

УТВЕРЖДАЮ

И.о. Директора

НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского

МГУ имени М.В.Ломоносова

_____ П.В.Сергиев

" ____ " _____ 20__ г.

ПРОГРАММА

повышения квалификации

**«Современная флуоресцентная микроскопия для биологов: от теории к
практике, от препарата к результату»**

Москва – 2026

1. Цель реализации программы

Программа предназначена для повышения квалификации исследователей в области биомедицины, использующих в своей практике методы микроскопии и желающих приобрести навыки применения новых или специальных методов микроскопии в биологии.

2. Формализованные результаты обучения

Слушатели получают теоретические и практические навыки использования современных микроскопических систем и продвинутых модальностей биологической оптической микроскопии.

В результате освоения программы курса слушатель:

1) должен знать:

основные принципы функционирования оптического микроскопа, физические основы различных модальностей флуоресцентной микроскопии, требования к пробоподготовке биологических образцов различного типа для микроскопического анализа.

2) должен уметь:

управлять микроскопом при помощи компьютерного интерфейса, осуществлять выбор наиболее оптимальной модальности микроскопии и метода пробоподготовки для решения конкретных экспериментальных задач, планировать и осуществлять эксперименты по флуоресцентной микроскопии биологических объектов, в том числе с использованием методов автоматизации.

3) должен владеть:

навыками управления моторизованным микроскопом, программирования автоматизированной регистрации мультиразмерных массивов микроскопических данных.

4) должен демонстрировать способность и готовность:

использовать полученные навыки в практической работе.

3. Содержание программы

Программа состоит из базового, продвинутого и специального блоков.

Базовый блок охватывает основные физические принципы в основе флуоресцентной микроскопии, устройство флуоресцентного микроскопа и приемы работы с ним, требования к образцам для наблюдения, основы иммуногистохимии, а так же базовые принципы цифровой микрофотографии.

Продвинутый блок посвящен принципам работы и применению в исследовательских целях лазерного сканирующего конфокального микроскопа, включая наблюдение толстых объектов и динамические эксперименты на клетках, синтезирующих флуоресцентные репортеры; восстановление флуоресценции после фотовыжигания (FRAP). Рассматриваются методы широкопольной микроскопии для разделения большого числа зондов и методы деконволюции.

Специальный блок включает метод микроскопии полного внутреннего отражения (TIRF), микроскопии со сверхвысоким разрешением на основе структурированного освещения, конфокальную микроскопию со спектральной детекцией, а также теорию некоторых других методов флуоресцентной микроскопии.

Учебный план
программы повышения квалификации
«Современная флуоресцентная микроскопия для биологов: от теории к
практике, от препарата к результату»

Категория слушателей (требования к слушателям) – Курс ориентирован на специалистов в области медицины, биологии, физиологии с незаконченным высшим и высшим образованием.

Срок обучения – 44 часов.

Форма обучения – очная (дневная).

№ п/п	Наименование Разделов	Всего, час.	В том числе	
			лекции	практич. и лаборат. занятия
1.	Основные понятия.	4	4	
2.	Оптика для микроскопии	4	2	2
3.	Пробоподготовка и внесение флуоресцентных меток.	2	2	
4.	Широкопольная флуоресцентная микроскопия.	10	4	6
5.	Лазерный сканирующий конфокальный микроскоп	10	4	6
6.	Метод микроскопии полного внутреннего отражения (TIRF).	3	1	2
7.	Метод микроскопии сверхвысокого разрешения на основе структурированного освещения (SIM).	8	4	4
8.	Мультифотонная микроскопия	1	1	
9.	Микроскопия локализации одиночных молекул (SMLM / STORM).	2	2	
Итоговая аттестация		Зачет.		

Учебно-тематический план
программы повышения квалификации
«Современная флуоресцентная микроскопия для биологов: от теории к практике, от препарата к результату»

№ п/п	Наименование Разделов	Всего, час.	В том числе	
			лекции	практич. и лаборат. занятия
1.	Основные понятия.	4	4	0
1.1	Явление флуоресценции. Сдвиг Стокса			
1.2	Дифракционный предел. Разрешающая способность.			
1.3	Основные практические принципы безопасного обращения с микроскопом			
2.	Оптика для микроскопии.	4	2	2
	Апертура, глубина резкости, яркость изображения. Коррекция аберраций. Другие характеристики объективов			
	Иммерсионная и заливочная среды. Разрешающая способность по глубине, глубина резкости. Функция рассеяния точки			
3.	Пробоподготовка и внесение флуоресцентных меток.	2	2	0
	Флуоресцентные красители и маркёры для биологических исследований – низкомолекулярные флуорохромы, конъюгаты, флуоресцентные белки. Внесение флуоресцентных маркеров в биологические объекты – иммуноцитохимия и генетические конструкции.			
	Подготовка материала для исследования с помощью флуоресцентных методов. Требования к покровным и предметным стёклам.			
	Спектральные характеристики меток. Стабильность флуорофоров и конъюгатов. Фотообесцвечивание и разрушение флуорохромов.			
	Прижизненные наблюдения. Фототоксичность. Инкубация клеток под микроскопом. Культуральная посуда для микроскопии.			
4.	Широкопольная флуоресцентная микроскопия.	10	4	6

	Микроскоп для наблюдения флуоресценции. Системы освещения, светоделение.			
	Схемы разделения сигнала нескольких флуорофоров. Кубы светофильтров, схемы Pinkel, Sedat			
	Совмещение флуоресцентной микроскопии и различных методов контрастирования в проходящем свете			
	Цифровые камеры. Теорема Котельникова, оптимальный размер пикселя. Размер поля зрения. Цветные и черно-белые камеры для флуоресцентной микроскопии. Регистрация слабых сигналов, динамический диапазон, соотношение сигнал/шум			
	Съемка с временным разрешением. Параметры, определяющие частоту съемки. Конфигурации для строго одновременной съёмки в нескольких каналах			
5.	Лазерный сканирующий конфокальный микроскоп	10	4	6
	Принципы конфокальной микроскопии. Разрешающая способность и функция рассеяния точки.			
	Компоненты оптической системы. Сканирующая головка. Лазеры. Детекторы. Возможности высокоскоростной съёмки и высокопроизводительной съёмки. Оптимизация параметров получения изображений.			
	Работа с z-стеками и трехмерная визуализация.			
	«Confocal superresolution».			
	Восстановление флуоресценции после фотовыжигания (FRAP).			
	Шумоподавление и деконволюция.			
	Конфокальная микроскопия со спектральной детекцией. Разделение спектров.			
6.	Метод микроскопии полного внутреннего отражения (TIRF).	3	1	2

7.	Метод микроскопии сверхвысокого разрешения на основе структурированного освещения (SIM).	8	4	4
8.	Мультифотонная микроскопия	1	1	
9.	Микроскопия локализации одиночных молекул (SMLM / STORM).	2	2	
Итоговая аттестация		Зачет.		

4. Материально-технические условия реализации программы

Микроскопические платформы с цифровыми камерами – 3 шт.

Система конфокальной микроскопии — 2 шт.

Система суперразрешения (SIM) – 2 шт.

Проектор или большой монитор – 1 шт.

USB-токен для ПО NIS Elements Ar (полная версия) – 3 шт.

5. Учебно-методическое обеспечение программы

Алиева И.Б. и др. Большой практикум по клеточной биологии. 2021. Изд. «Перо» Москва.

Pawley J. Handbook of Biological Confocal Microscopy, 2006. Springer.

Murphy D., Davidson M. Fundamentals of Light Microscopy and Electronic Imaging. 2013. Wiley Inc.

6. Требования к результатам обучения

Слушатели получат теоретические и практические навыки использования современных микроскопических систем и продвинутых модальностей биологической оптической микроскопии.

Итоговая аттестация будет проходить в форме интерактивного недифференцированного зачета, на котором от слушателей потребуется продемонстрировать навыки приготовления микропрепаратов, умение управления микроскопом, подбора оптимальных модальностей микроскопии и параметров регистрации изображений, а также алгоритмов пост-процессинга полученных данных.

7. Составители программы

Голышев Сергей Александрович, к.б.н., ст.н.с. отд. электронной микроскопии НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ

Киреев Игорь Игоревич, д.б.н., зав. отделом электронной микроскопии НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ

Овсянникова Наталья Леонидовна, к.б.н., н.с. отд. электронной микроскопии НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ

Лаврушкина Светлана Валерьевна, к.б.н., н.с. отд. электронной микроскопии НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ

Казаков Евгений Павлович, м.н.с. отд. электронной микроскопии НИИ ФХБ
имени А.Н.Белозерского МГУ