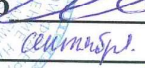


МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
**ЛИМНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ЛИН СО РАН)**



УТВЕРЖДАЮ

Директор  А.П. Федотов

«16»  2022 г.

Рабочая программа дисциплины (модуля)

Индекс дисциплины по УП: **3.4(Э)**

Наименование дисциплины (модуля): **Современные методы микроскопии**

Подготовка научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре

Иркутск, 2022 г.

Содержание

1 Цель и задачи дисциплины (модуля)	3
2 Место дисциплины (модуля) в структуре ОПОП	3
3 Требования к результатам освоения дисциплины (модуля)	3
4 Объем дисциплины (модуля) и виды учебной работы	3
5 Содержание дисциплины (модуля)	4
5.1 Содержание разделов и тем дисциплины (модуля)	4
5.2 Разделы и темы дисциплин (модуля) и виды занятий	5
6 Темы практических занятий	5
7 Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины (модуля)	6
7.1 Литература	6
7.2 Программное обеспечение	7
7.3 Базы данных, информационно-справочные и поисковые системы	7
8 Материально-техническое обеспечение дисциплины (модуля)	7
9 Образовательные технологии	7
10 Кадровое обеспечение дисциплины (модуля)	8
11 Оценочные средства	8
ПРИЛОЖЕНИЕ А	9
ЛИСТ ОБНОВЛЕНИЙ	12

1 Цель и задачи дисциплины (модуля)

Цель дисциплины – сформировать у аспирантов систему знаний по использованию современных методов микроскопии в изучении живых организмов.

Задачи дисциплины:

- сформировать представления об устройстве и основных принципах работы современных электронных, сканирующих зондовых и оптических микроскопов;
- познакомить с результатами новейших исследований в биологии, выполненных с помощью методов зондовой, электронной и конфокальной микроскопии;
- научить практическим навыкам подготовки биологического материала для их исследования различными методами микроскопии.

2 Место дисциплины (модуля) в структуре ОПОП

Программа дисциплины (модуля) «Современные методы микроскопии» (3.4(Э)) относится к элективным дисциплинам образовательного компонента программы подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре по всем биологическим специальностям.

Данный курс является важной методологической базой для выполнения биологических исследований, позволяющей комплексно подойти к расшифровке молекулярных механизмов функционирования клеток и их систем. Теоретические и практические знания основ электронной, сканирующей и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии являются фундаментом для планирования и реализации экспериментальных работ естественнонаучного профиля.

3 Требования к результатам освоения дисциплины (модуля)

В результате освоения дисциплины аспирант должен:

Знать:

- физические основы современных методов электронной, зондовой и флуоресцентной микроскопии.

Уметь:

- использовать различные методы микроскопии для решения сложных задач современной биологии;

Владеть:

- методами подготовки биологического материала для его исследования с помощью методов электронной (просвечивающей и сканирующей), зондовой и лазерной конфокальной микроскопии.

4 Объем дисциплины (модуля) и виды учебной работы

Вид учебной работы		Всего часов / зачетных единиц	Курс
			3
Аудиторные занятия (всего)		48/1,33	48/1,33
В том числе:			
Лекции		28/0,77	28/0,77
Практические занятия		20/0,55	20/0,55
Самостоятельная работа (всего)		58/1,6	58/1,6
Подготовка к текущему контролю и промежуточной аттестации		58/1,6	58/1,6
Вид промежуточной аттестации (зачет)		2/0,06	2/0,06
Общая трудоемкость	часы	108	108
	зачетные единицы	3	3

5 Содержание дисциплины (модуля)

5.1 Содержание разделов и тем дисциплины (модуля)

Общее (по всем темам):

Тема 1. Методы электронной микроскопии (теоретические предпосылки). Теоретические основы электронной микроскопии. Основные классы электронных микроскопов (просвечивающие и сканирующие) и принципы их работы.

Тема 2. Методы подготовки биологических образцов. Виды фиксаторов и типы фиксаций биологических образцов. Особенности буферных растворов, используемых в электронной микроскопии. Фиксация, проводка, заливка, полимеризация и получение блоков. Заточка блоков и получение полутонких и ультратонких срезов. Особенности работы на ультрамикротоме. Контрастирование препаратов и их хранение.

Тема 3. Методы просвечивающей электронной микроскопии. Метод реплик. Метод замораживания-скальвания. Методы позитивного и негативного контрастирования. Методы цитохимического мечения гликолипидов и гликопротеинов: использование лектинов.

Тема 4. Электронно-микроскопическая автордиография. Теоретические основы. Разрешающая способность метода. Планирование эксперимента. Импульсный и импульсно-последовательный методы автордиографии. Нанесение радиочувствительной эмульсии. Экспонирование, проявление и контрастирование препаратов.

Тема 5. Гибридизация *in situ* в электронной микроскопии. Особенности препарирования. ДНК- и РНК- зонды. Типы маркеров. Условия проведения гибридизации *in situ*. Презэмбеддинг и постэмбеддинг.

Тема 6. Иммуноэлектронная микроскопия. Задачи, решаемые с помощью иммуноэлектронной микроскопии. Понятие об антигенах и антигенных детерминантах. Конформационнозависимые и секвенциальные антигены. Размер антигенных детерминант. Поликлональные, моноклональные антитела и методы их получения. Тонкое строение антител. Антигенное строение иммуноглобулинов. Методы цитохимической идентификации антигенов. Методы с использованием белков А и G. Метод с использованием биотин-стрептавидинового сэндвича. Типы электроплотных меток. Процедура иммуномечения, пермеабиллизация. Презэмбеддинг и постэмбеддинг. Оценка результатов, контрольные реакции.

Тема 7. Растровая (сканирующая) электронная микроскопия (РЭМ). Принципы работы РЭМ. Методы получения увеличенного изображения. Этапы подготовки биологических объектов к РЭМ (первичная обработка, фиксация и обезвоживание, высушивание, напыление).

Тема 8. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ). Флуоресцентная микроскопия. Общая характеристика принципов конфокальной микроскопии. Системы сканирования в конфокальной лазерной микроскопии. Получение трехмерного изображения в конфокальной микроскопии. Основные методы, используемые в КЛСМ: иммуноцитохимия, формирование изображения, флуоресцентные белки, передача энергии посредством флуоресцентного резонанса, восстановление флуоресценции после фотовыжигания.

Тема 9. Атомно-силовая микроскопия. Особенности подготовки биологических препаратов для атомно-силовой микроскопии

5.2 Разделы и темы дисциплины (модуля) и виды занятий

№ п/п	Темы, разделы	Всего часов	Виды занятий в часах		
			Лекции (зачет)	Практические занятия	Самостоятельная работа
1	Методы электронной микроскопии (теоретические предпосылки)	3	1	–	2
2	Методы подготовки биологических образцов	9	2	2	5
3	Методы просвечивающей электронной микроскопии	10	3	2	5
4	Электронно-микроскопическая авто-радиография	10	2	3	5
5	Гибридизация <i>in situ</i> в электронной микроскопии	12	4	3	5
6	Иммуноэлектронная микроскопия	12	4	3	5
7	Растровая (сканирующая электронная микроскопия)	14	4	3	7
8	Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия	14	4	2	8
9	Атомно-силовая микроскопия	12	4	2	6
10	Промежуточная аттестация (подготовка, зачет)	12	2	–	10
ВСЕГО (часы)		108	30	20	58

6 Темы практических занятий

№ п/п	№ раздела и темы дисциплины	Наименование практических работ	Трудоемкость (часы)	Оценочные средства
1	2	Знакомство с устройством разных типов микроскопов	1	Контрольные вопросы
2	2	Фиксация и проводка биологических образцов для электронной микроскопии	1	Контрольные вопросы
3	3	Заливка, изготовление блоков и получение срезов для микроскопии	1	Контрольные вопросы
4	3	Изготовление пленок для электронной микроскопии	1	Контрольные вопросы
5	6	Иммуноцитохимическое окрашивание препаратов	3	Контрольные вопросы
6	7	Высушивание материала методом перехода критической точки	3	Контрольные вопросы
7	8	Окрашивание образцов для лазерной микроскопии	2	Контрольные вопросы
8	9	Подготовка образцов для атомно-силовой микроскопии	2	Контрольные вопросы

7 Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины (модуля)

7.1 Литература

Основная:

1. **Бисерова, Н.М.** Методы визуализации биологических ультраструктур: подготовка биологических объектов для изучения с помощью электронных и флуоресцентных конфокальных лазерных микроскопов [Текст]: практическое руководство для биологов / Н. М. Бисерова. – Москва: Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, биол. фак., 2013. - 104 с.
2. **Панова, Т.В.** Современные методы исследования вещества. Электронная и оптическая микроскопия [Электронный ресурс]: учебное пособие / Т.В. Панова. — Электрон. текстовые данные. — Омск: Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского, 2016. — 80 с. — 978-5-7779-2052-2. — Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/60748.html>.
3. **Филимонова, Н.И.** Методы исследования микроэлектронных и наноэлектронных материалов и структур. Сканирующая зондовая микроскопия. Часть I [Электронный ресурс]: учебное пособие / Н.И. Филимонова, Б.Б. Кольцов. — Электрон. текстовые данные. — Новосибирск: Новосибирский государственный технический университет, 2013. — 134 с. — 978-5-7782-2158-1. — Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/45104.html>.

Дополнительная:

а) Книжные издания:

3 **Кларк, Э.Р.** Микроскопические методы исследования материалов [Электронный ресурс]: монография / Э.Р. Кларк, К.Н. Эберхард. — Электрон. текстовые данные.— Москва: Техносфера, 2007. — 376 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/12728.html>.

4 **Миронов, А.А.** Методы электронной микроскопии в биологии и медицине [Текст]: монография / А. А. Миронов, Я.Ю. Комиссарчик, В.А. Миронов. – Санкт-Петербург: Наука, 1994. - 399 с.

5 **Наумов, А.В.** Спектормикроскопия одиночных молекул и нанодиагностика неупорядоченных твердых сред [Электронный ресурс]: монография / А.В. Наумов.— Электрон. текстовые данные.— Москва: Московский педагогический государственный университет, 2015.— 212 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/70149.html>.

6 **Пономарев, А.П.** Электронная микроскопия нанобактерий и других представителей микро- и нано мира [Текст]: монография / А.П. Пономарев. – Владимир: ИП Журавлева, 2011. - 180 с.

7 **Сергеев, А.Г.** Нанометрология [Электронный ресурс]: монография / А.Г. Сергеев.— Электрон. текстовые данные.— Москва: Логос, 2012.— 416 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/9122.html>.

8 **Филимонова, Н.И.** Методы электронной микроскопии [Электронный ресурс]: учебное пособие / Н.И. Филимонова, А.А. Величко, Н.Е. Фадеева— Электрон. текстовые данные.— Новосибирск: Сибирский государственный университет телекоммуникаций и информатики, 2016.— 61 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/69545.html>.

9 **Шагинурова, Г.И.** Техническая микробиология [Электронный ресурс]: учебно-методическое пособие / Г.И. Шагинурова, Е.В. Перушкина, К.Г. Ипполитов.— Электрон. текстовые данные.— Казань: Казанский национальный исследовательский технологический университет, 2010.— 122 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/63485.html>.

б) Периодические издания:

1 Journal of microscopy

2 Microscopy

3 Journal of Microscopy and UltraStructure (JMAU)

4 International Journal of Microscopy

- 5 Applied Microscopy
- 6 Microscopy and Microanalysis
- 7 Journal of Advanced Microscopy Research
- 8 Цитология

7.2 Программное обеспечение

1. Microsoft Office
2. Open Office
3. Microsoft Windows
4. Adobe Acrobat Pro
5. Dr. Web Corporate Anti-Virus
6. Kaspersky Anti-Virus
7. Corel Draw
8. GIMP
9. ZEN 2010

7.3 Базы данных, информационно-справочные и поисковые системы:

<http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/> — Веб-ресурс, открывающий захватывающий мир микроскопии;

<http://bitesizebio.com/> — Портал для биологов, основной ценностью для которого является еженедельное проведение различных вебинаров на платформе данного ресурса;

<http://postnauka.ru/themes/biology> — ПостНаука – это интернет-проект о современной фундаментальной науке и ученых, которые ее создают;

http://www.ihcworld.com/protocol_database.htm — База данных протоколов, основанных на реальных публикациях;

<http://www.protocol-online.org/> — Удобный портал протоколов для биологических исследований;

<http://www.ibiology.org/> — Портал с огромным количеством видеолекций посвященных современным тенденциям в LifeScience;

<http://www.imaging-git.com/> — Международный информационный портал знаменитого журнала Imaging & Microscopy;

<http://molbiol.ru/> Интернет-территория для тех, кто профессионально связан с биологией или молекулярной биологией;

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> — Крупнейший поисковик по научным статьям по биологии и медицине.

8 Материально-техническое обеспечение дисциплины (модуля)

Материально-техническое обеспечение института, необходимое для реализации программы включает в себя:

- Конференц-залы, помещения ЦКП «Ультрамикрoанализ», помещения №№205, 331;
- Мультимедийные установки, компьютерная техника с возможностью подключения к сети «Интернет», оборудование ЦКП «Ультрамикрoанализ», ультрамикротом, прибор по изготовлению стеклянных ножей, ламинарные боксы биологической безопасности класс II, центрифуги, термостаты, шейкеры, рН-метры, система очистки воды Milli-Q.

9 Образовательные технологии

При реализации различных видов учебной работы дисциплины используются следующие формы проведения занятий.

Стандартные методы обучения:

- Лекция;
- Видео-лекция;
- Дискуссия, круглый стол;

- Практические занятия;
- Самостоятельная работа;
- Лабораторная работа;
- Эксперимент;
- Консультации специалистов.

Обучения с применением интерактивных форм образовательных технологий:

- информационно-коммуникационные образовательные технологии – лекция-визуализация, представление научно-исследовательских работ с использованием специализированных программных сред;

10 Кадровое обеспечение дисциплины (модуля)

Реализацию образовательного процесса по программе дисциплины обеспечивает старший научный сотрудник отдела Ультраструктуры клетки, доктор биологических наук, в.н.с., доцент Игорь Викторович Клименков и кандидат биологических наук, с.н.с, доцент Николай Петрович Судаков.

Разработчик программы: д.б.н., доцент И.В.Клименков

11 Оценочные средства

Оценочные средства представлены в **Приложении** к рабочей программе дисциплины в виде фонда оценочных средств для проведения текущего контроля успеваемости и промежуточной аттестации аспирантов по освоению дисциплины.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

ФОНД ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ по дисциплине (модулю) «Современные методы микроскопии»

ПАСПОРТ ФОНДА ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ

Оценочные средства предназначены для контроля и оценки образовательных достижений обучающихся, освоивших программу учебной дисциплины.

Оценочные средства текущего контроля

Текущий контроль проводится для оценки степени усвоения аспирантами учебных материалов, обозначенных в рабочей программе, и контроля СРС. Текущий контроль осуществляется в виде систематической проверки знаний и навыков аспирантов. Для этого используется устный опрос.

Контрольные вопросы для текущей аттестации

- 1 Современные подходы, используемые для микроскопических исследований.
- 2 Особенности подготовки биологического материала для разных методов микроскопии.
- 3 Принципы иммуно-цитохимических методов исследования.
- 4 Типы маркеров, используемых в микроскопии.
- 5 Преэмбеддинг и постэмбеддинг. Оценка результатов цитохимических реакций.
- 6 Общая характеристика принципов конфокальной микроскопии.
- 7 Задачи, решаемые с помощью иммуно-электронной микроскопии.
- 8 Методы окрашивания с использованием белков А и G. Метод с использованием биотин-стрептавидинового сэндвича.
- 9 Особенности подготовки биологического материала для сканирующей микроскопии.
- 10 Методы цитохимического мечения гликолипидов и гликопротеинов: использование лектинов.
- 11 Методы контрастирования препаратов для просвечивающей электронной микроскопии.
- 12 Заточка блоков и получение полутонких и ультратонких срезов. Особенности работы на ультрамикротоме.

Критерии оценивания:

При оценке ответа учитывается:

- 1) полнота и правильность ответа;
- 2) степень осознанности, понимания изученного;
- 3) языковое оформление ответа.

Ответ оценивается на **«отлично»**, если аспирант: полно излагает изученный материал, дает правильное определенное понятий; обнаруживает понимание материала, может обосновать свои суждения, применить знания на практике, привести необходимые примеры не только из литературы, но и самостоятельно составленные; излагает материал последовательно и правильно с точки зрения норм литературного языка.

Ответ оценивается на **«хорошо»**, если аспирант даёт ответ, удовлетворяющий тем же требованиям, что и для оценки «отлично», но допускает 1-2 ошибки, которые сам же исправляет, и 1-2 недочёта в последовательности и языковом оформлении излагаемого.

«Удовлетворительно» ставится, если аспирант обнаруживает знание и понимание основных положений темы, но при этом: излагает материал неполно и допускает неточности в определении понятий или формулировке теорий; не умеет достаточно глубоко и доказательно обосновать свои суждения и привести свои примеры; излагает материал непоследовательно и допускает ошибки в языковом оформлении излагаемого.

Оценка «неудовлетворительно» ставится, если ответ не удовлетворяет требованиям положительной оценки или аспирант отказывается отвечать на контрольные вопросы.

Оценочные средства для промежуточной аттестации

Промежуточная аттестация проходит в форме зачета.

Список вопросов к зачету:

1. Методы электронной микроскопии (теоретические предпосылки)
2. Основные классы электронных микроскопов (просвечивающие и сканирующие) и принципы их работы.
3. Методы подготовки биологических образцов.
4. Виды фиксаторов и типы фиксаций биологических образцов.
5. Особенности буферных растворов, используемых в электронной микроскопии. Фиксация, проводка, заливка, полимеризация и получение блоков.
6. Заточка блоков и получение полутонких и ультратонких срезов. Особенности работы на ультрамикротоме.
7. Контрастирование препаратов и их хранение.
8. Методы просвечивающей электронной микроскопии.
9. Метод реплик. Метод замораживания-скальвания.
10. Методы позитивного и негативного контрастирования.
11. Методы цитохимического мечения гликолипидов и гликопротеинов: использование лектинов.
12. Электронно-микроскопическая автордиография.
13. Теоретические основы. Разрешающая способность метода.
14. Планирование эксперимента.
15. Импульсный и импульсно-последовательные методы автордиографии. Нанесение радиочувствительной эмульсии.
16. Экспонирование, проявление и контрастирование препаратов.
17. Гибридизация *in situ* в электронной микроскопии.
18. Особенности препарирования. ДНК- и РНК- зонды.
19. Типы маркеров. Условия проведения гибридизации *in situ*.
20. Преэмбеддинг и постэмбеддинг.
21. Иммуноэлектронная микроскопия
22. Задачи, решаемые с помощью иммуноэлектронной микроскопии.
23. Поликлональные и моноклональные антитела и методы их получения.
24. Тонкое строение антител. Антигенные детерминанты.
25. Методы цитохимической идентификации антигенов.
26. Методы с использованием белков А и G. Метод с использованием биотин-стрептавидинового сэндвича. Типы электроноплотных меток.
27. Процедура иммуномечения, пермеабелизация.
28. Преэмбеддинг и постэмбеддинг. Оценка результатов, контрольные реакции.

29. Растровая (сканирующая) электронная микроскопия (РЭМ).
30. Принципы работы РЭМ. Методы получения увеличенного изображения.
31. Этапы подготовки биологических объектов к РЭМ (первичная обработка, фиксация и обезвоживание, высушивание, напыление).
32. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия.
33. Общая характеристика принципов конфокальной микроскопии.
34. Системы сканирования в конфокальной лазерной микроскопии.
35. Получение трехмерного изображения в конфокальной микроскопии.
36. Основные методы, используемые в КЛСМ:
37. Иммуноцитохимия, формирование изображения, флуоресцентные белки, передача энергии посредством флуоресцентного резонанса, восстановление флуоресценции после фотовыжигания.
38. Особенности подготовки биологических препаратов для атомно-силовой электронной микроскопии.

Критерии оценки:

Оценивание аспиранта на промежуточной аттестации в форме зачета

Оценка зачета	Требования к знаниям и критерии выставления оценок
<i>Зачтено</i>	Аспирант при ответе демонстрирует большую часть содержания тем учебной дисциплины, владеет основными понятиями.
<i>Не зачтено</i>	Аспирант при ответе демонстрирует знание меньшей части содержания тем учебной дисциплины

ЛИСТ ОБНОВЛЕНИЯ

Дата	Внесенные обновления	Подпись