

«УТВЕРЖДАЮ»

Декан биологического факультета МГУ

Академик

М.П. Кирипичников

2015 г.

Рабочая программа дисциплины (модуля)

1. Код и наименование дисциплины (модуля): «Методы оптической микроскопии в современной биологии»

2. Уровень высшего образования – подготовка научно-педагогических кадров в аспирантуре.

3. Направление подготовки – 06.06.01 Биологические науки. Направленность (профиль) программы – биофизика, биоинженерия, биотехнология, клеточная биология, цитология, гистология.

4. Место дисциплины (модуля) в структуре ООП: вариативная часть ООП (осенний семестр), спецкурс по выбору (читается на кафедре биоинженерии)

5. Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), соотношенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы (компетенциями выпускников)

Формируемые компетенции (код компетенции)	Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю)
УК-1: Способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях	Владеть: навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В1 (УК-1) Владеть:

	навыками критического анализа и оценки современных научных достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В2 (УК-1)
УК-2 <i>Способность проектировать и осуществлять комплексные исследования, в том числе междисциплинарные, на основе целостного системного научного мировоззрения с использованием знаний в области истории и философии науки.</i>	Знать: методы научно-исследовательской деятельности Код 31 (УК-2)
УК-3: <i>Готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач</i>	Владеть: технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код В2 (УК-3)
УК-4: <i>Готовность использовать современные методы и технологии научной коммуникации на государственном и иностранном языке</i>	Владеть: навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код В1 (УК-4) Знать: стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код 32 (УК-4)
ОПК-1 <i>Способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий</i>	Уметь: собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа

Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) приведены в Приложении.

6. Объем дисциплины (модуля) составляет 3 зачетных единицы, всего 108 академических часов, из которых 28 часов составляет контактная работа аспиранта с преподавателем (24 часа занятий лекционного типа, 4 часа семинарских занятий) и 80 часов составляет самостоятельная работа аспиранта (изучение научной литературы, написание реферата, подготовка устного доклада по теме реферата).

7. Входные требования для освоения дисциплины (модуля), предварительные условия:

ЗНАТЬ: физическую химию, биохимию, основы молекулярной биологии, клеточной биологии и физиологии, основы оптической микроскопии (на уровне программ специалиста/магистра), теоретические и методологические основы биологических научных исследований.

УМЕТЬ: вырабатывать на основе рационального анализа экспериментальных результатов свою точку зрения в вопросах выбора и применения современных методов оптической микроскопии для решения биологических задач и отстаивать ее во время дискуссии со специалистами и неспециалистами; читать и реферировать научную литературу, где в исследованиях применяются современные методы оптической микроскопии, в том числе на иностранных языках, при условии соблюдения научной этики и авторских прав.

ВЛАДЕТЬ: современными информационно-коммуникационными технологиями, иностранным языком.

8. Образовательные технологии: классические лекционные технологии.

9. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов и виды учебных занятий

Наименование и краткое содержание разделов и тем дисциплины (модуля), форма промежуточной аттестации по дисциплине (модулю)	Всего (часы)	В том числе								
		Контактная работа (работа во взаимодействии с преподавателем), часы из них					Самостоятельная работа обучающегося, часы из них			
		Занятия лекционного типа	Занятия семинарского типа	Групповые консультации	Индивидуальные консультации	Учебные занятия, направленные на проведение текущего контроля успеваемости, коллоквиумы, практические контрольные занятия и др)*	Всего	Выполнение домашних заданий	Подготовка рефератов и т.п.	Всего
ТРАДИЦИОННЫЕ МЕТОДЫ ОПТИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ. Основные понятия и определения. Микроскопия белого света и широкополосная флуоресцентная микроскопия. Флуорофоры, их разновидности и применения		6					6	6	6	12
МЕТОДЫ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ. Принципы конфокальной микроскопии. Ф-методы на основе лазерной микроскопии.		4					4	8	8	16
МЕТОДЫ	22	4				2	6	8	8	16

МИКРОСПЕКТРОСКОПИИ. Флуоресцентная микроспектроскопия. Колебательная микроспектроскопия.										
СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЕ МЕТОДЫ ОПТИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ. Многофотонная микроскопия. Корреляционный анализ в микроскопии.	20	4					4	8	8	16
МЕТОДЫ МИКРОСКОПИИ СВЕРХВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ И ОДИНОЧНЫХ МОЛЕКУЛ. Методы микроскопии сверхвысокого разрешения. Локализационный анализ на основе микроскопии одиночных молекул. Исследование структуры и функционирования одиночных молекул и комплексов.	28	6				2	8	10	10	20
Промежуточная аттестация - зачет										
Итого:	108	28					28	40	40	80

10. Учебно-Методические материалы для самостоятельной работы аспирантов.

Конспекты лекций, аудио- и видеозаписи лекций, файлы презентаций лекций, основная и дополнительная учебная литература (см. п.11)

11. Ресурсное обеспечение:

Основная литература

1. Феофанов А.В. Конфокальная микроскопия и микроспектроскопия: учебно-методический комплекс для магистров направления подготовки "Нанотехнология" с профилем подготовки "Нанобиотехнологии" / Феофанов А.В.. - М.: НОУ ДПО "Институт АЙТи", 2011. - 142 с. ISBN 978-5-98453-021-7.
2. Феофанов А.В. Основы оптической микроскопии: учебно-методический комплекс для бакалавров направления подготовки "Нанотехнология" с профилем подготовки "Нанобиотехнологии" / Феофанов А.В.. - М.: НОУ ДПО "Институт АЙТи", 2011. - 162 с. ISBN 978-5-98453-041-5.
3. Лаквич Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии. – М.: Мир, 1986. - 496 с.
4. Виноградова Г.Н. История науки и приборостроения. – СПб: НИУ ИТМО, 2012. – 157 с.
5. Свищев Г.М. Конфокальная микроскопия и ультрамикроскопия живой клетки.- Физматлит, 2011.- 115 С.
6. Карнаухов В.Н. Люминесцентный спектральный анализ клетки. - М.:Наука, 1978. - 173 с.
7. Карнаухов В.Н. Спектральный анализ в клеточном мониторинге состояния окружающей среды. М.: Наука, 2001. - 186 с.
8. Власов А. И. Оптическая микроскопия. учебно-методический комплекс по тематическому направлению деятельности НИС "Нанотехнология" учебное пособие для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению 152200 "Нанотехнология" /Власов А.И., Елсуков К.А., Косолапов И.А.; под ред. засл. деятеля науки РФ, чл.-корр. РАН, проф. В.А. Шахнова. - Москва : Изд-во МГТУ, 2011. - 181 с.
9. Multidimensional microscopy / Cheng P.C. et al. ed. - New York etc. : Springer, Cop. 1994.
10. Wilhelm, S., Gröblert, B., Gluch, M., Heinz, H. (2003) Confocal laser scanning microscopy. Principles. Jena: Carl Zeiss. - 37 p.
11. Murray, J.M. (2005) Confocal microscopy, deconvolution, and structured illumination methods. In Live Cell Imaging—A Laboratory Manual (Goldman, R.D., Sreeter, D.L., eds.) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, - pp. 239–279.

Дополнительная литература

1. Феофанов А.В. Спектральная лазерная сканирующая конфокальная микроскопия в биологических исследованиях. // Успехи биол. хим., 2007. - Т. 47. - С. 371-410.
2. Зубова Н.Н., Булавина А. Ю., Савицкий А. П. Спектральные и физико-химические свойства зеленого (GFP) и красного (dRFP583) флуоресцирующих белков. // Успехи биологической химии. - Т. 43. – 2003. - С. 163—224.
3. Зубова Н.Н., Савицкий А. П. Молекулярные клеточные сенсоры, созданные на основе цветных флуоресцирующих белков. I. Сенсоры pH, ионов Cl⁻, Ca²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺. // Успехи биологической химии. - Т. 45. – 2005. - С. 391—454.
4. Nakano A. Spinning-disk confocal microscopy -- a cutting-edge tool for imaging of membrane traffic. Cell Struct Funct. 2002 Oct;27(5):349-55. Review. PubMed PMID: 12502889.

5. Ohata H, Yamada H, Niioka T, Yamamoto M, Momose K. Optical bioimaging: from living tissue to a single molecule: calcium imaging in blood vessel in situ employing two-photon excitation fluorescence microscopy. *J Pharmacol Sci.* 2003 Nov;93(3):242-7. Review. PubMed PMID: 14646239.
6. Zimmermann T, Rietdorf J, Pepperkok R. Spectral imaging and its applications in live cell microscopy. *FEBS Lett.* 2003 Jul 3;546(1):87-92. Review. PubMed PMID: 12829241.
7. Hiraoaka Y, Shimi T, Haraguchi T. Multispectral imaging fluorescence microscopy for living cells. *Cell Struct Funct.* 2002 Oct;27(5):367-74. Review. PubMed PMID: 12502891.
8. Rubart M. Two-photon microscopy of cells and tissue. *Circ Res.* 2004 Dec 10;95(12):1154-66. Review. PubMed PMID: 15591237.
9. Heintzmann R, Ficz G. Breaking the resolution limit in light microscopy. *Brief Funct Genomic Proteomic.* 2006 Dec;5(4):289-301. Review. PubMed PMID: 17170013.
10. Levenson RM, Mansfield JR. Multispectral imaging in biology and medicine: slices of life. *Cytometry A.* 2006 Aug 1;69(8):748-58. Review. PubMed PMID: 16969820.
11. Yan L, Rueden CT, White JG, Eliceiri KW. Applications of combined spectral lifetime microscopy for biology. *Biotechniques.* 2006 Sep;41(3):249, 251, 253 passim. Review. PubMed PMID: 16989084.
12. Diaspro A, Bianchini P, Vicidomini G, Faretta M, Ramoino P, Usai C. Multi-photon excitation microscopy. *Biomed Eng Online.* 2006 Jun 6;5:36. Review. PubMed PMID: 16756664; PubMed Central PMCID: PMC1550243.
13. Rodriguez LG, Lockett SJ, Holton GR. Coherent anti-stokes Raman scattering microscopy: a biological review. *Cytometry A.* 2006 Aug 1;69(8):779-91. Review. PubMed PMID: 16752420.
14. Cheng JX. Coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy. *Appl Spectrosc.* 2007 Sep;61(9):197-208. Review. PubMed PMID: 17910784; PubMed Central PMCID: PMC2642972.
15. Wilt BA, Burns LD, Wei Ho ET, Ghosh KK, Mukamel EA, Schnitzer MJ. Advances in light microscopy for neuroscience. *Annu Rev Neurosci.* 2009;32:435-506. doi: 10.1146/annurev.neuro.051508.135540. Review. PubMed PMID: 19555292; PubMed Central PMCID: PMC2820375.
16. Tian Y, Martinez MM, Pappas D. Fluorescence correlation spectroscopy: a review of biochemical and microfluidic applications. *Appl Spectrosc.* 2011 Apr;65(4):115A-124A. doi: 10.1366/10-06224. Review. PubMed PMID: 21396180; PubMed Central PMCID: PMC3071976.
17. Santi PA. Light sheet fluorescence microscopy: a review. *J Histochem Cytochem.* 2011 Feb;59(2):129-38. doi: 10.1369/0022155410394857. Review. PubMed PMID: 21339178; PubMed Central PMCID: PMC3201139.
18. Ishikawa-Ankerhold HC, Ankerhold R, Drummert GP. Advanced fluorescence microscopy techniques--FRAP, FLIP, FLAP, FRET and FLIM. *Molecules.* 2012 Apr 2;17(4):4047-132. doi: 10.3390/molecules17044047. Review. PubMed PMID: 22469598.
19. Dignan MA, Gratton E. Scanning image correlation spectroscopy. *Bioessays.* 2012 May;34(5):377-85. doi: 10.1002/bies.201100118. Epub 2012 Mar 13. Review. PubMed PMID: 22415853; PubMed Central PMCID: PMC3635842.
20. Swedlow JR. Innovation in biological microscopy: current status and future directions. *Bioessays.* 2012 May;34(5):333-40. doi: 10.1002/bies.201100168. Epub 2012 Mar 12. Review. PubMed PMID: 22408015; PubMed Central PMCID: PMC3427900.

21. Jensen EC. Types of imaging, Part 2: an overview of fluorescence microscopy. Anat Rec (Hoboken). 2012 Oct;295(10):1621-7. doi: 10.1002/ar.22548. Epub 2012 Sep 3. Review. PubMed PMID: 22941879.
22. Stender AS, Marchuk K, Liu C, Sander S, Meyer MW, Smith EA, Neupane B, Wang G, Li J, Cheng JX, Huang B, Fang N. Single cell optical imaging and spectroscope. Chem Rev. 2013 Apr 10;113(4):2469-527. doi: 10.1021/cr300336e. Epub 2013 Feb 14. Review. PubMed PMID: 23410134; PubMed Central PMCID: PMC3624028.

Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет»

- Лекции по микроскопии <http://tinyurl.com/2dr5r>
- Образовательный сайт компании Nikon, посвященный методам и методикам оптической микроскопии: www.microscopyu.com
- Образовательный сайт компании Olympus, посвященный методам и методикам оптической микроскопии: <http://www.olympusmicro.com/>
- Справочник по флуоресцентным молекулярным инструментам: <https://www.themolfisher.com/tu/tu/home/references/molecular-probes-the-handbook.html>

Перечень используемых информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса, включая программное обеспечение, информационные справочные системы (при необходимости):

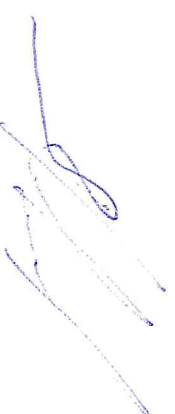
- Интернет-браузер, базы данных PubMed (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)

Описание материально-технической базы.

Кафедра биоинженерии биологического факультета МГУ располагает необходимым аудиторным фондом, компьютерами, проекторами и экранами, аудиопаратурой.

12. Язык преподавания: русский

13. Преподаватель (преподаватели): профессор кафедры биоинженерии А.В.Феофанов



Приложение

Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) “Методы оптической микроскопии в современной биологии”

на основе карт компетенций выпускников

РЕЗУЛЬТАТ ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю)	КРИТЕРИИ и ПОКАЗАТЕЛИ ОЦЕНИВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю), баллы БРС					ОЦЕНОЧНЫЕ СРЕДСТВА
	1,	2	3	4	5	
Владеть: навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В1 (УК-1)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Владеть: навыками критического анализа и оценки современных научных достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В2 (УК-1)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Знать: методы научно-исследовательской	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет

Деятельности Код 31(УК-2)						
Владеть: технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код В2(УК-3)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Знать: стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код 32(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Владеть: навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код В1(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Уметь: собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет

Фонды оценочных средств, необходимые для оценки результатов обучения

Примеры вопросов к промежуточному контролю (темы рефератов, вопросы для индивидуального собеседования):

1. Принципы конфокальной фильтрации сигнала.
2. Способы выделения требуемого спектрального диапазона флуоресценции в конфокальном микроскопе.
3. Двумерное и трехмерное пространственное сканирование с помощью конфокального микроскопа.
4. Пространственное разрешение конфокального микроскопа
5. Устройство и назначение спектральных лазерных сканирующих конфокальных микроскопов.
6. Методы колебательной микроскопии
7. Принципы метода FRAP, и его применения
8. Принципы метода FLIP, и его применения
9. Требования к флуорофорам для Фёрстеровского резонансного переноса энергии.
10. Области применения FRET в клеточных исследованиях.
- 11 Метод лазерной сканирующей цитометрии и его применения
12. Принципы метода флуоресцентной корреляционной микроскопии и характеристики молекул им измеряемые.
13. Принципы флуоресцентной микроскопии на основе полного внутреннего отражения и способы реализации этого эффекта.
14. Флуоресцентная микроскопия с многофотонным возбуждением и области ее применения
15. Принципы метода 4Pi-микроскопии
16. Принципы метод стимулированного источника эмиссии
17. Принципы микроскопии, основанной на детекции сигналов одиночных молекул
18. Структурные исследования комплексов с помощью микроскопии одиночных молекул.

ПРОГРАММА

зачета по спецкурсу “Методы оптической микроскопии в современной биологии”

ТРАДИЦИОННЫЕ МЕТОДЫ ОПТИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ.

Предмет спецкурса “Методы оптической микроскопии в современной биологии” Основные этапы развития оптической микроскопии и особенности современного этапа. Основные понятия и определения: числовая апертура, диск Эйри, разрешающая способность, дифракционный предел, яркость изображения, дискретность оцифровки изображений, теорема Найквиста, шкалы градации яркости. Двумерное и трехмерное разрешение в микроскопии. Классификация и ключевые особенности методов оптической микроскопии. Роль микроскопии в современных биологических исследованиях.

Микроскопия проходящего и отраженного белого света. Флуоресцентная широкопольная микроскопия. Флуоресцентная микроскопия на основе полного внутреннего отражения. Применения методов широкопольной оптической микроскопии.

Органические флуорофоры и их применения. Флуоресцентное мечение биологических молекул органическими флуорофорами. Флуоресцирующие белки и их применения в оптической микроскопии. Сенсоры и зонды на основе флуоресцирующих белков.

МЕТОДЫ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ

Принцип конфокальной фильтрации сигнала. Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия. Конфокальная микроскопия на основе вращающегося диска Нипкова. Устройство конфокальных микроскопов. Устройство спектральных конфокальных флуоресцентных микроскопов. Флуоресцентная микроскопия со сканированием листом света. Представление результатов измерений.

Метод восстановления флуоресценции после фотообесцвечивания (FRAP). Метод потери флуоресценции при фотообесцвечивании (FLIP). Постановка экспериментов с применением методов FRAP и FLIP. Применения методов FRAP и FLIP. Микроскопия на основе Фёрстеровского резонансного переноса энергии (FRET) и ее применения.

МЕТОДЫ МИКРОСПЕКТРОСКОПИИ.

Принципы флуоресцентной микроспектроскопии. Флуоресцирующие биологически активные соединения и их исследования методами флуоресцентной микроспектроскопии. Флуоресцентная микроспектроскопия в многофлуорофорном анализе. Флуоресцентная микроспектроскопия и собственная клеточная флуоресценция.

ИК спектроскопия. ИК микроскопия и ее применения. Комбинационное рассеяние света. Микроскопия на основе комбинационного рассеяния света и ее применения. Когерентная антистоксовая Рамановская спектроскопия (КАРС). КАРС микроскопия и ее применения.

СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЕ МЕТОДЫ ОПТИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ

Многофотонное возбуждение флуоресценции молекул и многофотонная микроскопия. Устройство лазерного сканирующего микроскопа с многофотонным возбуждением. Особенности метода и области применения.

Принцип и математический аппарат флуоресцентной корреляционной спектроскопии и микроскопии (ФКСМ). Устройство микроскопов для флуоресцентного корреляционного анализа. Определение коэффициента диффузии, гидродинамического радиуса и массы молекул. Исследование образования комплексов молекул методом флуоресцентной корреляционной микроскопии. Кросс-корреляционный анализ. Применения ФКСМ.

МЕТОДЫ МИКРОСКОПИИ СВЕРХВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ И ОДИНОЧНЫХ МОЛЕКУЛ.

Принцип 4Pi-микроскопии и устройство микроскопа. Пространственное разрешение 4Pi-микроскопии. Области применения 4Pi-микроскопии.

Микроскопия стимулированного излучения эмиссии (СИЭ) и устройство микроскопа. Пространственное разрешение микроскопии СИЭ. Области применения микроскопии СИЭ.

Микроскопия структурированного освещения: принцип и области применения.

Методы исследования распределения флуорофоров на основе регистрации сигналов одиночных молекул (N-STORM, PALM). Флуорофоры для локализационной микроскопии одиночных молекул.

Исследование одиночных свободно диффундирующих молекул и комплексов. Исследование одиночных иммобилизованных молекул и комплексов. Задачи, решаемые методами микроскопии одиночных молекул и комплексов.

