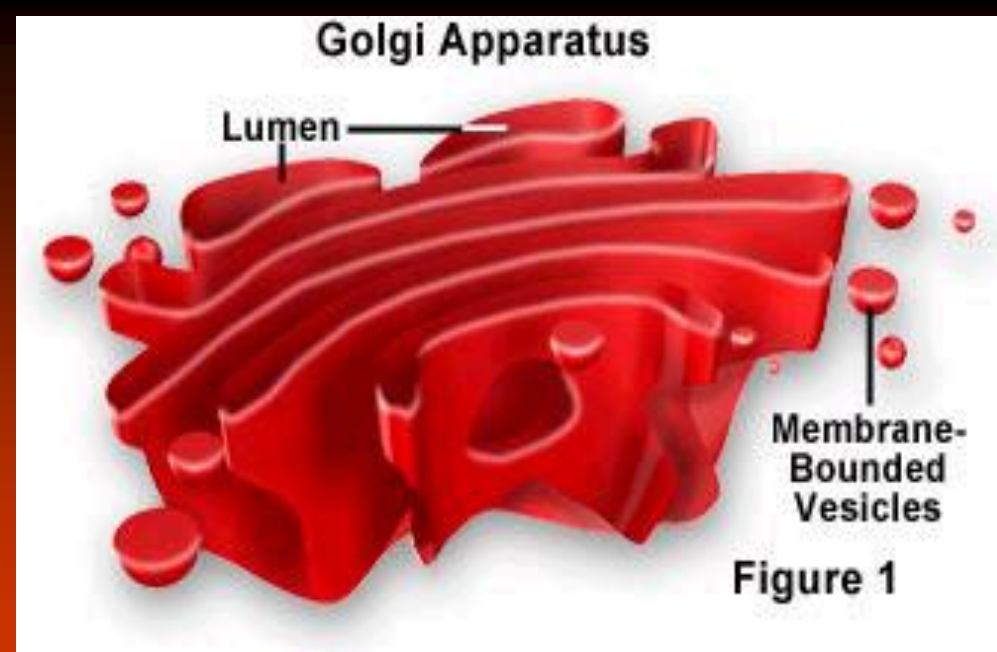
**Komórka
paraluteinowa**

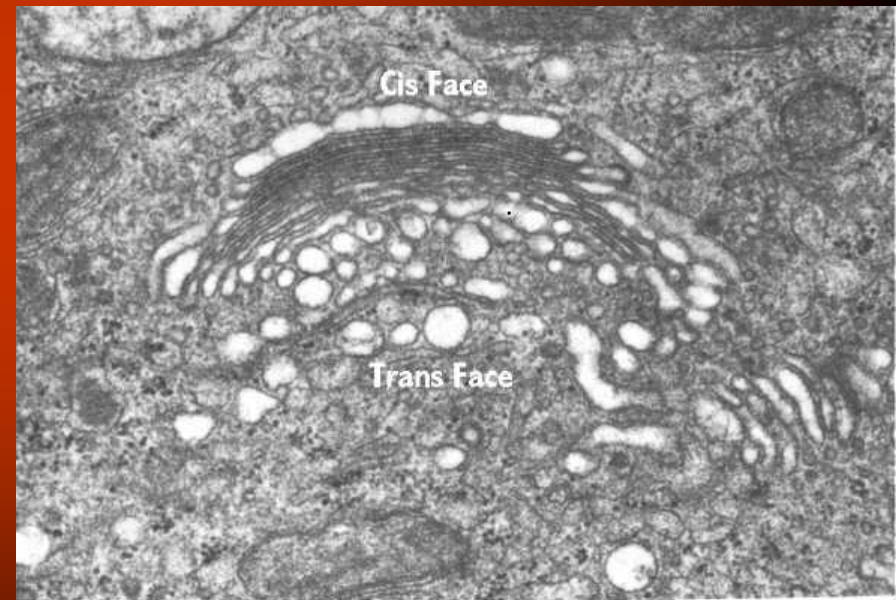
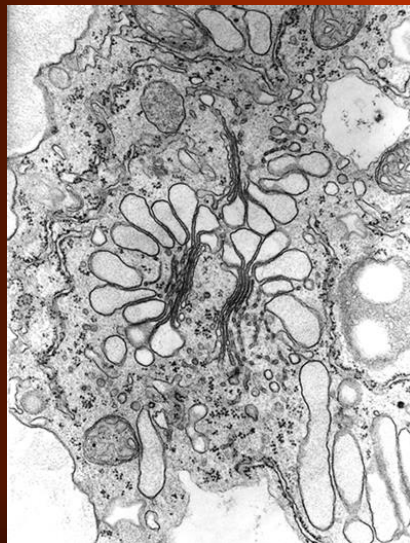
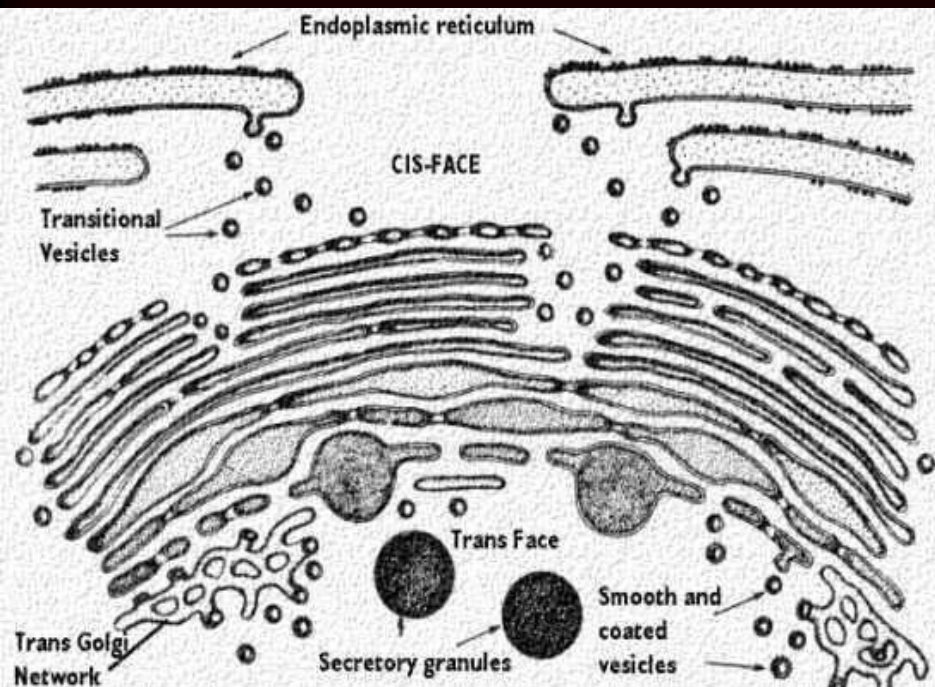


Aparat Golgiego

6-30 spłaszczonych zbiorników,
rurki,
pęcherzyki
1mm *diktiosom*

powstawanie:
szorstka siateczka śródplazmatyczna
zewnętrzna błona otoczki jądrowej

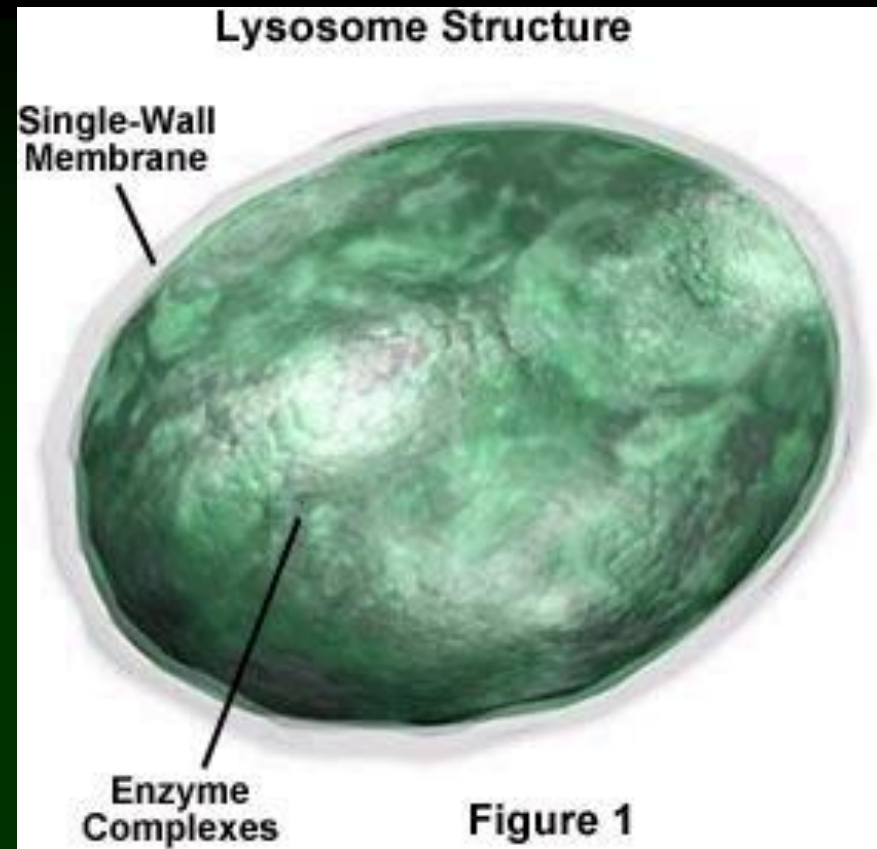
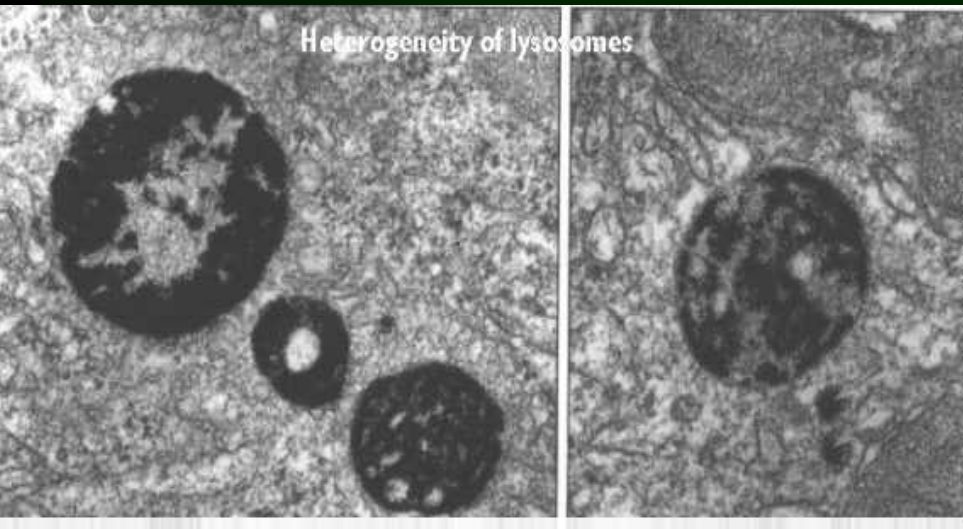




powierzchnia cis = syntezy
powierzchnia trans = dojrzewania

LIZOSOMY

Średnica do 1 μm



Błona komórkowa: * pompa protonowa ($\text{pH } 5$)

* przepuszczalna dla produktów hydrolaz

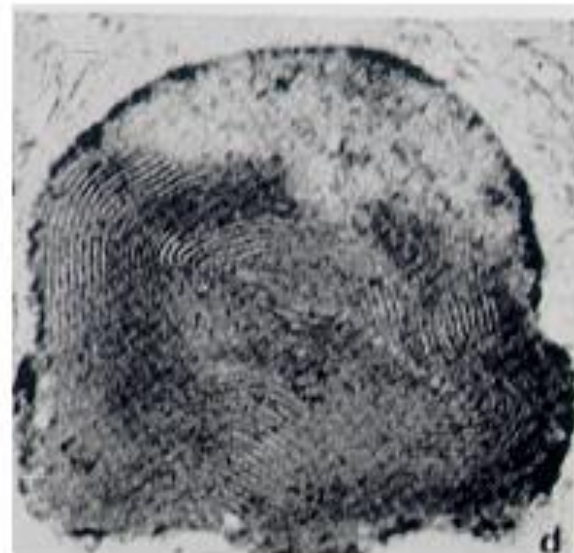
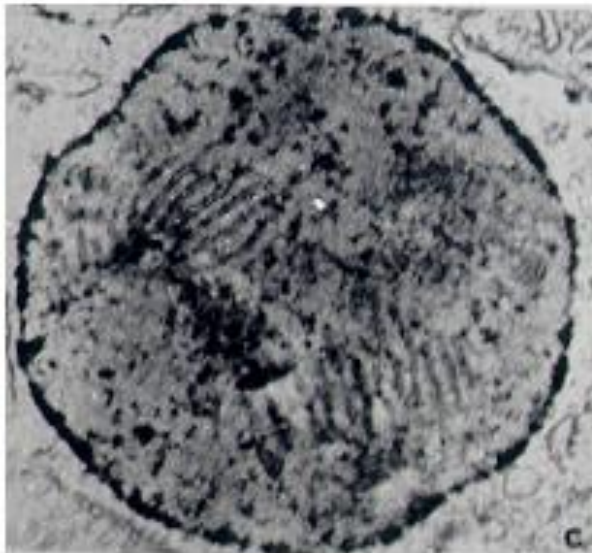
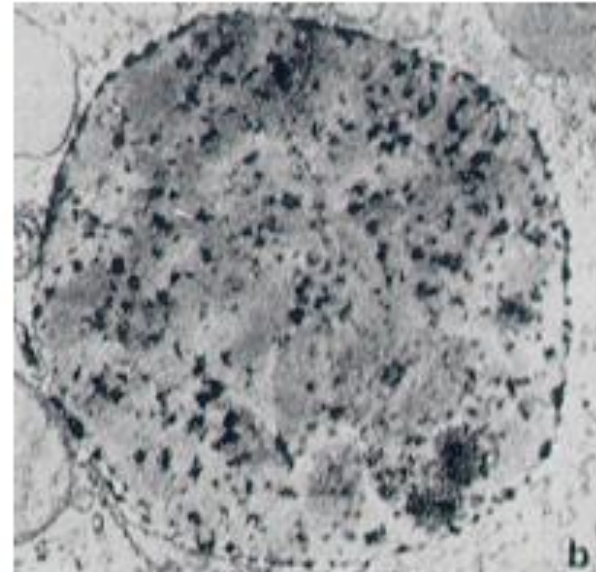
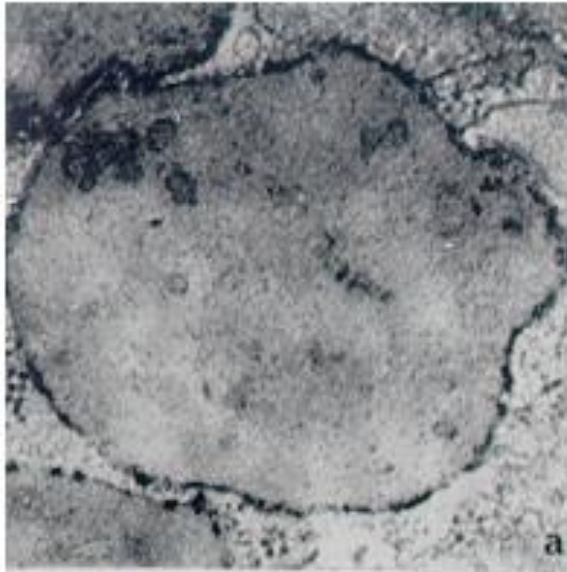
Zawartość: proteaza, lipaza triacyloglicerylowa, glikozydaza, nekleaza, fosfataza, sulfataza

Funkcja: * endocytoza

* trawienie wewnątrzkomórkowe

Lizosom pierwotny

Lizosom wtórny- autofagolizosom



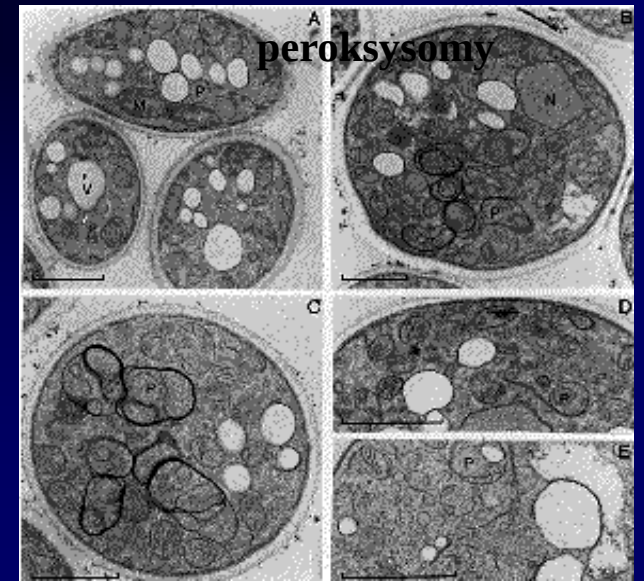
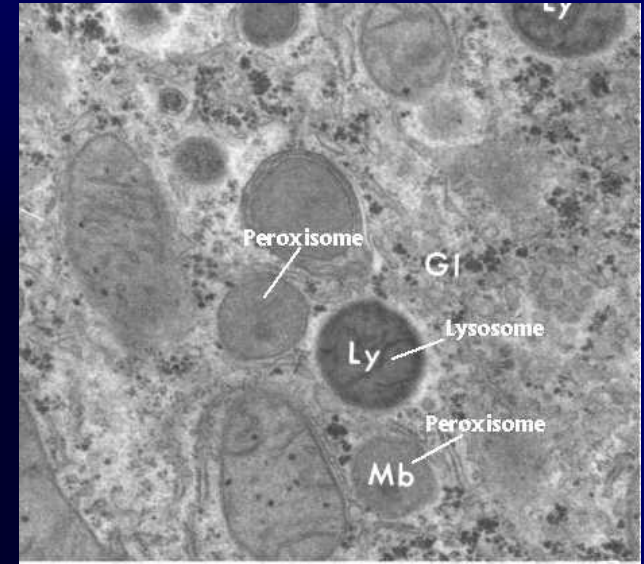
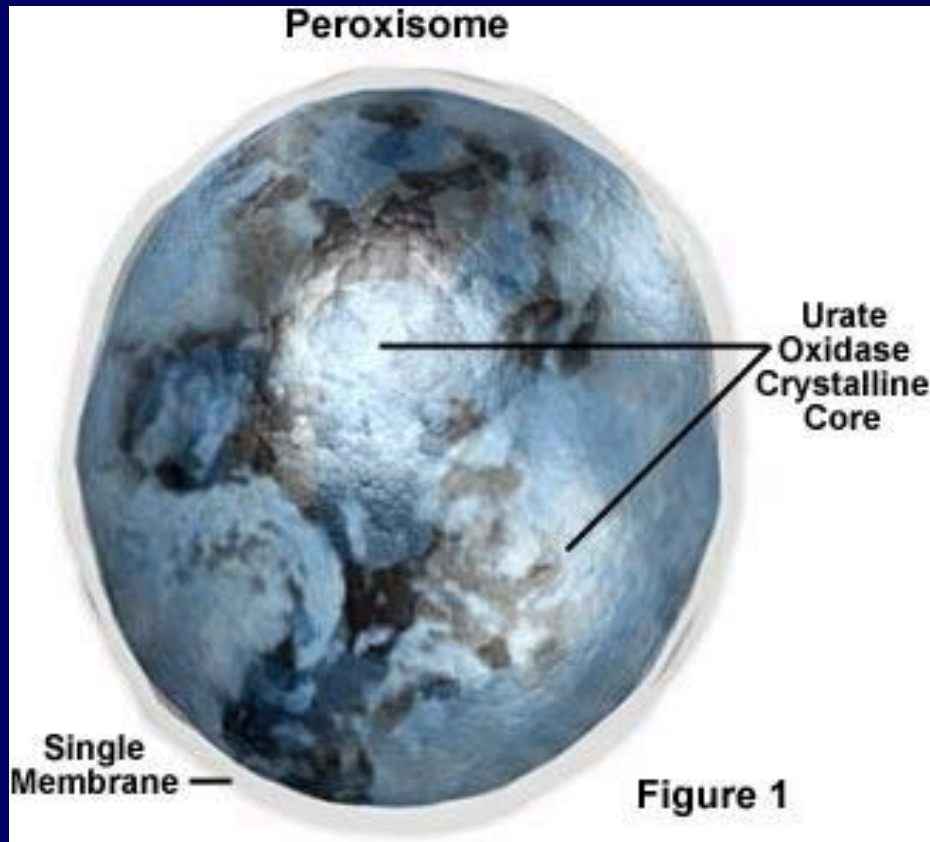
Lizosom wtórny- fagolizosom

Ciałko resztkowe

PEROKSYSOMY

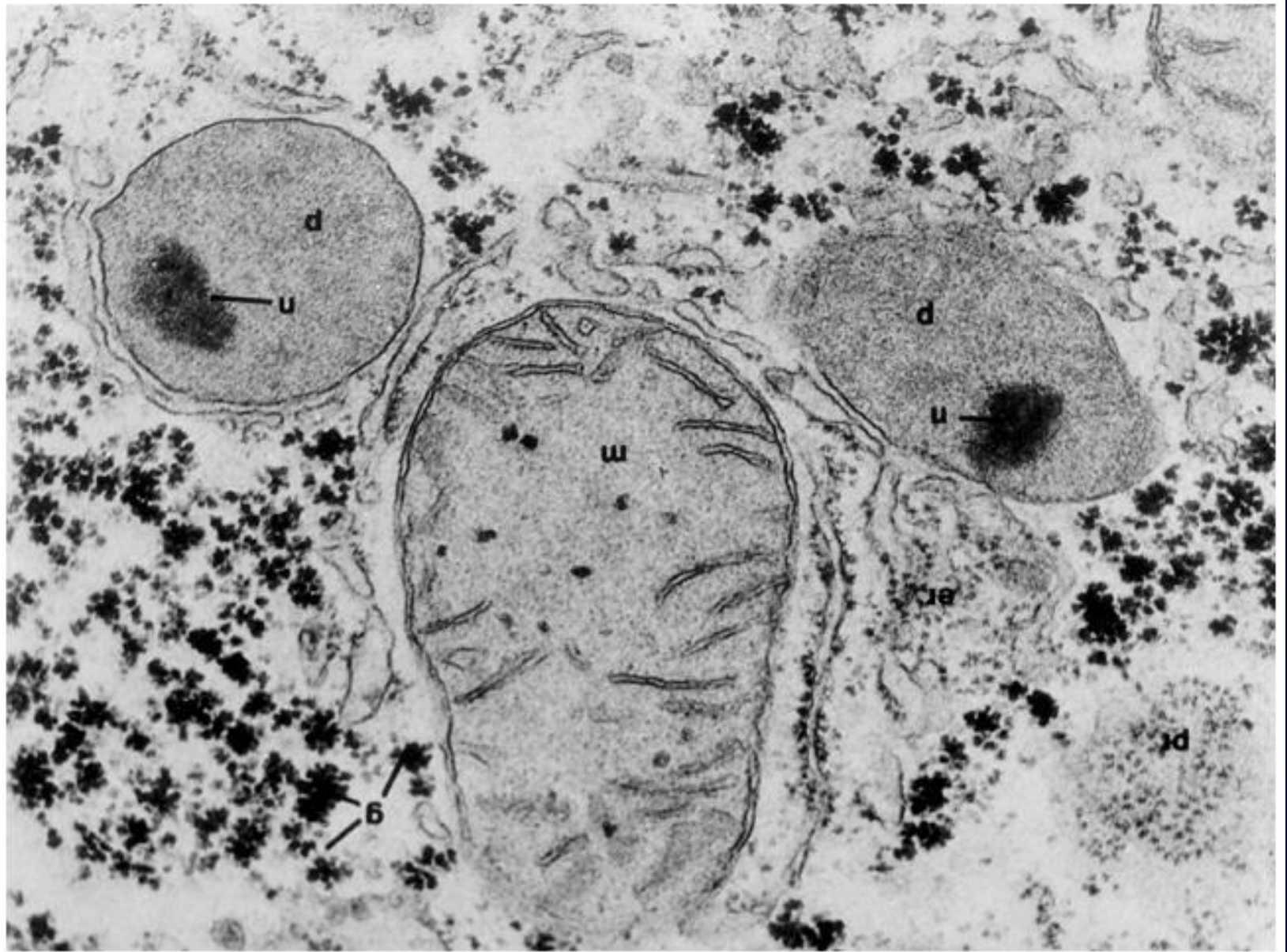
Średnica 0,15- 0,5 μm , około 400

Powstają z gładkiej siateczki śródplazmatycznej
enzymy w szorstkiej siateczce śródplazmatycznej



Zawierają: katalazę, oksydazę D-aminokwasów,
oksydazę moczanową

Funkcja: detoksykacja metabolitów
i ksenobiotyków (utlenianie)



MIKROTUBULE

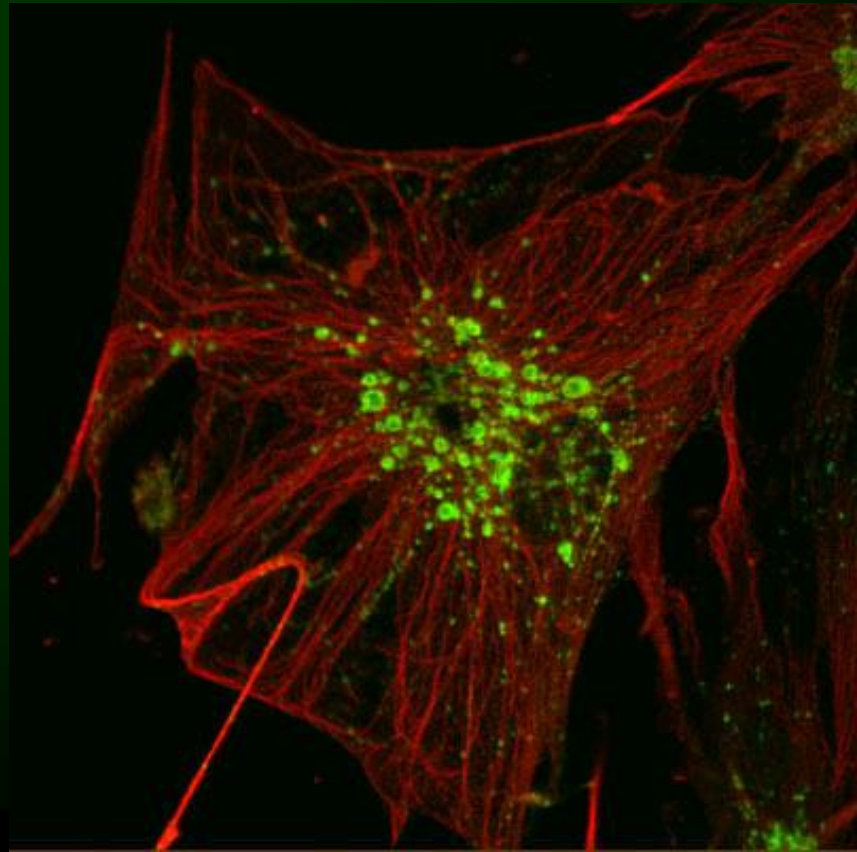
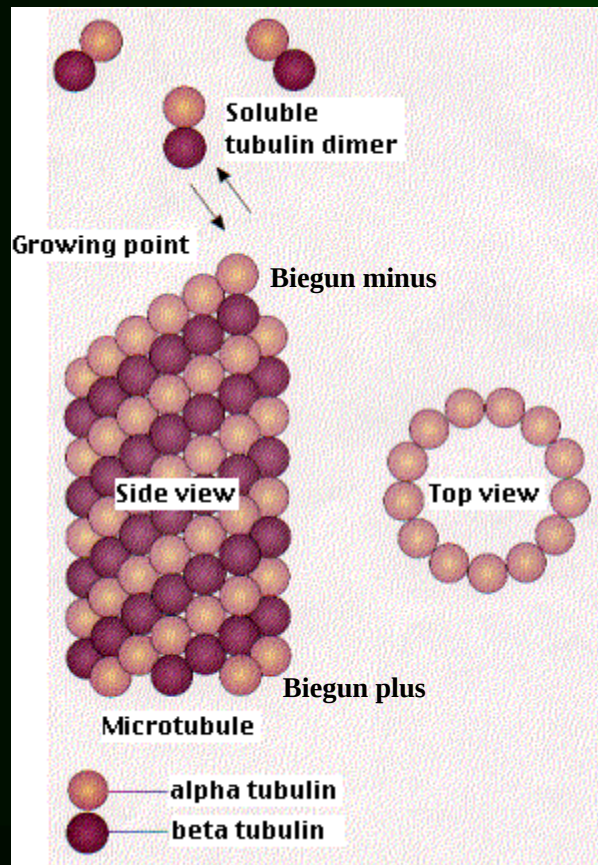
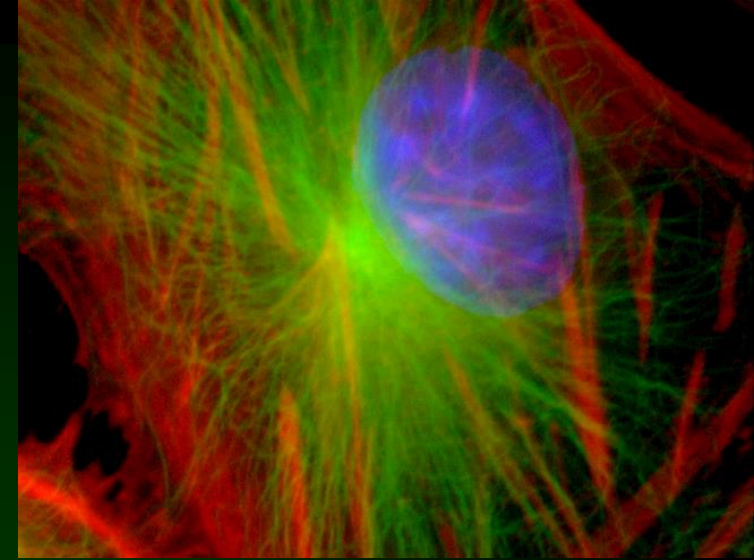
średnica 25 nm

tubulina α , tubulina β , tubulina γ (inicjacja polimeryzacji)

13 protofilamentów

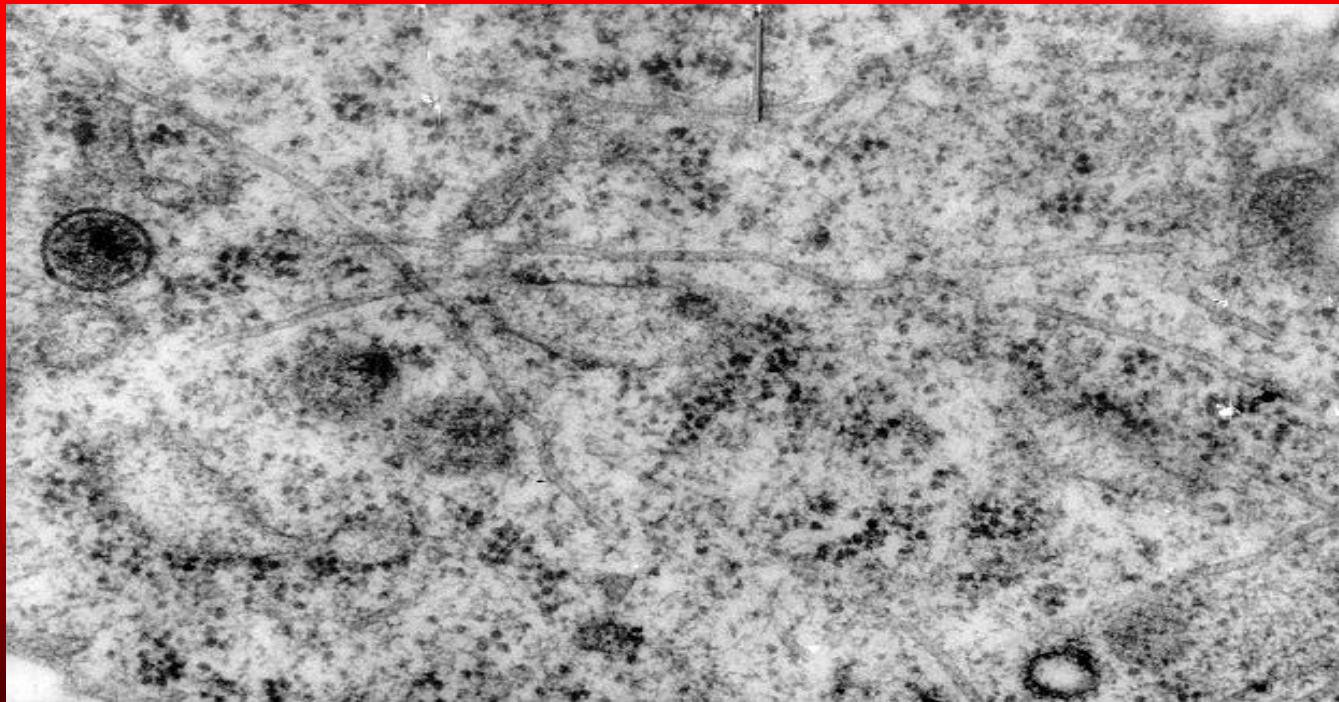
Biegun minus - wolna polimeryzacja

biegun plus - szybka polimeryzacja, biegun wolny



Struktury zbudowane z mikrotubuli:

- centriole**
- ciała podstawowe**
- wrzeciono kariokinetyczne**
 - mikrotubule kinetochorowe**
 - mikrotubule astralne**
 - mikrotubule biegunowe**



GLIKOSOMY

organelum komórkowe nieobłonione

Średnica 20-30nm

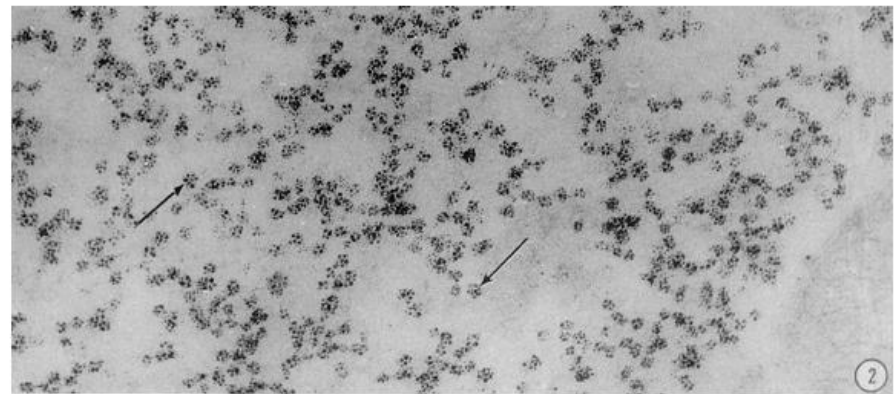
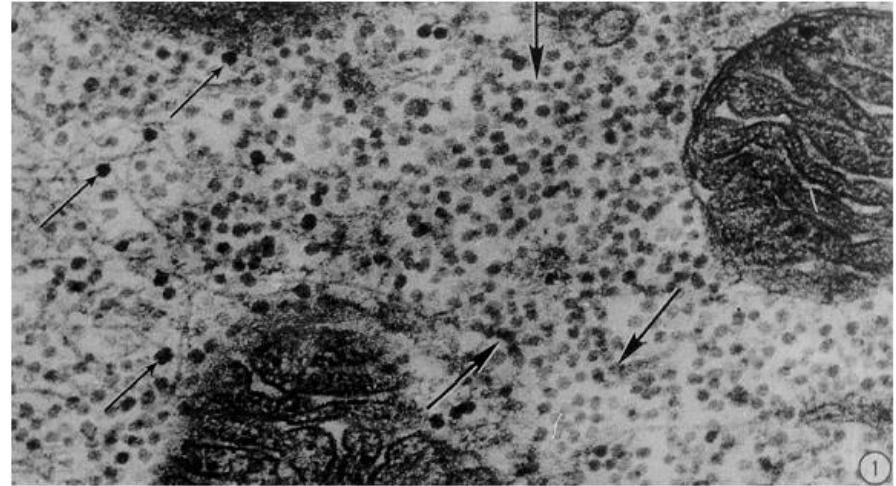
Skład:

glikogen+ enzymy:

- syntetaza glikogenu
- enzym rozgałęziający
- fosforylaza glikogenu
- enzym usuwający rozgałęzienia
- enzymy regulatorowe

2 formy:

- lioglikosomy- łatwo usuwalne
(amylaza)
- desmoglikosomy- związane z innymi strukturami komórkowymi
(AG, SER, RER, Mitochondria)- trudne do usunięcia



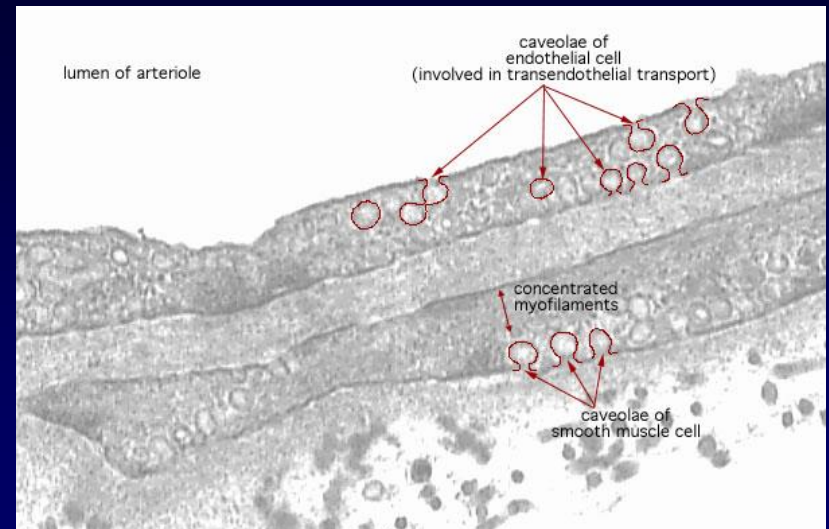
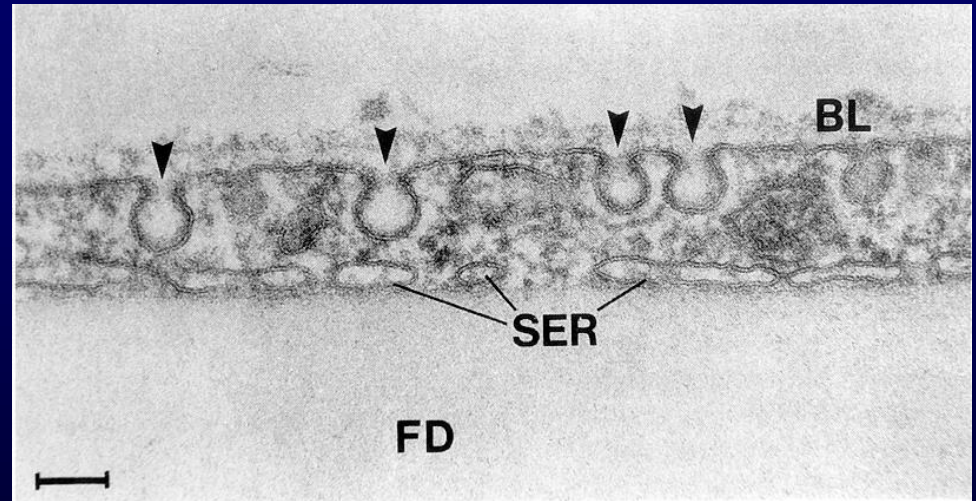
KAWEOLE

Zagłębienia błony komarkowej
średnica 50 - 100 nm

osłonka białkowa- KAWEOLINA

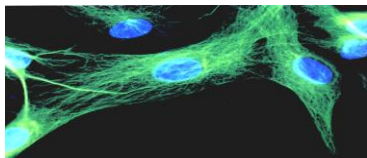
funkcja:

- udział w przekazywaniu sygnału do komórki
- transcytoza związków wielkocząsteczkowych
- zagęszczanie związków drobnocząsteczkowych (potocytoza)



SEMINARIUM - Mikroskop elektronowy.

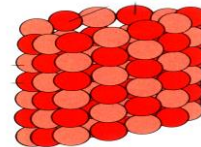
ĆWICZENIE - Przedziały komórkowe. Ultrastruktura organelli cytoplazmatycznych.



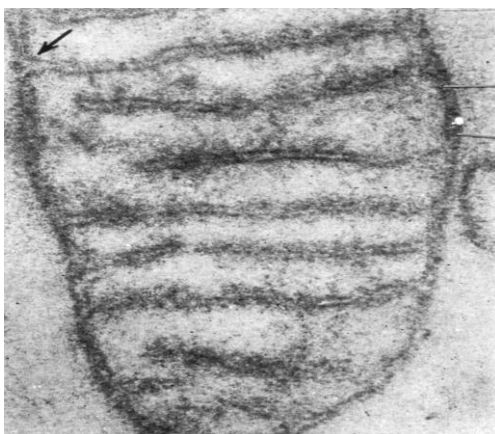
Mikrotubule w astrocytach

1. Demonstracja mikroskopu elektronowego, transmisyjnego i skeningowego.
2. Mitochondria (EM 42 i 51).
3. Aparat Golgiego i mikrotubule (tekst i EM 12)
4. Lizosomy (EM 54).
3. Mikrotubule (EM 33).
6. Peroksysomy (EM 8).

7. Trąpy lipidowe i kaweole (tekst i EM 143).
8. Model mikrotubuli utworzonej przez 13 protofilamentów tubulinowych (schemat 1).
9. Tworzenie protofilamentów tubulinowych (schemat 5).
10. Model heterodimeru tubuliny (schemat 10).
11. Glikosomy (EM i tekst 34).
12. Spis aminokwasów (tekst 27).



Budowa mikrotubuli



EM - 42

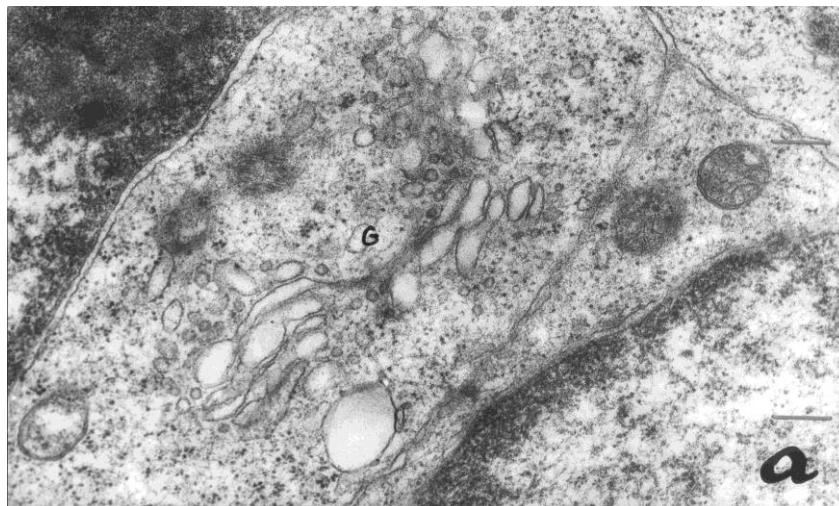
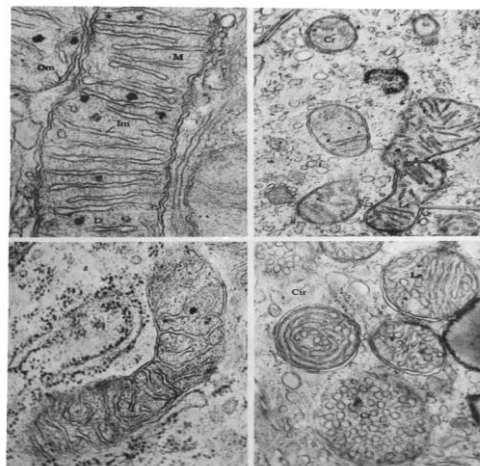
MITOCHONDRIA

Strzałka wskazuje błonę wewnętrzną w miejscu, gdzie tworzy ona grzebienie mitochondrialne.

EM - 51

Różne formy mitochondriów pochodzących z różnych komórek

- A – komórka kanalka nerkowego
- Om - błona mitochondrialna zewnętrzna,
- Im - błona mitochondrialna wewnętrzna,
- M - macierz,
- D - ciała gęste
- B – komórka nabłonkowa pęcherzyka żółciowego
- Le - mitochondrium z grzebieniami ułożonymi poprzecznie (tzw. grzebienie lamelarne)
- Cr - mitochondrium z grzebieniami tubularnymi (ułożonymi podłużnie)
- C – mitochondrium z grzebieniami lamelarnymi, komórka wątrobowa
- D – komórka paraluteinowa: Le i Cr - jak na zdjęciu B,
- Cir - mitochondrium z grzebieniami ułożonymi okrężnie



EM 12a

Budowa i funkcja aparatu Golgiego, a także położenie budujących go diktiosomów zależą od obecności w komórce prawidłowych mikrotubuli. Zdjęcie przedstawia limfoblasty ostrej białaczki, które nie były traktowane winkrystyną. Zlokalizowany w pobliżu jądra komórkowego aparat Golgiego (G) zbudowany jest z diktiosomu utworzonego przez kilka spłaszczonych, wąskich lub nieznacznie poszerzonych zbiorników, którym towarzyszą pęcherzyki. W komórkach zawierających więcej niż jeden diktiosom, struktury te położone są zazwyczaj w bliskim sąsiedztwie. Powiększenie 35 000 x.



EM 12 b

Limfoblast białaczkowy inkubowany *in vitro* z winkrystyną.

Widoczne jądro komórkowe z głębokim zagłębieniem oraz dwa diktiosomy (d) położone w znacznej odległości od siebie. Winkrystyna spowodowała nie tylko rozproszenie diktiosomów aparatu Golgiego ale również zmiany w ich budowie. Objawiają się one zmniejszeniem liczby zbiorników, ich skróceniem i rozcięciem oraz przekształcaniem niektórych z nich w duże wakuole.

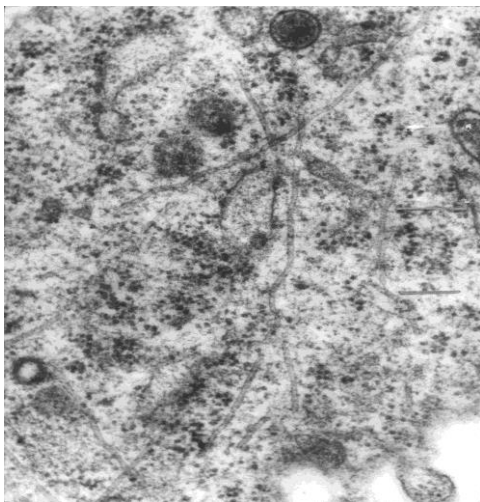
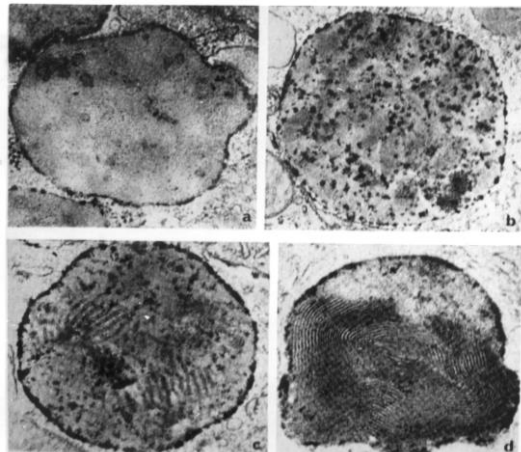
Zniszczenie mikrotubuli np. przez zahamowanie polimeryzacji tubuliny przy użyciu niektórych cytostatyków takich jak kolchicyna, winblastyna czy winkrystyna prowadzi do zmian w budowie i czynności aparatu Golgiego. Niektóre z cytostatyków są używane w leczeniu chorób nowotworowych np. białaczek. Powiększenie 11 000 x.

EM - 54

LIZOSOMY

- a - lizosom pierwotny,
- b - lizosom wtórny - fagolizosom,
- c - lizosom wtórny - autofagolizosom,
- d - ciało resztkowe.

Ciemne, ziarniste strąty na zdjęciu a – d są miejscami aktywności fosfatazy kwaśnej.



EM - 33

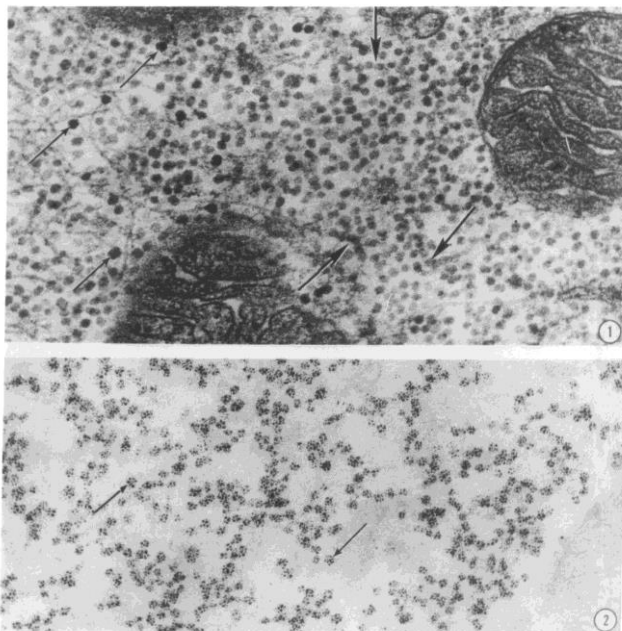
Mikrotubule w komórce ziarnistej jajnika

EM i tekst nr 34.

GLIKOSOMY

Glikosomy są to organele komórkowe, nieposiadające własnej błony. Składają się z glikogenu oraz grupy enzymów związanych z jego metabolizmem. Należy do nich syntetaza glikogenu, enzym rozgałęziający, fosforylaza, enzym usuwający rozgałęzienia oraz enzymy regulatorowe.

W glikosomie mającym średnicę 20 ~ 30 nm glikogen występuje w postaci ziarenek o średnicy 2 ~ 3 nm. Przestrzeń pomiędzy tymi ziarenkami wypełniają białka. Glikosomy występują w dwóch formach. Lioglikosomy łatwo jest usunąć z komórki, na przykład za pomocą gorącej wody lub amylazy. Desmoglikosomy za pośrednictwem białek wiążą się z innymi strukturami komórki (mitochondriami, aparatem Golgiego, szorstką i gładką siateczką śródplazmatyczną, miofibrilami, itd.) i są trudne do usunięcia. Nie ulegają strawieniu przez amylazę, która zapewne nie ma dostępu do glikogenu na skutek opłaszczenia go przez białka. Lioglikosomy dominują w komórkach wątroby a desmosomy licznie występują w komórkach mięśniowych.



EM 34.

Ryc. 1. Elektronogram włókna Purkiniego z serca psa kontrastowany za pomocą soli uranu i ołowiu. W cytosolu widać glikosomy w postaci pojedynczych ziarenek (cienkie strzałki) lub zgrupowane szeregowo (grube strzałki). Zabarwione są białka glikosomów.

Ryc. 2. Ten sam materiał, co na rycinie 1, ale barwiony metodą cytochemiczną wykrywającą glikogen (kwas nadjodowy - tiosemikarbazyd - białczan srebra). Widać ziarenka glikogenu o średnicy 2~3 nm.

Zdjęcia pochodzą z pracy: K. Kielan Rybicka *Glycosomes - the organelles of glycogen metabolism. Tissue & Cell*; 1996, 28: 253-265.

Opracował prof. Stanisław Moskalewski

TEKST I EM nr 8 PEROKSYSOMY

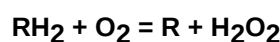


EM - 8

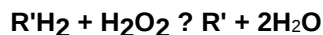
Zdjęcie nr 8 przedstawia skrawek komórki wątrobowej (hepatocytu) szczura.

m - mitochondrium,
p - peroksysom,
n - krystaloid zawierający enzym oksydazę moczanową,
er - siateczka śródplazmatyczna,
pr - poliribosomy,
g - ziarenka glikogenu.

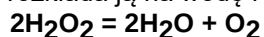
U ssaków duże peroksysomy (ok. 0,5 :m) występują głównie w wątrobie. W innych tkankach są peroksysomy o średnicy 0,15 - 0,25 :m. Peroksysomy zawierają enzymy oksydacyjne: oksydazę d-aminokwasów, oksydazę moczanową i katalazę. Oksydaza moczanowa często występuje w formie krystaloidu. Katalaza stanowi ok. 40% enzymów peroksysomów. Enzymy zawarte w peroksysomach używają molekularny tlen do usuwania jonów wodoru ze swoistych substratów organicznych (oznaczonych R), czyli do ich utleniania:



Katalaza za pomocą wody utlenionej utworzonej w peroksysomach przez inne enzymy utlenia substraty toksyczne dla komórek, np. fenol, formaldehyd lub kwas mrówkowy:

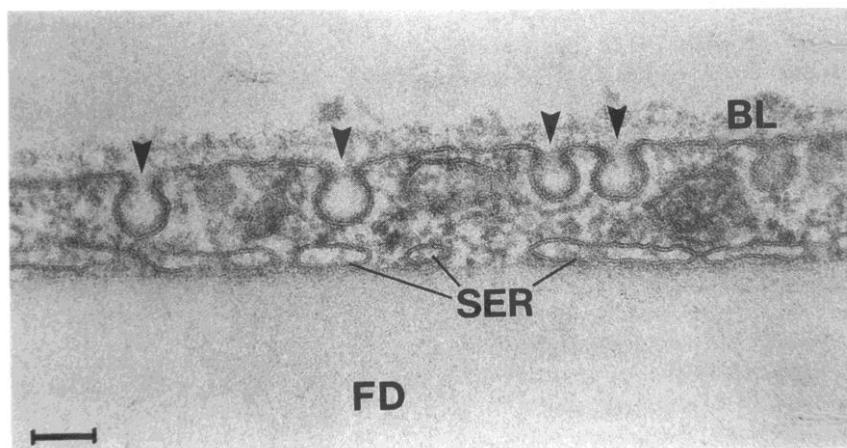


Ten typ reakcji jest szczególnie istotny w komórkach wątrobowych i komórkach nerkowych, które unieczynnijają toksyczne substancje przedostające się do krwi z zewnątrz organizmu. Niemal połowa wypijanego etanolu ulega w ten sposób utlenieniu do aldehydu octowego. Ponadto, gdy w komórce zgromadzi się zbyt wielka ilość wody utlenionej, katalaza rozkłada ją na wodę i tlen molekularny:



Nowe peroksysomy zawsze powstają ze starych, przez ich rozszczepienie. Lipidy i białka potrzebne do uzupełniania błony peroksysomów oraz enzymy zawarte w ich wnętrzu pochodzą z cytosolu. Na powierzchni błony peroksysomu zwróconej do cytosolu występuje białko (receptor) rozpoznające sekwencję aminokwasów (tzw. sekwencję sygnałową) występującą w obrębie importowanych enzymów i będącą rodzajem adresu informującego, że dany enzym jest przeznaczony dla peroksysomów. Sekwencja ta występuje w pobliżu końca karboksylowego białek peroksysomalnych.

opracował prof. S. Moskalewski



KAWEOLE (Caveolae) EM nr 143
Fragment komórki tłuszczowej szczura

BL – blaszka podstawowa,
SER – gładka siateczka śródplazmatyczna,
FD – kropla tłuszczu,
— - podziałka skali rysunku – 100 nm.

Kaweole (jamki) są to zagłębienia w błonie komórkowej o średnicy 50-100 nm i kształcie przypominającym grecką literę omega. Kaweole mają osłonkę zawierającą białko, kaweolinę. Osłonkę tą można wykryć za pomocą metod immunocytochemicznych, na przykład używając znakowanych ziarenek złota przeciwciał, reagujących z kaweoliną. Kaweole biorą udział w przekazywaniu sygnałów do komórki, w transcytozie związków i elkocząsteczkowych np.: w komórkach śródbłonna i w zagęszczaniu związków drobnocząsteczkowych w procesie zwanym potocytozą (por. skrypt „Histologia z Elementami Biologii Molekularnej”).

TEKST 143.

TRATWY LIPIDOWE (LIPID RAFTS)

Tratwy lipidowe są to mikrodomeny błony komórkowej. Cechuje je wysoka zawartość cholesterolu i sfingolipidów. Dzięki temu te regiony są bardziej stabilne (mniej płynne) i bardziej uporządkowane niż pozostała, stanowiąca większość, błona komórkowa. Tratwy lipidowe nie ulegają rozpuszczeniu w niskiej temperaturze przez niejonowe detergenty i dzięki temu można je wyodrębnić. Tratwy lipidowe stanowią miejsca, w których zachodzą ważne funkcje komórkowe – takie jak transport pęcherzykowy lub transdukcja sygnałów. Poza klasycznymi tratwami lipidowymi niezawierającymi strukturalnych białek istnieją także tratwy wzbogacone o jedno, swoiste dla danego typu tratwy białko, w zasadniczy sposób zmieniające morfologię i czynność tratwy. Jednym z takich białek jest kaweolina-1. Jeśli włączyć ją do tratwy to wówczas przekształca się ona w kaweolę. Ponadto kaweole mogą zawierać białka zakotwiczone za pomocą glikozylfosfatydilinozytolu (GPI), będącego jednym z fosfolipidów błony komórkowej.

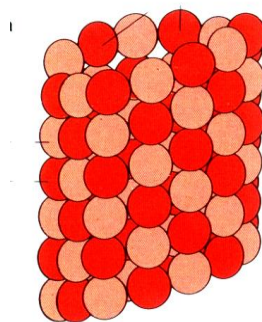
Tratwy lipidowe mogą także występować w błonach wewnątrzkomórkowych, np. w obrębie aparatu Golgiego. Zapewne zatem, aparat Golgiego jest miejscem biogenezy tratw, które następnie przechodzą w obręb błony komórkowej.

Kaweole, stanowiące butelkowate wpuklenia błony komórkowej pełnią m. in. rolę w transporcie cholesterolu, transcytozie, potocytozie, oraz w transdukcji sygnałów zachodzących za pośrednictwem receptorów dla czynników wzrostu i receptorów dla przeciwciał. Kaweole mogą jednak być także wykorzystywane przez niektóre drobnoustroje jako miejsca umożliwiające im bezpieczne wtargnięcie do komórki. Kaweole nie łączą się z lizosomami i dzięki temu zawarte w nich drobnoustroje unikają zniszczenia i mogą rozwijać się w komórce.

prof. Stanisław Moskalewski

Schemat nr 1.

MODEL MIKROTUBULI UTWORZONEJ PRZES 13 PROTOFILAMENTÓW



α tubulina - biała
 β tubulina – czarna

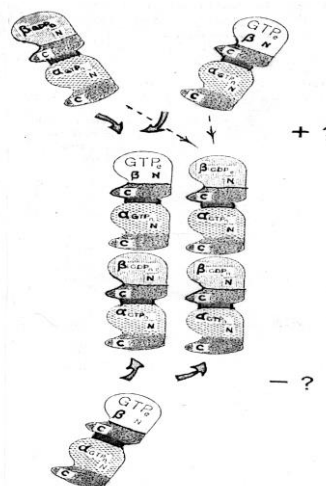
Protofilamenty w mikrotubuli są nieco przesunięte wobec siebie, co powoduje, że w miejscu zamknięcia mikrotubuli cząsteczka α styka się z cząsteczką β . Jest to tak zwany szew mikrotubuli.

opracował prof. Stanisław Moskalewski

Schemat nr 5

TWORZENIE PROTOFILAMENTÓW TUBULINOWYCH

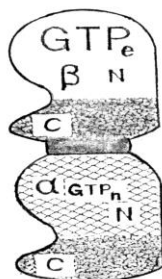
Heterodimery tubuliny łączą się ze sobą w regularny sposób „głowa-ogon”. Łączenie przebiega nieco odmiennie na obu końcach protofilamentu. Na końcu oznaczonym minus cząsteczka β tubuliny heterodimeru wolnego łączy się z cząsteczką α heterodimeru związanego. Hydrolizie uległo GTP cząsteczki dołączającej się.
 Na końcu oznaczonym plus łączy się cząsteczka α wolnego heterodimeru z cząsteczką β heterodimeru związanego. Hydrolizie do GDP podlega GTP heterodimeru związanego.



opracował prof. Stanisław Moskalewski

Schemat nr 10.

MODEL HETERODIMERU TUBULINY



Mikrotubule zbudowane są z tubuliny. Występują cząsteczki α i β tubuliny, które tworzą dimery (dimer złożony z dwóch różnych podjednostek nazywany jest heterodimerem) polimeryzujące następnie z utworzeniem protofilamentów i mikrotubuli.

- C – koniec karboksylowy polipeptydu,
- N – koniec aminowy peptydu,
- GTPn – GTP – niewymienne i niepodlegające hydrolizie,
- GTPe – GTP wymienne i podlegające hydrolizie,
- Czarne pole – region trwałego połączenia cząsteczek α i β tubuliny.

W roztworze zawierającym heterodimery i GTP lub GDP, cząsteczka GTP związana z tubulina α nie ulega wymianie, natomiast cząsteczka związana z tubuliną β może ulec wymianie na inną cząsteczkę GTP lub na cząsteczkę GDP.

Opracował prof. Stanisław Moskalewski