



Въведение в клетъчната биология

1. Предмет и задачи на цитологията, хистологията и ембриологията
2. Историческо развитие на дисциплините
3. Микроскопия – видове микроскопи
4. Методи за микроскопски наблюдения
5. Специални методи на хистологично изследване – клетъчно култивиране и клетъчно фракционизиране, хистоавторадиография и рентгеноструктурен анализ
6. Техники на клетъчната и молекулярната биология – хистохимия, имунохистохимия, хибридохистохимия



Предмет на цитологията, хистологията и ембриологията

Цитология = Клетъчна биология:

(Gr. *cytos*, клетка + *logos*, наука)

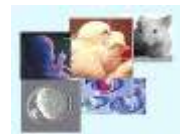
Хистология:

(Gr. *histos*, тъкан + *logos*, наука)

- ✓ обща хистология
- ✓ специална = органна, микроскопска анатомия

Ембриология: (Gr. *ἐμβριον*, зародиш + *logos*)

- ✓ обща ембриология (ембриогенеза)
- ✓ специална ембриология (органогенеза)



2



В.Л. ОВЧАРОВ • ЦВ. ТАКЕВА

ЦИТОЛОГИЯ
ОБЩА ХИСТОЛОГИЯ
ОБЩА ЕМБРИОЛОГИЯ
ДЕСЪТО ПРЕРЕБОРНО ИЗДАНИЕ



ИДРСО

КЛЕТЪЧНА
БИОЛОГИЯ

Георги Н. Чаудиков



Предмет и задачи на анатомията



- ✓ Систематична анатомия
- ✓ Топографска и клинична анатомия
- ✓ Пластична (приложна) анатомия
- ✓ Динамична анатомия
- ✓ Образна анатомия
- ✓ Сравнителна анатомия
 - Филогенеза (*phylon*, род + *genesis*, развитие)
 - Онтогенеза (*onthos*, индивид + *genesis*, развитие): ембриология
- ✓ Антропология (*anthropos* [ανθρωπος]) – наука за човека
- ✓ **Морфология** = анатомия + цитология + хистология + ембриология

Проф. д-р Николай Лазаров



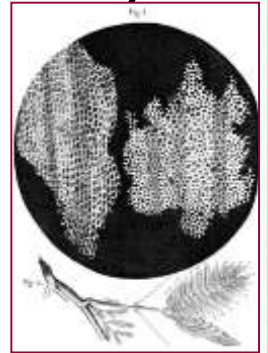
Историческо развитие на цитологията и хистологията

1665
Robert Hooke



■ Период на наблюдения (1590-1839)

- ✓ Robert Hooke, 1665
- ✓ Antony van Leeuwenhoek, 1678



■ Период на обобщение (1839-)

- ✓ Клетъчна теория: Schleiden и Schwann (1838-1839)
- ✓ *Omnis cellula e cellula*: Rudolf Virchow (1852)
- ✓ *Omnis nucleus e nucleo*: (1860)



Walther Flemming
основател на цитогенетиката

Проф. д-р Николай Лазаров





Историческо развитие на цитологията и хистологията



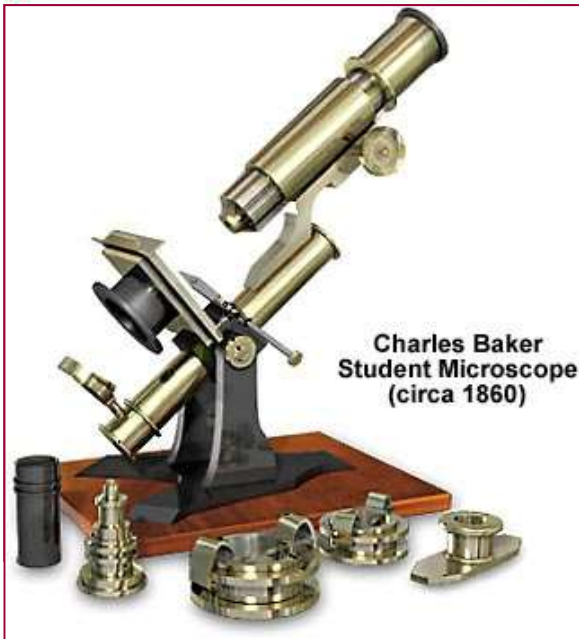
- Период на изучаване структурата на клетката
- Период на клетъчна и молекулярна биология – ХХ век
 - ✓ Биохимична цитология
 - ✓ Цитогенетика
 - ✓ Цитофизиология
 - ✓ Молекулярна биология
 - ✓ Клетъчна екология



История на светлинната микроскопия



NB: изобретяването на първия микроскоп е приписвано на холандските оптици *Hans* и *Zacharias Janssen* през 1590



Charles Baker
Student Microscope
(circa 1860)



Table 4-1 Some Important Discoveries in the History of Light Microscopy

- 1611 **Kepler** suggested a way of making a compound microscope.
- 1655 **Hooke** used a compound microscope to describe small pores in sections of cork that he called "cells."
- 1674 **Leeuwenhoek** reported his discovery of protozoa. He saw bacteria for the first time nine years later.
- 1833 **Brown** published his microscopic observations of orchids, clearly describing the cell nucleus.
- 1838 **Schleiden** and **Schwann** proposed the cell theory, stating that the nucleated cell is the unit of structure and function in plants and animals.
- 1857 **Kolliker** described mitochondria in muscle cells.
- 1876 **Abbé** analyzed the effects of diffraction on image formation in the microscope and showed how to optimize microscope design.
- 1879 **Flemming** described with great clarity chromosome behavior during mitosis in animal cells.
- 1881 **Retzius** described many animal tissues with a detail that has not been surpassed by any other light microscopist. In the next two decades he, **Cajal**, and other histologists developed staining methods and laid the foundations of microscopic anatomy.
- 1882 **Koch** used aniline dyes to stain microorganisms and identified the bacteria that cause tuberculosis and cholera. In the following two decades other bacteriologists, such as **Klebs** and **Pasteur**, identified the causative agents of many other diseases by examining stained preparations under the microscope.
- 1886 **Zeiss** made a series of lenses, to the design of **Abbé**, that enabled microscopists to resolve structures at the theoretical limits of visible light.
- 1898 **Golgi** first saw and described the Golgi apparatus by staining cells with silver nitrate.
- 1924 **Lacassagne** and collaborators developed the first autoradiographic method to localize radioactive polonium in biological specimens.
- 1930 **Lebedeff** designed and built the first interference microscope. In 1932 **Zernicke** invented the phase-contrast microscope. These two developments allowed unstained living cells to be seen in detail for the first time.
- 1941 **Coons** used antibodies coupled to fluorescent dyes to detect cellular antigens.
- 1952 **Nomarski** devised and patented the system of differential interference contrast for the light microscope that still bears his name.
- 1981 **Allen** and **Inoué** perfected video-enhanced-contrast light microscopy.
- 1988 Commercial confocal scanning microscopes came into widespread use.





Émile DUCLAUX



METCHNIKOFF



Émile ROUX



Albert CALMETTE



Jules BORDET

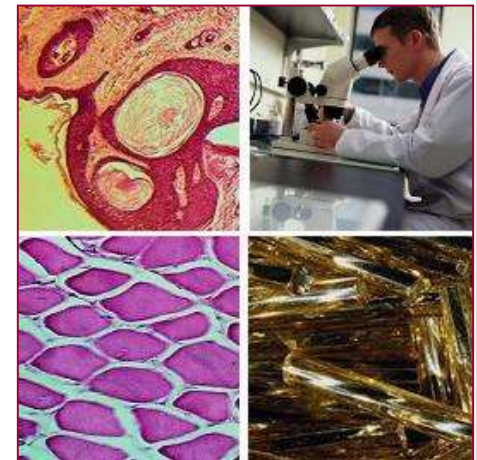


Микроскопия

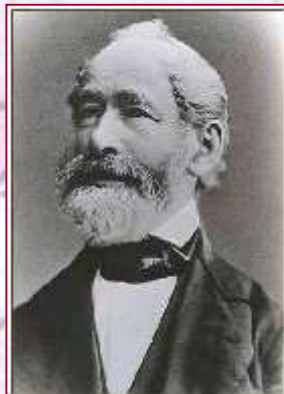


■ Видове микроскопи:

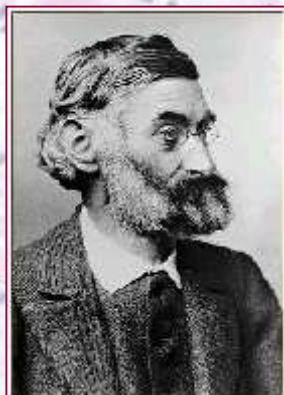
- ✓ светлинен (оптичен) микроскоп
- ✓ фазовоконтрастен микроскоп
- ✓ интерферентен микроскоп
 - диференциален интерферентен микроскоп (DIC)
- ✓ флуоресцентен микроскоп
- ✓ поляризационен микроскоп
- ✓ конфокален сканиращ микроскоп
- ✓ електронен микроскоп (ЕМ)
 - трансмисионен ЕМ (ТЕМ)
 - сканиращ ЕМ (СЕМ)
- ✓ сканиращ тунелен микроскоп (СТМ)
- ✓ атомно-силов микроскоп



Светлинен микроскоп



Carl Zeiss

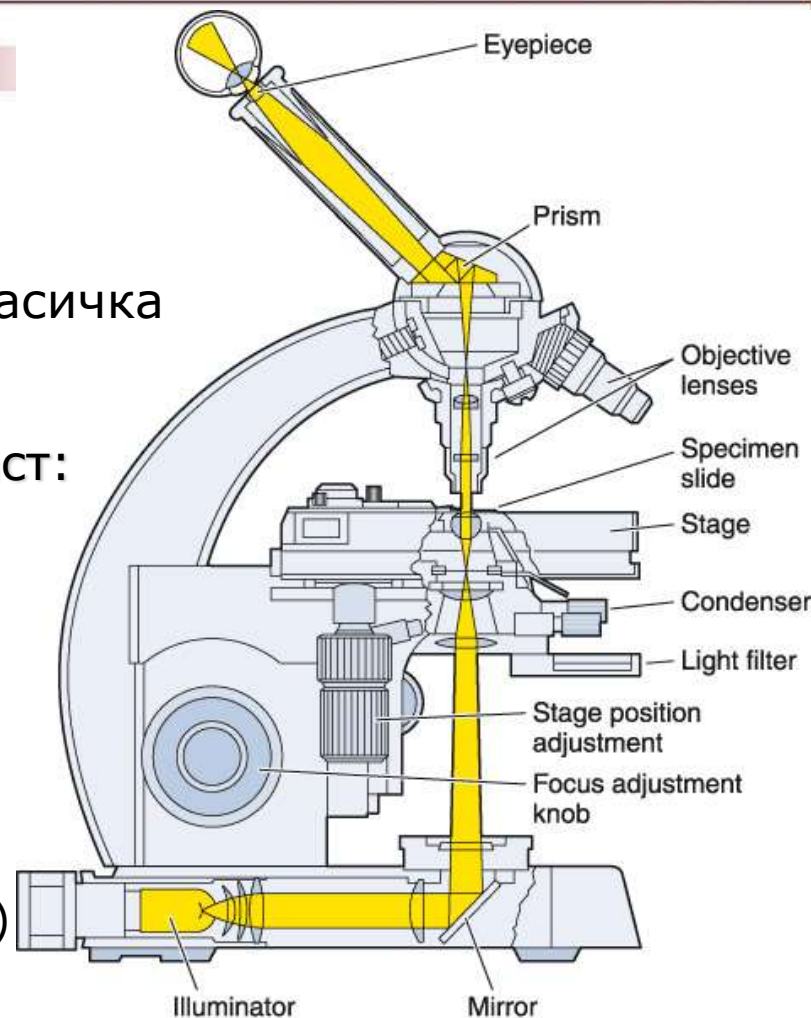


Ernst Abbe
оптимизира

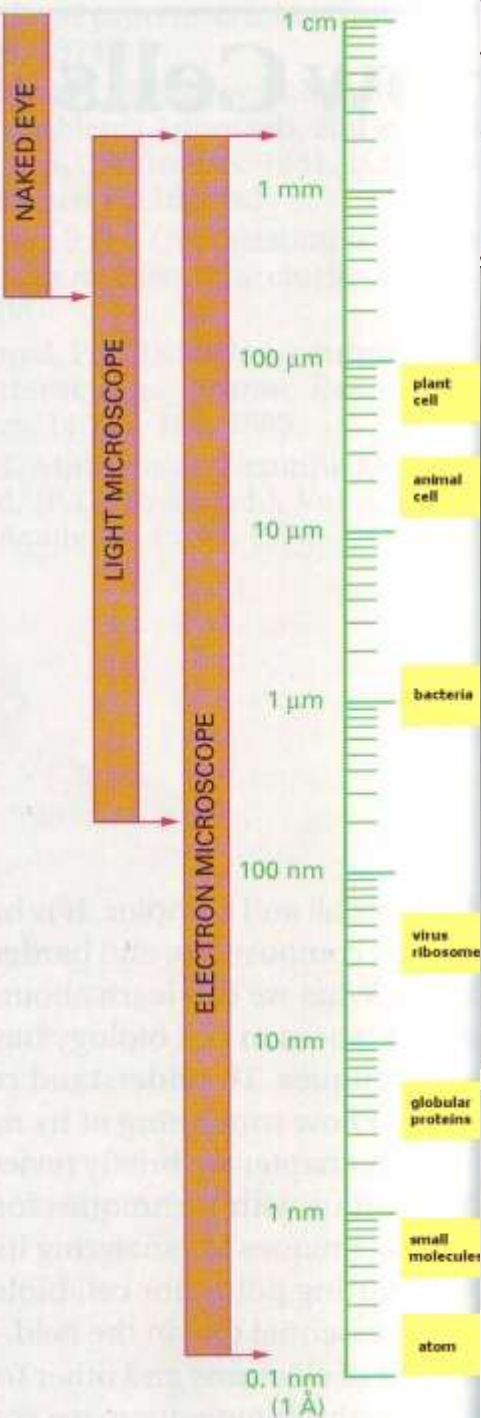
микроскопския дизайн
(лещи и кондензор, 1853)



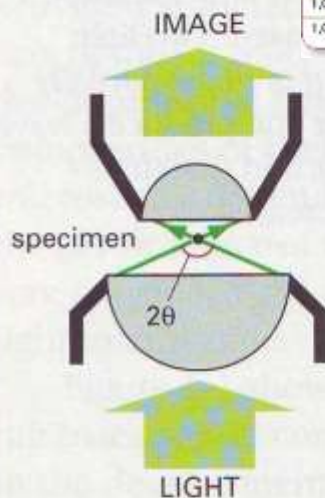
- Механична част:
 - ✓ статив
 - ✓ предметна (обектна) масичка
 - ✓ тубус
- Оптична (увеличителна) част:
 - ✓ окуляр
 - ✓ обективи – видове
 - ✓ кондензор
- Осветителна част:
 - ✓ светлинен източник (огледало или крушка)
 - ✓ филтри



Светлинна микроскопия



LENSES



the **objective** lens collects a cone of light rays to create an image

the **condenser** lens focuses a cone of light rays onto each point of the specimen

1 picometer (pm)	=	0.01 angstrom (Å)
1 angstrom	=	0.1 nanometer (nm)
10 angstroms	=	1.0 nanometer
1 nanometer	=	1,000 picometers
1,000 nanometers	=	1.0 micrometer (μm)
1,000 micrometers	=	1.0 millimeter (mm)

RESOLUTION: the resolving power of the microscope depends on the width of the cone of illumination and therefore on both the condenser and the objective lens. It is calculated using the formula

$$\text{resolution} = \frac{0.61 \lambda}{n \sin \theta}$$

where:

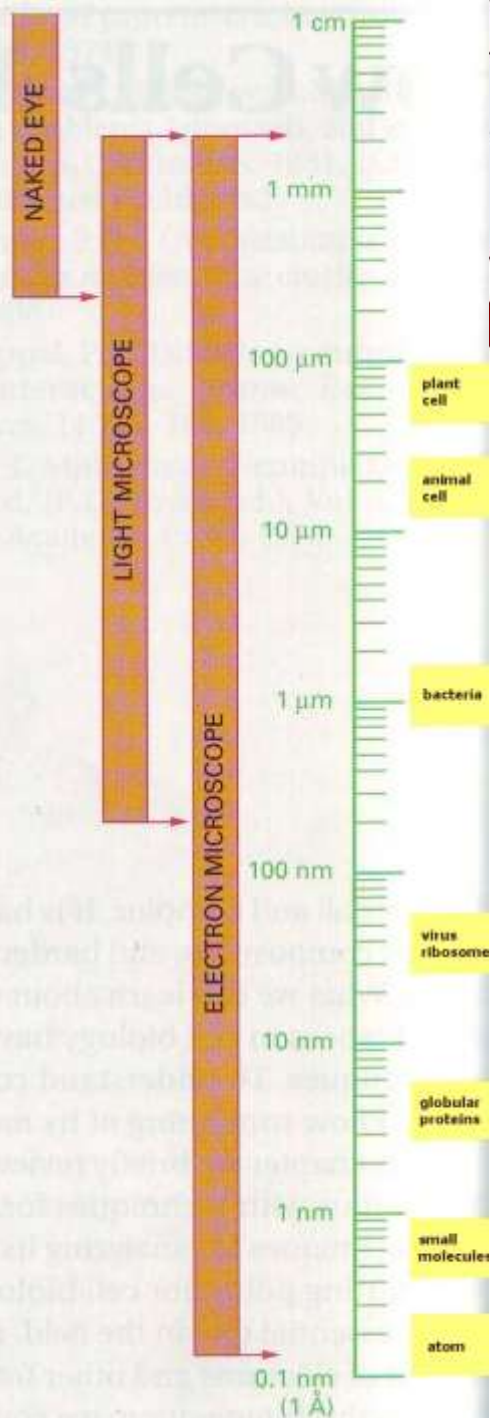
- θ = half the angular width of the cone of rays collected by the objective lens from a typical point in the specimen (since the maximum width is 180° , $\sin \theta$ has a maximum value of 1)
- n = the refractive index of the medium (usually air or oil) separating the specimen from the objective and condenser lenses
- λ = the wavelength of light used (for white light, a figure of $0.53 \mu\text{m}$ is commonly assumed)

NUMERICAL APERTURE: $n \sin \theta$ in the equation above is called the numerical aperture of the lens (NA) and is a function of its light-collecting ability. For dry lenses this cannot be more than 1, but for oil-immersion lenses it can be as high as 1.4. The higher the numerical

aperture, the greater the resolution and the brighter the image (brightness is important in fluorescence microscopy). However, this advantage is obtained at the expense of very short working distances and a very small depth of field.

NB: Ernst Аббе въвежда математическо описание за разделителната способност на микроскопа

Разделителна способност



TABLE

1.3

Eye Versus Instrument Resolution

Distance Between Resolvable Points

Human eye	0.2 mm
Bright-field microscope	0.2 μm
SEM	2.5 nm
TEM	
Theoretical	0.05 nm
Tissue section	1.0 nm
Atomic force microscopy	50.0 pm

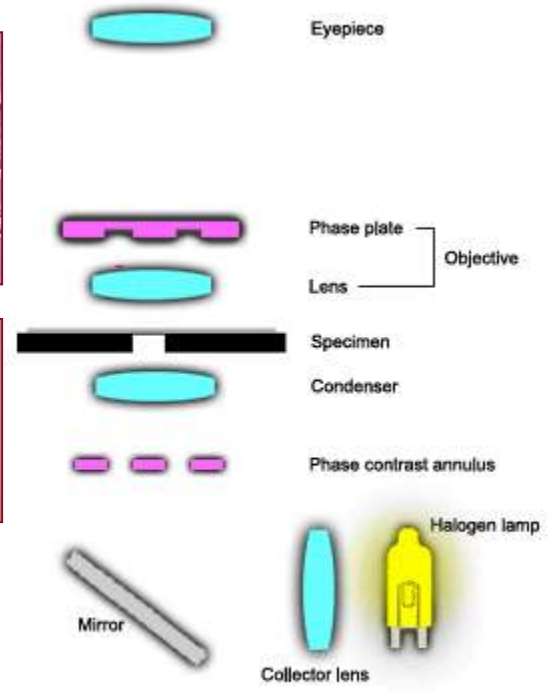
✓ дълбочина на фокуса
(рязкостна дълбочина на обектива)



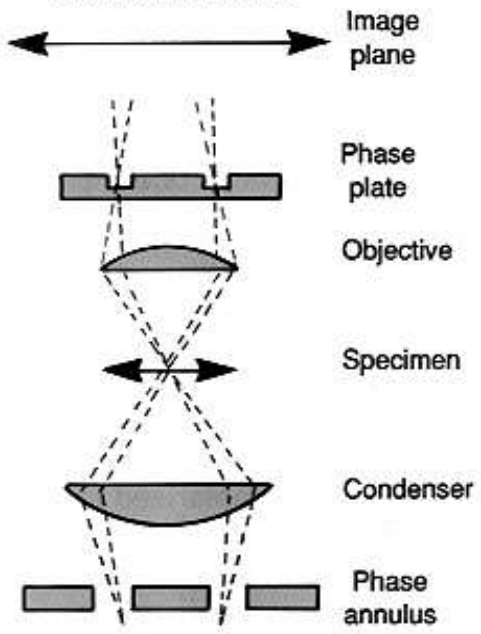
Frederik Zernicke
(1888 - 1966)
Нобелова
награда за
физика, 1953

Фазовоконтрастен микроскоп

- ✓ не изисква оцветяване за наблюдение на препарата
- ✓ подходящ за изследване на живи клетки и за проследяване на клетъчния жизнен цикъл



PHASE-CONTRAST MICROSCOPE



Phase-Contrast Micrographs of Cells in Culture

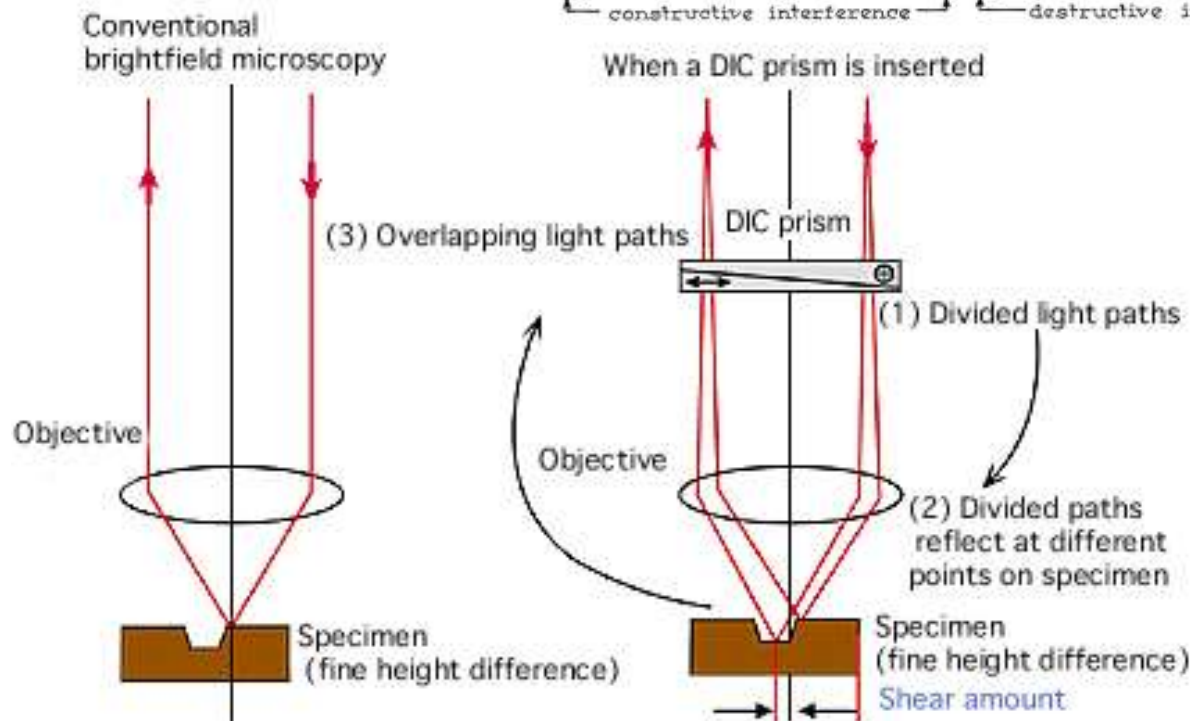
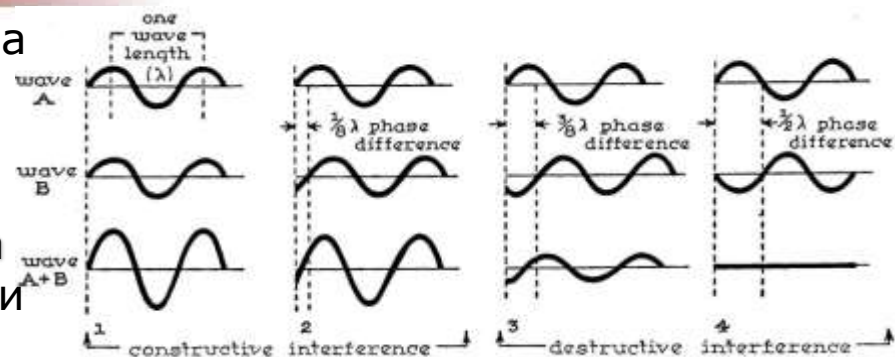


1. A phase annulus directs light through the condenser lens such that the specimen is illuminated at an angle.
2. Objects in the specimen diffract light according to their respective refractive indices and some emerge out of phase (destructive interference).
3. The phase plate retards the intensity of out of phase light rays converting phase differences into amplitude differences (phase contrast).
4. Objects with high refractive index appear dark and those with low refractive index appear light.



Интерферентен микроскоп

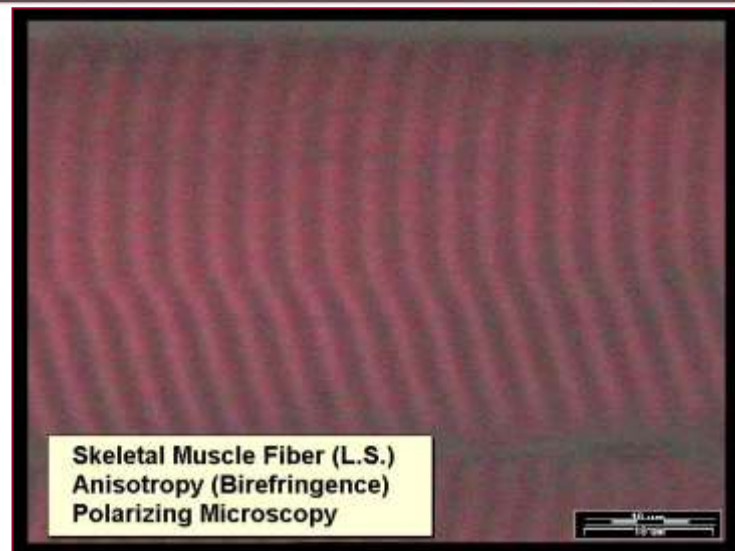
A. Lebedeff, 1930 – създава и конструира първия интерферентен микроскоп
✓ полезен за оценка на повърхностните свойства на клетките и други биологични обекти





Поляризационен микроскоп

- ✓ предназначен за наблюдение на обекти, видими благодарение най-вече на техния оптичен анизотропен характер
- ✓ позволява разпознаване на тъканни структури, съдържащи ориентирани молекули (като напр. целулоза, колаген, микротубули и микрофиламенти)
- ✓ два филтъра – поляризатор и анализатор



Polarized Light Microscope Configuration

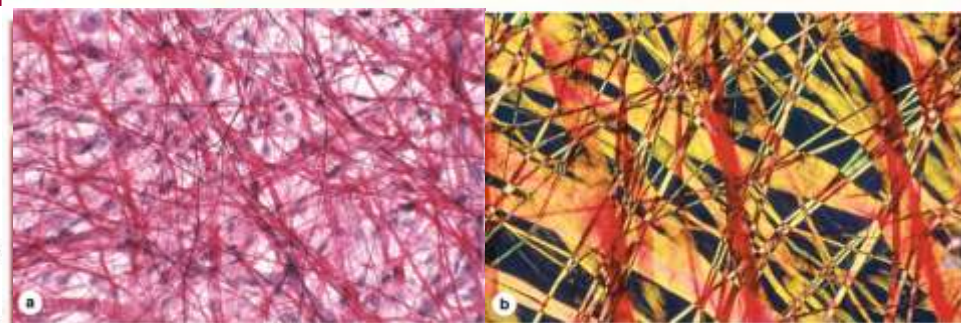
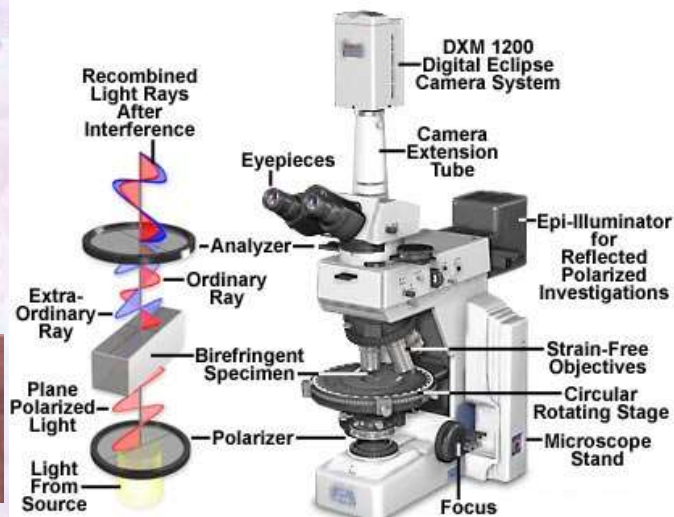


Abb. 24.3. Hellfeld- (links) und polarisationsoptische Aufnahme (rechts) desselben Gewebeauschnitts. Die Kollagenfaser (markiert durch Pfeile) und die quergestreiften Skelettmuskelfasern sind aufgrund ihrer Ultrastruktur optisch doppelbrechend, d.h. sie drehen das polarisierte Licht und leuchten dadurch bei der Polarisationsmikroskopie hell auf. Durch den regelmäßigen Aufbau des kontraktiven Apparats (→ s. Kap. 9.1) kommt es zu Querstreifung der Skelettmuskulatur. Balken = 20 µm.



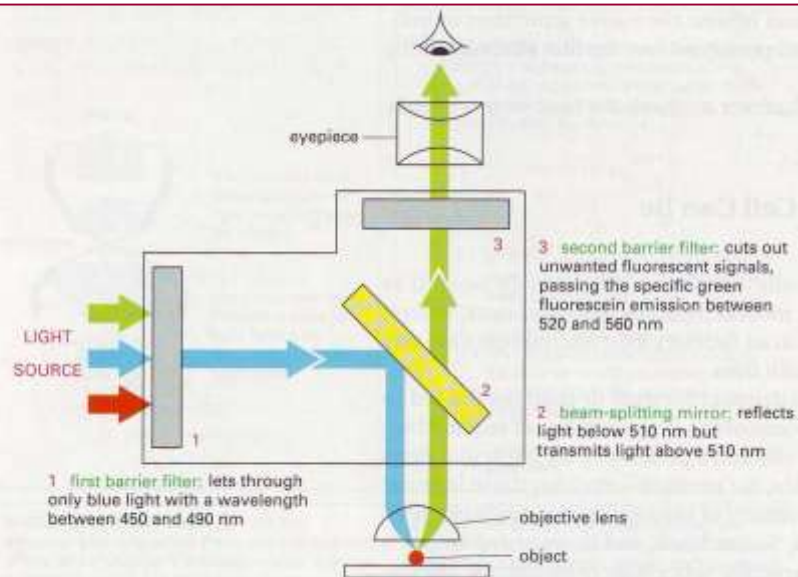
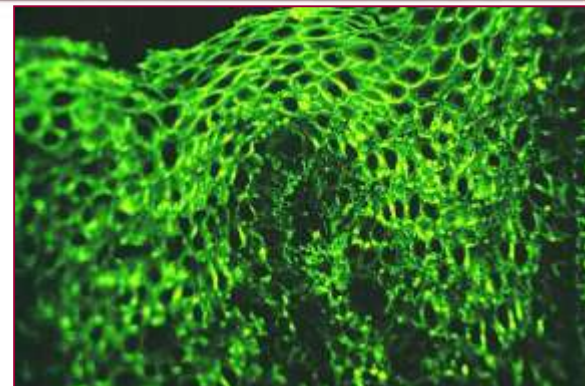


Флуоресцентен микроскоп



Albert H. Coons
Albert H. Coons
1941 –

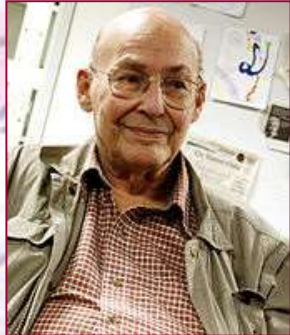
✓ използван за наблюдение на естествено флуоресциращи (автофлуоресценция) молекули – невротрансмитери, витамин А



Specific Molecules Can Be Located in Cells

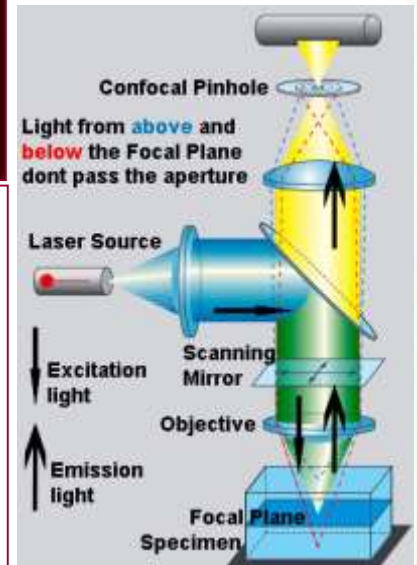
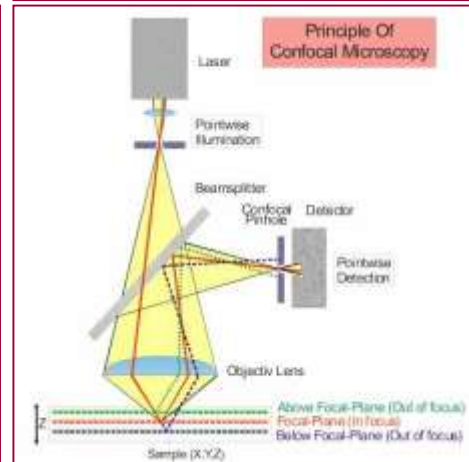
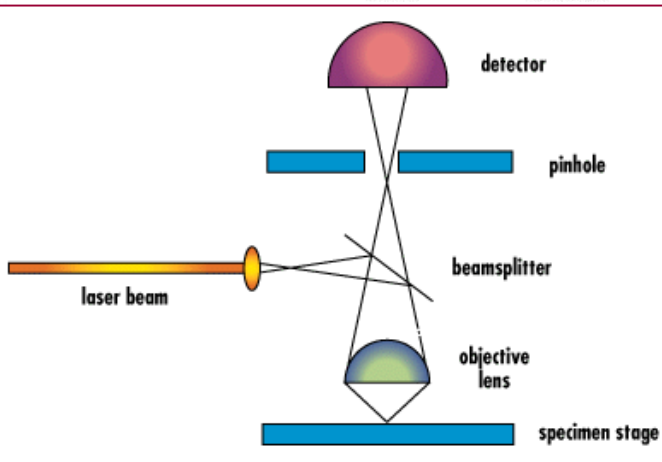
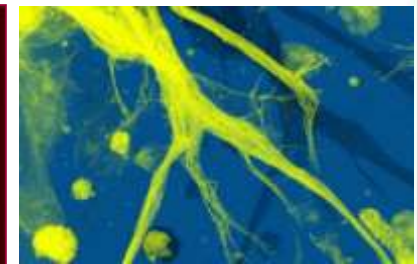
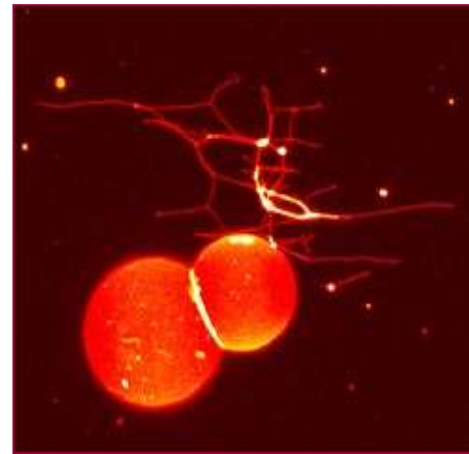
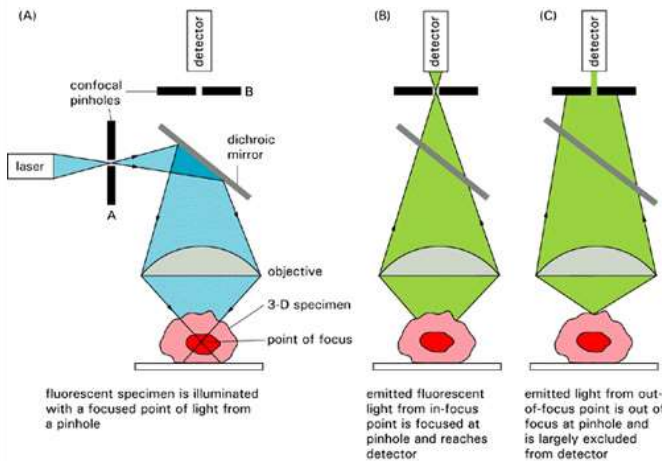


Конфокален лазерно-сканиращ микроскоп



Marvin Minsky
1941 –

✓ техника за получаване на оптични снимки с висока резолюция и реконструкцията им в триизмерни изображения

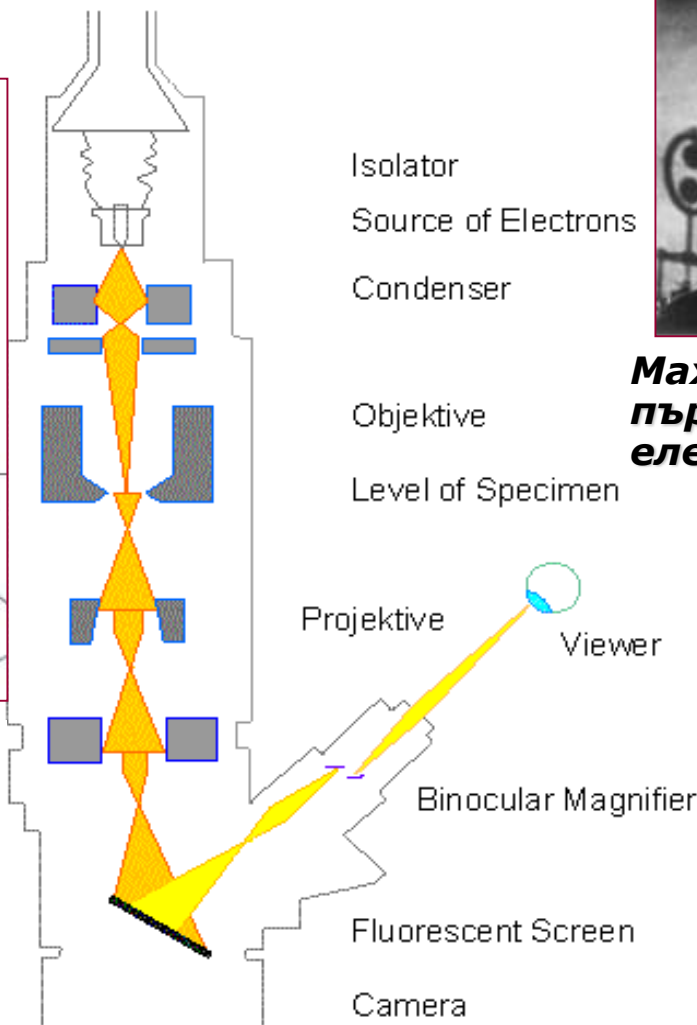




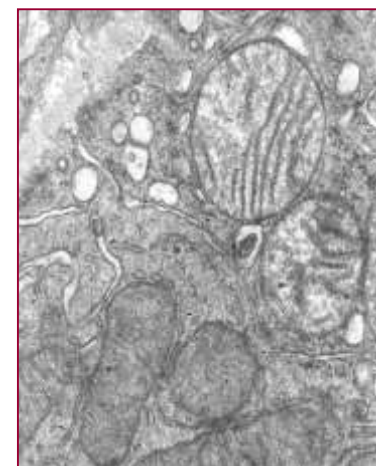
Електронен микроскоп



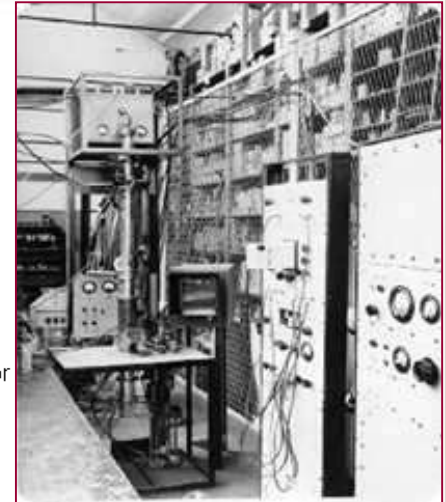
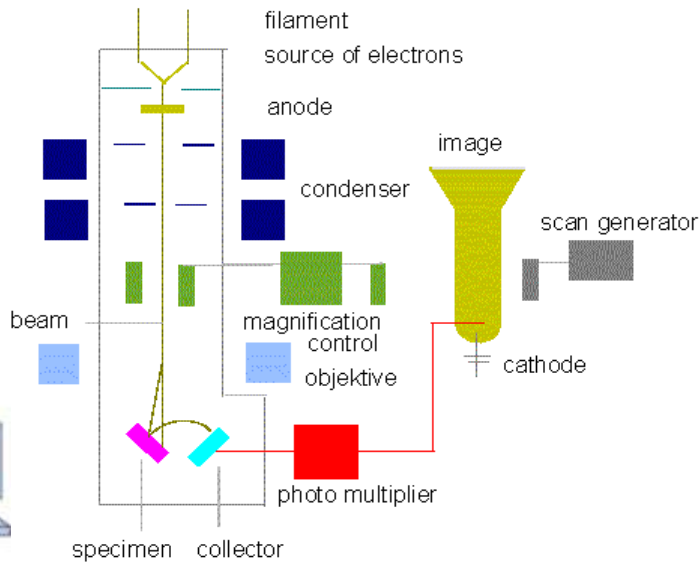
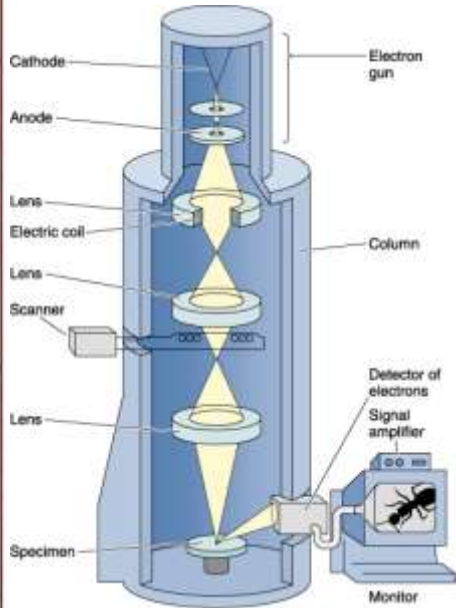
Max Knoll и Ernst Ruska 1931, първият трансмисионен електронен микроскоп (ТЕМ)



1939, първият търговски ТЕМ от Siemens (Ruska, von Borries)



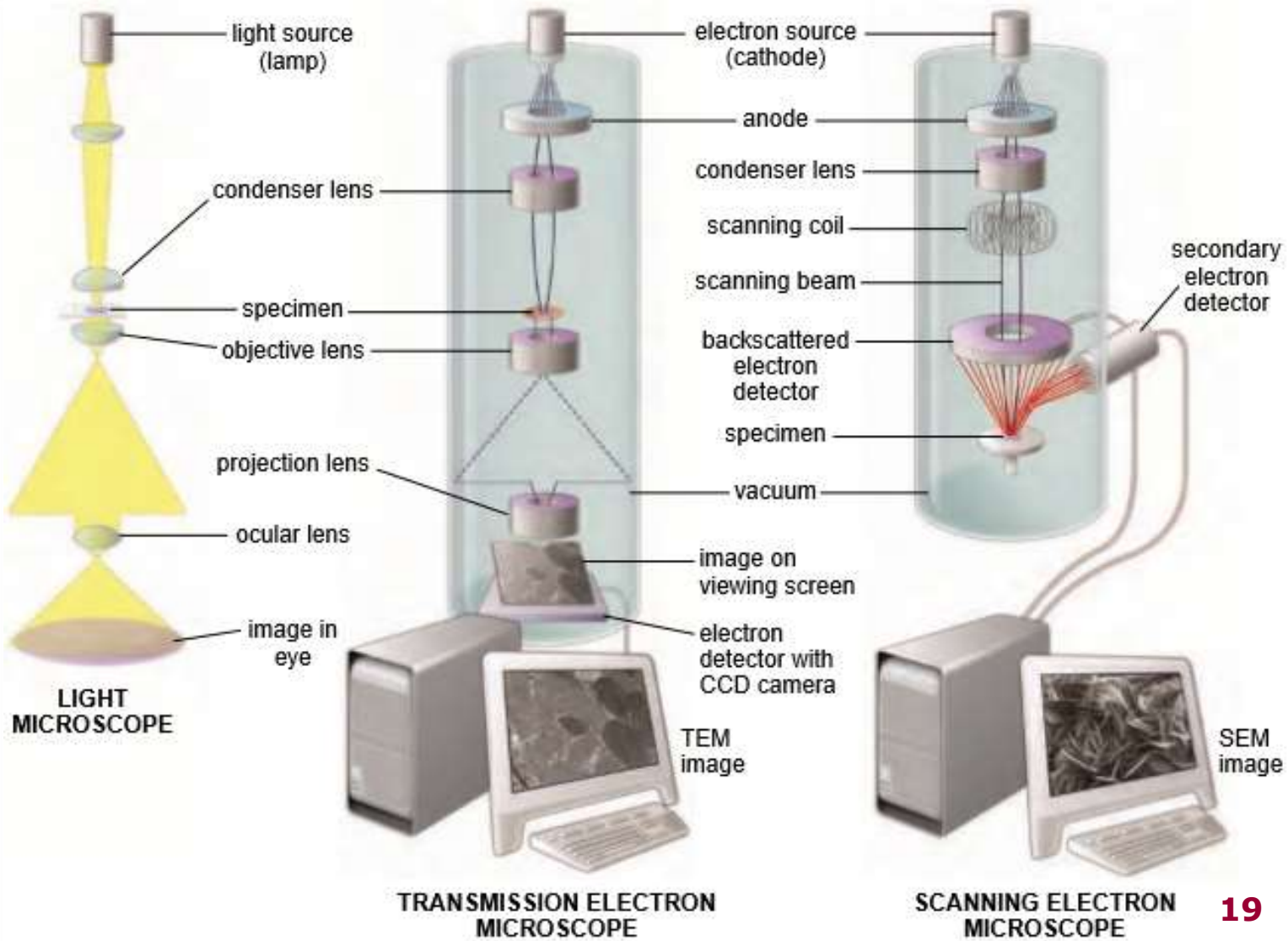
Електронен микроскоп



**1965, Charles Oatley
първият сканиращ
електронен микроскоп
(Stereoscan)**



Светлинен vs. Електронен микроскоп





Атомно-силов микроскоп

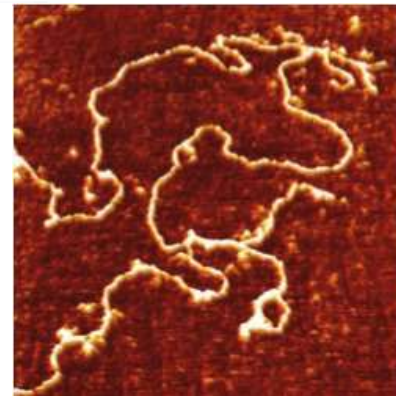
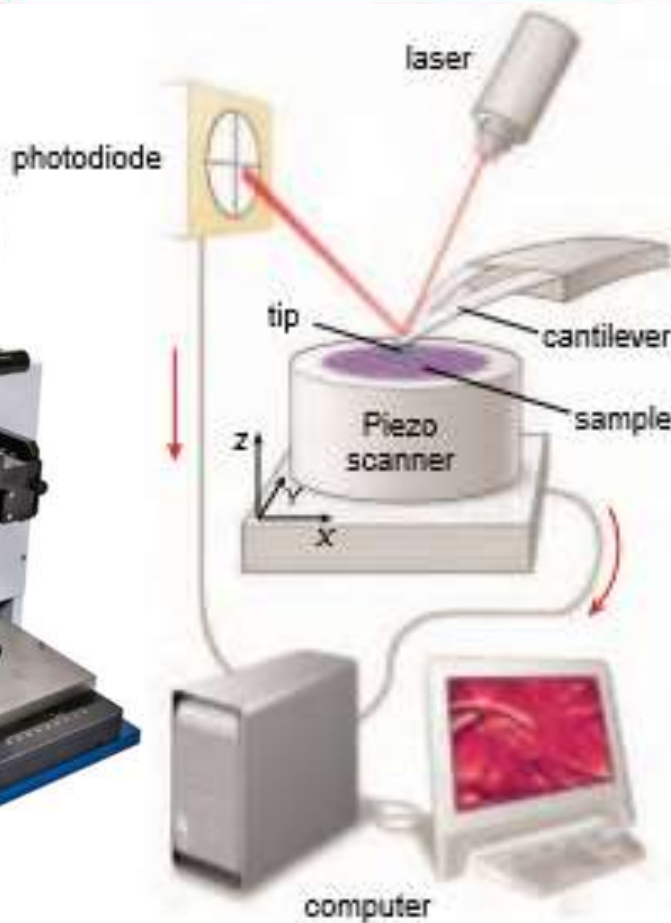


FIGURE 1.14 - Atomic force microscopic image of a single DNA molecule. This image was obtained in the contact mode in which the sharp scanning tip "bumps" up and down as it is moved back and forth over the surface of the sample. The sample lies on an ultrasmooth mica surface. An individual molecule of DNA easily produces enough of a bump to be detected. Thickenings along the DNA molecule are produced by proteins bound to the molecule, and these thickenings produce an even larger movement of the scanning tip. The scan field measures 540 nm by 540 nm. The length of the DNA molecule ranges from 0 to 40 nm. $\times 185,000$. (Courtesy of Dr. Gabriela Bagordo, JPK Instruments AG, Berlin, Germany)



CONTACT MODE



TAPPING MODE





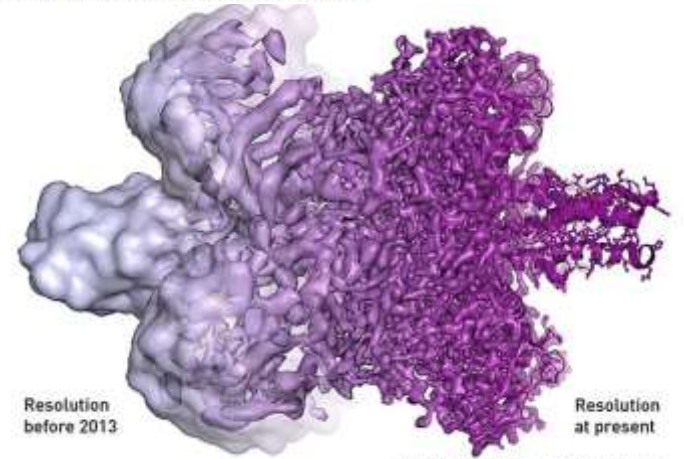
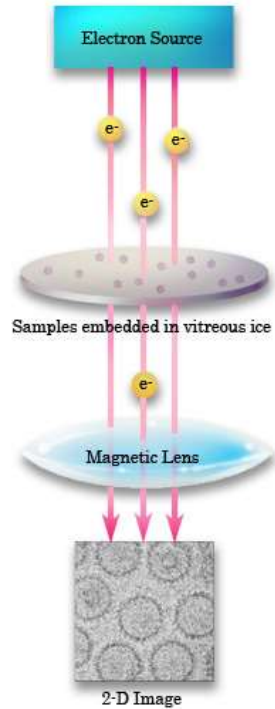
© Nobel Media. All rights reserved.
 Jacques Dubochet
 Joachim Frank
 Richard Henderson

Крио-електронна микроскопија

The Nobel Prize in Chemistry 2017

Jacques Dubochet, Joachim Frank, Richard Henderson

"for developing cryo-electron microscopy for the high-resolution structure determination of biomolecules in solution"



Cryo-Electron Microscopy

- A Form of EM; sample is studied at **Cryogenic Temperatures**
- Native state of specimen; not stained not Fixed
- Specimens are observed in vitreous ice
- **Cryo-fixation**; Rapid freezing of sample
- Automated 3D image to get high resolution images
- Low dose parameters are required so the sample is not destroyed





Ross Granville Harrison
(1870-1959)



Alexis Carrel
(1873-1944)

Нобелова награда за физиология или медицина 1912

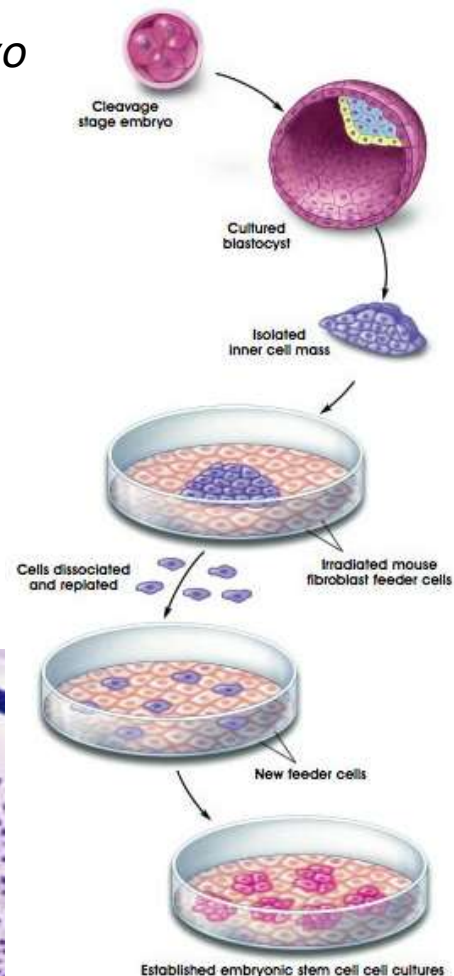
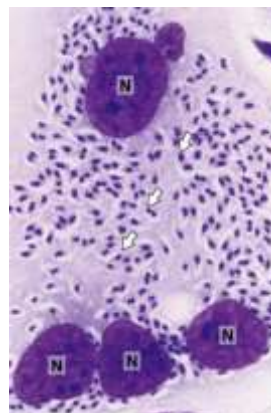
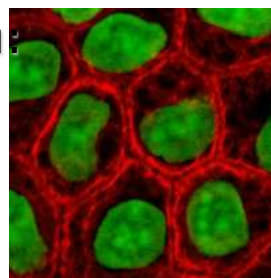


Витални наблюдения

- Клетъчни и тъканни култури: *in vitro* и *in vivo*
 - ✓ Първични:
 - дисоциирани (цитокултури)
 - експлантни (хистокултури)
 - ✓ Вторични: клетъчни линии

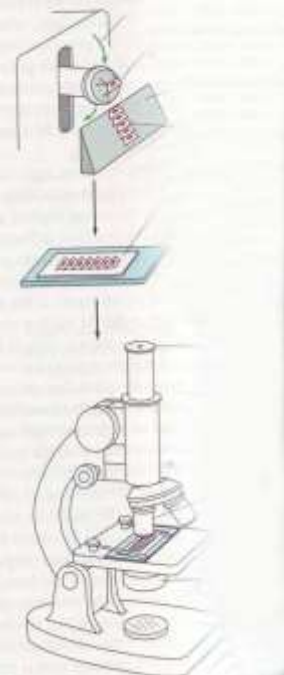
Приложения – инвертен микроскоп

1. Изследване метаболизма на нормални и ракови клетки
 2. Изследване на вируси, микоплазми и някои протозои
 3. Създаване на ваксини
 4. Цитогенетични изследвания:
 - ✓ митози и хромозомен анализ
 - ✓ човешки кариотип
 - ✓ генетични заболявания
 - ✓ генно и клетъчно инженерство
- Суправитална микроскопия

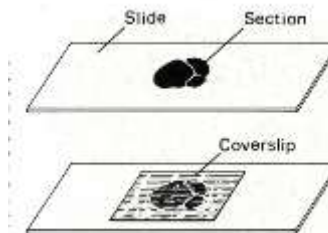
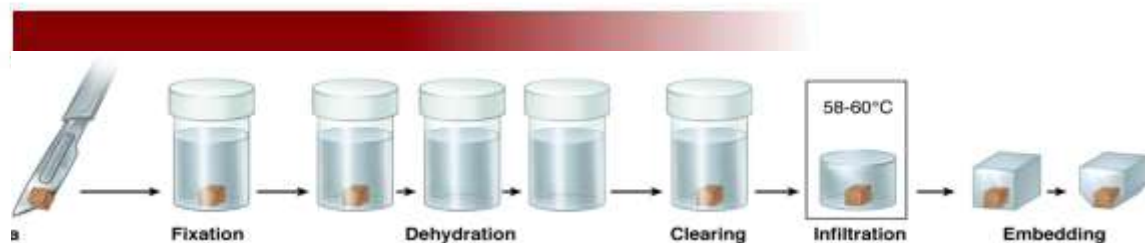




Johannes Purkinje
(1787-1869)



Методи за наблюдение на фиксирани клетки и тъкани



■ Траен хистологичен препарат

– етапи:

- ✓ вземане на материал: биопсия, некропсия
- ✓ фиксация: видове фиксатори
- ✓ промиване
- ✓ обезводняване (дехидратация)
- ✓ просветляване
- ✓ включване: парафин – *Klebs* (1869)
- ✓ рязане: микротом – *Oszat* (1843)
- ✓ оцветяване: видове оцветители
- ✓ монтиране

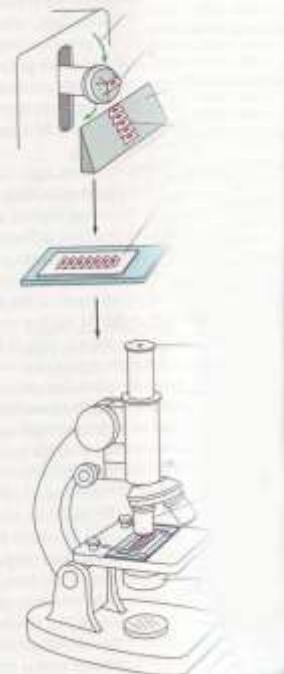


■ Електронномикроскопски препарат

23



Johannes Purkinje
(1787-1869)



Методи за наблюдение на фиксирани клетки и тъкани

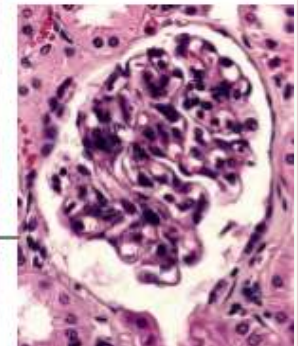
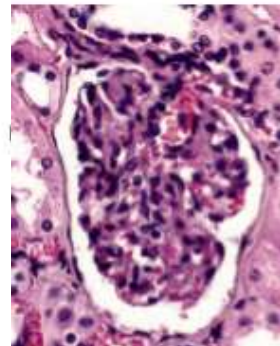
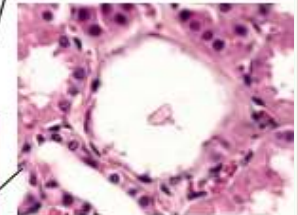
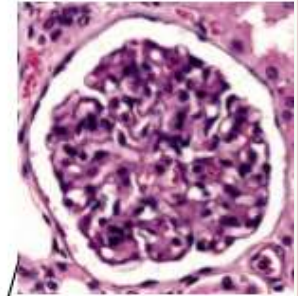
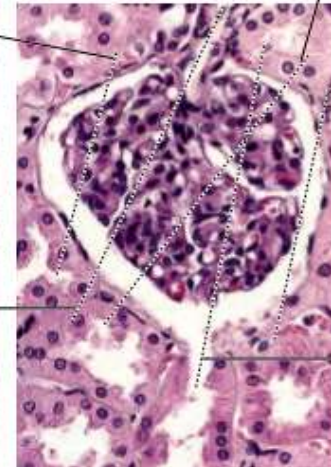
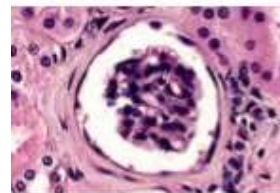
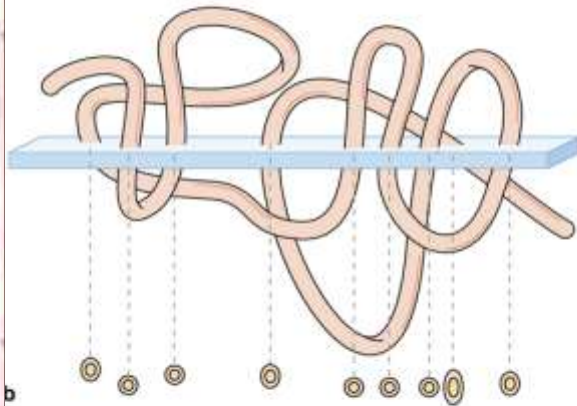
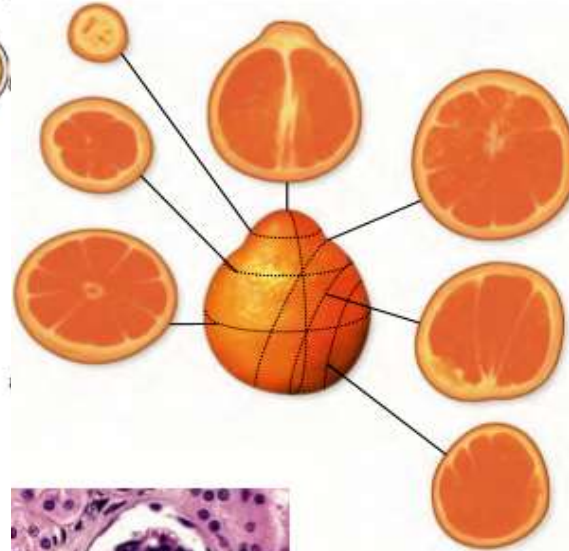
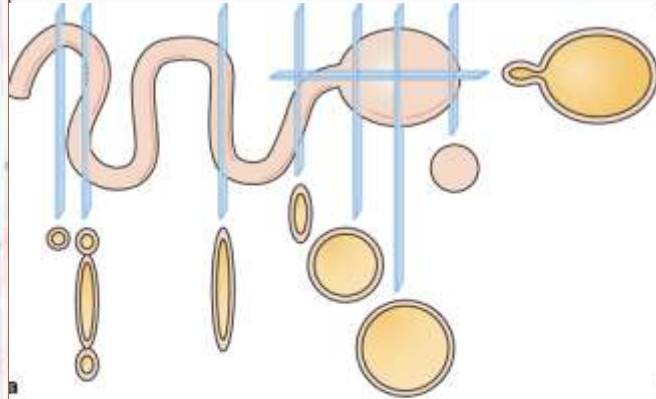


TABLE	1.2	Some Basic and Acidic Dyes
Dye	Color	
Basic dyes		
Methyl green	Green	
Methylene blue	Blue	
Pyronin G	Red	
Toluidine blue	Blue	
Acidic dyes		
Acid fuchsin	Red	
Aniline blue	Blue	
Eosin	Red	
Orange G	Orange	





Интерпретация на структурите в тъканни срезове





Виртуална микроскопия

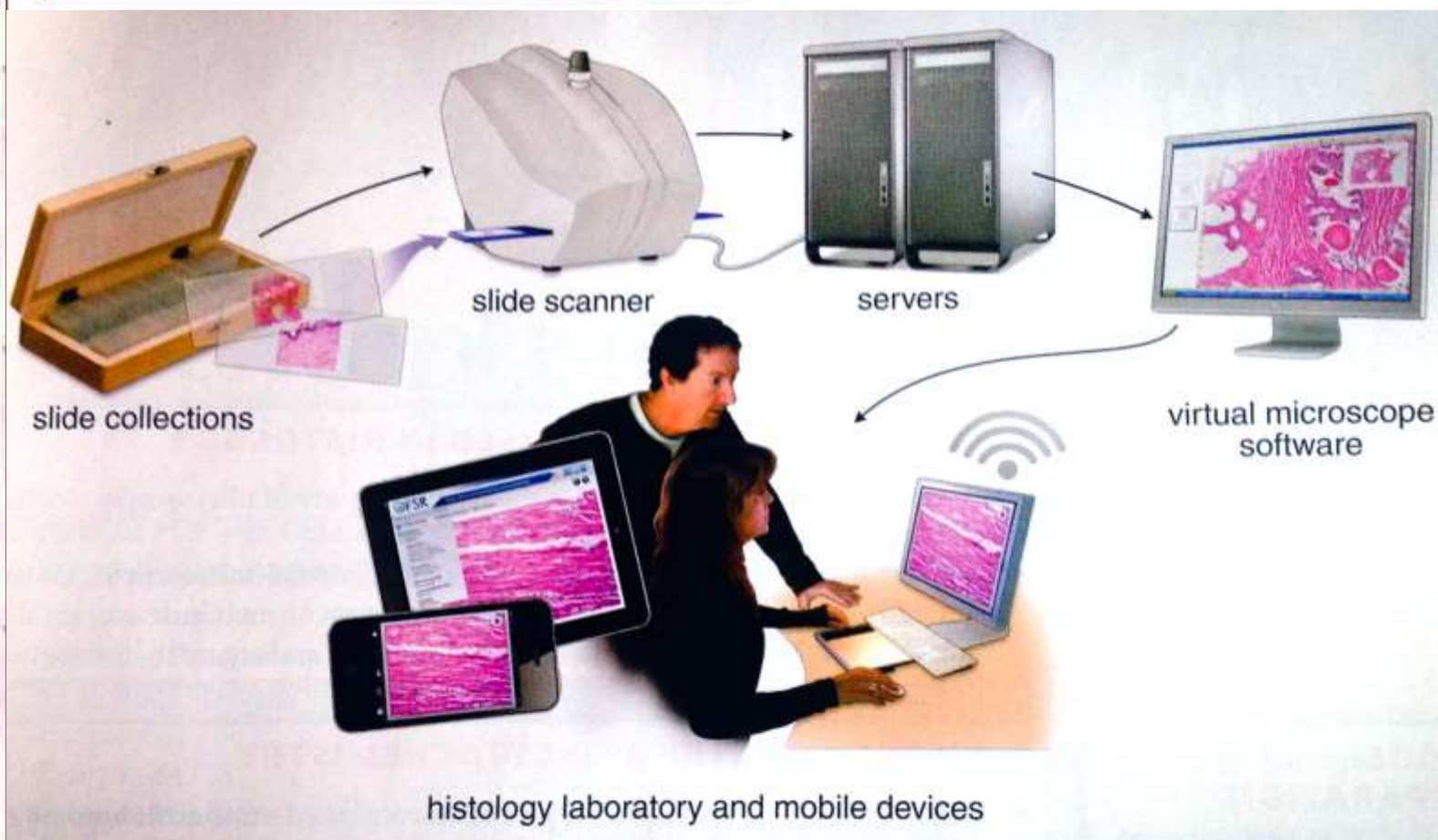
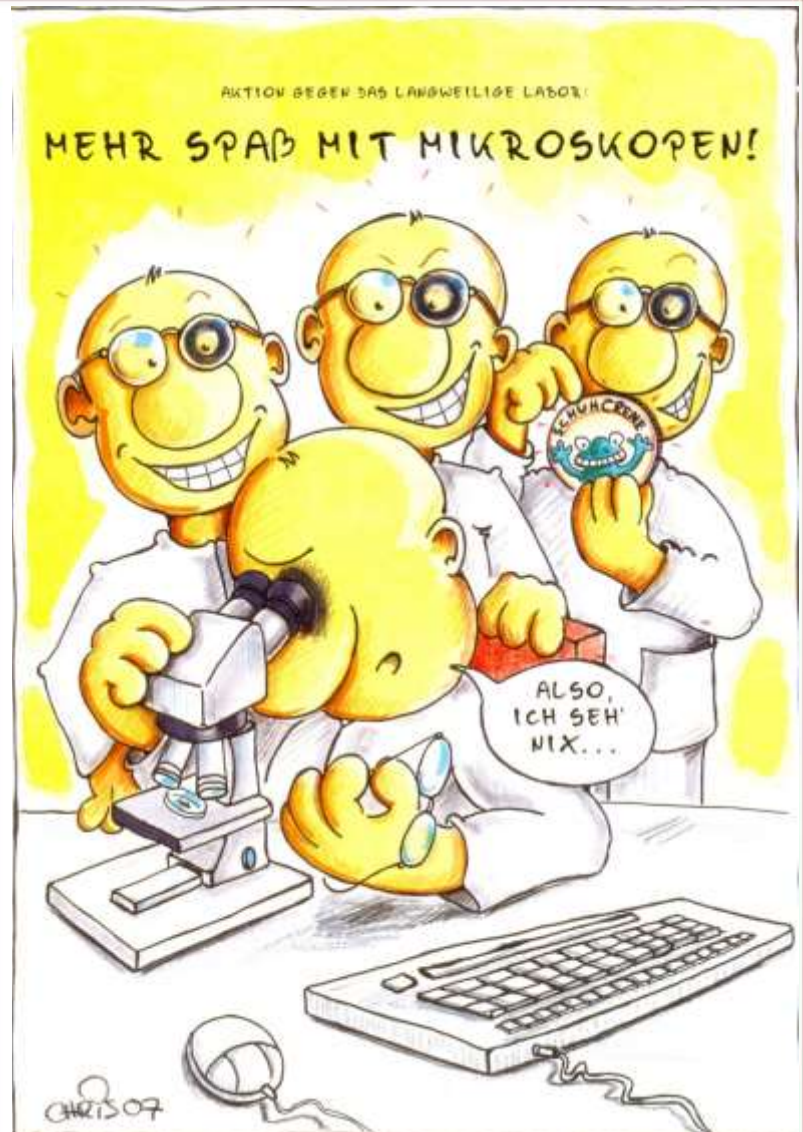


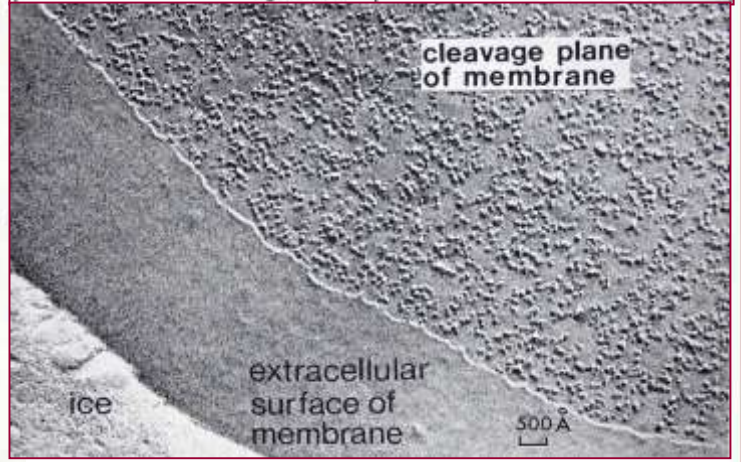
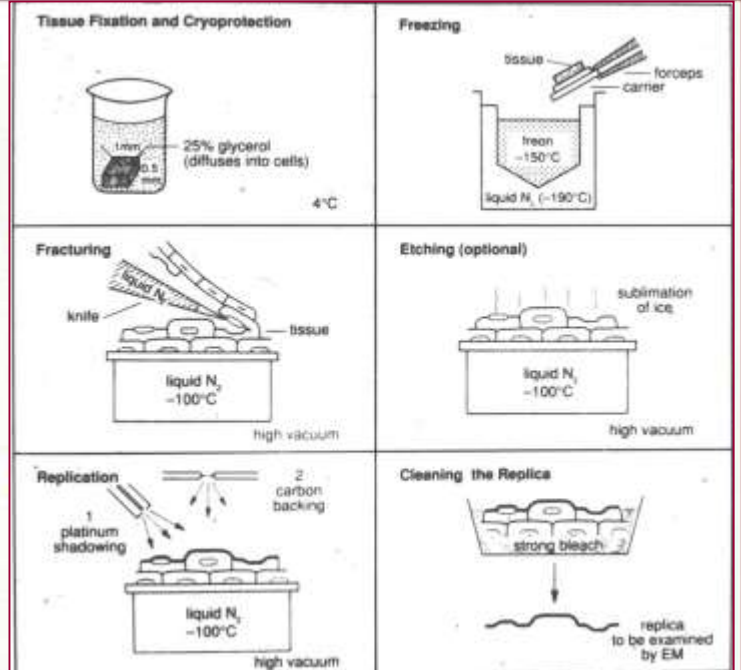
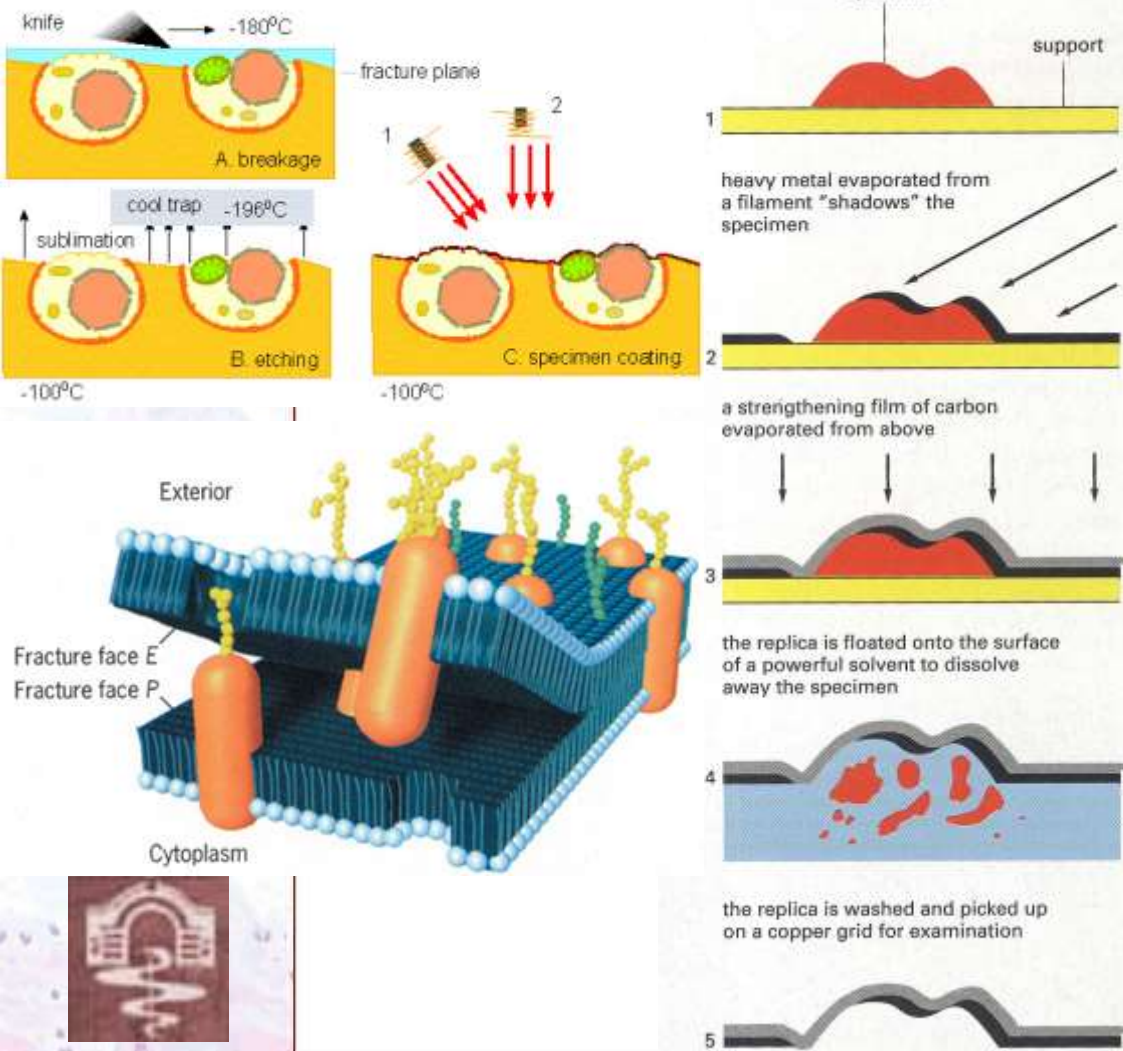


Figure 1. Using an inverted microscope



Проф. д-р Николай Лазаров

Метод на замразяване-ецване (Freeze-Etching, Freeze-Fracture)





Albert Claude
(1899-1983)
Нобелова награда,
1974

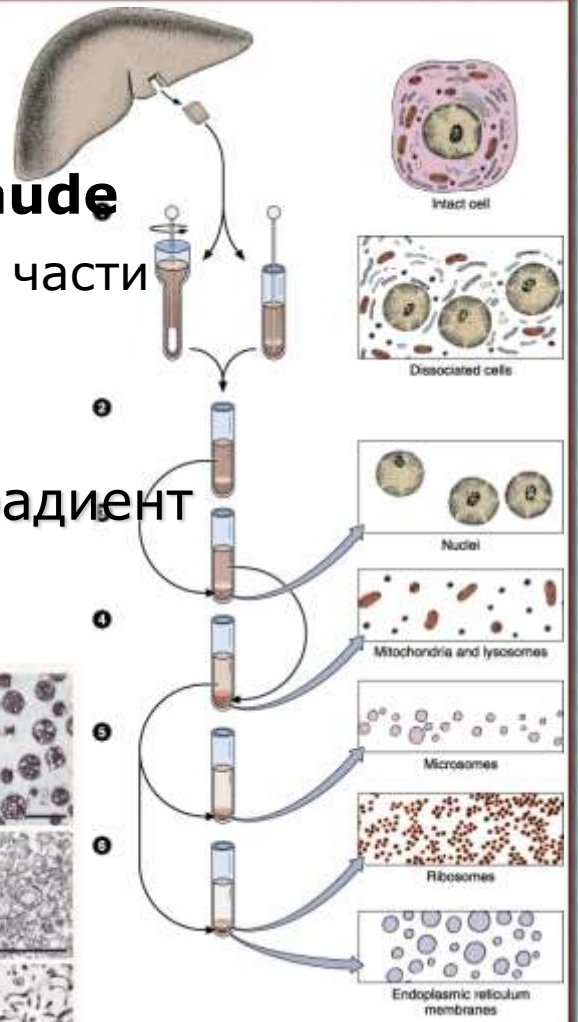


Theodor Svedberg
(1884-1971)
Нобелова награда,
1926



Клетъчно фракциониране

- ултрацентрифуга – **T. Svedberg**
- клетъчно фракциониране – **A. Claude**
 - ✓ служи за изолиране на клетъчни части (чисти фракции) чрез диференциално центрофугиране
- центрофугиране в плътностен градиент

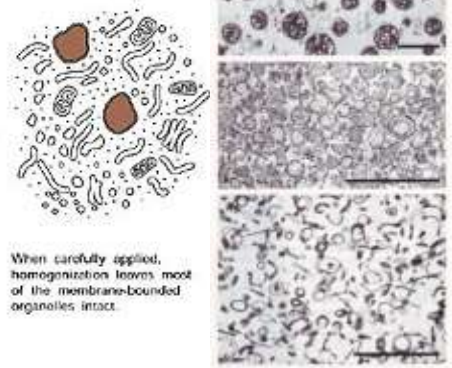
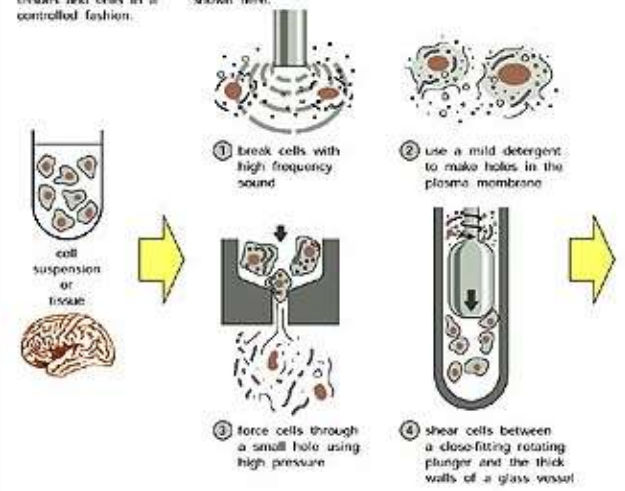


BREAKING CELLS AND TISSUES

The first step in the purification of most proteins is to disrupt tissues and cells in a controlled fashion.

Using gentle mechanical procedures, called homogenization, the plasma membranes of cells can be ruptured so that the cell contents are released. Four commonly used procedures are shown here.

The resulting thick soup (called a homogenate or an extract) contains large and small molecules from the cytosol, such as enzymes, ribosomes, and metabolites, as well as all the membrane-bounded organelles.



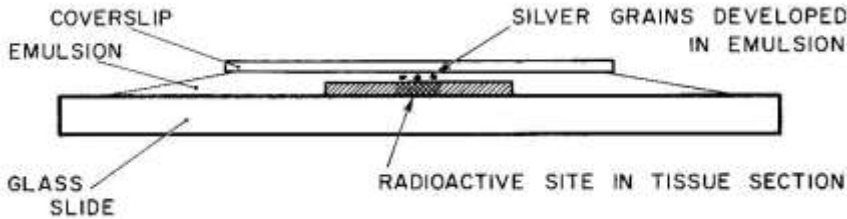
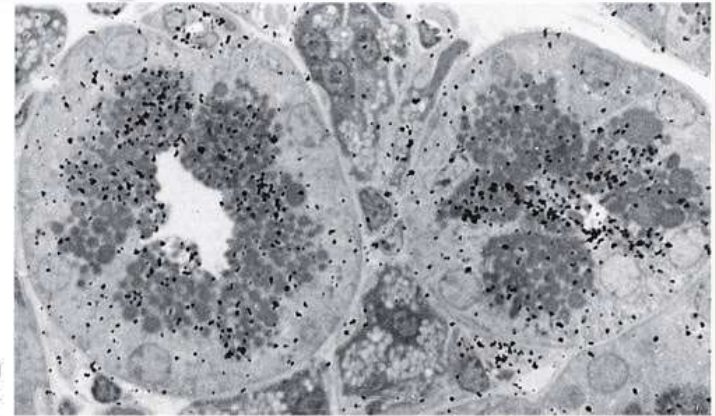
Авторадиография на тъканни срезове



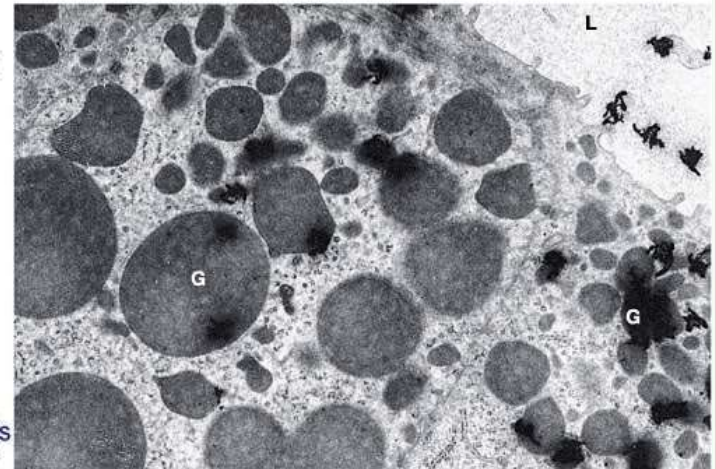
**Antoine Lacassagne
(1884-1971)**

1924, разработва първия
авторадиографски метод

Radioautography (Autoradiography)



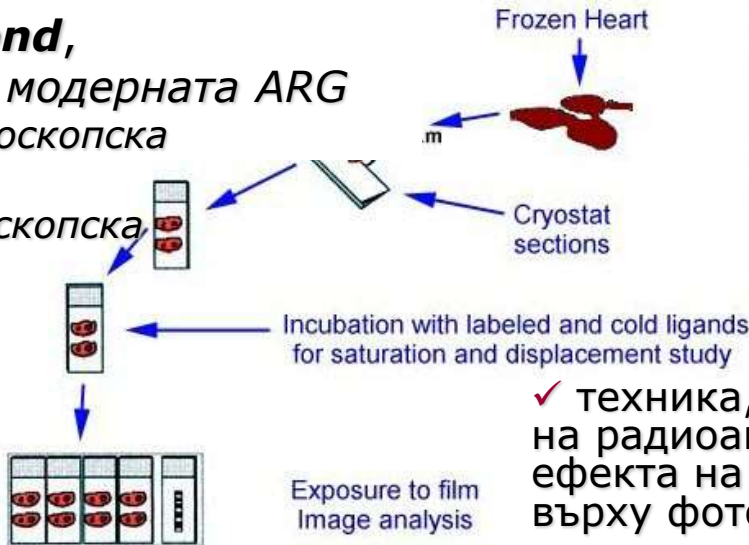
A



L

Belanger и Leblond,
1946 – начало на модерната ARG

- ✓ електронномикроскопска ARG
- ✓ светлинномикроскопска ARG

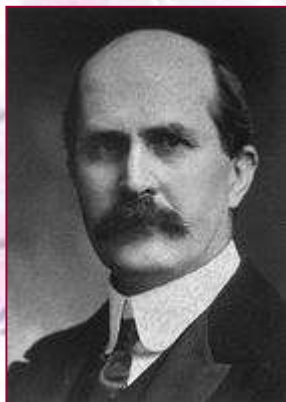


✓ техника, която позволява локализацията на радиоактивни вещества в тъканите чрез ефекта на емитирана радиация върху фотографски емулсии





Рентгеноструктурен анализ

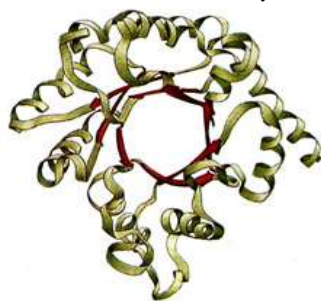
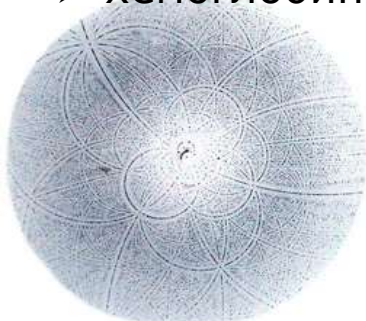


Sir William Henry Bragg
(1862-1942)

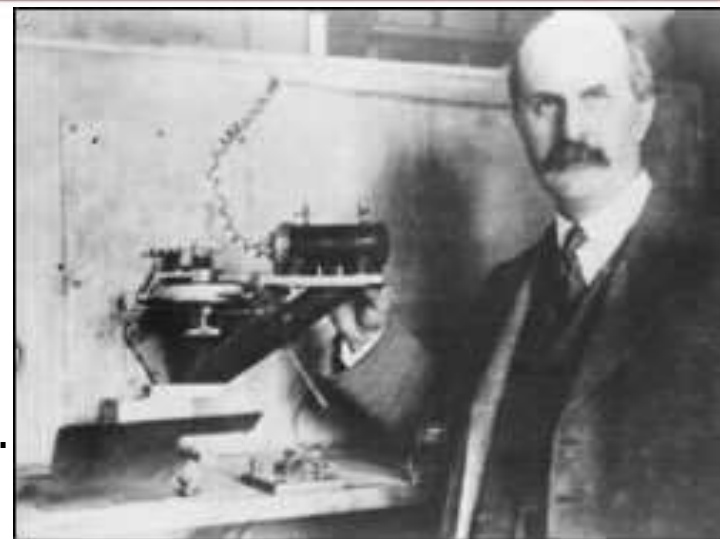
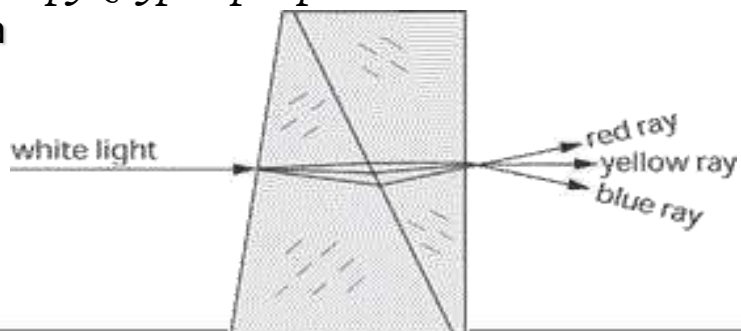


Sir William Lawrence Bragg
(1890-1971)
Нобелова награда
за физика, 1915

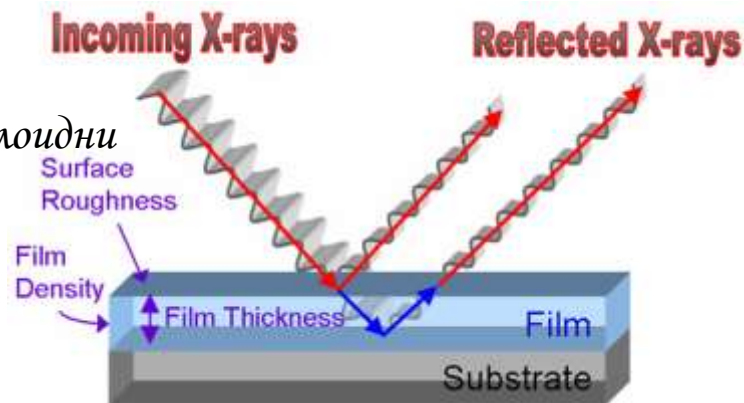
- ✓ метод за определяне подредбата на атомите в кристалите
- ✓ изучава пространствения строеж на молекулите в:
 - протеини и ДНК
 - холестерол и витамин В12
 - хемоглобин и миоглобин, и др.



“за заслугите им за изследване на кристалоидни структури чрез рентгенови лъчи”



W.H. Bragg and his X-ray spectrometer at University College, London.



ХИСТОХИМИЯ И ЦИТОХИМИЯ



Основател на метода: *Francois-Vincent Raspail* (1794-1878)

- ✓ Хистохимия = СМ резултати
- ✓ Цитохимия = ЕМ резултати

Качествен анализ: принципи

- ✓ **да съхрани прижизнената структура** на клетки и тъкани
- ✓ **локализация в оригиналните им места в клетката:**
избягване на транслокация на продукта
- ✓ **специфичност на хистохимичната реакция:**
позитивни и негативни контроли

Количествен анализ: микроспектрофотометрия





Ензимохистохимия: принципи и приложения

- Ензим, субстрат, продукт
- Принципи:
 - ✓ свеж, нефиксиран материал – криостат
 - ✓ краткотрайна фиксация при ниска температура
 - ✓ рН оптимум на доказвания ензим: буфери
- Основни изисквания:
 - ✓ демонстриране на краен продукт, а не на ензима
 - ✓ неразтворим продукт: истинска локализация в клетката
 - ✓ цветен продукт: лесно разграничим от фона

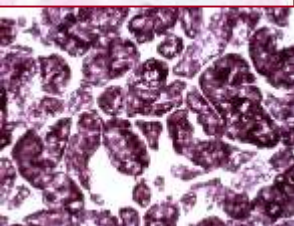


Ензим + Субстрат = неоцветен реакционен продукт
Продукт + Оцветител (Боя) = неразтворим оцветен
краен реакционен продукт

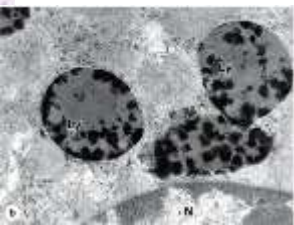




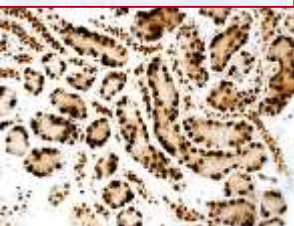
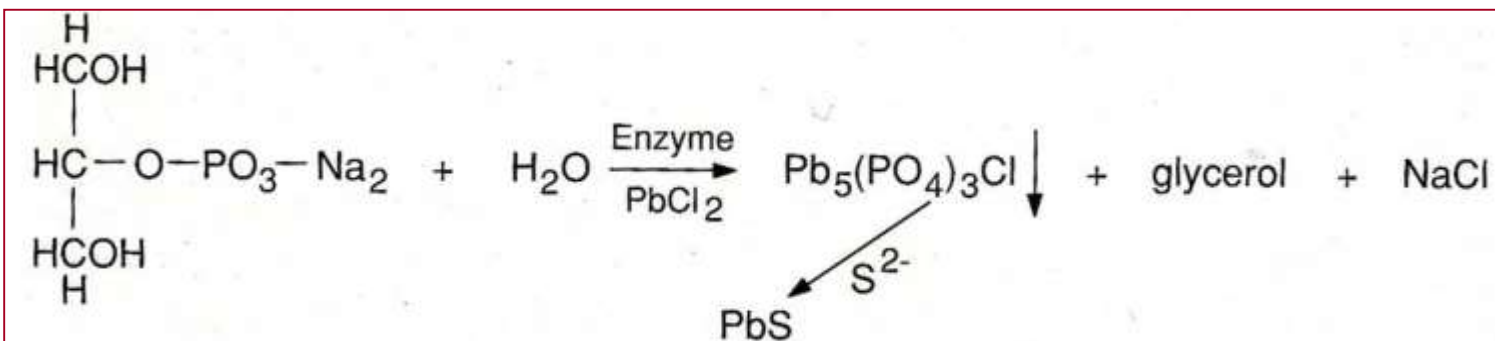
Каталитична ензимохистохимия



Бъбрек на плъх

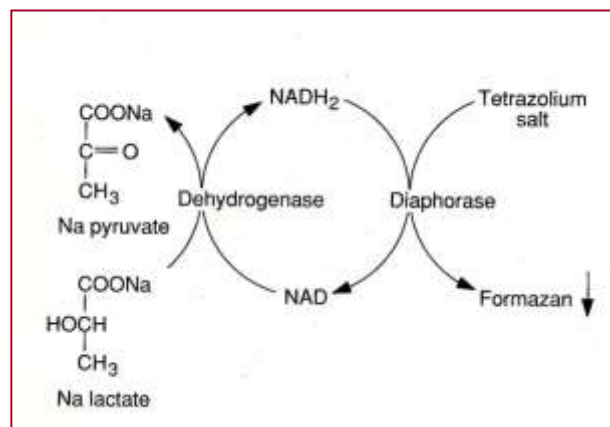


- Хидролази: метод на *Gomori* (1950, 1952)
 - ✓ кисела фосфатаза – лизозоми и комплекс на *Golgi*



Бъбрек на плъх

- оксидоредуктази: метод на *Nachlas* (1957)
 - ✓ сукцинатдехидрогеназа – митохондрии
 - ✓ катализира окислението на сукцинат до фумарат



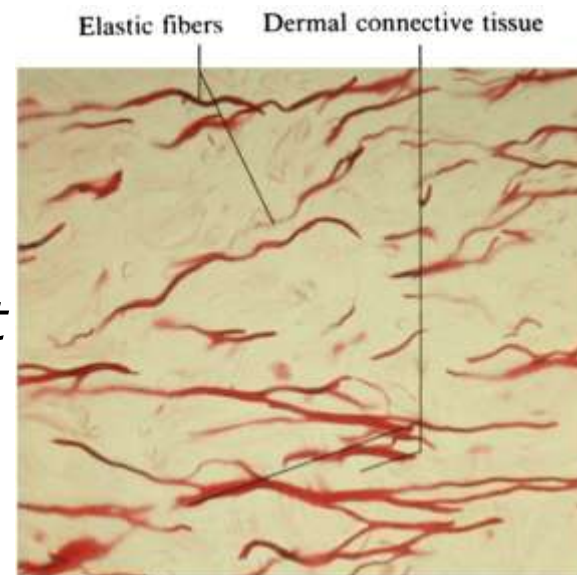
сукцинат + акцептор = фумарат + редуциран акцептор **34**





Доказване на протеини

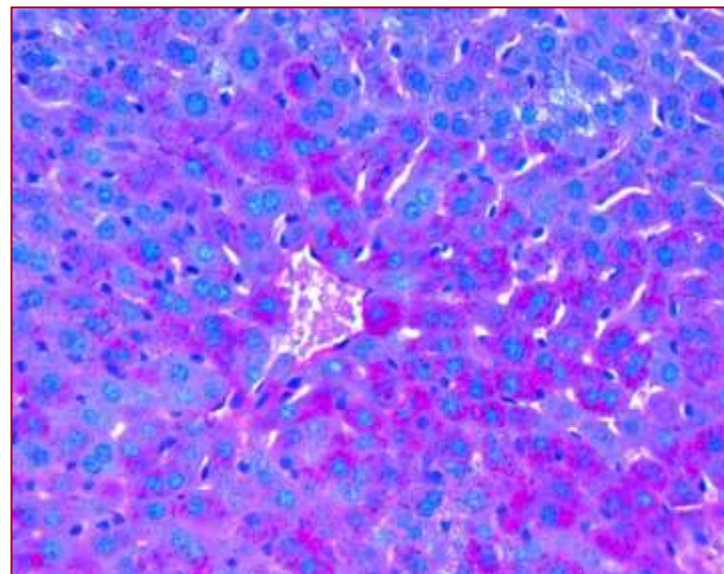
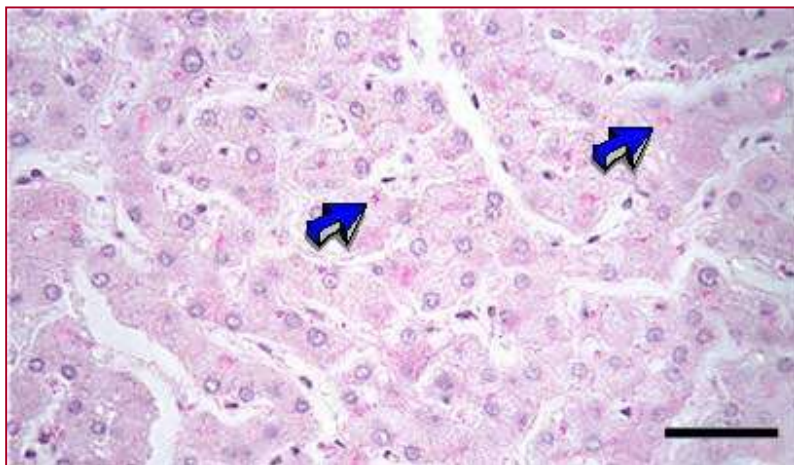
- Хистохимичните методи обичайно не позволяват идентификацията на специфични протени в клетките и тъканите
- еластични влакна:
 - ✓ орцеин
 - ✓ резорцин-фуксин по *Weigert*
- аминокиселини:
 - ✓ имунохистохимия
- химични групи:
 - ✓ параалдехид-фуксин – невросекрет, инсулин
- разтворимост и изоелектрична точка





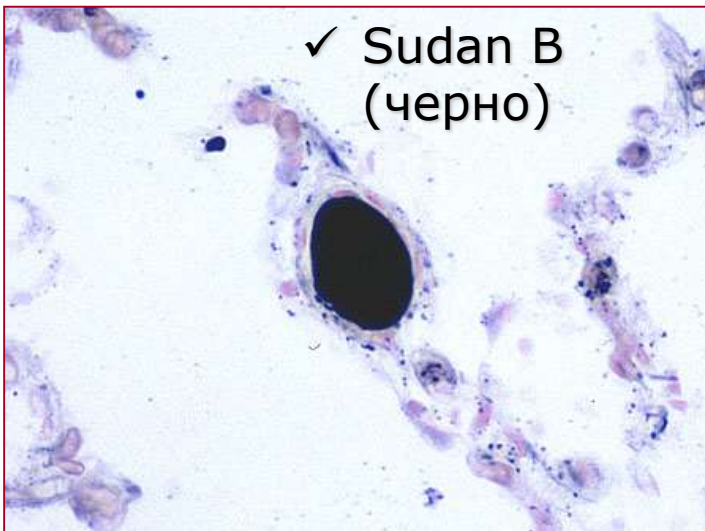
Доказване на олиго- и полизахариди

- **PAS**-реакция (**P**eriodic **A**cid-**S**chiff)
 - ✓ доказване на **гликоген** в тъканите
 - ✓ доказване на **гликопротеини**
 - ✓ доказване на **гликозаминогликани**

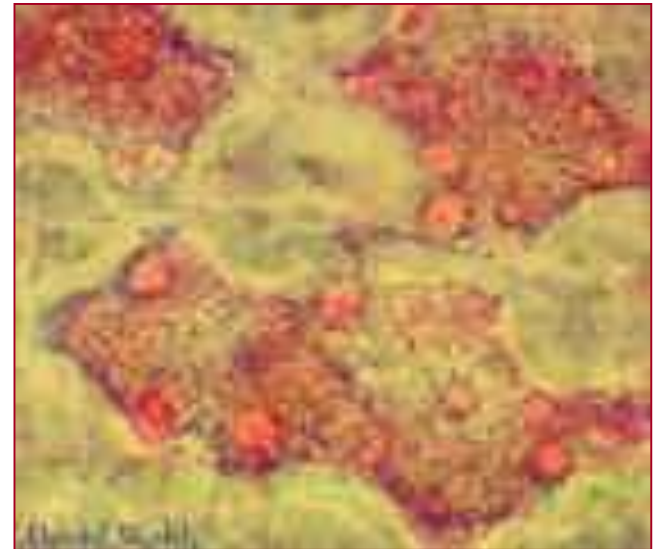




Доказване на липиди



- Най-добре се визуализират след оцветяване с липобои:



- ✓ Sudan IV
(червено)

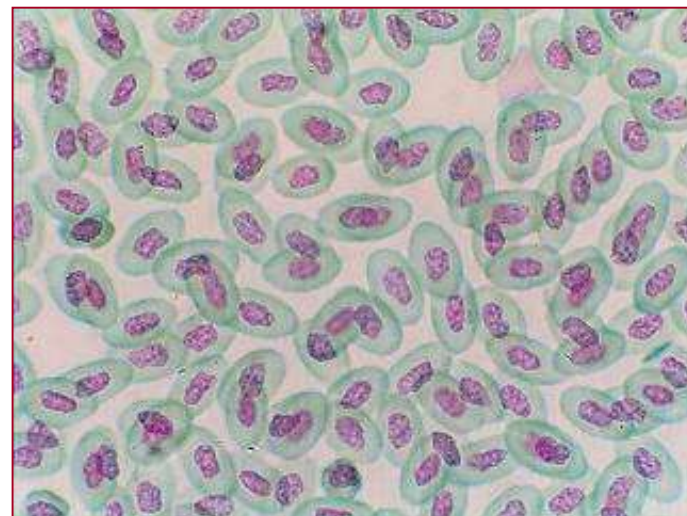




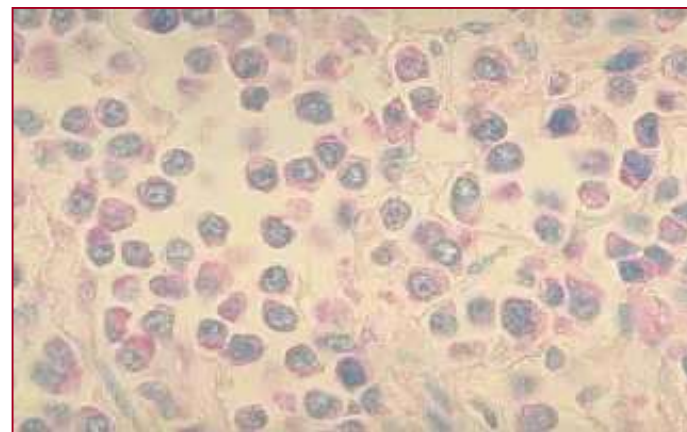
Доказване на нуклеинови киселини

- основано на базофилията на нуклеиновите киселини

✓ **ДНК:** метод на *Feulgen* и *Rossenbeck* (1924)
(реакция на *Feulgen*)



✓ **РНК:** метод на *Brachet* (1940-1941)
метиловено зелено-пиронин



Проф. д-р Николай Лазаров



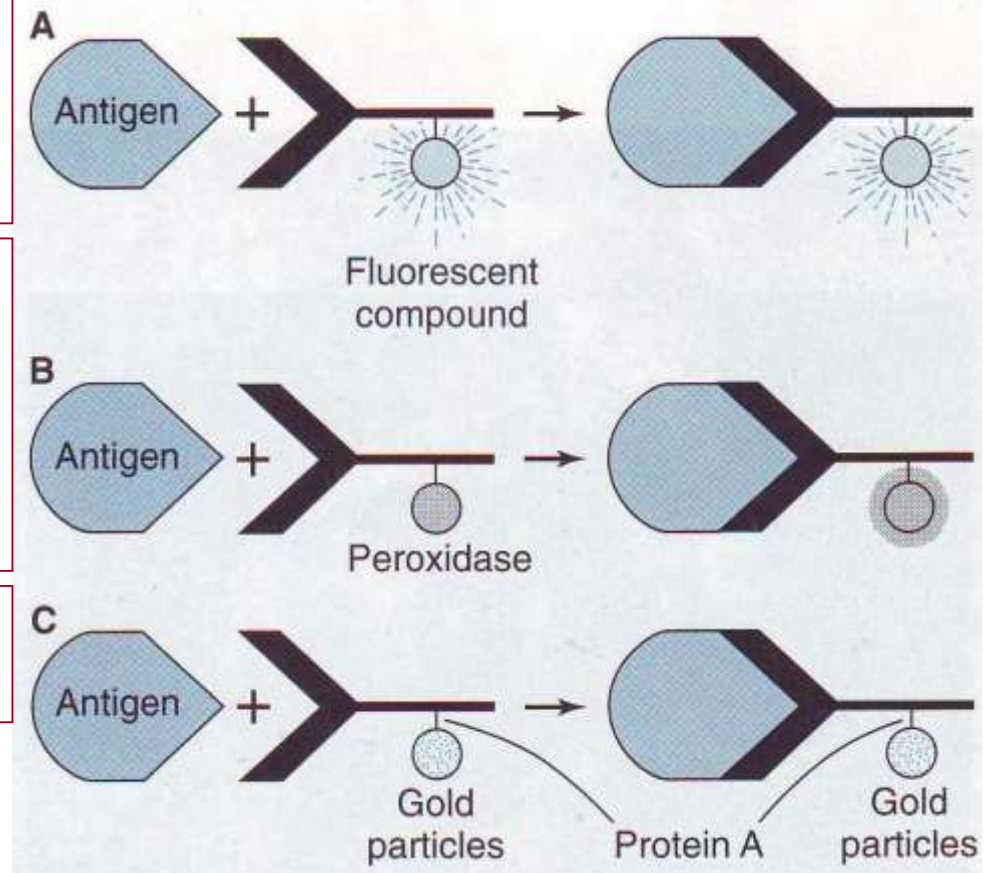
Имунохистохимия

- Основана на реакцията антиген-антитяло
- Методи за белязане на **антитела**:

✓ свързване с флуоресцентно съединение: имунофлуоресцентен метод – *Coons, 1941*

✓ свързване с ензим: РАР метод (*Sternberger et al., 1970*)
АВС техника (*Hsu et al., 1981*)

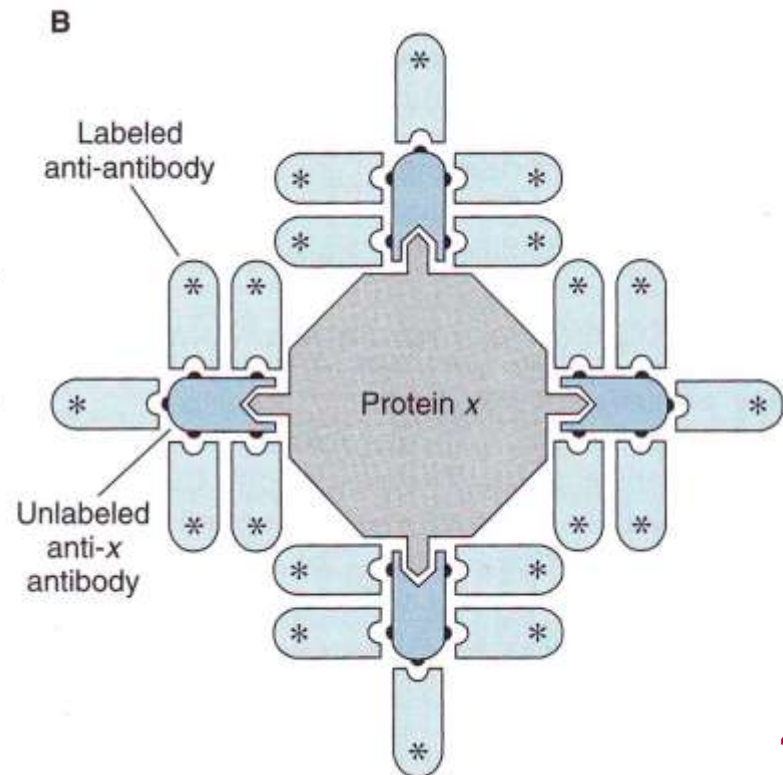
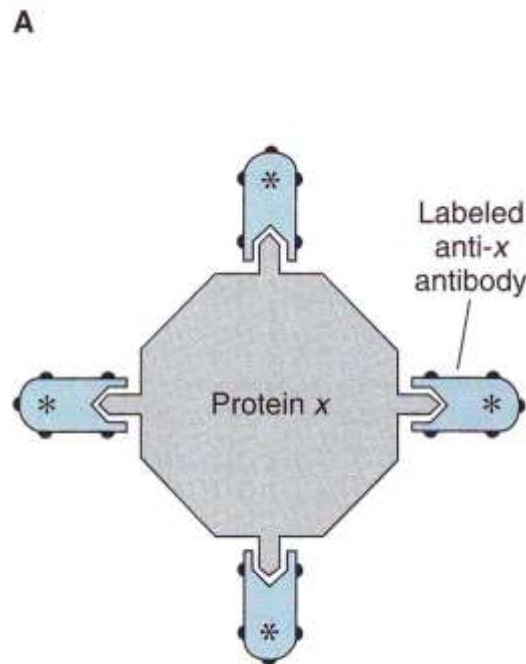
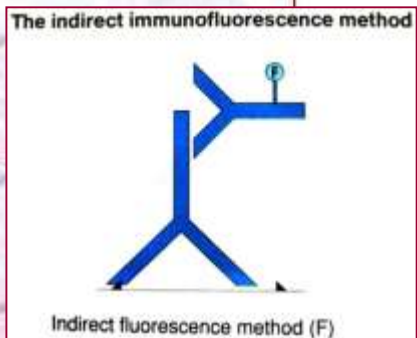
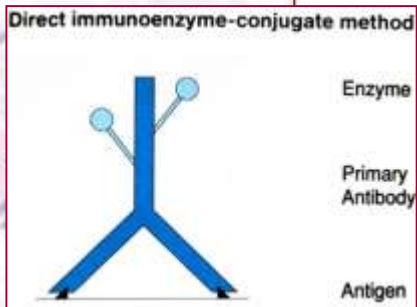
✓ свързване със златни частици



Имунохистохимия

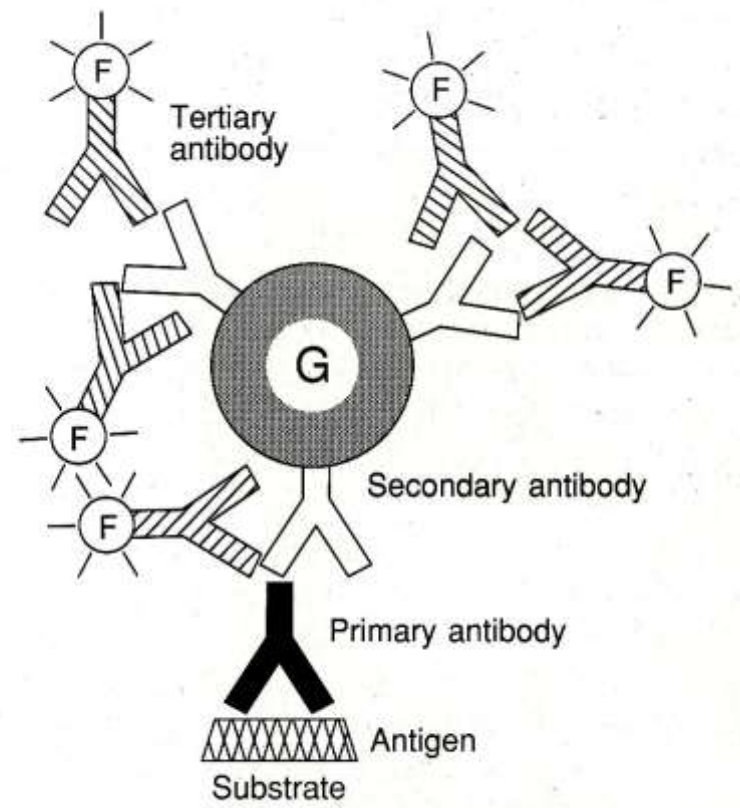
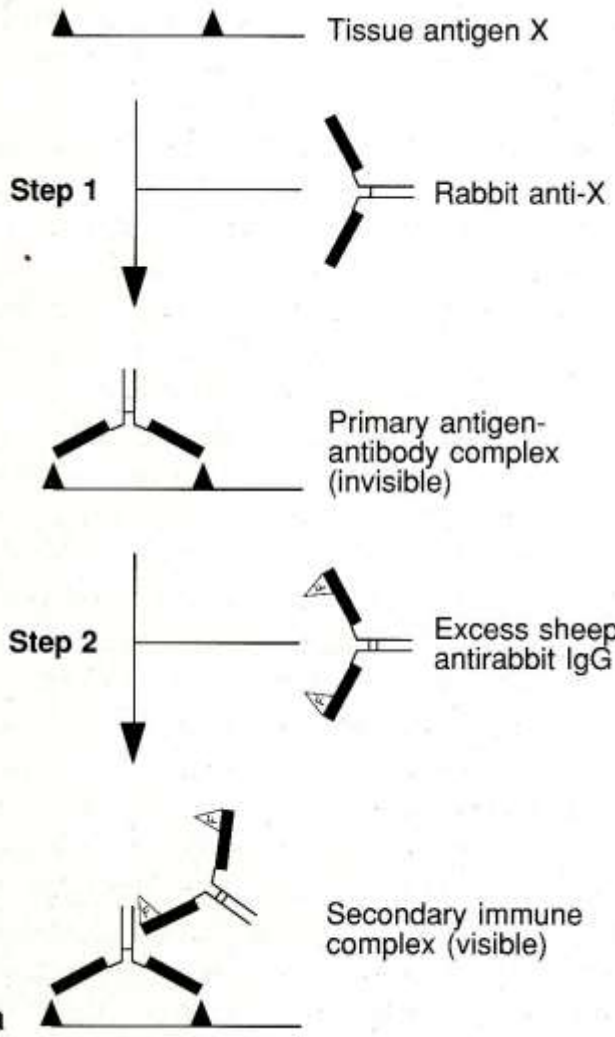
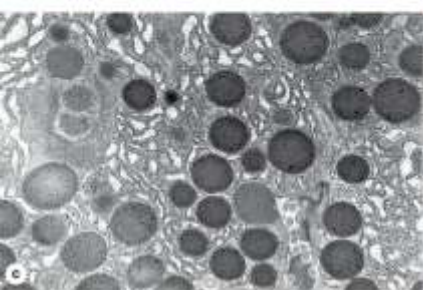
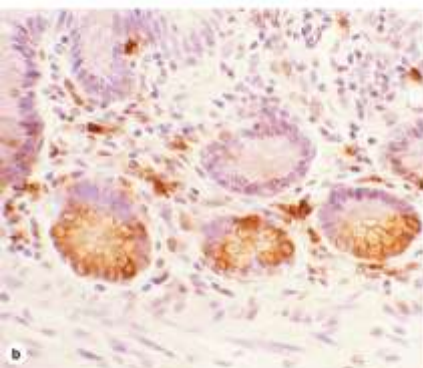
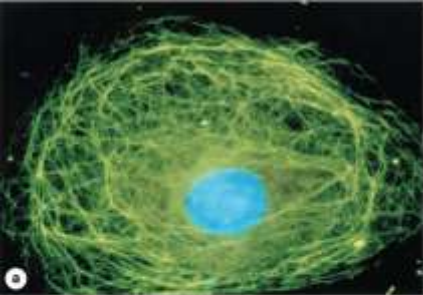
- Основана на реакцията антиген-антитяло
- Методи за локализиране на **антигени**:

- ✓ директен метод – детектиране с флуоресцентен микроскоп
- ✓ индиректен метод – по-чувствителен, но многостъпален





ИМУНОХИСТОХИМИЧНИ ТЕХНИКИ

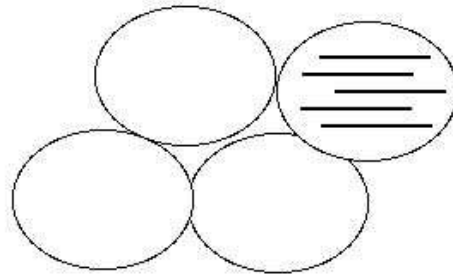




Техники на молекулярната биология

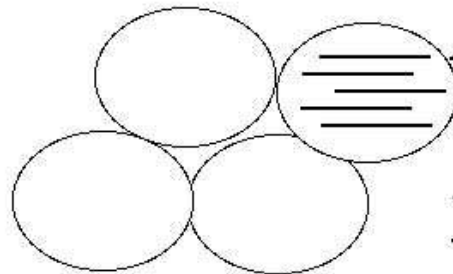
Четири клетки **една** от които експресира интересуваща ни иРНК

■ *In situ* хибридизация



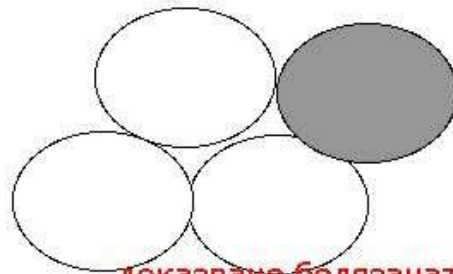
} — **иРНК**

Хибридизация на сонди за специфични РНК в тъканни срезове = *In situ* хибридизация



хибридизация с белязана последователност НК

(probe)



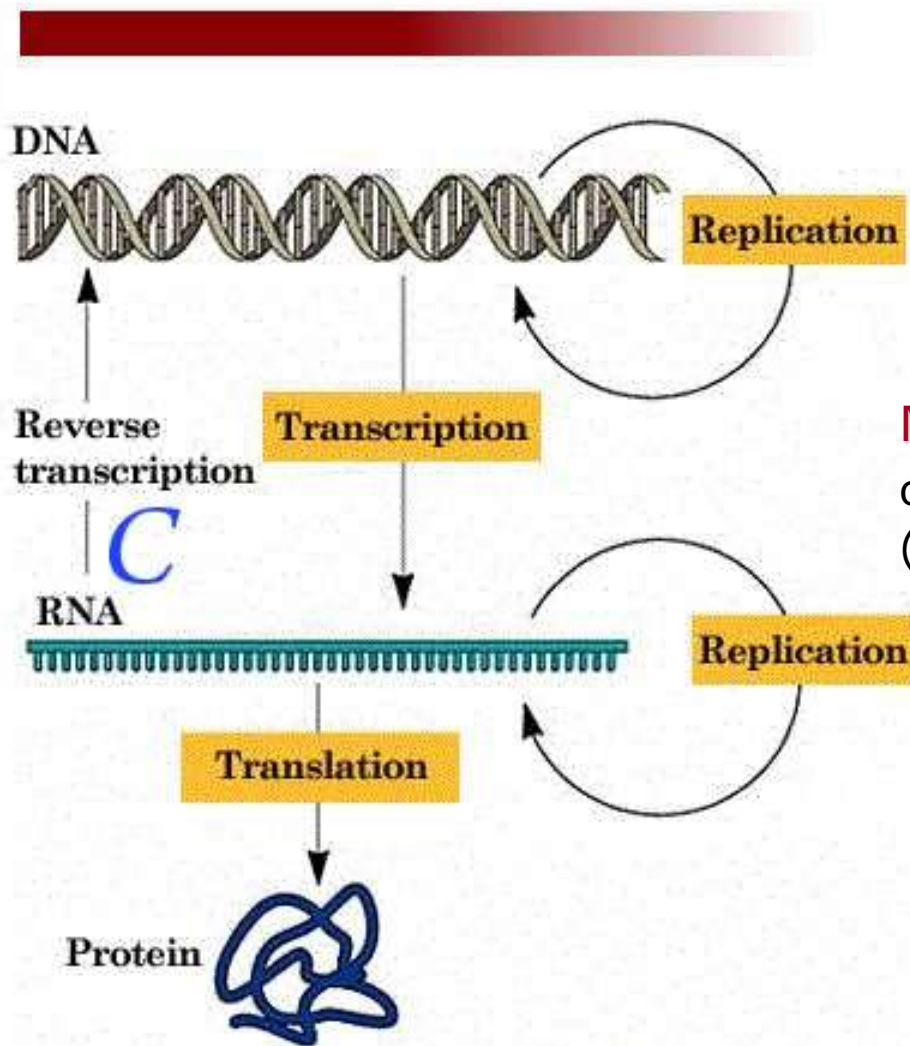
доказване белязаната НК последователност = установяване на интересуващата ни клетка

■ *In situ* PCR (полимеразна верижна реакция)





Хибридизационни техники



Southern blotting – определяне на специфични ДНК последователности, *Edwin M. Southern*

Northern blotting – определяне на РНК фрагменти (или изолирана иРНК)

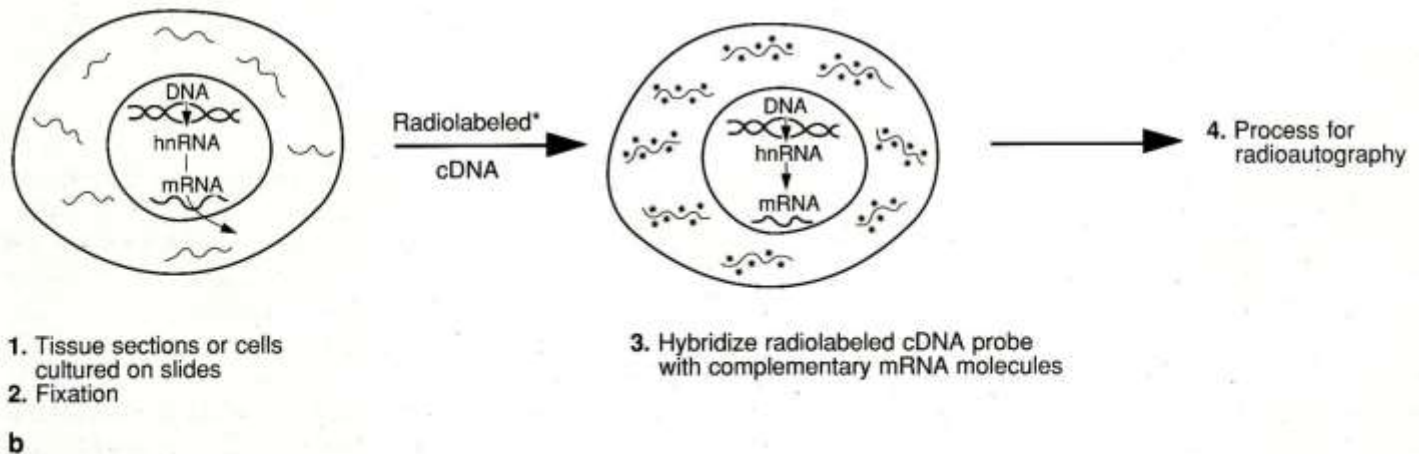
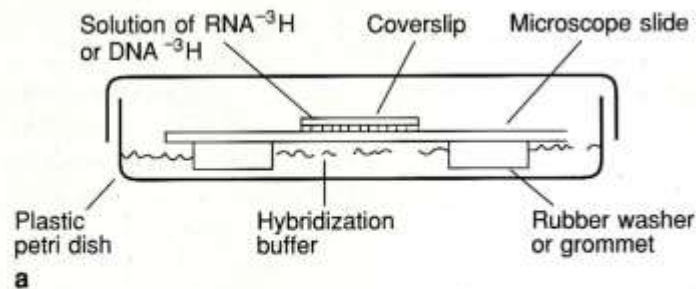
Western blotting (Immunoblotting, Protein blotting) – определяне на специфични протеини





In situ хибридизация

■ Радиоктивна *in situ* хибридизация:





In situ хибридизация

- Нерадиоактивна *in situ* хибридизация:

✓ оригинално разработена от *Pardue* и *Gall* (1969), и (независимо) от *John et al.* (1969)

Подготовка на препарат и фиксация на материала

Избор на сонда и нейното белязане

**Денатурация на таргетната ДНК
(сонда и мишена)**

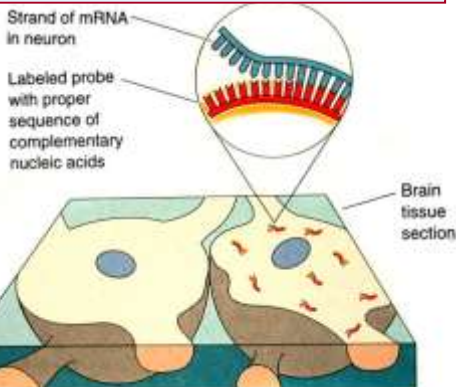
***In situ* хибридизация (ИСХ)**

Имунохистохимична визуализация

Микроскопия

Схематично представяне на ИСХ процедура 45

Nonradioactive *In Situ* Hybridization

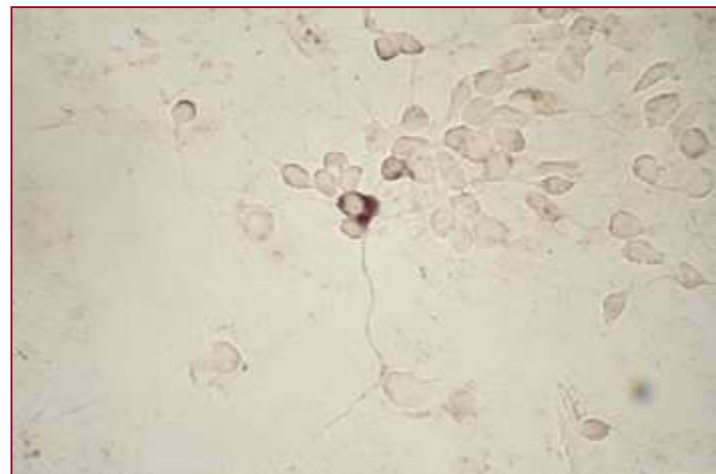




Медицински приложения

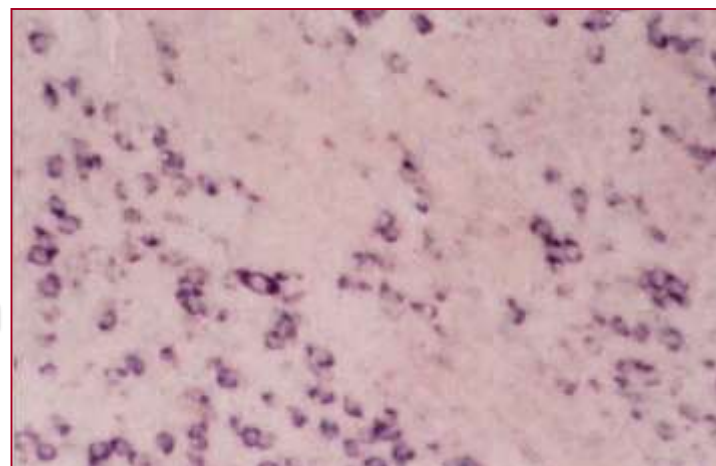
■ Във **фундаменталните изследвания:**

- ✓ картиране на гени
- ✓ локализация на генна експресия
- ✓ систематизация на ядрена ДНК и РНК
- ✓ репликация
- ✓ клетъчно сортиране



■ В **клиничната практика:**

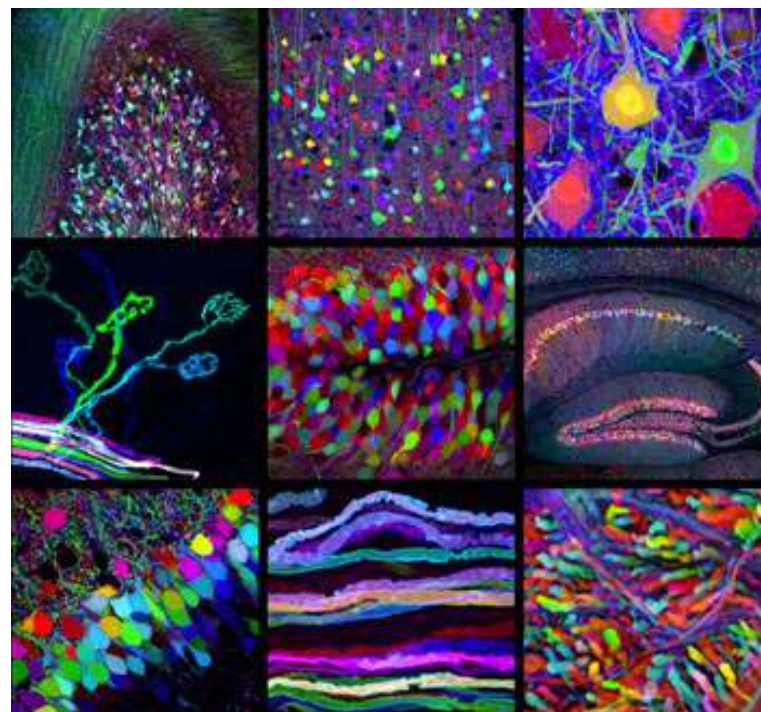
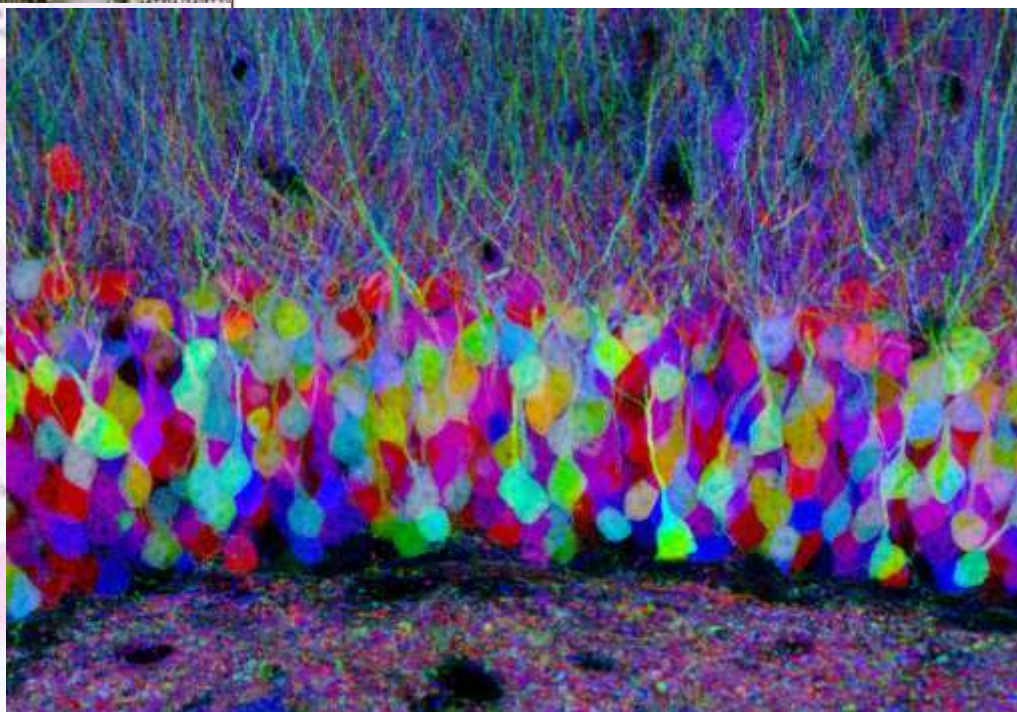
- ✓ биологична дозиметрия
- ✓ цитогенетика
- ✓ пренатална диагностика
- ✓ генетични нарушения
- ✓ диагностика на инфекциозни и злокачествени заболявания



Конектомика



- **connectome**
 - ✓ картографиране връзките между невроните
- **brainbow (мозъчна дъга)**
 - ✓ транسخонно рисуване в мозъка



Lichtman et al.: *Nature* 2007, 450:56-62

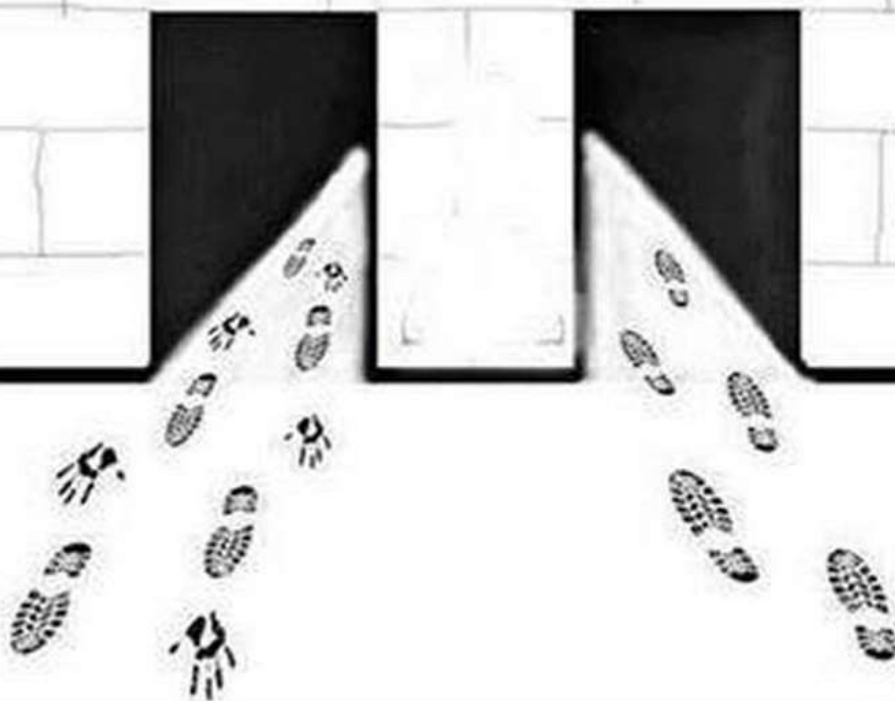
47

medicine

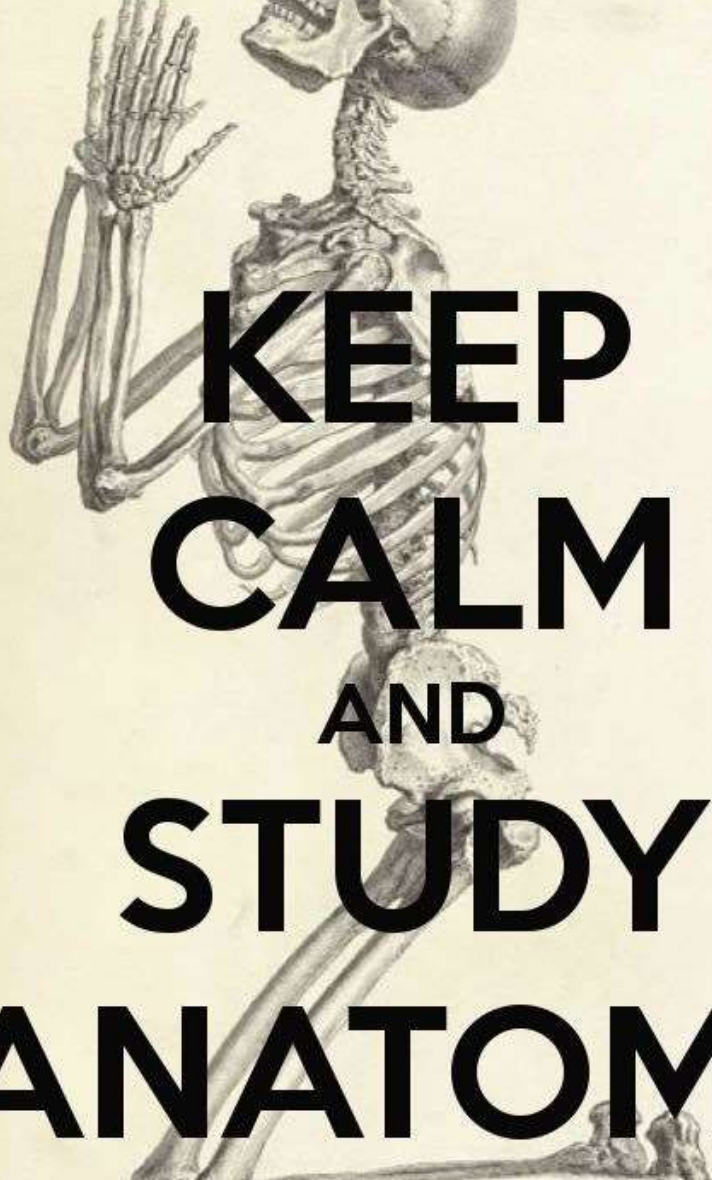
Faculty of medicine

EXIT

ENTRY



No Pain, No Gain



**KEEP
CALM
AND
STUDY
ANATOMY**



Благодаря ...

48

Проф. д-р Николай Лазаров