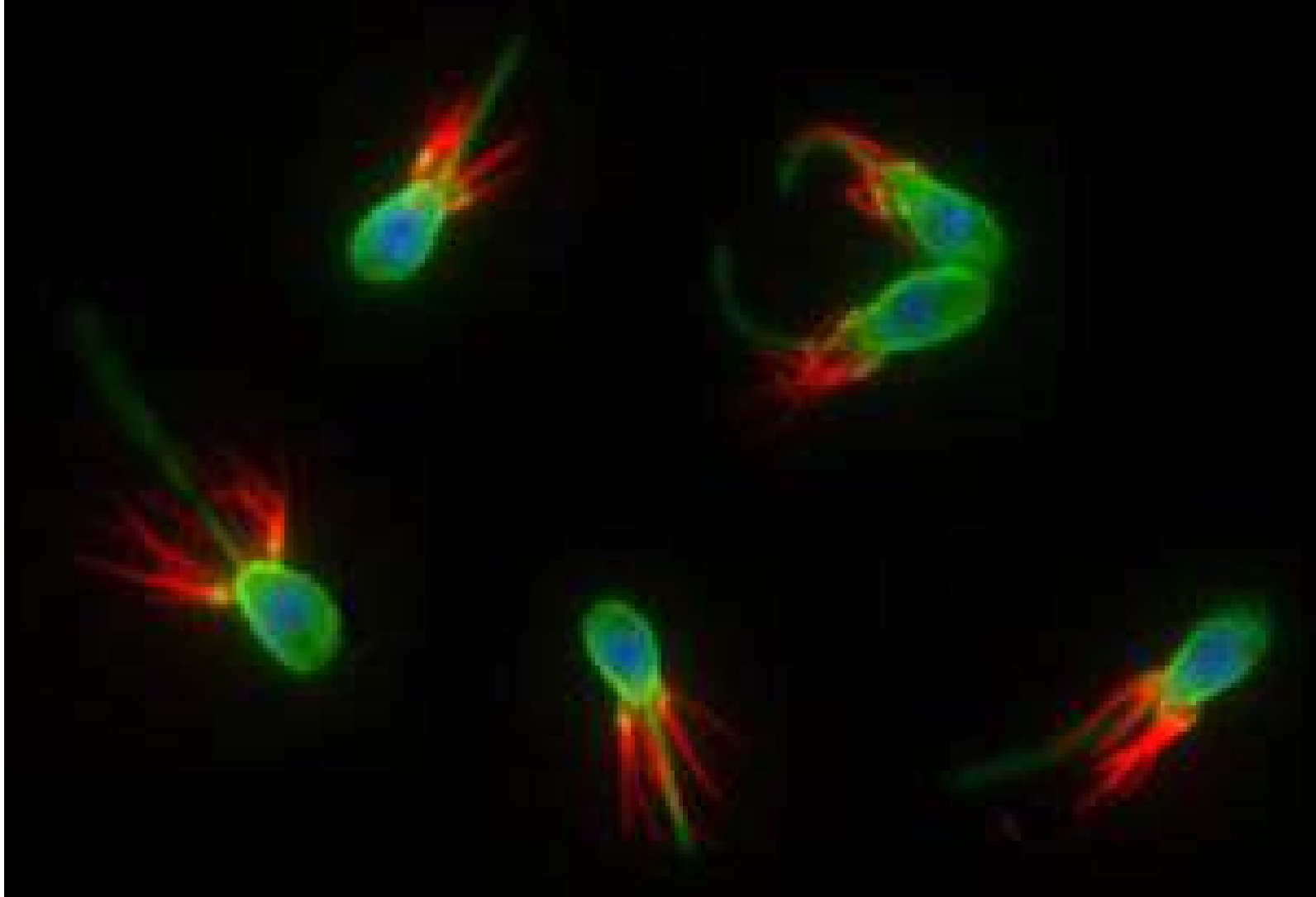


Современная протистология



Новые методы — новые открытия!



Старые методы + новые технологии

Современные типы микроскопов:

- конфокальный,
- флуоресцентный,
- двухфотонный лазерный,
- рентгеновский,
- зондовый туннельный,
- атомно-силовой,
- ближнепольный,
- акустический и др.



Разрешение микроскопии удалось
увеличить, благодаря использованию
электронов вместо фотонов.

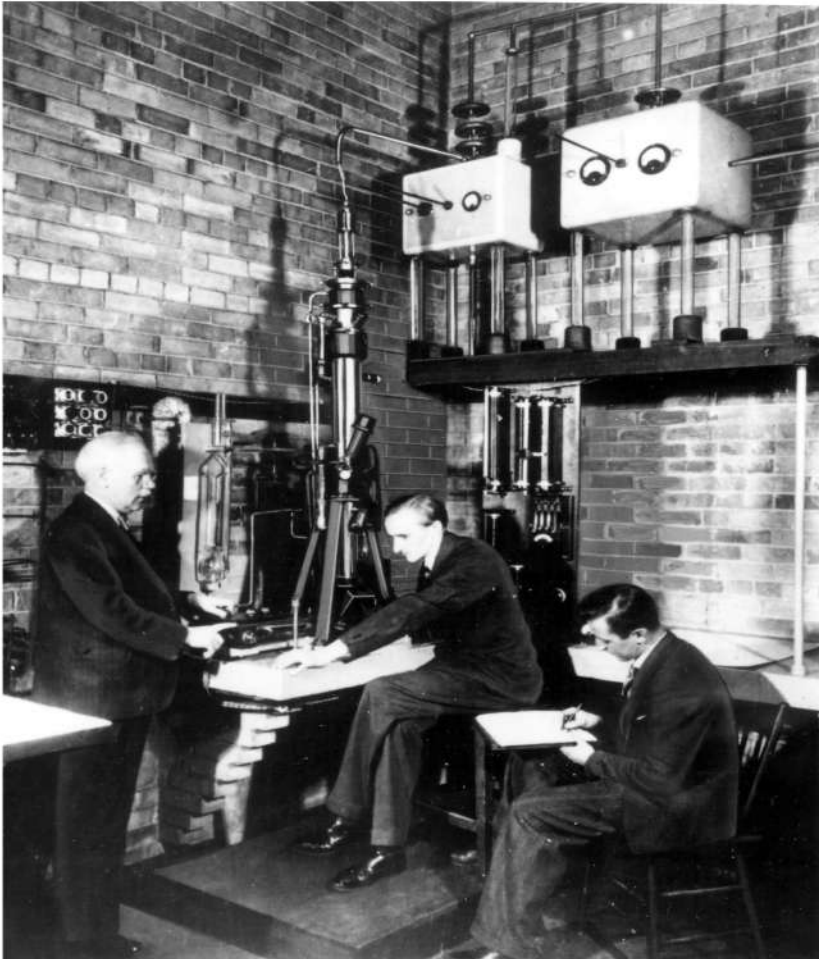
Волновые свойства электронов

Луи де Бройль предложил гипотезу о волновой природе материальных частиц (1923-1924 г.).

Лауреат Нобелевской премии 1929 г. «за открытие волновой природы электрона».

Длина волны квантовой частицы обратно пропорциональна её скорости.

Начало электронной микроскопии



Профессор Эли Франклин Бёртон и его ученики Альберт Пребус и Джеймс Хильер

В 1938 г. в Университете Торонто (Канада) был изготовлен один из первых просвечивающих ЭМ с высоким качеством снимков (на фото - бактерии туберкулёза и брюшного тифа)



С 60-х годов XX века электронная микроскопия активно развивается

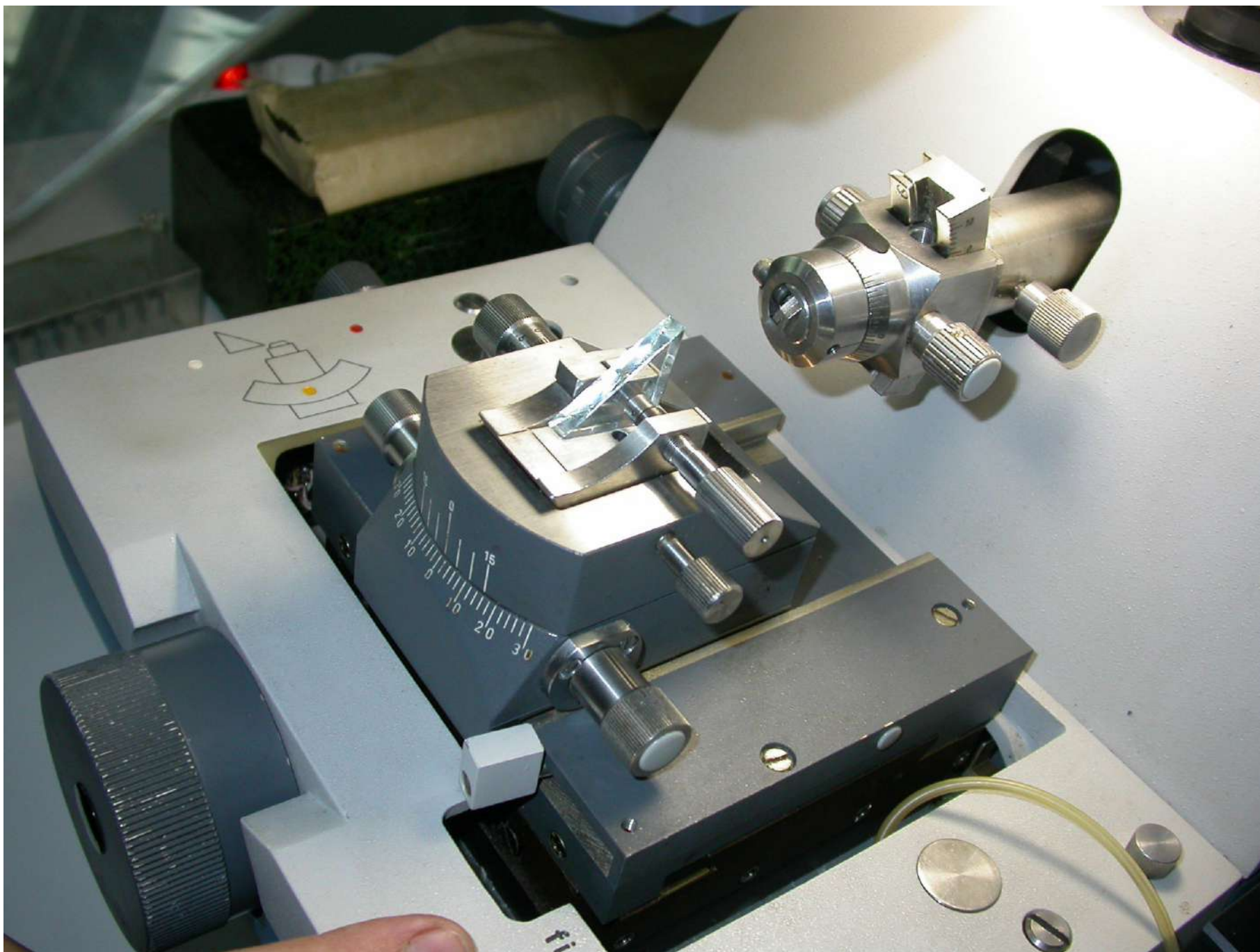


Первый ТЭМ,
сконструированный
Эрнстом Руска в 1933 г.

Электронная микроскопия

- Просвечивающий, или трансмиссионный электронный микроскоп (ТЭМ, или ПЭМ);
- Просвечивающий растровый электронный микроскоп (STEM);
- Сканирующий, или растровый электронный микроскоп (СЭМ, или РЭМ);
- Гелиевый ионный микроскоп (HeIM);
- Низковольтный электронный микроскоп (LVEM);
- Криоэлектронный микроскоп (КриоЭМ).

Приготовление срезов на ультрамикротоме



"Окраска" срезов солями урана и свинца



Установка препаратов в "держателе"



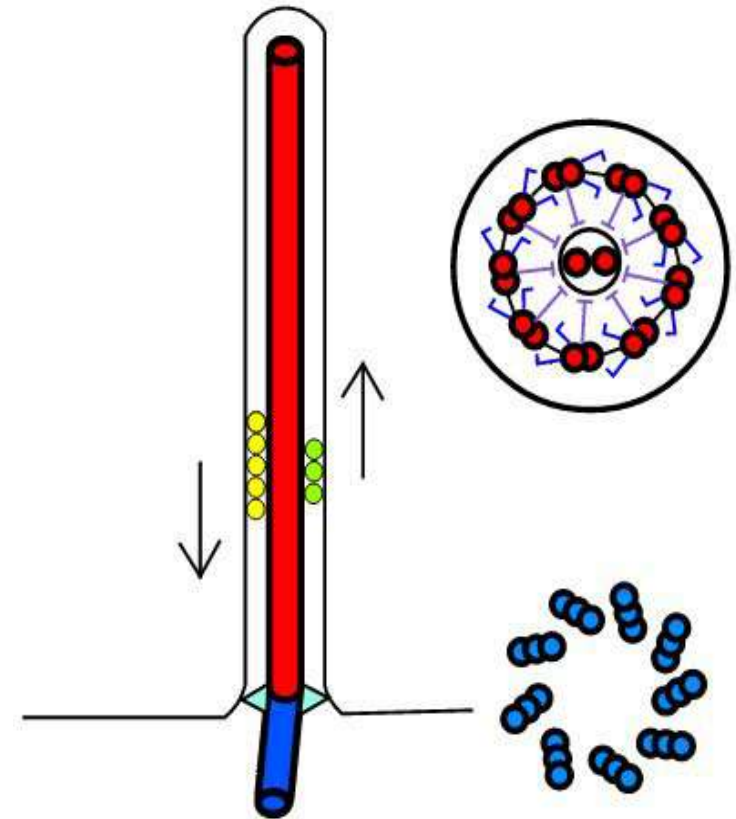
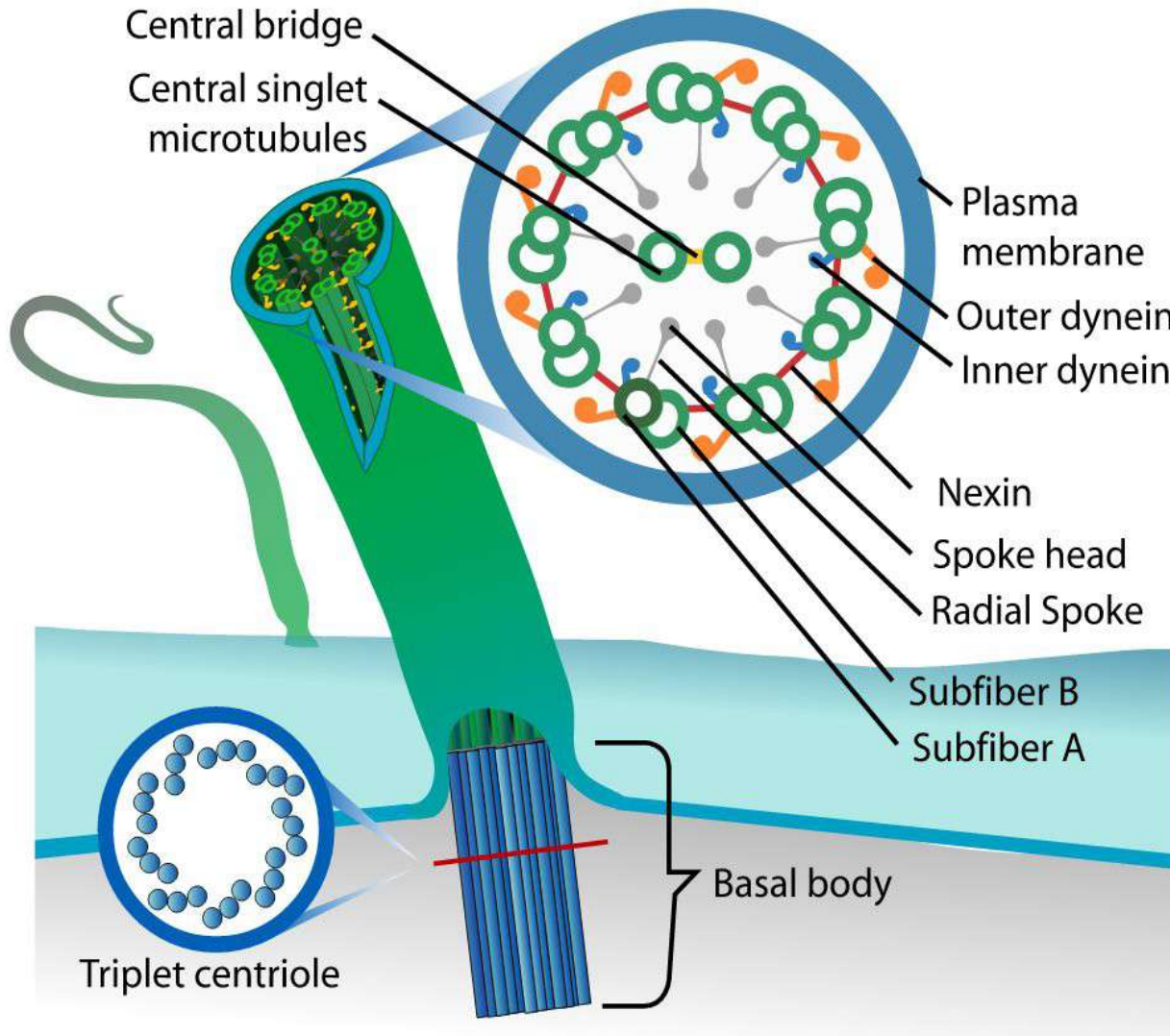
Работа на электронном микроскопе



Пример микрофотографии ТЭМ
(срез клетки инфузории)



Обычная ресничка, или жгутик, или флагелла = $9 \times 2 + 2$
 Кинетосома, или базальное тельце = $9 \times 3 + 0$
 У кинетосомы могут быть корневые структуры

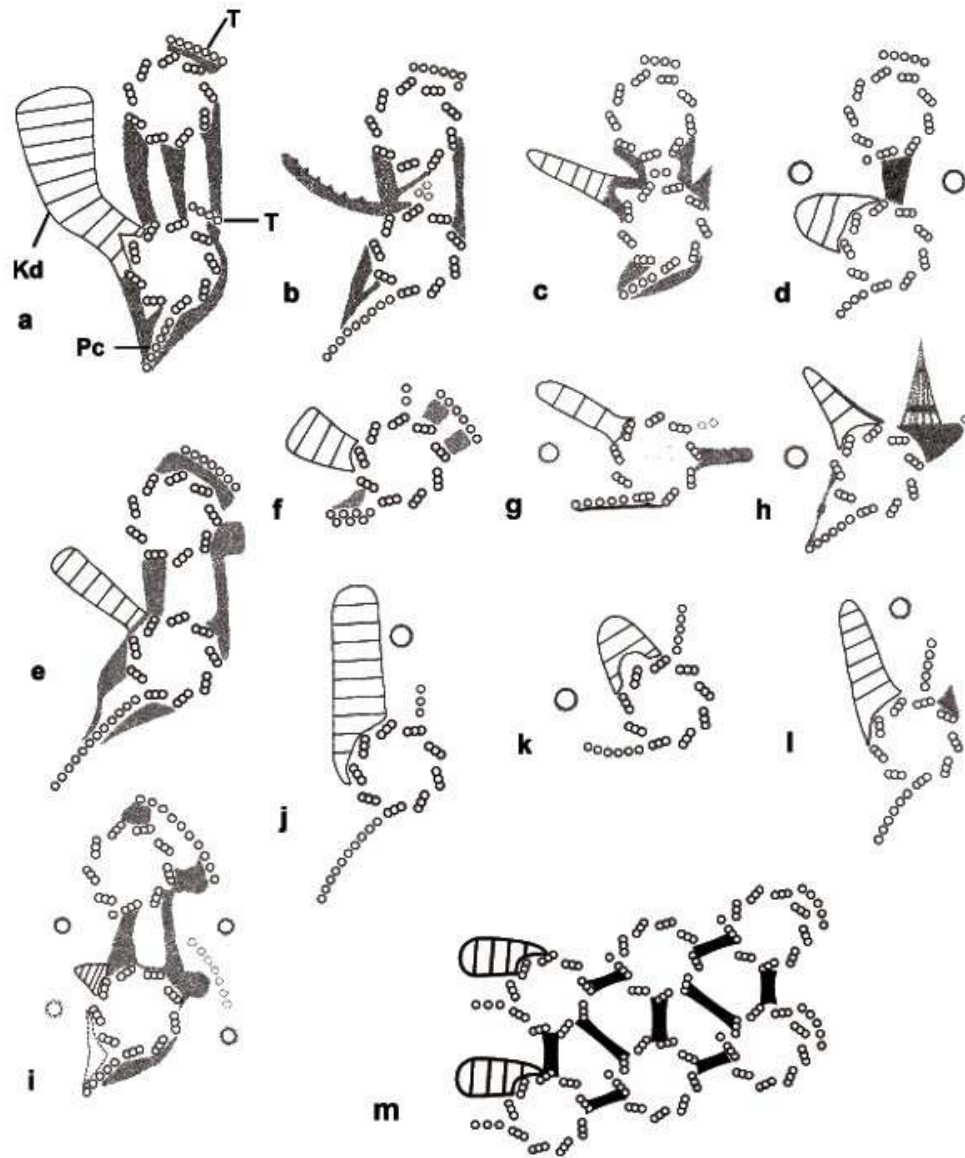


жгутик бактерии



Жгутик бактерии - белковая нить, вращаемая молекулярным мотором.

Не путать с жгутиком/ресничкой эукариот!



Schematics of somatic kinetids of genera representative of each class in the Phylum Ciliophora. (a) *Loxodes* – Class KARYORELICTEA; (b) *Blepharisma* – Class HETEROTRICHEA; (c, d) *Protocruzia* (c), *Euplotes* (d) – Class SPIROTRICHEA; (e) *Metopus* – Class ARMOPHOREA; (f) *Balantidium* – Class LITOSTOMATEA; (g) *Chilodonella* – Class PHYLLOPHARYNGEA; (h) *Obertrumia* – Class NASSOPHOREA; (i) *Colpoda* – Class COLPODEA; (j) *Plagiopyla* – Class PLAGIOPYLEA; (k) *Holophrya* – Class PROSTOMATEA; (l) *Tetrahymena* – Class OLIGOHYMENOPHOREA; (m) *Plagiotoma* – Class SPIROTRICHEA. Kd – kinetodesmal fibril; Pc – post-ciliary microtubular ribbon; T – transverse microtubular ribbon (from Lynn, 1981, 1991)

Роль ресничек в жизни позвоночных, в том числе - человека

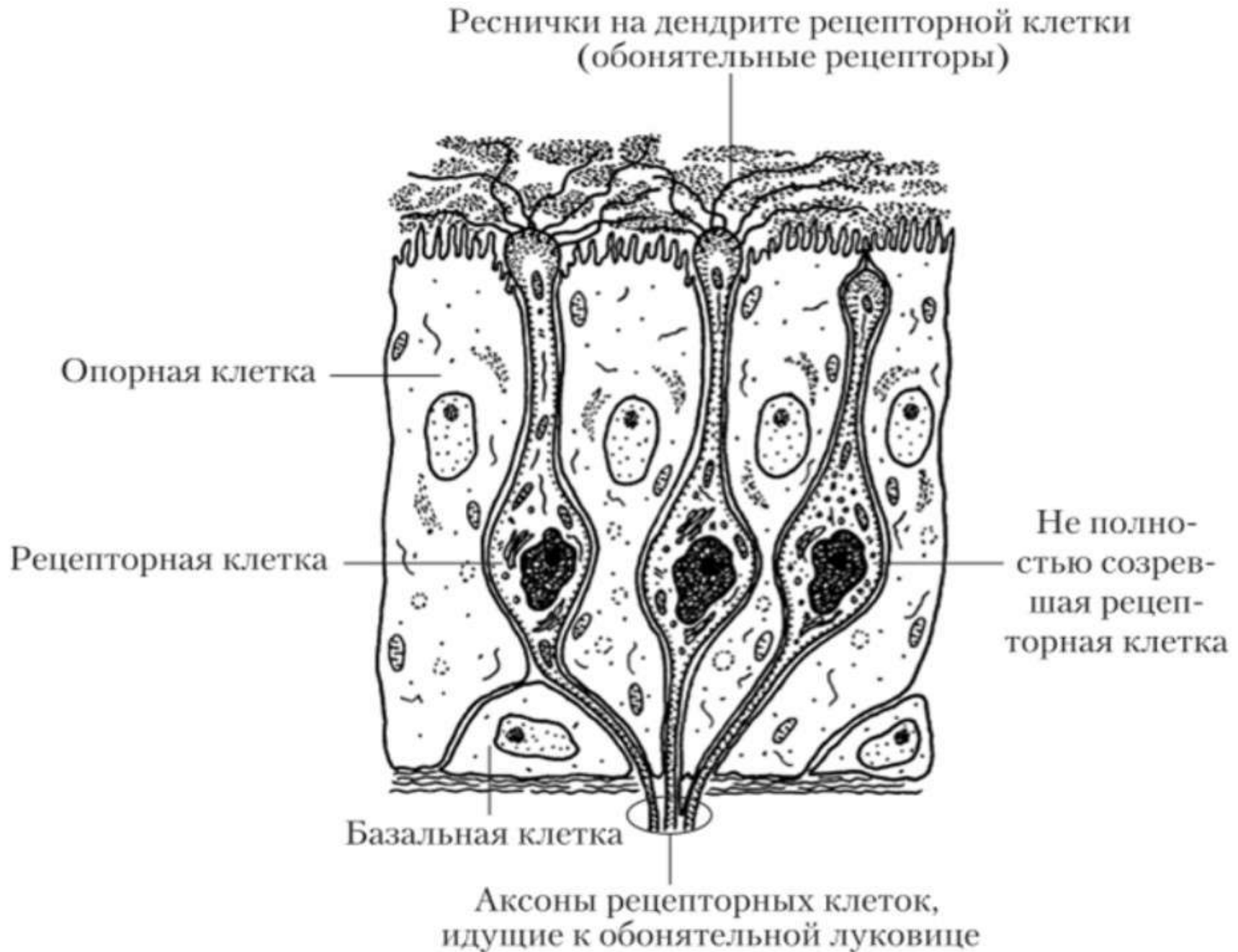
1. Жгутик подвижной клетки (сперматозоид).
2. Подвижные (вторичные) реснички клеток эпителия дыхательных путей, половых протоков, нервной трубки и др.
3. Неподвижные (первичные) реснички у большинства типов клеток (кроме эритроцитов).

Первичные реснички (9+0)

Неподвижные реснички - сенсорные клеточные антенны, которые координируют многие клеточные сигнальные пути.

У большинства клеток — одна ресничка. У обонятельного сенсорного нейрона — около 10 ресничек.

Обонятельный эпителий



Первичные реснички

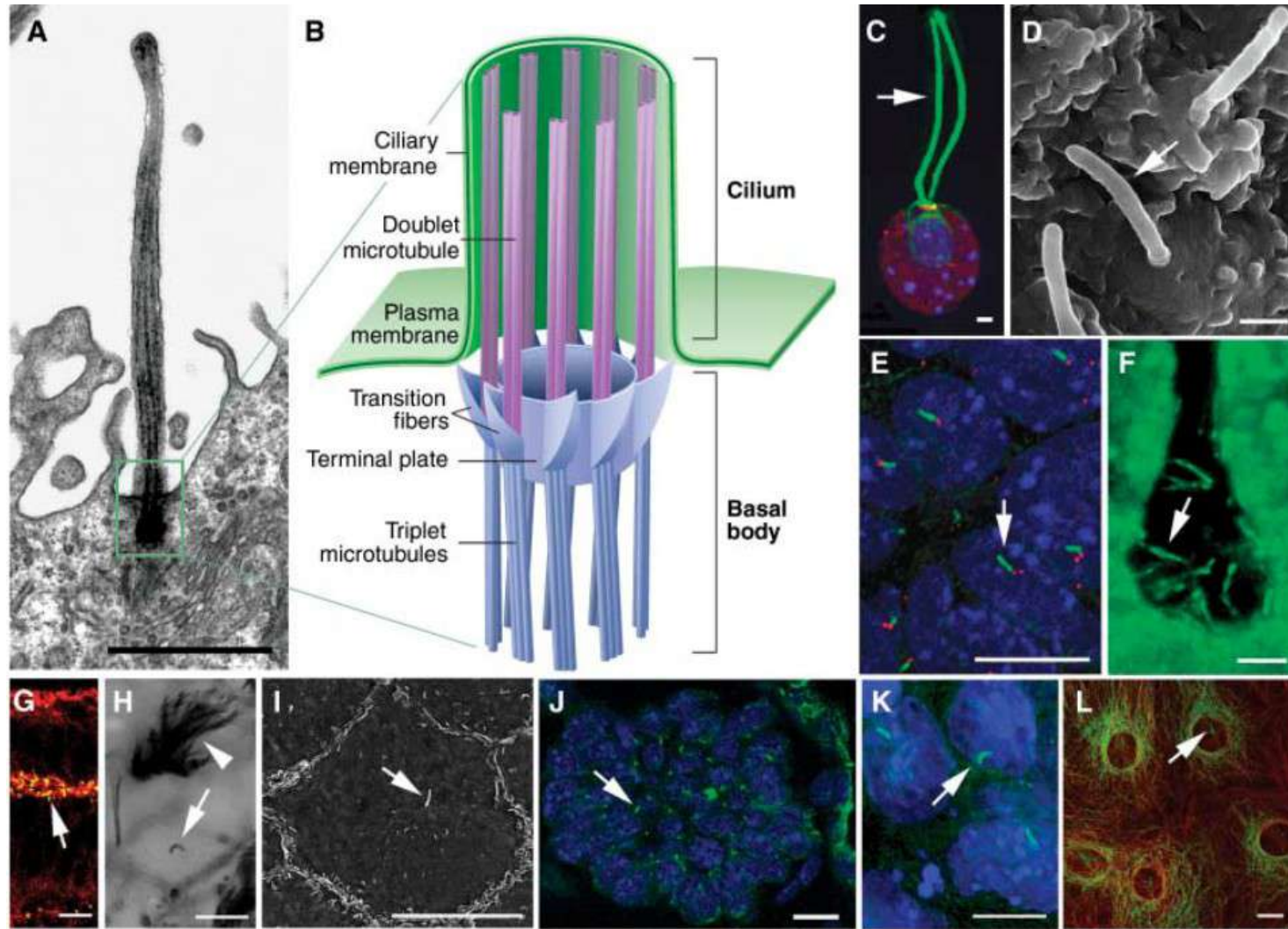


Fig. 1. Primary cilia are highly structured and are found in many organisms and on many cell types. **(A)** Electron micrograph of the primary cilium of a canary brain radial glia (69). **(B)** Schematic showing structure of the basal body and primary cilium [modified from (6, 70)]. **(C)** The green alga *Chlamydomonas* showing flagella (green, arrow) and basal body (red). Nuclei are blue. **[(D) to (L)]** Scanning electron and immunohistological images of primary cilia (arrows) of **(D)** the mouse node, **(E)** the mouse neural tube, emanating from basal bodies (red), **(F)** the *Xenopus* neural tube, **(G)** the zebrafish neural tube, **(H)** a mouse neurogenic astrocyte, **(I)** a mouse embryonic epidermal cell, **(J)** a mouse somite, **(K)** mouse embryonic stem cells, and **(L)** mouse astrocytes expressing glial fibrillary acidic protein (red). Also shown in **(H)** are motile ependymal cell cilia (arrowhead). Scale bars, 1 μm **[(A), (C), (D)]** and 10 μm **[(E) to (L)]**. Singla, Reiter, 2006

Вторичные реснички (9+2)

У подвижных ресничек основная функция — **движение.**

У большинства клеток — множество ресничек.

На одной клетке дыхательного эпителия человека — около 200 ресничек.

«Нестандартные» реснички

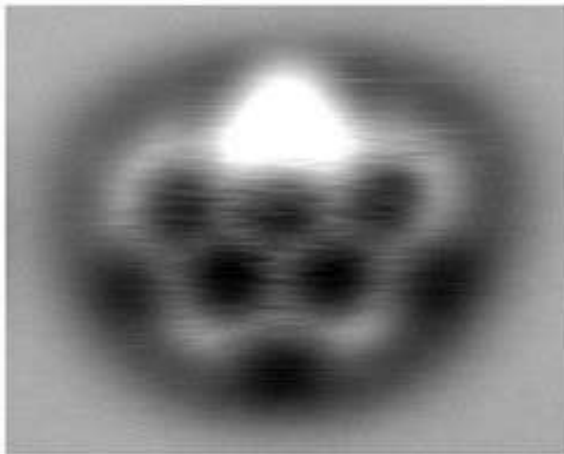
Подвижные 9+0 (одиночные) — на раннем этапе гаструляции, обеспечивают **левосторонний** поток жидкости вокруг эмбриона.

Подвижные 9+0 (множественные) — в эпителии сосудистого сплетения мозга.

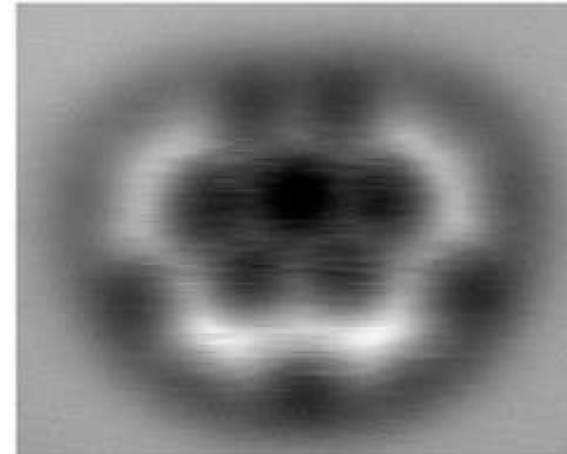
Неподвижные 9+2 — в волосковых клетках внутреннего уха (на одну ресничку приходится несколько волосков)

Новые методы позволяют увидеть отдельные молекулы

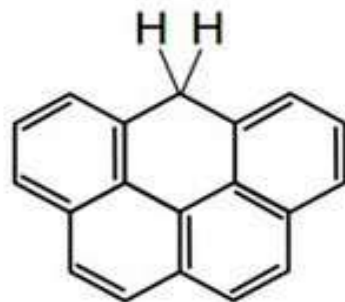
Olympicene on Cu(111) imaged
by atomic force microscopy



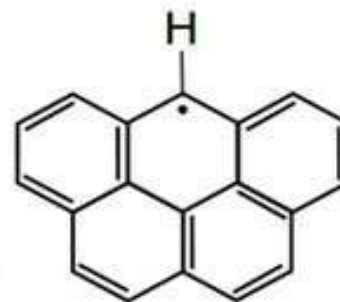
Olympicene



Radical



hydrogen abstraction
by atomic manipulation

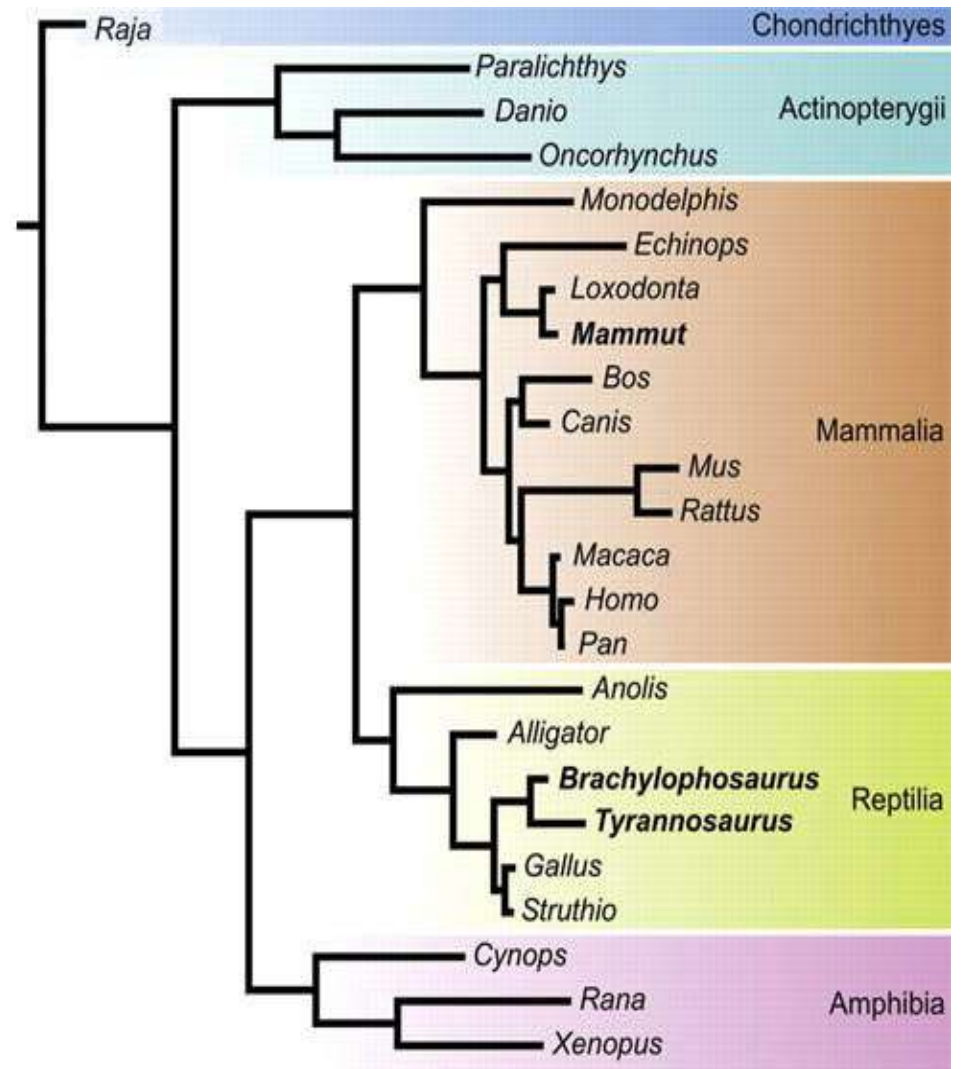


(positions of other
hydrogen are
omitted for clarity)

Старые находки + новые методы

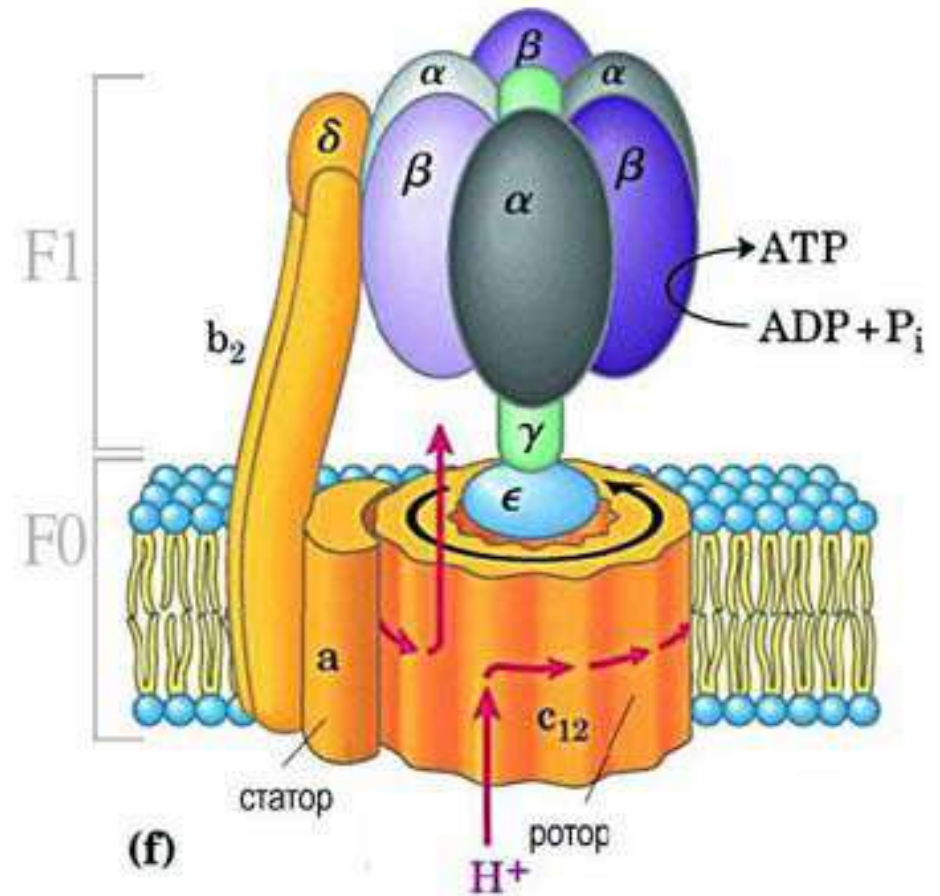
изучение ДНК и др. из музейных экспонатов:

палеонтологические находки, мумии, палеофекалии и др.



Новые методы + новые идеи

- молекулярная систематика
- секвенирование природных проб
- «нокаут генов»
- визуализация молекулярных моторов
- криобанк клеток и тканей
- генные модификации



Воротничковые жгутиконосцы – предки многоклеточных животных

- Полностью расшифрован геном *Monosiga brevicollis*.
- Впервые у одноклеточных организмов найдены гены иммуноглобулинов, коллагена, интегринов, кадхеринов (факторов «слипания» клеток), ферментов сигнального пути (тирозинфосфатазы и др.).
- Таким образом, многоклеточные не «изобретали» новые белки, а «перепрофилировали» старые.

Оптическая микроскопия - актуальна всегда!



Появление и развитие метода оптической микроскопии в XVI - XVII вв. в Европе привело к обнаружению огромной и неизведанной группы организмов - "микроскопически малых" живых существ.

Среди них оказались виды, сочетающие в себе признаки животных и растительных организмов.

Позже были выявлены различные виды многоклеточных организмов с крайне примитивным строением.

Одной из проблем систематики в ботанике и зоологии стала способность самых разных организмов к **фотосинтезу**



Для решения ряда проблем был предложен таксон **Протисты** (Геккель, 1866), включавший спорные группы простейших (например, эвгленовые), а также другие биологические виды – одноклеточные и многоклеточные со слабой дифференциацией тканей.

- Протисты — все эукариоты,
не входящие в состав групп:
«Высшие зелёные растения»,
«Многоклеточные животные»,
«Высшие грибы»

Часто их называют "низшими эукариотами"

«Классические» группы простейших:

- амёбы = саркодовые;
- монады = жгутиконосцы;
- инфузории = ресничные;
- споровики

Экологические группы протистов:

- **«растениевидные»** (способные к фотосинтезу);
- **«грибоподобные»** (преимущественно осмотрофные, т.е. «всасывающие»)
- **«животноподобные»**
(преимущественно фагоцитирующие)



Современная система эукариот,
 разработанная Международной комиссией
 в 2005 г.



Обновлённая система эукариот с основными группами протистов

Группы протистов, представителей которых изучают в средней школе

Archaeplastida: Rhodophyta (получение агар-агара),
Chlorophyta (хлорелла, хламидомонада, кладофора)

Heteroconta: Phaeophyta (ламинария, фукус, макроцистис)

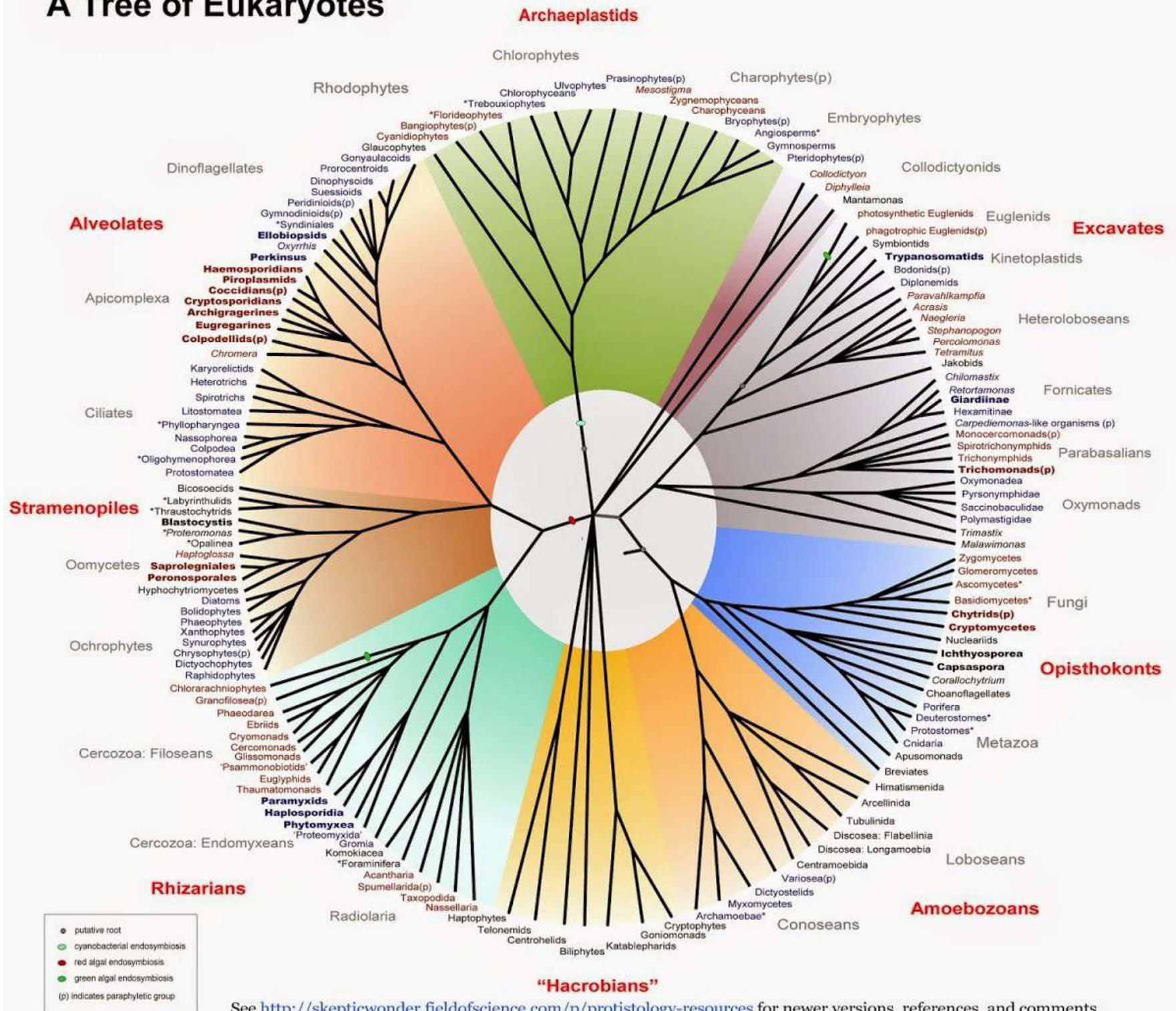
Alveolata: Ciliata (инфузории), Apicomplexa (малярийный плазмодий, токсоплазма)

Excavata (Euglenozoa): Kinetoplastidea (трипаносома, лейшмания), Euglenoidea (эвглена)

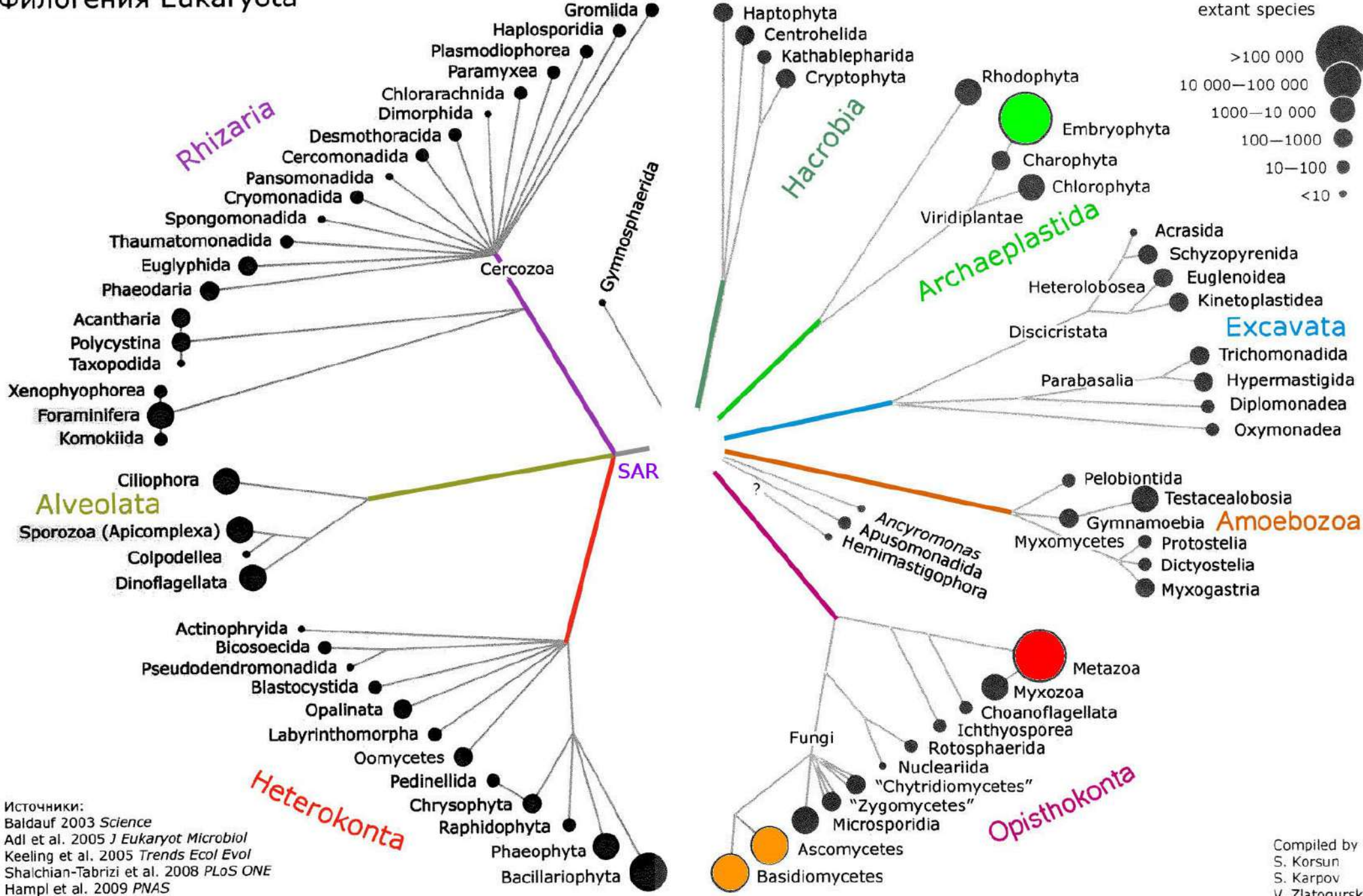
Amoebozoa: Lobosa (амёба-протей)

Opisthokonta: Fungi (пекарские дрожжи)

A Tree of Eukaryotes



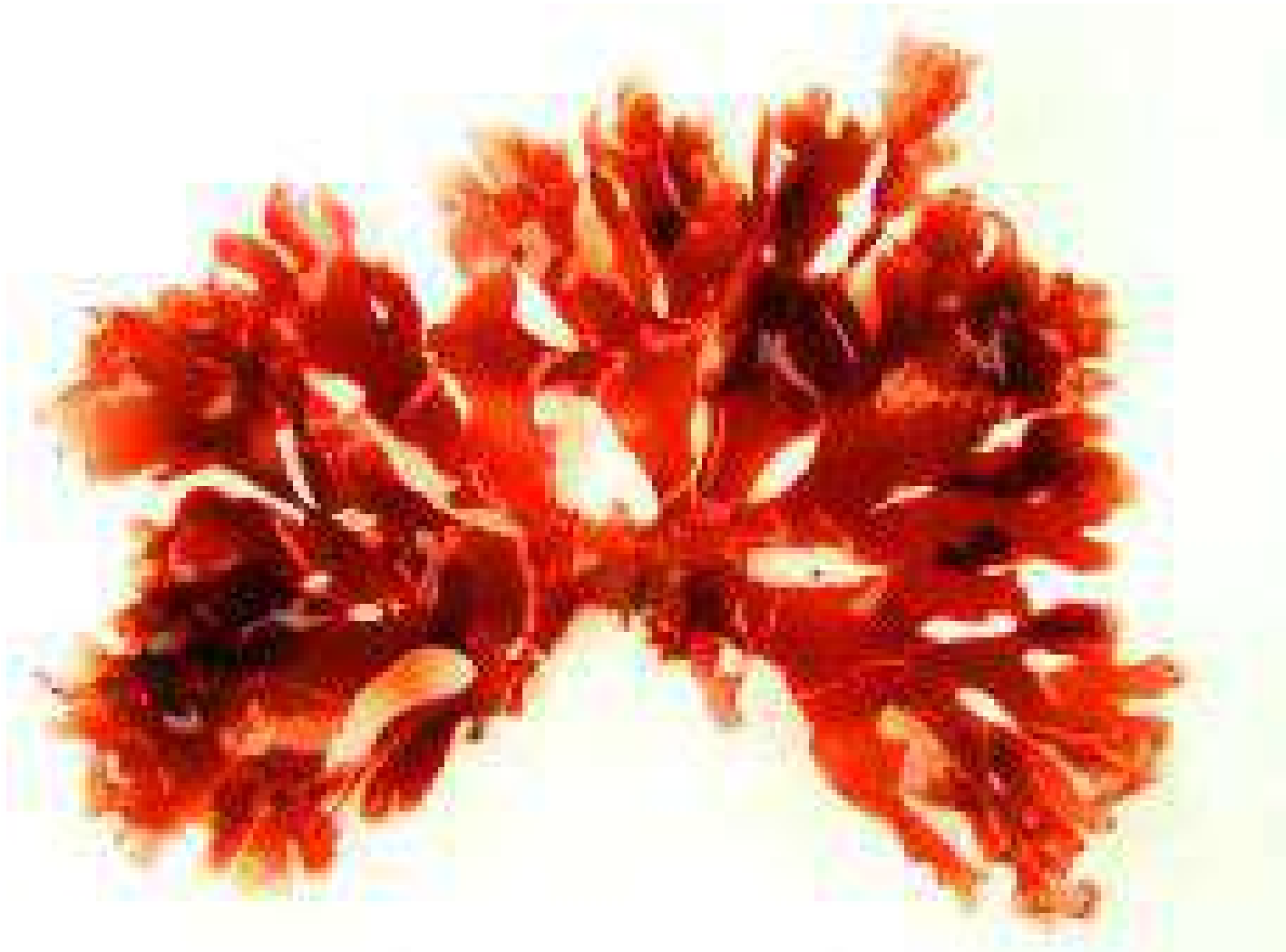
Филогения Eukaryota



Источники:
 Baldauf 2003 *Science*
 Adl et al. 2005 *J Eukaryot Microbiol*
 Keeling et al. 2005 *Trends Ecol Evol*
 Shalchian-Tabrizi et al. 2008 *PLoS ONE*
 Hampl et al. 2009 *PNAS*
 Howe et al. 2011 *Protist*

Compiled by
 S. Korsun
 S. Karpov
 V. Zlatogursky

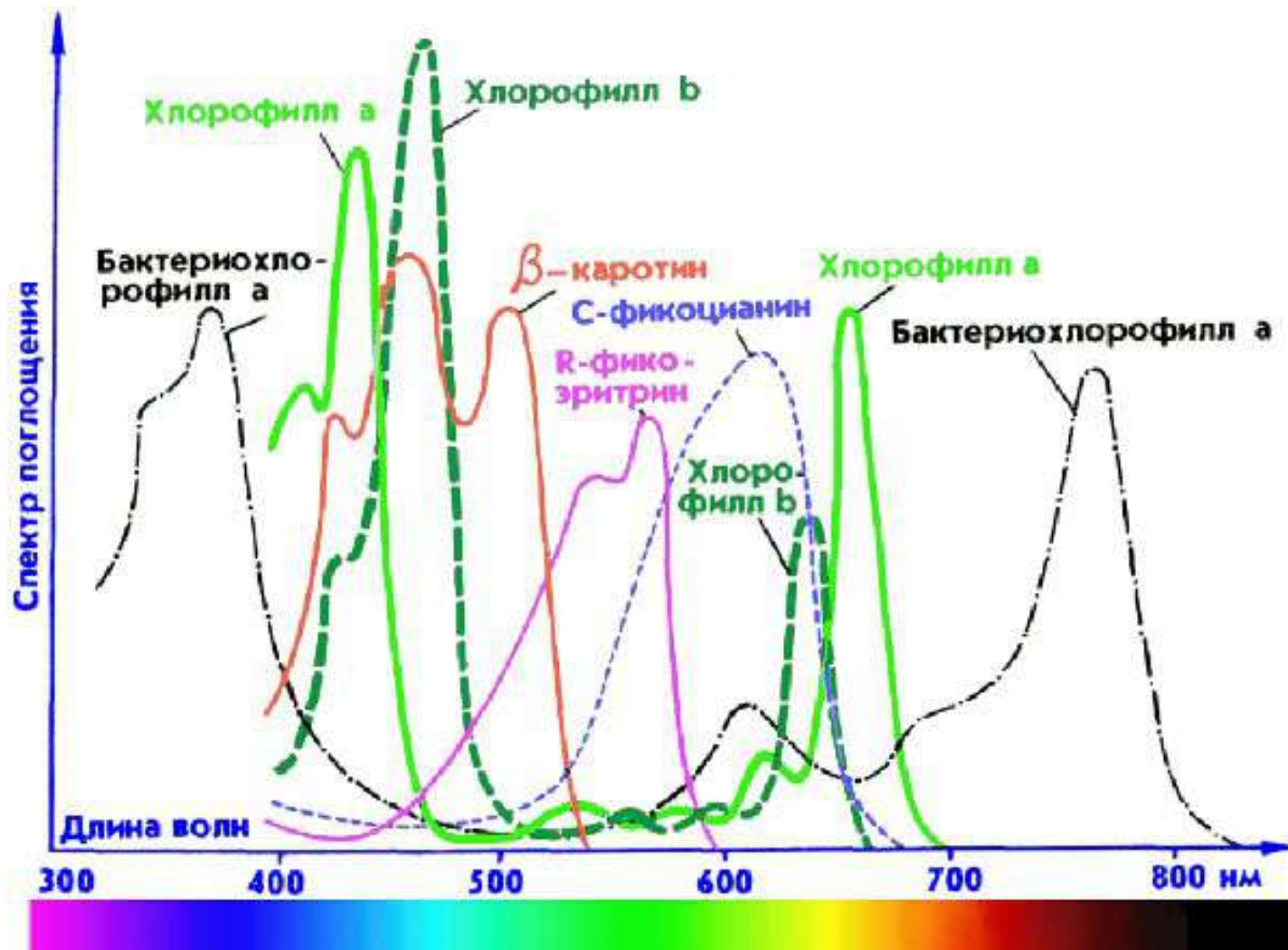
Кто же способен к фотосинтезу?



Фотосинтез

аноксигенный - без выделения кислорода		оксигенный - с выделением кислорода
бесхлорофильный	хлорофильный	
археи - галобактерии	пурпурные бактерии, зелёные бактерии, гелиобактерии	цианобактерии, эукариоты
пигмент - бактериородопсин	пигменты - бактериохлорофиллы	пигменты — хлорофиллы, фикобилины, каротиноиды

Спектры поглощения света пигментами, участвующими в фотосинтезе



Хлоропласты археplastид

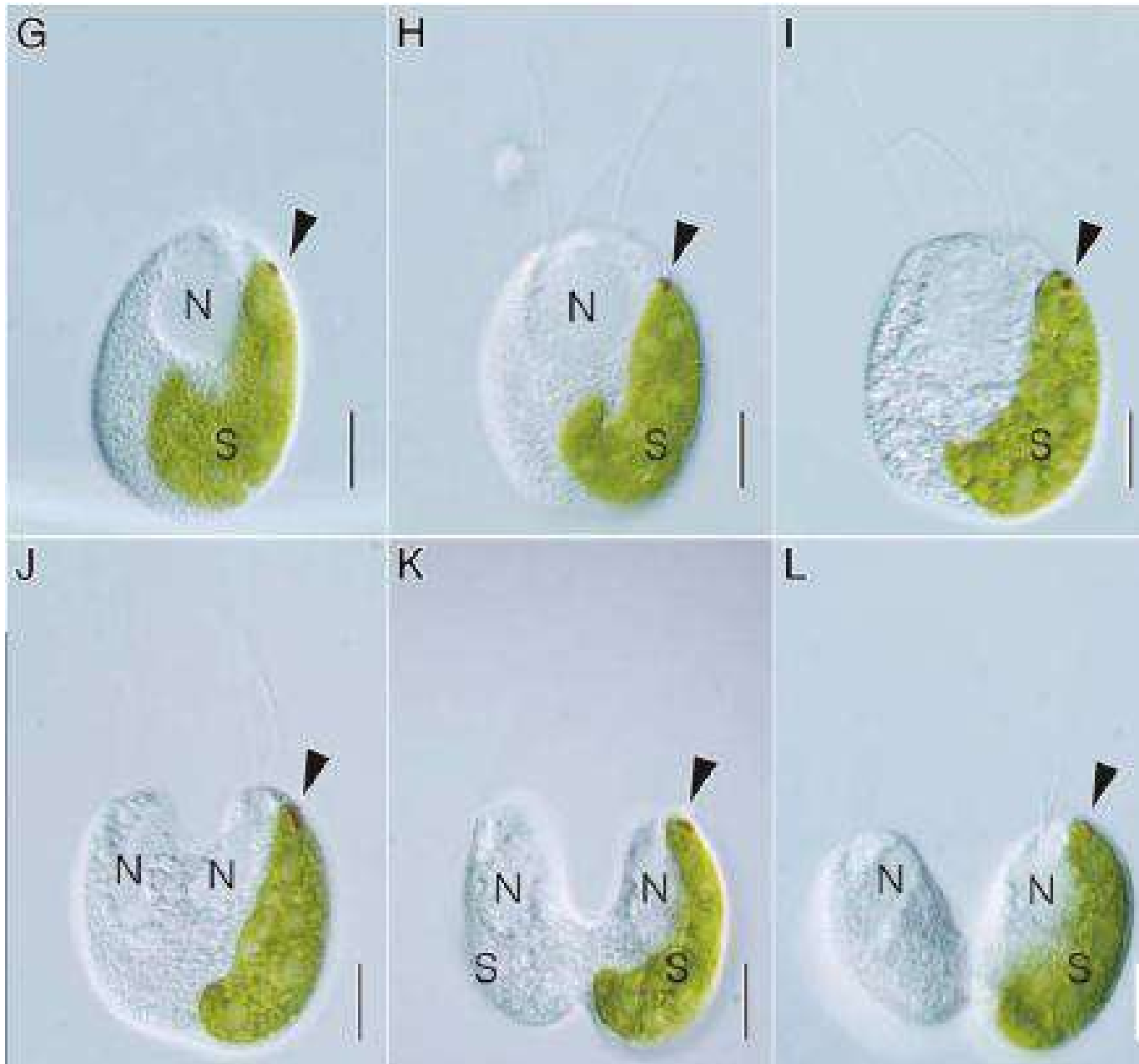
*собственная кольцевая хпДНК (до 40 копий) кодирует
около 120 генов:*

- гены всех 4 рибосомных РНК, до 35 молекул тРНК, 20 (из 60) рибосомных белков хлоропластов;
- гены некоторых субъединиц РНК-полимеразы;
- гены белков I и II фотосистем, 9 из 12 субъединиц АТФ-синтазы;
- гены части белков комплексов цепи переноса электронов;
- гены большой цепи «рубиско» – ключевого фермента связывания CO_2 ;
- гены 40 белков с неизвестными функциями.



В цитоплазме одного из видов **инфузорий** (*Paramecium bursaria*) живет огромное количество **водорослей** (*Zoochlorella*)

Зелёная водоросль и кататлефариды *Hatena arenicola*



N – ядро,
S – симбионт
(зелёная
водоросль
Nephroselmis),
стрелка
указывает на
стигму (глазок),
шкала 10 μm

из Okamoto,
Inouye, 2006

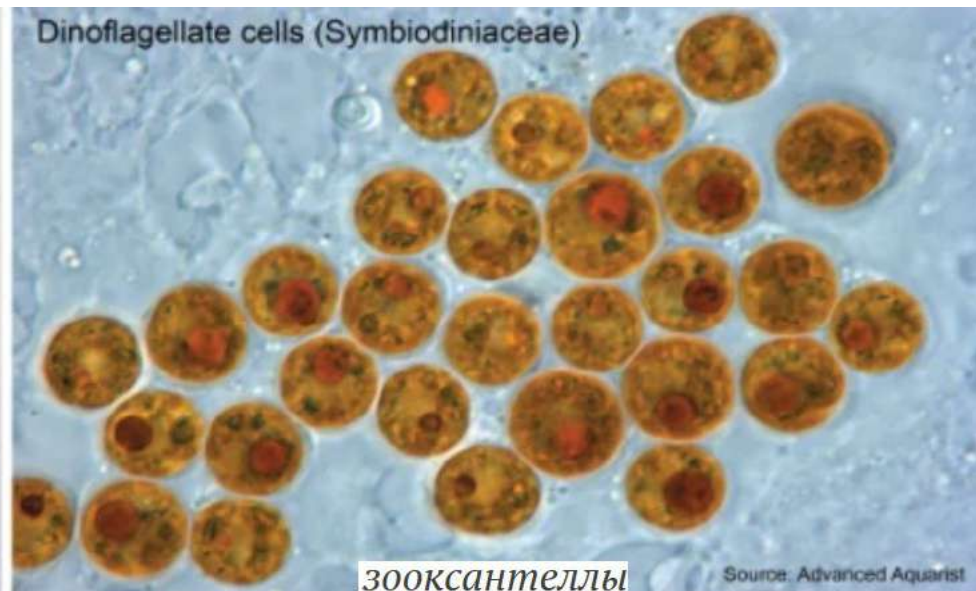
Зооксантеллы и коралловые полипы





Зооксантеллы и тридакна

Моллюск *Tridacna squamosa* (a) и его фекальные гранулы (b). Фото: Kazuhiko Koike.



Инфузория захватывает хлоропласты криптофитовых водорослей (клеттопластия)

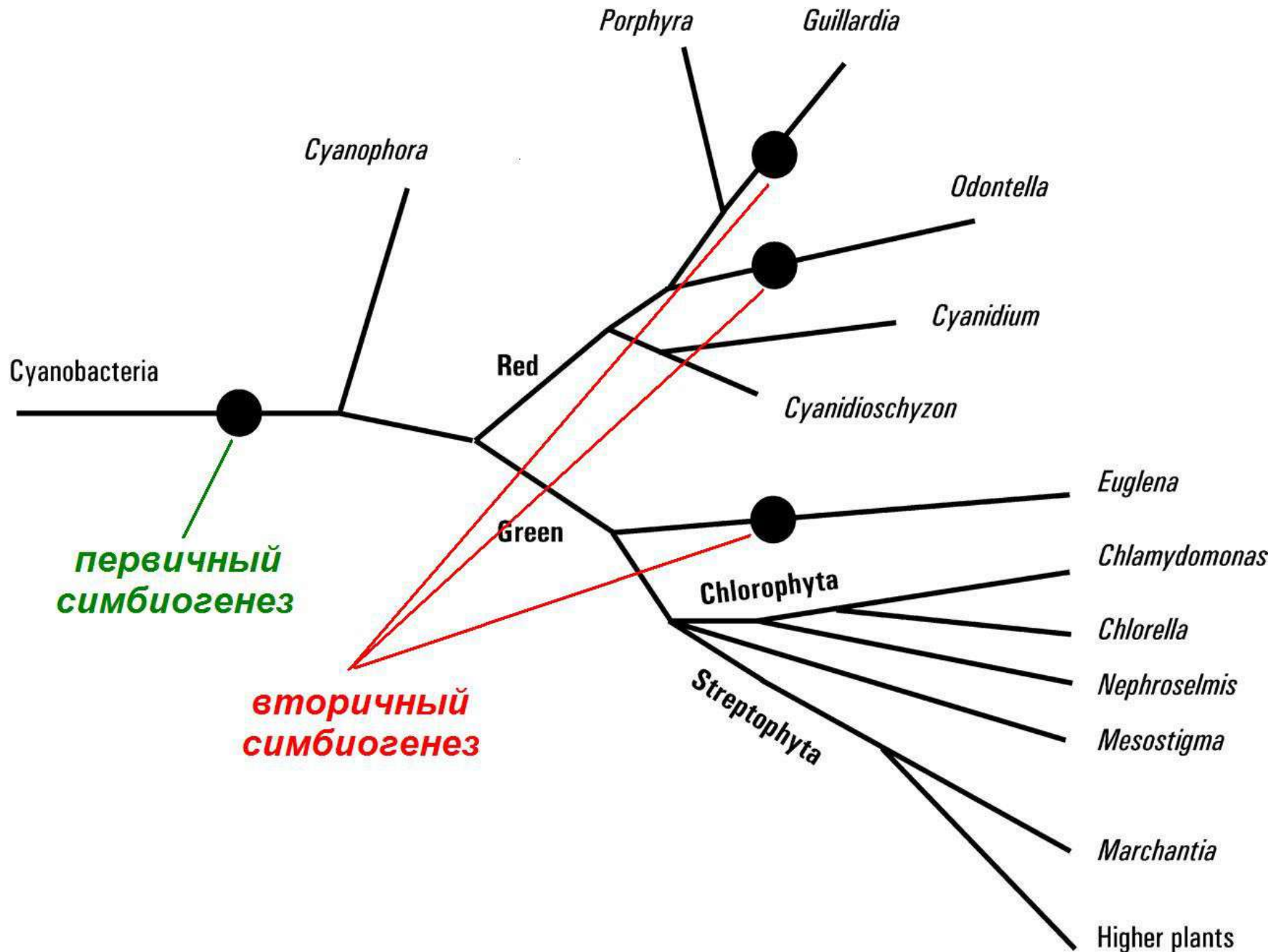


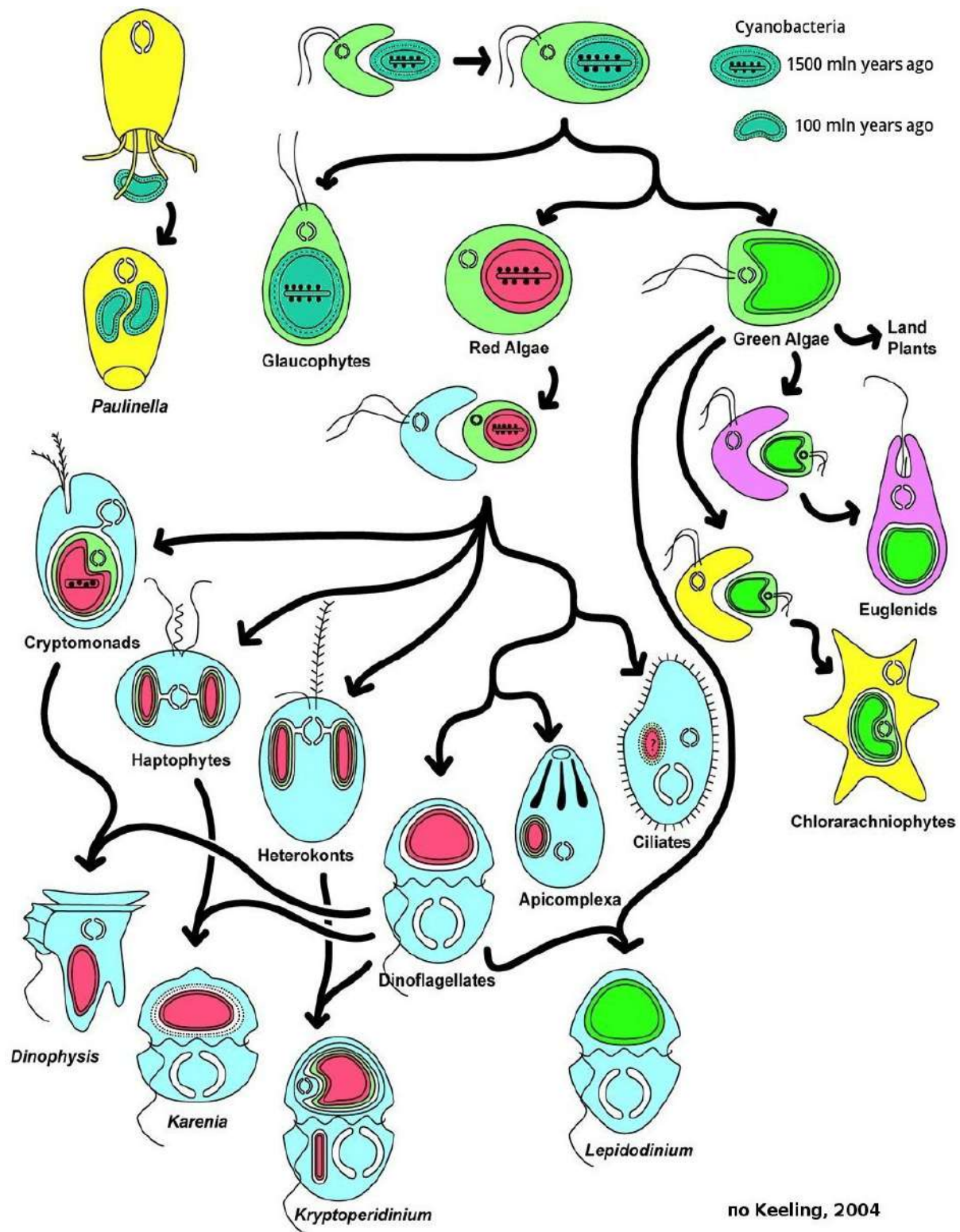
Морской моллюск - элизия



Хлоропласты могут много месяцев жить и «работать» внутри чужих организмов (клептопластия)

Филогения пластид





первичный симбиогенез

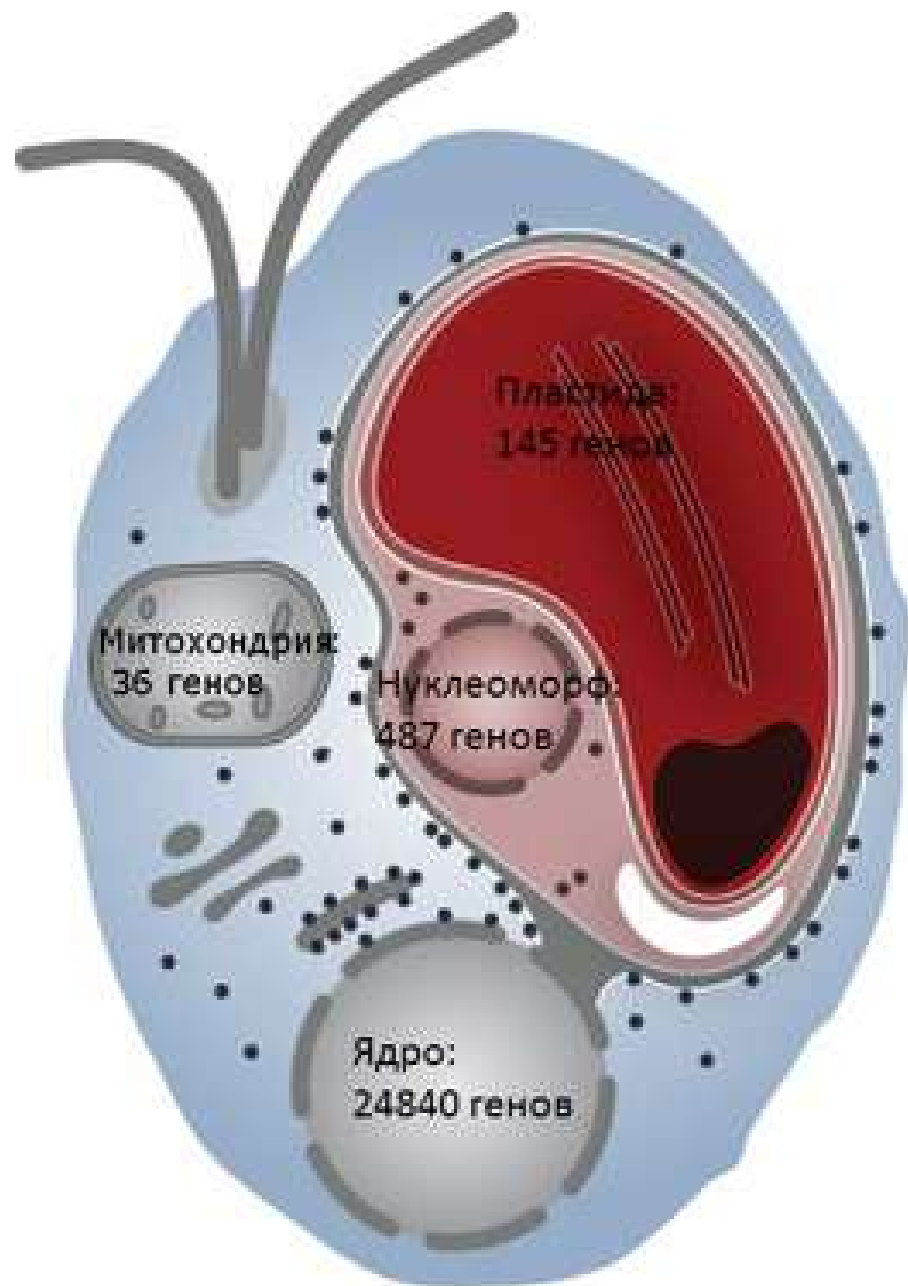
вторичный симбиогенез

третичный симбиогенез

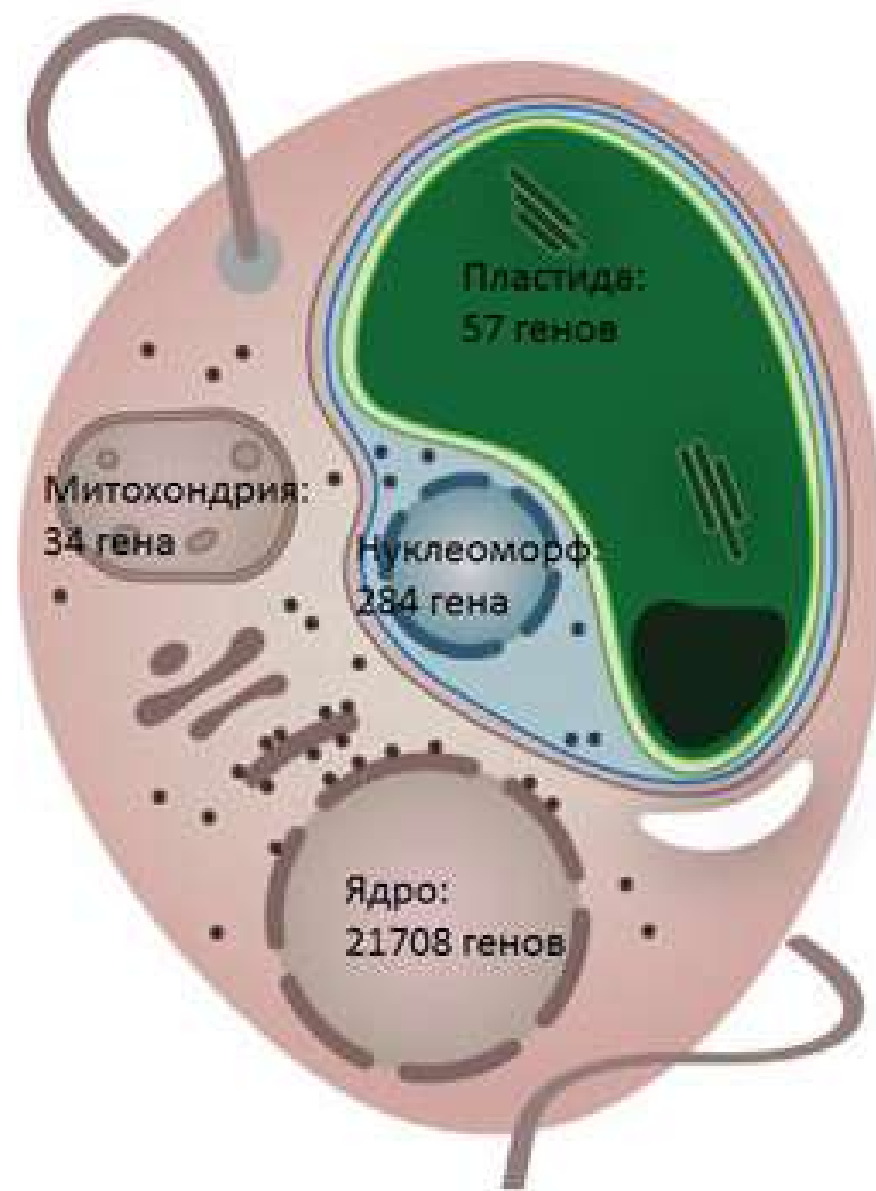
Эволюция пластид

по Keeling, 2004

Вторичный эндосимбиогенез (по Curtis et al., 2012)



Криптофитовая водоросль *Guillardia theta*



Хлорархниофитовая водоросль *Bigelowiella natans*

(царство) Археопластиды *Archaeplastida* Adl et al., 2005

- *Глаукофитовые водоросли*: пластида - цианелла;
- *Красные водоросли*: нет жгутиковых стадий;
- *Зелёные водоросли*: частые эндосимбионты
- (Высшие зелёные растения = Эмбриофиты)

Цианеллы в клетке глаукоцистиса

(от цианобактерии сохранилась клеточная стенка из пептидогликана-муреина)



Rhodophyta – Красные водоросли



Chondrus crispus – «Ирландский мох»

Chlorophyta – Зелёные водоросли

Вольвокс, хлорелла, хламидомонада и др.



*Chlamydomonas
nivalis*

Астаксантин

(E161j)

- красный пигмент каротиноид (ксантофил), более насыщенный кислородом, чем β -каротин, вырабатывается протистами при неблагоприятных условиях, защищает от яркого света и УФ лучей.

Придает красный цвет мясу лососевых рыб, крилю, ракам, перьям некоторых птиц.

Добавляют в корм, чтобы придать цвет рыбе.

(царство) **Экскаваты**

Excavata Cavalier-Smith, 2002

- группа Discoba
 - Euglenozoa - Эвгленовые
 - Percolozoa = Heterolobosea
 - Jakobea (Loukozoa)
- группа Metamonada
 - Preaxostyla
 - Fornicata
 - Parabasalia

(подцарство/тип) **Эвгленозои** = Эвгленовые
(подтип/класс) Эвгленоидеи (Жгутиконосцы)

- (класс/отряд) **Эвглениды**

эвглена, факус (с хлорофиллом)

астазия (бесцветная)

- (класс/отряд) **Кинетопластиды**

бодо (свободноживущий)

трипаносома, лейшмания (паразиты)

Astasia longa

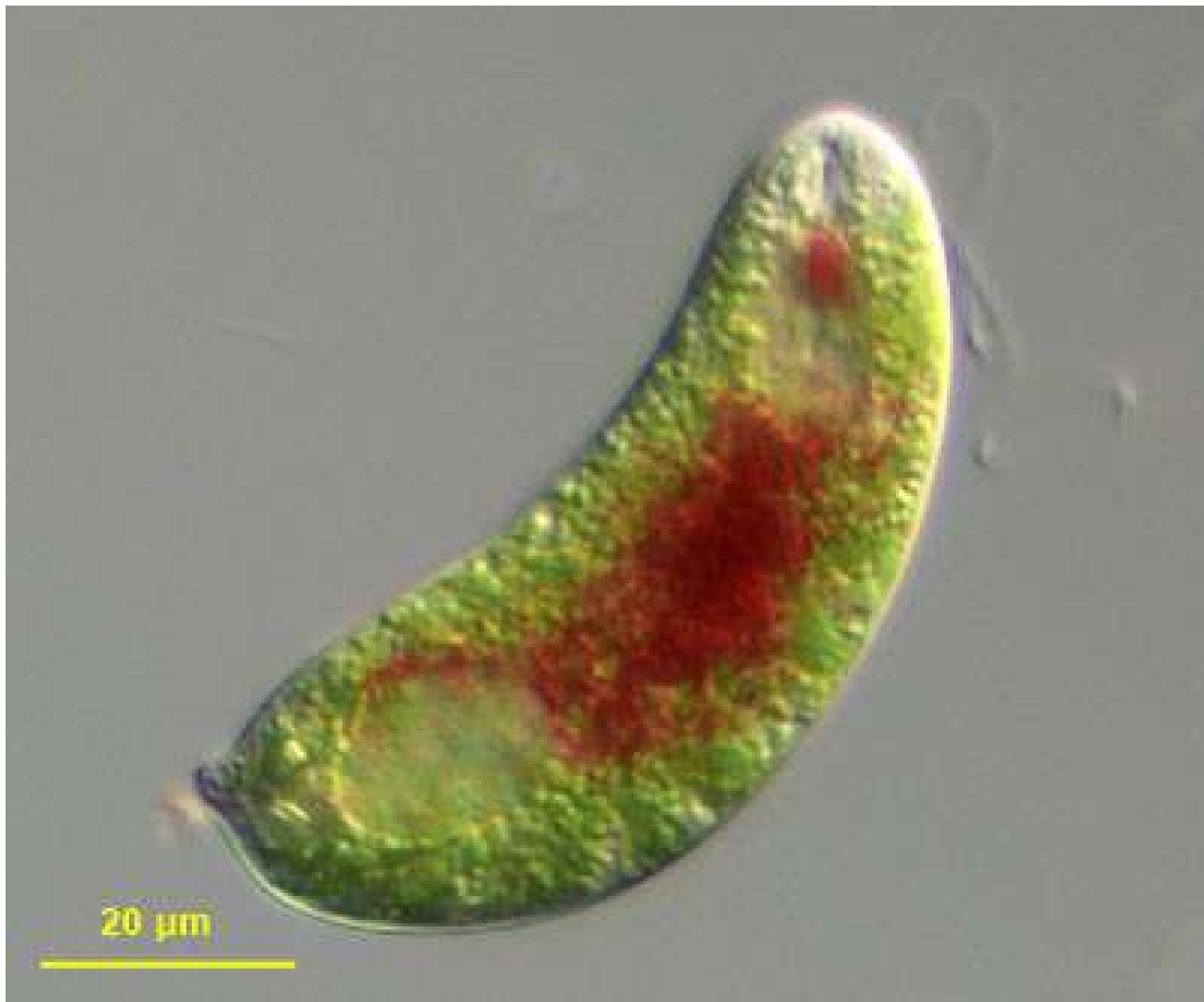


Euglena viridis (Müller) Ehrenberg, 1832



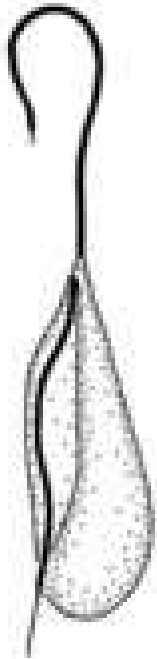
***Euglena sanguinea* Ehrenberg, 1830**



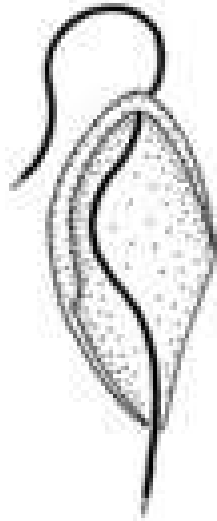


Хлоропласты и пигмент астаксантин могут перемещаться внутри клетки (к центру – к периферии) в зависимости от интенсивности освещения

(подцарство/тип/класс) Якобиды



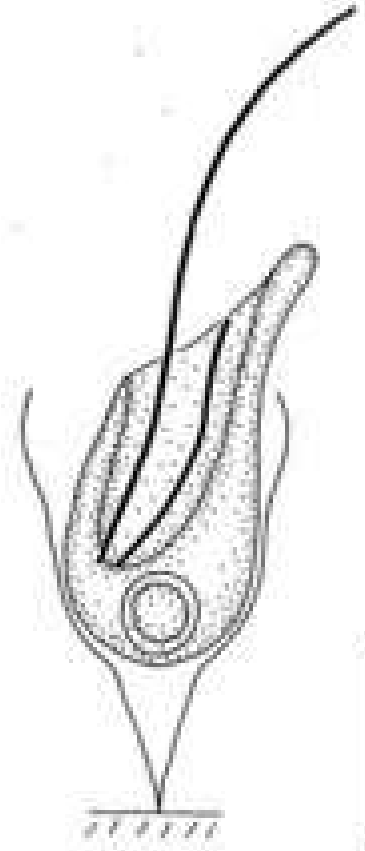
Jakoba libera



Andalucia incarcerata



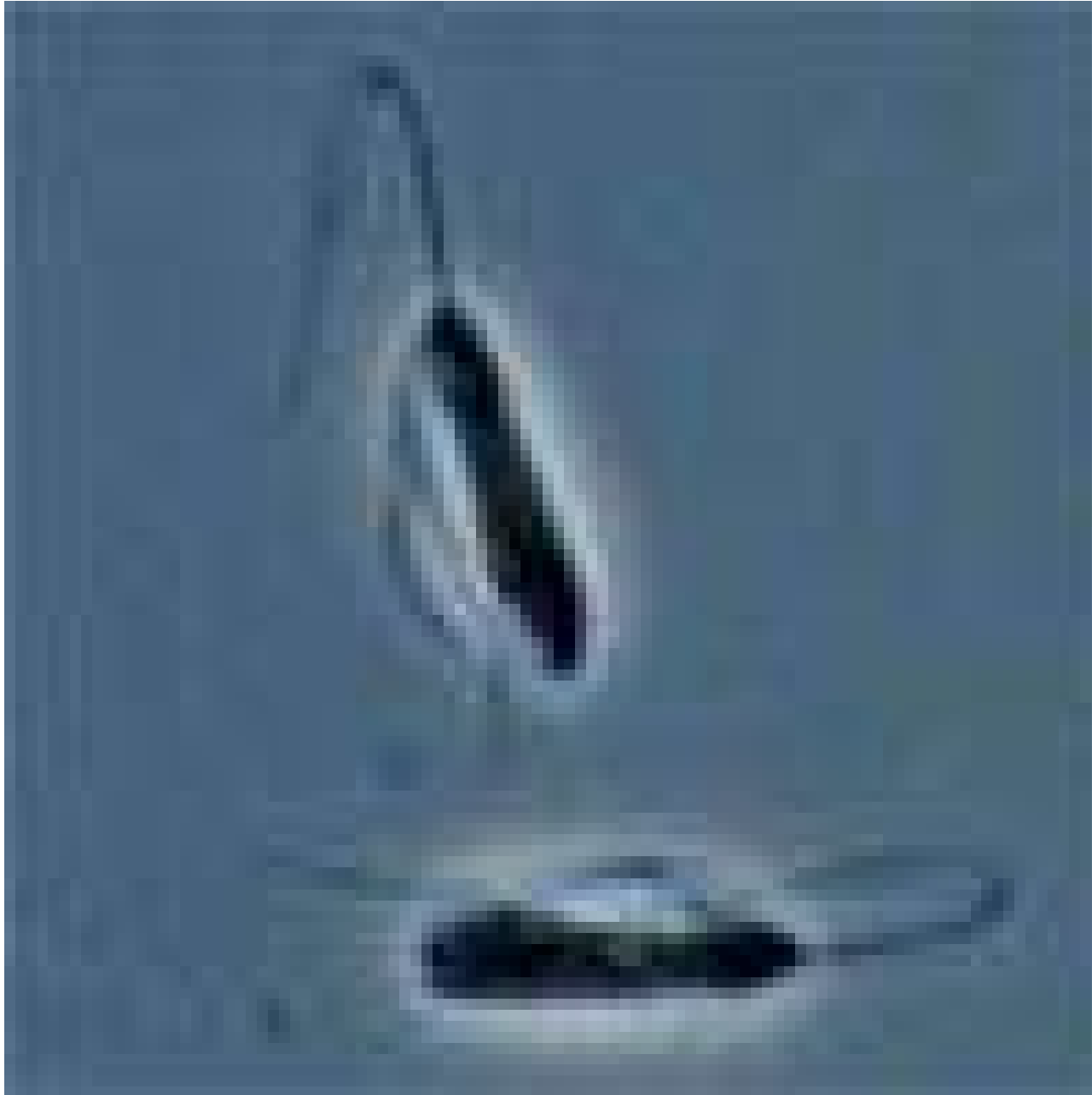
Reclinomonas americana



Histiona aroides

5µm

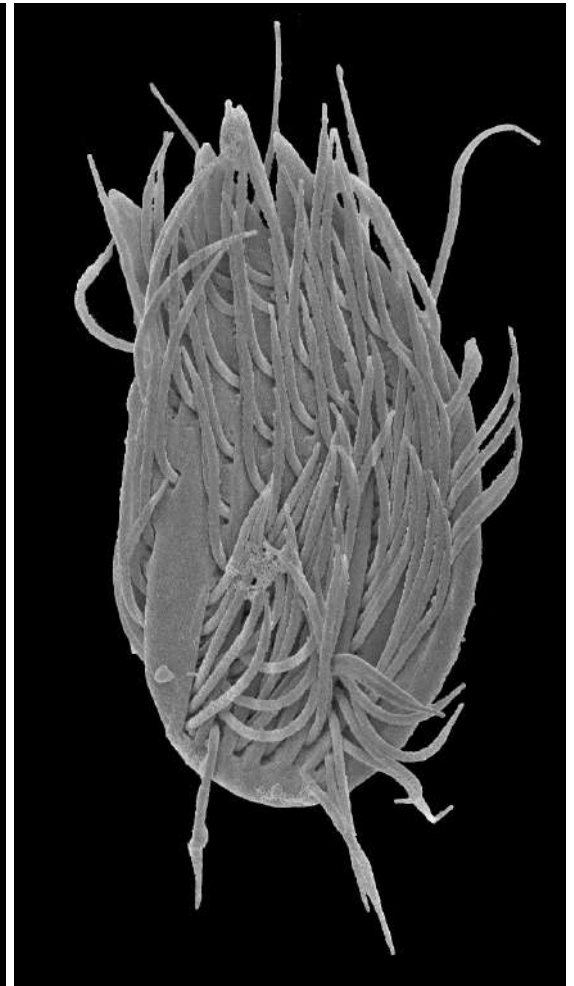
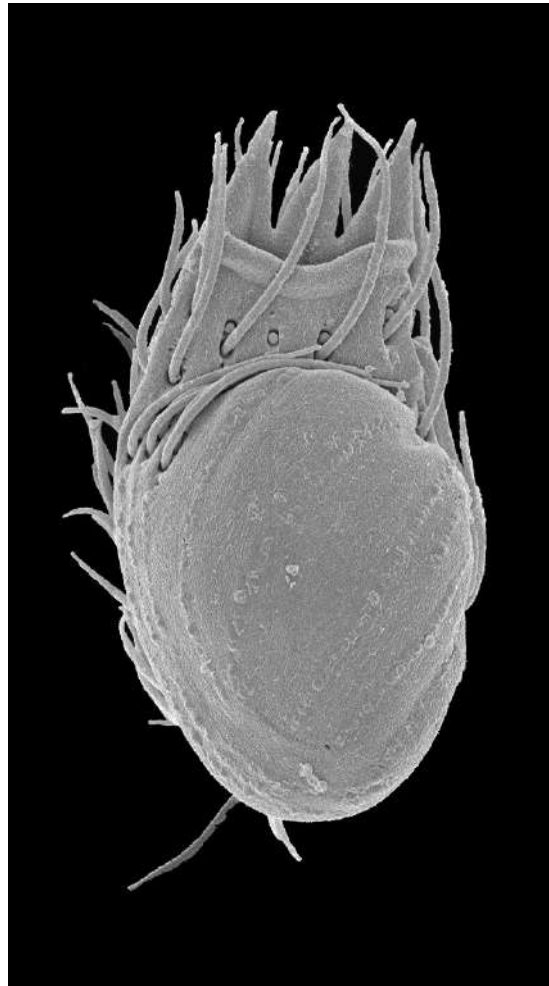
Jakoba libera



Andalucia incarcerata

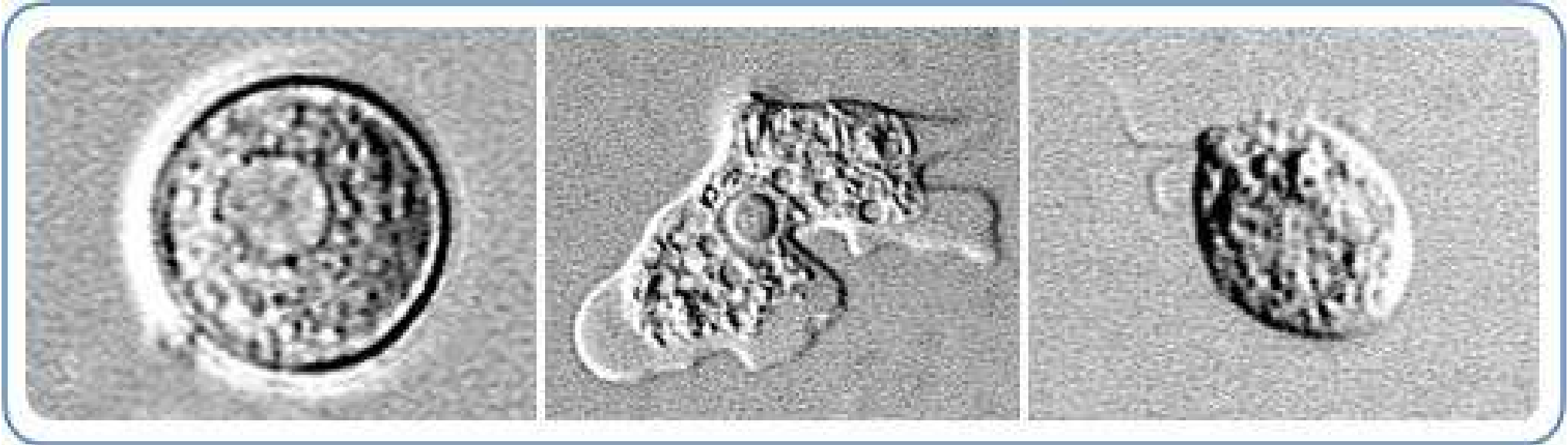


группа **Heterolobosea**



Stephanopogon minuta

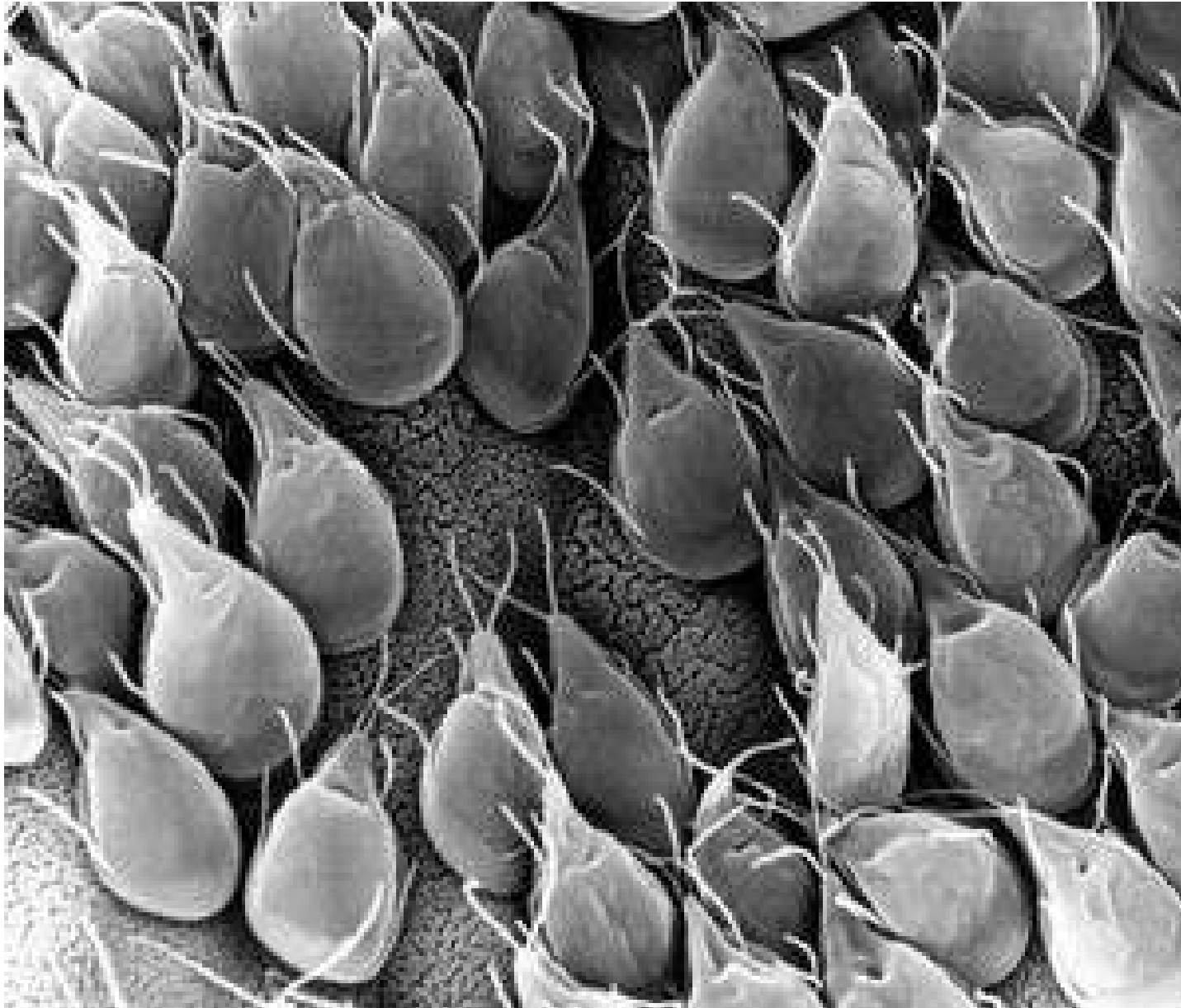
Гетеролобозные «амёбы»



Naegleria fowleri – «амёба-мозгоед»

(вызывает первичный амёбный менингоэнцефалит)

(подтип/класс) **Форникаты** (Жгутиконосцы)
Giardia intestinalis (лямблия)



Муха цеце + трипаносома = сонная болезнь



Газель Томпсона



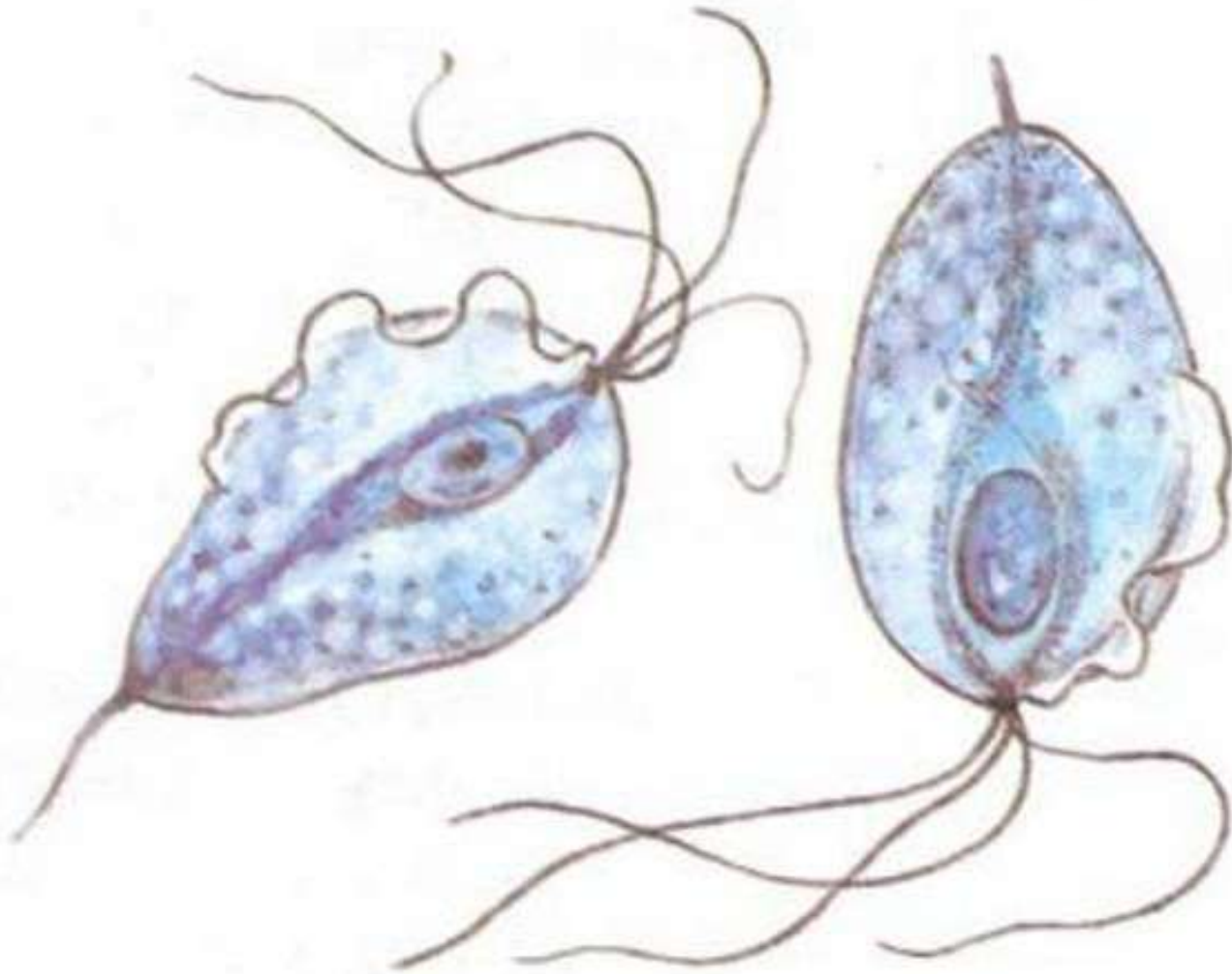
Крупный рогатый скот

(подтип/класс) **Парабазалии** (Жгутиконосцы)
- анаэробные эндобионты (паразиты)

(класс/отряд) **Трихомонады**
(в беспозвоночных и позвоночных)

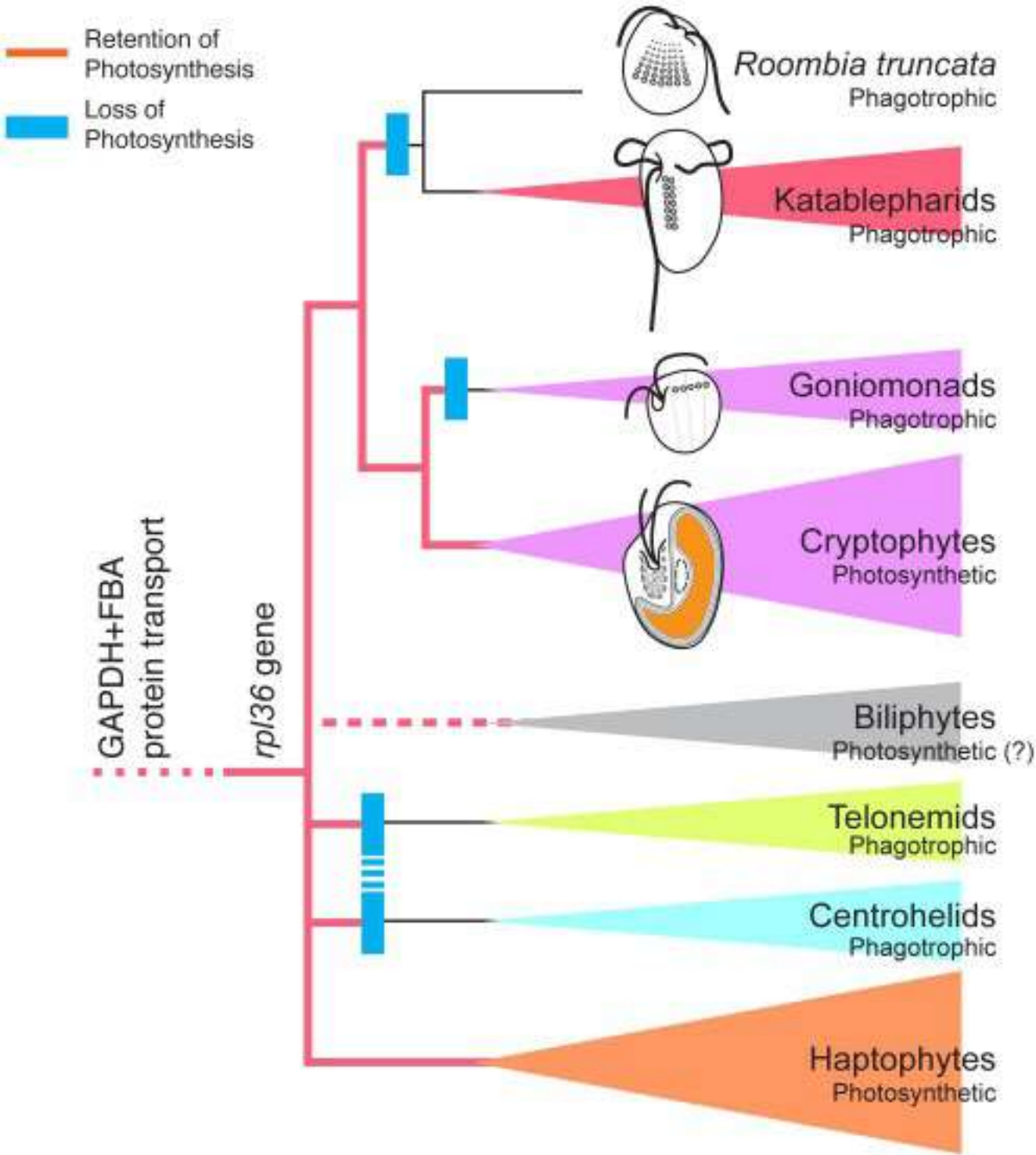
группа **«Гипермастигины»**
(в насекомых)

Trichomonas vaginalis



группа (царство) **Хакробии**

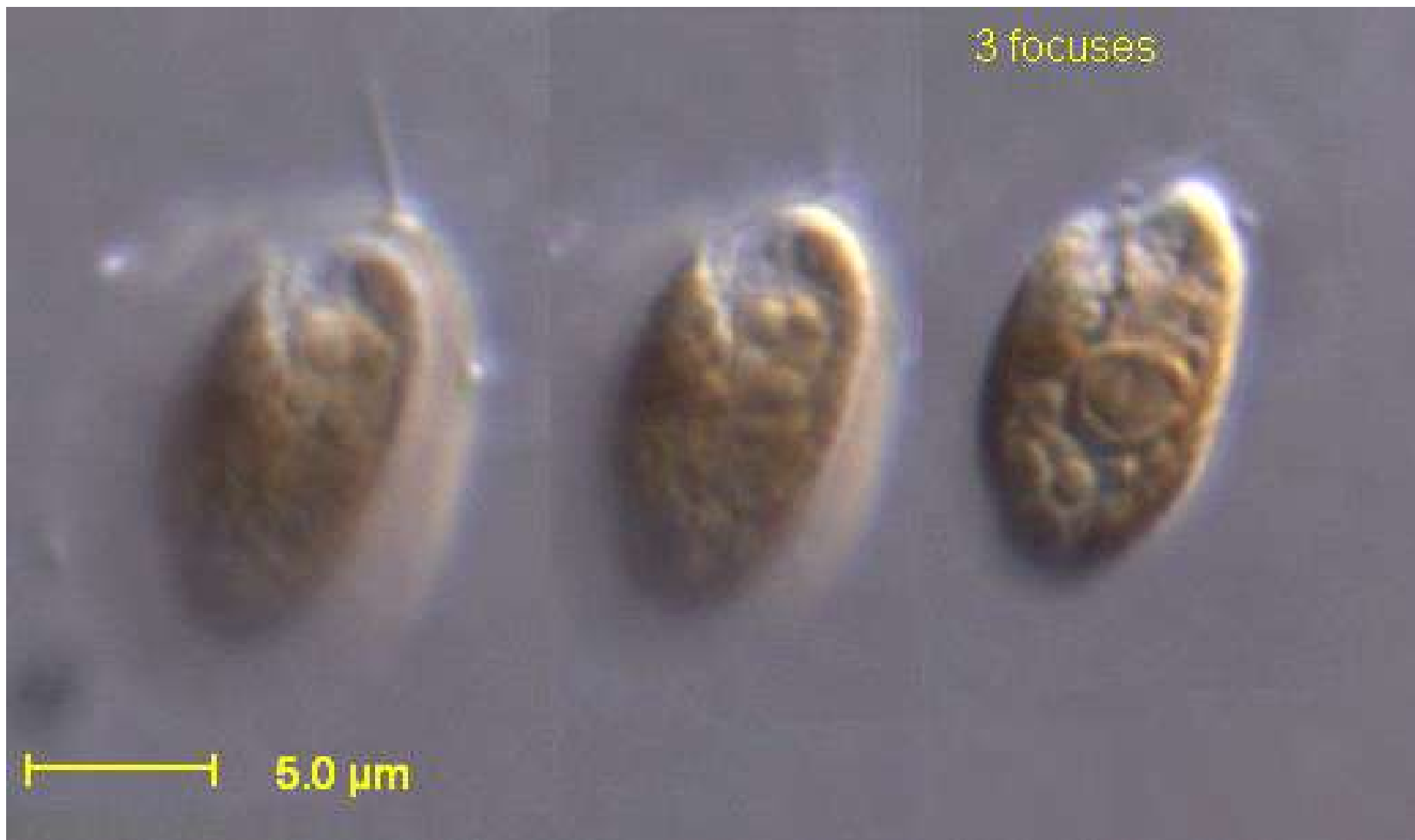
- по одним данным – сестринская группа с **Архепластидами**
- по другим данным – ВХОДИТ В СОСТАВ **Хромальвеолат**



Hacrobia

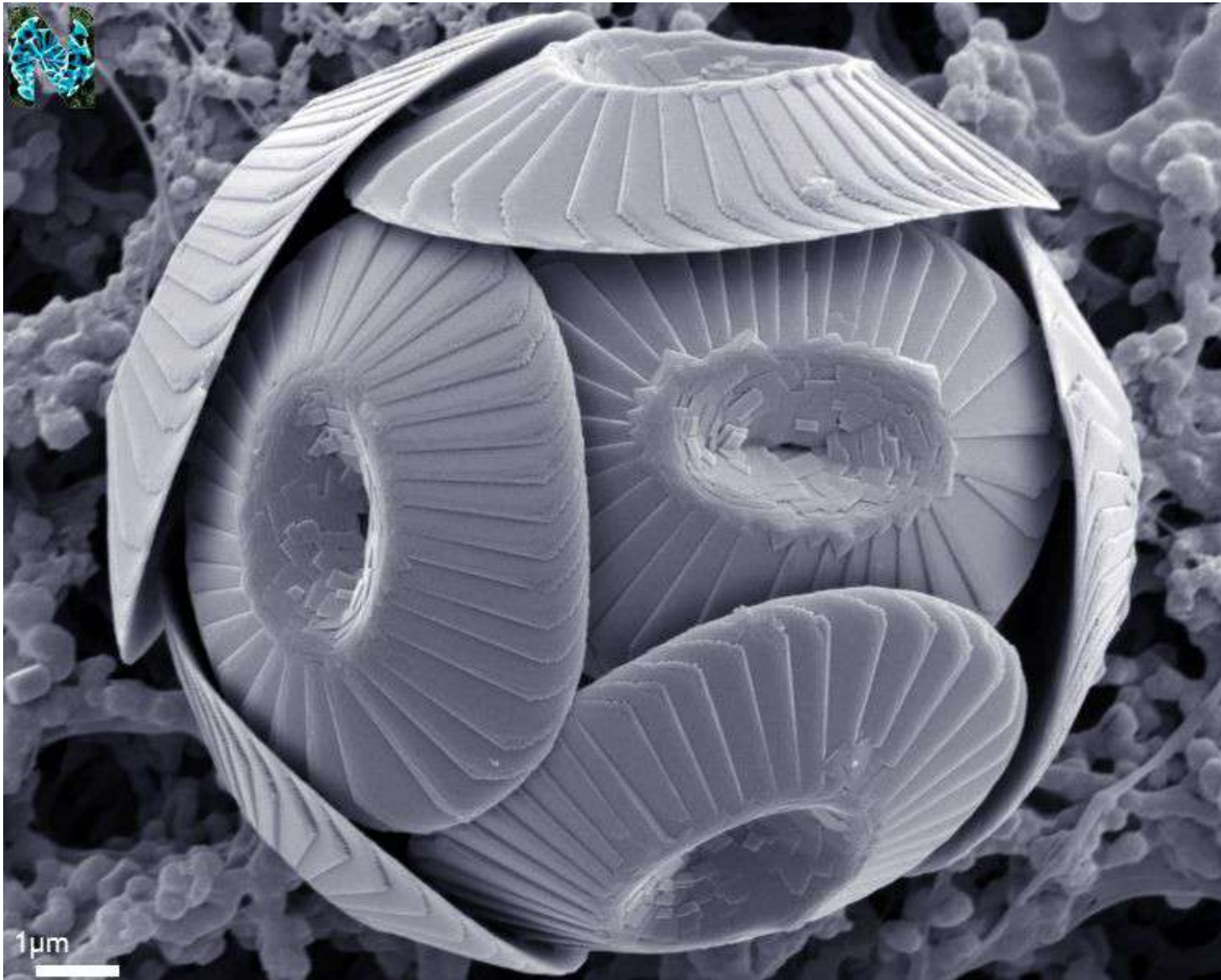
из Okamoto et al., 2009

(тип) Крпптофитовые = Крпptomonады



Rhodomonas salina

(тип) Гаптофитовые



*Coccolithus
pelagicus*

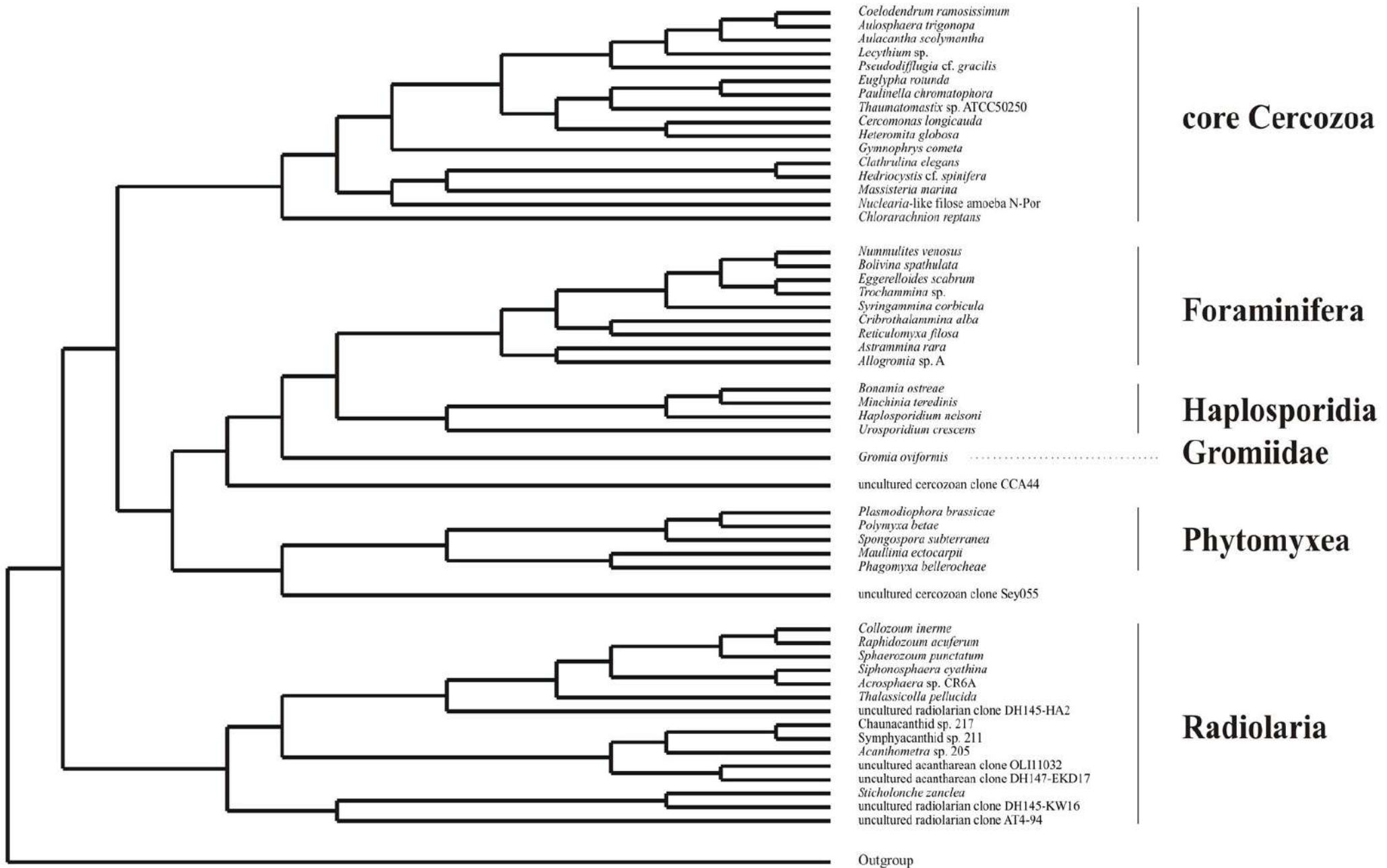
группа Центрохелидные солнечники



Raphidiophrys pallida

(царство/подцарство/тип) Ризарии

Rhizaria Cavalier-Smith, 2002



Парк фораминифер в Китае



Cercozoa

Paulinella chromatophora получила хлоропласты непосредственно от цианобактерий



Хромальвеоляты

- Гетероконты = Страменофилы
- Альвеоляты (Альвеолаты)

(царство/подцарство/тип)

Гетероконты = Страменофилы

Heterokonta Cavalier-Smith, 1986

- Отдел Bigyra (опалины и др.)
- Отдел Oomycota — Оомикота
- Отдел Ochrophyta — Охрофиты

Оомицета *Phytophthora infestans*



Охрофиты

- Золотистые водоросли
- Жёлто-зелёные водоросли
 - Бурые водоросли
- Диатомовые водоросли и др.

Heterokontophyta Diatomeae (Bacillariophyceae) - kremenaste alge

Centrales



Cyclotella sp.



Melosira sp. s HCl



Melosira sp.

Pennales



Cymbella sp.



Pennales, pritrjena



Meridion sp., Tabellaria sp.



Cocconeis sp. na zeleni algi

(царство/подцарство/тип)

Альвеоляты

Alveolata Cavalier-Smith, 1991

типы

- Инфузории (Ciliophora)
- Апикомплексы (Apicomplexa) = Споровики
- Динофлагелляты (Dinoflagellata)

Инфузории

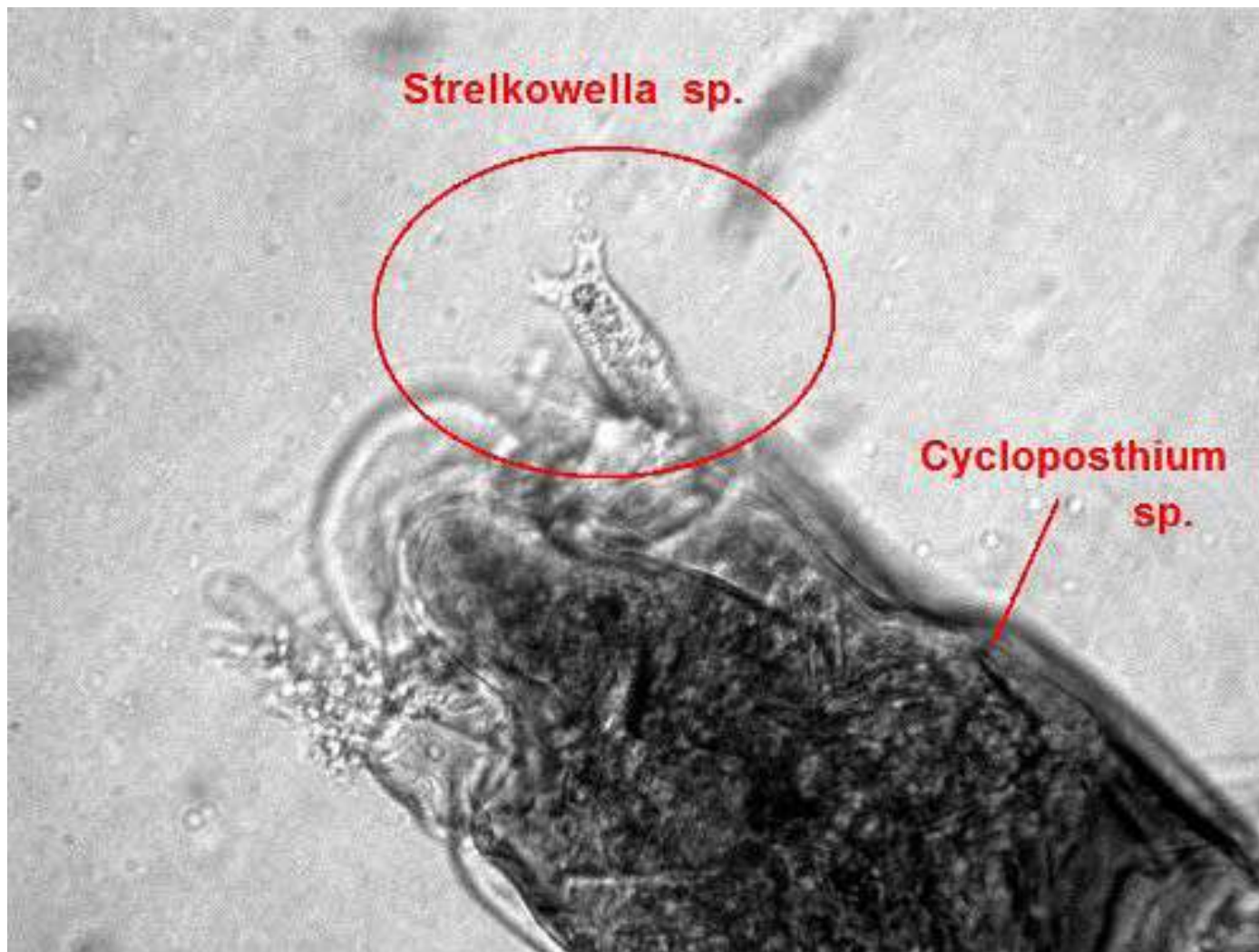




**Инфузории - эндобионты млекопитающих
(*Eudiplodinium*, *Entodinium*)**

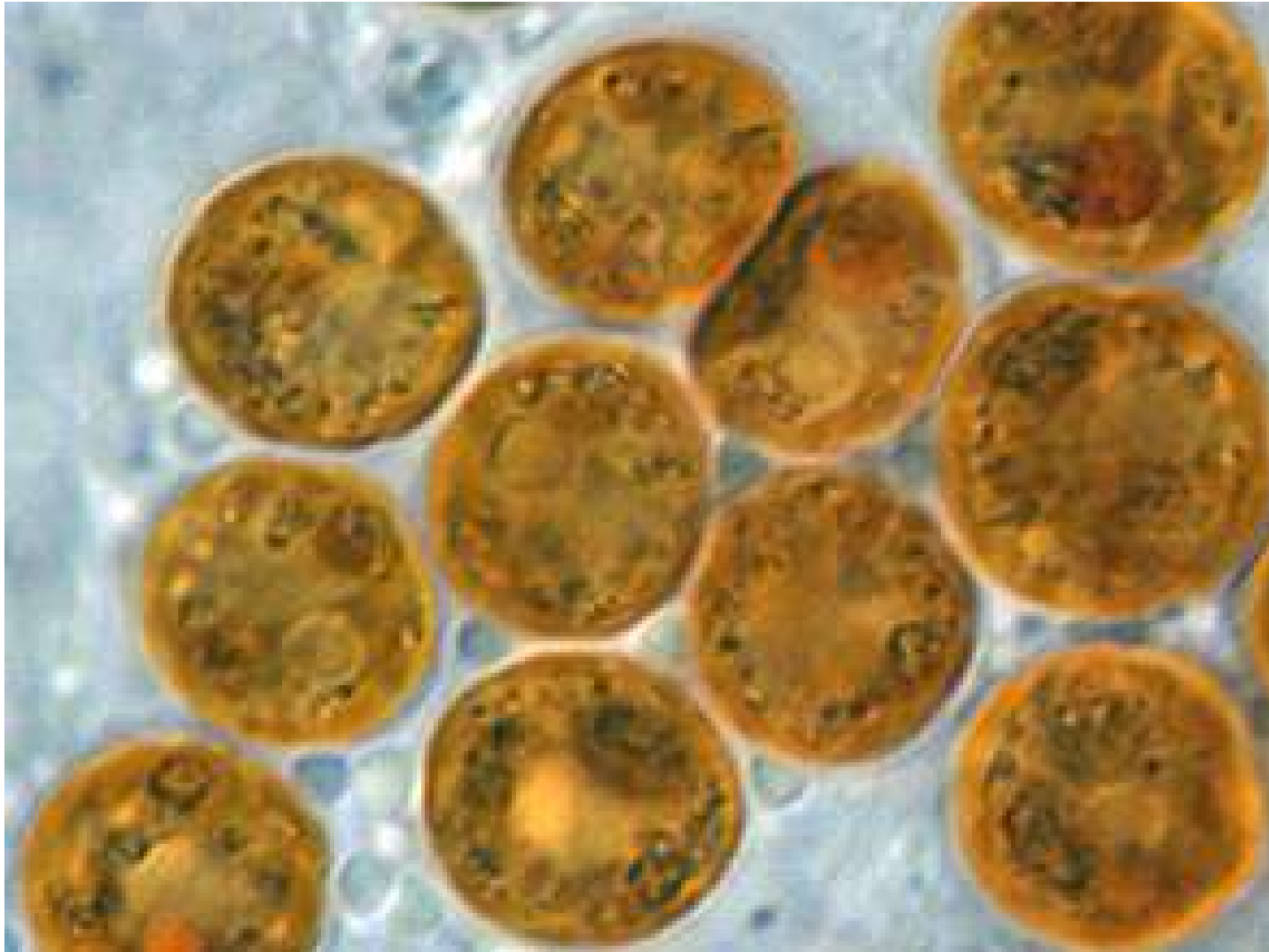


**Груминг у жвачных сопровождается
передачей эндобионтов**



Суктория - гиперпаразит на эндобионтной инфузории в кишечнике лошади.

Динофлагелляты



зооксантелла = *Symbiodinium*

Ночесветка - *Noctiluca scintillans*



(царство/подцарство/тип) **Амёбозои**

Amoebozoa Lühe, 1913

Entamoeba coli



(царство/подцарство/тип)

ОПИСТОКОНТЫ

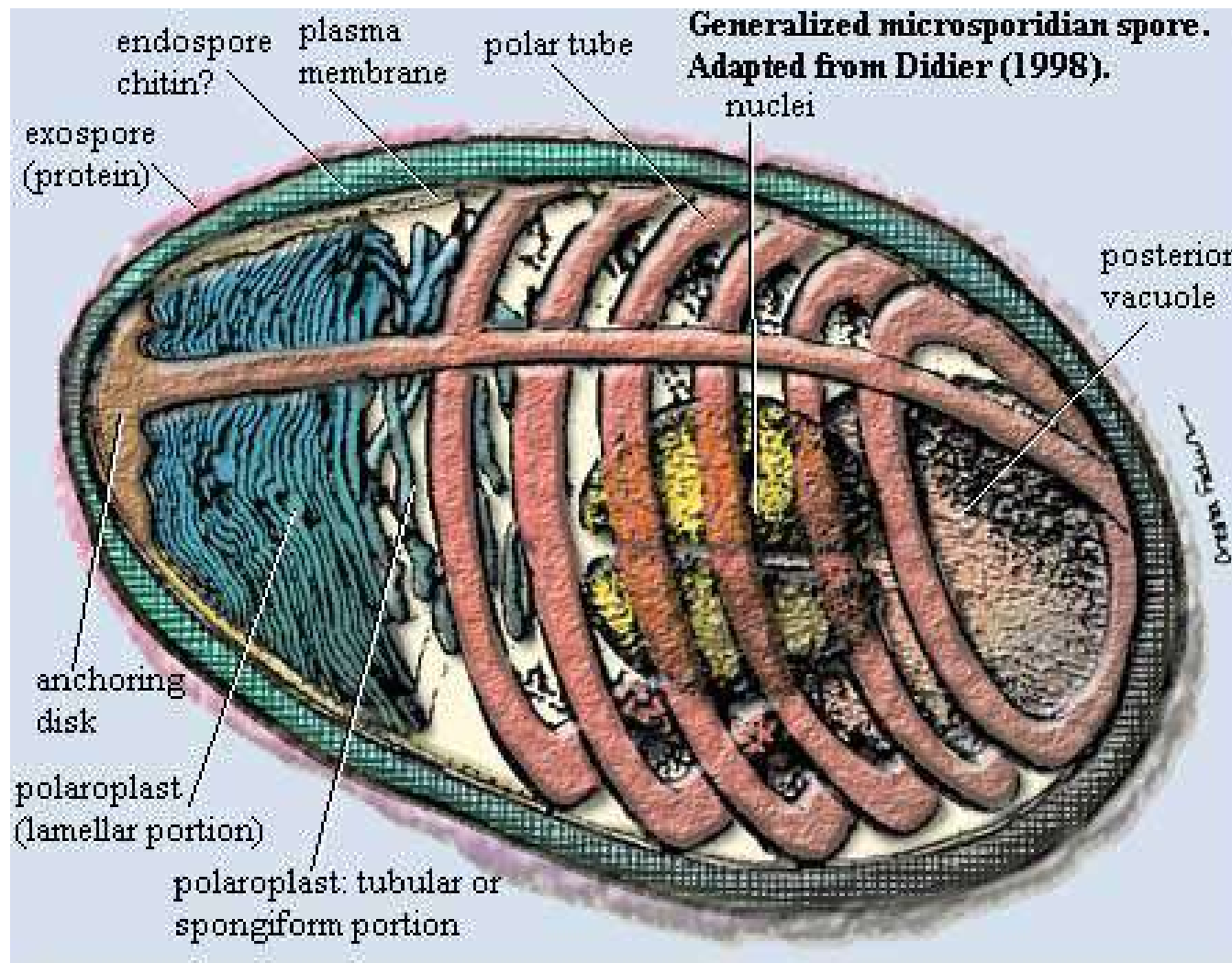
Opisthokonta Adl et al., 2005

- (Животные)
- Грибы
- Воротничковые жгутиконосцы и др.

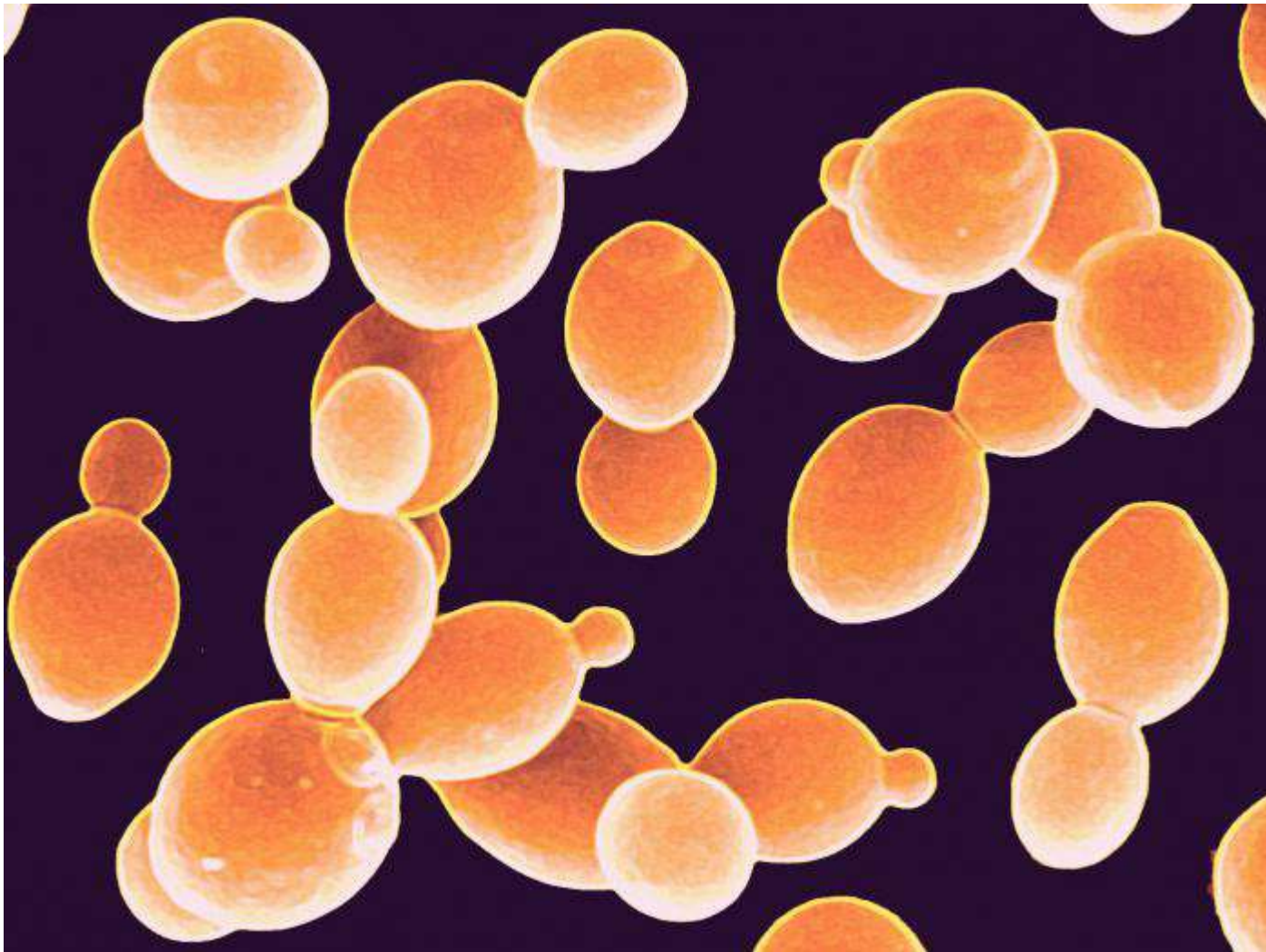
Мукор (зигомицеты)



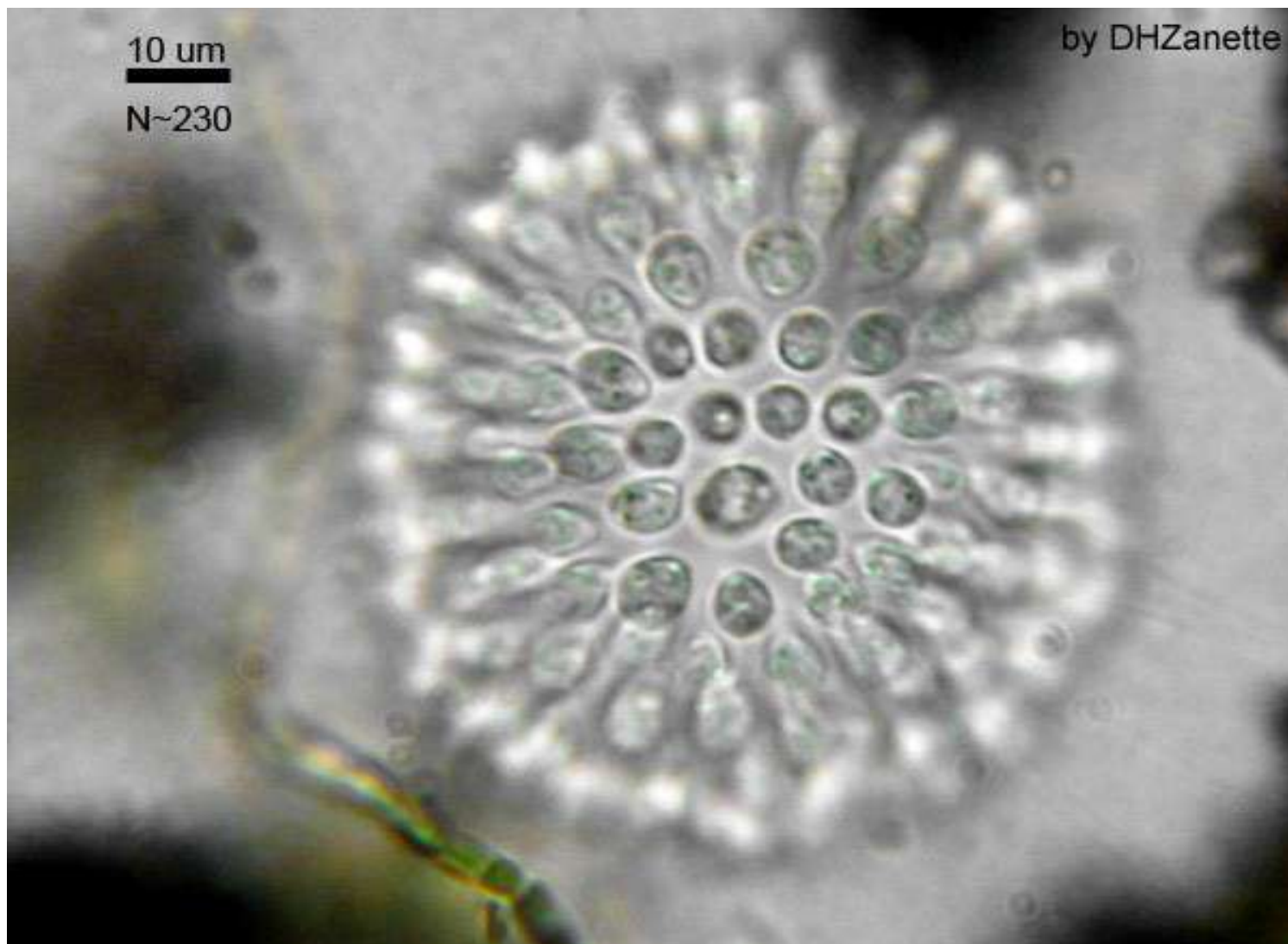
Nosema apis (микроспоридии)



Дрожжи



Колония воротничковых жгутиконосцев *Proterospongia*



Спасибо за внимание!

