Минобрнауки России

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Оренбургский государственный университет имени В.А. Бондаренко»

Кафедра биохимии и микробиологии

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА

ДИСЦИПЛИНЫ

«Б1.Д.В.Э.7.2 Методы современной микроскопии»

Уровень высшего образования

БАКАЛАВРИАТ

Направление подготовки
06.03.01 Биология
(код и наименование направления подготовки)

Прикладная биология
(наименование направленности (профиля) образовательной программы)

Квалификация
Бакалавр

Форма обучения
Очная

Год набора 2026

Рабочая программа дисциплины «*Б1.Д.В.Э.7.2 Методы современной микроскопии*» рассмотрена и утверждена на заседании кафедры

Кафедра биохимии и микробиологии
наименование кафедры

протокол № 9 от "06" 03 2026 г.

Заведующий кафедрой
Кафедра биохимии и микробиологии — Е.С. Барышева
наименование кафедры *подпись* *расшифровка подписи*

Исполнители:
доцент — Е.С. Алешина
должность *подпись* *расшифровка подписи*

должность *подпись* *расшифровка подписи*

СОГЛАСОВАНО:
Председатель методической комиссии по направлению подготовки
06.03.01 Биология — Л.В. Галактионова
код наименование *личная подпись* *расшифровка подписи*

Заведующий отделом формирования фонда и научной обработки документов
главный библиограф — Т.Г. Часовитина
личная подпись *расшифровка подписи*

Уполномоченный по качеству факультета
А.Н. Сизенцов
личная подпись *расшифровка подписи*

№ регистрации 190885

© Алешина Е.С., 2026
© ОГУ, 2026

1 Цели и задачи освоения дисциплины

Цель (цели) освоения дисциплины:

Целью освоения дисциплины является формирование у обучающихся теоретических знаний и практических навыков работы с современными микроскопическими методами, позволяющими визуализировать, анализировать и документировать структурную организацию биологических объектов на клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях для решения профессиональных задач в области прикладной биологии, биотехнологии и научных исследований.

Задачи:

- изучить физические принципы работы основных типов микроскопов (оптические, электронные, сканирующие зондовые), их разрешающую способность, увеличение, контраст и области применения в биологии,

- сформировать умение анализировать и описывать готовые микрофотографии (светлопольные, фазово-контрастные, флуоресцентные, SEM и TEM изображения) – идентифицировать объекты, выявлять артефакты, различать специфическое и неспецифическое окрашивание.

- овладеть знанием этапов подготовки образцов для TEM (фиксация, обезвоживание, заливка в смолы, ультрамикротомия, окраска тяжёлыми металлами) и SEM (напыление проводящим слоем, криофиксация); объяснять происхождение основных типов артефактов (плавание, трещины, зарядка, хрупкие поверхности).

- научиться обосновывать выбор метода микроскопии для решения конкретной биологической задачи (например, изучение биоплёнок – конфокальная или SEM; отслеживание органелл в живой клетке – флуоресцентная или спиновый диск; исследование мембранных белков – криоэлектронная микроскопия или АСМ).

2 Место дисциплины в структуре образовательной программы

Дисциплина относится к дисциплинам (модулям) по выбору вариативной части блока Д «Дисциплины (модули)»

Пререквизиты дисциплины: *Б1.Д.Б.28 Основы микробиологии, Б1.Д.Б.29 Нанобиотехнологии*

Постреквизиты дисциплины: *Отсутствуют*

3 Требования к результатам обучения по дисциплине

Процесс изучения дисциплины направлен на формирование следующих результатов обучения

Код и наименование формируемых компетенций	Код и наименование индикатора достижения компетенции	Планируемые результаты обучения по дисциплине, характеризующие этапы формирования компетенций
ПК*-3 Готов применять на производстве базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии	ПК*-3-В-2 Способен применять на практике методы оценки экологического состояния территорий и современные методы биоремедиации окружающей среды ПК*-3-В-3 Применяет теоретические основы и методы полевой и лабораторной работы, добычи, культивирования, классификации и исследования различных биообъектов ПК*-3-В-4 Использует современные методы исследования и применяет их для	**Знать:** физические принципы работы оптических, электронных и зондовых микроскопов (разрешение, увеличение, контраст, числовая апертура, длина волны); классификацию методов микроскопии по способу получения изображения (светлопольная,

Код и наименование формируемых компетенций	Код и наименование индикатора достижения компетенции	Планируемые результаты обучения по дисциплине, характеризующие этапы формирования компетенций
	решения как прикладных, так и теоретических задач биологии	темнопольная, фазово-контрастная, поляризационная, дифференциально-интерференционная, флуоресцентная, конфокальная, двухфотонная, сверхразрешения, трансмиссионная и растровая электронная, атомно-силовая). **Уметь:** обоснованно выбирать метод микроскопии для решения конкретной прикладной задачи (выявление патогенов, анализ биоплёнок, оценка цитотоксичности, контроль качества биоматериалов). **Владеть:** навыками устного и письменного описания микроскопической картины биологического образца по готовым изображениям.

4 Структура и содержание дисциплины

4.1 Структура дисциплины

Общая трудоемкость дисциплины составляет 4 зачетные единицы (144 академических часа).

Вид работы	Трудоемкость, академических часов	
	7 семестр	всего
Общая трудоёмкость	**144**	**144**
Контактная работа:	**34,25**	**34,25**
Лекции (Л)	18	18
Практические занятия (ПЗ)	16	16
Промежуточная аттестация (зачет, экзамен)	0,25	0,25
Самостоятельная работа: *Типы работ представлены в блоках А,В,С фондов оценочных средств*	**109,75**	**109,75**
Вид итогового контроля (зачет, экзамен, дифференцированный зачет)	**диф. зач.**	

Разделы дисциплины, изучаемые в 7 семестре

№ раздела	Наименование разделов	Количество часов				
		всего	аудиторная работа			внеауд. работа
			Л	ПЗ	ЛР	
	Физические основы и классификация микроскопических методов		4	2		
	Флуоресцентная и конфокальная микроскопия. Электронная микроскопия. Сканирующая зондовая микроскопия и другие методы.		12	10		
	Практическая работа с изображениями и прикладные аспекты.		2	4		
	Итого:	144	18	16		110
	Всего:	144	18	16		110

4.2 Содержание разделов дисциплины

Раздел № 1. Физические основы и классификация микроскопических методов Краткая история развития микроскопии. Основные понятия: увеличение, разрешение, контраст, глубина резкости. Дифракция и предел разрешения (критерий Рэлея). Числовая апертура, иммерсия. Волновая природа света и формирование изображения. Оптическая схема светового микроскопа: осветитель, конденсор, объектив, окуляр. Классификация микроскопов по типу зондирования (оптический, электронный, зондовый). Светлопольная микроскопия – прямое и косвенное окрашивание. Темнопольная микроскопия (принцип, область применения). Фазово-контрастная микроскопия – преобразование разности фаз в разность амплитуд. Дифференциально-интерференционный контраст (DIC) – псевдорельеф и визуализация прозрачных объектов. Поляризационная микроскопия: двойное лучепреломление, изучение анизотропных структур (микротрубочки, кристаллы).

Раздел № 2. Флуоресцентная и конфокальная микроскопия. Электронная микроскопия. Сканирующая зондовая микроскопия и другие методы Природа флуоресценции: спектры возбуждения и эмиссии, стоксов сдвиг. Основные флуорофоры и флуоресцентные белки: DAPI, Hoechst (ядро), FITC, Alexa Fluor (белки), TRITC, Cy3, Cy5; GFP, mCherry, YFP. Квантовые точки. Принцип работы флуоресцентного микроскопа: ртутная/ксеноновая лампа, светодиоды, лазеры; наборы фильтров (возбуждающий, дихроичное зеркало, эмиссионный). Многоцветная визуализация. Проблема внефокусного свечения в обычной флуоресценции. Устройство конфокального микроскопа: точечный источник света, точечная апертура (пинхол), детектирование только из фокальной плоскости. Послойное сканирование – оптические срезы. 3D-реконструкция и построение Z-стеков. Преимущества и ограничения: фотообесцвечивание (бличнинг), фотоповреждение. Дифракционный предел (200-250 нм). STED (стимулированная эмиссия истощения) – обход предела пространственным модулированием возбуждения. PALM, STORM (стохастическая реконструкция по локализации единичных молекул). Двухфотонная микроскопия – нелинейное возбуждение в ИК-диапазоне, глубокая визуализация живых тканей. FRET (фёрстеровский резонансный перенос энергии) для изучения белок-белковых взаимодействий. FRAP (восстановление флуоресценции после обесцвечивания) для измерения подвижности молекул. Физические основы: корпускулярно-волновой дуализм электрона, длина волны де Бройля. Устройство TEM: электронная пушка, конденсорные линзы, образец, объективная линза, проекционные линзы, экран/детектор. Взаимодействие электронов с веществом: упругое (дифракция) и неупругое рассеяние. Подготовка образцов для TEM: химическая фиксация (глутаровый альдегид, осмий), обезвоживание, заливка в эпоксидные смолы, ультрамикротомия (50–100 нм), контрастирование (уранилацетат, цитрат свинца). Криоэлектронная микроскопия (Cryo-EM) – образец в витрифицированном льду, одночастичная реконструкция. Принцип работы: сканирование поверхности тонким электронным зондом, регистрация вторичных (SE) и обратно рассеянных (BSE) электронов, характеристического рентгеновского излучения (EDS – элементный анализ). Топографический контраст. Подготовка образцов для SEM: фиксация, обезвоживание, критическая точка сушки, напыление проводящим слоем (золото, платина, углерод). Низковакуумные и экологические SEM – визуализация влажных образцов. Артефакты: зарядка

непроводящих участков, краевые эффекты, усадка при сушке. Принцип работы: зонд (кантилевер с остриём) сканирует поверхность, регистрация силы взаимодействия (ван-дер-ваальсова, электростатическая, магнитная). Режимы: контактный, полуконтактный (tapping), неконтактный. Разрешение – до атомного. Применение в биологии: визуализация клеточных мембран, белков, ДНК в физиологических условиях (жидкостная ячейка). Силовая спектроскопия – измерение модуля упругости клеток, адгезии. Другие зондовые методы: сканирующая туннельная микроскопия (только для проводящих образцов), ближнепольная оптическая микроскопия (NSOM).

Раздел № 2. Практическая работа с изображениями и прикладные аспекты Форматы изображений (TIFF, CZI, LSM, HDF5). Шумы: Пуассоновский, гауссовский, солевой и перечный. Базовые операции: коррекция фона, выравнивание гистограммы, фильтрация (медианный, Гаусса). Сегментация: пороговое разделение (глобальный и адаптивный порог), морфологические операции (эрозия, дилатация). Измерения: площадь объекта, периметр, длина, интенсивность, колокализация (коэффициент Пирсона). Прикладные задачи: автоматический подсчёт клеток, оценка жизнеспособности по окраске (трипановый синий), анализ биоплёнок, контроль качества биоматериалов (пористость скаффолдов).

4.3 Практические занятия (семинары)

№ занятия	№ раздела	Тема	Кол-во часов
1	1	Расчёт параметров микроскопической системы и анализ артефактов.	2
2	2	Анализ флуоресцентных изображений: подбор фильтров и распознавание артефактов.	2
3	2	Конфокальная микроскопия – оптические срезы и 3D-реконструкция (на цифровых данных).	2
4	2	Интерпретация TEM-изображений: ультраструктура клетки.	2
5	2	SEM-изображения: топография и элементный анализ.	2
6	2	Работа с данными АСМ: измерение морфологии и механических свойств.	2
7	3	Цифровой морфометрический анализ (с использованием ImageJ/FIJI).	2
8	3	Кейс-стади: выбор метода микроскопии для прикладной задачи и защита протокола.	2
		Итого:	16

5 Учебно-методическое обеспечение дисциплины

5.1 Основная литература

Шестакова, А. П. Оптическая микроскопия : учебно-методическое пособие / А. П. Шестакова. — Москва : РТУ МИРЭА, 2025. — 67 с. — ISBN 978-5-7339-2823-4. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: https://e.lanbook.com/book/516306 (дата обращения: 21.05.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.

Флюоресцентная микроскопия : учебное пособие / Е. В. Загайнова, М. В. Ширманова, В. В. Дуденкова, С. Л. Малиновская. — Нижний Новгород : ПИМУ, 2018. — 64 с. — ISBN 978-5-7032-1292-9. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: https://e.lanbook.com/book/240716 (дата обращения: 21.05.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.

Юрков, А. П. Биология. Электронная микроскопия биологических объектов : учебное пособие / А. П. Юрков, У. М. Маликов. — Санкт-Петербург : СПбГУТ им. М.А. Бонч-Бруевича, 2021. — 55 с. — ISBN 978-5-89160-214-4. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: https://e.lanbook.com/book/180010 (дата обращения: 21.05.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.

5.2 Дополнительная литература

Трансмиссионная электронная микроскопия в биологии и медицине : монография / М. М. Сальникова, Л. В. Малютина, В. Р. Саитов, А. И. Голубев. — Казань : КФУ, 2016. — 125 с. — ISBN 978-5-00019-601-4. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: https://e.lanbook.com/book/77306 (дата обращения: 21.05.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.

Ищенко, А. А. Методы анализа поверхности : учебное пособие / А. А. Ищенко, А. Е. Лукьяно. — Москва : РТУ МИРЭА, 2021 — Часть 1 : Методы локального анализа иэлектронная микроскопия — 2021. — 49 с. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: https://e.lanbook.com/book/218654 (дата обращения: 21.05.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.

5.3 Периодические издания

1. Прикладная биохимия и микробиология: журнал. - Москва: ИКЦ "Академкнига", 2017. - Т. 53, N 1-6, 2018. - Т. 54, N 1-6, 2019. - Т. 55, N 1-6, 2020. - Т. 56, N 1-6.
2. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины: журнал. - Москва: Агентство "Роспечать", 2018. - Т. 165, N 1-6,Т. 166, N 7-12, 2019. - Т. 167, N 1-6, Т. 168, N 7-12, 2020. - Т. 169, N 1-6, Т. 170, N 7-12, 2021. - Т. 171, N 1-12, 2022. - N 1-12, 2023. - N 1-2.
3. Журнал медико-биологических исследований: журнал. - Северный (Арктический) федеральный университет имени М. В. Ломоносова, N 1-4, 2022, N 1-4, 2023. — URL: https://e.lanbook.com/journal/2345?category=7799 (дата обращения: 13.03.2024). — Режим доступа: для авториз. пользователей.

5.4 Интернет-ресурсы

1. Сайт научной электронной библиотеки eLIBRARY.RU – крупнейшей электронной библиотеки научных публикаций, обладающей богатыми возможностями поиска и получения информации. Библиотека интегрирована с Российским индексом научного цитирования (РИНЦ) – бесплатным общедоступным инструментом измерения и анализа публикационной активности ученых и организаций. Режим доступа: http://elibrary.ru
2. http://www.ssmu.ru – Сайт кафедры микробиологии и вирусологии Сибирской государственной медицинской академии.
3. Сайт Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова. – Режим доступа : http://www.msu.ru

5.5 Программное обеспечение, профессиональные базы данных и информационные справочные системы

1. Операционная система РЕД ОС.
2. Пакет офисных приложений «МойОфис Образование»
3. Для работы с ресурсами Интернет - веб-браузер Яндекс https://yandex.ru/..
4. ГАРАНТ Платформа F1 [Электронный ресурс]: справочно-правовая система. / Разработчик ООО НПП «ГАРАНТ-Сервис», 119992, Москва, Воробьевы горы, МГУ, [1990–2026]. – Режим доступа в сети ОГУ http://garant.net.osu.ru
5. Автоматизированная интерактивная система сетевого тестирования - АИССТ (зарегистрирована в РОСПАТЕНТ, Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2011610456, правообладатель – Оренбургский государственный университет), режим доступа - http://aist.osu.ru.

6 Материально-техническое обеспечение дисциплины

Учебные аудитории для проведения занятий лекционного типа, семинарского типа, для проведения групповых и индивидуальных консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации.

Аудитории оснащены комплектами ученической мебели, техническими средствами обучения, служащими для представления учебной информации большой аудитории.

Помещение для самостоятельной работы обучающихся оснащены компьютерной техникой, подключенной к сети "Интернет", и обеспечением доступа в электронную информационно-образовательную среду ОГУ.