### МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение

высшего образования

"Казанский (Приволжский) федеральный университет" Институт фундаментальной медицины и биологии





подписано электронно-цифровой подписью

#### Программа дисциплины

Методы современной микроскопии Б1.В.ДВ.2

Специальность: 31.05.03 - Стоматология
Специализация: не прелусмотрено

Квалификация выпускника: врач - стоматолог

Форма обучения: очное Язык обучения: русский

Автор(ы): Певнев Г.О. Рецензент(ы): Киясов А.П.

СОГЛАСОВАНО:
Заведующий(ая) кафедрой: Киясов А. П. Протокол заседания кафедры No от "" 201г
Учебно-методическая комиссия Института фундаментальной медицины и биологии: Протокол заседания УМК No от "" 201г
Регистрационный No 849430618
Казань
2018

#### Содержание

- 1. Цели освоения дисциплины
- 2. Место дисциплины в структуре основной образовательной программы
- 3. Компетенции обучающегося, формируемые в результате освоения дисциплины /модуля
- 4. Структура и содержание дисциплины/ модуля
- 5. Образовательные технологии, включая интерактивные формы обучения
- 6. Оценочные средства для текущего контроля успеваемости, промежуточной аттестации по итогам освоения дисциплины и учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы студентов
- 7. Литература
- 8. Интернет-ресурсы
- 9. Материально-техническое обеспечение дисциплины/модуля согласно утвержденному учебному плану

Программу дисциплины разработал(а)(и) старший преподаватель, б/с Певнев Г.О. кафедра морфологии и общей патологии отделение фундаментальной медицины , GOPevnev@kpfu.ru

#### 1. Цели освоения дисциплины

Целями освоения дисциплины (модуля) 'Методы современной микроскопии' - обеспечение понимания физических процессов, лежащих в основе визуализации биологических объектов, а также научить обучающихся применять современные экспериментальные методы работы с биологическими объектами в лабораторных условиях и научить интерпретировать результаты.

## 2. Место дисциплины в структуре основной образовательной программы высшего профессионального образования

Данная учебная дисциплина включена в раздел "Б1.В.ДВ.2 Дисциплины (модули)" основной образовательной программы 31.05.03 Стоматология и относится к дисциплинам по выбору. Осваивается на 4 курсе, 7 семестр.

Данная учебная дисциплина включена в раздел ' Б1.В.ДВ.2 Дисциплины (модули)' основной образовательной программы 31.05.03 Стоматология и относится к дисциплинам по выбору. Осваивается на 4 курсе, 7 семестр.

Дисциплина 'Методы современной микроскопии' логически связана с другими дисциплинами основной образовательной программы. Ее освоение базируется на знаниях и умениях, полученных обучающимися в процессе изучения физики, биологии, гистологии, эмбриологии и цитологии, патологической анатомии, микробиологии, вирусологии, иммунологии и методов исследований в медицине и биологии.

Знания и умения, полученные в ходе изучения 'Методов современной микроскопии' необходимы для освоения нейробиологии, биологии развития, клинической морфологии, медицинская паразитологии, клеточной и молекулярной биологии, регенеративной медицины.

## 3. Компетенции обучающегося, формируемые в результате освоения дисциплины /модуля

В результате освоения дисциплины формируются следующие компетенции:

Шифр компетенции	Расшифровка приобретаемой компетенции
ОК-1 (общекультурные компетенции)	способностью к абстрактному мышлению, анализу, синтезу
ОПК-1 (профессиональные компетенции)	готовностью решать стандартные задачи профессиональной деятельности с использованием информационных, библиографических ресурсов, медико-биологической терминологии, информационно-коммуникационных технологий и учетом основных требований информационной безопасности
ОПК-6 (профессиональные компетенции)	готовностью к ведению медицинской документации
ОПК-7 (профессиональные компетенции)	готовностью к использованию основных физико-химических, математических и иных естественнонаучных понятий и методов при решении профессиональных задач
ОПК-9 (профессиональные компетенции)	способностью к оценке морфофункциональных, физиологических состояний и патологических процессов в организме человека для решения профессиональных задач

Шифр компетенции	Расшифровка приобретаемой компетенции
ПК-1 (профессиональные компетенции)	способностью и готовностью к осуществлению комплекса мероприятий, направленных на сохранение и укрепление здоровья и включающих в себя формирование здорового образа жизни, предупреждение возникновения и (или) распространения стоматологических заболеваний, их раннюю диагностику, выявление причин и условий их возникновения и развития, а также направленных на устранение вредного влияния на здоровье человека факторов среды его обитания
ПК-17 (профессиональные компетенции)	готовностью к анализу и публичному представлению медицинской информации на основе доказательной медицины
ПК-18 (профессиональные компетенции)	способностью к участию в проведении научных исследований
ПК-5 (профессиональные компетенции)	готовностью к сбору и анализу жалоб пациента, данных его анамнеза, результатов осмотра, лабораторных, инструментальных, патолого-анатомических и иных исследований в целях распознавания состояния или установления факта наличия или отсутствия стоматологического заболевания

В результате освоения дисциплины студент:

- 1. должен знать:
- Историю создания и развития методов микроскопии;
- современные методы световой, электронной, зондовой и флуоресцентной микроскопии;

#### 2. должен уметь:

- использовать методы микроскопии для решения сложных задач современной медицины и биологии;
- интерпретировать полученные результаты;

#### 3. должен владеть:

- методами пробоподготовки биологического материала для их исследования с помощью методов световой, электронной (просвечивающей и сканирующей) и лазерной конфокальной микроскопии
- использовать методы электронной, зондовой и флуоресцентной микроскопии для решения сложных задач современной медицины и биологии;
- владеть методами пробоподготовки биологического материала для его исследования с помощью методов электронной (просвечивающей и сканирующей) и лазерной конфокальной микроскопии;
- -применять в профессиональной деятельности знания, умения, навыки, полученные в ходе освоения дисциплины.
- 4. должен демонстрировать способность и готовность:

использовать методы электронной, зондовой и флуоресцентной микроскопии для решения сложных задач современной медицины и биологии;

владеть методами пробоподготовки биологического материала для его исследования с помощью методов электронной (просвечивающей и сканирующей) и лазерной конфокальной микроскопии.



#### 4. Структура и содержание дисциплины/ модуля

Общая трудоемкость дисциплины составляет 2 зачетных(ые) единиц(ы) 72 часа(ов).

Форма промежуточного контроля дисциплины зачет в 7 семестре.

Суммарно по дисциплине можно получить 100 баллов, из них текущая работа оценивается в 50 баллов, итоговая форма контроля - в 50 баллов. Минимальное количество для допуска к зачету 28 баллов.

86 баллов и более - "отлично" (отл.);

71-85 баллов - "хорошо" (хор.);

55-70 баллов - "удовлетворительно" (удов.);

54 балла и менее - "неудовлетворительно" (неуд.).

#### 4.1 Структура и содержание аудиторной работы по дисциплине/ модулю Тематический план дисциплины/модуля

N	Раздел Дисциплины/ Модуля	Семестр		Виды и часы аудиторной работы, их трудоемкость (в часах)			Текущие формы контроля
				Лекции	Практические занятия	, Лабораторные работы	-
1.	Тема 1. История создания микроскопа. Оптическая микроскопия	7		4	0	4	Тестирование
2.	Тема 2. Оптическая микроскопия. Микроскопия проходящего света. Стереоскопическая микроскопия. Изготовление препаратов для световой микроскопии	7		0	0	6	Тестирование
3.	Тема 3. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия. Основные методы, используемые в конфокальной лазерной сканирующей микроскопии.	7		0	0	6	Тестирование

N	Раздел Дисциплины/ Модуля	Семестр	Неделя семестра	Лекции	Виды и ча аудиторной р их трудоемк (в часах Практические занятия	аботы, сость	Текущие формы контроля
4.	Тема 4. ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ). Растровая (сканирующая) электронная микроскопия (РЭМ). Подготовка образцов для просвечивающей электронной микроскопии. Подготовка образцов для растровой электронной микроскопии.	7		4	0	6	Тестирование
	Тема 5. Наноразмерные структуры: классификация, формирование и исследование. Исследование наноструктур с помощью сканирующей зондовой микроскопии. Аналитическая электронная микроскопия. Спектральный рентгеновский микроанализ. Сканирующая зондовая микроскопия. Атомно-силовая микроскопия (АСМ).	7		6	0	6	Контрольная работа
6.	Тема 6. Программное обеспечение в микроскопии.	7		0	0	2	
	Тема . Итоговая форма контроля	7		0	0	0	Зачет
	Итого			14	0	30	

#### 4.2 Содержание дисциплины

**Тема 1. История создания микроскопа. Оптическая микроскопия** *лекционное занятие (4 часа(ов)):* 



Изобретение микроскопа и развитие техники микроскопирования. Теоретические основы микроскопии. Волновая теория света. Геометрическая теория микроскопа. Принципиальная схема микроскопа и осветительной системы. Погрешности изображения, получаемого с помощью оптики. Понятие о сферической и хроматической аберрации, кривизне поля изображения и др. Увеличение микроскопа: полезное и бесполезное. Качество изображения и параметры, влияющие на него. Пути повышения оптической разрешающей способности. Иммерсионные жидкости и их характеристики.

#### лабораторная работа (4 часа(ов)):

Основные методы исследования, используемые для изучения биологических объектов (светлое поле, темное поле и фазовый контраст, дифференциальный интерференционный контраст, поляризационный контраст, флуоресценция). Изготовление препаратов для световой микроскопии. Фиксация, основные фиксаторы. Окрашивание, характеристика наиболее распространенных красителей. Приготовление микротомных препаратов. Измерение микропрепаратов. Объект-микрометр для проходящего света (ОМП).

## Тема 2. Оптическая микроскопия. Микроскопия проходящего света. Стереоскопическая микроскопия. Изготовление препаратов для световой микроскопии лабораторная работа (6 часа(ов)):

Конструктивные части микроскопа проходящего света. Объективы: их конструкции и оптические характеристики. Окуляры: окуляры Гюйгенса и компенсационные. устройство окуляров, оптические характеристики. Понятие о моно-, би- и тринокулярных микроскопах. Осветители и светофильтры. Модели современных микроскопов проходящего света. Уход за микроскопом. Некоторые причины ухудшения качества изображения и способы их устранения. Наиболее распространенные ошибки при работе с микроскопом.

## Тема 3. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия. Основные методы, используемые в конфокальной лазерной сканирующей микроскопии. лабораторная работа (6 часа(ов)):

Понятие об амплитудных и фазовых микроскопических биологических объектах. Основные методы исследования, используемые для изучения биологических объектов. Принципы работы. Теоретические основы получения изображения. Стереоскопические микроскопы. Основные оптические характеристики. Принципы формирования изображения. Применение для изучения биологических объектов. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ). Основные методы, используемые в КЛСМ: иммуноцитохимия, трассирование, формирование изображения, флуоресцентные белки, передача энергии посредством флуоресцентного резонанса, восстановление флуоресценции после фотовыжигания, визуализация времени жизни во флуоресцирующем состоянии, флуоресцентная корреляционная спектроскопия, флуоресцентная in situ гибридизация.

# Тема 4. ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ). Растровая (сканирующая) электронная микроскопия (РЭМ). Подготовка образцов для просвечивающей электронной микроскопии. Подготовка образцов для растровой электронной микроскопии.

#### лекционное занятие (4 часа(ов)):

Устройство просвечивающих электронных микроскопов: источники электронов, электронные линзы, вакуумная система, держатель образцов. Подготовка препаратов для ПЭМ. Растровая (сканирующая) электронная микроскопия (РЭМ). Принципы работы РЭМ. Методы получения увеличенного изображения. Этапы подготовки биологических объектов к РЭМ. Приставки рентгеновского спектрального анализа, используемые для изучения локализации и количественной оценки элементов в клетке и субклеточных структурах.

#### лабораторная работа (6 часа(ов)):

Устройство просвечивающих электронных микроскопов: источники электронов, электронные линзы, вакуумная система, держатель образцов. Подготовка препаратов для ПЭМ. Растровая (сканирующая) электронная микроскопия (РЭМ). Принципы работы РЭМ. Методы получения увеличенного изображения. Этапы подготовки биологических объектов к РЭМ. Приставки рентгеновского спектрального анализа, используемые для изучения локализации и количественной оценки элементов в клетке и субклеточных структурах.



Тема 5. Наноразмерные структуры: классификация, формирование и исследование. Исследование наноструктур с помощью сканирующей зондовой микроскопии. Аналитическая электронная микроскопия. Спектральный рентгеновский микроанализ. Сканирующая зондовая микроскопия. Атомно-силовая микроскопия (АСМ). лекционное занятие (6 часа(ов)):

Наноразмерные структуры. Общие сведения о наноразмерных структурах. Особенности свойств наноструктур. Методы получения наноструктур. Физические основы работы спектрометров. Преимущества рентгеновского микроанализа по сравнению с другими методами. Подготовка образцов для рентгеновского микроанализа. Принципы работы сканирующих зондовых микроскопов. Атомно-силовой микроскоп (АСМ) как способ изучения биологических объектов. Характеристика основных методом АСМ.

#### лабораторная работа (6 часа(ов)):

Приставки рентгеновского спектрального анализа, используемые для изучения локализации и количественной оценки элементов в клетке и субклеточных структурах. Физические основы работы спектрометров. Преимущества рентгеновского микроанализа по сравнению с другими методами. Модели современных приставок для спектрального рентгеновского микроанализа.

### Тема 6. Программное обеспечение в микроскопии.

#### лабораторная работа (2 часа(ов)):

Программное обеспечение ZEN Pro 2012, Leica application suite, ImageJ.

#### 4.3 Структура и содержание самостоятельной работы дисциплины (модуля)

N	Раздел Дисциплины	Семестр	Неделя семестра	Виды самостоятельной работы студентов	Трудоемкость (в часах)	Формы контроля самостоятельной работы
1.	Тема 1. История создания микроскопа. Оптическая микроскопия	7		подготовка к тестированию	4	тестирование
2.	Тема 2. Оптическая микроскопия. Микроскопия проходящего света. Стереоскопическая микроскопия. Изготовление препаратов для световой микроскопии	7		подготовка к тестированию	6	тестирование
3.	Тема 3. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия. Основные методы, используемые в конфокальной лазерной сканирующей микроскопии.	7		подготовка к тестированию	6	тестирование

N	Раздел Дисциплины	Семестр	Неделя семестра	Виды самостоятельной работы студентов	Трудоемкость (в часах)	Формы контроля самостоятельной работы
4.	Тема 4. ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ). Растровая (сканирующая) электронная микроскопия (РЭМ). Подготовка образцов для просвечивающей электронной микроскопии. Подготовка образцов для растровой электронной микроскопии.	7		подготовка к тестированию	6	тестирование
5.	Тема 5. Наноразмерные структуры: классификация, формирование и исследование. Исследование наноструктур с помощью сканирующей зондовой микроскопии. Аналитическая электронная микроскопия. Спектральный рентгеновский микроанализ. Сканирующая зондовая микроскопия. Атомно-силовая микроскопия (АСМ).	7		подготовка к контрольной работе	6	контрольная работа
	Итого				28	

#### 5. Образовательные технологии, включая интерактивные формы обучения

Освоение дисциплины 'Методы современной микроскопии' предполагает использование как традиционных (лабораторные занятия по использованию современной микроскопической техники, пробоподготовка образцов для различных видов микроскопии), так и инновационных образовательных технологий с использованием в учебном процессе активных и интерактивных форм проведения занятий: выполнение ряда практических заданий с использованием профессиональных программных средств визуализации и анализа объектов микроскопии, включающих подготовку и выступления студентов на семинарских занятиях с фото-, аудио- и видеоматериалами по предложенной тематике.

6. Оценочные средства для текущего контроля успеваемости, промежуточной аттестации по итогам освоения дисциплины и учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы студентов

#### Тема 1. История создания микроскопа. Оптическая микроскопия

тестирование, примерные вопросы:

1. Фазово-контрастная микроскопия используется для: А. Преобразования невидимых различий индекса преломления в видимые различия интенсивности света Б.Подсвечивания образца светом с единой длинной волны В. Получения разрешения больше, чем при световой микроскопии Г. Обнаружения двойного лучепреломления кристаллических или фибриллярных тканей Д. Количественного измерения интенсивности света 2. Какая часть электронного микроскопа соответствует конденсирующей линзе светового микроскопа? А. Флуоресцентный экран Б. Катод В. Электромагнит Г. Анод Д. Электронный луч З. Технологии, позволяющие изучать живые клетки: А. Гомогенизация и дифференциальное центрифугирование Б. Криофракционирование и замораживание В. Фазово-контрастная микроскопия и культивирование тканей Г. Радиоавтография и просвечивающая электронная микроскопия Д. Ни одна из перечисленных 4. Каждое из следующих утверждений верно для фазово-контрастной микроскопии, КРОМЕ: А. Может быть использована для изучения живых объектов Б. Преобразует отличия в плотности образца в отличия интенсивности света в изображении В. Используются специальные объективы и конденсоры Г. Используется обычная лампа накаливания Д. Требуется окраска образца для лучшей визуализации 5. Каждое из следующих утверждений о разрешении при микроскопии в светлом поле верно, КРОМЕ: А. Масляная иммерсия понижает разрешение Б. Ограничение разрешения меньше 1 мкм В. Окуляры имеют критическое значение для формирования изображения Г. Высокая числовая апертура (NA) обеспечивает высокое разрешение Д. Числовая апертура связана с индексом преломления среды между образцом и объективом Сопоставьте функцию и деталь микроскопа: 6. Используется для наведения фокуса 7. Участвует в формирования изображения, собирает световые лучи, идущие от образца 8. Двигает образец 9. Увеличивает первичное изображение, созданное объективом 10. Испускает свет, освещающий образец Ответы на вопросы 6-10 А. Осветитель Б. Микровинт В. Предметный столик Г. Объектив Д. Окуляр

**Тема 2. Оптическая микроскопия. Микроскопия проходящего света. Стереоскопическая микроскопия. Изготовление препаратов для световой микроскопии** 

тестирование, примерные вопросы:

1. Какое из перечисленных утверждений о химической фиксации НЕ ВЕРНО: А. Предотвращает лизирование Б. Усиливает энзимную активность В. Сохраняет структуру ткани Г. Ингибирует выявление некоторых антигенов при иммуногистохимии Д. Предотвращает бактериальный распад гистологических образцов 2. Сравните световую и электронную микроскопии в отношении: А. Фиксации, заливки, порезки и окрашивания Б. Толщины срезов В. Монтирования срезов Г. Типа, источника и длины волны осветителя Д. Увеличения 3. Технология, наиболее часто используемая для определения гликогена в клетках А. Окрашивание метиленовым синим Б. Реакция Фёльгена В. Шик реакция (PAS реакция) Г. Энзимная гистохимия Д. Иммуногистохимия 4. Для того, чтобы избежать изменения или удаления исследуемых веществ фиксирующими и просветляющими агентами, может потребоваться изготовление замороженных срезов для: А. Иммуногистохимии Б. Обнаружения липидов В. Энзимной гистохимии Г. Всего вышеперечисленного Д. Только А и В 5. Маркеры, применяемые в сочетании с антителами при иммуногистохимии: А. Флуоресцентные компоненты Б. Ферменты В. Соединения, рассеивающие электроны Г. Все вышеперечисленное Д. Только A и B 6. In situ гибридизация используется для демонстрации последовательности экспрессии: А. Нуклеиновых кислот Б. Протеинов В. Липидов Г. Ионов Д. Углеводов 7. Темнопольная микроскопия применяется для изучения: А. кишечной палочки Б. риккетсий В. стафилококка Г. хламидий Д. бледной трепонемы 8. Для какого типа микроскопической техники готовят нативные неокрашенные препараты: А. для световой микроскопии Б. для темнопольной микроскопии. В. для люминесцентной микроскопии Г. для фазово-контрастной микроскопии Д. для поляризационной микроскопии 9. Какие морфологические структуры бактерий и особенности их строения обусловливают положительную или отрицательную окраску по Граму: А. клеточная стенка Б. ЦПМ В. цитоплазма Г. капсула Д. жгутики 10. К аберрациям широкого пучка света относятся: А. сферическая аберрация Б. аберрация кома В. Кривизна поля Г. Дисторсия Д. Астигматизм 11. К полевым аберрациям света относятся: А. сферическая аберрация Б. аберрация кома В. Кривизна поля Г. Дисторсия Д. Астигматизм. 12. Микроскопическим методом изучают свойства бактерий: А. морфо-тинкториальные Б. культуральные В. антигенные Г. токсигенные Д. биохимические 13. Оптическая часть светового микроскопа включает все, КРОМЕ: А. конденсора Б. объектива В. окуляра Г. тубуса Д. зеркала 13. Увеличение светового микроскопа равно: А. произведению увеличения объектива на увеличение окуляра Б. разности между увеличением объектива и окуляра В. сумме увеличений объектива и окуляра Г. увеличению объектива Д. увеличению окуляра 14. К специальным методам микроскопии относится все, КРОМЕ: А. фазово-контрастная Б. темнопольная В. люминесцентная Г. электронная Д. фотоколориметрическая 15. Принцип темнопольной микроскопии основан на: А. люминисценции объекта Б. дифракции света при боковом освещении объекта В. интерференции световых волн Г. поглощении света объектом Д. пропускании света объектом

**Тема 3. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия. Основные методы, используемые в конфокальной лазерной сканирующей микроскопии.** 

тестирование, примерные вопросы:

1. Особенностью конфокального микроскопа является: А) В каждый момент времени регистрируется изображение всего объекта Б) В каждый момент времени регистрируется изображение одной точки объекта В) Использование косого освещения Г) Интерференция луча, проходящего через частицу и луча, проходящего мимо неё 2. Основным преимуществом конфокального микроскопа является: А) Использование относительно простого оборудования Б) Скорость сканирования В) Получение высококонтрастного изображения Г) Высокая разрешающая способность в плоскости объекта 3. Субволновая диафрагма это: А) Линза толщиной много меньше длины волны падающего излучения Б) Непрозрачная преграда В) Отверстие с диаметром много меньше длины волны падающего излучения Г) Отражающее устройство Сопоставьте метод и область его применения: 4. Метод TIRF 5. Метод 4-Рі 6. Метод STED 7. Метод FRET 8. Метод FLIM 9. Метод FRAP 10. Метод FLIP 11. Метод FLAP Ответы на вопросы 4-11: А. Исследование динамики белков в клетках. Позволяет непосредственно проследить ?судьбу? определенной фракции белка. Б. Изучение компартментализации клетки. выявление мобильной и связанной фракции белка. В. Исследование динамики белков (меченых флуорофором), определение характера движения белков в клетке (свободная диффузия или активный транспорт), оценка мобильной и связанной фракции белка. Г. Изучение динамики концентраций ионов в клетке. Локализация и разделение сигналов от красителей даже с одинаковыми спектрами эмиссии. Позволяет значительно увеличить эффективность метода FRET. Д. Колоколизация белков с точностью до 10 нм. Изучение взаимодействия белков, их конформационных изменений и дипольной ориентации. Эффективен как в фиксированных, так и в живых объектах. Е. Задачи, требующие высокого разрешения микроскопа. Эффективен на очень тонких препаратах. Позволяет достичь аксиальной разрешающей способности в 100 нм (без существенного улучшения латеральной). Ж. Задачи, требующие высокого разрешения микроскопа: локализация ионных каналов, везикулярный транспорт и т.д. Позволяет достичь латеральной разрешающей способности 30-70 нм (без существенного улучшения аксиальной). З. Визуализация структур. локализованных вблизи поверхности препарата (до 100 нм в глубину). 12. Конфокальная сканирующая микроскопия на основе вращающихся дисков: А. Изучение компартментализации клетки, выявление мобильной и связанной фракции белка. Б. Исследование динамики белков в клетках. Позволяет непосредственно проследить ?судьбу? определенной фракции белка. В. Изучение динамики концентраций ионов в клетке. Локализация и разделение сигналов от красителей даже с одинаковыми спектрами эмиссии. Позволяет значительно увеличить эффективность метода FRET. Г. Исследование быстрых биологических процессов. Дает возможность видеть объекты в естественных цветах. 13. Дихроическое зеркало: А. рассеивает свет Б. пропускает свет в зависимости от длины волны В. Направляет свет от источника на препарат. Г. Позволяет осмотреть недоступные части микроскопа 14. При использовании флуоресцентной микроскопии для получения достоверных результатов нужно: А. адекватно подбирать систему светофильтров. Б. проводить визуализацию в темной комнате В. правильно подбирать флуорофоры для мультифлуоресцентного эксперимента. Г. Наличие ультратонких препаратов 15. Метод исследования в свете люминесценции заключается в: А. Наблюдении под микроскопом свечения микрообъектов Б. Нанесении на исследуемый образец люминесцентного состава В. Освещении образца ультрафиолетом Г. Всё вышеперчисленное

Тема 4. ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ). Растровая (сканирующая) электронная микроскопия (РЭМ). Подготовка образцов для просвечивающей электронной микроскопии. Подготовка образцов для растровой электронной микроскопии.

тестирование, примерные вопросы:

1. Энергия Оже-электрона зависит от: А) Частоты возбуждающего излучения Б) Амплитуды возбуждающего излучения В) Коэффициента преломления среда- образец Г) Структуры энергетических уровней атома 2. Разрешающая способность микроскопа определяется: А) Площадью сечения или диаметром зонда Б) Контрастом, создаваемым образцом и детекторной системой В) Областью генерации сигнала в образце Г) Всем вышеперечисленным 3. Сферическая аберрация возникает вследствие того, что: А) Электроны обладают различной скоростью (длиной волны) Б) Электроны проходят на различных угловых расстояниях от оптической оси линзы В) Нарушена магнитная или геометрическая симметрия линзы Г) Всё вышеперечисленное 4. Стигматор - это: А) Система, коректирующаая магнитное поле линзы Б) Полюсный наконечник линзы В) Пара электромагнитных отклоняющих катушек Г) Электронный зонд 5. Протяжённость области генерации отражённых электронов возрастает при: А) Увеличении среднего атомного номера элементов образца Б) Увеличении ускоряющего напряжения В) Увеличении угла между образцом и осью зонда Г) Всё вышеперечисленное 6. Подготовка образцов для ПЭМ: А. Образцы не должны быть обезвожены Б. Образцы должны быть обезвожены В. толщина образцов не имеет значения Г. Толщина образцов должна быть сопоставима со средней длиной пробега электронов в образце. 7. Вид электронной микроскопии, когда изображение получается за счет электронов, прошедших сквозь объект (микродифракция) А. Просвечивающая электронная микроскопия Б. Растровая электронная микроскопия В. Атомно-силовая микроскопия Г. Спектральный рентгеновский микроанализ 8. Вид электронной микроскопии, когда получается телевизионный принцип развертки тонкого пучка электронов или ионов по поверхности образца. А. Просвечивающая электронная микроскопия Б. Растровая электронная микроскопия В. Атомно-силовая микроскопия Г. Сканирующая туннельная микроскопия 9. Вид электронной микроскопии, который является современным методом исследования морфологии и локальных свойств поверхности твердого тела с высоким пространственным разрешением. А. Просвечивающая электронная микроскопия Б. Растровая электронная микроскопия В. Атомно-силовая микроскопия Г. Сканирующая туннельная микроскопия 10. Вид электронной микроскопии, основанный на явлении прохождения электронов через узкий потенциальный барьер между металлическим зондом и проводящим образцом во внешнем электрическом поле А. Просвечивающая электронная микроскопия Б. Растровая электронная микроскопия В. Атомно-силовая микроскопия Г. Сканирующая туннельная микроскопия 11. Данная микроскопия основана на присутствии в дальней зоне излучения вполне идентифицируемых следов взаимодействия света с микрообъектом, находящимся в ближнем световом поле, которое локализовано на расстояниях много меньших длины волны. А. Растровая электронная микроскопия Б. Атомно-силовая микроскопия В. Сканирующая зондовая микроскопия Г. Ближнепольная сканирующая оптическая микроскопия 12. Минимальное расстояние между двумя точками, когда их можно видеть раздельно А. разрешающая способность Б. позволяющая способность В. 100 нм Г. 120 нм 13. Чем отличается электронный микроскоп от светового? А. использование пучка электронов Б. Работает от электричества В. Свет разделяется на электроны Г. Имеет худшую разрешающую способность 14. Недостатки электронных микроскопов: А. Низкая разрешающая способность Б. Дороговизна В. Требует особых условий размещения Г. Требует качественной пробоподготовки

Тема 5. Наноразмерные структуры: классификация, формирование и исследование. Исследование наноструктур с помощью сканирующей зондовой микроскопии. Аналитическая электронная микроскопия. Спектральный рентгеновский микроанализ. Сканирующая зондовая микроскопия. Атомно-силовая микроскопия (АСМ). контрольная работа, примерные вопросы:

Э Л Е К Т Р О Н Н Ы Й
УНИВЕРСИТЕТ

ИНООРМЫЛНО АНАЛИТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА КВУ

1. Физические основы аналитической электронной микроскопии. 2. Области применения и возможности аналитической электронной микроскопии. З. Физико-технические основы спектрального рентгеновского микроанализа. 4. Области применения и возможности спектрального рентгеновского микроанализа. 5. Преимущества рентгеновского микроанализа. 6. Основные этапы подготовки биологических объектов к спектральному рентгеновскому микроанализу. 7. Принципы работы сканирующих зондовых микроскопов. 8. Области применения и возможности сканирующих зондовых микроскопов. 9. Факторы и артефакты в сканирующей зондовой микроскопии, качество изображения. 10. Устройство и принцип работы атомно-силового микроскопа. 11. Применение атомно-силовой микроскопии в медицинских и биологических исследованиях. 12. Методы атомно-силовой микроскопии. 13. Основные этапы подготовки биологических объектов к атомно-силовой микроскопии. 14. Наноразмерные структуры, их харктеристика, свойства. 15. Методы исследования наноструктур. 16. Методы изготовления наноструктур. 17. Физические свойства наноструктур. 18. Области применения наноструктур. 19. Программное обеспечение при работе с атомно-силовым микроскопом. 20. Программное обеспечение для спектрального рентгеновского микроанализа. 21. Программное обеспечение для сканирующей зондовой микроскопии.

#### Тема 6. Программное обеспечение в микроскопии.

#### Тема. Итоговая форма контроля

#### Примерные вопросы к зачету:

Вопросы для подготовки к зачету:

- 1. Краткая история развития техники микроскопирования.
- 2. Микроскопические биологические объекты и способы их исследования в биологии и медицине.
- 3. Оптические лабораторные приборы, используемые в медицине и биологии.
- 4. Виды луп и их применение при исследовании биологических объектов.
- 5. Устройство штативной лупы.
- 6. Принципы формирования изображения в современных оптических микроскопах.
- 7. Иммерсионные жидкости и их характеристики.
- 8. Конструктивные части микроскопа проходящего света.
- 9. Механическая часть микроскопа и узлы, образующие её.
- 10. Осветительная часть микроскопа и узлы, входящие в неё.
- 11. Оптическая часть микроскопа и узлы, образующие её.
- 12. Полезное, бесполезное и общее увеличение микроскопа.
- 13. Устройство окуляров, оптические характеристики.
- 14. Объективы: их конструкции и оптические характеристики.
- 15. Правила ухода за микроскопом.
- 16. Основные этапы подготовки светового микроскопа к работе.
- 17. Настройка освещения по Келеру.
- 18. Выбор увеличения.
- 19. Изготовление временных препаратов для световой микроскопии.
- 20. Основные этапы изготовления постоянных микропрепаратов для световой микроскопии.
- 21. Фиксация, основные фиксаторы.
- 22. Окрашивание, характеристика наиболее распространенных красителей.
- 23. Приготовление микротомных препаратов.
- 24. Амплитудные и фазовые микроскопические биологические объекты.
- 25. Методы исследования в оптической микроскопии.
- 26. Светлопольная микроскопия: принципы работы, теоретические основы получения изображения.



- 27. Темнопольная микроскопия: принципы работы, теоретические основы получения изображения.
- 28. Фазово-контрастная микроскопия: принципы работы, теоретические основы получения изображения.
- 29. Интерференционная микроскопия: принципы работы, теоретические основы получения изображения.
- 30. Поляризационно-контрастная микроскопия: принципы работы, теоретические основы получения изображения.
- 31. Флуоресцентная микроскопия: принципы работы, теоретические основы получения изображения.
- 32. Стереоскопическая микроскопия: принципы формирования изображения, применение для изучения биологических объектов.
- 33. Устройство и принцип работы конфокального лазерного сканирующего микроскопа (КЛСМ).
- 34. Модификации и модели конфокальных лазерных сканирующих микроскопов.
- 35. Основные методы, используемые в КЛСМ.
- 36. Иммуноцитохимия и трассирование.
- 37. Формирование изображения (Imaging) и "Живые краски" (флуоресцентные белки).
- 38. Передача энергии посредством флуоресцентного резонанса (FRET).
- 39. Восстановление флуоресценции после фотовыжигания (FRAP).
- 40. Визуализация времени жизни во флуоресцирующем состоянии (FLIM).
- 41. Флуоресцентная корреляционная спектроскопия (FCS).
- 42. Флуоресцентная in situ гибридизации (FISH).
- 43. Основные классы электронных микроскопов и принципы их работы.
- 44. Устройство просвечивающих электронных микроскопов (ПЭМ).
- 45. Основные этапы подготовки биологических объектов к просвечивающей электронной микроскопии.
- 46. Оборудование и установки для подготовки биологических объектов к ПЭМ.
- 47. Принципы работы растрового (сканирующего) электронного микроскопа (РЭМ).
- 48. Этапы подготовки биологических объектов к РЭМ.
- 49. Модификации, модели просвечивающих и растровых сканирующих электронных микроскопов.
- 50. Аналитическая электронная микроскопия.
- 51. Физико-технические основы спектрального рентгеновского микроанализа.
- 52. Преимущества рентгеновского микроанализа.
- 53. Основные этапы подготовки биологических объектов к спектральному рентгеновскому микроанализу.
- 54. Принципы работы сканирующих зондовых микроскопов.
- 55. Факторы и артефакты в сканирующей зондовой микроскопии, качество изображения.
- 56. Устройство и принцип работы атомно-силового микроскопа (АСМ).
- 57. Методы АСМ.
- 58. Основные этапы подготовки биологических объектов к атомно-силовой микроскопии.

#### 7.1. Основная литература:

1. Физика с элементами биофизики [Электронный ресурс] : учебник / Е.Д. Эйдельман - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013.

http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970425244.html?SSr=400133a0c11566616ffc527



- 2. Физика и биофизика. Практикум [Электронный ресурс] : учебное пособие / Антонов В.Ф., Черныш А.М., Козлова Е.К., Коржуев А.В. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970421468.html?SSr=400133a0c11566616ffc527
- 3. Медицинская и биологическая физика. Сборник задач [Электронный ресурс] / А. Н. Ремизов, А. Г. Максина М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014.

http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN97859704295561.html?SSr=400133a0c11566616ffc527

#### 7.2. Дополнительная литература:

- 1. Гистология, эмбриология, цитология [Электронный ресурс] : учебник для вузов / Под ред. Э.Г. Улумбекова, Ю.А. Челышева. 3-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970421307.html
- 2. 'Гистология, эмбриология, цитология [Электронный ресурс] / 'Ю. И. Афанасьев; Н. А. Юрина; Я. А. Винников; А. И. Радостина; Ю. С. Ченцов' М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014.' http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970429525.html
- 3. Клиническая лабораторная диагностика [Электронный ресурс] / Кишкун А.А. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970415504.html

#### 7.3. Интернет-ресурсы:

Leica Microsystems - http://www.leica-microsystems.com
Nikon instruments - http://www.nikon-instruments.com
Olympus - https://www.olympus.com.ru/
Компания Zeiss в России - http://www.zeiss.ru
Лазерная сканирующая микроскопия https://www.youtube.com/playlist?list=PL5Kb07s5bm0HrRWdjcYTsb6FnKziYtrxB

#### 8. Материально-техническое обеспечение дисциплины(модуля)

Освоение дисциплины "Методы современной микроскопии" предполагает использование следующего материально-технического обеспечения:

Мультимедийная аудитория, вместимостью более 60 человек. Мультимедийная аудитория состоит из интегрированных инженерных систем с единой системой управления, оснащенная современными средствами воспроизведения и визуализации любой видео и аудио информации, получения и передачи электронных документов. Типовая комплектация мультимедийной аудитории состоит из: мультимедийного проектора, автоматизированного проекционного экрана, акустической системы, а также интерактивной трибуны преподавателя, включающей тач-скрин монитор с диагональю не менее 22 дюймов, персональный компьютер (с техническими характеристиками не ниже Intel Core i3-2100, DDR3 4096Mb, 500Gb), конференц-микрофон, беспроводной микрофон, блок управления оборудованием, интерфейсы подключения: USB.audio, HDMI. Интерактивная трибуна преподавателя является ключевым элементом управления, объединяющим все устройства в единую систему, и служит полноценным рабочим местом преподавателя. Преподаватель имеет возможность легко управлять всей системой, не отходя от трибуны, что позволяет проводить лекции, практические занятия, презентации, вебинары, конференции и другие виды аудиторной нагрузки обучающихся в удобной и доступной для них форме с применением современных интерактивных средств обучения, в том числе с использованием в процессе обучения всех корпоративных ресурсов. Мультимедийная аудитория также оснащена широкополосным доступом в сеть интернет. Компьютерное оборудованием имеет соответствующее лицензионное программное обеспечение.



Компьютерный класс, представляющий собой рабочее место преподавателя и не менее 15 рабочих мест студентов, включающих компьютерный стол, стул, персональный компьютер, лицензионное программное обеспечение. Каждый компьютер имеет широкополосный доступ в сеть Интернет. Все компьютеры подключены к корпоративной компьютерной сети КФУ и находятся в едином домене.

Учебно-методическая литература для данной дисциплины имеется в наличии в электронно-библиотечной системе "Консультант студента", доступ к которой предоставлен студентам. Электронная библиотечная система "Консультант студента" предоставляет полнотекстовый доступ к современной учебной литературе по основным дисциплинам, изучаемым в медицинских вузах (представлены издания как чисто медицинского профиля, так и по естественным, точным и общественным наукам). ЭБС предоставляет вузу наиболее полные комплекты необходимой литературы в соответствии с требованиями государственных образовательных стандартов с соблюдением авторских и смежных прав.

Освоение дисциплины "Методы современной микроскопии" предполагает использование следующего материально-технического обеспечения:

Мультимедийная аудитория, вместимостью более 60 человек. Мультимедийная аудитория состоит из интегрированных инженерных систем с единой системой управления, оснащенная современными средствами воспроизведения и визуализации любой видео и аудио информации, получения и передачи электронных документов. Типовая комплектация мультимедийной аудитории состоит из: мультимедийного проектора, автоматизированного проекционного экрана, акустической системы, а также интерактивной трибуны преподавателя, включающей тач-скрин монитор с диагональю не менее 22 дюймов, персональный компьютер (с техническими характеристиками не ниже Intel Cre i3-2100, DDR3 4096Mb, 500Gb), конференц-микрофон, беспроводной микрофон, блок управления оборудованием, интерфейсы подключения: USB, audi, HDMI. Интерактивная трибуна преподавателя является ключевым элементом управления, объединяющим все устройства в единую систему, и служит полноценным рабочим местом преподавателя. Преподаватель имеет возможность легко управлять всей системой, не отходя от трибуны, что позволяет проводить лекции, практические занятия, презентации, вебинары, конференции и другие виды аудиторной нагрузки обучающихся в удобной и доступной для них форме с применением современных интерактивных средств обучения, в том числе с использованием в процессе обучения всех корпоративных ресурсов. Мультимедийная аудитория также оснащена широкополосным доступом в сеть интернет. Компьютерное оборудованием имеет соответствующее лицензионное программное обеспечение.

Компьютерный класс, представляющий собой рабочее место преподавателя и не менее 15 рабочих мест обучающихся, включающих компьютерный стол, стул, персональный компьютер, лицензионное программное обеспечение. Каждый компьютер имеет широкополосный доступ в сеть Интернет. Все компьютеры подключены к корпоративной компьютерной сети КФУ и находятся в едином домене.

Учебно-методическая литература для данной дисциплины имеется в наличии в электронно-библиотечной системе "Консультант студента", доступ к которой предоставлен обучающимся. Электронная библиотечная система "Консультант студента" предоставляет полнотекстовый доступ к современной учебной литературе по основным дисциплинам, изучаемым в медицинских вузах (представлены издания как чисто медицинского профиля, так и по естественным, точным и общественным наукам). ЭБС предоставляет вузу наиболее полные комплекты необходимой литературы в соответствии с требованиями государственных образовательных стандартов с соблюдением авторских и смежных прав.

Специализированная лаборатория оснащена оборудованием, необходимым для проведения лабораторных работ, практических занятий и самостоятельной работы по отдельным дисциплинам, а также практик и научно-исследовательской работы обучающихся. Лаборатория рассчитана на одновременную работу обучающихся академической группы либо подгруппы. Занятия проводятся под руководством сотрудника университета, контролирующего выполнение видов учебной работы и соблюдение правил техники безопасности. Качественный и количественный состав оборудования и расходных материалов определяется спецификой образовательных программ.



Программа составлена в соответствии с требованиями ФГОС ВПО и учебным планом по специальности: 31.05.03 "Стоматология" и специализации не предусмотрено .

Автор(ы): Певнев Г.О.	
"	_ 201 г.
Рецензент(ы): Киясов А.П.	
"	_201 г.