

**Міністерство освіти і науки України
ДЕРЖАВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Розглянуто і затверджено радою
факультету агрономії та захисту рослин
(протокол № 7 від «08» травня 2023 р.)

МІКРОСКОПІЯ В СУЧАСНИХ НАУКОВИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ

**Методичні вказівки для самостійної роботи здобувачів другого
(магістерського) рівня на основі ПСЗО зі спеціальностей
211 «Ветеринарна медицина» та 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія
і експертиза»**

Харків – 2023

Укладачі: кандидат сільськогосподарських наук, доцент **Р. В. Криворученко**
доктор філософії (PhD), асистент **Д. В. Чуйко**

Рецензенти: кандидат біологічних наук, доцент кафедри генетики, селекції та насінництва ДБТУ – **Рожков Р.В.**
доктор біологічних наук, професор кафедри землеробства та гербології ім. О.М. Можейка ДБТУ – **Колупаєв Ю.Є.**

Розглянуто і затверджено до видання Вченої радою факультету агрономії та захисту рослин Протокол № 7 від «08» травня 2023 р.

Методичні вказівки з курсу «Мікроскопія в сучасних наукових дослідженнях» для самостійної роботи здобувачів другого (магістерського) рівня на основі ПСЗО зі спеціальностей 211 «Ветеринарна медицина» та 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза» / укладачі: Р. В. Криворученко, Д. В. Чуйко – Харків : ДБТУ, 2023. 31 с.

Представлено програму навчальної дисципліни «Мікроскопія в сучасних наукових дослідженнях». В методичних вказівках наведено структуру і перелік тем та основних завдань курсу, що виносяться на лабораторно-практичні заняття для повноцінного засвоєння навчального матеріалу здобувачами. Особлива увага приділяється розвитку у студентів теоретичних та практичних навичкам при роботі з мікроскопічним обладнанням і сучасними методами мікроскопії. Акцентування методичних вказівок зроблено на самостійній роботі студентів, що допоможе використовувати отримані знання за їх професійним спрямуванням.

Методичні вказівки рекомендовані для здобувачів спеціальностей 211 «Ветеринарна медицина» та 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія та експертиза».

© Криворученко Р. В., Чуйко Д. В., 2023

© Державний біотехнологічний університет, 2023

ЗМІСТ

ВСТУП	4
Мета та завдання навчальної дисципліни.....	5
1. Структура програми навчального курсу «мікроскопія в сучасних наукових дослідженнях»	7
2. Програма дисципліни	8
3. Структура навчальної дисципліни	11
4. Теми практичних занять	12
5. Теми, що виносяться на самостійну роботу студенту.....	13
6. Методи контролю.....	13
7. Рекомендована література.....	16
8. Завдання на самостійну роботу та самоперевірку студентів.....	18
9. Короткий словник термінів та понять.....	27

ВСТУП

Складання програми загально університетської навчальної дисципліни «Мікроскопія в сучасних наукових дослідженнях» проведено відповідно до програми підготовки фахівців освітнього рівня «Магістр» на основі ПСЗО зі спеціальностей 211 «Ветеринарна медицина» та 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза».

Навчальна дисципліна «Мікроскопія в сучасних наукових дослідженнях» є вибіркою і може викладатися в будь-якому семестрі навчально року. Вивчення даної дисципліни передбачає такі види аудиторних занять як: лекції та лабораторно-практичні заняття, в тому числі два модульних контролю.

Освітній рівень – **магістр на основі ПСЗО**

Спеціальність – **211 «Ветеринарна медицина», 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза»**

Семестр – **I, II**

Лекції – **12 год.**

Лабораторно-практичні заняття – **18 год.**

Самостійна робота – **60 год.**

Всього – **3 кредитів/90 год.**

Форма контролю – **диференційований залік**

Предметом вивчення навчальної дисципліни «Мікроскопія в сучасних наукових дослідженнях» є опанування практичними та теоретичними навичками користування мікроскопічним обладнанням, сучасними методами мікроскопії, отримати вміння фіксації і виготовлення цитологічних, гістологічних препаратів й методики їх фарбування основними барвниками, в тому числі, що використовуються люмінесцентній мікроскопії.

МЕТА ТА ЗАВДАННЯ НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

Метою є формування компетентностей на основі знань про методи мікроскопічних досліджень в різних галузях сучасної біологічної та сільськогосподарської науки.

Завданням навчальної дисципліни «Мікроскопія в сучасних наукових дослідженнях» є формування у здобувачів теоретичних і практичних знань з користуванням сучасними та класичними методами мікроскопічних досліджень, а саме:

- знати основні методи мікроскопічних досліджень біологічних систем різного рівня організації;
- самостійно проводити дослідження з використанням мікроскопічних методів, інтерпретувати та аналізувати одержані емпіричні результати;
- здатність використовувати сучасні цифрові технології при проведенні мікроскопічних досліджень;
- користуватися навчальною, науковою та методичною літературою з обраного напрямку дослідження.

Компетентності, якими повинен володіти здобувач даного курсу:

Інтегральна компетентність

– Здатність розв'язувати складні задачі і проблеми у галузі ветеринарної медицини, гігієни, санітарії та експертизи що передбачає проведення досліджень, упровадження інновацій та характеризується невизначеністю умов і вимог.

Загальні компетентності

- Здатність застосовувати знання у практичних ситуаціях.
- Знання та розуміння предметної галузі та професії.
- Здатність проведення досліджень на відповідному рівні.

Спеціальні (фахові) компетентності

- Здатність встановлювати особливості будови і функціонування клітин, тканин, органів, їх систем та апаратів організму тварин різних класів і видів – ссавців, птахів, комах (бджіл), риб та інших хребетних.
- Здатність використовувати інструментарій, спеціальні пристрої, прилади, лабораторне обладнання та інші технічні засоби для проведення необхідних маніпуляцій під час професійної діяльності.
- Здатність проводити клінічні дослідження з метою формулювання висновків щодо стану тварин чи встановлення діагнозу.
- Здатність організовувати і проводити лабораторні та спеціальні діагностичні дослідження й аналізувати їх результати.
- Здатність застосовувати знання з біобезпеки, біоетики та добробуту тварин у професійній діяльності.
- Здатність розробляти та реалізовувати заходи, спрямовані на захист населення від хвороб, спільних для тварин і людей.

Згідно з вимогами освітньо-професійної програми здобувачі повинні знати:

- теоретичні основи використання методів мікроскопії при проведенні досліджень у ветеринарній медицині, експертизі, гігієні та санітарії;
- особливості використання різних типів мікроскопії для проведення лабораторних та діагностичних досліджень;
- теоретичні та практичні основи використання різних способів приготування препаратів для проведення мікроскопічних досліджень.

Внаслідок вивчення курсу здобувачі повинні вміти:

- користуватись науковою, навчальною та методичною літературою з методів мікроскопії;

- уміти працювати з мікроскопічним обладнанням, фіксації досліджуваного матеріалу та його збереженням.

- працювати з різними барвниками для мікроскопії та їх методикою приготування і використання у цитологічних та гістологічних наукових дослідженнях.

- дотримування вимог біоетики, біологічної безпеки та захисту.

- оцінювати ефективність використання різних методів мікроскопії в залежності від завдання дослідження.

Міждисциплінарні зв'язки

Курс дисципліни «Мікроскопія в сучасних наукових дослідженнях» ґрунтується на фундаментальних дисциплінах, а саме: біологія, фізика, метрологія, хімія, фізіологія рослин та тварин, генетика та ін. Зокрема, дана дисципліна має тісні зв'язки з такими дисциплінами як: цитологія, гістологія, ембріологія, мікробіологія.

1. СТРУКТУРА ПРОГРАМИ НАВЧАЛЬНОГО КУРСУ «МІКРОСКОПІЯ В СУЧАСНИХ НАУКОВИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ»

Найменування показників	Галузь знань, напрям підготовки, освітньо-кваліфікаційний рівень	Характеристика навчальної дисципліни	
		денна форма навчання	заочна форма навчання (ІПО)
Кількість кредитів – 3	Галузь знань 21 «Ветеринарна медицина»	Вибіркова	
Модулів – 2	спеціальність 211 «Ветеринарна медицина», 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза»	Рік підготовки	
Змістових модулів – 2		1-й	–
Загальна кількість годин – 90		Навчальний семестр	
		Протягом року	–
Тижневих годин для денної форми навчання: аудиторних – 10 самостійної роботи студента – 20	ОС «Магістр»	Лекції	
		12 год	–
		Лабораторно-практичні	
		18 год	–
		Самостійна робота	
		60 год	–
Вид контролю			
Залік		–	

2. ПРОГРАМА ДИСЦИПЛІНИ

Змістовний модуль 1. Загальні принципи мікроскопічних досліджень в біології та сільському господарстві.

Тема 1. Методи мікроскопічних досліджень (історія і перспективи розвитку, загальні принципи).

Загальні поняття про методи мікроскопії в наукових дослідженнях. Історія розвитку методів мікроскопії та мікроскопічної техніки. Зв'язок розвитку методів мікроскопії з розвитком біологічної науки. Перспективи розвитку методів мікроскопії в сучасних наукових дослідженнях

Тема 2. Типи мікроскопії.

Основні типи мікроскопії: оптична, електронна та скануюча силова. Поняття про основні принципи світлової мікроскопії. Методи мікроскопії видимого світла (метод світлого поля, мікроскопія у відбитому світлі, темнопільна, фазово-контрастна мікроскопія). Методи ультрафіолетової мікроскопії (флуоресцентна, конфокальна, багатофотонна). Методи електронної мікроскопії: основні поняття та принципи. Електронна скануюча та трансмісійна мікроскопія.

Тема 3. Мікроскопічні дослідження різних біологічних процесів та об'єктів.

Методи мікроскопії як інструмент сучасних досліджень в генетиці, цитології, мікробіології, медицині, ветеринарії, сільському господарстві, тощо. Принципи використання різних типів мікроскопії залежно від об'єктів досліджень.

Змістовний модуль 2. Напрями мікроскопічних досліджень.

Тема 4. Мікроскопічні дослідження окремих органел та клітин (цитологічні та мікробіологічні).

Загальні принципи використання методів мікроскопії при проведенні цитологічних та мікробіологічних досліджень. Сучасний стан та перспективи розвитку методів мікроскопії в цитологічних та мікробіологічних дослідженнях.

Тема 5. Мікроскопічні методи вивчення тканин і органів (анатомічні та гістологічні).

Принципи проведення анатомічних, гістологічних та бактеріологічних досліджень з використанням методів мікроскопії. Перспективи використання сучасних цифрових технологій в гістологічних та анатомічних дослідженнях.

Тема 6. Методи мікроскопічних досліджень біологічних процесів (генетичні та морфологічні дослідження).

Методи мікроскопії при вивченні біологічних процесів: ембріогенезу, мутагенезу, ділення клітини. Сучасні та перспективні методи мікроскопії для цитогенетичних досліджень.

Теми лабораторно-практичних занять

Тема 1. Будова та правила роботи з мікроскопом.

Правила роботи з мікроскопом. Типи мікроскопів. Будова світлового мікроскопу. Будова світлового люмінесцентного мікроскопу. Будова електронного мікроскопу. Методи мікроскопії. Принцип проходження світла при світловій, методом темного поля та фазово-контрастній мікроскопії. Принцип роботи люмінесцентної мікроскопії. Довжина світлової хвилі. Принцип роботи електронного мікроскопу. Визначення фактичного збільшення мікроскопу. Роздільна здатність.

Тема 2, 3. Принципи підготовки матеріалу, приготування та зберігання препаратів для мікроскопії.

Що таке фіксація. Методи фіксації. Приготування розчинів фіксаторів. Вібромоти та кріомоти. Методика приготування тимчасових і постійних цитологічних та гістологічних препаратів.

Тема 4. Принципи забарвлення препаратів для мікроскопії.

Барвники для мікроскопії. Класифікація барвників за походженням. Класифікація барвників за методикою дослідження. Методика фарбування препаратів. Люмінесцентні барвники.

Тема 5. Приготування і перегляд тимчасових препаратів рослинних клітин (мікроорганізмів) для цитологічних досліджень.

Підготовка препарату. Фіксація. Вибір методики мікроскопії. Вибір барвника та методики забарвлення.

Тема 6. Приготування і перегляд препаратів тканин або органів для анатомічних досліджень.

Підготовка препарату. Фіксація. Вибір методики мікроскопії. Вибір барвника та методики забарвлення.

Тема 7. Приготування і перегляд тимчасових препаратів для вивчення біологічних процесів (ділення клітини).

Підготовка препарату. Фіксація. Вибір методики мікроскопії. Вибір барвника та методики забарвлення.

Тема 8. Приготування і перегляд препаратів для морфофізіологічних досліджень.

Підготовка препарату. Фіксація. Вибір методики мікроскопії. Вибір барвника та методики забарвлення.

Тема 9. Використання цифрових технологій в мікроскопії.

Цифрові технології. Характеристики комп'ютерних програм для мікроскопії. Програма TSViev7. Визначення розмірів клітин.

3. СТРУКТУРА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

Назви змістових модулів і тем	Кількість годин									
	Усього	Денна форма				Усього	Заочна форма (ШО)			
		Л	П	Л	С.Р		Л	П	Л	С.Р
Змістовний модуль 1. Загальні принципи мікроскопічних досліджень в біології та сільському господарстві.										
Тема 1. Методи мікроскопічних досліджень (історія і перспективи розвитку, загальні принципи).	24	2	2	–	10					
Тема 2. Типи мікроскопії.	26	2	4	–	10					
Тема 3. Мікроскопічні дослідження різних біологічних процесів та об'єктів.	22	2	2	–	10					
Разом за змістовним модулем 1	44	6	8	–	30					
Змістовний модуль 2. Напрями мікроскопічних досліджень.										
Тема 4. Мікроскопічні дослідження окремих органел та клітин (цитологічні та мікробіологічні).	26	2	4	–	10					
Тема 5. Мікроскопічні методи вивчення тканин і органів (анатомічні та гістологічні).	26	2	4	–	10					

Тема 6. Методи мікроскопічних досліджень біологічних процесів (генетичні та морфофізіологічні дослідження).	24	2	2	–	10					
Разом за змістовним модулем 2	46	6	10	–	30					

4. ТЕМИ ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ

№	Назва теми	Кількість годин
1	Тема 1. Будова та правила роботи з мікроскопом.	2
2	Тема 2, 3. Принципи підготовки матеріалу, приготування та зберігання препаратів для мікроскопії.	4
3	Тема 4. Принципи забарвлення препаратів для мікроскопії.	2
4	Тема 5. Приготування і перегляд тимчасових препаратів рослинних клітин (мікроорганізмів) для цитологічних досліджень.	2
5	Тема 6. Приготування і перегляд препаратів тканин або органів для анатомічних досліджень.	2
6	Тема 7. Приготування і перегляд тимчасових препаратів для вивчення біологічних процесів (ділення клітини).	2
7	Тема 8. Приготування і перегляд препаратів для морфофізіологічних досліджень.	2
8	Тема 9. Використання цифрових технологій в мікроскопії.	2
Загальна кількість годин		18

5. ТЕМИ, ЩО ВІНОСЯТЬСЯ НА САМОСТІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ

№	Назва теми	Кількість годин
Змістовний модуль 1. Загальні принципи мікроскопічних досліджень в біології та сільському господарстві.		
1	Вибір методу мікроскопії залежно від напрямку досліджень	12
2	Особливості використання методів мікроскопії в різних галузях біологічної та сільськогосподарської науки	18
Всього годин за змістовним модулем 1		30
Змістовний модуль 2. Напрями мікроскопічних досліджень.		
3	Методи мікроскопії в сучасних дослідженнях з біотехнології та генної інженерії. Метод FISH гібридизації.	10
4	Розробити принципи застосування методів мікроскопії залежно від напрямів досліджень	10
5	Перспективи розвитку цифрових технологій в мікроскопії біологічних об'єктів різного рівня організації	10
Всього годин за змістовним модулем 2		30

6. МЕТОДИ КОНТРОЛЮ

Форма підсумкового контролю успішності навчання здобувачів – **залік**.

Контроль знань, успішності, практичних навичок та умінь студентів – невід'ємна складова навчального процесу і форма зворотного зв'язку у процесі вивчення навчального курсу «Мікроскопія в сучасних наукових дослідженнях».

У навчальному процесі можна використовувати такі види контролю як:

1. Поточний;
2. Періодичний (проміжний);
3. Підсумковий (семестровий).

Поточний контроль знань – це контроль рівня успішності та вмінь у процесі навчання, який проводиться на лекціях і лабораторно-практичних заняттях. Його види та форма можуть різнитися і бути в наступних модифікаціях:

Експрес опитування – це опитування на засвоєння навчального матеріалу попередньої лекції; опитування під час лекції на розуміння її мети; контроль за засвоєнням лекційного матеріалу; програмований контроль знань (картки, вирішення проблемних і ситуаційних завдань, тестування); модульний контроль; співбесіда.

Поточний (проміжний) контроль – контроль після вивчення конкретного розділу або ж теми змістових модулів. Він включає такі види контролю: контрольні роботи; тестові опитування; колоквиуми; контроль за умінням вирішувати професійно-орієнтовані завдання; контроль за формуванням практичних умінь і навичок.

Підсумковий контроль – це вид контроль, який проводять в кінці вивчення курсу дисципліни. Це семестровий контроль: комплексні тестові контрольні завдання, семестровий іспит.

Розподіл балів, які отримує здобувач за поточний контроль та самостійну роботу

Поточне тестування та самостійна робота								Підсумковий тест (залік)	Загальна кількість
Змістовні модулі									
№ 1			№ 2					30	100
T1	T2, 3	T4	T5	T6	T7	T8	T9		
10	20	5	5	10	10	10	10		

Шкала оцінювання: національна та ЄКТС

Підсумки складання екзамену (заліку)		
Сума балів	Оцінка ЄКТС	Оцінка за національною шкалою
		Залік
90-100	A	зараховано
82-89	B	
74-81	C	
66-73	D	
60-65	E	
35-59	FX	не зараховано
1-34	F	

Оцінка *«відмінно»* – **90-100 балів** – отримує студент, який при відповіді на запитання показав всебічні, систематизовані, глибокі знання навчального матеріалу курсу, правильно та повністю виконав поставлене завдання, уміє компетентно подати отримані результати; продемонструвати знання основної, а також додаткової літератури, передбачені на рівні творчого використання.

Оцінка *«добре»* - **74-89 балів** – отримує студент, при відповіді на запитання він виявив повне знання програмного матеріалу, що передбачене на рівні аналогічного відтворення, правильно виконав поставлене завдання, показав володіння практичними вміннями та навичками, але припустився окремих несуттєвих помилок, які не мають суттєвого значення.

Оцінка *«задовільно»* – **60-73 балів** – отримує студент, якщо при відповіді на запитання виявив повні знання основного програмного матеріалу в обсязі, що необхідний для подальшого навчання і роботи за відповідним фахом спеціальності, у цілому справився з поставленим завданням, але при цьому окремими вміннями й навичками володів невпевнено, припустився незначних помилок в арифметичних розрахунках, демонстрував здатність упоратися з виконанням завдань, передбачених програмою на рівні репродуктивного відтворення.

Оцінка *«незадовільно»* – **35-59 балів** – отримує студент, якщо при відповіді на запитання допустив суттєві прогалини в знаннях основного матеріалу навчального курсу, зробив принципові помилки, не зміг вирішити поставлені перед ним задачі.

При визначенні загальної кількості балів, які отримає студент обов'язково враховуються результати поточного контролю з лабораторно-практичних занять, модульного контролю, а також результати засвоєння матеріалу самостійної роботи студентів.

7. РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Основна

1. Антонюк В.С., Тимчик Г.С., Бондаренко Ю.Ю., Петльований П.В., Білокінь С.О., Бондаренко М.О. Методи та засоби мікроскопії. К.: НТТУ «КПІ», 2013. 333 с.
2. Трускавецький Є.С. Цитологія: підручник. К.: Вища школа, 2004. 254 с
3. Держинський М.Е., Вороніна О.К., Скрипник, Гарматіна С.М., Пазюк Л.М. Загальна цитологія. Практикум: навчальний посібник. К. : Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", 2011. 126 с.
4. Держинський М.Е., Скрипник Н.В, Гарматіна С.М. та інші. Загальна цитологія та гістологія. Частина І: Загальна цитологія: Навчальний посібник. К.: Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", 2006. 275 с.
5. Копильчук Г.П. Загальна цитологія: підручник. Чернівці : Друк Арт, 2013. 320 с.
6. Пшиченко В.В., Черно В.С. Цитологія: Навчальний посібник. Миколаїв: МНУ ім. В.О. Сухомлинського, 2017. 111 с.
7. Васько Л.В., Кіптенко Л.І., Гортинська О.М., Гринцова Н.Б. Цитологія в питаннях і відповідях: навч. посіб. Суми: СДУ, 2016. 95 с.
8. Ликова І. О. Лабораторний практикум з цитології, гістології з основами ембріології : навч. посіб. Харків : ХНПУ, 2021. 99 с
9. Новак В. П., Мельниченко А. П. Цитологія, гістологія, ембріологія: навч. посібник. Біла Церква: БДАУ, 2005. 256 с.
10. Baker T. A., Bell S. P., Gann A., Levine M., Losick R., Inglis C. H. S. L. P. Molecular biology of the gene. San Francisco : Pearson/Benjamin Cummings, 2008. 808 p.

11.Щербатюк М. М., Бриков В. О., Мартин Г. Г. Підготовка зразків рослинних тканин для електронної мікроскопії (теоретичні та практичні аспекти): метод. посіб. Київ : Талком, 2015. 62 с.

Додаткова

1. Брайон О. В. Флуоресцентна мікроскопія рослинних тканин і клітин. Київ : Вища школа., 1973. 143 с.

2. Біологія і екологія людини. Загальна біологія: Методичні вказівки до лабораторних занять: Частина 1. Робота з мікроскопом. Водорості. Харків : ХНАМГ, 2007. 34 с.

3. Asquaah G. Principles of plant genetics and breeding. John Wiley & Sons, 2009. 740 p.

4. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Левенко Б. О. Основи біотехнології рослин: Підручник. Київ : НАУ, 2000. 248 с.

5. Мусієнко М. М. Фізіологія рослин. Київ : Либідь, 2005. С. 127.

6. Roshko V., Symochko L., Demchynska M., Mirutenko V.. Cytology & Genetics. Uzhhorod, 2015. 48 p.

7. Горячко А. М., Кулик С. П., Прокопенко О. В. Основи скануючої зондової мікроскопії та спектроскопії (ч. 2): Навчальний посібник / за ред. С.П. Кулика та О.В. Прокопенка. Київ : КНУ ім. Т. Шевченка, 2012. 170 с.

8. Зайцев Р. В. Методи дослідження структури тонких плівок : підручник / Р.В. Зайцев, М.В. Кіріченко, Л.В. Зайцева та ін. – Харків : ФОП Бровін О.В., 2021. 320 с.

9. Словник термінів та визначень із ботаніки (анатомії і морфології рослин). / Укладачі: Ю. С. Шелюк., Л. П. Ковальчук, В. П. Нехрещенюк. Житомир: Вид-во ЖДУ ім. І. Франка, 2020. 40 с.

8. ЗАВДАННЯ НА САМОСТІЙНУ РОБОТУ ТА САМОПЕРЕВІРКУ СТУДЕНТІВ

Основні запитання з курсу дисципліни

1. Ким, були винайдені перші мікроскопи?
2. Що таке мікроскопія?
3. Чим різняться науки гістологія та цитологія?
4. Як класифікують мікроскопи?
5. Методика приготування тимчасових та постійних препаратів для мікроскопії?
6. Дайте визначення терміну – роздільна здатність мікроскопу.
7. Для чого необхідна фіксація препаратів? Способи фіксації.
8. Що таке мікротом? Та їх, класифікація.
9. Які барвники використовуються у цитологічній та гістологічній практиці?
10. З чого отримують барвник кармін?
11. Етапи та принцип методики фарбування клітин за Грамом.
12. Описати оптичний пристрій біологічного мікроскопа.
13. В чому особливості флуоресцентної мікроскопії?
14. Назвіть найбільш поширені флуоресцентні барвники та спектр флуоресценції який вони збуджують.
15. Особливості будови та принципу роботи електронного мікроскопу.
16. Які барвники використовують для фарбування бактерій?
17. Методика виготовлення препарату «висяча капля».
18. Назвіть основні групи барвників за їх хімічним складом.
19. Методика фіксації матеріалу для вивчення процесу мітозу в клітинах рослин.
20. З чого складається оптична система світлового мікроскопа?
21. З чого складається механічна і освітлювальна системи мікроскопа?
22. Переваги дає фазово-контрастна мікроскопія.

23. Правила роботи та догляду за світловим мікроскопом.

Завдання на вирішення конкретних практичних ситуацій

1. Визначити загальне збільшення мікроскопу якщо збільшення оптичної лінзи становить:

а). Окуляр $10\times$ – об'єктив $10\times$ =

б). Окуляр $10\times$ – об'єктив $40\times$ =

в). Окуляр $15\times$ – об'єктив $40\times$ =

г). Окуляр $10\times$ – об'єктив $100\times$ =

д). Окуляр $10\times$ – об'єктив $90\times$ =

2. Потрібно вивчити об'єкти, розміри яких є меншими за $0,2$ мкм, але при цьому більші за $0,1$ мкм. Який метод світлової мікроскопії можна застосувати?

3. Необхідно дослідити найбільшу кількість цитологічних структур. Який із двох способів мікроскопіювання є правильним:

а). об'єктив $\times 90$, окуляр $\times 10$

б). об'єктив $\times 20$, окуляр $\times 20$

4. Потрібно виявити у клітині структури, розміри яких є менші за $0,1$ мкм, але при цьому більші за 100 нм. Який метод світлової мікроскопії потрібно використати?

5. При роботі з флуоресцентною мікроскопією, якщо наприклад був використаний барвник уранін А, який дає зелену флуоресценцію. Який світлофільтр потрібно використовувати для того, щоб блокувати інші світлові спектри, що можуть заважати дослідженню об'єкта?

6. Групу яких спеціальних барвників для мікроскопії можна використати для того, щоб перевірити наявність ліпідів у цитологічному або гістологічному препараті?

7. Яка довжина світлової хвилі (нм) є актуальною для ультрафіолетового, фіолетового, синього, зеленого, жовто-зеленого, жовтого, помаранчевого та червоного спектру?

Тестові завдання для самостійного контролю знань

1. Хто вперше винайшов мікроскоп?
 - а). Антоні ван Левенгук
 - б). Роберт Кох
 - в). Роберт Гук
 - г). Ніколас Лауренс Бурман

2. З комах виду кошеніль отримують основний цитологічний і гістологічний барвник для мікроскопії?
 - а). Еозин
 - б). Метиленовий синій
 - в). Кармін
 - г). Судан I

3. Роздільна здатність мікроскопу це?
 - а). Здатність розділяти зображення двох і більше близько розташованих точок об'єкта на окремі фрагменти.
 - б). Здатність видавати чітке роздільне зображення двох близько розташованих точок об'єкта.
 - в). Здатність розсіювати світловий потік після проходження його в діафрагмі.
 - г). Можливість отримувати яскраво освітлені об'єкти дослідження на темному полі.

4. Виходячи з роздільної здатності, розрізняють наступні види мікроскопів?
 - а). Оптичні (світлові), електронні, рентгенівські, скануючі зондові.
 - б). Люмінесцентні, оптичні (світлові).

- в). Оптичні (світлові), біологічні, стереоскопічні.
 - г). Жоден з варіантів.
5. Люмінесцентні мікроскопи основані на явищі:
- а). Методу темного поля.
 - б). Ультрафіолетового випромінювання.
 - в). Заломлення потоку світла в видозмінені оптичні лінзи.
 - г). Люмінесценції.
6. Який з мікроскопів має найбільше загальне збільшення?
- а). Металографічний.
 - б). Електронний.
 - в). Цифровий.
 - г). Біологічний.
7. В тубус мікроскопу вставляється?
- а). Окуляр.
 - б). Об'єктив.
 - в). Діафрагма.
 - г). Освітлювальна частина.
8. Джерело світла в мікроскопі може бути?
- а). Вбудоване.
 - б). Зовнішнє.
 - в). Вбудоване і зовнішнє.
 - г). Немає правильної відповіді.
9. Найбільш поширеним методом мікроскопії в світі є?
- а). Метод темного поля.
 - б). Люмінесцентна.
 - в). Світлова.
 - г). Стереоскопічна.

10. Що таке STED-мікроскопія?

- а). Різновид світлової оптичної мікроскопії, що володіє значним контрастом і просторовим дозволом.
- б). Мікроскопія на основі придушення спонтанного випромінювання.
- в). Використовується для вивчення в світлі прозорих неабсорбуючих об'єктів.
- г). Є гібридом у техніці візуалізації зображень, що акустично виявляє оптичний контраст через фотоакустичний ефект.

11. Для грубого фокусування об'єкта, що досліджується в мікроскопії використовують?

- а). Мікрогвинт.
- б). Регулювання діафрагми.
- в). Макрогвинт.
- г). Світлофільтр.

12. Що таке фіксація?

- а). Збереження матеріалу у стані, близькому до природного.
- б). Висушування об'єкта дослідження.
- в). Забарвлення об'єкта дослідження.
- г). Немає правильної відповіді.

13. В гістології формалін використовують для:

- а). Фіксації.
- б). Знежирювання.
- в). Забарвлення.
- г). Всі відповіді вірні.

14. Основний барвник гематоксилін видобувають?

- а). Комах кошенилі.
- б). Кампешового дерева.

- в). Створюють синтетично.
 - г). Особливого виду кактусів.
15. Металографічна мікроскопія базується на:
- а). Проходженні світла через об'єкт.
 - б). Основана на методі темного поля.
 - в). Відбитті потоку світла.
 - г). Основана на методі люмінесценції.
16. За основним хімічним складом, барвники поділяють на:
- а). Кислі та основні
 - б). Кислі, нейтральні та основні.
 - в). Нейтральні та основні
 - г). Нейтральні, основні та природні.
17. За здатністю забарвлювати певні цитологічні структури барвники поділяють?
- а). Ядерні, цитоплазматичні, спеціальні.
 - б). Ядерні, цитоплазматичні.
 - в). Ядерні, цитоплазматичні, основні.
 - г). Немає правильної відповіді.
18. Цитоплазматичні барвники забарвлюють?
- а). ДНК та РНК.
 - б). Лише ДНК.
 - в). РНК та клітинні включення.
 - г). ДНК та РНК клітинні включення.
19. Для гістохімічного виявлення жирів використовують?
- а). Судан I.
 - б). Судан II.
 - в). Судан III.

- г). Всі відповіді вірні.
20. Одним з методів гістохімічного виявлення ДНК є:
- а). Методом Кахаля.
 - б). Фарбування по Граму.
 - в). Методом Ван-Гізона.
 - г). Метод Фельгена.
21. Для проведення цитометрії з використанням окуляра-мікрометра, обов'язковим є для калібрування використання:
- а). Об'єктива-мікрометра
 - б). Об'єкта-мікрометра
 - в). Світлофільтра.
 - г). Координатного столика.
22. Індігокармін відносять до барвників групи?
- а). Цитоплазматичних.
 - б). Спеціальних.
 - в). Ядерних.
 - г). Не являється барвником.
23. При використанні об'єктивів великого збільшення (90×, 100×) використовують:
- а). Імерсійне масло.
 - б). Пальмове масло.
 - в). Дистильовану воду.
 - г). Всі відповіді вірні.
24. Уранін А, є люмінесцентним барвником і при приготуванні його розчину виділяє:
- а). Червону люмінесценцію.
 - б). Жовто-блакитну люмінесценцію.

- в). Помаранчеву люмінесценцію.
 - г). Зелену люмінесценцію.
25. Мікроскоп у якого є здатність спостерігати об'єкти двома очима та немає можливості приєднати відеокамеру називається?
- а). Біноккуляр.
 - б). Моноккуляр.
 - в). Триноккуляр.
 - г). Біологічним.
26. У якому році був збудований перший електронний мікроскоп?
- а). 1877 р.
 - б). 1956 р.
 - в). 1931 р.
 - г). 1980 р.
27. Збудження люмінесценції відбувається при?
- а). Ультрафіолетовому світлі
 - б). Інфрачервоному світлі.
 - в). Зелено-жовтому спектрі
 - г). Всі відповіді вірні.
28. Які основні функції конденсатора?
- а). Відбиває промені від об'єкта дослідження.
 - б). Фокусування поля зору.
 - в). Збирає і спрямовує промені від джерела світла на об'єкт.
 - г). Немає правильної відповіді.
29. Об'єктив мікроскопу закріплюється на:
- а). Револьвері
 - б). Тубусі.
 - в). Штативі

г). Немає правильної відповіді.

30. Біологічні мікроскопи це?

а). Спеціалізований клас мікроскопів, в якому для побудови зображення використовується спеціальний зонд для сканування поверхні

б). Основані на явищі люмінесценції об'єктів

в). Мікроскопи відбитого світла

г). Мікроскопи, через які проходить світло

Список кодів правильних відповідей

№ запитання	№ відповіді	№ запитання	№ відповіді	№ запитання	№ відповіді
1	а	11	в	21	б
2	в	12	а	22	в
3	б	13	а	23	а, б
4	а	14	б	24	г
5	г	15	в	25	а
6	б	16	б	26	в
7	а	17	а	27	а
8	в	18	а	28	в
9	в	19	г	29	а
10	б	20	г	30	г

9. КОРОТКИЙ СЛОВНИК ТЕРМІНІВ ТА ПОНЯТЬ

Гістологія – є окремим розділом біології, який займається вивченням будови тканин живих організмів.

Діафрагма мікроскопу – оправа оптичних деталей, основною функцією якої є обмеження потоку світла, або його направлення.

Довжина хвилі – це характеристика періодичної хвилі світла, що позначає найменшу відстань між точками простору, в яких хвиля має однакову фазу.

Електронна мікроскопія – це метод мікроскопії, при якому джерелом світла використовується потік електронів; роздільна здатність просвічувального електронного мікроскопа наближається до 0,1 нм, а для біологічних об'єктів практично складає 2 нм.

Загальне збільшення мікроскопа – це результат множення збільшення окуляра на збільшення об'єктива.

Зневоднення препарату – це методика фіксації, при якій, з досліджуваного препарату зростаючими концентраціями спирту (50°, 60°, 70°, 80°, 90°, 100°) відбувається процес висушування.

Інтерференційна мікроскопія – це метод мікроскопії, при якому отримують контрастні зображення нефарбованих прозорих живих клітин організмів, а також обчислюють суху вагу клітини.

Клітина – це основна структурна одиниця усіх живих організмів і є елементарною живою системою.

Клітинна мембранна – цитоплазматична структура, для якої властива вибіркова проникність.

Лазерна конфокальна мікроскопія – це метод мікроскопії, який забезпечує чітке зображення в фокусі по всьому полю; у поєднанні з комп'ютерною технікою отримують просторову реконструкцію досліджуваного об'єкта.

Лінза – найпростіший оптичний елемент, виготовлений з прозорих компонентів та обмежуваними двома заломлюючими поверхнями.

Люмінесценція – це нетеплове, спонтанне випромінювання світла в результаті його збудження хімічними або фізичними методами.

Макрогвинт – складова механічної частини мікроскопа, що використовується для значного переміщення тубусотримача.

Метод косоного освітлення – це різновид світлопольної мікроскопії, при якому світло на об'єкт направляють під досить великим кутом нахилу в напрямку об'єкта спостереження. Таким чином, підкреслюють рельєфність об'єкта за рахунок утворення тіней.

Мікрогвинт – складова механічної частини мікроскопа, що використовується для мінімального переміщення тубусотримача та контрастування зображення.

Мікрометр – це математична одиниця виміру. Тисячна частка міліметра, тобто $1 \text{ мм} = 1000 \text{ мкм}$, $1 \text{ мкм} = 10^{-6} \text{ м}$, або одна мільйонна частина метру, 1 нанометр (нм) становить 10^{-9} м .

Мікроскоп – складний оптичний лабораторний прилад для дослідження невидимих неозброєним оком об'єктів у збільшеному зображенні.

Мікротом – лабораторний прилад для отримання надтонких зрізів у мікроскопічному дослідженні.

Нейтральні барвники – цитологічні та гістологічні барвники, які отримують в результаті змішування основного та цитоплазматичного барвника.

Об'єктив мікроскопа – одна з основних оптичних лінз мікроскопа, за допомогою якої отримують збільшене дійсне, але обернене зображення об'єкта і виявляють тонкі деталі його структури.

Об'єкт-мікрометр – це металічна пластина зі склом, на якому нанесено лінійку довжиною 1 мм. Вона розділена на 100 частин, тобто поділка об'єкт-мікрометра складає 0,01 мм, або 10 мкм.

Окуляр мікроскопа – складова оптичної системи мікроскопа, що дає пряме, збільшене зображення досліджуваного об'єкта, що побудоване об'єктивом мікроскопа.

Окуляр-мікрометр – це круглі скляні деталі з нанесеною на них мірною сіткою або шкалою. Вони встановлюються у фокальній площині окуляра мікроскопа і дозволяють досліднику проводити точні вимірювання зразка.

Основні барвники (ядерні) – хімічні речовини за допомогою яких вибірково забарвлюють ядра клітини.

Поляризаційна мікроскопія – це метод мікроскопії, в основі якого лежить здатність різних структур клітин і тканин до заломлення поляризаційного світла.

Постійні цитологічні препарати – методика приготування препаратів для мікроскопічного дослідження, виготовляють за певною схемою, яка передбачає фіксацію та зневоднення матеріалу для попередження розкладання вихідної тканини.

Предметний столик мікроскопа – механічна частина мікроскопу, призначена для розміщення на ньому предметного скельця та препарату, що досліджується.

Прижиттєве фарбування – методика фарбування живих клітин вітальними барвниками в діапазоні концентрацій, що не викликають токсичного ефекту на клітинний організм.

Роздільна здатність мікроскопа – це фізична величина, що характеризує мінімальну відстань між двома точками, при якій вони ще роздільно зображуються даною оптичною системою. Чим менша частка помітна в мікроскопі, тим більшою вважається його роздільна здатність.

Суправітальне фарбування препарату – забарвлення живих клітин, які при цьому ізольовані з організму. Даним методом виявляють лізосоми (барвник нейтральний червоний), мітохондрії (янус зелений) та ретикулоцити крові (діамант-крезиловий синій).

Темнопольна мікроскопія – метод мікроскопії, що оснований на розсіюванні пучка світла на межі між фазами з різними показниками заломлення з використання спеціальних конденсаторів.

Тимчасові препарати – методика приготування препаратів для мікроскопічного дослідження, як живих клітин і тканин, так і зафіксованих.

Тубус мікроскопа – має форму циліндра, у якому зверху розташовується окуляри. Він рухомо з'єднаний з головкою тубусотримача.

Фазово-контрастна мікроскопія – це метод мікроскопії, який базується, що окремі ділянки прозорого препарату відрізняються від об'єктів навколишнього середовища за показником заломлення світла.

Фіксатори – речовини, які зупиняють всі метаболічні процеси у клітині та сприяють їх природньому збереженню.

Фіксація – це збереження матеріалу у стані, близькому до природного. Для цього потрібно швидко умертвити тканини, які беруть з невеликої кількості живого матеріалу.

Флуоресцентна мікроскопія – це метод мікроскопії, в основі якого покладено властивість деяких речовин до флуорисценції в ультрафіолетових променях світла.

Хімічні методи фіксації – це введення у клітину тієї чи іншої речовини або суміші, яка припиняє в ній процеси життєдіяльності, водночас зупиняючи всі процеси, зокрема процеси аутолітичного руйнування клітини.

Цитологія – наука, що вивчає будову, функції та основні етапи розвитку клітини найпростіших організмів, рослин і тварин.

Цитометрія – методика вимірювання розмірів, підрахунку кількості досліджуваних мікроскопічних препаратів.

Цитоплазматичні барвники (кислі) – хімічні речовини за допомогою яких, проводять забарвлення цитоплазми клітини.

Криворученко Роман Володимирович

Чуйко Дмитро Вікторович

МІКРОСКОПІЯ В СУЧАСНИХ НАУКОВИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ

методичні рекомендації

для самостійної роботи здобувачів другого (магістерського) рівня на основі

ПСЗО зі спеціальностей 211 «Ветеринарна медицина»

та 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза»

Комп'ютерний набір і верстка укладачів