



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КАФЕДРА ОБЩЕЙ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

МЕТОДИЧЕСКИЕ РАЗРАБОТКИ

**Для самостоятельной подготовки студентов института клинической
медицины, института стоматологии, института педиатрии, института
профилактической медицины и института социально-гуманитарного и
цифрового развития медицины**

ТЕМА: КЛЕТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ. МИКРОСКОПИЧЕСКАЯ ТЕХНИКА

Составители: Ю.В. Мякишева – д.м.н., профессор
Д.С. Громова – старший преподаватель

Самара, 2025

Методические разработки предназначены для самостоятельной работы обучающихся на практических занятиях, а также для внеаудиторной работы для подготовки к занятиям и экзамену по дисциплине «Биология».

Методические разработки составлены в соответствии с рабочей программой дисциплины, а также согласно требованиям Федерального государственного образовательного стандарта.

ТЕМА: Клеточный уровень организации биологических систем. Микроскопическая техника

Актуальность темы. Навыки микроскопирования и приготовления микропрепаратов необходимы для успешной работы будущих специалистов в области патоморфологии, микробиологии, гистологии и др. Современные методы микроскопии являются важной методологической и методической базой медицинских и биологических исследований, позволяющей комплексно подойти к расшифровке механизмов клеточных реакций с учетом молекулярных изменений. Лечение пациентов с использованием микроскопа дает возможность проводить малоинвазивные оперативные вмешательства, которые имеют максимум плюсов, и минимум осложнений. Медицинские исследования с использованием микроскопов помогают выявить и предупредить опасные инфекции и вирусные заболеваний человека.

Цель занятия: изучить типы организации клеток, современные положения клеточной теории, освоить технику микроскопирования.

Формируемые компетенции. В процессе изучения темы у обучающихся формируются следующие универсальные, общепрофессиональные и профессиональные компетенции:

- УК-8: Способен создавать и поддерживать в повседневной жизни и профессиональной деятельности безопасные условия жизнедеятельности для сохранения природной среды, обеспечения устойчивого развития общества, в том числе при угрозе и возникновении чрезвычайных ситуаций и военных конфликтов
- ОПК-2: Способен проводить и осуществлять контроль эффективности мероприятий по профилактике инфекционных и неинфекционных заболеваний у населения (детей), формированию здорового образа жизни и санитарно-гигиеническому просвещению населения
- ОПК-2: Способен выявлять и оценивать морфофункциональные, физиологические состояния и патологические процессы в организме человека, моделировать патологические состояния *in vivo* и *in vitro* при проведении биомедицинских исследований
- ОПК-4: Способен проводить и осуществлять контроль эффективности мероприятий по профилактике, формированию здорового образа жизни и санитарно-гигиеническому просвещению населения
- ОПК-5: Способен оценивать морфофункциональные, физиологические состояния и патологические процессы в организме человека для решения профессиональных задач
- ОПК-8: Способен использовать основные физико-химические, математические и естественно-научные понятия и методы при решении профессиональных задач
- ПК-13: Способен проводить и осуществлять контроль эффективности мероприятий по профилактике инфекционных и неинфекционных заболеваний у населения (детей), формированию здорового образа жизни и санитарно-гигиеническому просвещению населения
- ПК-19: Оценка морфофункциональных, физиологических состояний,

физических, патологических процессов и генетических факторов в организме человека, управление живым организмом как сложной системой для решения профессиональных задач

- ПК-20: Способен проводить и осуществлять контроль эффективности мероприятий по профилактике инфекционных и неинфекционных заболеваний у населения (детей), формированию здорового образа жизни и санитарно-гигиеническому просвещению населения

Студент должен **знать**:

- устройство микроскопа
- правила работы с микроскопом
- уровни организации и свойства живого
- основные положения клеточной теории
- структурно-функциональную организацию про- и эукариотических клеток

Студент должен **уметь**:

- работать со специальной литературой по биологии
- работать с микроскопической техникой
- выявлять различные органоиды эукариотической клетки на готовых препаратах
- изготавливать временные микропрепараты

Студент должен владеть:

- техникой микроскопирования
- навыками научно-исследовательской работы
- владеть техникой изготовления слайдов по концептуальным вопросам биологии

ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК

Все разнообразие жизни на планете может быть сведено к двум основным формам - клеточной и неклеточной: клетки являются единицей строения подавляющего большинства организмов - растений, животных, грибов и бактерий, тогда как прионы (*это небольшие инфекционные агенты сугубо белковой природы. Такие же по составу белки имеются и в нормальной клетке, однако прионы обладают необычной третичной структурой. Попадая в организм с пищей и лекарственными препаратами, а также в результате медицинских манипуляций, прионы проникают в нейроны головного мозга, вызывают активацию определенного гена и помогают его продуктам приобретать необычную структуру, что приводит к накоплению «ненормальных» белков и дефициту нормальных. Вызывают неизлечимые в настоящий момент заболевания: «коровье бешенство», болезнь Крейтцфельда-Якоба, куру, фатальную семейную бессонницу и др.*), вирионы (*это мельчайшие возбудители болезней растений, в состав которых входит только низкомолекулярная РНК*) и вирусы относятся к неклеточным формам.

Клетка была открыта Р. Гуком в 1667 году. Изучением строения клетки, ее жизнедеятельности и взаимодействия с окружающей средой занимается наука цитология (от греч. *kytos* - полость,местилище, здесь - клетка, *logos* - наука,

учение), или клеточная биология. Своему появлению цитология обязана формулировке клеточной теории (М. Шлейден, Т. Шванн, 1838-1839 гг., дополнена Р. Вирховом, 1855 г.). Клеточная теория является обобщенным представлением о строении и функциях клеток как единиц живого, об их размножении и роли в формировании многоклеточных организмов.

Основные положения клеточной теории:

- 1) Клетка - основная структурная единица строения, функционирования и развития всех живых организмов, способная к самовоспроизведению и саморегуляции.
- 2) Клетки всех одноклеточных и многоклеточных организмов сходны по своему строению, химическому составу, основным процессам жизнедеятельности и обмену веществ.
- 3) Появление новых живых клеток возможно только путем деления материнской.

Развитие современной биологии привело к расширению клеточной теории и внесению в нее дополнительных пунктов:

- 1) Клетки ядерных и безъядерных организмов – имеют разный уровень организации и различаются по своей сложности и структурным компонентам.
- 2) Копирование генетической информации является основой деления клеток.
- 3) Клетки одного организма являются равнозначными по наследственной информации, их разделение на ткани определяется различным набором активированных белков.

Становление и доказательство клеточной теории позволило:

- Определить наиболее важные направления исследования живого, получить практические результаты, которые можно использовать для развития таких наук, как генетика, медицина, палеонтология.
- Изучить процессы размножения, найти новые методы лечения для врожденных и приобретенных заболеваний, определить причины возникновения многих из них.
- Создать такие науки как генетика, цитология, гистология, что стало основой для изучения структурных и генетических свойств различных животных, бактерий, растений. На основе этих знаний сейчас создаются новые лекарственные препараты, урожайные сорта растений, что позволяет обеспечить продовольственную безопасность человека и защиту его от многих болезней.
- Изучить процессы развития и размножения организмов, что дает возможность спрогнозировать их свойства и особенности, а также сделать уверенные предположения о свойствах вымерших на основе изучения палеонтологических находок и прояснить многие моменты истории развития живого.

В настоящее время различают два основных типа организации клеток: прокариотические и эукариотические.

Прокариотическая клетка (от греч. pro — перед, раньше, вместо, и karyon — ядро) не имеет ядра, ее наследственный аппарат не отделен от цитоплазмы мембранами. Эту область цитоплазмы называют нуклеоидом. Молекула ДНК имеет у прокариот кольцевую форму. Она, в отличие от ДНК эукариот, не образует комплексов с гистоновыми белками. Гены прокариот также имеют определенные структурно-функциональные различия с генами эукариот. В

прокариотической клетке может иметься и дополнительная молекула ДНК - плаزمид, которая переносится в процессе конъюгации от одной клетки к другой и обладает способностью встраиваться в основную молекулу ДНК. Единственными органеллами прокариот являются рибосомы. Они меньше по размерам, чем рибосомы эукариот. По скорости осаждения при дифференциальном центрифугировании их относят к 70S рибосомам. В прокариотической клетке могут иметься впячивания плазмалеммы - мезосомы, служащие для увеличения площади поверхности протекания химических реакций, но и они не относятся к мембранным органеллам. Включения в прокариотических клетках представлены гранулами гликогена и волютина, а также каплями жира, выполняющими запасающую функцию. Многие прокариоты имеют органеллы движения - жгутики - либо иные выпячивания - ворсинки, служащие для прикрепления к субстрату или обмена наследственной информацией в процессе конъюгации. Жгутики прокариот имеют ряд принципиальных отличий от жгутиков эукариот, в частности, они образованы белком флагеллином. В состав поверхностного аппарата прокариот, помимо плазмалеммы, входит также надмембранный комплекс, образованный клеточной стенкой и капсулой или облаком слизи. Основу клеточной стенки большинства прокариот составляет сложное органическое вещество - муреин. Муреин расщепляется компонентом слюны человека - лизоцимом, на чем основывается бактерицидное действие последнего. По особенностям строения клеточной стенки выделяют две группы прокариот - грамположительные и грамотрицательные. Капсула прокариот чаще всего представляет собой уплотненный слой слизи, тогда как облако не имеет четко очерченных границ. Компоненты поверхностного аппарата выполняют целый ряд функций: защищают прокариотическую клетку от воздействия факторов окружающей среды, в том числе проникновения бактериофагов, придают ей форму, помогают удерживать воду и принимают участие в транспорте веществ, служат резервуаром питательных веществ, объединяют клетки в колонии и цепочки, а также обеспечивают их прикрепление к субстрату. Некоторые прокариоты не способны образовывать клеточную стенку и капсулу изначально, либо утратили эту способность под воздействием антибиотиков и факторов окружающей среды. Средние размеры прокариотической клетки составляют 0,5—10 мкм. Большинство прокариот является одноклеточными организмами, к ним относятся бактерии, цианобактерии, или сине-зеленые водоросли, и архебактерии. По способу питания прокариот делят на гетеротрофов (паразиты, сапротрофы, мутуалисты и хищники) и автотрофов (цианобактерии и ряд хемосинтезирующих бактерий). Одним из них необходим кислород для осуществления дыхания (аэробы), а другим — нет (анаэробы). Примером анаэробных бактерий является ботулиническая палочка (клостридий). Размножаются бактерии бесполом способом — простым делением клетки и почкованием. У них известен и половой процесс — конъюгация. При неблагоприятных условиях бактерии могут образовывать покоящиеся формы — цисты и споры. Многие мутуалистические бактерии обитают в организме человека и на его покровах (микрофлора кишечника и кожи). Прокариоты

расщепляют органические вещества, завершая биогеохимические циклы, а также связывают атмосферный азот в почве. В результате их деятельности образовались кислород земной атмосферы и залежи многих полезных ископаемых. Бактерии используются в производстве продуктов питания и лекарственных препаратов, в качестве индикаторов загрязнения воды и т.д. Вместе с тем, бактерии являются возбудителями многих болезней человека (холера, дизентерия, чума и др.), животных, растений и грибов — бактериозов.

Эукариотическими (от греч. eu — хорошо, полностью, и karyon — ядро) называют клетки, в которых хотя бы на одной из стадий развития имеется ядро. ДНК эукариот представляют собой очень длинные линейные молекулы (от 10^7 до 10^{10} пар оснований). Они локализованы в ядре, связаны с гистонами и включают интроны. Средний размер эукариотических клеток составляет 10—100 мкм. Большинство эукариот является многоклеточными организмами. К ним относят растения, животные и грибы.

Уровни организации живого.

Все живые организмы, несмотря на их разнообразие, состоят из биологических макромолекул: нуклеиновых кислот ДНК и РНК, белков, полисахаридов и т.п. Именно с молекулярно-генетического уровня начинается разнообразие живой материи и процессов, лежащих в основе жизнедеятельности организмов.

Клеточный уровень. Клетка является структурной и функциональной единицей любого живого организма, единицей его развития. Именно на клеточном уровне происходит передача информации, энергии и превращение веществ.

Организменный уровень. Его элементарной единицей является особь. Рассматриваемый в экологии первый уровень организации материи - организм, представляется как целостная система, которая взаимодействует как с живыми, так и с неживыми компонентами окружающей среды. Весь цикл жизненного развития особи: от момента зарождения до смерти, называется онтогенезом. Онтогенез включает в себя рост организма и дифференциацию, то есть возникновение различий между однородными на начальной стадии развития клетками. Онтогенез - необходимое и существенное звено функционирования всего живого. Нарушения, происходящие на любой стадии онтогенезе, приводят к появлению уродств и даже гибели организма. Современный онтогенез организмов сложился в результате длительной эволюции. Историческое развитие организмов получило название филогенеза. Э. Геккель сформулировал биогенетический закон: онтогенез всякого организма есть краткое и сжатое повторение его филогенеза.

Популяционно-видовой уровень. Организмы, похожие по своим свойствам и функциям, образуют следующий уровень - биологический вид (К. Линней). При этом отдельные особи, входящие в один вид, все же отличаются друг от друга по индивидуальным признакам. Все они объединены в биологический вид генофондом (совокупностью генов), что обеспечивает их способность к размножению в пределах этого вида. За счет индивидуальных различий особи в разной степени приспособлены переносить изменения внешней среды

(температуры, влажности, количества питательных веществ). Часть особей при таких изменениях могут погибнуть, но в целом, популяция выживает за счет более приспособленных особей. Именно на популяционном уровне происходят элементарные эволюционные преобразования.

Биогеоценотический уровень. В природе практически не встречается изолированных популяций, разные популяции, так или иначе, взаимодействуют между собой. Такие сообщества популяций разных видов, обитающие на одной территории и взаимодействующие между собой, называются биоценозом. Территория, на которой распространен биоценоз, и совокупность условий неживой среды, характерная для этой территории, называется биотопом. Единую природную систему, состоящую из взаимодействующих друг с другом биоценоза и биотопа академик В.Н. Сукачев назвал биогеоценозом. Биогеоценоз является разновидностью более общего понятия экосистема, то есть это наземная экосистема.

Биосферный уровень. Биосфера включает в себя все биогеоценозы, все земные экосистемы, то есть является высшим уровнем организации живой материи на Земле. Для биосферного уровня характерны круговорот веществ и превращение энергии.

Микроскопия.

Мир клеток оставался неизвестным до тех пор, пока люди не создали микроскопы. Первый микроскоп был изобретен еще в XVI веке. В 1665 году Р. Гук в микроскоп, который он сам создал, впервые наблюдал срез пробковой ткани дерева. Основным инструментом изучения клеток долгое время оставался световой микроскоп. В тридцатые годы XX столетия изобрели трансмиссионный (просвечивающий) электронный микроскоп. Принцип устройства электронного микроскопа тот же самый, что и у светового, только вместо видимого света используется пучок электронов. Для фокусировки электронов в этом микроскопе вместо обычной оптики используются так называемые электромагнитные «линзы». Он позволяет наблюдать детали строения, недоступные для наблюдения в световой микроскоп.

Световая микроскопия - комплекс методов, использующих различные оптические эффекты. Характер и видимые детали увеличенного изображения микроскопического препарата сильно зависит от способа освещения: различают микроскопию в отраженном и проходящем свете, а также микроскопию в невидимых лучах (УФ- и ИК-микроскопию), а также другие специальные техники. Иммерсионная микроскопия - метод микроскопического исследования малых объектов с помощью погружения объектива светового микроскопа в среду с высоким коэффициентом преломления, расположенную между микроскопическим препаратом и объективом. Фазово-контрастная микроскопия основана на получении, с помощью специальных приспособлений, увеличенных изображений, имеющих повышенную контрастность для наиболее сложных, прозрачных, даже бесцветных микрообъектов, различающихся лишь по показателю преломления (плотности) структур - чаще всего живых микроорганизмов или иных клеток.

Устройство светового микроскопа. Микроскоп состоит из трех основных систем (частей): осветительной, оптической и механической (рис. 1). Осветительная система обеспечивает наилучшее освещение изучаемого объекта, оптическая позволяет получить его увеличенное изображение, механическая – объединяет две первые и способствует их слаженной работе.

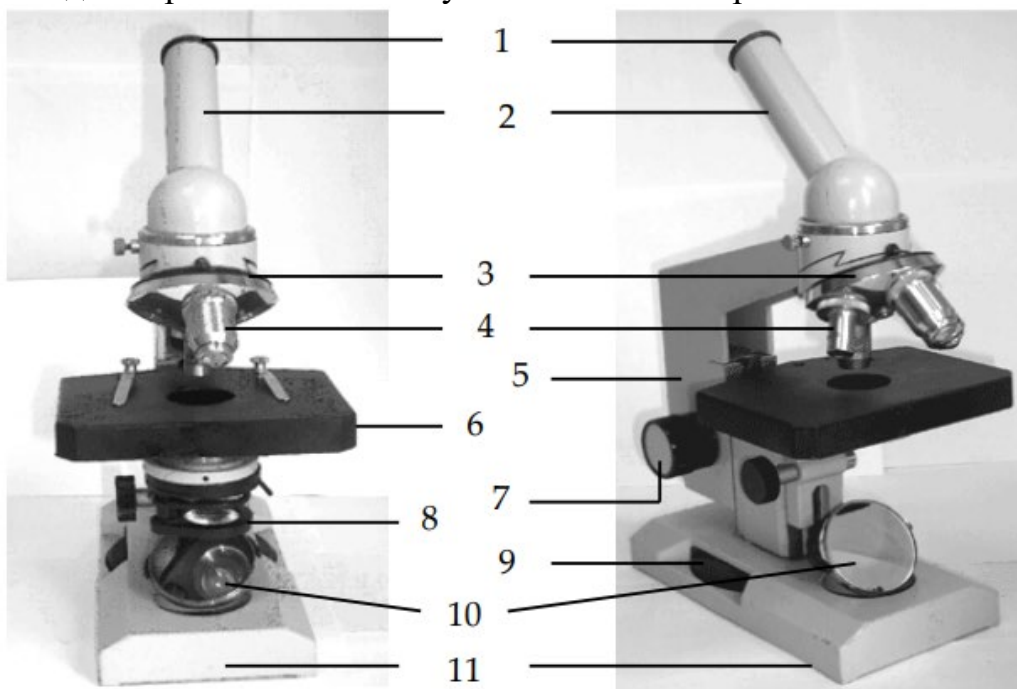


Рис.1. Устройство светового микроскопа «Биолам»

1 – окуляр; 2 – тубус; 3 – револьверное устройство; 4 – объектив; 5 – тубусодержатель; 6 - предметный столик; 7 – макрометрический винт; 8 – конденсор, ирисовая диафрагма и светофильтр; 9 – микрометрический винт; 10 – зеркало; 11 –основание микроскопа.

Осветительная система состоит из конденсора, ирисовой диафрагмы, откидного кольца для светофильтра, дополнительной откидной линзы и зеркала (или осветителя). Конденсор укреплен над зеркалом и состоит из 2–3 линз, вставленных в цилиндрическую оправу. Он собирает параллельные лучи, идущие от источника света (или отраженные зеркалом) в одной точке – фокусе, которая должна находиться в плоскости препарата. В нижнюю часть конденсора встроена ирисовая диафрагма. Она состоит из тонких металлических пластинок («лепестков»), подвижно укрепленных в круглой оправе. С помощью специального рычажка пластинки можно сдвигать и раздвигать, получая в центре диафрагмы отверстие разной величины. При уменьшении отверстия задерживаются боковые лучи света, которые непосредственно не принимают участия в формировании изображения, в результате чего получается более четкая картина объекта. Обычно при использовании в работе малого увеличения и интенсивного освещения, пластинки диафрагмы сдвигают, уменьшая отверстие и, наоборот, при большом увеличении и слабом освещении препарата диафрагму раздвигают полностью. Под конденсором укреплено откидное кольцо, в которое вставляют светофильтр из синего или матового стекла, чтобы уменьшить яркость освещения объекта в случае использования искусственного

источника света. Под диафрагмой находится дополнительная откидная линза, которую используют при микроскопировании с малым увеличением. Конденсор вместе со светофильтром может перемещаться вверх и вниз в пределах 20 мм при помощи специального винта. При подъеме или опускании его с помощью этого винта соответственно конденсируется или рассеивается свет, падающий от зеркала на объект. Регулировка высоты положения конденсора производится каждый раз при смене микроскопируемого препарата, чтобы совместить его фокус с плоскостью объекта и улучшить четкость его изображения.

Ниже конденсора расположено зеркало. Оно подвижно соединяется со штативом микроскопа с помощью тоже подвижной вилки. Зеркало можно вращать во взаимно перпендикулярных плоскостях. Это позволяет направлять лучи, отраженные зеркалом, от источника света через конденсор и отверстие предметного столика на объект. Зеркало двустороннее: одна сторона его плоская, другая – вогнутая. Плоской стороной пользуются при работе с большим увеличением и с применением электроосветителя. Вогнутое зеркало применяют в тех случаях, когда работают с малым увеличением и рассеянным светом. При работе с зеркалом лучше всего использовать естественное освещение, причем рассеянное, а не прямые солнечные лучи. Если источником освещения служит искусственный свет, удобнее и желательно пользоваться матовыми лампами. Вместо зеркала может использоваться электроосветитель. Он устанавливается под конденсором в гнездо подставки.

Оптическая система – наиболее важная часть микроскопа. Она представлена объективами и окуляром. В свою очередь, объектив является важнейшей составляющей оптической системы. Именно объектив дает действительное увеличение и обратное изображение изучаемого объекта. Объектив состоит из нескольких линз, вставленных в металлическую оправу. Он может содержать до 6 и более (10–20) линз. Его оптические свойства в большей мере зависят от количества и качества линз. Самая главная линза – наружная, ее называют фронтальной. Чем больше кривизна этой линзы, тем больше увеличение объектива, меньше его рабочее расстояние и поле зрения. Рабочее расстояние – это расстояние от фронтальной линзы до плоскости препарата при сфокусированном объекте. Линзы, расположенные в объективе выше фронтальной, обеспечивают четкость изображения. Каждый объектив характеризуется своим собственным увеличением, которое обозначено цифрами, выгравированными на его оправе. Например, на лабораторных занятиях по анатомии растений чаще всего используют объективы 8х (малое увеличение) и 40х (большое увеличение). Это значит, что данные объективы увеличивают изображение объекта в 8 и 40 раз соответственно.

При микроскопировании следует обращать внимание на рабочее расстояние объектива, о котором говорилось выше. У объектива 8х оно составляет около 9,2 мм, а у объектива 40х – около 0,6 мм. Учитывая малое расстояние при большом увеличении, опускать объектив надо осторожно, чтобы не раздавить препарат. Поскольку объектив малого увеличения дает большое поле зрения, его используют, во-первых, для рассмотрения общего плана строения объекта, и, во-вторых, для поиска участков для более подробного их изучения с помощью

большого увеличения. Окуляр имеет более простое строение по сравнению с объективом. Название его связано с тем, что при работе с микроскопом он обращен к глазу. Окуляр состоит из 2–3 линз и диафрагмы, встроенных в металлический цилиндр. Верхнюю линзу называют глазной, а нижнюю – собирательной. Между линзами расположена диафрагма, которая задерживает боковые лучи и ограничивает поле зрения, что обеспечивает более контрастное изображение. Нижняя собирательная линза фокусирует изображение, которое объектив строит в плоскости диафрагмы. На оправе окуляра имеются цифры – показатели его увеличения. Для лабораторных занятий чаще используют окуляры 10х и 15х, которые увеличивают изображение в 10 и 15 раз соответственно. Таким образом, общее увеличение микроскопа равно увеличению объектива, умноженному на увеличение окуляра. Например, $8 \times 15 = 120$; $40 \times 15 = 600$. Получается, при использовании окуляра, увеличивающего в 15 раз и объектива малого увеличения, объект в сумме увеличивается в 120 раз, а большого – в 600 раз. В целом изображение, которое получается с помощью микроскопа, оказывается дважды увеличенным и обратным (перевернутым) по отношению к изучаемому объекту. То, что получается мнимое изображение, особого значения не имеет, т.к. изображение все равно можно рассмотреть, зарисовать, измерить, сфотографировать. Некоторым неудобством является только то, что изображение оказывается обратным исходному объекту: его левая сторона будет справа, а верхняя – снизу, и наоборот. Это следует учитывать при интерпретации изображения.

Для использования всех возможностей микроскопического метода важно иметь представление о разрешающей способности оптической системы микроскопа. Разрешающая способность микроскопа определяется минимальными расстояниями между двумя точками (или линиями), когда они не сливаются в одну. Чем меньше это расстояние, тем выше разрешающая способность. Причем качество изображения определяется разрешающей способностью объектива, т. к. окуляр, увеличивая изображение, не выявляет в нем новых деталей. Так, разрешающая способность объектива 8х приблизительно равна 1,5 мкм, а объектива 40х – 0,5 мкм. Оптическая и осветительная системы микроскопа строго отцентрированы. Механическая система состоит из основания микроскопа, тубусодержателя, механизмов грубой и тонкой наводки (фокусировки), винта конденсора, тубуса, револьвера (с объективами) и предметного столика.

Основание микроскопа – это массивная площадка, на которой расположены все другие части микроскопа. У современных приборов она имеет прямоугольную форму и обеспечивает их устойчивость в процессе работы. К основанию неподвижно прикреплен тубусодержатель прямоугольной формы. В его нижнюю часть вмонтирован механизм, который с помощью макровинта может перемещать тубусодержатель по вертикали до 60 мм. Он предназначен для грубой фокусировки, и его обычно используют при работе с объективом малого увеличения. В основании микроскопа находится механизм тонкой (точной) наводки. Микровинт, с помощью которого осуществляется этот процесс, имеет форму диска. При полном обороте винта-диска тубусодержатель

передвигается по вертикали на 100 мкм. Микровинт используют при работе с большим увеличением. При вращении каждого из этих винтов по часовой стрелке тубусодержатель опускается, а при вращении против часовой стрелки – поднимается. Механизмы макро- и особенно микрофокусировки изготовлены очень точно и поэтому требуют осторожного обращения. Вращать их следует плавно и осторожно, без рывков и применения силы, в противном случае они легко ломаются. К механической части микроскопа относят также винт конденсора, о котором уже шла речь ранее. Он расположен с правой стороны микроскопа под предметным столиком и обеспечивает перемещение конденсора вверх и вниз. В верхней части тубусодержателя находится головка с двумя гнездами: верхнее гнездо служит для укрепления тубуса, нижнее – револьвера. Тубус представляет собой металлическую трубку, в верхнее отверстие которой вставляется окуляр, а нижнее закрепляется в гнезде тубусодержателя. Револьвер – это специальное приспособление для смены объективов. Он имеет форму диска с несколькими гнездами, в которые ввинчиваются объективы. Поворотом револьвера можно заменить один объектив на другой. При этом о правильной установке объектива свидетельствует легкий щелчок. Сам же револьвер вставляется в нижнее гнездо тубусодержателя. Тубус и револьвер обеспечивают строго центрированное положение окуляра и объектива. Револьвер не следует самостоятельно вынимать из гнезда, так как при повторном его закреплении в гнезде можно нарушить отцентрированное положение объективов. Тубус с объективами перемещается по вертикали вместе с тубусодержателем, движение которого обеспечивается работой макро- и микрометрических механизмов. В результате этого производится грубая и тонкая фокусировка микроскопа. Важной составляющей механической системы микроскопа является предметный столик, на который помещают для изучения микропрепарат. В центре столика имеется круглое отверстие, в которое может входить верхняя часть конденсора. В предметном столике есть еще два отверстия, которые используются, во-первых, для укрепления зажимов, удерживающих неподвижно предметное стекло с микропрепаратом, во-вторых, для установки препаратопроводителя, который позволяет перемещать исследуемый объект в двух взаимоперпендикулярных направлениях: вправо-влево, вперед-назад. Предметное стекло с исследуемым объектом всегда помещают над центральным отверстием столика, чтобы его освещал пучок лучей света, идущий от зеркала через конденсор.

Правила работы с микроскопом:

- 1) Установить микроскоп слева от себя
- 2) Поднять конденсор до уровня предметного столика, открыть диафрагму
- 3) Поставить объектив малого увеличения
- 4) Установить тубус в рабочее положение с помощью макрометрического винта на высоту 1 см от объектива до предметного столика
- 5) Максимально осветить поле зрения зеркалом
- 6) Положить препарат в центр отверстия предметного столика покровным стеклом вверх, закрепить клеммами

- 7) Опустить тубус с помощью макровинта на расстояние 2 мм от препарата до объектива
- 8) Поднять тубус медленным вращением макровинта до появления чёткого изображения объекта.
- 9) Изучить препарат, передвигая его
- 10) При работе с малым увеличением пользоваться только макровинтом
- 11) Отцентрировать необходимую часть препарата для работы с большим увеличением
- 12) Установить объектив большого увеличения
- 13) Вращением микровинта добиться чёткого увеличения. Изучить препарат
- 14) При работе с большим увеличением использовать только микровинт
- 15) Закончив работу, поставить микроскоп в нерабочее положение (на малое увеличение, на 1,5 см от предметного столика)

В настоящее время разработаны виды микроскопов, позволяющие существенно расширить возможности обычной оптической микроскопии.

Светлопольная микроскопия позволяет исследовать объекты в проходящем свете в светлом поле. Данный вид микроскопии предназначен для исследования морфологии, размеров клеток, их взаимного расположения, структурной организации клеток и других особенностей. У светового микроскопа максимальная разрешающая способность составляет 0,2 мкм, что обеспечивает высокоточное увеличение микроскопа до 1500х.

Фазово-контрастная микроскопия используется для получения высококонтрастных изображений прозрачных образцов, таких как живые клетки, микроорганизмы, тонкие кусочки ткани, литографические узоры, волокна, латексные дисперсии, осколки стекла и субклеточные частицы, включая ядра и другие органеллы. Метод контраста участка использует оптический механизм для того, чтобы перевести мельчайшие изменения в участке в соответствующие изменения в амплитуде, которые можно визуализировать как разницы в контрасте изображения. Одно из главных преимуществ микроскопии контраста участка в том, что живущие клетки можно рассмотреть в их естественном положении, без предварительного убийства. В результате динамика протекающих биологических процессов может наблюдаться и регистрироваться в высоком контрасте, с высокой четкостью мельчайших деталей образца.

Чтобы хорошо визуализировать эти биологические материалы, они должны иметь контраст, вызванный надлежащими показателями преломления, или окраску. Поскольку красители обычно токсичны, для достижения контраста может использоваться темная поляризационная микроскопия. В темнопольной микроскопии конденсатор предназначен для формирования «полого» конуса света. В темной микроскопии объектив находится в темной полости этого конуса, а свет распространяется вокруг объектива, но не входит в зону конуса. Все поле зрения кажется темным, но когда на предметный столик помещается образец, он кажется ярким на темном фоне. Он похож на заднее освещение объекта, который может быть того же цвета, что и фон, на котором он сидит, — чтобы он выделялся. Темнопольная микроскопия позволяет увидеть объекты,

величина которых измеряется сотыми долями микрометра, что находится за пределами разрешающей способности обычного светлопольного микроскопа. Однако наблюдение за объектами в темном поле позволяет исследовать только контуры клеток и не дает возможности рассмотреть их внутреннюю структуру.

Люминесцентная микроскопия предназначена для исследования объектов с применением методов флуоресцентного контрастирования (при освещении сверху через объектив) и окрашенных препаратов в проходящем свете (классическое освещение по Келлеру).

В проходящем свете проводятся исследования: цитологические, морфологические, молекулярно-генетические, иммунологические, микробиологические.

Электронная микроскопия - совокупность электронно-зондовых методов исследования микроструктуры твердых тел, их локального состава и микрополей (электрических, магнитных и др.) с помощью электронных микроскопов - приборов, в которых для получения увеличения изображений используют электронный пучок. Электронная микроскопия включает также методики подготовки изучаемых объектов, обработки и анализа результирующей информации. Различают два главных направления электронной микроскопии: трансмиссионную (просвечивающую) и растровую (сканирующую), основанных на использовании соответствующих типов. Они дают качественно различную информацию об объекте исследования и часто применяются совместно. Известны также отражательная, эмиссионная, оже-электронная, лоренцова и иные виды электронной микроскопии, реализуемые, как правило, с помощью приставок к трансмиссионным и растровым электронным микроскопам.

Рентгеновская микроскопия — совокупность методов исследования микроскопического строения вещества с помощью рентгеновского излучения. В рентгеновской микроскопии используют специальные приборы — рентгеновские микроскопы. Разрешающая способность достигает 100 нм, что в 2 раза выше, чем у оптических микроскопов (200нм). Теоретически рентгеновская микроскопия позволяет достичь на 2 порядка лучшего разрешения, чем оптическая (поскольку длина волны рентгеновского излучения меньше на 2 порядка). Однако современный оптический микроскоп - наноскоп имеет разрешение до 3-10нм.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ПРОВЕРКИ

1. Укажите правильные варианты ответа.

1.1. Неклеточные формы жизни

А) бактерии и синезеленые водоросли

Б) бактерии и вирусы

В) вирусы

Г) вирусы и зеленые водоросли

Д) архебактерии

1.2. Муреиновый компонент характерен для оболочки клеток

А) грибов

- Б) животных
- В) человека
- Г) бактерий
- Д) высших растений

1.3. При микроскопии окрашенного препарата, приготовленного из культуры стафилококка, диаметр которого 1 мкм, получено изображение диаметром 0,9 мм. Определить, при каком сочетании объектива и окуляра проводилась микроскопия?

- А) х90 и х7.
- Б) х90 и х10.
- В) х90 и х15.
- Г) х40 и х15.

1.4. При микроскопии препарата с использованием объектива х90 и окуляра х10 выявлена слабая освещенность поля зрения. Ваши действия по устранению этого недостатка:

- А) поднять конденсор до уровня предметного столика.
- Б) проверить и открыть диафрагму конденсора.
- В) нанести на препарат иммерсионное масло.

1.5. Микровинт микроскопа предназначен для:

- А) фокусировки при работе с объективом х40.
- Б) фокусировки при работе с объективом х90.
- В) перемещения препарата при микроскопии при работе с объективом х90.

1.6. Ученый, который ввел термин «клетка»

- А) Р. Гук
- Б) Г. Галилей
- В) М. Мальпиги
- Г) К. Вольф

1.7. Последовательность событий становления цитологии как науки:

- А) изобретение микроскопа
- Б) описание клеток растений
- В) описание клеток животных
- Г) представление о сходстве клеточного строения растений и животных
- Д) клеточная теория строения всех организмов

1.8. Основные постулаты современной клеточной теории:

- А) клетка – элементарная единица живого
- Б) клетка увеличивается путем деления исходной клетки
- В) клетки гомологичны по строению и по основным свойствам
- Г) клетки многоклеточных организмов тотипотентны
- Д) протоплазма – клеткообразующая масса

1.9. Микроскопия, которая позволяет выявить структуры, обладающие фотолюминесценцией

- А) флуоресцентная
- Б) ультрафиолетовая
- В) интерференционная
- Г) поляризационная

Д) фазово-контрастная

1.10. Микроскопия, основанная на преобразовании сдвига фазы в изменение амплитуды

А) интерференционная

Б) поляризационная

В) флуоресцентная

Г) ультрафиолетовая

2. Решите ситуационные задачи.

2.1. В клиническую лабораторию доставили образец ткани пациента, полученный в результате резекции. Врачу необходимо срочно получить ответ о состоянии органа после его удаления. Каким методом можно быстро приготовить гистологический срез?

2.2. Микроскоп установлен напротив включенного источника искусственного освещения, однако, поле зрения в окуляре темное. Что следует предпринять и в какой последовательности, чтобы поле зрения стало максимально освещенным?

2.3. При малом увеличении микроскопа получено качественное изображение объекта. При переходе к рассмотрению объекта при большом увеличении микроскопа линза объектива упирается в покровное стекло и не может принять нормальное положение. Объясните причину данного дефекта и последовательность ваших действий по выходу из такой ситуации.

ЛИТЕРАТУРА ДЛЯ ПОДГОТОВКИ

1. Биология : учебник для студентов вузов / МЗ РФ, ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова; под ред. Н. В. Чебышева. - Москва : МИА, 2016. - 635 с.ил. - ISBN 978-5-9986-0229-0.

2. Биология : учебник : в 2 т.. Т. 1 / под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. - 725 с.ил. - ISBN 978-5-9704-4568-6.

3. Биология : учебник : в 2 т.. Т. 2 / под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. - 553 с.ил. - ISBN 978-5-9704-4569-3.

4. Биология : учебник : в 2 т.. Т. 2 / В. Н. Ярыгин, В. В. Глинкина, И. Н. Волков [и др.] ; под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 553 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-3565-6. 5. Биология : учебник : в 2 т.. Т. 1 / В. Н. Ярыгин, В. В. Глинкина, И. Н. Волков [и др.] ; под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 725 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-3564-9.

6. Биология : учебник : в 2 томах: Т. 2 / под редакцией В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. - 553 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-5308-7.

7. Биология : учебник : в 2 томах: Т. 1 / под редакцией В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. - 725 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-5307-0.

8. Практикум по биологии: учебно-методическое пособие / Ю.В. Мякишева, Р.А. Щепеткова, Д.С. Громова, А.Ф. Павлов, И.С. Павлов, Ю.А. Халитова ; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. - Самара: ИД «Би Групп», 2023. - 100 с.

9. Биология. Т. 1.: учебник: в 2 т. / под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2023. - 736 с. - ISBN 978-5-9704-7494-5. - Текст: электронный // ЭБС

"Консультант студента" : [сайт]. - URL :
<https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970474945.html>
10. Биология. Т. 2. : учебник : в 2 т. / под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2023. - 560 с. - ISBN 978-5-9704-7495-2. - Текст : электронный // ЭБС
"Консультант студента" : [сайт]. - URL :
<https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970474952.html>