

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  
заочная

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
<b>Общая трудоемкость</b>	<b>180</b>
<b>Аудиторная работа</b>	120
<i>Лекции (Л)</i>	20
<i>Практические занятия (ПЗ)</i>	100
<b>Самостоятельная работа</b>	60
Самоподготовка (самостоятельное изучение разделов, проработка и повторение лекционного материала и материала учебников и учебных пособий, подготовка к практическим занятиям), (СР)	

<b>Вид итогового контроля</b>	<b>Экзамен по программе кандидатского минимума</b>
-------------------------------	--

## 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.
	<b>Итого</b>		<b>20</b>	<b>100</b>	<b>60</b>	

## 6. Структура и содержание дисциплины

№	Наименование	Содержание модуля
---	--------------	-------------------

п/п	модуля дисциплины Общая трудоемкость	( в дидактических единицах)
1.	<b>Подготовка гистологичес кого материала для иммуноцитох имических исследований 66 часов</b>	<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. Особенности подготовки к окрашиванию и методики окрашивания костных тканей. Основные методы изучения тканевых элементов нервной системы: метод Ниссля, метод Гольджи.</p> <p>9. Методики окрашивания гистологических препаратов. Гистохимические методики. Особенности подготовки материала для гистохимических исследований. 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 углеводов соединений:</p> <p>окрашивание альциановым синим, метахроматическое окрашивание толуидиновым синим, ШИК-реакция, гистохимические реакции на выявление кислых мукополисахаридов.</p> <p>Принципы дифференциальной диагностики углеводов биополимеров.</p> <p>Методы гистохимического выявления липидов: окраска суданом чёрным по Лизону, выявление холестерина методом Шульца. 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><b>Основы иммуноцитохимии</b> <b>68 часов</b></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). Приготовление буферных растворов, дозозависимое разведение антител, методик окраски.</p> <p>3. Оборудование и реактивы для иммуноцитохимического анализа. Антитела для иммуногистохимии. Общая характеристика антител, используемых для целей иммуногистохимии и их классификация. Современные представления о структуре моно- и</p>

		<p>поликлональных мышинных и кроличьих антител, меченых (энзимами, флуорофорами, коллоидным золотом) антител как для световой, так и для электронной микроскопии.</p> <p>Диагностическая иммуногисто- и иммуноцитохимия. Прикладные аспекты иммуногистохимии, в частности - лабораторная диагностика опухолевого роста, включая канцерогенез.</p> <p>4.Иммуноцитохимические методы выявления пролиферативной активности клеток: определение в гистологических срезах маркёра пролиферации белка Ki-67.</p> <p>5.Иммуноцитохимические методы выявления процессов гинетически программированной клеточной гибели с помощью иммуноцитохимических методов: определение в гистологических срезах маркёра апоптоза белка P53, определение в гистологических срезах маркёра апоптоза белка каспазы-3, определение в гистологических срезах антиапоптотического белка bcl2.</p> <p>6.Иммуноцитохимические методы выявления коллагенов.</p> <p>7.Контроль специфичности иммуномечения.</p> <p>8.Основные трудности, возникающие в процессе проведения иммуноцитохимических методик.</p> <p>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. Использования микрофотографирования в иммуногистохимии.</p> <p>10.Анализ результатов иммуноцитохимических методов исследования. Подготовка результатов иммуноцитохимического анализа для публикации в научных изданиях.</p>
3	<p><b>Основы морфометрии биологически х объектов</b></p>	<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>

<b>46 часов</b>	<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)	Трудоемкость (час.)	Недели в семестре
<b>Модуль 1</b>			
<b>Подготовка гистологического материала для иммуноцитохимических исследований</b>			
<b>1. Аудиторная работа</b>			
<b>а) Лекции</b>			
1		2	
2		2	
3		2	
<b>б) Практические занятия</b>			

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	
	<b>в) Формы контроля</b>		
<b>2. Самостоятельная внеаудиторная работа</b>			
	<b>а) Обязательная</b>		
	* <b>Формы работы</b> - Самостоятельное изготовление гистологических препаратов.		
	* <b>Виды контроля</b> - проверка		
	<b>б) Необязательная</b>		
<b>Модуль 2</b>			
<b>Основы иммуноцитохимии</b>			

<b>1. Аудиторная работа</b>			
<b>а) Лекции</b>			
1		2	
2		2	
3		2	
4		2	
<b>б) Практические занятия</b>			
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	
	<b>в) Формы контроля</b> - опрос, тестовые задания, оценка зарисовки таблиц и гистологических препаратов по эмбриологии, решение ситуационных задач		
<b>2. Самостоятельная внеаудиторная работа</b>			
	<b>а) Обязательная</b>		
	* <b>Формы работы</b> - Иммуноцитохимическая окраска самостоятельно изготовленных гистологических препаратов, их описание и анализ		

	<b>*Виды контроля -</b>		
	<b>б) Необязательная</b>		
<b>Модуль 3</b>			
<b>Основы морфометрии биологических объектов</b>			
<b>1. Аудиторная работа</b>			
<b>а) Лекции</b>			
1		2	
2		2	
3		2	
<b>б) Практические занятия</b>			
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	
	<b>в) Формы контроля -</b>		
<b>2. Самостоятельная внеаудиторная работа</b>			
	<b>а) Обязательная</b>		
	<b>*Формы работы –</b> Проведение морфометрии самостоятельно изготовленных гистологических препаратов. Статистическая обработка полученных цифровых показателей.		
	<b>Виды контроля –</b> опрос, тестирование		

## **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., Вocker 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.



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:

Зав. кафедрой анатомии

человека, 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*