

**Частное образовательное учреждение высшего образования  
«Русско-Британский Институт Управления»  
(ЧОУВО РБИУ)  
Общеобразовательная школа «7 ключей»**

Ворошилова ул., д. 12, Челябинск, 454014. Тел. (351) 216-10-10, факс 216-10-30. E-mail: [info@rbiu.ru](mailto:info@rbiu.ru), [school7keys@rbiu.ru](mailto:school7keys@rbiu.ru)

СОГЛАСОВАНО:

Заместитель директора по УВР

 О.С. Васильева

«28» августа 2017 г.



Н.А. Попова

«28» августа 2017 г.

**МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ  
К ЭЛЕКТИВНОМУ КУРСУ «КЛЕТКИ И ТКАНИ»**

**СРЕДНЕГО ОБЩЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
ПРЕДМЕТНАЯ ОБЛАСТЬ «ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ»  
10-11 КЛАССЫ**

Разработал: Иванов Кирилл Владиславович, учитель химии и биологии

Принято  
на заседании Педагогического совета  
Общеобразовательной школы «7 ключей»  
Протокол № 1 от 28.08.2017

Рассмотрено  
на заседании Методического объединения  
учителей естественно-математических дисциплин  
Протокол № 1 от 25.08.2017

**Челябинск, 2017 г.**

## **I. Пояснительная записка к методическим материалам**

Специфика курса «Клетки и ткани» как учебной дисциплины предполагает обязательную практическую деятельность на занятии, которая является неотъемлемой частью учебно-познавательного процесса на любом его этапе – при изучении нового материала, повторении, закреплении, обобщении и проверке знаний. Выполнение лабораторных работ и других заданий по курсу «Клетки и ткани» вносит существенный вклад в формирование биологической культуры обучающихся: умений называть, показывать, описывать, объяснять, сравнивать, анализировать, оценивать, прогнозировать; способствует качественному обучению биологии. Основываясь на дидактические принципы развития личностно-ориентированного обучения, данные методические материалы позволят помочь ученикам освоить не только определенную систему знаний и умений, но и смогут способствовать приобретению ими навыков самостоятельного поиска информации.

Целью методических материалов является, совершенствование навыков изготовления временных микропрепаратов; ознакомление с правилами описания микропрепарата и научиться применять их на практике; развитие у обучающихся навыка самостоятельной работы с различными источниками знаний.

## **II. Перечень методических материалов по предмету**

1. Методические рекомендации по работе со световым микроскопом и методике приготовления микропрепаратов.

## **III. Методические материалы**

### **Методические рекомендации по работе со световым микроскопом и методике приготовления микропрепаратов.**

Перед началом каждой работы следует изучить относящийся к ней теоретический материал.

1. При выполнении лабораторной работы необходимо строго соблюдать указания преподавателя.
2. Рабочее место, посуда и приборы всегда должны быть безукоризненно чистыми.
3. Следует экономно расходовать электроэнергию, водопроводную и дистиллированную воду.
4. Нельзя выливать в раковину растворы, которыми пользуются при работе, а так же выбрасывать остатки, фильтры, битое стекло, бумагу и т.п.
5. Во избежание отравлений в лаборатории категорически воспрещается принимать пищу. Необходимо тщательно мыть руки после работы.
6. Не трогать приготовленные к работе материалы и оборудования без разрешения.
7. Внимательно выслушать инструктаж по технике безопасности при проведении работы.
8. Надеть рабочую одежду по указанию преподавателя..
9. Выполнять все действия, которые определены учебным заданием.
10. Строго соблюдать правила работы с микроскопом:
  - а. микроскоп поставить штативом к себе, на расстоянии 5-8 мм от края;
  - б. свет направить зеркалом в отверстие предметного столика;
  - в. приготовить препарат, поместить его на предметный столик и закрепить там предметное стекло двумя зажимами;
  - г. пользуясь винтом, плавно опустите тубус так, чтобы нижний край объектива оказался на расстоянии 1-2 мм от препарата;

- д. смотря в окуляр, медленно поднимать тубус, пока не появится чёткое изображение предмета;
- е. после работы микроскоп убрать в футляр.

### **Устройство микроскопа.**

1. Главная часть микроскопа — увеличительные стекла, вставленные в трубку или тубус: а) в верхнем конце тубуса находится окуляр, состоящий из оправы и двух увеличительных стекол; б) на нижнем конце тубуса помещается объектив, состоящий из оправы и нескольких увеличительных стекол.
2. Тубус прикреплен к штативу.
3. К штативу прикреплен так же предметный столик, в центре которого имеется отверстие.
4. Под предметным столиком расположено зеркало, которое фокусирует свет и направляет в отверстие в нём.

### **Основные понятия**

**Фиксированный препарат** — в микробиологии часто готовят именно фиксированные препараты, так что следует знать, что это такое. Эти препараты рассматривают под микроскопом именно в окрашенном виде. Под словом "фиксация" имеется в виду такая обработка живого объекта (который вы собираетесь рассмотреть), которая дает возможность быстро прервать жизненные процессы в том или ином объекте (попросту говоря — убить), при этом сохранив тонкую структуру. В результате фиксации клетки прочно прикрепляются к стеклу и лучше прокрашиваются. Фиксация необходима в случае работы с патогенными микроорганизмами (в целях самобезопасности).

**Патоген, патогенный микроорганизм** — живой организм, паразит, вызывающей патологическое состояние (заболевания) иного живого организма.

**Суспензия** — смесь каких-либо веществ, где твёрдое вещество распределено в виде мельчайших частиц в жидком веществе в неосевшем состоянии.

**Биологическая петля** — тонкая металлическая палочка, на конце — тонкая металлическая петля. Используется для захватывания маленького количества той или иной суспензии микроорганизмов.

**Вазелин** — мазеобразная жидкость без запаха и вкуса. Смесь состоит из минерального масла и твёрдых парафинов (воскоподобная смесь).

**Герметизация** — обеспечение совершенной непроницаемости для разных газов и жидкостей поверхностей и мест соединения деталей.

**Агар-агар** — в микробиологии используется для изготовления плотных и полужидких питательных сред, то есть агаризованных сред.

**Жидкость Карнуа** — жидкость для фиксации.

**Смесь Никифорова** — смесь равных объемов этилового спирта и безводного серного эфира, применяется для фиксации мазков крови, мазков-отпечатков органов и каких либо тканей.

### **Методика приготовления микропрепаратов**

Препараты для микроскопирования готовят из крови, колоний бактерий, тканей животных и растений и др. В некоторых случаях приготовление препаратов несложно, в других — требует специальной техники.

Наиболее просто готовят так называемые нативные препараты, т. е. объекты в естественном их виде. В этом случае материал наносят на предметное стекло и покрывают тонким покровным стеклом. Иногда его смешивают с изотоническим раствором хлорида натрия или глицерином для разжижения, осветления и предохранения от высыхания.

Широко распространен метод окраски препаратов для микроскопирования. Способ окраски зависит от особенностей исследуемого материала и цели исследования.

Различные части препарата воспринимают краску по-разному, что делает их более четкими, позволяет отличить друг от друга отдельные структуры. Например, мазки крови окрашиваются азур-эозином для подсчета лейкоцитарной формулы, фуксином — для подсчета тромбоцитов, азуром II—для подсчета ретикулоцитов.

Для бактериоскопии — излучения под микроскопом микроорганизмов — существует большое количество методов окраски, в том числе и сложных — двумя и более красителями.

Существует негативный метод окраски, т. е. окрашивается фон препарата, на котором отчетливо видны неокрашенные микроорганизмы, например бледная трепонема. Препарат для микроскопии не может быть толстым или плотным, так как свет должен хорошо проходить сквозь него, поэтому приготовление гистологических препаратов из тканей требует довольно сложной техники. Ткань обрабатывают спиртами, формалином или фиксирующими смесями, пропитывают целлоидином, парафином или желатином. Затем получают тончайшие срезы ткани при помощи специального прибора — микротомы. После этого срезы окрашивают гематоксилин-эозином, Суданом, сложными смесями красителей, серебром и т. д. Срезы закрепляют на предметных стеклах смесью белка с глицерином. Для сохранения препаратов срезы заливают канадским бальзамом и покрывают покровным стеклом. Бальзам засыхает и гистологический препарат может храниться в течение многих лет.

### Методика приготовления временных препаратов

Временные препараты так называются потому, что не сохраняются долго. После ознакомления с микрообъектом временный препарат смывается с предметного стекла. Приготовление микропрепарата - один из обязательных видов умений, формируемых в курсе биологии, начиная с 6 класса школьной программы.

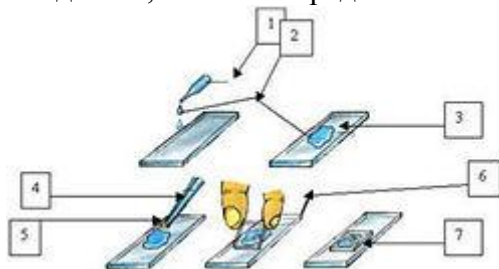
Для изучения живых клеток микроорганизмов применяют препараты “раздавленная капля”, “висячая капля”, “отпечаток”, “агаровая пленка” (“микрочультура”). Препараты живых клеток рассматривают с “сухими системами” микроскопа. Препараты, работа с которыми уже закончена, прежде чем вымыть, выдерживают в дезинфицирующем растворе.

Микропрепараты позволяют проводить широкий ряд опытов. Они предназначены для детального изучения микроскопических структур под микроскопом.

### Способы приготовления микропрепаратов

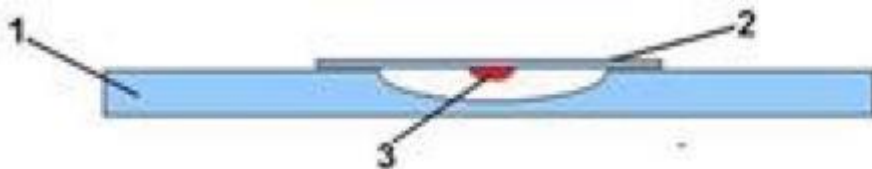
#### Приготовление препарата "раздавленная капля"

1. Убедитесь, что ваше предметное стекло обезжиренное и чистое.



2. Нанесите 1-2 капли воды на предметное стекло.
3. Аккуратно положите объект изучения.
4. Аккуратно накройте каплю с объектом изучения покровным стеклом. Если вода при накрывании капли покровным стеклом вышла за его пределы, аккуратно удалите её фильтрованной бумагой.
5. Препарат "раздавленная капля" готов! Приступайте к его изучению.

### Приготовление препарата "висячая капля"



1. Одну каплю суспензии микроорганизмов (заранее приготовленной) с помощью биологической петли аккуратно нанесите на чистое покровное стекло.
2. Переверните покровное стекло с каплей суспензии так, чтобы капля свободно висела.
3. Поместите перевернутое покровное стекло с каплей над лункой специального покровного стекла с углублением в центре.
4. Капля не должна касаться краёв стекла и углубления (лунки), она должна свободно висеть на покровном стекле.
5. Края углубления специального покровного стекла предварительно смазывают вазелином для герметизации камеры.
6. Наслаждайтесь наблюдением за бактериями в микропрепарате!

### Приготовление препарата "отпечаток"

1. Из агаризованной среды, на которой какие-либо микроорганизмы растут абсолютным сплошным газоном или же в виде отдельных колоний, аккуратно вырежете скальпелем не очень большой кубик.
2. Перенесите его на предметное стекло таким образом, чтобы поверхность кубика с микроорганизмами была обращена именно вверх.
3. Затем к газону микроорганизмов или к колонии приложите обычное покровное стекло (абсолютно чистое), аккуратно и не сильно, а слегка, надавите на него биологической петлей или пинцетом и тотчас снимите, стараясь не сдвинуть его в сторону.
4. Полученный препарат (покровное стекло с отпечатком) помещают именно отпечатком вниз в каплю обычной воды на чистое предметное стекло. Отпечаток также можно получить и на предметном стекле, если касаться поверхности колонии предметным стеклом.
5. Препарат готов!
6. **Внимание!** Препараты живых клеток рассматривают с помощью "сухих систем" микроскопа. После микроскопирования такие препараты перед мытьем должны быть выдержаны в дезрастворе (дезинфицирующее средство).

### Приготовление препарата "отпечаток", иной способ



1. Из агара в чашке Петри с засеянными на нем бактериями (бактериальным газоном) вырежьте блок.

2. Возьмите обезжиренное чистое стекло и приложите его к поверхности блока агара, засеянного бактериями. Получился первый отпечаток, Отпечатки делайте до тех пор, пока бактериальный слой на блоке не истощится, располагая их слева направо начиная с левой короткой грани стекла.
3. Дайте отпечаткам подсохнуть и поместите стекло в жидкость Карнуа для фиксации клеток.
4. Готово!

### Приготовление препарата "фиксированный мазок"

1. Для того, чтобы приготовить этот препарат, требуется на обезжиренное предметное стекло нанести одну каплю воды.
2. В неё биологической петлей внесите исследуемый вами материал и распределите его так, чтобы получить тонкий и равномерный мазок диаметром примерно 1-1,5 сантиметра (только при таком распределении материала в мазке можно увидеть изолированные бактериальные клетки).
3. Если исследуемый материал содержится в жидкой среде, то петлей его непосредственно наносят на предметное стекло и готовят мазок. Мазки высушивают на воздухе или в струе теплого воздуха над пламенем горелки.
4. Для фиксации мазка предметное стекло (именно мазком вверх) очень аккуратно и медленно проводят 3 раза (в течение всего 3 секунд) через пламя горелки. Микроорганизмы, находящиеся в мазке, при фиксации погибают, плотно прикрепляясь к поверхности предметного стекла, и они не смываются при дальнейшей обработке препарата.
5. Готово!
6. **Внимание!** Более долгое нагревание может вызвать деформацию структур клеток. Мазки крови, мазки-отпечатки органов и каких-либо тканей и (в некоторых случаях и мазки из культур), фиксируют погружением на 5-20 минут в метиловый синий или этиловый спирт, смесь Никифорова, также сулемовый спирт или иные фиксирующие жидкости.