Методы цитологии

Кодификатор ЕГЭ: 2.1 · Линии ЕГЭ: 1, 2, 22 · kursteam.ru/teoriya/tsitologiya/metody-tsitologii

КОРОТКО

- Световой микроскоп показывает живые клетки и процессы в них, но только крупные структуры; электронный - мельчайшие органоиды и вирусы, но объект мёртвый, а изображение чёрно-белое.
- Дифференциальное центрифугирование разделяет органоиды по массе и плотности: первыми оседают ядра, затем митохондрии и пластиды, потом лизосомы, последними - рибосомы.
- Хроматография разделяет смесь веществ по скорости движения через адсорбент (так делят пигменты листа), электрофорез - по движению молекул в электрическом поле.
- Метод меченых атомов следит за путём вещества по радиоактивной метке: так доказали, что кислород при фотосинтезе образуется из воды.
- Культивирование клеток - выращивание клеток и тканей на питательных средах вне организма.

Зачем цитологии свои методы

Клетку не разглядеть невооружённым глазом, а молекулы - даже в микроскоп. Поэтому у цитологии и молекулярной биологии есть собственный набор методов: микроскопия, дифференциальное центрифугирование, хроматография, электрофорез, метод меченых атомов, культивирование клеток. На ЕГЭ про них спрашивают в линии 1 («назови метод по описанию») и в экспериментальных заданиях 2 и 22. Общенаучные методы (наблюдение, эксперимент, сравнение, моделирование) разобраны в статье «Методы биологии».

Микроскопия

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Микроскопия

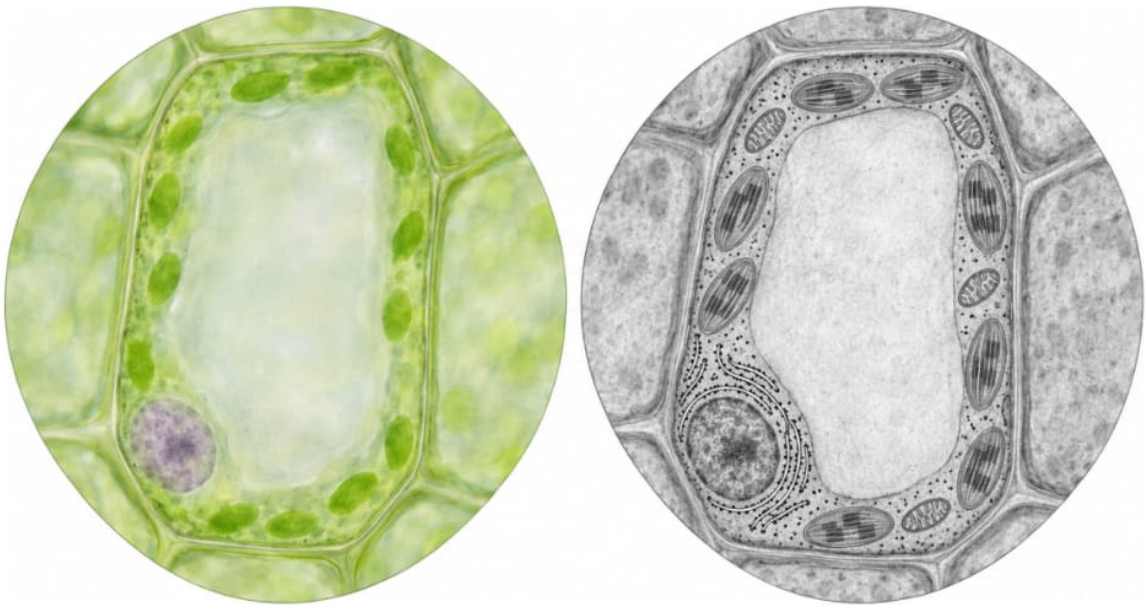
Изучение объектов, невидимых невооружённым глазом, с помощью увеличивающих приборов - световых и электронных микроскопов. Специально приготовленный для микроскопа объект называют препаратом.

Световая микроскопия: через препарат проходит пучок света. Видны **живые** клетки, изображение цветное, можно наблюдать процессы: деление клетки, движение цитоплазмы, фагоцитоз у амёбы. Но разрешение невелико: различимы только крупные структуры - клеточная стенка, ядро, вакуоли, хлоропласты, митохондрии (без деталей).

Электронная микроскопия: вместо света - пучок электронов. Разрешающая способность гораздо выше: видны рибосомы, мембраны, ЭПС, кристы митохондрий, вирусы, даже молекулы ДНК. Но объект при подготовке погибает, поэтому наблюдать процессы в живой клетке нельзя, а изображение чёрно-белое.

	Световой микроскоп	Электронный микроскоп
Что проходит через объект	свет	пучок электронов

Объект	живой или мёртвый	только мёртвый
Изображение	цветное	чёрно-белое
Что видно	клеточная стенка, ядро, вакуоли, хлоропласты, митохондрии	органоиды в деталях, мембраны, рибосомы, вирусы, ДНК
Процессы (деление, движение цитоплазмы)	можно наблюдать	нельзя



Световой микроскоп показывает жизнь клетки, электронный - её мельчайшие детали.

Дифференциальное центрифугирование

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Дифференциальное центрифугирование

Разделение разрушенных клеток на фракции органоидов: при раскручивании в центрифуге структуры оседают в порядке убывания массы и плотности.

Сначала клетки измельчают и получают смесь органоидов, затем пробирку раскручивают. Чем тяжелее и плотнее структура, тем раньше она оседает:

1. **ядра** - самые тяжёлые, оседают первыми;
2. **митохондрии и хлоропласты**;
3. **лизосомы**;
4. **рибосомы** - самые лёгкие, оседают последними (на самых высоких оборотах).



1 - Ядра
2 - Митохондрии и хлоропласты
3 - Лизосомы
4 - Рибосомы

Чем легче органоид, тем большая скорость нужна, чтобы он осел.

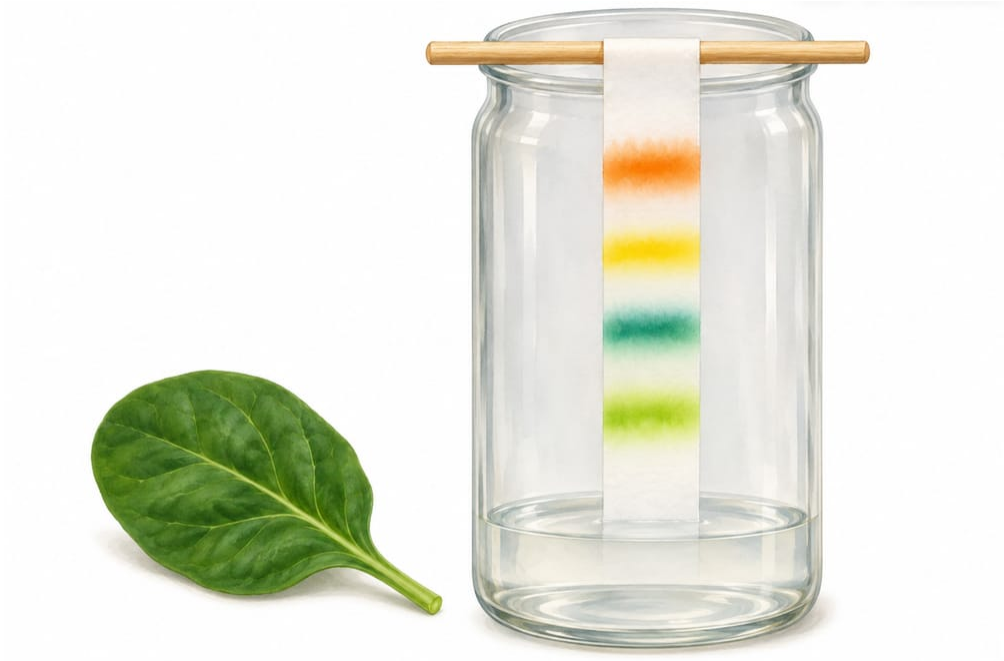
Этим же методом разделяют кровь на плазму и форменные элементы. Центрифугирование - цитологический метод: он даёт чистые фракции органоидов, чтобы изучать их по отдельности.

Хроматография

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Хроматография

Биохимический метод разделения смеси веществ: раствор движется через адсорбент (например, фильтровальную бумагу), и молекулы разных веществ перемещаются с разной скоростью.



Пигменты листа на хроматограмме: выше всех уходит оранжевый каротин, ниже - жёлтый ксантофилл и зелёные хлорофиллы a и b.

Скорость зависит от свойств молекул - от того, насколько хорошо вещество растворяется в движущемся растворителе и насколько прочно удерживается адсорбентом, - и смесь растягивается в цепочку отдельных пятен. Классический пример - разделение пигментов листа: вытяжку наносят на бумагу, и пигменты расходятся по полосе - так доказывают, что в листе не один пигмент, а несколько (хлорофиллы a и b, жёлтые каротиноиды).

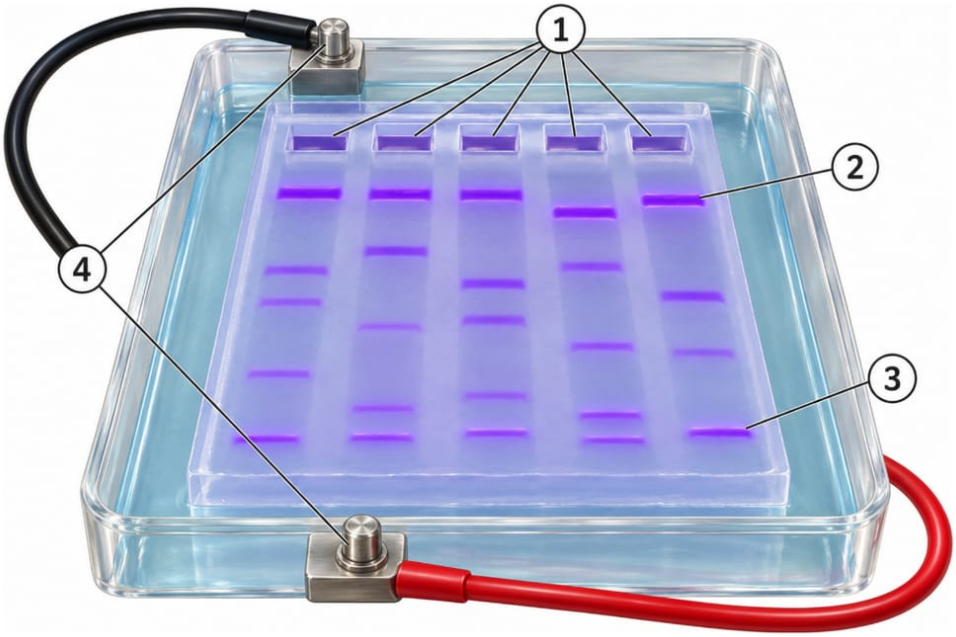
Электрофорез

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Электрофорез

Биохимический метод разделения белков и фрагментов ДНК в электрическом поле: заряженные молекулы движутся в геле к электроду, короткие и лёгкие - быстро, длинные и тяжёлые - медленно.

За одинаковое время молекулы разной длины уходят на разное расстояние и выстраиваются в геле полосами. Электрофорезом сравнивают фрагменты ДНК (например, при установлении родства) и разделяют белки плазмы крови.



1 - Лунки с образцами
2 - Полосы длинных (крупных) фрагментов - у старта
3 - Полосы коротких (мелких) фрагментов - дальше всего
4 - Электроды: ДНК заряжена отрицательно и движется к положительному электроду (красный провод)

Электрофорез: короткие фрагменты ДНК уходят по гелю дальше длинных.

Метод меченых атомов

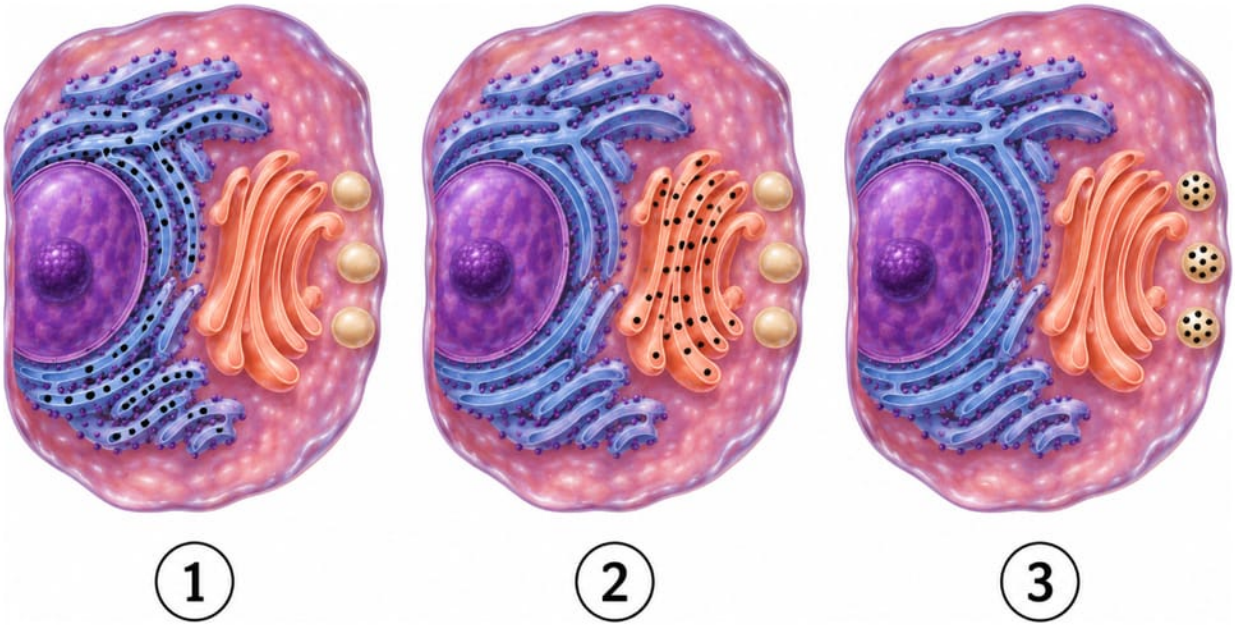
ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Метод меченых атомов (авторадиография)

Слежение за путём вещества в клетке или организме: в молекулу вводят метку - радиоактивный или тяжёлый изотоп, а затем прибором фиксируют, где метка оказалась.

Метод позволяет проследить превращения и транспорт веществ: куда идёт вещество, где накапливается, во что превращается. Знаменитые открытия, сделанные этим методом:

- кислород при фотосинтезе образуется **из воды**, а не из CO_2 (метили кислород воды - метка выходила с O_2);
- крахмал при фотосинтезе образуется из **углекислого газа** (метили углерод CO_2);
- репликация ДНК **полуконсервативна** (опыт с тяжёлым изотопом азота).



1 - Через несколько минут метка - в шероховатой ЭПС: здесь синтезируется белок
2 - Позже метка - в аппарате Гольджи: белок созревает и упаковывается
3 - Ещё позже - в секреторных пузырьках у мембраны: белок выводится из клетки

Меченые аминокислоты показывают путь белка в клетке.

Культивирование клеток

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Культивирование клеток

Выращивание клеток и тканей вне организма - на стерильных питательных средах, при постоянной температуре. Так получают культуры клеток для исследований, проверки лекарств, биотехнологии.

На культуре клеток основано **микроклональное размножение** растений: из нескольких клеток в пробирке выращивают целое растение - быстрый способ получить много копий ценного сорта.



1 - Кусочек листа на питательной среде
2 - Каллус - масса недифференцированных клеток
3 - Из каллуса развиваются побеги
4 - Молодое растение с корнями

Микроклональное размножение: из кусочка ткани в пробирке вырастает целое растение.

Как это спрашивают на ЕГЭ

- **Линия 1 - таблица с пропущенным термином.** Дано применение - назови метод: «разделение органоидов клетки» - центрифугирование; «изучение движения цитоплазмы в живой клетке» - световая микроскопия; «определение пути атома углерода при фотосинтезе» - метод меченых атомов; «разделение пигментов листа» - хроматография. Работает и в обратную сторону: дан метод - назови применение.
- **Линия 2 - планирование эксперимента.** Нужно назвать независимую (её задаёт исследователь) и зависимую (её измеряют) переменные, иногда - метод исследования.
- **Линия 22 - анализ эксперимента**: переменные, нулевая гипотеза, отрицательный контроль, почему остальные условия должны быть одинаковыми.

Ключевые слова: препарат, разрешающая способность, фракция, адсорбент, изотоп, метка, культура клеток, независимая и зависимая переменные, отрицательный контроль.

Ловушки

ЛОВУШКА ЕГЭ

В световой микроскоп не видно рибосом, ЭПС и мембран - они слишком малы. Видны лишь крупные структуры: стенка, ядро, вакуоли, пластиды. Зато только световой микроскоп показывает живую клетку и процессы в ней.

ЛОВУШКА ЕГЭ

В электронный микроскоп нельзя наблюдать процессы. Объект при подготовке погибает, поэтому «рассмотреть деление клетки в электронный микроскоп» нельзя - деление наблюдают в световой.

ЛОВУШКА ЕГЭ

Центрифугирование разделяет по массе и плотности, а не по размеру молекул. Первыми оседают самые тяжёлые структуры - ядра, последними рибосомы. Не путай порядок.

ЛОВУШКА ЕГЭ

Хроматография и электрофорез - разные методы. Хроматография - движение через адсорбент (бумагу), электрофорез - движение заряженных молекул в электрическом поле. Пигменты листа разделяют хроматографией, фрагменты ДНК - электрофорезом.

ЛОВУШКА ЕГЭ

Метод меченых атомов - это не окрашивание. Метка - радиоактивный изотоп внутри молекулы, её засекают прибором, а не видят глазом.

Как писать ответ

В линии 22 почти всегда спрашивают про устройство эксперимента. Выучи четыре формулировки:

- **независимая переменная** - то, что исследователь меняет сам (концентрация, температура, освещённость);
- **зависимая переменная** - то, что измеряют в ответ;
- **нулевая гипотеза** - предположение, что независимая переменная НЕ влияет на зависимую;
- **отрицательный контроль** - такой же опыт без экспериментального воздействия: он показывает, что эффект вызван именно воздействием.

КАК ПИСАТЬ ОТВЕТ

Корешки лука выдерживали в растворах колхицина разной концентрации, на микропрепаратах считали долю клеток в метафазе. Назови переменные и предложи отрицательный контроль

1. Независимая переменная - концентрация колхицина (её задаёт исследователь).
2. Зависимая переменная - доля клеток в метафазе (её измеряют под микроскопом).
3. Остальные условия одинаковы: возраст и сорт луковиц, температура, время выдерживания, способ окраски препаратов.
4. Нулевая гипотеза: доля клеток в метафазе не зависит от концентрации колхицина.
5. Отрицательный контроль - корешки, выдержанные столько же времени в воде без колхицина при тех же условиях: объект не подвергается воздействию, всё остальное сохраняется.

Конспект скачан с сайта kursteam.ru

КАК ПИСАТЬ ОТВЕТ

Почему для изучения пути углерода при фотосинтезе выбирают метод меченых атомов, а не микроскопию?

1. Атомы и молекулы нельзя увидеть ни в световой, ни по ходу процесса в электронный микроскоп.
2. Метод меченых атомов позволяет проследить путь вещества: в CO_2 вводят радиоактивный изотоп углерода.
3. По расположению метки определяют, в какие вещества включился углерод (в итоге - в углеводы), то есть прослеживают превращения вещества в клетке.

Проверь себя

1. Каким методом можно отделить митохондрии от рибосом?

Ответ: Дифференциальным центрифугированием: при раскручивании структуры оседают по массе - митохондрии осядут раньше, рибосомы последними.

2. Что можно увидеть в световой микроскоп, а что - только в электронный?

Ответ: В световой - клеточную стенку, ядро, вакуоли, хлоропласты и процессы в живой клетке (деление, движение цитоплазмы). Рибосомы, мембраны, ЭПС и вирусы - только в электронный.

3. Как доказали, что кислород при фотосинтезе выделяется из воды, а не из углекислого газа?

Ответ: Методом меченых атомов: растению давали воду с меченым кислородом - метка оказывалась в выделяемом O_2.

4. Чем электрофорез отличается от хроматографии?

Ответ: При электрофорезе молекулы (белки, фрагменты ДНК) движутся в электрическом поле и разделяются по размеру и заряду. При хроматографии смесь движется через адсорбент и разделяется по скорости перемещения молекул.

ЗАДАНИЯ ПО ТЕМЕ

Тестовая часть, развёрнутые задания и все задания по теме - на сайте, с проверкой и разбором: kursteam.ru/teoriya/tsitologiya/metody-tsitologii

© 2026 Мустафаев Р. И. (Kursteam). Материал принадлежит автору и охраняется авторским правом. Копирование, перепечатка и распространение без письменного разрешения автора запрещены; при цитировании обязательна ссылка на kursteam.ru.