



**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
БОТАНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМ.В.Л.КОМАРОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

УТВЕРЖДЕНО

на заседании Ученого совета БИН РАН
протокол № 8 от «14» апреля 2025

Директор БИН РАН



**РАБОЧАЯ ПРОГРАММА
УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ**

**Пробоподготовка биологического материала для световой и
трансмиссионной электронной микроскопии: фиксация и заливка в смолы**

по направлению
дополнительное профессиональное образование
программы повышения квалификации

Санкт-Петербург
2025

ДИСЦИПЛИНА «Пробоподготовка биологического материала для световой и трансмиссионной электронной микроскопии: фиксация и заливка в смолы»

Направление: 06.06.01 – «Биологические науки»

Цикл дисциплин (по учебному плану):

Курс: повышение квалификации научных сотрудников

Трудоёмкость в ЗЕТ — 1,5

Трудоёмкость в часах — 54

1. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ИЗУЧЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ.

Цели и задачи изучения дисциплины «Пробоподготовка биологического материала для световой и трансмиссионной электронной микроскопии: фиксация и заливка в смолы»:

– Получение знаний о классических и современных методах пробоподготовки для световой и трансмиссионной электронной микроскопии. Приобретение практических навыков приготовления реактивов, отбора проб в зависимости от происхождения материала, проведения фиксации и заключения в смолы.

Курс предназначен для научных сотрудников в рамках повышения квалификации и аспирантов, обучающихся по направлению 06.06.01 Биологические науки.

Требования к подготовленности обучающегося к освоению содержания учебных занятий:

Наличие высшего образования, знание основ общей биологии (без документального подтверждения).

2. ТРЕБОВАНИЯ К РЕЗУЛЬТАТАМ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ

2.1. Универсальные компетенции:

Способность осуществлять поиск и анализ информации, а также осуществлять системный подход для решения поставленных задач.

2.2. Общепрофессиональные компетенции:

Способность самостоятельно осуществлять поиск и оптимизацию методов пробоподготовки в научно-исследовательской деятельности в соответствующей профессиональной области с использованием современных информационно-коммуникационных технологий.

2.3. Профессиональные компетенции:

Способность применять практические навыки по пробоподготовке материала для микроскопии. Способность адаптировать знания о протоколах пробоподготовки и работе на специализированных приборах в узкопрофессиональной и междисциплинарной деятельности, а также готовность к их применению в своей научной деятельности современных методов исследований.

По окончании изучения дисциплины обучающиеся должны

знать:

— основные принципы световой и трансмиссионной электронной микроскопии;

- особенности пробоподготовки разнообразного растительного и животного материала;
- биологические особенности разных тканей растений и животных, влияющие на качество пробоподготовки;
- особенности использования разных протоколов фиксации и заключения в смолы;
- основную приборную базу, используемую при пробоподготовке;
- основные принципы подготовки реактивов и их использования.

уметь:

- работать с оборудованием, используемым при пробоподготовке;
- отбирать биологический материал, проводить пробоподготовку от фиксации до полимеризации смолы.

владеть:

- специфической терминологией;
- навыками взятия проб и подготовки растительного материала;

3. СТРУКТУРА И СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

3.1. Разделы дисциплины и виды занятий

Приводимая ниже таблица показывает распределение бюджета учебного времени, отводимого на освоение основных разделов курса согласно учебному плану

Вид учебной работы	Объем часов / зачетных единиц
Трудоемкость изучения дисциплины	54/ 1,5
Обязательная аудиторная учебная нагрузка (всего)	42
в том числе:	
-лекции	10
-практические занятия	32
Итоговый зачет	2
Самостоятельная работа обучающегося (всего)	10
в том числе:	
-подготовка к практическим занятиям	6
-подготовка реферата	2
-изучение тем, вынесенных на самостоятельную проработку	2
Итого:	54/1,5

Объем дисциплины и виды учебной работы (в часах и зачетных единицах).

№ п/п	Название раздела дисциплины		
		Лекции и практические занятия	Объем часов / зачетных единиц
1	Основные принципы строения клеток и тканей растений и животных.	Лекция	2
		Практические занятия	2
2	Классические методы анатомии растений. Световая и флуоресцентная микроскопия, гистохимия, морфометрия	Лекция	2
		Практические занятия	4
3	Продвинутые методы анатомии растений. Сканирующая и трансмиссионная электронная микроскопия, методы объемной реконструкции (SBEM, SBF SEM, FIB SEM, AT, ET), CLEM и др. Иммуноцитохимия.	Лекция	2
4	Принципы работы трансмиссионного электронного микроскопа. Этапы пробоподготовки растительного материала (фиксация, заливка, изготовление полутонких и ультратонких срезов).	Лекция	2
		Самостоятельная работа	2
5	Протоколы фиксации и заливки образцов. Основы действия химических фиксаторов, обезвоживания материала, заключения в смолы.	Лекция	2
		Самостоятельная работа	2
6	Подготовка реактивов для проведения фиксации и заливки.	Практическое занятие	6
7	Отбор проб, фиксация и постфиксация материала.	Практическое занятие	8
8	Обезвоживание, заливка в смолы	Практическое занятие	12
9	Изучение тем, вынесенных на самостоятельную проработку	Самостоятельная работа	4
10	Подготовка реферата	Самостоятельная работа	2
11	Итоговый зачет в форме опроса, оценка качества полученного образца	итоговая аттестация	2
	Итого:		54/ 1,5

3.2. Перечень активных и интерактивных форм учебных занятий

- Лекции с использованием презентаций Microsoft PowerPoint;
- Демонстрационные сессии с использованием приборов ЦКП БИН РАН;
- Практические занятия проходят в лаборатории анатомии и морфологии БИН РАН с использованием оборудования и реактивов лаборатории.

Раздел 4. Обеспечение учебных занятий

4.1. Методическое обеспечение

4.1.1 Методические указания по освоению дисциплины

- Рабочая программа учебной дисциплины
- Презентации Microsoft PowerPoint
- Учебно-методическая литература
- Научная литература.

4.1.2 Методическое обеспечение самостоятельной работы

- Учебно-методическая литература
- Научная литература

4.1.3 Методика проведения текущего контроля успеваемости и промежуточной аттестации и критерии оценивания

Контроль успеваемости и качества усвоения учебного материала включает проведение итоговой аттестации в форме зачета в виде опроса по рассматриваемой дисциплине по окончании обучения.

4.1.4 Методические материалы для проведения текущего контроля успеваемости и промежуточной аттестации (контрольно-измерительные материалы, оценочные средства)

Методические материалы для итоговой аттестации включают перечень вопросов (тем) для итоговой аттестации.

4.2. Кадровое обеспечение

4.2.1 Образование и (или) квалификация преподавателей и иных лиц, допущенных к проведению учебных занятий

Наличие ученой степени, звания или опыт практической работы по соответствующему направлению/дисциплинам.

4.2.2 Обеспечение учебно-вспомогательным и (или) иным персоналом

Подготовка аудиторий, лабораторных и практических работ, а также анкетирование и раздача учебно-методических материалов осуществляется сотрудниками лаборатории анатомии и морфологии БИН РАН.

4.3. Материально-техническое обеспечение

4.3.1 Характеристики аудиторий (помещений, мест) для проведения занятий

- Для проведения лекций и итогового зачета требуется стандартно оборудованная лекционная аудитория (со стандартным аудиторным оборудованием, неспециализированным компьютерным оборудованием и программным обеспечением общего пользования).
- Для проведения практических занятий требуется лабораторное помещение, оборудованное вытяжным шкафом.

4.3.2 Характеристики аудиторного оборудования, в том числе неспециализированного компьютерного оборудования и программного обеспечения общего пользования

- Стандартное аудиторное оборудование: рабочие места для слушателей
- Неспециализированное компьютерное оборудование: компьютерный блок, монитор, клавиатура, мышь, проектор, экран, пульт управления, камера
- Программное обеспечение общего пользования (в том числе Microsoft Office, Adobe Reader, программы просмотра изображений JPEG, TIFF, др. и программы просмотра видео-файлов)

4.3.3 Характеристики специализированного оборудования

В рамках лабораторных работ будет использоваться следующее оборудование лаборатории анатомии и морфологии БИН РАН:

- Вытяжной шкаф;
- Микроскопы световые прямые, с объективами x10, x40, x100;
- Стереомикроскоп;
- Флуоресцентный прямой микроскоп;
- Нагревательный столик до 90°C;
- Центрифуга низкоскоростная;
- рН-метр;
- термостат;
- магнитная мешалка с нагревом.

4.3.4 Характеристики специализированного программного обеспечения

Не используется

4.3.5 Перечень и объёмы требуемых расходных материалов и реактивов:

В рамках лабораторных работ будут использоваться следующие расходные материалы и реактивы лаборатории анатомии и морфологии БИН РАН:

	Наименование	Кол-во
1	Предметные стекла	50
2	Покровные стекла 18 x 18 мм	50
3	Препаровальные иглы	10
4	Пипетки Пастера	50
5	Пробирки центрифужные 1,0 мл	100
6	Заливочные формы, силикон	2
7	Фальконы 15 мл	10 шт
8	Фальконы 50 мл	10 шт
9	Реактивы: буферные смеси, глутаральдегид, параформальдегид, тетроксид осмия, спирт, ацетон, смесь эпоксидных смол	
10	Прочие расходные материалы: одноразовые лабораторные халаты; бахилы; перчатки; канцелярские расходные материалы для печати программы и тестов итоговой аттестации.	

Формы аттестации

Контроль успеваемости и качества усвоения учебного материала включает проведение итоговой аттестации в форме зачета в виде опроса по рассматриваемой дисциплине по окончании обучения.

Критерии оценки различных форм контроля

Оценка «отлично» выставляется слушателю в случае 90-100% правильных ответов теста.

Оценка «хорошо» выставляется слушателю в случае, 80-89% правильных ответов теста.

Оценка «удовлетворительно» выставляется слушателю в случае 65-79% правильных ответов теста.

Оценочные материалы

Методические материалы для проведения текущего контроля успеваемости и промежуточной аттестации (контрольно-измерительные материалы, оценочные средства).

Вопросы к итоговой аттестации

1. Способы фиксации биологического материала для электронной микроскопии
2. Фиксирующие агенты для химической фиксации
3. Типы заливочных сред, их свойства и применение для различных задач
4. Особенности пробоподготовки для животного, растительного материала и микроорганизмов
5. Особенности пробоподготовки для иммулокализации
6. С какими веществами в клетке связывается глутаровый альдегид?
 - белки
 - липиды
 - углеводы

нуклеиновые кислоты
с какой частью молекул _____

7. С какими веществами в клетке связывается формальдегид?

белки
 липиды
 углеводы
 нуклеиновые кислоты
с какой частью молекул _____

8. С какими веществами в клетке связывается тетраоксид осмия?

белки
 липиды
 углеводы
 нуклеиновые кислоты
с какой частью молекул _____

9. С какими веществами в клетке связывается ацетат уранила?

белки
 липиды
 углеводы
 нуклеиновые кислоты
с какой частью молекул _____

10. Какой химический фиксатор быстрее других проникает в клетку?

Глутаровый альдегид
 Формальдегид
 Тетраоксид осмия
 Ацетат уранила
 Марганцевокислый калий

11. Какие химические фиксаторы являются одновременно контрастёрами?

Глутаровый альдегид
 Формальдегид
 Тетраоксид осмия
 Ацетат уранила
 Марганцевокислый калий

12. Какие дополнительные условия/оборудование применяются для облегчения проникновения фиксатора?

Вакуумная откачка
 Микроволновая печь
 Повышение температуры
 Понижение температуры

13. Выберите правильные комбинации обезвоживающего агента, переходной жидкости и заливочной среды

- этанол / ацетон / эпон
- этанол / ксилол / аралдит
- ацетон / ацетон / Spurr's
- этанол / этанол / Spurr's
- этанол / этанол / ловикрил
- этанол / ксилол / LR White

14. Для каких исследований лучше использовать следующие соотношения фиксаторов (1 - исследование ультраструктуры, 2 – иммунолокализация)

- 1% глутаровый альдегид, 4 % формальдегид
- 2,5% глутаровый альдегид, 2% формальдегид
- 5 % глутаровый альдегид, 8% формальдегид
- 4% глутаровый альдегид, 1 % формальдегид
- 0,1% глутаровый альдегид, 4% формальдегид
- 0,1% глутаровый альдегид, 0,4% формальдегид

15. Для каких исследований лучше использовать следующие буферные смеси (1 - исследование ультраструктуры, 2 – иммунолокализация)

- какодилатный
- фосфатный
- PIPES

16. Какие заливочные среды используются для подготовки материала для иммунолокализации?

- эпон
- аралдит
- Spurr's
- ловикрил
- LR White

17. Найдите пару смола – способ полимеризации, запишите в форме буква-цифра (в4)

- а) LR White
- б) Spurr's
- в) аралдит
- г) ловикрил
- 1) ультрафиолет, +4oC
- 2) +60oC
- 3) комнатная температура
- 4) -20oC - -80oC

Учебно-методическое и информационное обеспечение программы

Рекомендуемые источники

Интернет - источники:

Сайт Научного парка СПбГУ статья «Методы пробоподготовки к электронной микроскопии». URL: <https://researchpark.spbu.ru/methods-biomed-rus/1913-bio-metod-07-rus> (дата обращения: 30.01.2026).

Атлас ультраструктуры растительных клеток. Под ред. Козубова Г.М. и Даниловой М.Ф. Петрозаводск: Карелия, 1972 г., 296 с.

Атлас ультраструктуры растительных клеток. Под ред. Козубова Г.М. и Даниловой М.Ф. Петрозаводск: Карелия, 1980 г., 456 с.

Васильев А.Е. и др. Ботаника: Анатомия и морфология растений. Учеб. пособие. М.: Просвещение, 1988 г., 480 с.

Виноградова Г.Н., Захаров В.В. Основы микроскопии. Санкт-Петербург, 2020. 410 с.

Гайер Г. Электронная гистохимия. М.: Мир, 1974. 488 с.

Мионов А.А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине. СПб.: Наука, 1994. - 400 с.

Руска Э. Развитие электронного микроскопа и электронной микроскопии. Успехи физических наук. – 1988. – Т. 154. – Вып. 2. – С. 243–259.

Сальникова М. М., Малютина Л. В., Саитов В. Р., Голубев А. И. Трансмиссионная электронная микроскопия в биологии и медицине. Казань: Издательство Казанского университета, 2016. 125 с. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49465272>

Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. М.: Мир, 1975. 328 с.

Фурст Г.Г. Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей. М. Наука. 1979. 168 с.

Ellis, E.A. (2014). Staining Sectioned Biological Specimens for Transmission Electron Microscopy: Conventional and En Bloc Stains. In: Kuo, J. (eds) Electron Microscopy. Methods in Molecular Biology, vol 1117. Humana Press, Totowa, NJ. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-776-1_4

Kuo, J. (2014). Processing Plant Tissues for Ultrastructural Study. In: Kuo, J. (eds) Electron Microscopy. Methods in Molecular Biology, vol 1117. Humana Press, Totowa, NJ. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-776-1_3

Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol. 1963. V. 17. P. 208-212.

Sabatini D.D. Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. J Cell Biol. 1963. V. 17. N 1. P. 19-58.

Spurr A.R. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J. Ultrastruct. Res. 1969. V. 26. P. 31–43.

Разработчики программы: Сотрудники лаборатории анатомии и морфологии БИН РАН, к.б.н. Котева Н.К. и Иванова А.Н.