

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ШКАЛА РАЗРЕШАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ НЕВООРУЖЕННОГО ГЛАЗА, СВЕТОВОГО И ЭЛЕКТРОННОГО МИКРОСКОПОВ



УСТРОЙСТВО И ПРИНЦИП РАБОТЫ МИКРОСКОПА

1. Механическая часть

1.1. Корпус

1.2. Механический (предметный) столик

1.3. Бинокулярная насадка

1.4. Фокусирующий механизм

2. Осветительная система

2.1. Источник света

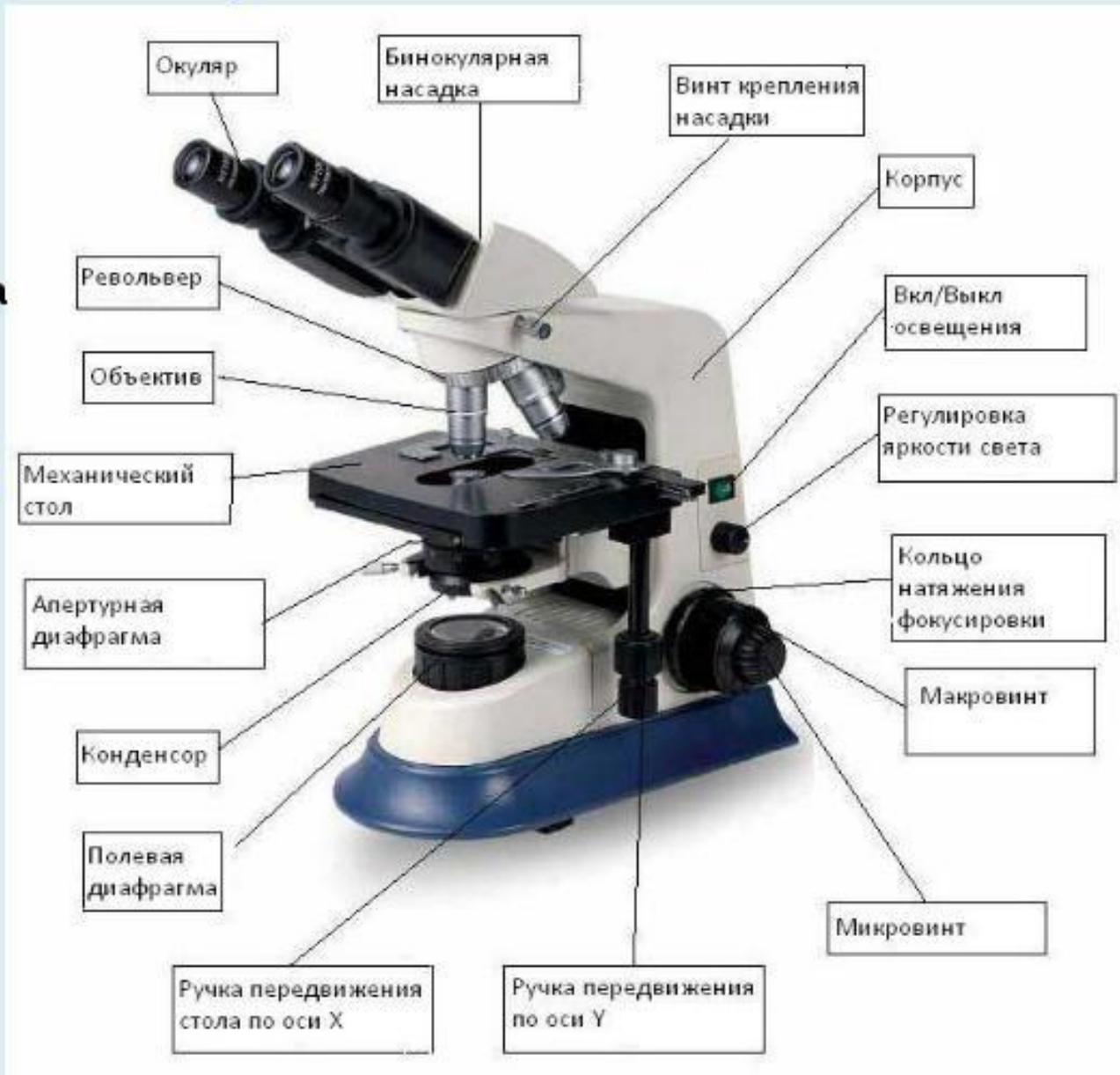
2.2. Коллектор

2.3. Конденсор

3. Оптическая часть

3.1. Объективы

3.2. Окуляры



Современный световой микроскоп

МЕТОДЫ МИКРОСКОПИИ

- 1) **Метод светлого поля:**
 - метод светлого поля в проходящем свете
 - метод косоого поля
 - метод светлого поля в отраженном свете
- 2) **Метод темного поля**
- 3) **Метод фазового контраста**
- 4) **Метод поляризационной микроскопии**
- 5) **Метод интерференционной микроскопии**
- 6) **Метод флуоресцентной микроскопии**
- 7) **Метод люминисцентной микроскопии**
- 8) **Метод электронной микроскопии**
 - сканирующая электронная микроскопия

Методы цитологии

| | | | |
|-------------------------|---------|---|--|
| Электронная микроскопия | Неживые | Вместо света используется быстрый поток электронов, а стеклянные линзы заменены электромагнитными полями. | Многостороннее исследование клеточных структур и их функций. |
|-------------------------|---------|---|--|



Трансмиссионный электронный микроскоп.



Сканирующий электронный микроскоп.

Существует два основных типа электронных микроскопов:

- трансмиссионный (просвечивающий)
- сканирующий.

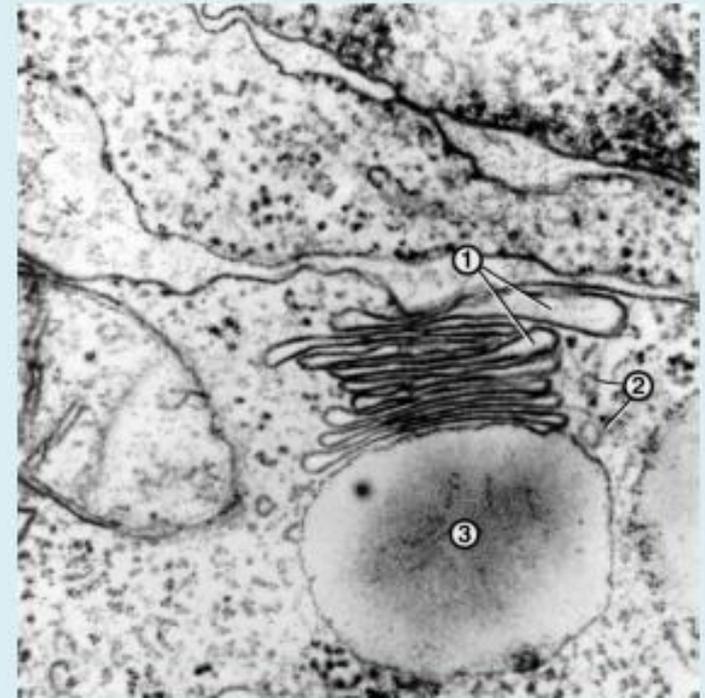
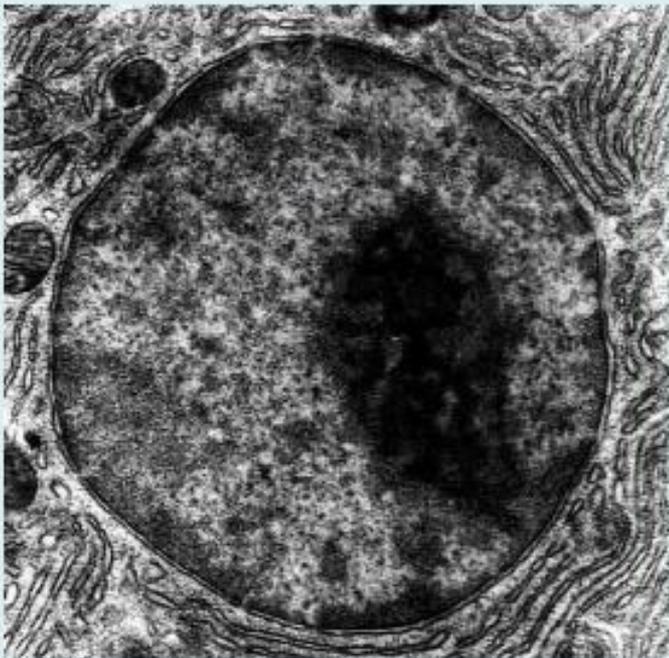
В **трансмиссионном** микроскопе пучок электронов, проходя сквозь специально подготовленный образец, оставляет его изображение на экране. Этот микроскоп дает плоское (двухмерное) изображение.

Максимальное разрешение **сканирующего** микроскопа невелико, около 10 нм, но зато изображение получается объемным (трехмерным). Здесь луч не проходит через образец, а отражается от его поверхности (образец сканируют).

Электронная микроскопия

Электронная микроскопия дает в 100 раз большее разрешение биологических объектов по сравнению со световой микроскопией.

В электронном микроскопе изображение строится с помощью узкого пучка электронов, с высокой скоростью проходящего через срез ткани и взаимодействующего с ним.



Сканирующий электронный микроскоп



Сканирующая электронная микроскопия

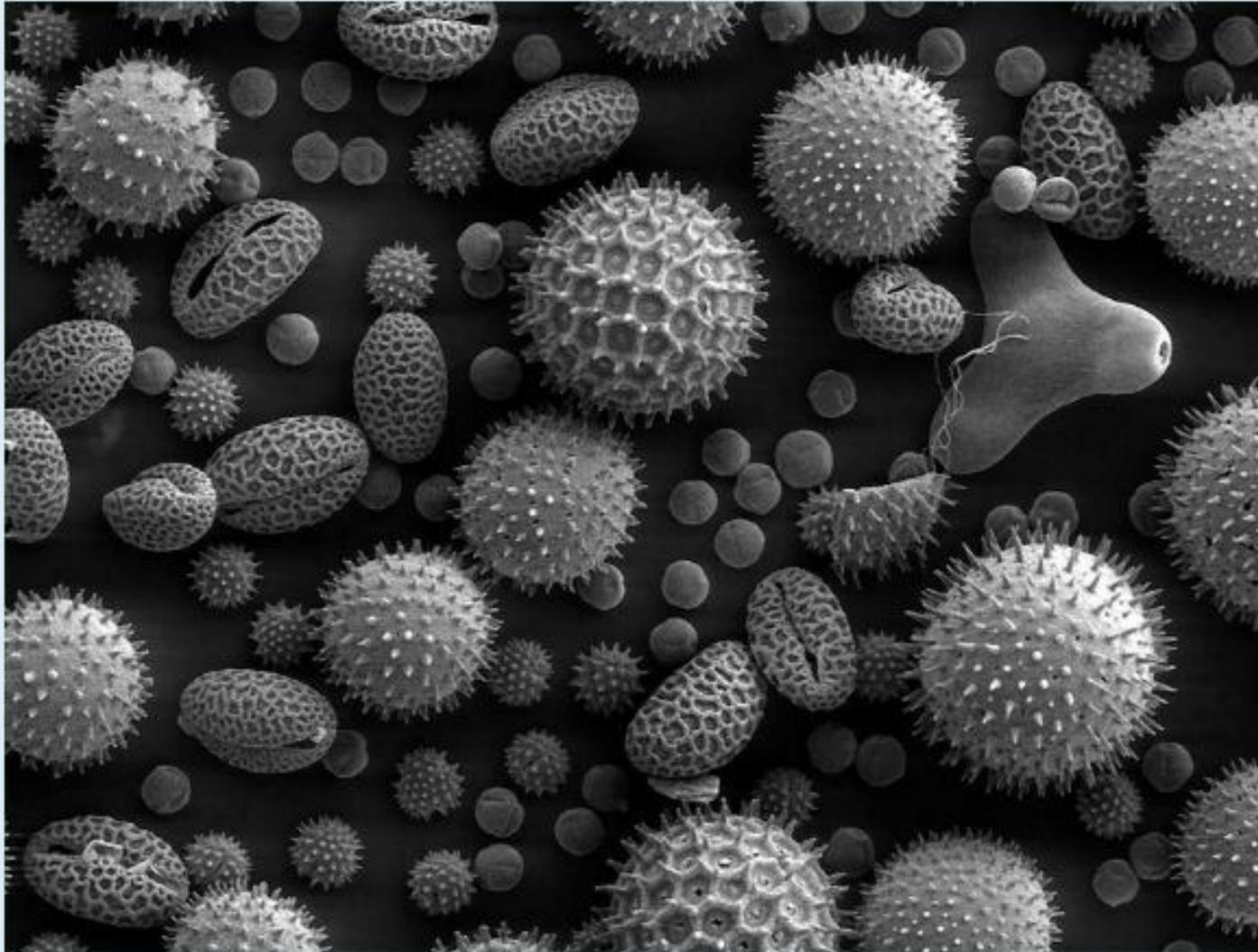
Помимо трансмиссионной электронной микроскопии существует растровая (сканирующая) электронная микроскопия, когда изображение строится с помощью электронного луча, отраженного с поверхности изучаемого объекта. Такие электронные микроскопы называются сканирующими.

В микроскопе образец сканируется узким пучком электронов.

Когда луч электронов попадает на образец, то поверхность образца, на которую нанесен тонкий слой золота, испускает «вторичные электроны». Они регистрируются прибором и преобразуются в изображение на телевизионном экране. Максимальное разрешение сканирующего микроскопа меньше, чем трансмиссионного, и составляет 10 нм для биологических объектов, а увеличение $\times 20\,000$.

С помощью сканирующих микроскопов изучают внутренние поверхности кровеносных сосудов, поверхности клеток и небольших структур. Сканирующий микроскоп дает **объемное изображение**.

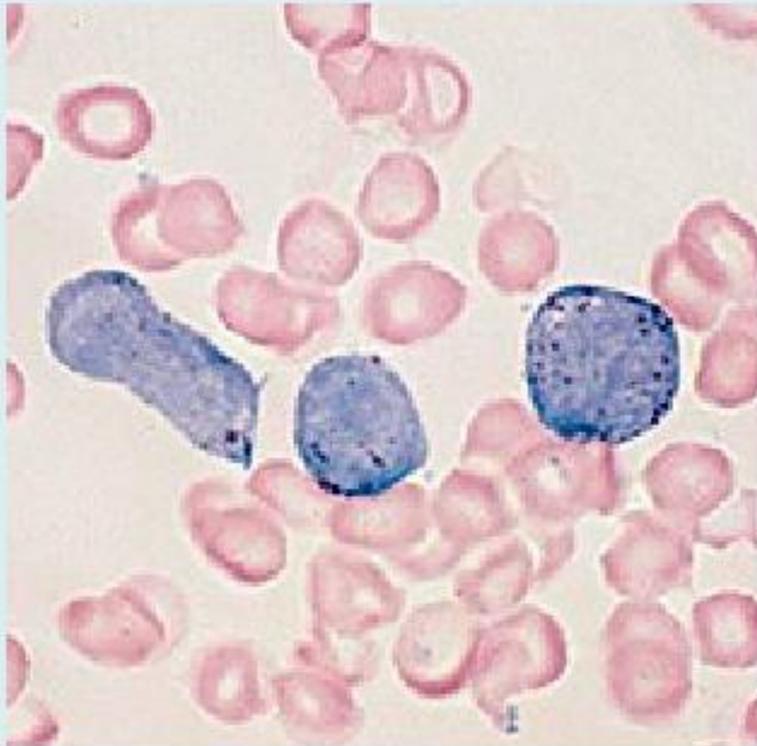
Пыльца под сканирующим электронным микроскопом



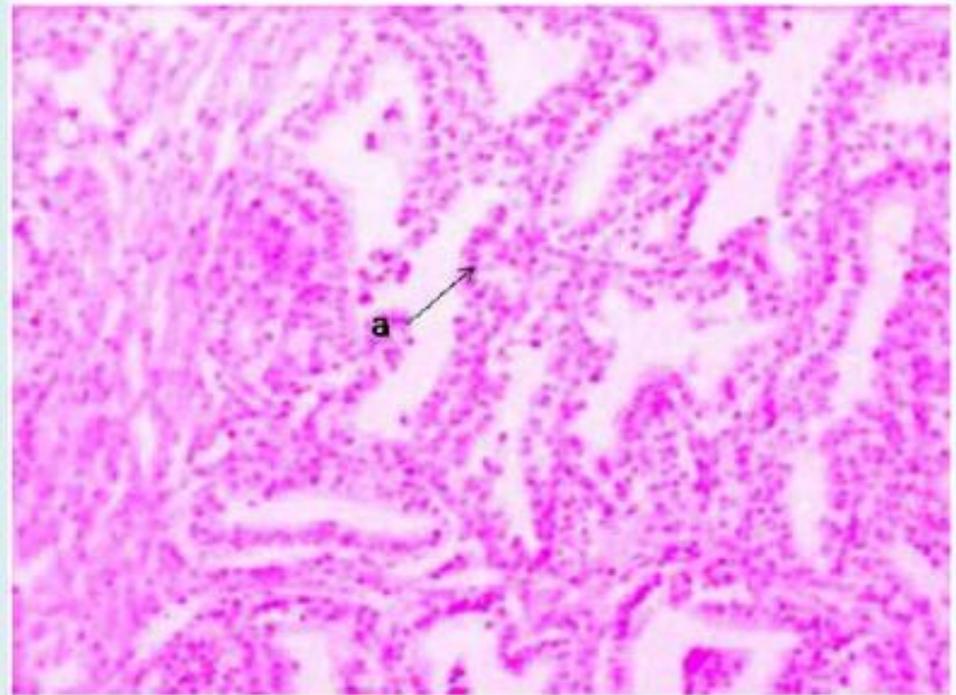
Методы современной цитологии

Цитохимия

Методы основанные на использовании специфических красителей (судан черный)



Проведение химической реакции на срезе на предметном стекле (реакция Фельгена на выявление ДНК)



Методы современной цитологии

Цитохимия

С помощью цитохимических цветных реакций в клетках выявляют

полисахариды,

специфические **аминокислоты** в белках,

нуклеиновые кислоты,

жиры,

липиды

и **множество ферментов**, участвующих в метаболических процессах обмена и превращения веществ.

Ферменты обычно выявляют по наличию продуктов их активности.

Методы современной цитологии

Иммуноцитохимия

Новое направление цитохимии – **иммуноцитохимия,**

в настоящее время является одним из самых передовых методов клеточной биологии.

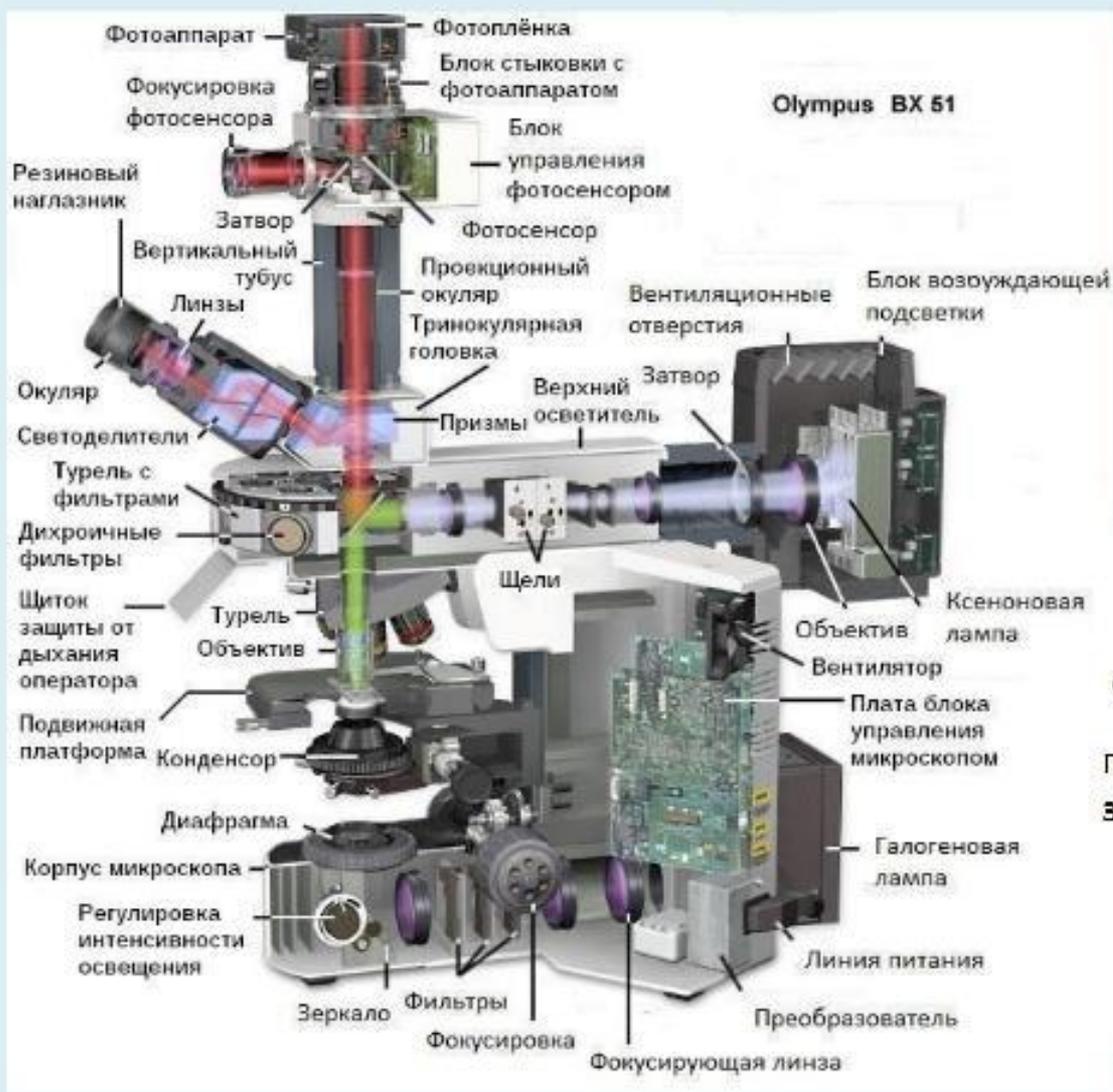
Для этого метода используются **люминисцентные микроскопы.**

Разрешение таких микроскопов соответствует световым.

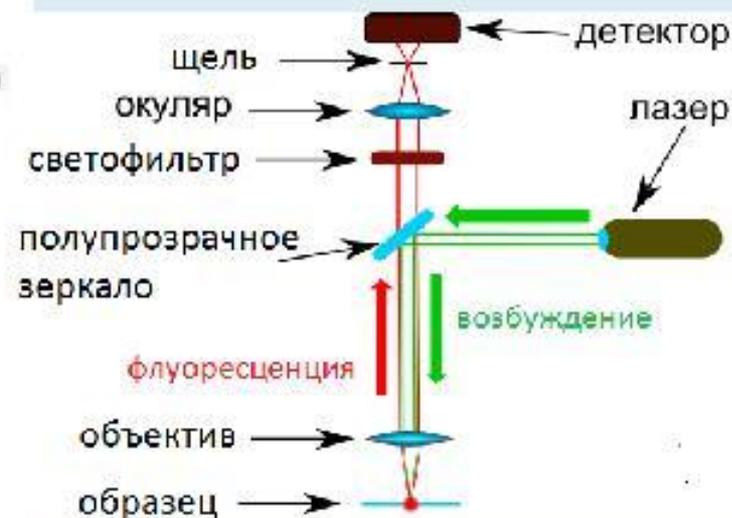
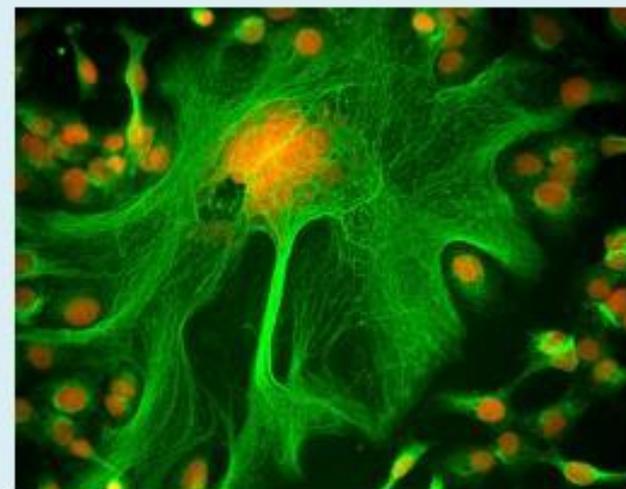
Их особенность в том, что препарат освещается снизу не пучком видимого света, а ультрафиолетовым лучом определенной длины волны.



ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИИ



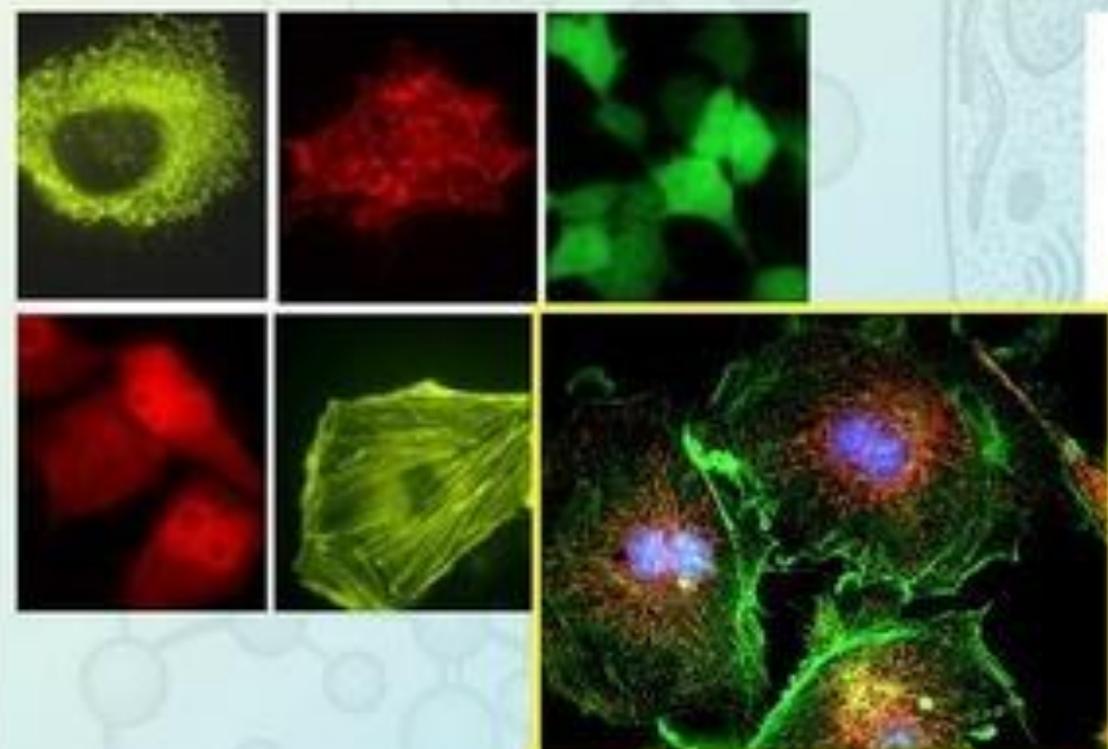
**Устройство
флуоресцентного микроскопа**



**Упрощенная схема хода
лучей во флуоресцентном
микроскопе**

Методы цитологии

| | | | |
|-----------------------------------|-------|--|--|
| Флуоресцентная микроскопия | Живые | Проникая в клетку, красители соединяются с белками, и вначале вся цитоплазма приобретает диффузную окраску. Некоторые вещества способны светиться при поглощении ими световой энергии. | Выявляются изменения, происходящие в клетках и тканях при разных внешних воздействиях. |
|-----------------------------------|-------|--|--|

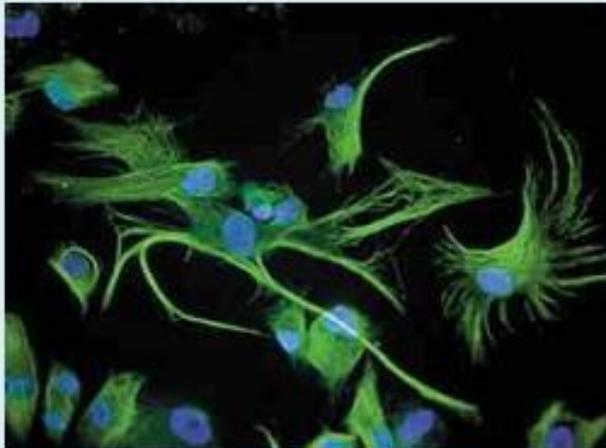


Другая особенность метода в том, что используются не обычные,

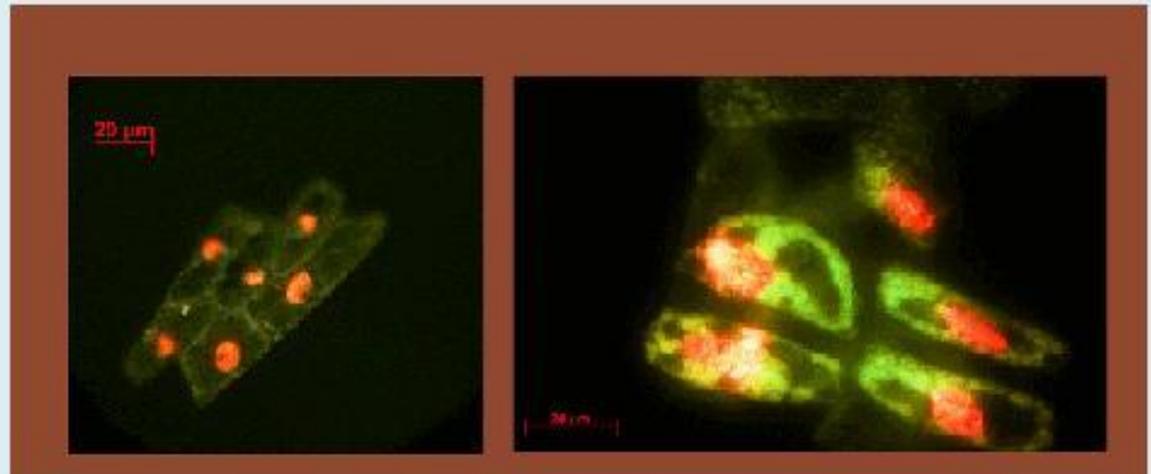
а **люминисцентные**, или **флюоресцентные** красители для окрашивания препаратов.

Такие красители под воздействием ультрафиолета дают **яркое свечение**.

Исследователь видит препарат на темном фоне, где ярко светятся окрашенные участки клеток.



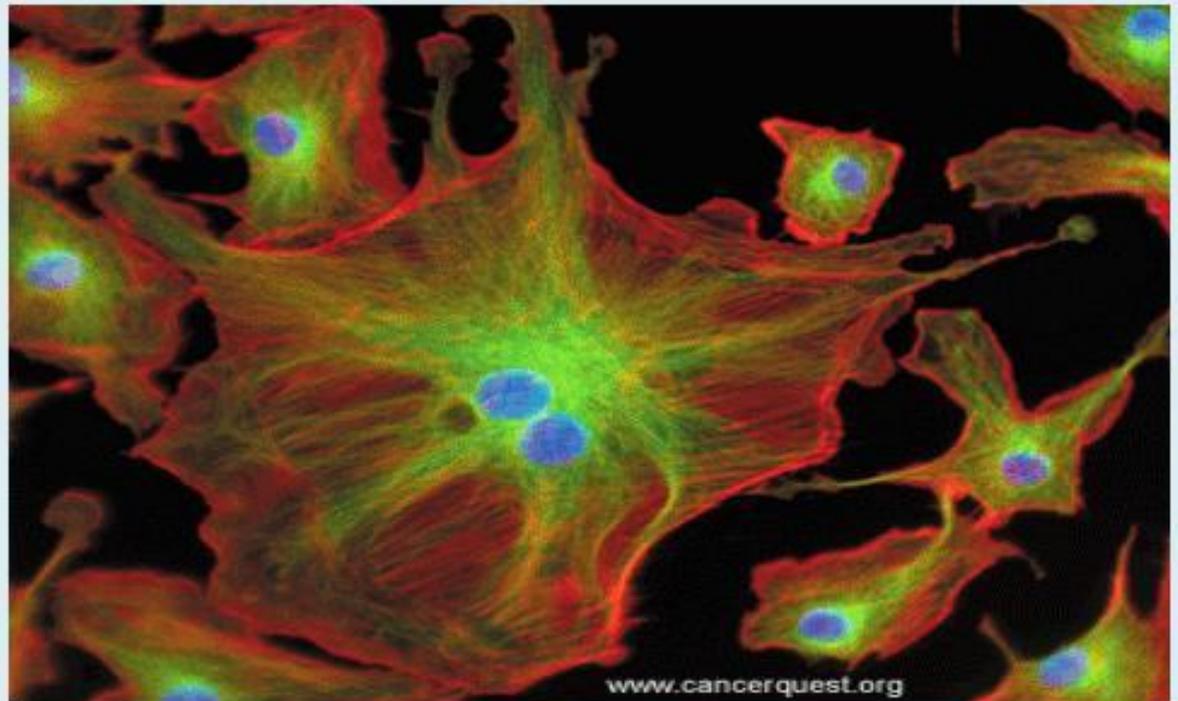
Культура стромальных стволовых клеток человека. Зеленым флюоресцирует цитоплазма, содержащая нестин, синим — ядерный материал.



красным цветом флюоресцирует ДНК клеток, зеленым – клеточная стенка и цитоплазма с содержащимися в ней пластидами.

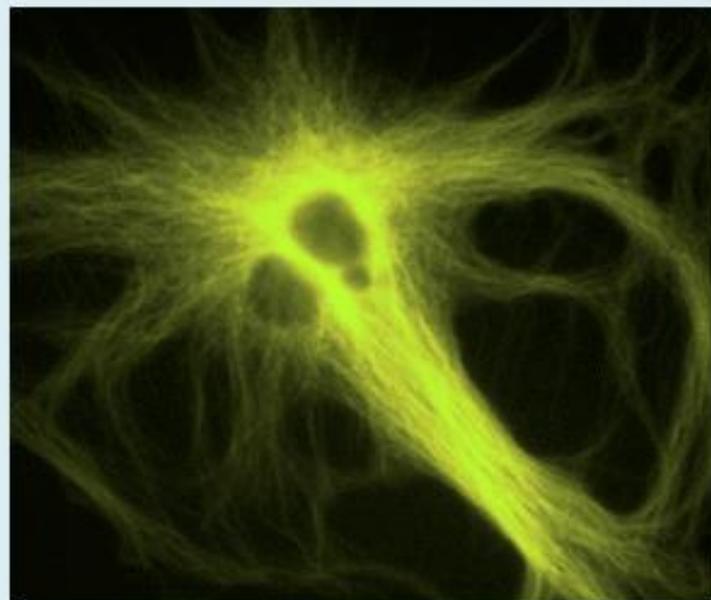
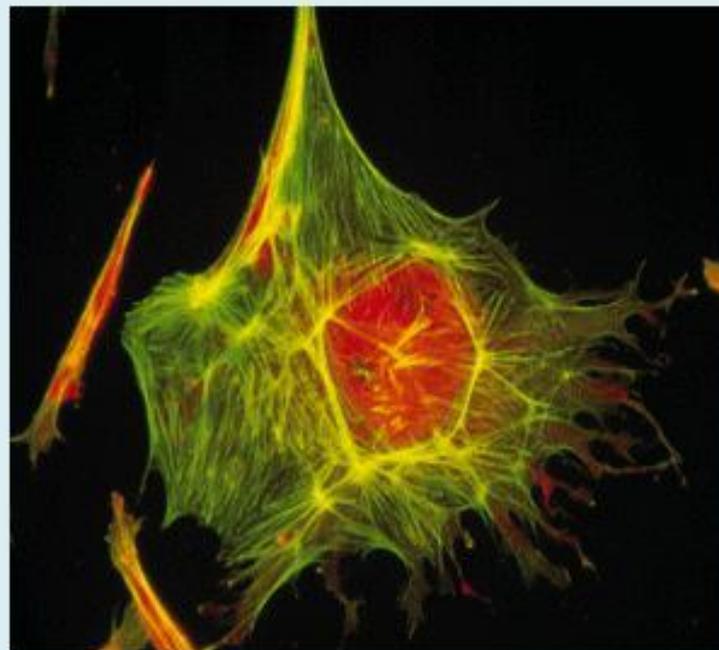
С помощью метода **ИММУНОЦИТОХИМИИ** изучили состав и расположение **ЭЛЕМЕНТОВ ЦИТОСКЕЛЕТА** клеток растений и животных, какие особенности цитоскелета характерны для опухолевых клеток.

С помощью этого метода научились выявлять индивидуальность **ХРОМОСОМ** человека, что необходимо при изучении развития патологий, а так же в судебной медицине.



Метод **ИММУНОЦИТОХИМИИ** позволил выявить на поверхности разнообразных клеток свои индивидуальные маркеры, что облегчило понимание многих патологических процессов, позволило выяснить, какие клеточные типы являются отправной точкой в развитии ряда болезней.

Например, показана роль макрофагов и гладкомышечных клеток кровеносных сосудов в развитии атеросклероза.



Методы цитологии

Центрифугирование
(фракционирование)

Живые
клетки

Основан на расслоении при вращении
содержимого клетки на составные части в
зависимости от удельного веса органоидов.

Изучение компонентов клетки.

Прежде, чем подвергнуть клетки центрифугированию, **разрушают их клеточные оболочки**. Это достигается продавливанием через маленькие отверстия, ультразвуковой вибрацией, или обычным измельчением растительных тканей пестиком в фарфоровой ступе. После этого ткани помещают в пробирки и с высокой скоростью **вращают в центрифуге**.

Крупные компоненты клетки образуют осадок при низких скоростях. Мелкие компоненты клетки выпадают в осадок при более высоких скоростях.

Этапы центрифугирования:

- низкая скорость (ядра, цитоскелет);
- средняя скорость (хлоропласты);
- высокая скорость (митохондрии);
- очень высокая скорость (рибосомы).



Метод фракционирования

Центриф уга



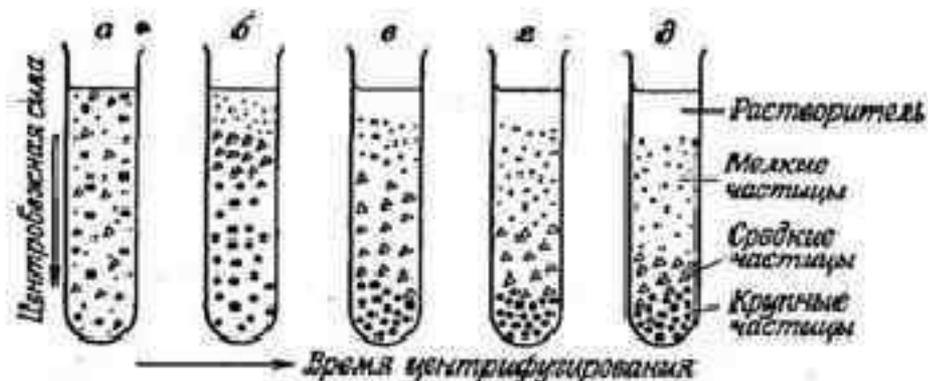
Разные органоиды осаждаются на дно пробирки при разных скоростях центрифугирования.

Скорость оседания зависит от размера частицы и ее плотности.

При низких скоростях центрифугирования в первую очередь осаждаются ядра. Получив осадок ядер, оставшуюся суспензию переливают в другую пробирку для следующего этапа центрифугирования. Осадок, состоящий из клеточных ядер, размешивают и используют в экспериментальной работе. Так повторяют несколько раз, увеличивая скорость и продолжительность центрифугирования. Самые высокие скорости центрифугирования необходимы для получения самых маленьких органелл – рибосом.

Дифференциальное центрифугирование

- от лат. *differentia* — различие; *centrum* — средоточие, центр и *fuga* — бегство, бег
- метод разделения субклеточных частиц по их коэффициентам седиментации, которые приблизительно пропорциональны размерам
- За единицу измерения константы седиментации принят 1 Сведберг = 10^{-13} сек



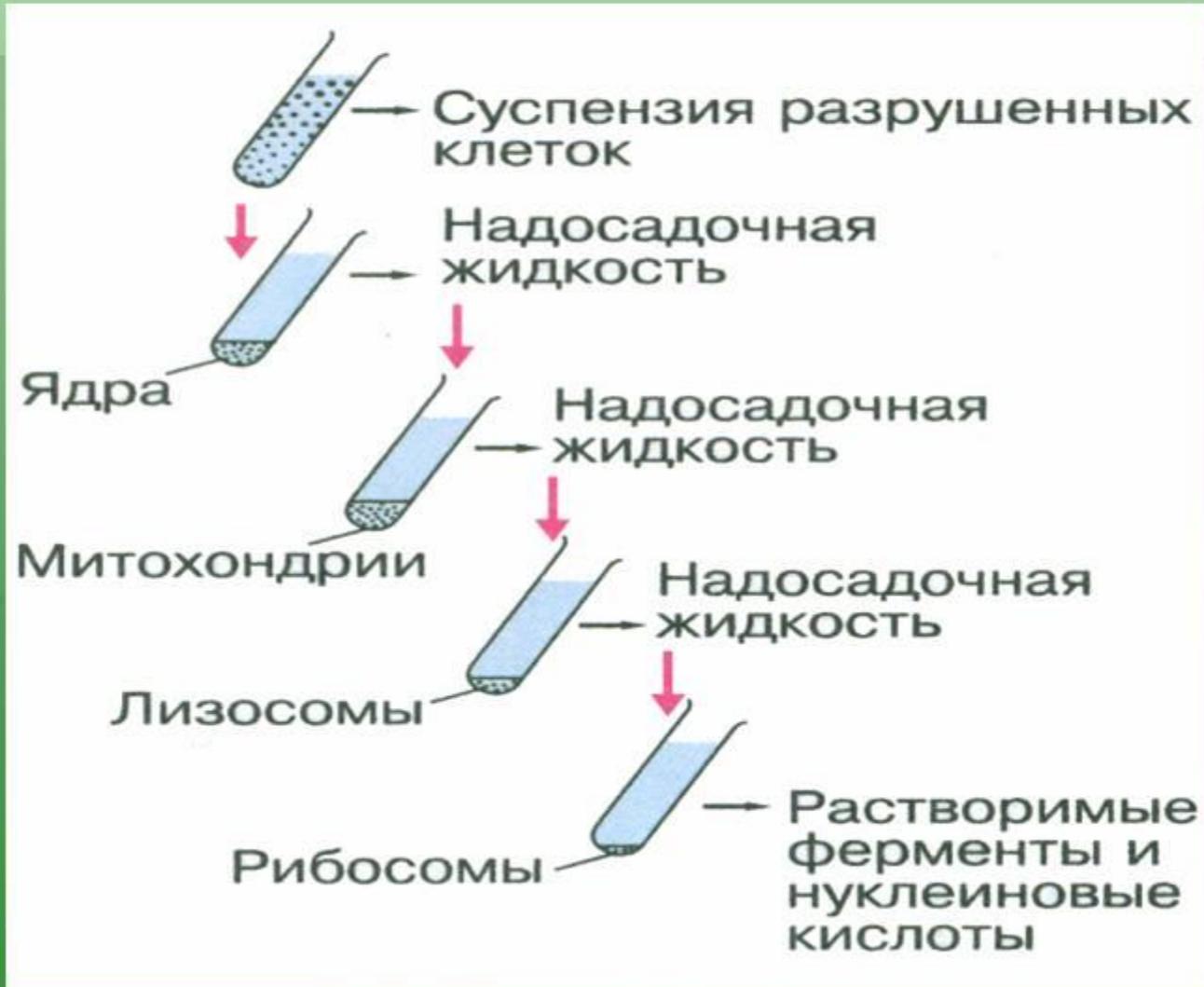
ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЕ

Если частички неоднородной смеси очень малы, такие смеси разделяют *центрифугированием*.

Смеси, содержащие такую жидкость, помещают в пробирки и вращают с огромной скоростью в специальных аппаратах – центрифугах, которые начинают быстро вращаться, придавая разным частицам различное ускорение

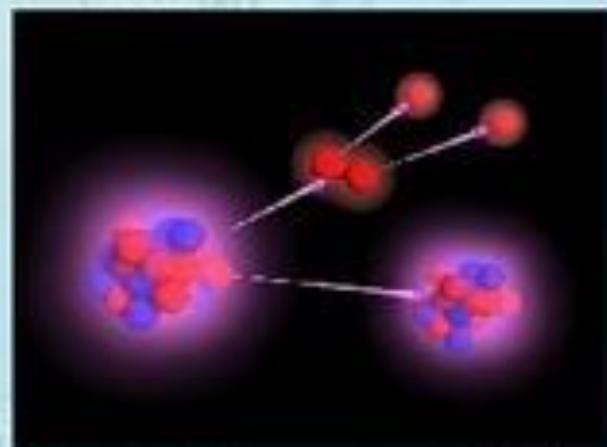
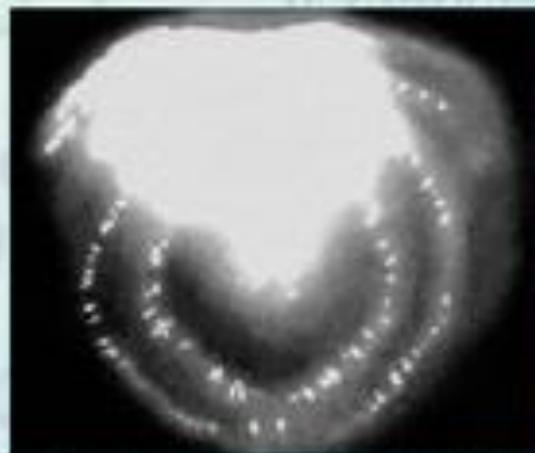


Метод дифференциального центрифугирования



Методы цитологии

| | | | |
|---|--------------|---|--|
| <p>Меченых атомов (авторадиография)</p> | <p>Живые</p> | <p>В молекуле меченого вещества один из атомов замещен атомом того же вещества, но обладающим радиоактивностью. Благодаря тому, что эти изотопы обладают радиоактивным излучением, их можно легко обнаружить.</p> | <p>Применяется при изучении сложных химических процессов. Синтез белков и нуклеиновых кислот, проницаемость клеточной оболочки, локализация веществ в клетке и т. д.</p> |
|---|--------------|---|--|



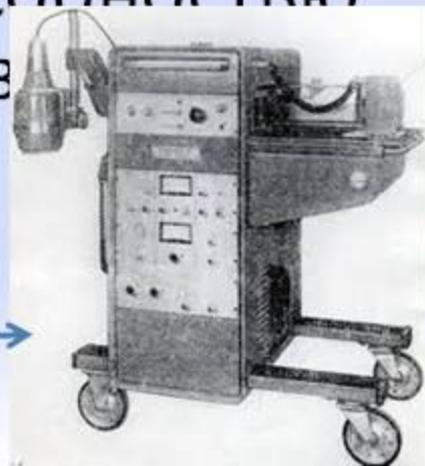
Введение в клетку веществ с радиоактивными изотопами. Метод позволяет проследить за миграцией веществ в клетке, их превращениями, обнаружить локализацию и характер биохимических процессов.

Суть метода меченых атомов

- вводят в организм радиоактивные изотопы и определяют их распределение и локализацию в различных частях тела. Они являются источниками - излучения, распределение интенсивности которого регистрируют с помощью гамма-топографа.

для диагностики заболеваний щитовидной железы применяют изотопы или, которые обладают способностью концентрироваться в этой железе.

Гамма-томограф



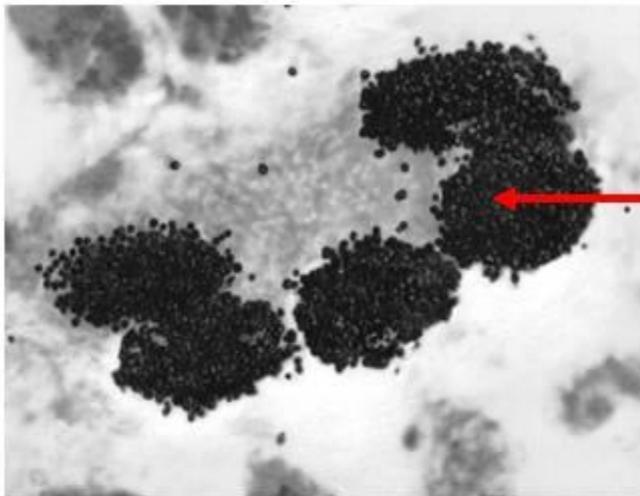
Метод радиоавтографии

Радиоавтография - метод изучения распределения радиоактивных веществ в исследуемом объекте при наложении на объект чувствительной к радиоактивным излучениям фотозмульсии.

Введение в организм соединений, меченных радиоактивными изотопами, и дальнейшее исследование тканей и клеток позволяет получить точные данные о том, в каких именно клетках или клеточных структурах происходят те или иные процессы, локализуются те или иные вещества, установить временные параметры ряда процессов.

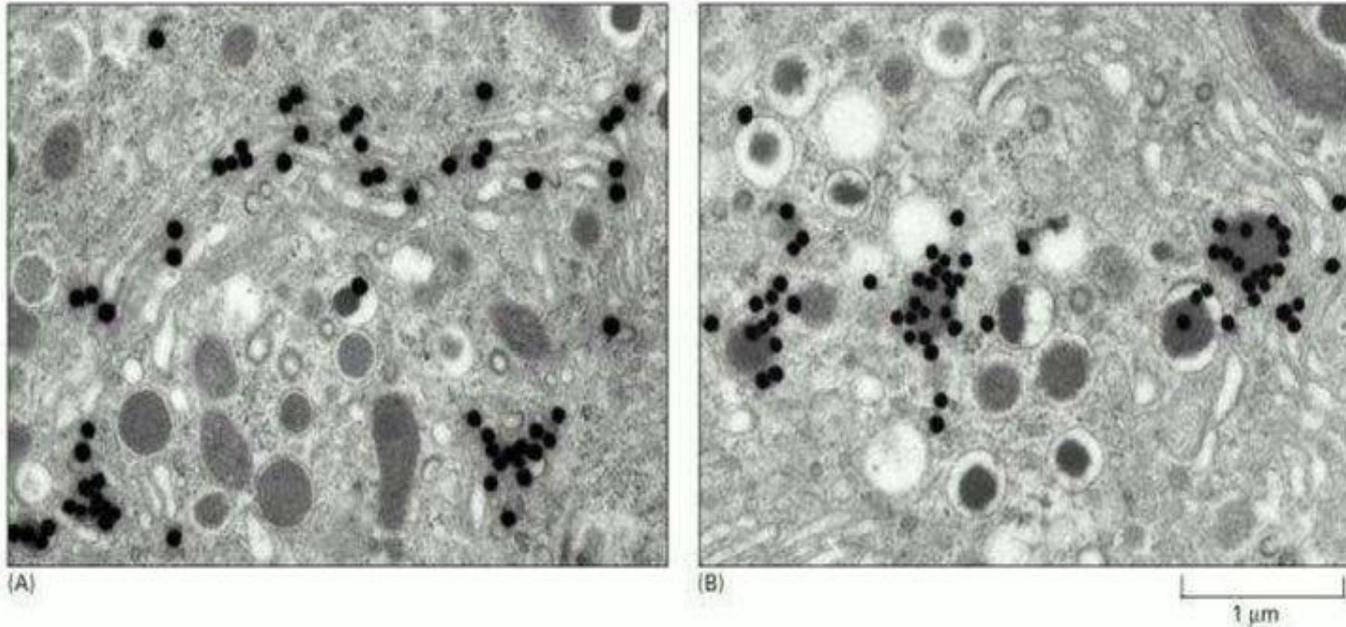
Так, например, применение **радиоактивного фосфора** дало возможность обнаружить присутствие интенсивного обмена веществ в растущей кости; применение **радиоактивных изотопов иода** позволили уточнить закономерности деятельности щитовидной железы; введение **меченых тритием предшественников нуклеиновых кислот** помогли уяснить роль в обмене этих жизненно важных соединений определённых клеточных структур.

Метод радиоавтографии позволяет определить не только локализацию радиоизотопа в биологическом объекте, но и его количество.



**Включение в ядра клеток
соединительной ткани меченного
тритием тимидина, идущего на
построение нуклеиновых кислот.
Увеличение x 600.**

Метод радиоавтографии

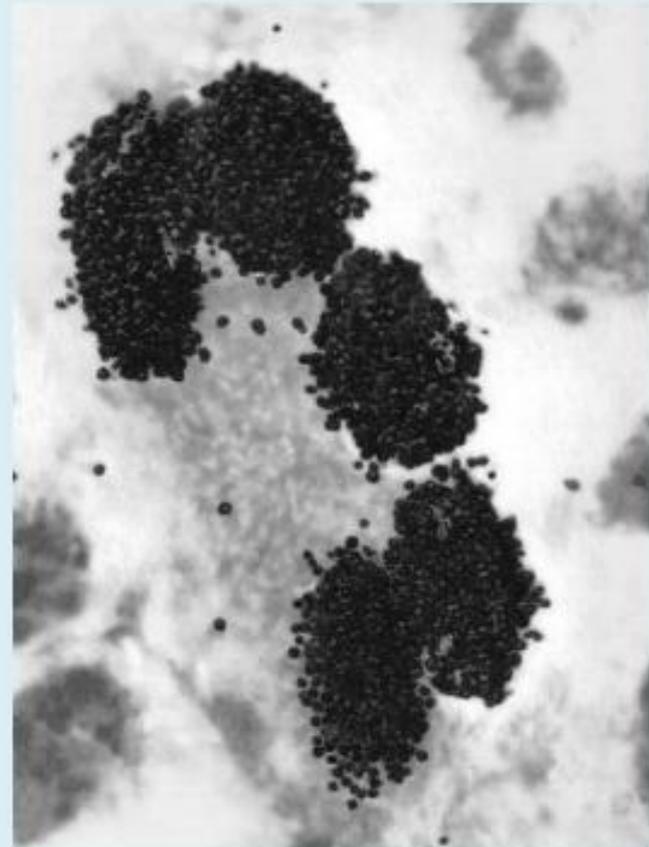


Распределение аминокислоты лейцина в клетках поджелудочной железы с течением времени. Лейцин помечен с помощью атома трития (3H).

Метод автордиографии



**Автордиограмма,
показывающая
распределение фосфора
в листьях томата**



**Включение в ядра
соединительнотканых
клеток меченого
трением тимина
(H^3 -Т)**

Метод авторадиографии

Именно методом авторадиографии было показано, что

ДНК всегда находится в ядре и никуда оттуда не выходит.

РНК, напротив, синтезируется в ядре, а затем выходит в цитоплазму.

Белок никогда не синтезируется в ядре.

Место синтеза белка – рибосомы цитоплазмы. Отсюда белок может перемещаться и в ядро, и внутрь органелл цитоплазмы.

Метод клеточных культур

Для получения клеточной культуры небольшие кусочки ткани диссоциируют на отдельные клетки, используя ферментативную и механическую обработку, и получают суспензию клеток.

Затем клетки помещают в специальные сосуды с плоским дном: стеклянные или пластиковые, и заливают искусственной питательной средой.

Для каждого типа клеток среда индивидуальна.

Для большинства животных клеток питательная среда имеет в своем составе глюкозу, незаменимые аминокислоты, витамины и небольшой процент сыворотки крови.

Важно поддерживать нейтральную реакцию среды, оптимальную температуру, не допускать инфекционного заражения.



Именно с помощью метода клеточных культур впервые были описаны особенности опухолевых клеток.

Первая особенность – **способность к бесконечному делению**.

В 50-ые годы XX века была получена перевиваемая клеточная культура раковых клеток опухоли молочной железы.

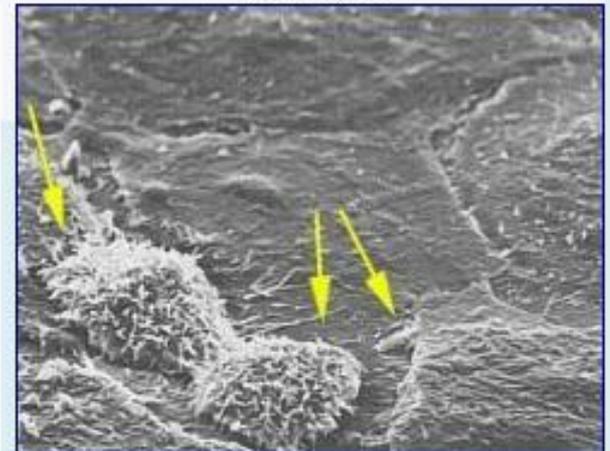
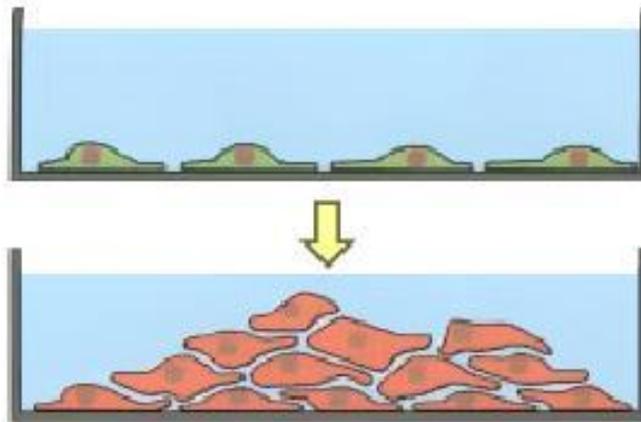
Культура получила название HeLa по инициалам оперированной пациентки. Эти клетки живы до сих пор, и с ними работают во многих лабораториях мира. За прошедшие годы ученые вырастили тонны этих клеток, хотя самой пациентки давно уже нет.

Другая особенность раковых клеток – **отсутствие контактного торможения**. Они не прекращают делиться, заполняя всю поверхность сосуда. Клетки напоззают друг на друга, могут образовывать второй и третий слой.

Ослабленным контактным торможением характеризуются раковые клетки

Раковые клетки продолжают расти и после того, как заполнят всю поверхность субстрата, образуя мультислой.

Микрофотография (сканирующий электронный микроскоп) клеток линии A431: эпидермальная карцинома человека. Стрелками показаны места "напоззания" клеток друг на друга



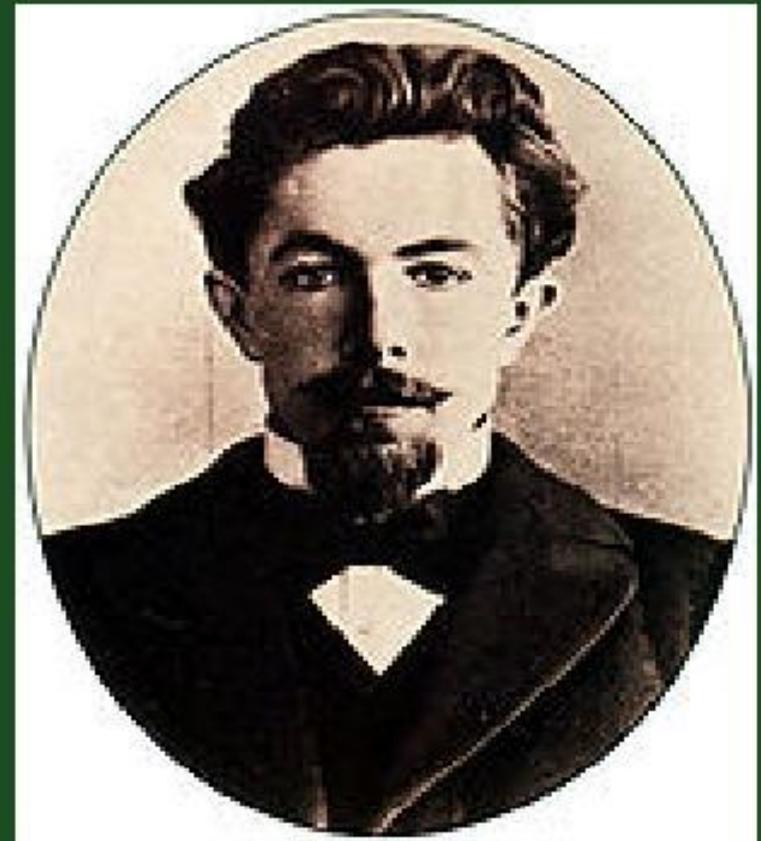
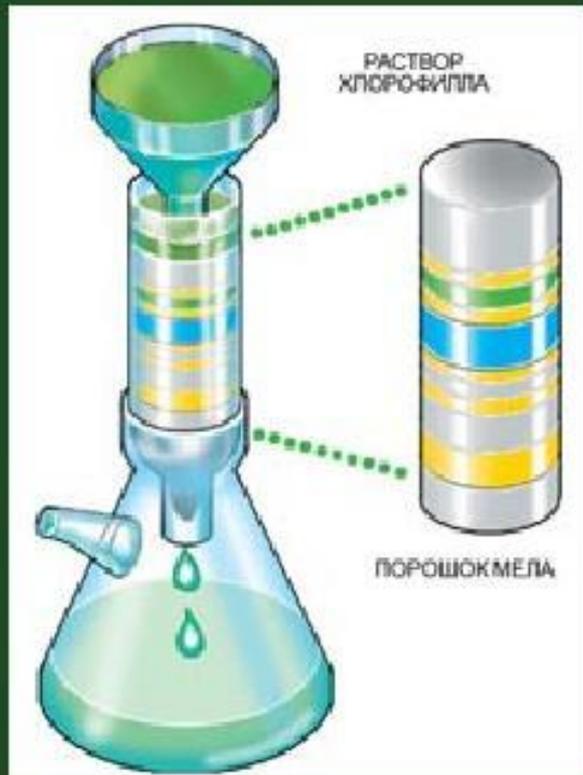
Нетрансформированные нормальные клетки могут делиться ограниченное количество раз.

Хроматография и электрофорез

Хроматография — метод основан на том, что в неподвижной среде, через которую протекает растворитель, каждый из компонентов смеси движется со своей собственной скоростью, независимо от других; смесь веществ при этом разделяется.

Электрофорез применяется для разделения частиц, несущих заряды, широко применяется для выделения и идентификации аминокислот.

Изобретение хроматографии - 1903 г.



«...различные компоненты сложного пигмента закономерно распределяются друг за другом в столбе адсорбента и становятся доступными качественному определению. Такой расцветченный препарат я назвал *хроматограммой*, а соответствующий метод анализа *хроматографическим методом*.»

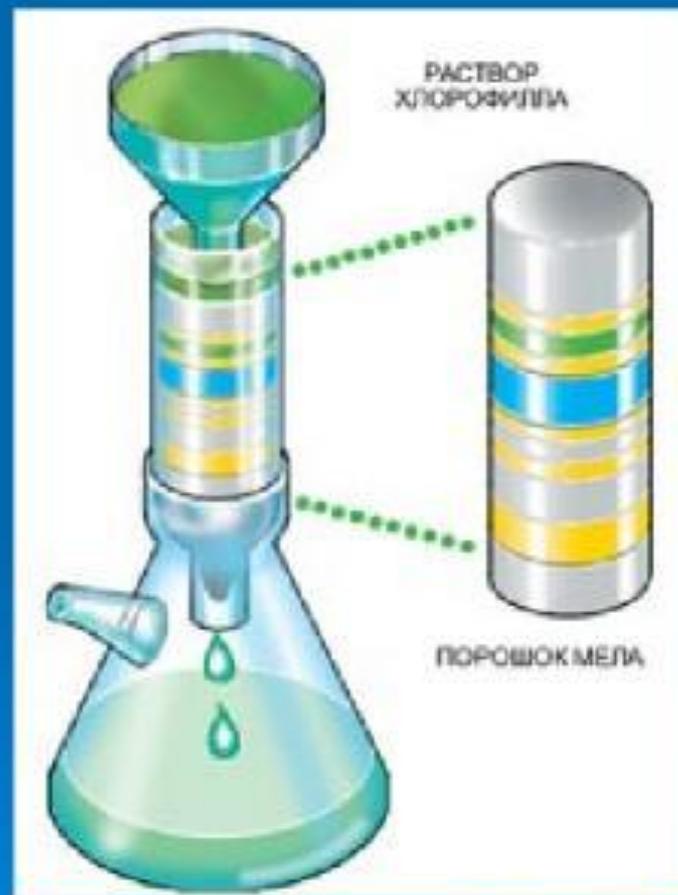
Михаил Семенович Цвет
1872 – 1919,
Ботаник, физиолог

Первый опыт по разделению и анализу вещества сложного состава, проделанный Михаилом Семеновичем Цветом в 1903 году, был удивительно простым.

Исследователь пропускал через трубку с порошком мела раствор хлорофилла, постепенно разбавляя его бензолом.

Через некоторое время в столбике мела стали видны колечки, окрашенные компонентами хлорофилла в разные цвета.

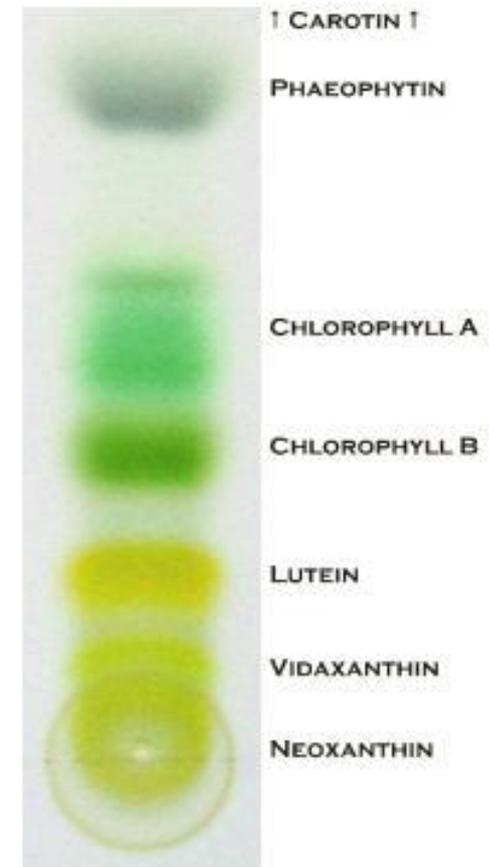
Разрезав столбик, М. С. Цвет выделил их в чистом виде и провел химический анализ каждого отдельного компонента.



Хроматография

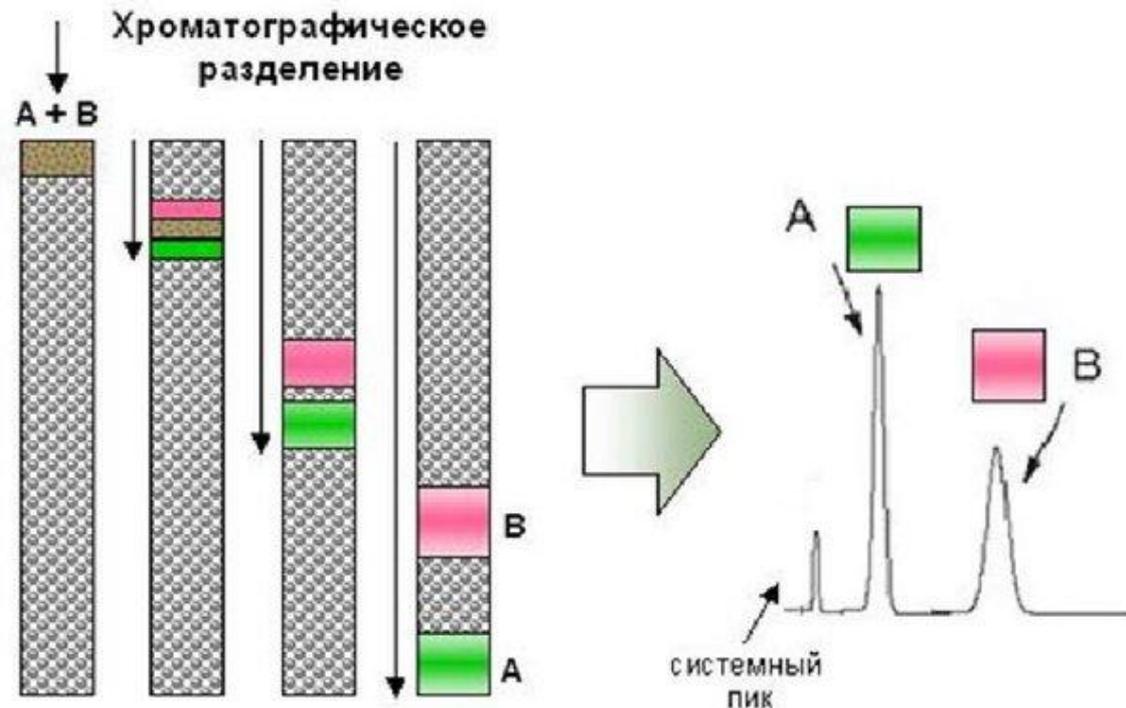
История открытия

- Первая хроматография проведена в 1900 году.
- М.Цвет использовал колонку, заполненную карбонатом кальция, для разделения пигментов растительного происхождения. Первое сообщение о разработке метода хроматографии было сделано Цветом в 1901 году на *XI Съезде естествоиспытателей и врачей* в С.-Петербурге.
- В 1910—1930 годы метод был забыт и не развивался.
- В 1941 году А. Дж. П. Мартин и Р. Л. М. Синг разработали новую разновидность хроматографии, в основу которой легло различие в коэффициентах распределения разделяемых веществ между двумя несмешивающимися жидкостями. Метод получил название «*распределительная хроматография*». Нобелевская премия 1952 года.



Сущность хроматографии

Хроматография – это физико-химический метод разделения веществ, основанный на распределении компонентов смеси между двумя фазами – подвижной и неподвижной. Молекулы веществ в силу различий их свойств по-разному распределяются между этими фазами.

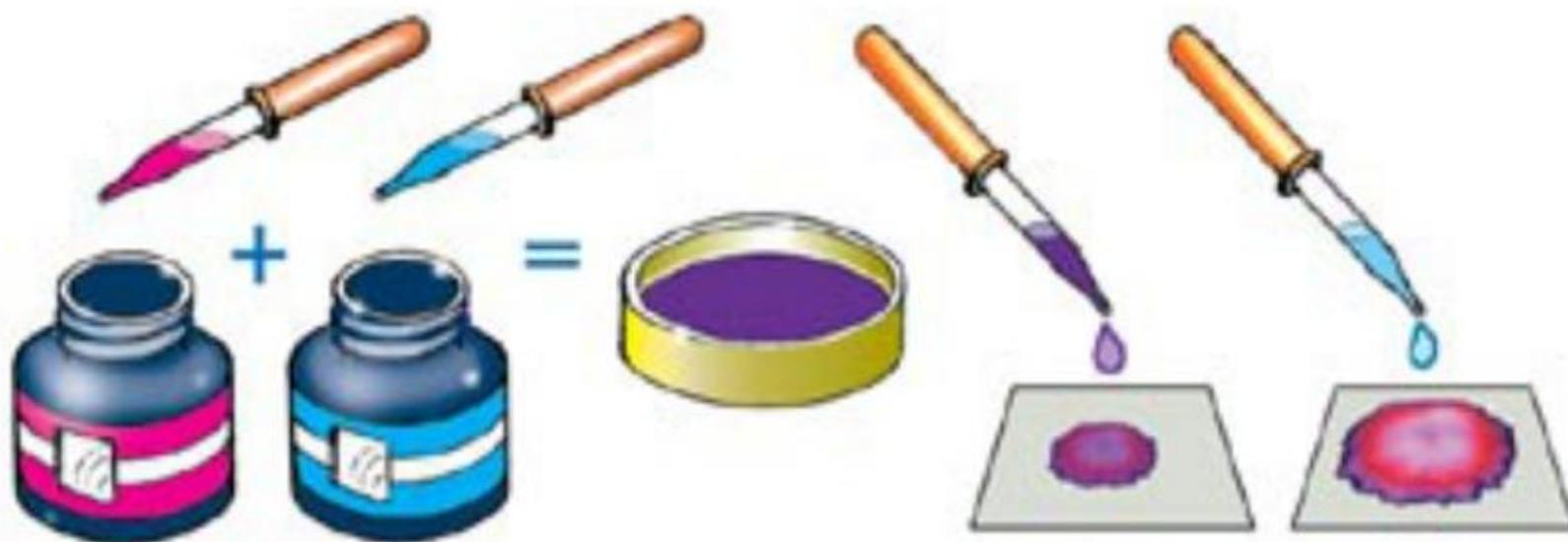


Хроматография (от греч. χρῶμα — цвет)

- Хроматография — метод разделения смесей веществ или частиц, основанный на различиях в скоростях их перемещения в системе несмешивающихся и движущихся относительно друг друга фаз.
- В основу хроматографических методов положены разные принципы: гель- фильтрации, ионного обмена, адсорбции, биологического сродства.
- Классификация видов хроматографии по механизму взаимодействия:
 - **Распределительная хроматография**
 - **Ионообменная хроматография**
 - **Адсорбционная хроматография**
 - **Аффинная хроматография**
 - **Гель – фильтрация и др.**



Хроматография



Электрофорез.

Электрофорез основан на свойстве заряженных молекул белка перемещаться в электрическом поле со скоростью, пропорциональной их суммарному заряду и молекулярной массе.

Метод позволяет разделять макромолекулы, различающиеся по таким важнейшим параметрам, как размеры (или молекулярная масса), форма и электрический заряд.

Причем эти параметры могут выступать как порознь, так и в совокупности.

Метод рентгеноструктурного анализа

дает возможность определять пространственное расположение и физические свойства молекул (например, ДНК, белков), входящих в состав клеточных структур. Метод рентгеноструктурного анализа основан на явлении рассеивания (дифракции) рентгеновских лучей при прохождении их через кристалл.

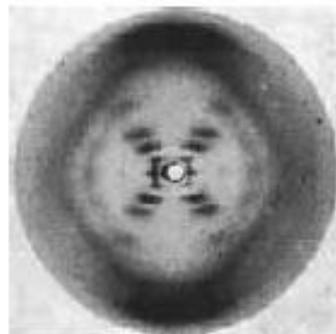


Расположение атомов в кристалле.

Кристаллография - Дифракционная рентгенография

При облучении кристалла сфокусированным рентгеновским лучом на выходе получается рассеянный в результате дифракции луч с выраженными пиками яркости. По углам отклонения пиков яркости от направления исходного луча можно с большой точностью рассчитать расстояния между атомами кристаллической решетки. Этот метод называется **дифракционной рентгенографией**.

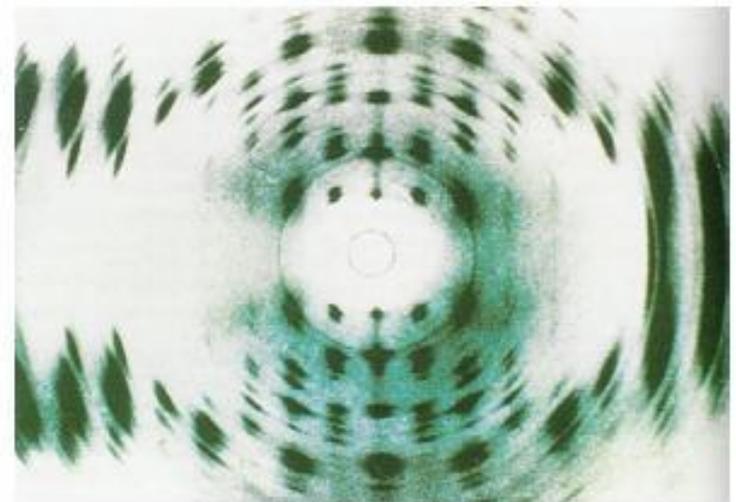
Дифракционная рентгенография — один из основных методов, используемых для расшифровки структуры биологических молекул.



Фотография 51

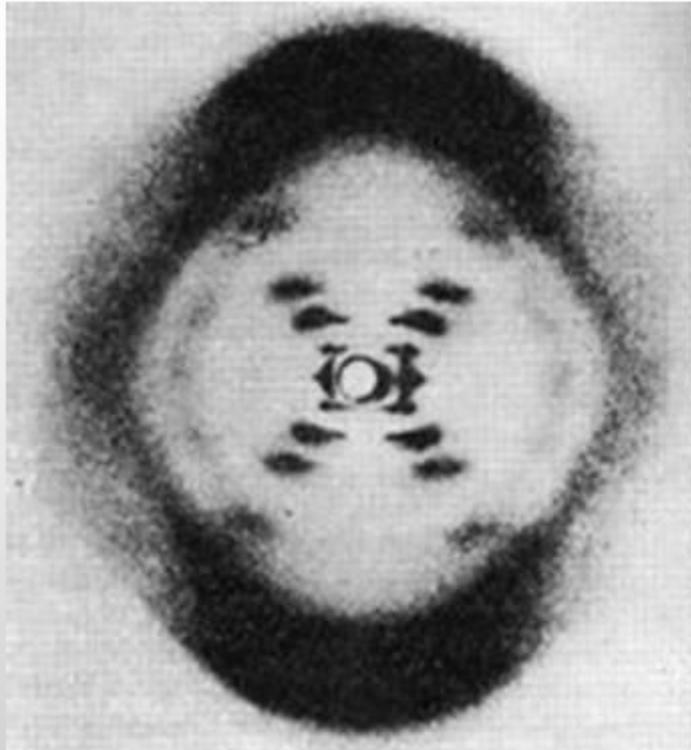
Рентгенограмма волокон натриевой соли тимусной ДНК в В-форме, полученная Розалин Франклин в 1952.

Эта рентгенограмма послужила главным толчком к открытию двуспиральности ДНК Франклин и построению модели структуры ДНК Уотсоном и Криком.



Дифракционная рентгенограмма молекулы ДНК

Поскольку ДНК имеет двуспиральную структуру - наблюдаются повторяющиеся дифракционные пики



Рентгеноструктурный
портрет ДНК –
знаменитое фото 51



Розалинд Франклин
1920 - 1958

РЕНТГЕНОСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ

- Метод рентгеноструктурного анализа дает возможность определять пространственное расположение и физические свойства молекул (например, ДНК, белков), входящих в состав клеточных структур.



Микрохирургия.

С помощью микроманипулятора отдельные части клетки можно удалять, добавлять или каким-то образом видоизменять. Крупную клетку амебы удается разделить на три основных компонента – клеточную мембрану, цитоплазму и ядро, а затем эти компоненты можно вновь собрать и получить живую клетку. Таким путем могут быть получены искусственные клетки, состоящие из компонентов разных видов амеб.



Комплект микроманипуляторов

Микрохирургия

- оперативное воздействие на клетку, связанное с удалением или имплантированием отдельных органелл, их пересаживанием из клетки в клетку, введением в клетку крупных макромолекул и т. д.
- Применяют при исследовании живых клеток, выяснении функций отдельных органелл

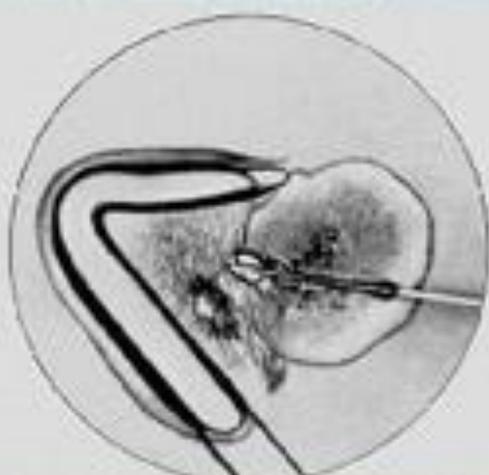


Методы цитологии

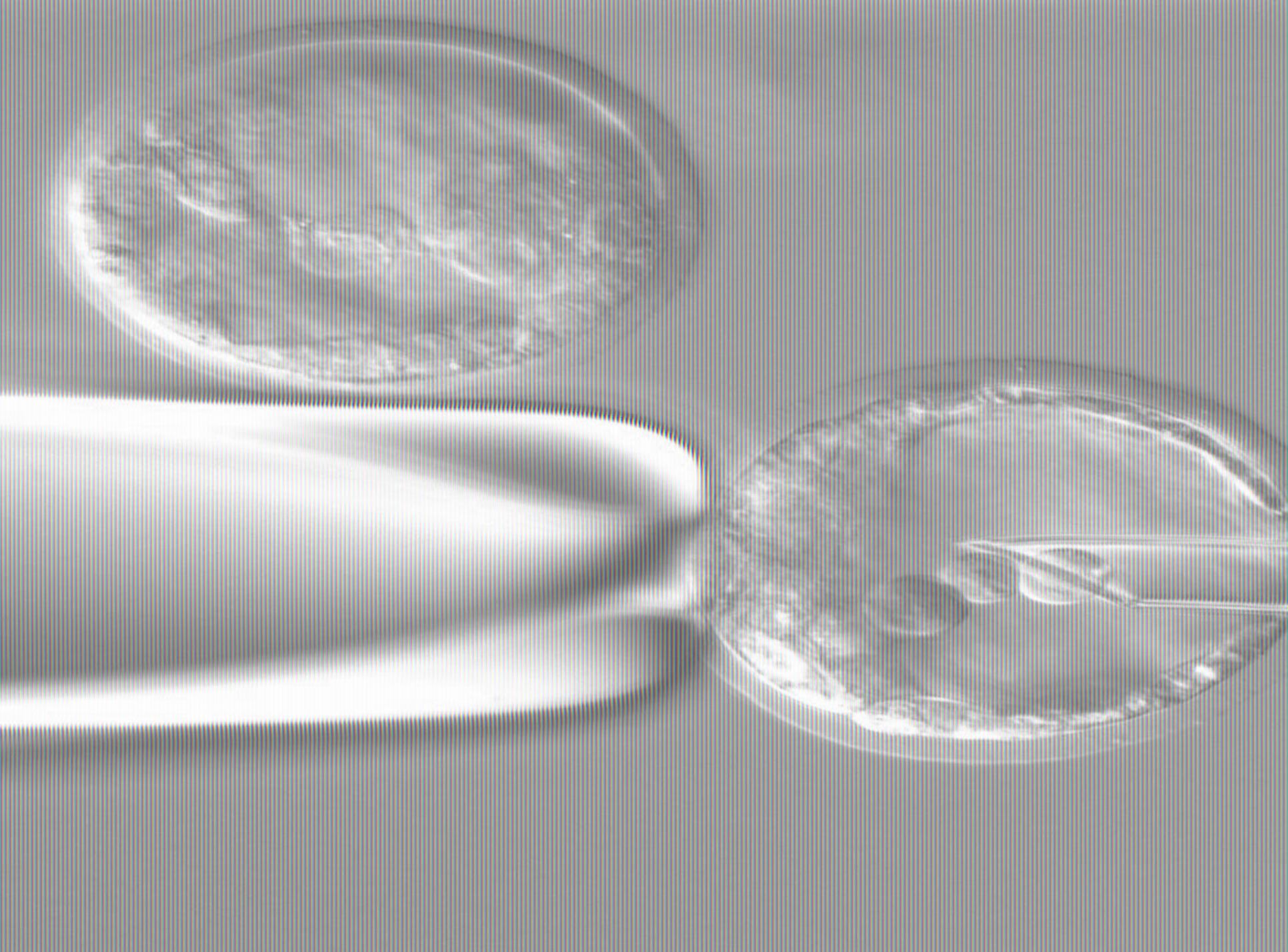
| | | | |
|-----------------------|-------|---|---|
| Микрохирургия | Живые | Разнообразные операции на клетках с использованием прибора микроманипулятора. Позволяет извлекать отдельные клеточные структуры (извлечение ядра из оплодотворенной яйцеклетки) | Для получения клонов. Роль ядра и цитоплазмы в жизни клеток. |
| Цитохимический | Любые | Методы с помощью которых производится определение от 10 до 0,01 мг вещества. | Содержание белков, фосфора, аминокислот, нуклеиновых кислот, сахаров и т. д |



Пересадка ядер у амёб; момент проталкивания ядра сквозь соприкасающиеся поверхности обеих амёб.



Цитохимический



Специальные методы микроскопирования

люминесцентный мик-п (для изуч. живых неокраш-х объектов) микроскопия применяется для наблюдения флюоресцирующих (люминесцирующих) объектов. В люминесцентном микроскопе свет от мощного источника проходит через два фильтра. Один фильтр задерживает свет перед образцом и пропускает свет длины волны, возбуждающей флюоресценцию образца. Другой фильтр пропускает свет длины волны, излучаемой флюоресцирующим объектом. Таким образом, флюоресцирующие объекты поглощают свет одной длины волны и излучают в другой области спектра.

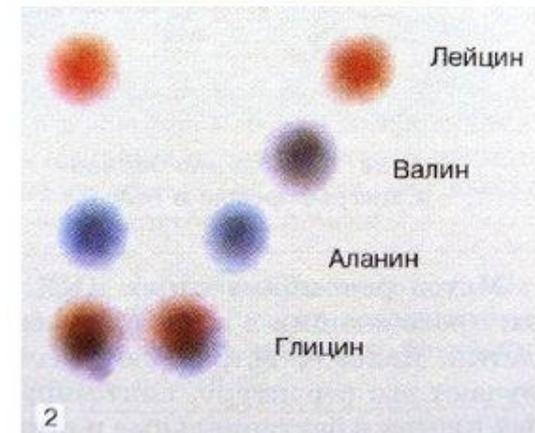
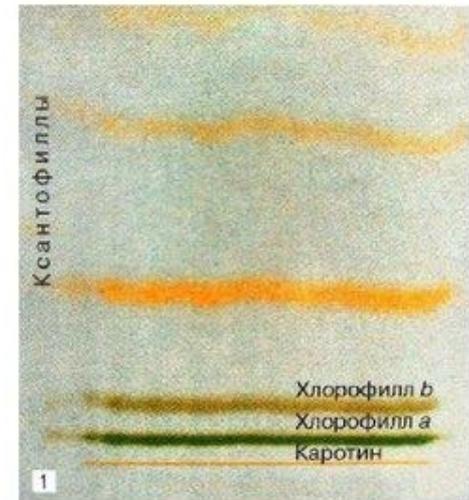
-ультрафиолетовый мик-п (повышает разрешающую способность м-па)

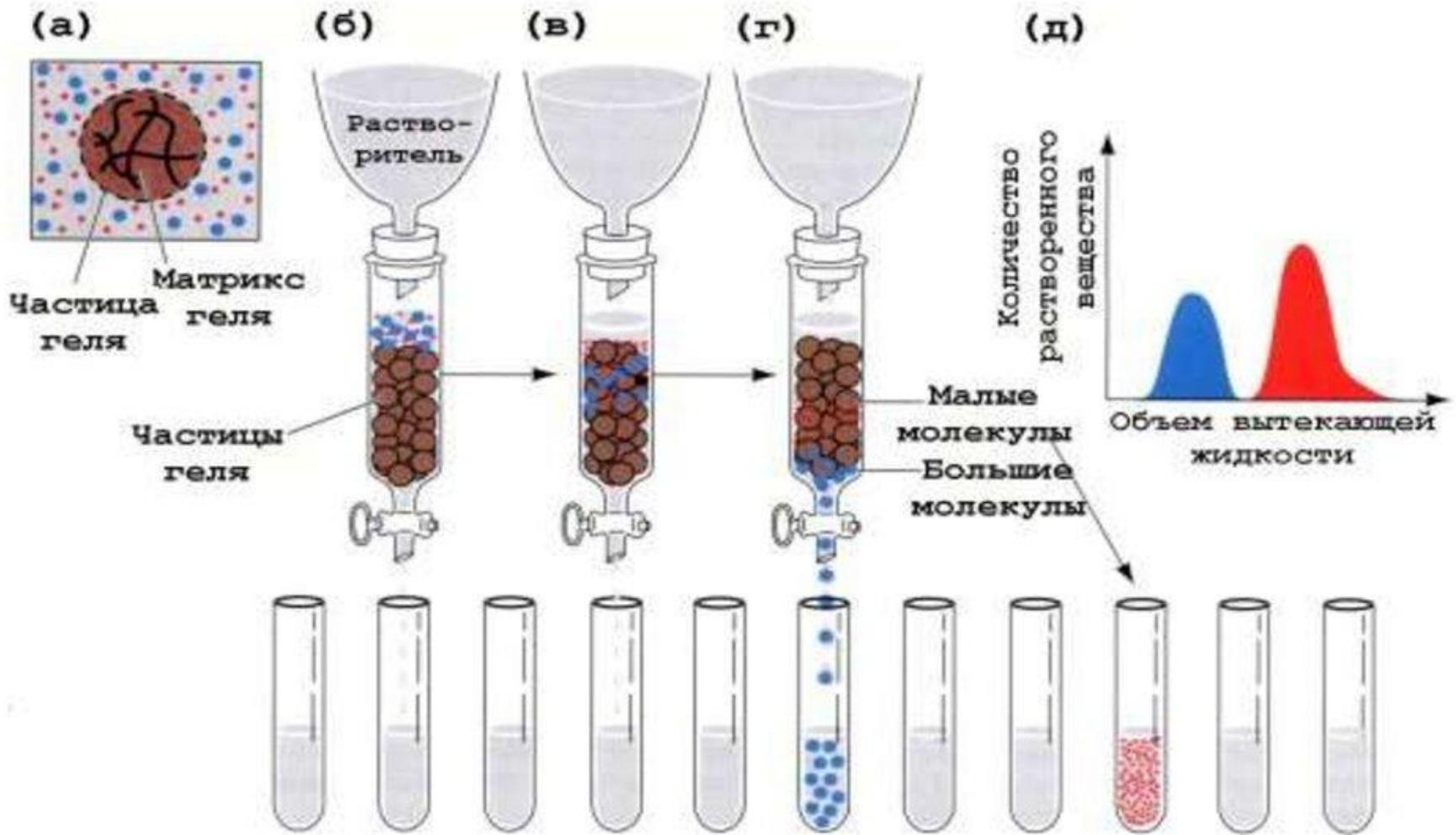
-поляризационный мик-п (для иссл. объектов с упорядоченным расположением молекул — скелет. муск-ра, коллагеновые волокна и т.д.) - микроскопия – формирование изображения неокрашенных анизотропных структур (например, коллагеновые волокна и миофибриллы).

Методы изучения клетки

- Не все клеточные структуры пропускают свет, не все окрашены, органоиды отличаются коэффициентом преломления света и не видны все одновременно, дифракционные явления ограничивают увеличение. Поэтому приходится искусственно увеличивать контрастность, делать ультратонкие срезы, окрашивать микропрепараты.

1. микроскопия (световой, электронный, сканирующий, флуоресцентный);
2. метод дифференциального центрифугирования;
3. метод меченых атомов;
4. метод рентгеноструктурного анализа;
5. хроматография;
6. электрофорез;
7. флуоресцентная микроскопия;
8. методы кино- и фотосъемки;
9. метод микрохирургии;
10. техника культивирования тканей (in vitro);
11. Метод рекомбинантных ДНК.





Разделение смеси белков методом гель-фильтрации

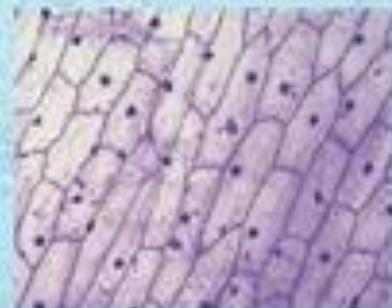
Методы цитологии

| | | | |
|----------------------|----------------|--|--|
| Световая микроскопия | Неживые клетки | С помощью светового микроскопа достигается увеличение в 2000 – 2500 раз. | Многостороннее исследование клеточных структур и их функций. |
|----------------------|----------------|--|--|

МИКРОСКОП (от греческого *mikros* - малый и *skopeo* - смотрю), оптический прибор для получения увеличенного изображения мелких объектов и их деталей, не видимых невооруженным глазом.



Микроскопирование позволяет изучить строение клетки и ее органоидов, наблюдать некоторые процессы жизнедеятельности, например, движение цитоплазмы, деление клетки.



Методы цитологии

Центрифугирование
(фракционирование)

Живые
клетки

Основан на расслоении при вращении
содержимого клетки на составные части в
зависимости от удельного веса органоидов.

Изучение компонентов клетки.

Прежде, чем подвергнуть клетки центрифугированию, **разрушают их клеточные оболочки**. Это достигается продавливанием через маленькие отверстия, ультразвуковой вибрацией, или обычным измельчением растительных тканей пестиком в фарфоровой ступе. После этого ткани помещают в пробирки и с высокой скоростью **вращают в центрифуге**. Крупные компоненты клетки образуют осадок при низких скоростях. Мелкие компоненты клетки выпадают в осадок при более высоких скоростях.

Этапы центрифугирования:

- низкая скорость (ядра, цитоскелет);
- средняя скорость (хлоропласты);
- высокая скорость (митохондрии);
- очень высокая скорость (рибосомы).



МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КЛЕТОК В ЦИТОЛОГИИ

| Метод | Какие клетки | Краткое описание метода | Что изучается |
|---|--------------|--|--|
| Световая микроскопия | Неживые | С помощью светового микроскопа достигается увеличение в 2000 – 2500 раз. | Многостороннее исследование клеточных структур и их функций. |
| Электронная микроскопия | Неживые | Вместо света используется быстрый поток электронов, а стеклянные линзы заменены электромагнитными полями. | Многостороннее исследование клеточных структур и их функций. |
| Прижизненной окраски | Живые | Проникая в клетку, красители соединяются с белками, и вначале вся цитоплазма приобретает диффузную окраску, после чего некоторые красители откладываются в цитоплазме в виде гранул. | Выявляются изменения, происходящие в клетках и тканях при разных внешних воздействиях. |
| Микрохирургии | Живые | Разнообразные операции на клетках с использованием прибора микроманипулятора. | Для получения клонов. Роль ядра и цитоплазмы в жизни клеток. |
| Микрохимический | Любые | Методы с помощью которых производится определение от 10 до 0,01 мг вещества. | Содержание белков, фосфора, аминокислот, нуклеиновых кислот, сахаров и т. д. |
| Ультромикрохимический | Любые | Методы с помощью которых производится определение до 0,01 мг вещества. | Содержание в клетках белков, фосфора, аминокислот, нуклеиновых кислот, сахаров и т. д. |
| Рентгеноструктурного анализа | Живые | Основан на явлении дифракции рентгеновских лучей. | Строение молекул белков, нуклеиновых кислот и других веществ, входящих в состав цитоплазмы и ядра клеток. |
| Меченых атомов (авторадиография) | Живые | В молекуле меченого вещества один из атомов замещен атомом того же вещества, но обладающим радиоактивностью. Благодаря тому, что эти изотопы обладают радиоактивным излучением, их можно легко обнаружить. | Синтез белков и нуклеиновых кислот, проницаемость клеточной оболочки, локализации веществ в клетке и т. д. |

Методы цитологических исследований

| Метод | Сущность метода |
|-------------------------|--|
| Световая микроскопия | Прохождение лучей света через объект исследований. Увеличение в 2—3 тысячи раз. Изучение общего плана строения клетки и ее органелл, размеры которых меньше 200 нм. Применение красителей, которые избирательно окрашивают отдельные органеллы или их компоненты. Метод прижизненного изучения клеток позволяет изучить определенные процессы жизнедеятельности клеток |
| Электронная микроскопия | Прохождение потока электронов через объект. Изучение строения клетки и её органелл под увеличением от 500 тыс. раз и более. Метод растровой (сканирующей) электронной микроскопии позволяет провести изучение структуры поверхности клеток, отдельных органелл. Поток электронов при этом не проходит через объект исследования, а отражается от его поверхности |
| Метод меченых атомов | Введение в клетку веществ с радиоактивными изотопами. Метод позволяет проследить за миграцией веществ в клетке, их превращениями, обнаружить локализацию и характер биохимических процессов |