

Федеральное государственное бюджетное  
учреждение науки  
Институт биологии развития  
им. Н.К. Кольцова РАН

УТВЕРЖДАЮ:

Директор ИБР РАН  
доктор биологических наук,  
член-корреспондент РАН



А.В. Васильев

«27» июня 2018 г.

Рабочая программа дополнительной (вариативной) дисциплины  
**«Современные оптические методы исследования клеток на  
субклеточном уровне с использованием лазерной конфокальной  
микроскопии»**

подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению  
подготовки 06.06.01 Биологические науки  
профиль подготовки: **03.03.01 Физиология; 03.03.04 Клеточная  
биология, цитология, гистология; 03.03.05 Биология развития,  
эмбриология.**

Москва  
2018 год

## **1. Цели и задачи освоения дисциплины, ее место в системе подготовки аспиранта, требования к уровню освоения содержания дисциплины.**

Дисциплина «Современные оптические методы исследования клеток на субклеточном уровне с использованием лазерной конфокальной микроскопии» ставит своей **целью**: приобретение теоретических знаний и освоение практической базы визуализации и анализа трехмерных изображений на разных уровнях организации – от субклеточного до организменного – на основе интеграции методов лазерной конфокальной микроскопии и иммуноцитохимического окрашивания препаратов. Образовательное содержание дисциплины необходимо для квалифицированного выполнения экспериментальных исследований, формирования умения использовать разнообразные формы анализа полученного микроизображения, что соответствует современному уровню требований к репрезентативному представлению полученных результатов в состоятельной научной публикации по изучаемой проблеме.

Достижение названной цели предполагает решение **следующих учебных задач** дисциплины (модуля):

1) *теоретический компонент*: получить базовые представления об истории, формировании методологии и отработки методик иммуноцитохимического выявления структур для флуоресцентной визуализации в биологических объектах. Получение основных сведений об формах и способах микроскопии и современном месте эпифлуоресцентной, конфокальной и микроскопии сверхвысокого разрешения среди современных методов получения оптического изображения.

2) *практический компонент*: освоение практических навыков работы с тканями в условиях *in vivo* и *in vitro*; отработка методик оптимизации иммуноцитохимического окрашивания для конкретных биологических структур. Освоение работы на световых, эпифлуоресцентных и конфокальных микроскопах. Отработка методов получения трехмерных изображений с использованием современного программного обеспечения их анализа.

3) *самообразовательный компонент*: в освоении данной интегративной дисциплины заложен принцип необходимости самообразования в связи с активным научным развитием методов микроскопии и иммуноцитохимии для поддержания рейтингового уровня квалификации научного исследователя.

## **2. Место дисциплины в структуре основной профессиональной образовательной программы послевузовского профессионального образования (аспирантура).**

Дисциплина «Современные оптические методы исследования клеток на субклеточном уровне с использованием лазерной конфокальной микроскопии» относится к блоку специализированных разделов аспирантской подготовки, поэтому ее освоение запланировано на 3-м году обучения. Являясь интеграционной, данная дисциплина обеспечивает формирование взаимосвязи между теоретической, базовой научно-образовательной подготовкой аспиранта и его практической научно-исследовательской деятельностью.

Структура данной дисциплины представлена теоретическим разделом, дающим фактологический материал о сущности, принципах и систематике методов лазерной конфокальной микроскопии и иммуноцитохимии, но в большей степени в нее заложен практический раздел освоения, экспериментальной оптимизации и прикладного использования изучаемых методов.

Содержание дисциплины ориентировано на современный научно-технический и экспериментальный уровень подготовки аспирантов, обучающихся по специальности 03.03.01 Физиология; 03.03.04 Клеточная биология, цитология, гистология; 03.03.05

Биология развития, эмбриология. Знания и практические аспекты, полученные в ходе ее освоения, являются квалификационной составляющей специалиста-исследователя.

Курс предполагает наличие у аспирантов знаний по двум основным блокам образовательных дисциплин в объеме программы высшего профессионального образования: 1) физике, химии, высшей математике, информатике – аналитическая база; 2) молекулярной биологии, иммунологии, цитологии, гистологии – методологическая база.

### **3. Компетенции обучающегося, формируемые в результате освоения дисциплины.**

В результате освоения программы данной дисциплины формируются следующие компетенции:

#### **универсальные компетенции:**

1) способностью к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях (УК-1);

2) способностью проектировать и осуществлять комплексные исследования, в том числе междисциплинарные, на основе целостного системного научного мировоззрения с использованием знаний в области истории и философии науки (УК-2);

3) готовностью участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач (УК-3);

4) готовностью использовать современные методы и технологии научной коммуникации на государственном и иностранном языках (УК-4);

5) способностью планировать и решать задачи собственного профессионального и личностного развития (УК-5).

#### **общепрофессиональные компетенции:**

1) способностью самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий (ОПК-1);

2) готовностью к преподавательской деятельности по основным образовательным программам высшего образования (ОПК-2).

#### **профессиональные компетенции:**

1) способность интегрировано применить знания из области микроскопии, иммуноцитохимического маркирования биологических объектов, форм анализа микроскопического изображения для объективного представления состояния цитологических, гистологических и органных структур на уровне современных методических достижений для решения комплексных исследовательских задач (ПК-1);

2) способность самостоятельно проводить иммунохимический анализ и формы анализов микроскопических изображений на основе современных компьютерных технологий, ориентируясь на наиболее актуальные методические аспекты, дающие возможность понимания морфофизиологической основы исследуемых микроскопических структур; грамотно планировать эксперимент личный и проводимый в группе, реализовывать его на практике, оптимально используя потенциал НОЦ БИР (ПК-2);

3) способность к комплексному, систематическому и оптимальному анализу полученных результатов в области анализа микроскопических изображений и выявленных иммунохимически морфофункциональных клеточных и гистологических структур для более четкого формирования и развития собственной тематики исследований и представления его в современных рейтинговых формах – публикации, интернет ресурсы, гранты, патенты (ПК3).

В результате изучения дисциплины «Современные оптические методы исследования клеток на субклеточном уровне с использованием лазерной конфокальной микроскопии» аспирант должен достичь следующих результатов обучения:

– **знать:**

– принципы организации и функционирования микроскопической техники, формы получения микроскопических изображений, возможности и методические ограничения данного метода научных исследований;

- методические принципы проведения иммунологического окрашивания различных биологических структур для возможной реализации различных форм иммунохимического анализа (методическая основа разных форм протоколов иммуноцитохимического окрашивания);

- назначение дисциплины для своей будущей научной, практической и педагогической деятельности, ее взаимосвязанность с другими биологическими дисциплинами, в особенности с областями биологии развития клеточных, тканевых и органных структур;

– основные подходы к анализу микроскопического изображения и технологии оптимальной визуализации окрашенных структур;

- основные особенности объектов исследования, принятых в данной области науки; основные методы и средства анализа в современной микроскопии и иммуноцитохимии;

- становление и современное состояние основных концепций ведущих отечественных и зарубежных микроскопистов и научных школ в области микроскопической техники и иммунохимического анализа

– **уметь:**

– эксплуатировать режимы работы и настройки микроскопов, протокола работы с микроскопом и его компьютерно-программным обеспечением;

- оптимизировать настройки, проводить профилактические работы при эксплуатации микроскопа, оптимизировать средства трехмерного анализа изображения относительно конкретного биологического объекта;

- оптимально подбирать флуоресцентные маркеры относительно их эксплуатационных свойств и биологической активности;

- в условиях биологического эксперимента оптимизировать методики иммуноцитохимического окрашивания относительно объекта исследования, проводить двойное и тройное окрашивание препаратов;

- осуществлять иммуноцитохимическое окрашивание биологических структур на основе самостоятельного анализа и оптимальной индивидуальной модификации протокола иммуноцитохимического окрашивания;

- свободно ориентироваться в современных проблемах микроскопической техники и анализе микроскопических ультраструктур;

- работать с современным программным оборудованием по визуализации и анализу микроскопического изображения, которые активно используются в настоящее время в научных лабораториях;

– **владеть:**

– базовыми технологиями проведения иммуноцитохимического окрашивания и получения необходимого уровня микроскопического изображения;

- текстовыми и табличными редакторами, поиском в сети Интернет;

- техникой постановки корректного эксперимента в области клеточной биологии, биологии развития, физиологии;

– навыками анализа методологических проблем в области микроскопической техники и иммуноцитохимического маркирования биологических объектов, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе адекватным выбором объекта исследования, методики окрашивания и анализа микроскопического изображения для возможной передачи своих знаний в педагогической практике;

- навыками критического анализа и оценки собственных результатов и современных научных достижений по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях.

- излагать в устной и письменной форме результаты своего исследования, аргументировать свою точку зрения в дискуссии, наглядно выражать полученные и проанализированные данные;

Практическая направленность изучаемой дисциплины реализуется как в ходе проведения лабораторного практикума, так и в заданиях для самостоятельной работы обучающихся. Так как научно-практическое содержание данной дисциплины постоянно активно расширяется в связи с бурным развитием методов флуоресцентной микроскопии и иммуноцитохимии, в рабочей программе обязательным и динамичным элементом является предоставление обучающимся последних значимых источников информации (интернет ресурсы и литература).

Высокий практический уровень компетенции обучающегося по дисциплине составляется из возможности аспиранта применять методы конфокальной микроскопии и иммуноцитохимии относительно своей научной тематики, а также его способности к самообразованию по данным активно развивающимся разделам экспериментальной биологии.

#### 4. Структура и содержание дисциплины

<b>Вид занятий</b>	<b>Количество часов</b>
Лекции	12
Лабораторно-практические занятия	22
Самостоятельная работа	37
<i>зачет</i>	1
<b>ИТОГО</b>	<b>72</b>

#### 5. Образовательные технологии.

Лекции, семинары, лабораторные и самостоятельные занятия, молодежные конференции, научные школы молодых ученых, участие в написании статей и тезисов научных конференций.

Кроме того, в данной дисциплине с учетом ее специальных задач в послевузовском профессиональном образовании и практического уклона совместно реализуются две образовательные технологии – это рейтинговая система контроля качества знаний и индивидуально-дифференцированный подход. Их взаимодействие позволяет регулировать эффективность освоения дисциплины и стимулировать развитие самообразовательного исследовательского потенциала аспирантов. Поэтому методически занятия практикума и задания самостоятельной работы при их освоении будут оцениваться по двум рейтинговым шкалам – базовый уровень и повышенный уровень компетенции.

#### 6. Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы аспирантов. Оценочные средства для текущего контроля успеваемости.

Библиотечные и Интернет-ресурсы, консультации по методической части работы с ведущими специалистами Института, работа в общеинститутских блоках.

Проверка усвоения материала дисциплины осуществляется в форме собеседований и докладов на семинарах по данной дисциплине.

## 7. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины.

### Основная литература:

1. Данилов Р.К., Боровая Т.Г. Гистология, эмбриология, цитология: учебник для студентов медицинских ВУЗов. - М.: ГЭОТАР-Медиа. 2018. – 520 с.
2. Коржевский Д.Э. Иммуноцитохимия и конфокальная микроскопия. - С.-Пб.: СпецЛит, 2018. – 103 с.
3. Кузнецов С.Л., Мушкамбаров Н.Н. Гистология, цитология и эмбриология: учебник для ВУЗов, - 3-е изд., испр. и доп. - М.: Медицинское информационное агентство, 2016. – 640 с.
4. Атякшин Д.А. Гистохимия ферментов: методическое пособие. - Воронеж : Издательско-полиграфический центр «Научная книга», 2016. - 120 с.

### Дополнительная литература:

#### Книги

1. Оптика биологических тканей. Методы рассеяния света в медицинской диагностике / Перевод с англ под ред. В.В. Тучина. – М.: Физматлит, 2012. – 812 с.
2. Хайдуков С.В. Цитометрический анализ в клинической иммунологии. – Екатеринбург, 2001. – 220 с.
3. Нейродегенеративные заболевания: от генома до целостного организма / под ред. М.В. Угрюмова. / В 2-х томах - М.: Научный мир. 2014. – Т. 2. 847 с.
4. Барсуков Н.П. Цитология, гистология, эмбриология. Лабораторный практикум. - М.: Лань. 2019. - 260 с.
5. Виноградова М.С. Общая и частная гистология: атлас учебных и демонстрационных препаратов. – Новосибирск: Новосиб. Гос. ун-т, 2016. – 166 с.
6. Ноздрин В.И. Гистология в кратком изложении: текст и атлас. - М.: Ретиноиды, 2019. – 376 с.
7. Приоритетные направления развития науки и образования: монография / Под общ. ред. Г.Ю. Гуляева – Пенза: МЦНС «Наука и Просвещение». – 2018. – 192 с. – Шведова Л.А., Татиколов А.С., Пронкин П.Г., Панова И.Г. Анионные мезо-замещенные карбоцианиновые красители в качестве спектрально-флуоресцентных зондов на альбумин in vitro - Гл. 16. - С. 146-153.
8. Bullok G.R., Petrusz P. Technigues in immunocytochemistry. Vol. 1. - Academic Press, New York, 1982. - 306 p.
9. Bullok G.R., Petrusz P. Technigues in immunocytochemistry. Vol. 2. - Academic Press, New York, 1983. - 217 p.

#### Статьи по теме

1. Гуревич И.Б., Журавлев Ю.И., Мягков А.А., Колачева А.А., Трусова Ю.О., Яшина В.В., Пронина Т.С., Угрюмов М.В. Автоматизация анализа изображений в исследованиях мозга: постановка задач, математические основы, информационные технологии. - Т. 2. - С. 570-617. / В кн.: Нейродегенеративные заболевания: от генома до целостного организма / под ред. М.В. Угрюмова. – В 2-х томах - М.: Научный мир. 2014. - Т. 2. – 847 с.
2. Евсеев О.В., Анциперов Е.В., Обухов Ю.В., Колачева А.А., Угрюмов М.В. Реконструкция 3D распределения нейронов. - Т. 2. - С. 618-633. / В кн.: Нейродегенеративные заболевания: от генома до целостного организма / под ред. М.В. Угрюмова. – В 2-х томах - М.: Научный мир. 2014. – Т. 2. - 847 с.

### Электронные книги

(сайт ИБР библиотечный с ограниченным доступом <http://idbras.ru/?show=content43>)

1. Коржевский Д.Э. [Иммуноцитохимия и конфокальная микроскопия](#). - С.-Пб.: СпецЛит, 2018.
2. Дейвис Дж. [Онтогенез. От клетки до человека](#). - С.-Пб.: Издательство "Питер". 2017.
3. Sadava D., Hillis D.M., Heller H.C., Hacker S.D. [Life. The science of biology](#). - Sinauer Associates, 2017.
4. Wall W.J. [The Search for Human Chromosomes. A History of Discovery](#). - Springer. 2016.

### Профильные журналы (открытый доступ к печатным версиям в библиотеке ИБР)

1. Биохимия
2. Биоорганическая химия
3. Генетика
4. Доклады Российской академии наук
5. Журнал общей биологии
6. Известия РАН, серия Биологическая
7. Молекулярная биология
8. Онтогенез
9. Успехи современной биологии
10. Цитология
11. Biochemistry
12. Biological bulletin
13. Biological reviews
14. Cell
15. Cell differentiation
16. Chromosoma
17. Development
18. Developmental biology
19. Development growth and differentiation
20. Differentiation
21. Embo journal
22. Embriologia
23. Genes and development
24. International journal of developmental biology
25. Journal of embryology and experimental morphology
26. Journal of reproduction and fertility
27. Nature
28. Proceedings of the national academy of sciences of the USA
29. Science
30. Wilhelm Roux archiv fur entwicklungs mechanic der organismen

**Следующие электронные информационные ресурсы доступны со всех 218 компьютеров ИБР РАН:**

<https://apps.webofknowledge.com/> - Web of Science – наукометрическая база данных  
<http://elibrary.ru> - eLIBRARY.RU - электронная библиотека научных публикаций.  
<http://www.scopus.com/> - Scopus — наукометрическая база данных.

<https://link.springer.com/> - SpringerLink – книги и журналы издательства SpringerNature.  
<https://www.orbit.com> - Questel-Orbit - патентная база.  
<https://www.cambridge.org> - Cambridge UniversityPress (CUP) научные журналы, монографии, справочники, учебники, изданные Кембриджским университетом.  
<https://www.aaas.org/> - AAAS, The American Association for the Advancement of Science) Science - издатель журнала Science  
<http://www.sciencedirect.com> - Электронные ресурсы издательства Elsevier.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> - PubMed.  
<https://scholar.google.com/> - Google Scholar поисковая система по полным текстам научных публикаций.  
<https://www.researchgate.net/> - ResearchGate.  
<https://www.mendeley.com/> - Mendeley —система управления библиографическими списками.  
<https://www.kopernio.com/?ref=search-alert> - Kopernio бесплатный доступ к полным текстам статей.  
<https://elibrary.ru/titlerefgroup.asp?titlerefgroupid=3> - Архив журналов РАН Издательства "Наука".  
<https://libnauka.ru> - Электронная библиотека Издательства "Наука"  
<http://www.ibr.benran.ru/> - Библиотека Института биологии развития (подразделение БЕН РАН).  
<http://www.benran.ru/> - Библиотека по естественным наукам Российской академии наук (БЕН).  
<http://www.gpntb.ru> - Государственная публичная научно-техническая библиотека (ГПНТБ).  
<http://www.nbmgu.ru> - Научная Библиотека МГУ.  
<http://www.rsl.ru> - Российская государственная библиотека (РГБ)  
<http://idbras.ru/?show=content43> - Библиотека ИБР книг в электронном формате с ограниченным доступом.

## 8. Материально-техническое обеспечение дисциплины.

В профильных лабораториях имеется базовый комплект реактивов и оборудования для проведения иммуноцитохимического окрашивания как тотальных образцов, так и срезов тканей (криостаты, микротомы).

Для проведения микроскопического практикума используются следующие приборы: лазерный микродиссектор Leica, микбинокулярная лампа-микроскоп SteREO Zeiss; просмотровые инвертированные микроскопы Zeiss; микроскоп исследовательский флуоресцентный Axioskop 40 FL; флуориметр Versa Fluor Fluorometer фирмы BIO-RAD с набором фильтров: инвертированный флуоресцентный микроскоп Olympus; флуоресцентная станция KEYENCE BZ 9000; лазерный конфокальный сканирующий микроскоп Leica SP 5; система анализа изображения ImageJ, Leica DMRXA2.

Проведение дисциплины осуществляется на базе Научно-образовательного Центра ИБР РАН и Центра клеточных технологий.

Рабочая программа дополнительной дисциплины «**Современные оптические методы исследования клеток на субклеточном уровне с использованием лазерной конфокальной микроскопии**» утверждена на заседании Ученого совета Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН «26» июня 2018 г., Протокол № 7.