

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Оренбургская государственная медицинская академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии

«УТВЕРЖДАЮ»

проректор по научной и клинической работе
профессор _____ Н.П. Сетко
« » _____ 20__ г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА

**дисциплины Методики иммуноцитохимической идентификации про- и
антиапоптотических генов**

основной профессиональной образовательной программы послевузовского
профессионального образования (аспирантура)

**по научной специальности 03.03.04 «Клеточная биология, цитология,
гистология»**

Присуждается ученая степень
кандидат биологических наук
кандидат медицинских наук

Форма обучения
очная

Оренбург, 20__

Содержание

| | |
|---|---|
| 1 | Цели и задачи освоения дисциплины..... |
| 2 | Место дисциплины в структуре ОПП |
| 3 | Требования к результатам освоения содержания дисциплины (разделов) |
| 4 | Объем дисциплины и виды учебной работы..... |
| 5 | Структура и содержание программы..... |
| 6 | Структура и содержание дисциплины..... |
| 7 | Структура и содержание дисциплины (разделов) по видам учебной работы..... |
| 8 | Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины..... |
| 9 | Материально-техническое обеспечение дисциплины (раздела)..... |
| | Лист регистрации внесения изменений..... |

1. Цели и задачи освоения дисциплины:

Цель: формирование у аспирантов профессиональных знаний, умений и навыков, необходимых для проведения иммуноцитохимических исследований в области клеточной биологии, цитологии и гистологии.

задачи: - формирование у аспирантов знаний умений и навыков по приготовлению гистологических препаратов для иммуноцитохимических исследований;

- овладение умениями и навыками окраски гистологических препаратов иммуноцитохимическими методами (выявление про- и антиапоптотических белков);
- формирование знаний, умений и навыков качественного и количественного анализа гистологических препаратов, окрашенных иммуноцитохимическими методиками;
- овладение современными технологиями презентации результатов научных исследований с использованием методов иммуноцитохимии.

2. Место дисциплины в структуре ООП

Дисциплина относится к образовательной составляющей цикла специальных дисциплин отрасли науки и научной специальности.

Изучение данной дисциплины базируется на следующих дисциплинах:

- Гистология
- Цитология
- Эмбриология

Основные положения дисциплины должны быть использованы в дальнейшем при изучении следующих дисциплин:

- Основы экспериментальной гистологии
- Цитологические аспекты эмбриогенезов тканей

3. Требования к результатам освоения программы:

В результате освоения дисциплины аспирант должен

Знать: - основные способы фиксации гистологического материала для иммуноцитохимических исследований;

- основные гистохимические и иммуноцитохимические методики

- выявление про- и антиапоптотических пептидов;

- основы использования компьютерной техники в экспериментальных исследованиях, связанных с иммуноцитохимическими методами;

Уметь: - планировать и проводить экспериментальные исследования, основанные на использовании методов иммуноцитохимии, необходимых для выполнения диссертационной работы;

- изготавливать, окрашивать и анализировать гистологические препараты методами иммуноцитохимии;

- проводить морфометрию микроскопических биологических объектов на срезах, окрашенных иммуноцитохимическими методами с последующей статистической обработкой полученных цифровых данных;

- оценивать эффективность проведённых экспериментальных исследований; на основе результатов исследования готовить публикации для печати в научных изданиях; проводить презентацию результатов исследований на научных конференциях.

4. Объем дисциплины и виды учебной работы

| Вид учебной работы | Трудоемкость, ч |
|----------------------------------|-----------------|
| Общая трудоемкость | 180 |
| Аудиторная работа | 120 |
| <i>Лекции (Л)</i> | 20 |
| <i>Практические занятия (ПЗ)</i> | 100 |
| Самостоятельная работа | 60 |

| | |
|---|---|
| Самоподготовка (самостоятельное изучение разделов, проработка и повторение лекционного материала и материала учебников и учебных пособий, подготовка к практическим занятиям), (СР) | |
| Вид итогового контроля | Экзамен по программе кандидатского минимума |

5. Структура и содержание программы

| № п/п | Модуль дисциплины | Курс | Виды учебной работы, включая самостоятельную работу аспирантов и | | | Рубежные контрольные точки и итоговой контроль (формы контроля) |
|-------|---|------|--|--------------|---------|---|
| | | | Лекции | Прак. занят. | Самост. | |
| 1 | Подготовка гистологического материала для иммуноцитохимических исследований | I | 6 | 40 | 20 | |
| 2 | Основы иммуноцитохимии | I | 8 | 40 | 20 | тестирование, проверка самостоятельной работы, лекций, собеседование по ведению протоколов практических занятий |
| 3 | Основы морфометрии биологических объектов | I | 6 | 20 | 20 | тестирование, аттестация практических навыков работе с микроскопом и по диагностике гистологических препаратов. |

| | | | | | | |
|--|-------|--|----|-----|----|--|
| | Итого | | 20 | 100 | 60 | |
|--|-------|--|----|-----|----|--|

6. Структура и содержание дисциплины

| № п/п | Наименование модуля дисциплины Общая трудоемкость | Содержание модуля (в дидактических единицах) |
|----------|---|--|
| 1. | Подготовка гистологического материала для иммуноцитохимических исследований 66 часов | <p>1. Взятие материала для иммуноцитохимических исследований. Основные фиксаторы.</p> <p>2. Простые фиксаторы (формалин, этиловый спирт, ацетон). Фиксирующие смеси (жидкость Карнуа, жидкость Ценкера). Выбор фиксатора для исследования. Принципы и методы фиксации материала,</p> <p>3. Подготовка материала к заливке в плотные среды (промывка материала, его обезвоживание).</p> <p>4. Заливка материала в плотные среды для иммуноцитохимических исследований. Заливка в парафин и смеси парафина с другими веществами. Заливка в целлоидин.</p> <p>5. Изготовление срезов для иммуноцитохимических исследований. Изготовление срезов на ротационном микротоме. Виды ротационных микротомов. Изготовление срезов на санном микротоме. Виды санных микротомов.</p> <p>6. Изготовление замороженных срезов на замораживающем микротоме..</p> <p>7. Особенности гистологической обработки биопсийного материала.</p> <p>8. Подготовка гистологических срезов для окрашивания. Методики окрашивания гистологических препаратов. Обзорные гистологические методики. Основные методики окрашивания соединительных и мышечных тканей: окрашивание по Ван-Гизону, окрашивание по Маллори, окрашивание пикро-индигокармином.</p> <p>Особенности подготовки к окрашиванию и методики окрашивания костных тканей.</p> <p>Основные методы изучения тканевых элементов</p> |

| | | |
|----|--|--|
| | | <p>нервной системы: метод Ниссля, метод Гольджи.</p> <p>9. Методики окрашивания гистологических препаратов. Гистохимические методики.</p> <p>Особенности подготовки материала для гистохимических исследований.</p> <p>Принципы и методы гистохимического окрашивания.</p> <p>Методы гистохимического выявления белков: окрашивание суммарного белка по методу Даниелли, реакция тетразониевого сочетания по Даниелли, окрашивание суммарного белка по Бонхегу, реакция Миллона в модификации Бейкера.</p> <p>Методы гистохимического выявления углеводных соединений:</p> <p>окрашивание альциановым синим, метакроматическое окрашивание толуидиновым синим, ШИК-реакция, гистохимические реакции на выявление кислых мукополисахаридов.</p> <p>Принципы дифференциальной диагностики углеводных биополимеров.</p> <p>Методы гистохимического выявления липидов: окраска суданом чёрным по Лизону, выявление холестерина методом Шульцта. Методы гистохимического выявления нуклеиновых кислот: выявление ДНК и РНК по методу Браше.</p> <p>10. Цитологические методы исследования. Приготовление мазков крови, лимфы, красного костного мозга). Окраска цитологических препаратов: окраска цитологических препаратов по Гимзе, окраска цитологических препаратов по Романовскому-Гимзе, окраска по Паппенгейму.</p> |
| 2. | <p>Основы иммуноцитохимии 68 часов</p> | <p>1. История разработки методов иммуноцитохимического анализа. Основные принципы иммуноцитохимического анализа.</p> <p>2. Подготовка материала для иммуноцитохимических исследований. Технологические процессы в иммуноцитохимии (вопросы фиксации исследуемых объектов, изготовления гистологических срезов).</p> <p>Приготовление буферных растворов, дозозависимое</p> |

| | |
|--|---|
| | <p>разведение антител, методик окраски.</p> <p>3. Оборудование и реактивы для иммуоцитохимического анализа. Антитела для иммуогистохимии. Общая характеристика антител, используемых для целей иммуогистохимии и их классификация. Современные представления о структуре моно- и поликлональных мышинных и кроличьих антител, меченых (энзимами, флуорофорами, коллоидным золотом) антител как для световой, так и для электронной микроскопии. Диагностическая иммуогисто- и иммуоцитохимия. Прикладные аспекты иммуогистохимии, в частности - лабораторная диагностика опухолевого роста, включая канцерогенез.</p> <p>4. Иммуоцитохимические методы выявления пролиферативной активности клеток: определение в гистологических срезах маркера пролиферации белка Ki-67.</p> <p>5. Иммуоцитохимические методы выявления процессов генетически запрограммированной клеточной гибели с помощью иммуоцитохимических методов: определение в гистологических срезах маркера апоптоза белка P53, определение в гистологических срезах маркера апоптоза белка каспазы-3, определение в гистологических срезах антиапоптотического белка bcl2.</p> <p>6. Иммуоцитохимические методы выявления коллагенов.</p> <p>7. Контроль специфичности иммуомечения.</p> <p>8. Основные трудности, возникающие в процессе проведения иммуоцитохимических методик.</p> <p>9. Новое направление исследований - иммуогистохимия на ультраструктурном уровне. Современные методики по определению антигенов в цитоплазме и ядрах клеток, включая использование специальных маркеров для их идентификации в органеллах. Использования микрофотографирования в иммуогистохимии.</p> <p>10. Анализ результатов иммуоцитохимических методов</p> |
|--|---|

| | | |
|----------|---|--|
| | | исследования. Подготовка результатов иммуноцитохимического анализа для публикации в научных изданиях. |
| 3 | Основы морфометрии биологических объектов 46 часов | <p>1. Основные методы морфометрии биологических объектов на гистологических срезах и мазках.</p> <p>2. Определение линейных размеров биологических объектов на гистологических срезах и мазках.</p> <p>3. Способы измерения площадных характеристик биологических объектов на гистологических срезах.</p> <p>4. Способы определения объёмных характеристик биологических объектов на гистологических срезах. Понятие о стереометрическом анализе.</p> <p>5. Особенности морфометрии ультраструктурных компонентов клетки: определение площади и объёма ядер, определение площади и объёма мембранных органелл клетки (митохондрии, аппарат Гольджи, гладкая и шероховатая эндоплазматическая сеть).</p> <p>6. Статистическая обработка данных морфометрического анализа.</p> <p>7. Компьютерная трёхмерная реконструкция биологических объектов на серийных гистологических срезах и электронограммах.</p> <p>8. Приборы и оборудование для автоматического анализа качественных и количественных характеристик биологических объектов на гистологических срезах и электронограммах.</p> <p>9. Качественный и количественный анализ биологических объектов и компьютерная 3D гистология.</p> <p>10. Основные сложности и ошибки, имеющие место при анализе морфометрических показателей биологических структур на биологических срезах и электронограммах.</p> |

7. Структура и содержание дисциплины (разделов) по видам учебной работы

| № п/п | Тематика практических занятий (семинаров) | Трудо - емкость (час.) | Недели в семестре |
|-----------------|---|------------------------|-------------------|
| Модуль 1 | | | |

| Подготовка гистологического материала для иммуноцитохимических исследований | | | |
|--|--|---|--|
| 1. Аудиторная работа | | | |
| а) Лекции | | | |
| 1 | | 2 | |
| 2 | | 2 | |
| 3 | | 2 | |
| б) Практические занятия | | | |
| 1 | Взятие материала для иммуноцитохимических исследований. Основные фиксаторы. | 4 | |
| 2 | Простые фиксаторы (формалин, этиловый спирт, ацетон). Фиксирующие смеси (жидкость Карнуа, жидкость Ценкера). Выбор фиксатора для исследования. Принципы и методы фиксации материала, | 4 | |
| 3 | Подготовка материала к заливке в плотные среды (промывка материала, его обезвоживание). | 4 | |
| 4 | Заливка материала в плотные среды для иммуноцитохимических исследований. Заливка в парафин и смеси парафина с другими веществами. Заливка в целлоидин. | 4 | |
| 5 | Изготовление срезов для иммуноцитохимических исследований. Изготовление срезов на ротационном микротоме. Виды ротационных микротомов. Изготовление срезов на санном микротоме. Виды санных микротомов. | 4 | |
| 6 | Изготовление замороженных срезов на замораживающем микротоме.. | 4 | |
| 7 | Особенности гистологической обработки биопсийного материала. | 4 | |
| 8 | Подготовка гистологических срезов для окрашивания. Методики окрашивания гистологических препаратов. Обзорные гистологические методики. | 4 | |
| 9 | Методики окрашивания гистологических препаратов. Гистохимические методики. Особенности подготовки материала для гистохимических исследований. Принципы и методы гистохимического окрашивания. | 4 | |
| 10 | Цитологические методы исследования. Приготовление мазков крови, лимфы, красного костного мозга). Окраска цитологических препаратов: | 4 | |
| в) Формы контроля | | | |

| 2. Самостоятельная внеаудиторная работа | | | |
|--|---|---|--|
| | а) Обязательная | | |
| | * Формы работы - Самостоятельное изготовление гистологических препаратов. | | |
| | * Виды контроля - проверка | | |
| | б) Необязательная | | |
| Модуль 2 | | | |
| Основы иммуноцитохимии | | | |
| 1. Аудиторная работа | | | |
| а) Лекции | | | |
| 1 | | 2 | |
| 2 | | 2 | |
| 3 | | 2 | |
| 4 | | 2 | |
| б) Практические занятия | | | |
| 1 | История разработки методов иммуноцитохимического анализа. Основные принципы иммуноцитохимического анализа. | 4 | |
| 2 | Подготовка материала для иммуноцитохимических исследований. Технологические процессы в иммуноцитохимии | 4 | |
| 3 | Оборудование и реактивы для иммуноцитохимического анализа. Антитела для иммуногистохимии. | 4 | |
| 4 | Иммуноцитохимические методы выявления пролиферативной активности клеток: | 4 | |
| 5 | Иммуноцитохимические методы выявления процессов генетически запрограммированной клеточной гибели с помощью иммуноцитохимических методов: | 4 | |
| 6 | Иммуноцитохимические методы выявления коллагенов. | 4 | |
| 7 | Контроль специфичности иммуномечения. | 4 | |
| 8 | Основные трудности, возникающие в процессе проведения иммуноцитохимических методик. | 4 | |
| 9 | Новое направление исследований - иммуногистохимия на ультраструктурном уровне. Современные методики по определению антигенов в цитоплазме и ядрах клеток, включая использование специальных маркёров для их идентификации в органеллах. | 4 | |

| | | | |
|--|---|---|--|
| 10 | Анализ результатов иммуноцитохимических методов исследования. Подготовка результатов иммуноцитохимического анализа для публикации в научных изданиях. | 4 | |
| | в) Формы контроля - опрос, тестовые задания, оценка зарисовки таблиц и гистологических препаратов по эмбриологии, решение ситуационных задач | | |
| 2. Самостоятельная внеаудиторная работа | | | |
| | а) Обязательная | | |
| | * Формы работы - Иммуноцитохимическая окраска самостоятельно изготовленных гистологических препаратов, их описание и анализ | | |
| | * Виды контроля - | | |
| | б) Необязательная | | |
| Модуль 3 | | | |
| Основы морфометрии биологических объектов | | | |
| 1. Аудиторная работа | | | |
| а) Лекции | | | |
| 1 | | 2 | |
| 2 | | 2 | |
| 3 | | 2 | |
| б) Практические занятия | | | |
| 1. | Основные методы морфометрии биологических объектов на гистологических срезах и мазках. Определение линейных размеров биологических объектов на гистологических срезах и мазках. | 2 | |
| 2. | Способы измерения площадных характеристик биологических объектов на гистологических срезах. Способы определения объёмных характеристик биологических объектов на гистологических срезах. Понятие о стереометрическом анализе. | 2 | |
| 3. | Особенности морфометрии ультраструктурных компонентов клетки. Статистическая обработка данных морфометрического анализа. | 2 | |
| 4. | Компьютерная трёхмерная реконструкция биологических объектов на серийных гистологических срезах и электронограммах. Приборы и оборудование для автоматического анализа качественных и количественных характеристик биологических объектов на гистологических срезах и электронограммах. | 2 | |

| | | | |
|--|--|---|--|
| 5. | Качественный и количественный анализ биологических объектов и компьютерная 3D гистология. Основные сложности и ошибки, имеющие место при анализе морфометрических показателей биологических структур на биологических срезах и электронограммах. | 2 | |
| | в) Формы контроля - | | |
| 2. Самостоятельная внеаудиторная работа | | | |
| | а) Обязательная | | |
| | * Формы работы – Проведение морфометрии самостоятельно изготовленных гистологических препаратов. Статистическая обработка полученных цифровых показателей. | | |
| | Виды контроля – опрос, тестирование | | |
| | б) Необязательная - | | |

8. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины:

8.1 Рекомендуемая литература

8.1.1 Основная литература

1. Канюков В.Н., Стадников А.А., Трубина О.М., Стрекаловская А.Д. Методы исследования в биологии и медицине. Оренбург: ОАО"Агентство "ПРЕССА", 2013, 196 с.

2. «Клетки». Под ред. Б.Льюина и др. Пер. с англ. д-ра биол. наук, профессора И.В.Филипповича под ред. д-ра биол. наук, профессора Ю.С.Ченцова. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011, 951 с.

3. Крстич Р.В. "Атлас микроскопической анатомии человека: Учебное пособие для студентов высших учебных заведений". Под ред. Р.П.Самусева. (Перевод с английского). М.: ООО"Издательство Оникс": ООО"Издательство "Мир и образование", 2010, 608 с.

8.1.2 Дополнительная литература

1. Семченко В.В., Барашкова С.А., Ноздрин В.И., Артемьев В.Н. Гистологическая техника: учебное пособие. 3-е изд., доп. и перераб. Омск-Орёл: Омская областная типография, 2006, 290 с.

2. Фрешни Р.Я. "Культура животных клеток: практическое руководство". Перевод с 5-го английского издания. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010, 691 с.

3. Ovalle W.K., Nahirney P.C. Netters essential histology. Philadelphia: Saunders, 2008, 493 p.

4. Buchwalow I.B., Вокер W. Immunohistochemistry: Basis and Methods. Hardcover: Springer, 2010, 153 p.

8.1.3 Периодическая литература

Отечественные журналы морфологического профиля:

"Морфология",

"Морфологические ведомости"

"Цитология",

"Онтогенез",

"Успехи современной биологии".

Иностранные журналы морфологического профиля,

"Developmental dynamics",

"The anatomical Record",

"Journal of Histochemistry & Cytochemistry",

"Journal of Morphology",

"Cell",

"BioTechniques",

"Journal of Neurocytology".

8.1.4 Нормативно-правовые документы

8.1.5 Программное обеспечение (общесистемное, прикладное)

1. Windows
2. Microsoft Office
3. Irbis bib

8.1.6 Информационно-справочные и поисковые системы

1. Книгофонд.
2. Консультант студент
3. Электронная библиотека
4. Incis

9 Материально-техническое обеспечение дисциплины

9.1 Учебно-лабораторное оборудование

Оборудование, приборы, инструменты и химические реактивы гистологической лаборатории; оборудование и инструментарий экспериментальной операционной для операций на животных.

9.2 Технические и электронные средства обучения и контроля знаний аспирантов

Мультимедийный комплекс (ноутбук, проектор, экран), слайдоскоп, ПК, доски, мультимедийные презентации, таблицы, наборы слайдов и таблиц по различным разделам дисциплины, ситуационные задачи, тестовые задания.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Оренбургская государственная медицинская академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

ЛИСТ РЕГИСТРАЦИИ ВНЕСЕНИЙ ИЗМЕНЕНИЙ

Утверждено на совещании кафедры _____

Протокол № _____ от «__» _____ 20__ г.

Зав. кафедрой _____
(Ф.И.О)

| № | Раздела рабочей програм- мы | Наименование пункта | Дата введения изменений в действие | Подпись исполнителя | Подпись зав. кафедрой |
|---|--------------------------------------|---------------------|--|------------------------|--------------------------|
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

Программа составлена в соответствии с утвержденными федеральными государственными требованиями к структуре основной профессиональной

образовательной программе послевузовского профессионального образования (аспирантура), утверждённого приказом Минобрнауки России 16.03.2011 № 1365.

Разработчики:

Зав. кафедрой гистологии,
цитологии и эмбриологии,

з.д.н. РФ, д.б.н., проф. _____ «__» _____ 20__ г. Стадников А.А.
подпись *дата*

Профессор кафедры гистологии, цитологии

и эмбриологии, д.б.н., проф. _____ «__» _____ 20__ г. Шевлюк Н.Н.

подпись

дата

Программа одобрена на заседании кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии,
протокол № __ от «__» _____ 20__ г.

Программа рассмотрена и одобрена на заседании методического совета по
аспирантуре, протокол № __ от «__» _____ 20__ г.

СОГЛАСОВАНО:

Декан педиатрического факультета

и факультета клинической психологии,

д.м.н., профессор _____ «__» _____ 20__ г. Л.М. Железнов
подпись *дата*

Председатель

методического совета по аспирантуре

д.м.н. профессор. _____ «__» _____ 20__ г. А.А. Вялкова
подпись *дата*

Начальник отдела

аспирантуры, докторантуры и организации

научных исследований _____ «__» _____ 20__ г. М.В. Фомина
подпись *дата*