**Методи дослідження клітин. Типи мікроскопії**

*Пригадайте будову світлового мікроскопа. У чому полягають правила роботи з ним?*

**Яка наука вивчає клітини?** Клітини, їхню будову та процеси життєдіяльності досліджує наука цитологія. Вона бере початок з відкриття, яке 1665 р. здійснив англійський дослідник Роберт Гук. За допомогою сконструйованого власноруч мікроскопа він розглянув оболонки клітин корка й запропонував термін клітина.

1702 р. голландський дослідник Антоні ван Левенгук, також за допомогою мікроскопів власної конструкції, відкрив бактерії, одноклітинні твариноподібні організми (інфузорії та ін.), описав деякі клітини багатоклітинних тварин (еритроцити та сперматозоїди).

**Які методи застосовують у сучасній цитології?** Сучасні дослідження в галузі цитології спрямовані насамперед на вивчення найдрібніших органел і структур, їхніх функцій у клітині. Адже удосконалені збільшувальні прилади й новітні технології відкривають нові перспективи перед дослідниками. Нині щодалі більше розвиваються дослідження в галузі клітинної інженерії.

Першим приладом, який дав змогу вивчати клітини, був світловий (оптичний) мікроскоп. Розгляньте і пригадайте будову світлового мікроскопа. Методи досліджень, які здійснюють за допомогою цього приладу, називають світловою мікроскопією.

Метод світлової мікроскопії ґрунтується на тому, що через прозорий чи напівпрозорий об’єкт дослідження проходять промені світла, які згодом потрапляють до системи лінз об’єктива та окуляра. Ці лінзи збільшують об’єкт дослідження, при цьому кратність збільшення можна визначити як добуток збільшень об’єктива й окуляра. Наприклад, якщо лінзи окуляра забезпечують збільшення в 10 разів, а об’єктива - в 40, то загальне збільшення об’єкта досліджень становитиме 400 разів. Сучасні світлові мікроскопи можуть забезпечувати збільшення до 2-3 тис. разів.

Метод електронної мікроскопії. Клітинні структури найдрібніших розмірів (мембрани тощо) були відкриті та вивчені за допомогою електронного мікроскопа, винайденого у першій половині XX ст. Електронний мікроскоп здатний збільшувати зображення об’єктів дослідження до 500 тис. і більше разів. Конструкція електронного мікроскопа дещо нагадує конструкцію світлового, але замість променів світла в ньому застосовують потік електронів, які рухаються в магнітному полі. Роль лінз при цьому виконують електромагніти, здатні змінювати напрямок руху електронів, збирати їх у пучок (фокусувати) й спрямовувати його на об’єкт дослідження.

***Цікаво знати***

*Німецький ботанік Маттіас Якоб Шлейден описував роль ядра в рослинній клітині. Німецький цитолог і фізіолог Теодор Шванн, ознайомившись із працями М. Шлейдена та порівнюючи їх з результатами власних досліджень тваринних клітин, сформулював основні положення клітинної теорії: усі живі організми складаються з клітин; клітини тварин і рослин подібні за будовою та хімічним складом.*

Частина електронів, проходячи через об’єкт дослідження, може відхилятись, розсіюватись, поглинатись, взаємодіяти з об’єктом або проходити крізь нього без змін. Пройшовши через досліджуваний об’єкт, електрони потрапляють на люмінесцентний екран, спричиняючи його нерівномірне свічення, або на особливий фотоматеріал, за допомогою якого зображення можна фотографувати.

За допомогою методу сканувальної електронної мікроскопії можна вивчати поверхні клітин, окремих органел тощо. При цьому потік електронів не проходить крізь об’єкт дослідження, а відбивається від його поверхні.

У живих клітинах вивчають процеси їх життєдіяльності (рух цитоплазми, поділ тощо). Тонкощі клітинної будови вивчають на певним чином оброблених клітинах.

Для цього клітини необхідно попередньо зафіксувати певними речовинами (спирт, формалін тощо), швидким заморожуванням або висушуванням. Окремі структури фіксованих клітин зафарбовують особливими барвниками та виготовляють мікроскопічні препарати, які можуть зберігатися тривалий час. Щоб за допомогою електронного сканувального мікроскопа сфотографувати поверхні клітини або окремих органел, їх покривають металічним пилом, наприклад золотим.

Метод культури клітин дає змогу вченим постійно мати у своєму розпорядженні клітини різних типів. При цьому живі клітини утримують і розмножують на штучних поживних середовищах (наприклад, виготовлених з агару - речовини, яку добувають із червоних водоростей). Змінюючи компоненти поживного середовища, можна спостерігати, як різні сполуки впливатимуть на ріст і розмноження клітин, інші їхні властивості. Культури клітин використовують у медицині, ветеринарії та службі захисту рослин для перевірки впливу різноманітних хімічних препаратів, вірусів, одноклітинних організмів, отримання біологічно активних речовин (лікарських препаратів, біостимуляторів тощо).

Метод мічених атомів дає змогу з’ясувати місце та перебіг певних фізико-хімічних явищ у клітині. Для цього до клітини вводять речовину, в якій один з атомів певного хімічного елемента (Карбону, Фосфору тощо) заміщений його радіоактивним ізотопом. За допомогою особливих приладів, здатних виявляти ізотопи, можливо прослідкувати за міграцією цих речовин у клітині, їхніми перетвореннями, виявити місце та характер тих чи інших біохімічних процесів. Наприклад, за допомогою цього методу було доведено, що під час особливого поділу клітини хромосоми однієї пари можуть обмінюватися своїми ділянками.

Метод центрифугування використовують для вивчення різних структур клітин. При цьому клітини попередньо подрібнюють і в особливих пробірках поміщають у центрифугу - прилад, здатний розвивати швидкі оберти. Оскільки різні клітинні структури мають неоднакову щільність, за дуже швидких обертів центрифуги вони осідатимуть шарами: щільніші структури - швидше і тому опиняться знизу, а менш щільні - зверху. Ці шари розділяють і вивчають окремо.

**Застосування цитологічних методів у діагностиці захворювань.** Цитологічні методи широко застосовують для діагностики різноманітних захворювань людини, свійських тварин та культурних рослин, визначення фізіологічного стану організмів. Так, в онкології (наука, яка вивчає причини виникнення, розробляє засоби діагностики та лікування ракових захворювань) ці методи використовують для виявлення злоякісних і доброякісних пухлин, діагностики передракових станів і первісних стадій цих захворювань. Для цього виявляють аномальні клітини та вивчають їхню здатність до швидкого розмноження. Розроблено цитологічні методики розпізнавання захворювань крові, травної системи, нирок, легень, шкіри тощо. Наприклад, значне збільшення кількості еритроцитів свідчить про небезпечну хворобу - еритроцитоз, а лейкоцитів - про білокрів’я (лейкоз). Уперше припущення про те, що хвороби людини пов’язані з патологічними змінами в будові та функціонуванні клітин, висунув німецький учений Рудольф Вірхов ще у XIX ст.

***Коротко про головне***

*Дня дослідження клітин використовують різноманітні методи: світлову та електронну мікроскопію, метод мічених атомів, центрифугування тощо.*

*Клітини можна досліджувати як живими, так і в зафіксованому стані. Дня того щоб постійно мати матеріал дня вивчення клітин певних типів, застосовують метод культури клітин.*

*Цитологічні методи широко застосовують дня діагностики різноманітних захворювань людини, свійських тварин та культурних рослин, визначення фізіологічного стану організмів.*