



## МИНОБРНАУКИ РОССИИ

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования

**«ИРКУТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

ФГБОУ ВО «ИГУ»

**Кафедра физико-химической биологии, биоинженерии и биоинформатики**



### Рабочая программа дисциплины

Наименование дисциплины: **Б1.В.ДВ.02.02 СОВРЕМЕННАЯ МИКРОСКОПИЯ»**

Специальность: 06.05.01 «БИОИНЖЕНЕРИЯ И БИОИНФОРМАТИКА»

Специализация: «Биоинженерия и биоинформатика»

Квалификация выпускника: биоинженер и биоинформатик

Форма обучения: очная с элементами электронного обучения и дистанционных образовательных технологий

Согласовано с УМК биолого-почвенного  
факультета  
Протокол № 4 от 20.04.2024  
Председатель \_\_\_\_\_ А. Н. Матвеев

Рекомендовано кафедрой физико-химической  
биологии, биоинженерии и биоинформатики  
Протокол № 15 от 17.04.2024  
Зав. кафедрой \_\_\_\_\_ В.П. Саловарова

Иркутск 2024 г.

## Содержание

|                                                                                                                                                          | стр. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| I. Цель и задачи дисциплины .....                                                                                                                        | 3    |
| II. Место дисциплины в структуре ОПОП .....                                                                                                              | 3    |
| III. Требования к результатам освоения дисциплины .....                                                                                                  | 3    |
| IV. Содержание и структура дисциплины .....                                                                                                              | 6    |
| 4.1 Содержание дисциплины, структурированное по темам, с<br>указанием видов учебных занятий и отведенного на них количества<br>академических часов ..... | 6    |
| 4.2 План внеаудиторной самостоятельной работы обучающихся по<br>дисциплине .....                                                                         | 7    |
| 4.3 Содержание учебного материала .....                                                                                                                  | 10   |
| 4.3.1 Перечень семинарских, практических занятий и лабораторных<br>работ .....                                                                           | 11   |
| 4.3.2. Перечень тем (вопросов), выносимых на самостоятельное<br>изучение в рамках самостоятельной работы студентов .....                                 | 12   |
| 4.4. Методические указания по организации самостоятельной<br>работы студентов .....                                                                      | 12   |
| 4.5. Примерная тематика курсовых работ (проектов) .....                                                                                                  | 14   |
| V. Учебно-методическое и информационное обеспечение<br>дисциплины .....                                                                                  | 14   |
| а) перечень литературы .....                                                                                                                             | 14   |
| б) периодические издания .....                                                                                                                           | 14   |
| в) базы данных, поисково-справочные и информационные<br>системы.....                                                                                     | 15   |
| VI. Материально-техническое обеспечение дисциплины .....                                                                                                 | 15   |
| 6.1. Учебно-лабораторное оборудование .....                                                                                                              | 15   |
| 6.2. Программное обеспечение .....                                                                                                                       | 16   |
| 6.3. Технические и электронные средства обучения .....                                                                                                   | 16   |
| VII. Образовательные технологии .....                                                                                                                    | 16   |
| VIII. Оценочные материалы для текущего контроля и промежуточной<br>аттестации .....                                                                      | 17   |

## **I. Цель и задачи дисциплины:**

### **1. Цель:**

– основной целью курса является формирование у студентов системы знаний по теоретическим основам современных методов микроскопии и перспективах их использования для изучения живых систем.

### **Задачи дисциплины:**

1. Формирование знаний по основам устройства и принципа работы современных электронных, сканирующих зондовых, оптических и зондовых микроскопов;
2. Изучение результатов новейших исследований в биологии, выполненных на основе методов электронной и конфокальной микроскопии;
3. Выбор адекватных методов для выполнения научно-исследовательских работ.

## **II. МЕСТО ДИСЦИПЛИНЫ В СТРУКТУРЕ ОПОП ВО**

- 2.1. Дисциплина «Современная микроскопия» относится к части, формируемой участниками образовательных отношений. Изучается на 3 курсе в 5 семестре.
- 2.2. Для изучения данной учебной дисциплины необходимы знания, умения и навыки, формируемые предшествующими дисциплинами учебных программ бакалавриата, изучение материала дисциплины базируется на знаниях, полученных в курсах органической и неорганической химии, физики, биохимии.
- 2.3. Перечень последующих учебных дисциплин, для которых необходимы знания, умения и навыки, формируемые данной учебной дисциплиной: научно-исследовательская работа, выполнение ВКР.

## **III. ТРЕБОВАНИЯ К РЕЗУЛЬТАТАМ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ**

Процесс освоения дисциплины направлен на формирование компетенций в соответствии с ФГОС ВО и ОПОП ВО по направлению подготовки 06.05.01 «Биоинженерия и биоинформатика», профиль «Биоинженерия и биоинформатика»:

**ПК-1:** Способен творчески использовать и применять фундаментальные представления биологии, смежных дисциплин и современные методологические подходы для определения перспективных направлений научных исследований в сфере получения, изучения и применения различных природных, измененных природных биологических объектов, искусственных, организмов, а также биомакромолекул, обработку и последующий анализ большого массива информации по биологическим объектам;

**ПК-2:** Способен планировать, организовывать и контролировать проведение исследований, выбирать методы и средства решения поставленных задач, строить математические модели, осваивать новые информационные и программные ресурсы, получать научные результаты с использованием современных методов, оборудования, вычислительных комплексов в области своей профессиональной деятельности, готовить тексты отчетной документации и публикаций.

### **Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине, соотнесенных с индикаторами достижения компетенций**

| <b>Компетенция</b> | <b>Индикаторы</b> | <b>Результаты обучения</b> |
|--------------------|-------------------|----------------------------|
|--------------------|-------------------|----------------------------|

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | компетенций                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>ПК-1                      Способен творчески использовать и применять фундаментальные представления биологии, смежных дисциплин и современные методологические подходы для определения перспективных направлений научных исследований в сфере получения, изучения и применения различных природных, измененных природных биологических объектов, искусственных, организмов, а также биомакромолекул, обработку и последующий анализ большого массива информации по биологическим объектам</p> | <p><i>ИДК ПК 1.1</i></p> <p>Знает актуальные проблемы, основные открытия в области изучения живых организмов и биологических систем различных уровней организации и способен использовать теоретические знания и умения в научно-исследовательской деятельности</p>                                                   | <p>Знать: цитологические и молекулярные механизмы функционирования клеток в их развитии и во взаимодействии с другими клетками и факторами внешней среды.</p> <p>Уметь: использовать полученные знания в своей практической деятельности.</p> <p>Владеть: знаниями о современных тенденциях развития клеточной биологии.</p>                                                              |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <p><i>ИДК ПК 1.2</i></p> <p>Умеет использовать фундаментальные знания и современные методологические подходы для перспективных направлений научных исследований, построения информационных моделей и практических разработок в сфере профессиональной деятельности.</p>                                               | <p>Знать: основные методологические подходы в решении проблем клеточной биологии.</p> <p>Уметь: использовать современные методы изучения клеток и их компонентов в своей профессиональной деятельности.</p> <p>Владеть: приемами классических и современных методов исследования клеток и их систем.</p>                                                                                  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <p><i>ИДК ПК 1.3</i></p> <p>Владеет навыками творческого применения методологических подходов для разработки моделей, новых технологий, материалов и биологических объектов с целенаправленно измененными свойствами, методов выработки практических рекомендаций для решения задач профессиональной деятельности</p> | <p><b>Знать:</b> основные принципы и подходы для разработки новых технологий, материалов для решения медицинских задач;</p> <p><b>Уметь:</b> применять на практике полученные знания для разработки новых технологий, материалов и биологических объектов;</p> <p><b>Владеть:</b> методами разработки практических рекомендаций для решения задач в области биоинженерных технологий.</p> |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>ПК-2</p> <p>Способен планировать, организовывать и контролировать проведение исследований, выбирать методы и средства решения поставленных задач, строить математические модели, осваивать новые информационные и программные ресурсы, получать научные результаты с использованием современных методов, оборудования, вычислительных комплексов в области своей профессиональной деятельности, готовить тексты отчетной документации и публикаций.</p> | <p><i>ИДК ПК-2.1</i></p> <p>Знает классические и современные методы исследований, при реализации научных проектов применяет информационные ресурсы и базы данных, методы формализации и решения задач, анализа научных результатов</p>                                                                                                 | <p><b>Знать:</b> достижения и инновационные пути развития биоинженерных технологий в медицине</p> <p><b>Уметь:</b> применять классические и современные методы исследований, информационные ресурсы и базы данных, методы формализации и решения задач, анализа научных результатов</p> <p><b>Владеть:</b> основными методами, способами и средствами получения, хранения, обработки и анализа полученной информации пользоваться действующими нормативно-правовыми документами при реализации проектов</p>                                                                                                                                                                  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | <p><i>ИДК ПК 2.2</i></p> <p>Способен профессионально работать с исследовательским, испытательным оборудованием и установками, вычислительными комплексами, специализированными пакетами программ</p>                                                                                                                                   | <p><b>Знать:</b> классические и современные методы исследования и оборудование, специализированные пакеты программ</p> <p><b>Уметь:</b> аргументировано излагать собственную позицию по выбору методов и оборудования, и интерпретировать результаты научных экспериментов, использовать в работе информационные системы</p> <p><b>Владеть:</b> навыками применения методологических подходов для разработки новых технологий</p>                                                                                                                                                                                                                                            |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | <p><i>ИДК ПК2.3</i></p> <p>Владеет статистическими методами обработки экспериментальных результатов; способен находить и осваивать новые программные ресурсы и применять прикладные компьютерные программные комплексы; представлять результаты исследований и разработок в виде отчетов, докладов, публикаций в научных изданиях.</p> | <p><b>Знать:</b> современные информационные технологии для сбора, обработки и распространения научной информации, базы данных, программные продукты и ресурсы в области биоинженерных технологий и смежных отраслей;</p> <p><b>Уметь:</b> проводить поиск, анализ, аннотирование и реферирование современной научной литературы, создавать алгоритм исследования по выбору и использованию биологических систем и технологий;</p> <p><b>Владеть:</b> статистическими методами обработки экспериментальных результатов, навыками работы с периодическими изданиями, подготовки материала для научных публикаций, написания и формирования отчетов, докладов, презентаций.</p> |

#### IV.СОДЕРЖАНИЕ И СТРУКТУРА ДИСЦИПЛИНЫ

**Объем дисциплины составляет 2 зачетных единицы, 72 часа.**

Из них реализуется с использованием электронного обучения и дистанционных образовательных технологий не менее 20% часов от аудиторной работы (10 часов).

**Форма промежуточной аттестации: зачет.**

##### 4.1 Содержание дисциплины, структурированное по темам, с указанием видов учебных занятий и отведенного на них количества академических часов

| №<br>п/п | Раздел дисциплины/тема                                                                       | Семестр | Всего часов | Из них практическая<br>подготовка обучающихся | Виды учебной работы,<br>включая самостоятельную работу обучающихся,<br>практическую подготовку и трудоемкость<br>(в часах) |   |        | Самостоятель-<br>ная работа                           | Форма текущего<br>контроля<br>успеваемости/<br>Форма<br>промежуточной<br>аттестации<br>(по семестрам) |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------|-------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|--------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|          |                                                                                              |         |             |                                               | Контактная работа преподавателя с<br>обучающимися                                                                          |   | Лекция | Семинар/<br>Практическое,<br>лабораторное<br>занятие/ | Консультация                                                                                          |
|          |                                                                                              |         |             |                                               |                                                                                                                            |   |        |                                                       |                                                                                                       |
| 1        | 2                                                                                            | 3       | 4           | 5                                             | 6                                                                                                                          | 7 | 8      | 9                                                     | 10                                                                                                    |
| 1        | Тема 1. Методы электронной микроскопии (теоретические предпосылки).                          | 5       |             |                                               | 2                                                                                                                          | 2 |        | 4                                                     | Реферат                                                                                               |
| 2        | Тема 2. Методы подготовки биологических образцов для просвечивающей электронной микроскопии. | 5       |             |                                               | 2                                                                                                                          | 2 |        | 4                                                     | Реферат                                                                                               |
| 3        | Тема 3. Растровая (сканирующая) электронная микроскопия.                                     | 5       |             |                                               | 2                                                                                                                          | 2 |        | 4                                                     | Реферат                                                                                               |

|   |                                                                                |   |  |  |   |   |  |   |         |
|---|--------------------------------------------------------------------------------|---|--|--|---|---|--|---|---------|
| 4 | Тема 4. Электронно-микроскопическая автордиография.                            | 5 |  |  | 4 | 4 |  | 4 | Реферат |
| 5 | Тема 5. Метод <i>in situ</i> гибридизации в микроскопии.                       | 5 |  |  | 2 | 2 |  | 4 | Реферат |
| 6 | Тема 6. Флуоресцентная и конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ). | 5 |  |  | 4 | 4 |  | 4 | Реферат |
| 7 | Тема 7. Сканирующая зондовая микроскопия.                                      | 5 |  |  | 2 | 2 |  | 4 | Реферат |

#### 4.2 План внеаудиторной самостоятельной работы обучающихся по дисциплине

| Семестр | Название раздела, темы                                              | Самостоятельная работа обучающихся                                                                                                                                                                                                                                      |                  |                     | Оценочное средство | Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы |
|---------|---------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------------------|--------------------|--------------------------------------------------------|
|         |                                                                     | Вид самостоятельной работы                                                                                                                                                                                                                                              | Сроки выполнения | Трудоемкость (час.) |                    |                                                        |
| 5       | Тема 1. Методы электронной микроскопии (теоретические предпосылки). | Подготовка к практическому занятию с использованием рекомендуемых интернет-ресурсов. Написание рефератов по темам: «Возможности использования трансмиссионной электронной микроскопии» в цитологии», «Разрешающая способность электронных микроскопов различных типов». | 1-2 нед.         | 4                   | Реферат<br>Доклад  | Google Scholar                                         |

| Семестр | Название раздела, темы                                                                       | Самостоятельная работа обучающихся                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                  |                     | Оценочное средство | Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы |
|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------------------|--------------------|--------------------------------------------------------|
|         |                                                                                              | Вид самостоятельной работы                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Сроки выполнения | Трудоемкость (час.) |                    |                                                        |
| 5       | Тема 2. Методы подготовки биологических образцов для просвечивающей электронной микроскопии. | Подготовка к практическому занятию с использованием рекомендуемой литературы. Самостоятельное изучение теоретического материала по вопросам: «Специфические особенности тканей и клеток различных типов для их подготовки для электронной микроскопии».                                                                         | 3-4 нед.         | 4                   | Реферат<br>Доклад  | Google Scholar                                         |
| 5       | Тема 3. Растровая (сканирующая) электронная микроскопия.                                     | Подготовка к практическому занятию с использованием рекомендуемой литературы. Самостоятельное изучение теоретического материала по вопросам: «Метод тонких пленок», «Микротомия биообъектов различной природы», «Методы позитивного и негативного контрастирования», «Использование стеклянных и алмазных ножей в микроскопии». | 5-6 нед.         | 4                   | Реферат<br>Доклад  | Google Scholar                                         |
| 5       | Тема 4. Электронно-микроскопическая автордиография.                                          | Подготовка к практическому занятию с использованием рекомендуемой литературы. Самостоятельное изучение теоретического материала по вопросам: «Высушивание образцов методом перехода критической точки».                                                                                                                         | 7-8 нед.         | 4                   | Реферат<br>Доклад  | Google Scholar                                         |
| 5       | Тема 5. Метод <i>in situ</i> гибридизации в микроскопии.                                     | Подготовка к практическому занятию с использованием рекомендуемых интернет-ресурсов. Написание реферата по теме: «Возможности использования автордиографии для изучения треккинга белков и полинуклеотидов в клетке».                                                                                                           | 9-10 нед.        | 4                   | Реферат<br>Доклад  | Google Scholar                                         |

| Семестр                                                                                                                          | Название раздела, темы                                                         | Самостоятельная работа обучающихся                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                  |                     | Оценочное средство | Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------------------|--------------------|--------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                  |                                                                                | Вид самостоятельной работы                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Сроки выполнения | Трудоемкость (час.) |                    |                                                        |
| 5                                                                                                                                | Тема 6. Флуоресцентная и конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ). | Подготовка к практическому занятию с использованием рекомендуемых интернет-ресурсов. Написание рефератов по теме: «Использование метода гибридизации <i>in situ</i> в биологии».                                                                                                                                         | 11-12 нед.       | 4                   | Реферат<br>Доклад  | Google Scholar                                         |
| 5                                                                                                                                | Тема 7. Сканирующая зондовая микроскопия.                                      | Подготовка к практическому занятию с использованием рекомендуемой литературы. Самостоятельное изучение теоретического материала по вопросам: «Поликлональные и моноклональные антитела, их получение и использование в микроскопии», «Типы маркеров, используемых в микроскопии», «Протоколы иммуномечения биообъектов». | 13-14 нед.       | 4                   | Реферат<br>Доклад  | Google Scholar                                         |
| Общий объем самостоятельной работы по дисциплине (час) - 28                                                                      |                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                  |                     |                    |                                                        |
| Из них объем самостоятельной работы с использованием электронного обучения и дистанционных образовательных технологий (час) – 10 |                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                  |                     |                    |                                                        |

## **4.3 Содержание учебного материала**

### **Тема 1. Методы электронной микроскопии (теоретические предпосылки).**

Теоретические основы электронной микроскопии. История развития методов электронной микроскопии. Открытие электрона и возможности фокусировки электронного потока с помощью магнитных линз. Основные классы электронных микроскопов (просвечивающие и сканирующие) и принципы их работы.

### **Тема 2. Методы подготовки биологических образцов для просвечивающей электронной микроскопии.**

Виды фиксаторов и типы фиксаций биологических образцов. Особенности буферных растворов, используемых в электронной микроскопии. Осмолярность фиксирующих растворов. Фиксация, обезвоживание, заливка в смолу, полимеризация и получение блоков. Заточка блоков и получение полутонких и ультратонких срезов. Изготовление и подготовка стеклянных ножей для получения срезов. Особенности использования алмазных ножей. Работа на ультрамикротоме. Получение серийных срезов. Предварительная окраска полутонких срезов. Монтирование срезов на сеточки. Виды контрастирующих растворов. Контрастирование препаратов (позитивное и негативное) и их хранение. Особенности фиксации тканей и клеток методом перфузии.

Методы цитохимии. Иммуноэлектронная микроскопия. Задачи, решаемые с помощью иммуноэлектронной микроскопии. Методы цитохимического мечения гликолипидов и гликопротеинов: использование лектинов и меченых иммуноглобулинов. Понятие об антигенах и антигенных детерминантах молекул и биополимеров. Конформационнозависимые и секвенциальные антигены. Размер антигенных детерминант. Тонкое строение антител. Поликлональные, моноклональные антитела, методы их получения и хранения. Особенности получения антител к гаптенам. Антигенное строение иммуноглобулинов. Понятие о первичных и вторичных (антивидовых) антителах. Прямые и непрямые методы цитохимической идентификации антигенов. Методы окрашивания с использованием белков А и G. Метод с использованием биотин-стрептавидинового сэндвича. Типы оптических, флуоресцентных и электроноплотных меток (ферритин и коллоидное золото). Использование ферментных меток. Процедура иммуномечения. Пермеабелизация. Преембеддинг и постэмбеддинг. Интерпретация полученных результатов, контрольные реакции. Микроэлементный анализ биологического материала на тонких срезах.

Метод тонких пленок. Монтирование пленок из формвара на сеточки. Особенности контрастирования биообъектов (вирусы, бактерии, отдельные клетки, субклеточные компоненты и молекулярные комплексы) уранилацетатом и другими веществами, содержащими тяжелые металлы. Использование контрастирующего напыления. Метод реплик для изучения микрорельефа поверхности клеток и тканей. Идентификация и изучение особенностей локализации мембраносвязанных белков: метод замораживания-скалывания. Интерпретация и статистический анализ полученных изображений с помощью программы Image-Pro Plus.

### **Тема 3. Растровая (сканирующая) электронная микроскопия.**

Принцип работы сканирующего электронного микроскопа. Этапы подготовки биологических объектов для сканирующей микроскопии (первичная обработка препаратов, фиксация, обезвоживание, высушивание, напыление). Высушивание

препаратов методом перехода критической точки. Микроэлементный анализ биологического материала.

#### **Тема 4. Электронно-микроскопическая автордиография.**

Автордиография (радиоавтография) — метод изучения распределения радиоактивно меченых веществ в исследуемом объекте. Использование метода в биологии и медицине при изучении синтеза и миграции биополимеров в клетках и тканях. Теоретические основы метода. Понятие о стабильных и нестабильных (радиоактивных) изотопах. Постановка задачи и алгоритм ее решения с помощью автордиографии. Планирование эксперимента. Использование радиоактивно меченых аминокислот и нуклеотидов. Разрешающая способность метода. Импульсный и импульсно-последовательный методы автордиографии. Нанесение радиочувствительной эмульсии. Экспонирование, проявление и контрастирование препаратов. Интерпретация полученных изображений.

#### **Тема 5. Метод *in situ* гибридизации в микроскопии.**

Задачи, решаемые с помощью метода гибридизации *in situ*: цитогенетический метод, который применяют для выявления специфических генетических последовательностей в клетках и тканях. Особенности препарирования. ДНК- и РНК- зонды. Типы маркеров. Условия проведения гибридизации *in situ*.

#### **Тема 6. Флуоресцентная и конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ).**

Теоретические основы флуоресцентной и лазерной конфокальной микроскопии. Принцип действия и примеры исследования. Отличительные особенности КЛСМ. Точечное сканирование лазерным пучком биообъекта и формирование 3D-изображений. Особенности подготовки препаратов для конфокальной микроскопии. Использование меченых флуорохромами антител для окрашивания субклеточных структур. Получение галереи виртуальных срезов и формирование Z-стеков. Фрагментация 3-D изображений по цитохимическим маркерам. Анализ изображений в программах ZEN 2010 (Zeiss) и Imaris® Bitplane 7.2.3. Использование специальных красителей для избирательной визуализации нуклеиновых кислот, функционально активных митохондрий, активных форм кислорода, микрофиламентов и других ключевых внутриклеточных органелл и компонентов.

Современная высокоразрешающая микроскопия: методы визуализации отдельных молекул и субклеточных структур. Stimulated Emission Depletion (STED)-микроскопия. Метод Stochastic Optical Reconstruction Microscopy (STORM). Изучение межмолекулярных и конформационных взаимодействий (изменений) молекул (метод Fluorescence resonance energy transfer (FRET)). Изучение латеральной подвижности молекул (метод Fluorescence recovery after photobleaching (FRAP)). Метод cellular compartment analysis of temporal activity by fluorescence *in situ* hybridization (catFISH) — исследование динамических взаимодействий популяций нейронов, обеспечивающих различные формы поведения организмов и когнитивные функции. Исследование динамических процессов в живых клетках (регистрация ионных токов, отдельных молекул и их конформационных изменений с помощью флуоресцентных маркеров).

Теоретические основы оптогенетики и ее использование в нейробиологии. Мембранный потенциал нервных клеток, деполяризация и гиперполяризация.

Светочувствительные ионные каналы для ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$ . Этапы оптогенетики: создание генетической конструкции, внедрение конструкции в вирусные частицы, внесение вируса в мозг и наработка мембраносвязанного опсина, внедрение световода в мозг животного, активация нейронов под действием света. Примеры использования оптогенетики в нейробиологии (отмена проблемы с долговременной памятью, идентификация функционально активных клеток). Термогенетика — новый способ воздействия на нервные клетки. Методы изучения пролиферации и запрограммированной гибели клеток. Открытие (О. Симамура, Р. Тсин и М. Шалфи, 2008 г.) и изучение зеленого флуоресцентного белка (green fluorescent protein, GFP) медузы *Aequorea victoria*. Преимущества использования GFP и других флуоресцентных белков в клеточной и молекулярной биологии для изучения экспрессии и транспорта клеточных белков.

## Тема 7. Сканирующая зондовая микроскопия.

Принципы работы сканирующих зондовых микроскопов. Формирование и обработка СЗМ изображений. Атомно-силовая микроскопия, используемая для изучения микрорельефа поверхности биологических структур. Контактный, полуконтактный и бесконтактный режим исследования поверхностей специально подготовленных объектов.

### 4.3.1 Перечень семинарских, практических занятий и лабораторных работ

| № п/п | № раздела и темы | Наименование семинаров, практических и лабораторных работ                                    | Трудоемкость (час.) |                                | Оценочные средства | Формируемые компетенции (индикаторы)*                                         |
|-------|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------------------|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
|       |                  |                                                                                              | Всего часов         | Из них практическая подготовка |                    |                                                                               |
| 1     | 2                | 3                                                                                            | 4                   | 5                              | 6                  | 7                                                                             |
| 1     | Тема 1           | Тема 1. Методы электронной микроскопии (теоретические предпосылки).                          | 2                   | 2                              | Реферат<br>Доклад  | ПК-1 ИДК ПК 1.1<br>ПК-2 ИДК ИДК ПК-2.1                                        |
| 2     | Тема 2           | Тема 2. Методы подготовки биологических образцов для просвечивающей электронной микроскопии. | 2                   | 2                              | Реферат<br>Доклад  | ПК-1 ИДК ПК 1.1<br>ИДК ПК 1.2 ИДК ПК 1.3<br>ПК-2 ИДК ИДК ПК-2.1<br>ИДК ПК-2.2 |
| 3     | Тема 3           | Тема 3.                                                                                      | 2                   | 2                              | Реферат<br>Доклад  | ПК-1 ИДК ПК 1.1<br>ИДК ПК 1.2 ИДК ПК 1.3                                      |

|   |        |                                                                                |   |   |                   |                                                                               |
|---|--------|--------------------------------------------------------------------------------|---|---|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
|   |        | Растровая (сканирующая) электронная микроскопия.                               |   |   |                   | ПК-2 ИДК ИДК ПК-2.1<br>ИДК ПК-2.2                                             |
| 4 | Тема 4 | Тема 4. Электронно-микроскопическая автордиография.                            | 4 | 4 | Реферат<br>Доклад | ПК-1 ИДК ПК 1.1<br>ИДК ПК 1.2 ИДК ПК 1.3<br>ПК-2 ИДК ИДК ПК-2.1<br>ИДК ПК-2.2 |
| 5 | Тема 5 | Тема 5. Метод <i>in situ</i> гибридизации в микроскопии.                       | 2 | 2 | Реферат<br>Доклад | ПК-1 ИДК ПК 1.1<br>ИДК ПК 1.2 ИДК ПК 1.3<br>ПК-2 ИДК ИДК ПК-2.1<br>ИДК ПК-2.2 |
| 6 | Тема 6 | Тема 6. Флуоресцентная и конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ). | 4 | 4 | Реферат<br>Доклад | ПК-1 ИДК ПК 1.1<br>ИДК ПК 1.2 ИДК ПК 1.3<br>ПК-2 ИДК ИДК ПК-2.1<br>ИДК ПК-2.2 |
| 7 | Тема 7 | Тема 7. Сканирующая зондовая микроскопия.                                      | 2 | 2 | Реферат<br>Доклад | ПК-1 ИДК ПК 1.1<br>ИДК ПК 1.2 ИДК ПК 1.3<br>ПК-2 ИДК ПК-2.1<br>ИДК ПК-2.2     |

#### 4.4. Методические указания по организации самостоятельной работы студентов

Самостоятельная работа студентов является составной частью учебного процесса и имеет целью закрепление и углубление полученных знаний и навыков, поиск и приобретение новых знаний, а также выполнение учебных заданий, подготовку к предстоящим занятиям, зачетам и экзаменам.

Для организации самостоятельной работы по дисциплине «Современная микроскопия», используются следующие формы самостоятельной учебной работы:

- Работа над конспектом лекции.
- Подбор, изучение, анализ рекомендованной литературы.
- Самостоятельное изучение отдельных тем, параграфов, не изложенных в лекции.
- Подготовка к практическому занятию состоит в теоретической подготовке и выполнении практических заданий (решение задач, ответы на вопросы и т.д.).
- Написание рефератов, подготовка докладов.
- Подготовка к тестированию.
- Подготовка к зачету.

*Письменные работы.* Для изучения тем, не изложенных в лекции, рекомендуется использовать основную и дополнительную литературу, а также источники, найденные при помощи информационно-справочных и поисковых систем. Для закрепления материала

рекомендуется делать краткие конспекты по теме. В рамках дисциплины « «Современная микроскопия»,» также предусмотрено выполнение письменных работ, в которых студенты должны составить схему трофических отношений в различных микробных сообществах и схемы круговоротов ряда биогенных элементов (см. п. 4.3.2.). Качество выполненной работы оценивается в ходе обсуждения данных вопросов при проведении коллоквиума по соответствующей теме (см. п. 4.3.1).

*Реферат* – форма письменной работы, которую рекомендуется применять при освоении вариативных (профильных) дисциплин профессионального цикла. Представляет собой краткое изложение содержания научных трудов, литературы по определенной теме. Объем реферата может достигать 15-20 стр.; время, отводимое на его подготовку – от 2 недель до месяца. Подготовка реферата подразумевает самостоятельное изучение студентом нескольких литературных источников (учебников, монографий, научных статей и т.д.) по определённой теме, не рассматриваемой подробно на лекции, систематизацию материала и краткое его изложение. Цель написания реферата – привитие студенту навыков краткого и лаконичного представления собранных материалов и фактов в соответствии с требованиями, предъявляемыми к научным отчетам, обзорам и статьям.

Структура реферата включает:

- Титульный лист.
- Содержание.
- Введение, где кратко формулируется проблема, цель и задачи реферата.
- Основная часть работы состоит из нескольких разделов, в которых излагается суть темы реферата.
- Заключение.
- Список использованной литературы.

При оформлении реферата следует придерживаться технических требований, предъявляемых к рефератам и курсовым работам, имеющихся на кафедре.

Критерии оценивания реферата:

- Оценка «отлично» выставляется в том случае, если в реферате полностью раскрыта тема, проанализировано современное состояние вопроса, материал изложен логично, последовательно, приведено не менее 10 литературных источников (среди которых преобладает литература за последние 5 лет), реферат оформлен в соответствии с техническими требованиями, предъявляемыми к такого рода работам.

- Оценка «хорошо» - тема раскрыта, приведено достаточное количество материала, но при этом материал в недостаточной степени проанализирован автором, оформление реферата соответствует техническим требованиям.

- Оценка «удовлетворительно» - тема раскрыта поверхностно, материал приведен как простая констатация фактов, не проанализирован, в оформлении имеются технические недостатки, список литературы содержит менее 5 источников.

- Оценка «неудовлетворительно» - тема не раскрыта, скудный объем приведенных материалов.

*Устный доклад* – это сообщение в течение 10-15 мин, в котором студент в лаконичной форме должен изложить материал по соответствующей теме, придерживаясь следующего плана: введение, основная часть, заключение. Доклад сопровождается презентацией, отражающей основные положения по соответствующей теме, включающей наглядные материалы (схемы, таблицы, фото и т.д.). По окончании доклада студенту задают вопросы, как преподаватель, так и студенты, на которые докладчик должен дать исчерпывающие ответы.

Критерии оценивания устного доклада:

- Оценка «отлично». В докладе полностью раскрыта тема, проанализировано современное состояние вопроса; студент свободно владеет материалом, излагает его логично, последовательно, лаконично, соблюдая основные правила культуры речи. Доклад сопровождается презентацией, которая отражает основные положения доклада,

презентация составлена грамотно с соблюдением общих требований, правил шрифтового оформления, подачи графического материала, имеются ссылки на приведенные фото, рисунки, схемы и т.д., приводится список использованной литературы. При обсуждении доклада студент дает исчерпывающие, аргументированные, корректные ответы на вопросы.

- Оценка «хорошо». Тема раскрыта, приведено достаточное количество материала, но при этом материал в недостаточной степени проанализирован автором. Презентация не в полной степени соответствует общим требованиям. Ответы студента не на все вопросы являются исчерпывающими и аргументированными.

- Оценка «удовлетворительно». Тема раскрыта не полно, материал приведен как простая констатация фактов, не проанализирован, студент показывает поверхностные знания. Презентация частично соответствует установленным требованиям. При обсуждении доклада студент не всегда дает правильные, исчерпывающие ответы на задаваемые вопросы.

- Оценка «неудовлетворительно». Тема доклада не раскрыта, скудный объем приведенных материалов; презентация отсутствует. При обсуждении доклада студент не дает ответы или они не соответствуют заданным вопросам.

**4.5. Примерная тематика курсовых работ (проектов):** не предусмотрены учебным планом.

## **V. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ И ИНФОРМАЦИОННОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ**

### **а) перечень литературы:**

1. Цитология [Электронный ресурс]: учеб.-метод. пособие. - ЭВК. - Иркутск : ИГУ, 2012. - Режим доступа: ЭЧЗ "Библиотех". - Неогранич. доступ;+
2. Ченцов, Юрий Сергеевич. Введение в клеточную биологию [Текст]: учебник для студ. ун-тов / Ю. С. Ченцов. - 4-е изд., перераб. и доп. - М. : Академкнига, 2005. - 495 с.: ил., цв. ил. ; 22 см. - Библиогр.: с. 487. - ISBN 5-94628-105-4 (38 экз);+
3. Верещагина, Валентина Александровна. Основы общей цитологии [Текст] : учеб. пособие для студ. вузов / В. А. Верещагина. - 2-е изд., перераб. - М. : Академия, 2007. - 172 с. : ил.; 21 см. - (Высшее профессиональное образование). - Библиогр.: с. 170. - ISBN 978-5-7695-3744-8. - 78 экз.+
4. Тимакова Т. К. Методы световой и электронной микроскопии в биологии и ветеринарии: Учебно-методическое пособие / Т. К. Тимакова. - Ярославская государственная сельскохозяйственная академия, 2014. - 72 с. Режим доступа: - ЭБС "Лань". - неогранич. доступ. - ISBN 978-5-9963-2877-2
5. Балалаева И. В., Сергеева Е. А., Катичев А. Р. Оптическая микроскопия в исследовании структуры и функций биологических объектов. Часть 1. Широкопольная оптическая микроскопия: Учебно-методическое пособие/ И. В. Балалаева. - Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 2012. - 58 с. - Режим доступа: - ЭБС "Лань". - неогранич. доступ. - ISBN 978-5-9963-2877-2 +
6. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии [Электронный ресурс] / К. Уилсон, Дж Уолкер. - Электрон. текстовые дан. - Москва : Лаборатория знаний"" (ранее ""БИНОМ. Лаборатория знаний", 2020. - 855 с. - (Методы в биологии). - Режим доступа: - ЭБС "Лань". - неогранич. доступ. - ISBN 978-5-00101-786-8 +

### **б) периодические издания**

**в) базы данных, информационно-справочные и поисковые системы**

1. Научная Электронная Библиотека <http://www.e-library.ru>
2. Информационная система «Единое окно доступа к образовательным ресурсам» (<http://window.edu.ru>)
3. ЭБС «ЮРАЙТ». Адрес доступа: <https://www.biblio-online.ru/>
4. ЭБ Издательского центра «Академия». Адрес доступа: <http://www.academia-moscow.ru>
5. <http://neuroscience.ru/> . Популярный российский интернет-ресурс, посвященный актуальным вопросам современной нейробиологии, которые возникают, в том числе и на стыке с вопросами существования иммунологических принципов функционирования элементов нервной системы;
6. <http://www.fptl.ru/biblioteka/biotehnologiya.html>
7. <http://www.medbook.net.ru/010512.shtml>
8. Союз образовательных сайтов - Естественные науки
9. <http://tusearch.blogspot.com> - Поиск электронных книг, публикаций, законов, ГОСТов на сайтах научных электронных библиотек.
9. Google Scholar –Поисковая система по научной литературе.
10. Science Research Portal - Научная поисковая система, осуществляющая полнотекстовый поиск в журналах многих крупных научных издательств, таких как Elsevier, Highwire, IEEE, Nature, Taylor & Francis и др. Ищет статьи и документы в открытых научных базах данных: Directory of Open Access Journals, Library of Congress Online Catalog, Science.gov и Scientific News.

**VI. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ**

**6.1. Учебно-лабораторное оборудование:**

Аудитория для проведения занятий лекционного типа: оборудована специализированной (учебной) мебелью на 25 посадочных мест; техническими средствами обучения: проектор Epson EB-X03, доска маркерная; учебно-наглядными пособиями, обеспечивающими тематические иллюстрации по дисциплине: презентации по темам программы.

Аудитория для проведения занятий практического типа: оборудована специализированной (учебной) мебелью на 10 посадочных мест; доской меловой; техническими средствами обучения: проектор BenQ MS521P учебно-наглядными пособиями: презентации по темам программы.

Компьютерный класс (учебная аудитория) для групповых и индивидуальных консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации, организации самостоятельной работы: аудитория оборудована специализированной (учебной) мебелью на 20 посадочных мест, доской меловой; оборудована техническими средствами обучения: системный блок PentiumG850, монитор BenQ G252HDA-1 шт.; системный блок Athlon 2 X2 250, монитор BenQ G252HDA – 8 шт.; системный блок PentiumD 3.0GHz, монитор Samsung 740N – 3 шт.; моноблок IRU T2105P – 2 шт.; системный блок Pentium G3250, монитор BenQG955 – 1 шт.; системный блок Pentium G3250, монитор BenQ GL2250 – 1 шт.; системный блок Pentium G3250, монитор Samsung T200 HD – 1 шт.; системный блок Pentium G3250, монитор Samsung T190N – 1 шт.; системный блок Pentium G3250, монитор Samsung 740N – 1 шт.; проектор BenQ MX503; экран ScreenVtdiaEcot. С неограниченным доступом к сети Интернет и обеспечением доступа в электронную информационно-образовательную среду организации.

Помещение для хранения и профилактического обслуживания учебного оборудования: аудитория оборудована специализированной мебелью на 3 посадочных места; ноутбук Lenovo P580, проектор BenQ MS521P.

### **6.2. Программное обеспечение:**

DreamSpark Premium Electronic Software Delivery (3 years) Renewal (Windows 10 Education 32/64-bit (Russian) - Microsoft Imagine, Windows 7 Professional with Service Pack 1 32/64-bit (English) - Microsoft Imagine, Windows Server 2008 Enterprise and Standard without Hyper-V with SP2 32/64-bit (English) - Microsoft Imagine, Access 2016 32/64-bit (Russian) - Microsoft Imagine, Access 2010 32/64-bit (Russian) - Microsoft Imagine). Договор №03-016-14 от 30.10.2014г.

Kaspersky Endpoint Security для бизнеса - Стандартный Russian Edition. 250-499. Форум Контракт №04-114-16 от 14ноября 2016г KES. Счет №РСЦЗ-000147 и АКТ от 23ноября 2016г Лиц. №1B08161103014721370444.

Microsoft Office Enterprise 2007 Russian Academic OPEN No Level. Номер Лицензии Microsoft 43364238.

Microsoft Windows XP Professional Russian Upgrade Academic OPEN No Level. Номер Лицензии Microsoft 41059241.

Office 365 профессиональный плюс для учащихся. Номер заказа: 36dde53d-7cdb-4cad-a87f-29b2a19c463e.

### **6.3. Технические и электронные средства:**

Презентации по всем темам курса.

## **VII. ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ**

Для освоения дисциплины ««Современная микроскопия»,» применяются следующие образовательные технологии:

- *Информационная лекция.* Лекция – это сжатое изложение основных научных фактов, что является базой для анализа рассуждений, оценок.

- *Лекция-визуализация.* Учит студентов преобразовывать устную и письменную информацию в визуальную форму, что формирует у них профессиональное мышление за счет систематизации и выделения наиболее значимых, существенных элементов содержания обучения. Задача преподавателя использовать такие формы наглядности, которые не только дополняют словесную информацию, но и сами являются носителями информации (схемы, рисунки, слайды-презентации, и т.п.). Этот вид лекции лучше всего использовать на этапе введения студентов в новый раздел, тему дисциплины.

- *Проблемная лекция.* В отличие от содержания информационной лекции, которое предлагается преподавателем в виде известного, подлежащего лишь запоминанию материала, на проблемной лекции новое знание вводится как неизвестное для обучающихся. Проблемная лекция начинается с вопросов, с постановки проблемы, которую в ходе изложения материала необходимо решить. Лекция строится таким образом, что познания обучающегося приближаются к поисковой, исследовательской деятельности. Здесь участвуют мышление обучающегося и его личностное отношение к усваиваемому материалу.

- *Лекция-беседа.* Предполагает непосредственный контакт преподавателя с аудиторией. Преимущество лекции-беседы состоит в том, что она позволяет привлекать внимание студентов к наиболее важным вопросам темы, определять содержание и темп изложения учебного материала с учетом особенностей студентов.

- *Практические занятия* – это занятие, проводимое под руководством преподавателя в учебной аудитории, направленное на углубление научно-теоретических знаний и овладение определенными методами самостоятельной работы, которое формирует практические умения. Одной из форм практических занятий в вузе является семинар.

- *Семинар-исследование.* Технология проведения такого семинара может быть различной, в зависимости от того, какой метод заложен в его основу. В рамках дисциплины «Экология микроорганизмов» проводится семинар с подготовкой и заслушиванием рефератов по актуальным проблемам теории и практики и последующим их обсуждением.

- *Самостоятельная работа студентов* (см. п.4.4).

- *Дистанционные образовательные технологии.* Под дистанционными образовательными технологиями понимаются образовательные технологии, реализуемые в основном с применением информационно-телекоммуникационных сетей. При освоении дисциплины «Экология микроорганизмов» используются следующие технологии:

■ кейсовая технология – форма дистанционного обучения, основанная на предоставлении обучающимся информационных образовательных ресурсов в виде специализированных наборов учебно-методических комплексов с использованием различных видов носителей информации (кейсов);

■ интернет-технология – способ дистанционной передачи информации, основанный на использовании глобальных и локальных компьютерных сетей для обеспечения доступа обучающихся к информационным образовательным ресурсам и для формирования совокупности методических, организационных, технических и программных средств реализации и управления учебным процессом независимо от места нахождения его субъектов. Используется Образовательный портал ИГУ - educa.isu.ru.

## **VIII. ОЦЕНОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ТЕКУЩЕГО КОНТРОЛЯ И ПРОМЕЖУТОЧНОЙ АТТЕСТАЦИИ**

В качестве оценочных средств для входного контроля оценки уровня знаний студентов используется собеседование. В процессе собеседования оценивается уровень владения базовыми знаниями, умениями, навыками, необходимыми для начала обучения по дисциплине «Современная микроскопия», определяется степень владения новым материалом до начала его изучения.

***Оценочные материалы текущего контроля формируются в соответствии с ЛНА университета***

В рамках дисциплины «Современная микроскопия» используются следующие формы текущего контроля:

- устный доклад;
- - реферат;
- контроль самостоятельной работы.

Фонд оценочных средств включает:

- тематика и материалы заданий,
- перечень тем рефератов/докладов,
- вопросы для самостоятельного изучения (СРС)
- вопросы для подготовки к тестированию,
- критерии оценки знаний студентов.

Назначение оценочных средств: выявить сформированность компетенций ПК-1, ПК-2 (см. п. III).

### *Темы рефератов*

1. Цитохимические методы визуализации внутриклеточных компонентов клетки.
2. Прижизненная микроскопия клеток и тканей.
3. Оценка латеральной подвижности мембраносвязанных белков методом FRAP.

4. Использование иммуноэлектронной микроскопии для изучения дифференцировки клеток и тканей.
5. Изучение динамических процессов в клетке с помощью индикаторов ионов  $\text{Ca}^{2+}$ .
6. Идентификация активных форм кислорода в клетке в контроле и в ходе воздействия стрессорных факторов.
7. Использование белков GFP (и других белков с аналогичными свойствами) в изучении транспорта внутриклеточных белков.
8. Атомно-силовая микроскопия вирусов и бактерий, адсорбированных на покровном стекле.
9. Оценка структурно-функционального состояния митохондрий методами электронной и конфокальной микроскопии.

#### *Темы докладов*

1. Использование суперразрешающей микроскопии в биологии и медицине.
2. Использование флуоресцентных зондов для изучения динамики ионов  $\text{Ca}^{2+}$ .
3. Использование оптогенетики в решении проблем нейробиологии.
4. Термогенетика — новый способ воздействия на нервные клетки.
5. Применение флуоресцентных белков для изучения экспрессии и транспорта внутриклеточных белков.
6. Использование специальных красителей для избирательной визуализации внутриклеточных белков.
7. FRET-микроскопия для изучения межмолекулярных взаимодействий в живых системах.
8. Хемогенетика — технология исследования функций отдельных групп нейронов.

#### ***Оценочные материалы для промежуточной аттестации в форме (зачета).***

Форма промежуточной аттестации - **зачет**. Система оценок: пятибалльная. ОС этого типа должны выявлять степень освоения теоретических знаний как базу для формирования компетенций, умения их применять в ситуациях, моделирующих профессиональную деятельность, а также сформированность компетенций ПК-1, ПК-2, заявленных в п. III.

Зачет проводится в форме тестирования.

#### **Вопросы для подготовки к тестированию.**

##### **Тема 1. Методы электронной микроскопии (теоретические предпосылки).**

1. Теоретические основы электронной микроскопии.
2. История развития методов электронной микроскопии.
3. Открытие электрона и возможности фокусировки электронного потока с помощью магнитных линз.
4. Основные классы электронных микроскопов (просвечивающие и сканирующие) и принципы их работы.

##### **Тема 2. Методы подготовки биологических образцов для просвечивающей электронной микроскопии.**

1. Виды фиксаторов и типы фиксаций биологических образцов.
2. Фиксация, обезвоживание, заливка в смолу, полимеризация и получение блоков.

3. Предварительная окраска полутонких срезов. Монтирование срезов на сеточки.
4. Виды контрастирующих растворов. Контрастирование препаратов (позитивное и негативное) и их хранение.
5. Особенности фиксации тканей и клеток методом перфузии.
6. Методы цитохимии. Иммуноэлектронная микроскопия.
7. Задачи, решаемые с помощью иммуноэлектронной микроскопии. Методы цитохимического мечения гликолипидов и гликопротеинов: использование лектинов и меченых иммуноглобулинов.
8. Понятие об антигенах и антигенных детерминантах молекул и биополимеров. Конформационнозависимые и секвенциальные антигены. Размер антигенных детерминант.
9. Тонкое строение антител. Поликлональные, моноклональные антитела, методы их получения и хранения.
10. Особенности получения антител к гаптенам. Антигенное строение иммуноглобулинов.
11. Понятие о первичных и вторичных (антивидовых) антителах. Прямые и непрямые методы цитохимической идентификации антигенов.
12. Методы с использованием белков А и G. Метод с использованием биотин-стрептавидинового сэндвича. Типы электроноплотных меток. Процедура иммуномечения, пермеабилзация.
13. Прээмбеддинг и постэмбеддинг.
14. Интерпретация полученных результатов, контрольные реакции. Метод тонких пленок.
15. Особенности контрастирования биообъектов (вирусы, бактерии, отдельные клетки и их субклеточные компоненты) уранилацетатом и другими веществами, содержащими тяжелые металлы.
16. Использование контрастирующего напыления. Метод реплик для изучения микрорельефа поверхности клеток и тканей.
17. Идентификация и изучение особенностей локализации мембраносвязанных белков: метод замораживания-скалывания. Монтирование реплик на сеточки.
18. Интерпретация и статистический анализ полученных изображений с помощью программы Image-Pro Plus.

### **Тема 3. Растровая (сканирующая) электронная микроскопия.**

1. Принцип работы сканирующего электронного микроскопа.
2. Этапы подготовки биологических объектов для сканирующей микроскопии (первичная обработка препаратов, фиксация, обезвоживание, высушивание, напыление).
3. Высушивание препаратов методом перехода критической точки.
4. Микроэлементный анализ биологического материала.

### **Тема 4. Электронно-микроскопическая автордиография.**

1. Автордиография (радиоавтография) —метод изучения распределения радиоактивно меченых веществ в исследуемом объекте.
2. Использование метода в биологии и медицине при изучении синтеза и миграции биополимеров в клетках и тканях. Теоретические основы.
3. Понятие о стабильных и нестабильных (радиоактивных) изотопах.
4. Постановка задачи и алгоритм ее решения с помощью автордиографии.

5. Планирование эксперимента.
6. Использование радиоактивно меченых аминокислот и нуклеотидов.
7. Импульсный и импульсно-последовательный методы автордиографии.
8. Нанесение радиочувствительной эмульсии.
9. Экспонирование, проявление и контрастирование препаратов.
10. Интерпретация полученных изображений.

#### **Тема 5. Метод *in situ* гибридизации в микроскопии.**

1. Задачи, решаемые с помощью метода гибридизации *in situ*: цитогенетический метод, который применяют для выявления специфических генетических последовательностей в клетках и тканях.
2. Особенности препарирования. ДНК- и РНК- зонды.
3. Типы маркеров. Условия проведения гибридизации *in situ*.

#### **Тема 6. Флуоресцентная и конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ).**

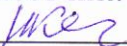
1. Теоретические основы флуоресцентной и лазерной конфокальной микроскопии.
2. Принцип действия и примеры исследования. Отличительные особенности КЛСМ.
3. Точечное сканирование лазерным пучком биообъекта и формирование 3D-изображений.
4. Особенности подготовки препаратов для конфокальной микроскопии.
5. Использование меченых флуорохромами антител для окрашивания субклеточных структур.
6. Получение галереи виртуальных срезов и формирование Z-стеков.
7. Фрагментация 3-D изображений по цитохимическим маркерам.
8. Анализ изображений в программах ZEN 2010 (Zeiss) и Imaris® Bitplane 7.2.3.
9. Использование специальных красителей для избирательной визуализации ключевых внутриклеточных органелл и компонентов.
10. Современная высокоразрешающая микроскопия: методы визуализации отдельных молекул и субклеточных структур. Stimulated Emission Depletion (STED)-микроскопия.
11. Метод Stochastic Optical Reconstruction Microscopy (STORM).
12. Изучение межмолекулярных и конформационных взаимодействий (изменений) молекул (метод Fluorescence resonance energy transfer (FRET)).
13. Изучение латеральной подвижности молекул (метод Fluorescence recovery after photobleaching (FRAP)).
14. Метод cellular compartment analysis of temporal activity by fluorescence *in situ* hybridization (catFISH) — исследование динамических взаимодействий популяций нейронов, обеспечивающих различные формы поведения организмов и когнитивные функции.
15. Исследование динамических процессов в живых клетках (регистрация ионных токов, отдельных молекул и их конформационных изменений с помощью флуоресцентных маркеров).
16. Теоретические основы оптогенетики и ее использование в нейробиологии.
17. Мембранный потенциал нервных клеток, деполяризация и гиперполяризация.
18. Светочувствительные ионные каналы для ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$ .

19. Этапы оптогенетики: создание генетической конструкции, внедрение конструкции в вирусные частицы, внесение вируса в мозг и наработка мембраносвязанного опсина, внедрение световода в мозг животного, активация нейронов под действием света.
20. Примеры использования оптогенетики в нейробиологии (отмена проблемы с долговременной памятью, идентификация функционально активных клеток).
21. Термогенетика — новый способ воздействия на нервные клетки. Методы изучения пролиферации и запрограммированной гибели клеток.
22. Открытие (О. Симамура, Р. Тсин и М. Шалфи, 2008 г.) и изучение зеленого флуоресцентного белка (green fluorescent protein, GFP) медузы *Aequorea victoria*.
23. Преимущества использования GFP и других флуоресцентных белков в клеточной и молекулярной биологии для изучения экспрессии и транспорта клеточных белков.

### **Тема 7. Сканирующая зондовая микроскопия.**

1. Принципы работы сканирующих зондовых микроскопов.
2. Формирование и обработка СЗМ изображений.
3. Атомно-силовая микроскопия, используемая для изучения микрорельефа поверхности биологических структур.
4. Контактный, полуконтактный и бесконтактный режим исследования поверхностей специально подготовленных объектов.

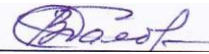
**Разработчик:**

 доцент Клименков И.В.  
(подпись)

Программа составлена в соответствии с требованиями ФГОС ВО по направлению 06.05.01 «Биоинженерия и биоинформатика».

Программа рассмотрена на заседании кафедры физико-химической биологии, биоинженерии и биоинформатики 17.04.2024 г. протокол № 15.

Зав. кафедрой, д.б.н., профессор В.П. Саловарова



*Настоящая программа, не может быть воспроизведена ни в какой форме без предварительного письменного разрешения кафедры-разработчика программы.*