

Методы биологии развития. Часть 3

Целью курса является формирование систематизированного представления о современной технике и ознакомление студентов с основными наиболее востребованными в настоящее время методами биологии развития. Среди задач - Создание основы для понимания принципов методических подходов в биологии развития; Показать разнообразие методов, применяемых в современной биологии развития; Научить студентов правильному забору материала, его фиксации и хранения, выбору оптимального метода анализа; Научить студентов владению набором методов, наиболее часто используемых в биологии развития.

По результатам освоения курса студент приобретает знания о теоретических основах молекулярно-биологических и морфологических методов, применяемых в биологии развития и эмбриологии; умение ориентироваться в разрешающей способности методов и их чувствительности; практические навыки работы наиболее востребованными методами.

В программу курса (Часть 3) входят следующие темы: Принципы электронной микроскопии. Устройство трансмиссионного электронного микроскопа. Подготовка биологических образцов для трансмиссионной электронной микроскопии. Полутонкие и ультратонкие срезы. Основные характеристики и правила работы на ультрамикротоме. Сканирующий электронный микроскоп: устройство, принцип работы. Подготовка биологических образцов к сканирующей электронной микроскопии. Напыление образца проводящими покрытиями. Сушка биологических образцов, метод HMDS, метод сушки в критической точке. Гибридизация *in situ*. Распределение нуклеиновых кислот в клетках и тканях, РНП-комплексы. Условия фиксации и особенности работы с РНК. Принцип гибридизации нуклеиновых кислот на мембранах, срезах и целых объектах. Позитивные и негативные контроли. Различные варианты мечения зондов. Синтез DIG- и/или fluorescein-меченых РНК-зондов с помощью транскрипции *in vitro*. Очистка РНК-зондов, проверка концентрации и качества РНК. Гибридизация *in situ* на тотальных объектах (Whole Mount In Situ Hybridization, WMISH). Виды и способы визуализации метки с помощью антител. Окраска с помощью фермента щелочная фосфатаза, ее субстраты BCIP/NBT, BM-purple. Окончание окраски, постфиксация, возможность совмещения с другими методами и техниками визуализации биологических структур. Заключение и просветление в специализированных средах, монтирование препаратов. Микроскопический анализ и обсуждение результатов эксперимента. Клеточные культуры. Типы клеточных культур. Типы культивирования. Международные базы и справочники клеточных культур. Спектр жидких и полужидких сред, посуды, инкубаторов и способов рутинного культивирования. Получение постоянных линий и клеточных культур разных типов животных и человека.

Мин-макс. число студентов: 2-10

Разработчики программы: Ефремов Владимир Иванович, к.б.н., доцент, каф. эмбриологии, Козин Виталий Владиславович, ассистент, каф. эмбриологии, Костюченко Роман Петрович, к.б.н., доцент, каф. эмбриологии.