

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ (НИ ТГУ)

Институт биологии, экологии, почвоведения, сельского и лесного хозяйства
(БИОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ)

УТВЕРЖДАЮ:
Директор Биологического института
_____ Д.С. Воробьев
« 29 » _____ 20 23 г.

Рабочая программа дисциплины

Гистологическая техника

по направлению подготовки

06.04.01 Биология

Направленность (профиль) подготовки:
«Фундаментальная и прикладная биология»

Форма обучения
Очная

Квалификация
Магистр

Год приема
2023

Код дисциплины в учебном плане: Б1.В.ДВ.03.04

СОГЛАСОВАНО:
Руководитель ОП
_____ Д.С. Воробьев

Председатель УМК
_____ А.Л. Борисенко

Томск – 2023

1. Цель и планируемые результаты освоения дисциплины (модуля)

Целью освоения дисциплины является формирование следующих компетенций:

– ОПК-8 – Способен использовать современную исследовательскую аппаратуру и вычислительную технику для решения инновационных задач в профессиональной деятельности.

– ПК-2 – Способен проводить основные этапы полевых и лабораторных исследований в соответствии с профилем (направленностью) магистерской программы.

Результатами освоения дисциплины являются следующие индикаторы достижения компетенций:

– ИОПК-8.1 – Демонстрирует понимание методических принципов полевых и лабораторных биологических исследований, и типов используемой современной исследовательской аппаратуры.

– ИПК-2.2 – Осуществляет подбор и модификацию методик исследования в соответствии с поставленными задачами и на основе знаний принципов полевых и лабораторных исследований.

– ИПК-2.3 – Получает научно значимые результаты при использовании полевых и лабораторных методов исследования биологических объектов, в том числе применяя современную аппаратуру и оборудование.

2. Задачи освоения дисциплины

– Знать физические и химические основы, методические принципы гистологической техники и световой микроскопии, общие принципы работы гистологического и микроскопического оборудования.

– Уметь работать на современных микротоммах, световых микроскопах с микрофотокамерами, программным обеспечением для анализа микрофотоснимков, описывать микропрепараты.

– Владеть основными методиками гистологической техники.

3. Место дисциплины (модуля) в структуре образовательной программы

Дисциплина относится к части образовательной программы, формируемой участниками образовательных отношений, предлагается обучающимся на выбор.

4. Семестр(ы) освоения и форма(ы) промежуточной аттестации по дисциплине

Семестр 1, экзамен.

5. Входные требования для освоения дисциплины

Для успешного освоения дисциплины требуются компетенции, сформированные в ходе освоения образовательных программ предшествующего уровня образования.

6. Язык реализации

Русский

7. Объем дисциплины (модуля)

Общая трудоемкость дисциплины составляет 3 з.е., 108 часов, из которых:

– лекции: 8 ч.;

– семинарские занятия: 18 ч.

– практические занятия: 0 ч.;

– лабораторные работы: 0 ч.

в том числе практическая подготовка: 0 ч.

Объем самостоятельной работы студента определен учебным планом.

8. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам

Тема 1. Введение в гистологическую технику. Основные этапы приготовления гистологических препаратов

Гистологическая техника и её связь с гистологией, анатомией и эмбриологией. Области применения гистологической техники в зоологических и биомедицинских исследованиях. Виды гистологических препаратов. Обзор основных этапов приготовления гистологических срезов: вырезка и фиксация, подготовка образцов к заливке в парафин (гистологическая проводка), заключение в парафин, изготовление срезов и наклейка их на стекло, подготовка срезов к окрашиванию, окрашивание гистологических препаратов, заключение гистологических препаратов.

Тема 2. История развития гистологической техники в мире и в России

Период макроскопического изучения органов и тканей (Аристотель, Гален, Авиценна, Везалий, Биша). Первые микроскопы (Липперсгей, Янсен). Развитие микроскопической техники в XVII в. (Галилей, Фабер, Гук). А. ван Левенгук и его вклад в развитие микроскопических исследований. Развитие микроскопической техники в XVIII в.: конструкции микроскопов Маршалла, Гертеля, Кёффа. Основные этапы развития микроскопической техники в XIX в. (Аджи, Цейсс, Аббе, Кёлер, Сорби). Появление и развитие техники подготовки микропрепаратов для микроскопии в XIX в.: химическая обработка ткани, фиксация, монтирующие среды, микротомия и окрашивание. Основные этапы развития гистологической техники в XX в., появление цито- и гистохимии, иммуногистохимии, тёмнопольной, фазово-контрастной, электронной микроскопии.

Начало микроскопической техники в России: Пётр I и Левенгук. Открытие Петербургской академии наук и популяризация микроскопических исследований (Корф, Ломоносов). Первые российские микроскопы (Беляев, Калмыков, Кулибин). Эйлер, Фусс и Эпинус: разработка первого ахроматического объектива. Руководства по микроскопической технике и её преподавание (Болотов, Гришов, Шумлянский, Бабухин). Разработка новых микроскопических методик (Ковалевский, Мечников, Лавдовский, Романовский). Вклад профессоров Императорского Томского университета в развитие микроскопической техники (Догель, Кащенко). Основные гистологические школы, сформировавшиеся в XX в., их представители и разработки.

Тема 3. Вырезка биологических образцов и их фиксация

Вырезка образцов для гистологического исследования. Задачи фиксации. Физико-химические эффекты фиксации. Принципы фиксации: химические и физические методы. Химическая фиксация: взаимодействие фиксатора с биополимером на примере реакции формальдегида с аминок группой белка. Классификации фиксаторов: по составу, по эффекту. Примеры фиксаторов и их свойства: формальдегид, этанол, пикриновая и уксусная кислоты, смеси Карнуа, Буэна. Способы фиксации. Размер образца и качество фиксации. Методы физической фиксации.

Тема 4. Гистологическая проводка

Постфиксационная обработка плотных образований. Физико-химические принципы этапов проводки. Основные реагенты для обезвоживания образца. Способы подготовки образца к пропитке.

Тема 5. Заключение образцов в парафин

Парафин и его свойства. Пропитка в парафине. Заливка образцов в парафин.

Тема 6. Изготовление срезов и их наклейка на стекло

Цели и задачи микротомии. Микротомы – принцип работы, виды микротомов, области их применения. Требования к работе на микротоме. Виды гистологических

срезов. Техника изготовления срезов. Проблемы при микротомии и способы их устранения. Стёкла для микроскопии и их подготовка. Адгезивные среды для срезов. Перенос срезов на стекло.

Тема 7. Окрашивание биологических тканей и заключение гистологических препаратов

Подготовка срезов к окрашиванию. Задачи окрашивания в гистологической технике и общая классификация методов окрашивания. Хромофорная теория цветности О. фон Витта. Химическая, физическая и электроколлоидальная теории окрашивания. Классификация красителей: по способу получения, по химической природе, по способности к окрашиванию без других веществ, по способу окрашивания, по химическим свойствам. Гематоксилин, свойства и применение в гистологической технике (получение, химические основы приготовления рабочего раствора: созревание гематоксилина – гематеин, реакция образования лака – гемалюм и железосодержащий координационный комплекс; рабочие растворы гематоксилина Эрлиха, Майера, Карацци, Вейгерта, Грота). Основные свойства и применение красителей: эозина, пикриновой кислоты, фуксина, оранжевого Ж, анлинового синего и метиленового синего. Обзорные методики окрашивания: гематоксилин–эозин, пикрофуксин по Ван Гизону, азановый метод, окрашивание по Романовскому–Гимзе. Гистохимические методики окрашивания и их применение: ШИК-реакция, альциановый синий, бриллиантовый синий Кумасси. Подготовка срезов к заключению в монтирующую среду. Изготовление постоянных препаратов с заключением в канадский бальзам или синтетическую монтирующую среду. Изготовление постоянных препаратов из окрашенных обезвоженных срезов и срезов, богатых водой.

Тема 8. Основы световой микроскопии

Строение глаза человека. Принцип работы лупы. Принципы работы двухлинзового и трёхлинзового микроскопов. Разрешающая способность микроскопа. Числовая апертура объектива. Строение прямого светового микроскопа. Виды микроскопов. Основные характеристики объектива. Основные виды оптических аберраций. Светлопольная микроскопия. Темнопольная микроскопия. Поляризационная микроскопия. Фазово-контрастная микроскопия. Флуоресцентная микроскопия.

Правила работы со световым микроскопом. Описание основных клеточных и межклеточных элементов по их форме, структуре и оптическим свойствам. Базофилия, нейтрофилия и ацидофилия. Метахромазия. Положительная и отрицательная гистохимические реакции. Связь между результатами окрашивания и свойствами тканевых элементов.

Тема 9. Основы микротоосъёмки и микрометрии

Принципы работы с модулем «Микроскоп – Микрофотокамера – Компьютер». Настройка освещения по Кёлеру. Техника изготовления и редактирования снимков. Объект-микрометр, окуляр-микрометр и их использование в микрометрии. Основы цифровой микрометрии: калибровка, шкалы, измерения длин, углов и площадей. Требования к оформлению микроскопического изображения. Принципы микрометрии.

9. Текущий контроль по дисциплине

Текущий контроль по дисциплине проводится путем контроля посещаемости и фиксируется в форме контрольной точки не менее одного раза в семестр.

10. Порядок проведения и критерии оценивания промежуточной аттестации

Экзамен в первом семестре состоит из двух частей.

Первая часть – отчёт по практическим занятиям, который позволяет проверить ИПК-2.2, ИПК-2.3. Он представляет собой аналитический отчёт, который структурно близок к отчёту по научно-исследовательской работе, и обязательно должен включать следующие разделы: Введение, Материалы и методы, Краткий литературный обзор по предложенной теме, Результаты и обсуждение, Выводы, Список использованных источников. Тематически он обобщает исследованный в ходе обучения материал. Примеры тем отчётов: «Особенности микроструктуры кожи земноводных», «Сравнительно-гистологический анализ микроструктуры семенников наземных позвоночных» и т.д.

Источники для составления краткого литературного обзора по определённой теме студенты ищут самостоятельно, используя ресурсы НБ ТГУ, Электронную научную библиотеку, поисковую систему Google «Академия» и другие ресурсы информационно-телекоммуникационной сети Интернет.

Студент сдаёт подготовленный заранее отчёт в печатном и электронном виде с коллекцией гистологических препаратов за день до проведения устного экзамена.

Вторая часть – устный ответ на экзаменационный билет, проверяющий ИОПК-8.1. Экзаменационный билет состоит двух вопросов. Продолжительность экзамена 1,5 часа.

Примерный перечень экзаменационных вопросов:

- Гистологическая техника, её связь с цитологией и гистологией. Области применения гистологической техники в зоологических и биомедицинских исследованиях
- История развития гистологической техники. Краткий обзор основных периодов
- Развитие гистологической техники в XVI–XVIII вв.
- Развитие гистологической техники в XIX–начале XX вв.
- Развитие гистологической техники в XX в.
- Развитие гистологической техники в России
- Строение глаза человека. Принцип работы лупы
- Принципы работы двухлинзового и трёхлинзового микроскопов
- Принцип настройки освещения по Кёлеру
- Разрешающая способность микроскопа. Числовая апертура объектива
- Строение прямого светового микроскопа
- Виды микроскопов
- Основные характеристики объектива
- Основные виды оптических aberrаций
- Светлопольная микроскопия
- Темнопольная микроскопия
- Поляризационная микроскопия
- Фазово-контрастная микроскопия
- Флуоресцентная микроскопия
- Фиксация гистологического материала. Виды фиксаторов. Физико-химические основы процессов фиксации. Требования к проведению фиксации
- Обезвоживание, просветление и пропитка образцов в парафине
- Заливка образцов в парафин. Микротомия. Виды микротомов
- Особенности гистологического исследования костного материала
- Наклейка гистологических срезов на стёкла, подготовка стёкол для окрашивания
- Изготовление постоянных препаратов из окрашенных обезвоженных срезов и срезов, богатых водой
- Методы гистологического окрашивания. Прогрессивное и регрессивное окрашивание
- Рабочая классификация красителей. Ацидофилия, базофилия, нейтрофилия. Метакромазия и ортохромазия

- Гематоксилин, гематеин. Виды красящих растворов на основе гематоксилина. Гематоксилины Эрлиха, Майера, Карацци, Вейгерта
- Обзорное окрашивание гематоксилином и эозином
- Обзорное окрашивание азури–эозином – окрашивание по Романовскому – Гимзе
- Окраска соединительной ткани по Ван-Гизону
- Гистохимическое выявление углеводов и мукополисахаридов: альциановый синий и ШИК-реакция
- Гистохимическое выявление белков: окрашивание синим Кумасси
- Принципы микрометрии.

Результаты экзамена определяются оценками «отлично», «хорошо», «удовлетворительно», «неудовлетворительно». Они выставляются по следующей схеме:

Оценка за отчёт по практическим занятиям	Оценка за ответ на теоретические вопросы билета	Итоговая оценка
Неудовлетворительно	Не допущен	Неудовлетворительно
Удовлетворительно	Удовлетворительно	Удовлетворительно
Удовлетворительно	Хорошо	Удовлетворительно
Удовлетворительно	Отлично	Хорошо
Хорошо	Удовлетворительно	Хорошо
Хорошо	Хорошо	Хорошо
Хорошо	Отлично	Хорошо
Отлично	Удовлетворительно	Хорошо
Отлично	Хорошо	Отлично
Отлично	Отлично	Отлично

Оценка отчёта по практическим занятиям выставляется по следующим критериям.

Критерии оценки отчёта по практике	Оценка
Отсутствует коллекция гистологических препаратов и отчёт.	Неудовлетворительно
Отсутствует коллекция гистологических препаратов и отчёт.	Неудовлетворительно
Коллекция микропрепаратов оформлена должным образом, без ошибочной информации и с наличием подробной описи. Отчёт включает все основные элементы, не содержит структурных и технических ошибок, но имеет некоторые содержательные ошибки, гистологические методики и микропрепараты описаны очень кратко, при ограниченном привлечении рекомендованных и найденных источников.	Удовлетворительно
Коллекция микропрепаратов оформлена должным образом, без ошибочной информации и с наличием подробной описи. Отчёт включает все основные элементы, не содержит структурных и технических ошибок, хорошо структурирован, содержит незначительные содержательные неточности, гистологические методики и микропрепараты описаны полно и подробно.	Хорошо
Коллекция микропрепаратов оформлена должным образом, без ошибочной информации и с наличием подробной описи. Отчёт включает все основные элементы, хорошо структурирован, не содержит структурных, технических и содержательных ошибок, гистологические методики и микропрепараты описаны полно и подробно с привлечением обширной литературы, подобранной и проанализированной студентом самостоятельно.	Отлично

Оценка ответа на билет проводится по следующей схеме.

Критерии оценки ответа на экзаменационный билет	Оценка
Не знает физические, химические и биологические основы, методические принципы и этапы развития гистологической техники и световой микроскопии.	Неудовлетворительно
Имеет отдельные бесструктурные представления о физических, химических и биологических основах и/или методических принципах и/или этапах развития гистологической техники и световой микроскопии.	Неудовлетворительно
В общих чертах может назвать фундаментальные физические, химические, биологические основы, методические принципы гистологической техники, знает основные этапы развития.	Удовлетворительно
Имеет структурированные, но содержащие пробелы по некоторым частным вопросам, представления о фундаментальных физических, химических и биологических основах, методических принципах и этапах развития гистологической техники.	Хорошо
Знает и полно описывает фундаментальные физические, химические, и биологические основы, методические принципы и этапы развития гистологической техники	Отлично

11. Учебно-методическое обеспечение

а) Электронный учебный курс по дисциплине в электронном университете «Moodle» - <https://moodle.tsu.ru/course/view.php?id=18894>

б) Оценочные материалы текущего контроля и промежуточной аттестации по дисциплине.

в) План семинарских / практических занятий по дисциплине, представленный в соответствующем курсе «Moodle».

г) Методические указания по организации самостоятельной работы студентов, представленные в соответствующем курсе «Moodle».

12. Перечень учебной литературы и ресурсов сети Интернет

а) основная литература:

– Основы гистологической техники для зоологов : учебно-методическое пособие для биологических специальностей вузов [для студентов, обучающихся по направлению 06.04.01 Биология / авт.-сост.] В. В. Ярцев ; М-во науки и высш. образования, Нац. исслед. Том. гос. ун-т. - Томск : Издательский Дом Томского государственного университета, 2019. - 84 с.: ил., табл.. URL: <http://vital.lib.tsu.ru/vital/access/manager/Repository/vtls:000660316>

б) дополнительная литература:

– Кацнельсон З. С. Клеточная теория в её историческом развитии / З. С. Кацнельсон. – Л. : Медгиз, 1963. – 344 с

– Коржевский Д. Э. Основы гистологической техники / Д. Э. Коржевский, А. В. Гиляров. - Санкт-Петербург : СпецЛит, 2010. - 1 онлайн-ресурс (95 с.). URL: <http://sun.tsu.ru/limit/2016/000550786/000550786.pdf>

– Кэррил Ф. М. Как работать со световым микроскопом / Ф. М. Кэррил, С. А. Бабушкин ; [пер. с англ. и под ред. И. Я. Барского, М. М. Аптинова]. - Москва : Вест Медика, 2010. - 1 онлайн-ресурс (111 с.): ил., табл., цв. ил.. URL: <http://sun.tsu.ru/limit/2016/000550760/000550760.pdf>

– Микроскопическая техника : руководство для врачей и лаборантов / под ред. Д. С. Саркисова, Ю. Л. Перова ; Рос. акад. мед. наук. - Москва : Медицина, 1996. - 1 онлайн-ресурс (544 с.): ил.. URL: <http://sun.tsu.ru/limit/2016/000550791/000550791.pdf>

– Ромейс Б. Микроскопическая техника / Б. Ромейс ; пер. с нем. В. Я. Александрова, З. И. Крюковой ; под ред. и с предисл. И. И. Соколова. - Москва : Издательство иностранной литературы, 1953. - 1 онлайн-ресурс (718 с.): ил., табл.. URL: <http://sun.tsu.ru/limit/2017/000564030/000564030.djvu>

в) ресурсы сети Интернет:

– Микроскопическая техника [Электронный ресурс]. URL: <http://labx.narod.ru/>
– Атлас по морфологии нервной системы животных [Электронный ресурс]. Лаборатория эволюционной морфологии (Зоологический институт РАН), ИБР РАН, СПбГУ. URL: <https://www.zin.ru/projects/neuromorphology/index.html>

13. Перечень информационных технологий

а) лицензионное и свободно распространяемое программное обеспечение:

– Microsoft Office Standart 2013 Russian: пакет программ. Включает приложения: MS Office Word, MS Office Excel, MS Office PowerPoint, MS Office OneNote, MS Office Publisher, MS Outlook, MS Office Web Apps (Word Excel MS PowerPoint Outlook);
– публично доступные облачные технологии (Google Docs, Яндекс диск и т.п.).

б) информационные справочные системы:

– Электронный каталог Научной библиотеки ТГУ – <http://chamo.lib.tsu.ru/search/query?locale=ru&theme=system>

– Электронная библиотека (репозиторий) ТГУ – <http://vital.lib.tsu.ru/vital/access/manager/Index>

– ЭБС Лань – <http://e.lanbook.com/>

– ЭБС Консультант студента – <http://www.studentlibrary.ru/>

– Образовательная платформа Юрайт – <https://urait.ru/>

– ЭБС ZNANIUM.com – <https://znanium.com/>

– ЭБС IPRbooks – <http://www.iprbookshop.ru/>

14. Материально-техническое обеспечение

Аудитории для проведения занятий лекционного типа.

Семинарские занятия и самостоятельная работа – специализированная учебная лаборатория, оборудованная следующим: дистиллятор настенный, вытяжной шкаф, стерилизатор-шкаф, термостат, микроскопы стереоскопические, микроскопы биологические, модуль из микроскопа с микрофотокамерой и персональным компьютером, микротом ротационный, санный, нагревательный столик, диспенсер для парафина, таймер лабораторный, ареометр спиртовой, посуда, инструменты, реактивы для гистологии. Лаборатория оснащена также компьютерной техникой и доступом к сети Интернет, в электронную информационно-образовательную среду и к информационным справочным системам.

15. Информация о разработчиках

Ярцев Вадим Вадимович, канд. биол. наук, доцент, кафедра зоологии позвоночных и экологии НИ ТГУ, доцент.