

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова
Российской академии наук



РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ

**«Электронная микроскопия и рентгеноспектральный анализ для
биологов»**

(наименование дисциплины)

Направление:

06.06.01 Биологические науки

Направленности:

«Зоология», «Энтомология», «Ихтиология», «Экология», «Гидробиология»,
«Паразитология»

Квалификация: **Исследователь. Преподаватель-исследователь.**

Москва, 2015 г.

Аннотация

Дисциплина «**Электронная микроскопия и рентгеноспектральный микроанализ для биологов**» реализуется в рамках основной профессиональной образовательной программы высшего образования - программы подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук (ИПЭЭ РАН) по группе специальностей «Биологические науки».

Основным источником материалов для формирования содержания программы являются: учебники, монографические издания, публикации, материалы конференций, симпозиумов, семинаров, интернет-ресурсы. Общая трудоемкость дисциплины по учебному плану составляет 72 академических часа (2 зачетных единицы). Дисциплина реализуется на 1 году обучения. Текущая аттестация проводится не менее 2 раз в соответствии с заданиями и формами контроля, предусмотренными настоящей программой. Промежуточная оценка знания осуществляется в форме зачета.

Цель дисциплины: обучение теоретическим основам электронной микроскопии и практическим навыкам работы на современных электронных микроскопах.

В результате изучения дисциплины «Электронная микроскопия и рентгеноспектральный микроанализ для биологов» аспирант должен достичь следующих результатов:

Знать:

- основы физики формирования электронного пучка;
- устройство электронных микроскопов;
- процессы, протекающие в твердом теле при взаимодействии с электронным пучком;
- методы подготовки биологических объектов к изучению в электронном микроскопе;
- возможности и ограничения приборов.

Уметь:

- получать и анализировать стандартные электронно-микроскопические изображения;
- определять химический состав исследуемых биологических объектов.

Владеть:

- навыками подготовки биологических объектов к изучению в электронном микроскопе;
- навыками работы на растровых электронных микроскопах CamScan MV 2300 и MIRA 3 LMH;
- навыками работы в программе микроанализа AZtec;
- принципами обработки результатов микроанализа.

Структура дисциплины:

Вид занятий	Количество часов
Лекции	13
Лабораторно-практические занятия	13
Самостоятельная работа	44
Зачет	2
ИТОГО	72

Содержание дисциплины:

№	Наименование темы (раздела)	Краткое содержание темы (раздела)
1	Общая информация по электронной микроскопии и комплементарным методам.	Введение электронную микроскопию. История развития. Краткий обзор приборов и методов, используемых в современной электронной микроскопии, их возможностей и ограничений по отношению к биологическим объектам.
2	Сканирующий электронный микроскоп (СЭМ) и принципы его работы. Подготовка биологических объектов к изучению в сканирующем электронном микроскопе. Двухлучевые системы, метод ионного травления. Корреляционная микроскопия.	Разбирается схема устройства СЭМ и принципы его работы. Формирование электронного пучка, типы катодов и их характеристики. Устройство электронно-оптической колонны. Вакуумная система. Камера образцов. Детекторы: детектор вторичных электронов Эверхарда-Торнли, твердотельный детектор отраженных электронов, детектор «на просвет». Формирование изображения: фокусировка и сканирование. Выбор оптимальных параметров работы СЭМ в зависимости от особенностей образца и поставленной задачи. Приемы работы для получения изображений при больших увеличениях. Приемы работы для получения изображений с большой глубиной резкости. Приемы работы для получения изображений с широким полем обзора без искажений. Приемы работы с деликатными образцами и образцами, не проводящими электрический ток. Выбор оптимального тока зонда. Получение стереоизображений. Фотографирование изображений. Автоматизированная обработка изображений, включающая оценку дисперсности среднего размера, протяженности границ, формы и других параметров структуры. Обзор основных этапов подготовки биологических объектов к изучению в СЭМ (фиксация, обезвоживание, высушивание, подготовка столика для СЭМ, создание поверхностной электропроводности). Подготовка к сеансу СЭМ. Обработка и хранение первичной информации. Архивирование данных, подготовка данных к публикации. Особенности длительного хранения препаратов биологических объектов для СЭМ. Перспективы использования методов ионного травления и корреляционной микроскопии в биологии.
3	Рентгеноспектральный микроанализ в сканирующей	Основные физические принципы рентгеноспектрального микроанализа с помощью волнового и энергодисперсионного спектрометров. Рекомендации по настройке СЭМ для

	электронной микроскопии.	энергодисперсионного микроанализа. Рентгеноспектральный микроанализ на качественном и количественном уровне. Требования, которым должен соответствовать образец для корректного количественного микроанализа. Локальность рентгеноспектрального микроанализа и способы ее улучшения. Мертвое время. Погрешность микроанализа. Программное обеспечение рентгеноспектрального микроанализа. Работа с системой энергодисперсионного микроанализа AZtecOne X-act. Анализ химического состава в точке, по линии, картирование, количественная оптимизация.
4	Трансмиссионный электронный микроскоп (ТЭМ) и принципы его работы. Подготовка биологических объектов к изучению в трансмиссионном электронном микроскопе. ТЭМ-томография.	Разбирается схема устройства ТЭМ и принципы его работы. Выбор оптимальных параметров работы ТЭМ в зависимости от особенностей образца и поставленной задачи. Дается обзор основных этапов подготовки биологических объектов к изучению в трансмиссионном электронном микроскопе (фиксация, обезвоживание, заливка в смеси смол, получение полутонких и ультратонких срезов, контрастирование). Подготовка к сеансу ТЭМ. Работа на трансмиссионном электронном микроскопе. Особенности формирования изображения в ТЭМ. Проверка осветительной системы ТЭМ. Загрузка образцов в объектодержатель. Шлюзование и введение образцов в колонну. Работа с изображением, фотографирование. Обработка и хранение первичной информации. Архивирование данных, подготовка данных к публикации. Особенности длительного хранения препаратов биологических объектов для ТЭМ. Перспективы использования ТЭМ-томографии для изучения ультраструктуры различных биологических объектов.
5	Организация работы в лаборатории электронной микроскопии. Планирование и проведение электронно-микроскопических исследований.	Рассматриваются особенности организации работы в лаборатории электронной микроскопии. Дается краткий обзор основных профилактических и регламентных работ по уходу и обслуживанию электронных микроскопов. Обсуждаются особенности планирования и проведения электронно-микроскопических исследований на базе современных лабораторий и центров коллективного пользования. Дается обзор некоторых источников финансирования для проведения электронно-микроскопических исследований, рассматриваются особенности подготовки заявок на гранты российских и зарубежных фондов для молодых ученых.
	Зачет	

Образовательные технологии

Лекции, практические занятия, подготовка презентаций и выступлений.

Текущая и промежуточная аттестация.

Текущая аттестация по дисциплине проводится в форме решения практических задач на приборах. Объектами оценивания выступают: активность на занятиях, своевременность выполнения различных видов заданий, посещаемость занятий; степень усвоения теоретических знаний и уровень овладения практическими навыками по всем видам учебной работы, проводимым в рамках практических занятий и самостоятельной работы.

Промежуточная аттестация аспирантов по дисциплине проводится в форме зачета. Аспирант допускается к зачету в случае выполнения всех учебных заданий и мероприятий,

предусмотренных настоящей программой. В случае наличия учебной задолженности (пропущенных занятий и (или) невыполненных заданий) аспирант отрабатывает пропущенные занятия и выполняет задания.

Оценивание обучающегося на промежуточной аттестации осуществляется по система зачтено/не зачтено.

На зачете предлагается ответить на два вопроса из нижеприведенного списка.

Вопросы для зачета:

1. Основные требования к биологическим образцам для изучения методами СЭМ и ТЭМ.
2. Способы создания поверхностной электропроводимости у биологических образцов для изучения методами СЭМ. Обзор основных материалов для напыления и их предназначение.
3. Подготовка необходимых реактивов и лабораторной посуды для проведения электронно-микроскопических исследований. Приготовление растворов нужной концентрации, особенности их использования и хранения.
4. Основные этапы подготовки биологических объектов для изучения методами СЭМ: фиксация, обезвоживание, высушивание, подготовка столика для СЭМ.
5. Основные этапы подготовки биологических объектов для изучения методами ТЭМ: фиксация, обезвоживание, заливка в смесь смол, получение полутонких и ультратонких срезов, контрастирование, загрузка образцов в объектодержатель.
6. Основные артефакты, возникающие при нарушении протоколов пробоподготовки для СЭМ и ТЭМ.
7. Основные физические принципы работы СЭМ и ТЭМ.
8. Выбор режимов работы СЭМ и ТЭМ в зависимости от особенностей образца и поставленной задачи.
9. Получение изображения биологических объектов в СЭМ и ТЭМ при малых увеличениях.
10. Получение изображения биологических объектов в СЭМ и ТЭМ при максимально возможных увеличениях.
11. Автоматизированная обработка изображений, полученных на СЭМ и ТЭМ.
12. Основные физические принципы рентгеноспектрального микроанализа.
13. Качественный и количественный микроанализ. Требования, которым должен соответствовать образец для корректного количественного микроанализа.
14. Работа с системой энергодисперсионного микроанализа AZtecOne X-act.

Оценивание аспиранта на промежуточной аттестации в форме экзамена

Оценка	Требования к знаниям и критерии выставления оценок
Не зачтено	Аспирант при ответе демонстрирует плохое знание теоретических основ электронной микроскопии. Не информирован или слабо разбирается в проблемах пробоподготовки биологических объектов и/или не в состоянии получить изображение исследуемого объекта, не может провести энергодисперсионный микроанализ.
	Аспирант при ответе демонстрирует знания только основного материала по теории электронной микроскопии, фрагментарно понимает назначение основных методов электронной микроскопии, их возможности и ограничения. Не всегда может подобрать корректный метод пробоподготовки и условия получения изображения, а также интерпретировать результаты и изложить их в

	соответствии с общепринятыми стандартами.
Зачтено	Аспирант при ответе демонстрирует хорошие знания в области теоретических основ электронной микроскопии, владеет основными принципами пробоподготовки биологических объектов, понимает возможности и ограничения используемых методов. Может подобрать корректный режим получения изображения и выбрать оптимальные параметры микроскопа для проведения энергодисперсионного микроанализа в заданной ситуации, провести соответствующий анализ с использованием специализированного программного обеспечения, но не всегда в состоянии интерпретировать результаты и изложить их в соответствии с общепринятыми стандартами.
	Аспирант при ответе демонстрирует хорошие знания в области теоретических основ электронной микроскопии, владеет основными принципами пробоподготовки биологических объектов, понимает возможности и ограничения используемых методов. Может подобрать корректный режим получения изображения и выбрать оптимальные параметры микроскопа для проведения энергодисперсионного микроанализа в заданной ситуации, провести соответствующий анализ с использованием специализированного программного обеспечения, самостоятельно интерпретировать результаты и изложить их в соответствии с общепринятыми стандартами.

Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины:

Основная литература

1. Гоулдстейн Дж., Ньюбери Д., Эчлин П. и др. Растровая электронная микроскопия и рентгеновский микроанализ / Пер. с англ. под ред. В.И. Петрова. – М.: Мир, 1984. – Ч. 1. – 296 с.; Ч. 2. – 348 с.
2. Исследование палинологических объектов методами электронной микроскопии / Н.Е. Завьялова, М.В. Теклева, С.В. Полева, А.Г. Богданов. – М.: РИПОЛ классик, 2018. – 334 с.
3. Миронов А.А., Комиссарчик Я.Ю., Миронов В.А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине: Методическое руководство. – СПб. Наука, 1994. – 400 с.
4. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих / Пер. с англ. И.В. Викторова, под ред. В.Ю. Полякова. – М.: Мир, 1975. – 324 с.

Дополнительная литература

1. Боровский И.Б., Рыдник В.И. Локальность рентгеноспектрального микроанализа // Аппаратура и методы рентгеновского анализа: Сб. – Л., 1969. – Вып. 5. – С. 141–153.
2. Криштал М.М., Ясников И.С., Полуниин В.И. и др. Сканирующая электронная микроскопия и рентгеноспектральный микроанализ в примерах практического применения. Москва: Техносфера, 2009. – 206 с.
3. Лосева Л.Е., Ильин Н.П. Некоторые источники систематических ошибок в рентгеновском микроанализе // Зав. лаб. – 1969. – Т. 24, № 9. – С. 1056–1060.
4. Рид С. Электроннозондовый микроанализ. / Пер. с англ. под ред. А.И. Козленкова. – М.: Мир, 1979. – 424 с.

5. Электронная микроскопия / Под ред. А.А. Лебедева. – М.: Гос. изд-во технико-теорет. лит., 1954. – 636 с.

Базовые журналы:

- Biomaterial Science Journal (<https://www.rsc.org/journals-books-databases/about-journals/biomaterials-science/>)
- Journal of Morphology (<https://onlinelibrary.wiley.com/journal/10974687>)
- Microscopy (<https://academic.oup.com/jmicro>)
- Microscopy and Analysis (<https://analyticalscience.wiley.com/publication/microscopy-and-analysis>)
- Nature (https://www.nature.com/subjects/electron-microscopy?error=cookies_not_supported&code=6b4950f4-7fd4-487f-8b03-91dc11be9a9f)

Библиотечные и Интернет-ресурсы

№	Ссылка на информационный ресурс	Наименование разработки в электронной форме	Доступность (количество точек доступа)
1	https://www.crys.ras.ru/sovet-po-elektronnoj-mikroskopii	Научный совет РАН по электронной микроскопии	64
2	https://www.eurmicsoc.org/en/organisation/membership/	European Microscopy Society	64
3	http://www.microscopist.ru/forum/	Microscopist.ru Портал микроскопистов	64
4	https://vk.com/tescanru	Микроскопы TESCAN, полезная информация для начинающих и продвинутых микроскопистов	64
5	https://cmm.centre.uq.edu.au/	The Center for Microscopy and Microanalysis	64
6	http://www.mwrn.com	Microscopedia. Информация по световой и электронной микроскопии	64
7	https://www.ou.edu/microscopy	Samuel Roberts Noble Microscopy Laboratory	64
8	http://www.nature.com/nature	Nature	64
9	http://www.nature.com/methods	Nature Methods	64
10	http://www.webofknowledge.com	Web of Science. Библиографическая база данных	64

1 1	http://www.sciencedirect.com/science	ScienceDirect. База журналов издательства Elsevier	64
1 2	http://www.elsevier.com	Elsevier Поисковая система публикаций	64
1 3	http://www.springerlink.com	SpringerLink. База журналов издательства Springer	64
1 4	http://www.springer.com	Springer Поисковая система публикаций	64
1 5	http://onlinelibrary.wiley.com/	Wiley Электронная библиотека	64
1 6	http://www.sciencemag.org/journals	Science/AAAS	64

Материально-техническое обеспечение дисциплины.

Для проведения лекций и семинаров будет использована стандартно оборудованная лекционная аудитория ИПЭЭ РАН (компьютеры со специализированным программным обеспечением; проектор, сеть WiFi, ноутбуки).

Для проведения практических занятий будет использовано оборудование ЦКП ИПЭЭ РАН «Инструментальные методы в экологии»: растровые электронные микроскопы CamScan MV 2300 и MIRA 3 LMH (TESCAN, Чехия), настольные установки для высушивания в критической точке Hitachi Critical Point Dryer HCP-1 (Hitachi Ltd., Япония) и Leica EM CPD300 (Leica Microsystems, Германия), напылительные установки S150A Sputter Coater (Edwards, Великобритания) и Q150R ES Plus (Quorum Technologies Ltd, Великобритания).

Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы.

Библиотечные и Интернет-ресурсы, консультации с ведущими российскими и зарубежными специалистами в области электронной микроскопии.

Язык преподавания: русский.

Преподаватель: к.б.н. Неретина Анна Николаевна

Программа одобрена на заседании Ученого совета ИПЭЭ РАН, протокол № 5 от 06.04.2022 года.