

**Министерство образования и науки Российской Федерации  
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»**

Институт фундаментальной медицины и биологии

Специальность «Стоматология»

Кафедра морфологии и общей патологии

Дисциплина: **Методы исследования в биологии и медицине**

**ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН**

2018-2019 учебный год

<b>N</b>	<b>Раздел Дисциплины</b>	<b>семестр</b>	<b>Виды уч. работы и трудоемкость (в часах)</b>	<b>Форма промежуточной аттестации (по семестрам)</b>
1.	Методы исследования в гистологии	5	лекция (3) лабораторное занятие (5)	устный опрос (темы 1-5, 7) письменная работа (тема 9) реферат (тема 6)
2.	Методы исследования в генетике	5	лекция (2) лабораторное занятие (2)	устный опрос (темы 11-14)
3.	Методы исследования в микробиологии	5	лекция (2) лабораторное занятие (2)	устный опрос (темы 15, 18, 22, 23)
4.	Методы исследования в биохимии	5	лекция (2) лабораторное занятие (1)	устный опрос (темы 8, 10, 21)
	Методы исследования в физиологии	5	лекция (2) лабораторное занятие (2)	устный опрос (темы 16, 17, 19, 20)
	<b>ЗАЧЕТ</b>			

**Тема 1. Общие представления о методах научного исследования. Использование лабораторных животных в экспериментальном исследовании.**

**Лабораторное занятие (4 часа)**

Методы научного исследования. Моделирование. Эксперимент. Специфика эксперимента как научного метода. Экспериментальные группы. Виды животных, используемые в экспериментальных исследованиях. Особенности беспозвоночных и позвоночных (на примере грызунов) как объектов экспериментального исследования. Виды линий грызунов: инбредные, F1-гибриды, сегрегированные линии, коизогенные линии, трансгенные линии, рекомбинантные линии, неинбредные, случайно-инбредные, аутбредные линии. Номенклатура инбредных и специальных генетических линий. Основные чистые линии грызунов. Категории лабораторных животных согласно требуемым условиям содержания и целям использования в биомедицинских исследованиях. Этические аспекты использования лабораторных животных в качестве объектов в биомедицинских исследованиях. Зарубежное и отечественное законодательство, регламентирующее использование лабораторных животных в биомедицинских исследованиях. Правила содержания, питания, ухода за лабораторными животными (на примере грызунов). Основы хирургических вмешательств на лабораторных животных. Анестезия, анальгезия, асептика, антисептика, стерилизация, дезинфекция. Наркоз, стадии. Способы и препараты для введения в наркоз лабораторных животных. Признаки глубокого наркоза. Вывод из наркоза. Точки окончания эксперимента с использованием лабораторных животных. Способы забора крови у грызунов (из ушной, хвостовой вен, ампутацией кончика хвоста, из венозного синуса глаза). Способы введения веществ (перорально, ректально, с помощью зонда, внутримышечно, внутривенно, подкожно, внутривожно, интраперитонеально, ретробульбарно).

**Тема 2. Морфологические исследования для клинической диагностики. Аутопсия.**

**Лекция (2 часа)**

**Министерство образования и науки Российской Федерации  
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»**

Институт фундаментальной медицины и биологии

**Специальность «Стоматология»**

Кафедра морфологии и общей патологии

Дисциплина: **Методы исследования в биологии и медицине**

**ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН**

2018-2019 учебный год

Общее понятие о патологоанатомической службе. Предмет и задачи патологической анатомии. Методы патоморфологического исследования. Материал для патоморфологического исследования. Аутопсия, цель проведения, порядок и правила проведения. Технические варианты вскрытия. Перечень рекомендуемого объема гистологического исследования секционного материала. Вскрытие по методу Г.В. Шора.

**Тема 3. Подготовка материала для морфологического исследования: фиксация, процессинг и заливка в парафин, декальцинация**

**Лабораторное занятие (4 часа)**

Выведение лабораторных животных из эксперимента: причины, принципы, способы. Выведение из эксперимента путем декапитации, передозировки наркотом. Кардиальная перфузия: порядок проведения. Вырезка материала для гистологического исследования в экспериментальном исследовании. Фиксация: цели, виды (термическая, химическая). Выбор метода фиксации. Общие правила фиксации материала. Основные фиксирующие жидкости. Фиксация в формалине: механизмы, достоинства и недостатки. Экстренная фиксация. Проводка материала для заливки в парафин: обезвоживание, просветление, уплотнение. Заливка в парафин. Наиболее распространенные ошибки при фиксации в формалине, проводке, заливке в парафин. Декальцинация: кислотная и бескислотная. Пробоподготовка материала для электронной микроскопии. Критерии качественного проведения декальцинации.

**Тема 4. Молекулярно-генетические методы в клинической практике.**

**Лекция (2 часа)**

Основная концепция молекулярной биологии. Место молекулярно-генетической диагностики в современной клинической практике. Кариотипирование: определение, цели, порядок процедуры, виды окрашивания хромосом. In situ гибридизация: определение, цели, порядок процедуры, применение. Флуоресцентная и хромогенная in situ гибридизация. Полимеразная цепная реакция: определение, принцип метода, модификации ПЦР-анализа и их применение в клинической практике. Секвенирование: принцип метода, применение в клинической практике. Секвенирование нового поколения, секвенирование по Сенгеру. Микрочипирование, принцип метода, применение в клинической практике, классификация разновидностей метода.

**Тема 5. Приготовление гистологических срезов**

**Лабораторное занятие (4 часа)**

Основные типы (саннный, ротационный) и устройство современных микротомов. Устройство криотома. Типы микротомных лезвий. Последовательность операций микротомии. Артефакты и основные ошибки при микротомии и способы их устранения. Преимущества и недостатки использования криосрезов и срезов с парафиновых блоков.

**Тема 6. Правила работы с биопсийным материалом. Правила надлежащей клинической практики.**

**Лекция (2 часа)**

Биопсия: определение. Виды биопсий. Правила вырезки материала для гистологического исследования в клинической практике. Правила маркировки биопсийного материала в клинике. Срочные биопсии. Стандарт Належащей клинической практики (GCP). Фазы и задачи клинического исследования. Человек как объект клинического исследования. Принципы Хельсинской декларации (1984).

**Тема 7. Гистологические и гистохимические окрашивания**

**Лабораторное занятие (4 часа)**

Депарафинизация, регидратация парафиновых срезов: порядок и характерные ошибки. Теоретические основы гистологического окрашивания. Классификация гистологических красителей. Принципы строения гистологических красителей. Классификация способов окрашивания. Окрашивание гематоксилином и эозином: порядок, ожидаемый результат, характерные ошибки. Трихромные окраски: окрашивание по Ван-Гизону, по Массону, по Маллори. Гистохимия: принцип, основные условия, особенности пробоподготовки. Структуры, выявляемые при помощи гистохимического окрашивания. Основные гистохимические реакции, используемые в клинической и лабораторной практике (окрашивание суданом IV, реакция Фельгена, ШИК-реакция). Ферментная гистохимия: принцип, примеры. Заключение под покровное стекло, порядок и характерные ошибки. Монтирующие среды, виды и их характеристики.

**Тема 8. Методы исследования в биохимии. ИФА. Иммуноблоттинг.**

**Лекция (2 часа)**

Имуноферментный анализ. Иммуноблоттинг (western blot). Хроматография. Виды хроматографии. Спектроскопия и спектрометрия. Масс-спектрометрия. Применение в биологии и медицине. Виды

**Министерство образования и науки Российской Федерации  
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»**

Институт фундаментальной медицины и биологии

**Специальность «Стоматология»**

Кафедра морфологии и общей патологии

Дисциплина: **Методы исследования в биологии и медицине**

**ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН**

2018-2019 учебный год

микроскопии: оптическая, флуоресцентная, рентгеновская, электронная, сканирующая зондовая.

**Тема 9. Основы проведения иммуногистохимических и иммунофлуоресцентных реакций и способы детекции их продуктов**

**Лабораторное занятие (4 часа)**

Иммуногистологические реакции: определение, принципы. Антиген, разновидности с антигенов с точки зрения проведения иммуногистологического исследования. Антитела: определение, разновидности антител и их структура. Классификация антител, используемых в гистологической практике: по источнику получения, по клональности. Способы получения антител для проведения иммуногистологических реакций. Преимущества и недостатки использования моноклональных и поликлональных антител для проведения иммуногистологических реакций. Способы мечения антител. Детекция иммунных комплексов, прямой и непрямые методы детекции. Современные коммерческие системы детекции. Вспомогательные реагенты для проведения иммуногистологических реакций. Блокировка неспецифического связывания антител и эндогенной активности ферментов. Демаскировка антигена: цель, основные способы (тепловая, протеолитическая). Двойное иммуногистохимическое/иммунофлуоресцентное окрашивание. Положительные и отрицательные контроли иммуногистологических реакций. Особенности пробоподготовки при проведении иммуногистологических реакций.

**Тема 10. Методы исследования в биохимии. Понятие о стволовых клетках.**

**Лекция (2 часа)**

Медико-генетическое консультирование. Стволовые клетки: эмбриональные и соматические. Применение стволовых клеток. Методы дифференциального и рутинного окрашивания хромосом. Современные возможности вспомогательных репродуктивных технологий.

**Тема 11. Методы выделения и очистки ДНК из клеток и тканей.**

**Лекция (2 часа)**

Методы разрушения клеток и тканей, получение клеточных лизатов. Механические, физические и химические способы разрушения клеток и тканей. Разделение жидкой фазы разрушенных клеток от твердой. Очистка ДНК методом осаждения из жидкой фазы. Осаждение с помощью ТСА. Осаждение ДНК спиртами. Осаждение с помощью PEG. Методы диализа и лиофилизации.

**Тема 12. Выделение и очистка ДНК из прокариотических и эукариотических клеток.**

**Лабораторное занятие (4 часа)**

Выделение и очистка геномной ДНК из клеток бактерий. Выделение и очистка плазмидной ДНК из бактериальных клеток. Выделение и очистка ДНК из лейкоцитов крови.

**Тема 13. Качественные и количественные методы определения параметров выделенной ДНК**

**Лекция (2 часа)**

Чистота полученного препарата ДНК. Концентрация ДНК. Размер ДНК. Электрофорез в агарозном и полиакриламидном геле. Гидролиз ДНК с помощью сайт-специфичных рестриктаз. Электрофорез фрагментов ДНК. Спектрофотометрический метод для определения количества и чистоты ДНК.

**Тема 14. Определение параметров ДНК методами электрофореза и спектрофотометрии.**

**Лабораторное занятие (4 часа)**

УФ спектрофотометрия. УФ спектр ДНК. Определение концентрации ДНК с помощью спектрофотометра. Электрофоретический анализ ДНК. Рестрикция ДНК. Определение размера ДНК методом электрофореза.

**Тема 15. Атомно-силовая микроскопия в биомедицинских исследованиях**

**Лекция (2 часа)**

Основные принципы атомно-силовой микроскопии.

Исторический обзор развития атомно-силовой микроскопии. Введение в основы работы на атомно-силовом микроскопе. Знакомство с устройством атомно-силового микроскопа. Пояснение работы АСМ на примере сил Ван-дер-Ваальса. Принцип работы зондового микроскопа. Методики атомно-силовой микроскопии: контактная, бесконтактная и полуконтактная. Применение графических редакторов для анализа изображений, полученных с помощью АСМ.

Особенности применения атомно-силовой микроскопии для анализа биологических образцов. Основные этапы пробоподготовки перед анализом на атомно-силовом микроскопе. Принцип выбора подложки, покрытия кантилевера. Исследование адгезии и шероховатости с помощью АСМ.

**Министерство образования и науки Российской Федерации  
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»**

Институт фундаментальной медицины и биологии

**Специальность «Стоматология»**

Кафедра морфологии и общей патологии

Дисциплина: **Методы исследования в биологии и медицине**

**ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН**

2018-2019 учебный год

**Тема 16. Становление и развитие методов физиологических исследований. Исследование биоэлектрических явлений в организме.**

**Лекция (2 часа)**

Наблюдение как метод физиологического эксперимента. Понятие ?эксперимент?, виды эксперимента. Вивисекция (Мажанди, Л. Лючиани). Методы изучения нервной системы: экстирпация и перерезка мозга. Изучение локализации функций в коре больших полушарий: от френологии Ф. Галля до цитоархитектонических карт К. Бродмана. Стереотаксическая техника.

Исследование биоэлектрических явлений. Электрокардиография. История развития метода и вклад ученых в его формирование: О.Уоллер, В.Эйтховен (струнный гальванометр), А. Самойлов.

Электроэнцефалография. Основоположники: В.Я. Данилевский, В.В. Правдич-Неминский, Р. Катон, Г. Бергер. Стандартная система расположения электродов. Фоновая ЭЭГ. Основные виды электрической активности мозга в состоянии покоя и её происхождение.

Электромиография. Суммарная электрическая активность мышц и отдельные разряды двигательных единиц при мышечном напряжении. Определение динамики утомления по ЭМГ. Диагностика нарушений движений с помощью ЭМГ. Управление техническими устройствами с помощью ЭМГ.

**Тема 17. Методы исследований функционального состояния нервной системы. Оценка психофизиологического состояния нервной системы**

**Лекция (2 часа)**

Психофизиологические функциональные состояния (ПФС).

Уровни регуляции функциональных состояний. Методы и критерии диагностики различных типов ПФС. Типичные для профессиональной деятельности состояния: монотония, утомление, напряженность и стресс. Соотношение ПФС с мотивами и целями деятельности. Саморегуляция ПФС и механизмы ее. Психофизиологические компоненты работоспособности и её стадии. Виды функциональных состояний. Методы диагностики функциональных состояний.

Психофизиология свойств нервной системы. Нейрофизиологические основы психики человека. Принципы и законы высшей нервной деятельности. Типологические особенности высшей нервной деятельности. Ощущение и восприятие: понятие, нейрофизиологические основы, закономерности. Нейрофизиологические основы памяти. Классификация явлений памяти: формы, процессы, виды и системы памяти. Характеристики внимания. Эмоции и чувства: понятие, физиологические основы, свойства, виды. Конфликтные эмоциональные состояния. Стресс.

Экспертиза как социальное явление. Человек как объект экспертного исследования. История становления и развития метода психофизиологической ?детекции лжи?. Зарождение и развитие метода как новой области профессиональной деятельности психолога. Направления полиграфных проверок. Факторы, детерминирующие интенсивность развития метода психофизиологической ?детекции лжи? в современных условиях. Экспертная оценка полиграммы: достоверность результатов опроса с использованием полиграфа. Специфика формулирования выводов по результатам исследования.

**Тема 18. Сканирующая лазерная конфокальная микроскопия в биомедицинских исследованиях**

**Лекция (2 часа)**

История становления лазерной конфокальной микроскопии. Принципы конфокальной микроскопии. Оптический срез. Применение конфокальной микроскопии в биологии. Устройство конфокального микроскопа. Режимы работы конфокального микроскопа. Флуоресцентная корреляционная спектроскопия.

**Тема 19. Техника регистрации ЭЭГ. Спектральный анализ**

**Лабораторное занятие (4 часа)**

Техника регистрации ЭЭГ. Международная система наложения электродов по Джасперу, 10:20. Подготовка электродов, правила наложение электродов, подключение к компьютерному энцефалографу. Понятие функциональные пробы: закрытые и открытые глаза. Артефакты при регистрации ЭЭГ. Основные ритмы ЭЭГ. Реакция десинхронизации при открывании глаз. Первичная обработка эпох ЭЭГ: спектральный анализ ритмов ЭЭГ. Заключение обследования.

Регистрация кожно-гальванической реакции. Первичная обработка результатов

**Тема 20. Методы изучения вегетативных функций: регистрация ЭКГ**

**Лабораторное занятие (4 часа)**

Техника регистрации ЭКГ: наложение электродов, 12 отведений. Генез зубцов и интервалов ЭКГ, их

**Министерство образования и науки Российской Федерации  
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»**

Институт фундаментальной медицины и биологии

**Специальность «Стоматология»**

Кафедра морфологии и общей патологии

Дисциплина: **Методы исследования в биологии и медицине**

**ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН**

2018-2019 учебный год

характеристика. Отведения ЭКГ. Некоторые показатели ЭКГ. План расшифровки ЭКГ. Самостоятельная расшифровка ЭКГ.

Обработка и анализ ЭКГ в норме. Написание заключения.

**Тема 21. Спектрофотометрический анализ биомолекул**

**Лабораторное занятие (4 часа)**

Методы оптического анализа растворов биомолекул. Принципы спектрофотометрии. Качественный и количественный анализ биомолекул. Концентрации веществ. Закон Бугера ? Ламберта ? Бера. Коэффициент экстинкции. Построение калибровочной кривой. Гипохромный и гиперхромный эффект макромолекул.

**Тема 22. Методы исследования микроорганизмов**

**Лабораторное занятие (4 часа)**

Техника безопасности по работе в лаборатории с микроорганизмами, лабораторными приборами, химическими веществами.

Посещение МЦКП КФУ. Введение в методы идентификации микроорганизмов: идентификация микроорганизмов по масс-спектрам белков и пептидов. Введение в методы исследования белков микроорганизмов: одномерный и двумерный электрофорез, красители для идентификации белков (окраска методом Кумасси, окраска цианиновыми красителями). Метод матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (МАЛДИ) для анализа пептидов и белков микроорганизмов. Квадруполь-времяпролётный масс-спектрометр сверхвысокого разрешения с ионизацией электроспреем (Maxis Impact) для идентификации пептидов в растворе. Количественный протеомный анализ: гибридная система ВЭЖХ и тройной квадруполь-времяпролётный масс-спектрометр сверхвысокого разрешения с ионизацией электроспреем. Введение в исследование вторичных метаболитов микроорганизмов: Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

**Тема 23. Секвенирование. Атомно-силовая микроскопия**

**Лабораторное занятие (4 часа)**

Посещение МЦКП КФУ. Идентификация микроорганизмов методом 16S рРНК секвенирования. Полногеномное секвенирование микроорганизмов. Метагеномный анализ микробного сообщества (Секвенатор ABI 3730 DNA Analyzer, Секвенатор GS Junior, Секвенатор Ion Torrent PGM, Секвенатор Ion Proton, Секвенатор SOLiD xl 5500 Wildfire, Секвенатор Illumina NextSeq 500).

Посещение Междисциплинарного центра "Аналитическая микроскопия". Введение в пробоподготовку образцов микроорганизмов для исследования методами микроскопии. Сканирующая автоэмиссионная электронная микроскопии, просвечивающая электронная микроскопия атомарного разрешения для исследования нано объектов, Корреляционная микроскопия, Конфокальная микроскопия для лабораторных исследований.

Зав. кафедрой  
морфологии и общей патологии ИФМиБ КФУ,  
профессор

А.П. Киясов