

УДК 573.6
М75

Рецензент:

Иванов Игорь Николаевич — доктор медицинских наук,
профессор кафедры судебной медицины ГБОУ ВПО СЗГМУ
им. И. И. Мечникова

**Молекулярная морфология. Методы флуоресцентной
М75 и конфокальной лазерной микроскопии / Д. Э. Коржевский,
О. В. Кирик, Е. Г. Сухорукова [и др.] ; под ред. Д. Э. Коржев-
ского. — Санкт-Петербург : Спец Лит, 2014. — 111 с.
ISBN 978-5-299-00642-1**

В этой книге в краткой форме изложен материал, необходимый для освоения современных методов конфокальной лазерной микроскопии. Часть из описанных в тексте практических приемов разработана и усовершенствована авторами издания. Отличительной особенностью данной книги является сочетание ключевых моментов из теории современных методов микроскопии с примерами использования различных приемов конфокальной микроскопии и иммуноцитохимии на практике. В приложениях приводятся необходимые сведения о спектральных характеристиках флуорохромов и протоколы иммуноцитохимических реакций, использованных авторами для получения изображений препаратов и построения трехмерных реконструкций микроскопических объектов.

Настоящее руководство может являться справочным пособием для специалистов, применяющих в своей работе флуоресцентные методы и конфокальную микроскопию, а также будет полезно для студентов биологических и медицинских факультетов, изучающих морфологические и нейробиологические дисциплины.

Издание подготовлено при поддержке Российского научного фонда (проект № 14-15-00014).

УДК 573.6

ISBN 978-5-299-00642-1

© ООО «Издательство „СпецЛит“», 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

Условные сокращения.....	6
Предисловие	8
Глава 1. Флуоресцентная микроскопия и конфокальная лазерная микроскопия — принципы и основные методы (М. Н. Карпенко).....	10
1.1. Основные понятия	10
1.2. Устройство флуоресцентного микроскопа.....	14
1.3. Принципы конфокальной микроскопии.....	18
1.4. Мультифотонная микроскопия.....	23
1.5. Конфокальная микроскопия в применении к исследованию дина- мических процессов и межмолекулярных взаимодействий	24
1.5.1. Восстановление флуоресценции после фотоотбеливания (Fluorescence Recovery After Photobleachin — FRAP)	24
1.5.2. Потеря флуоресценции во время фотоотбеливания (Fluorescence Lossin Photobleaching — FLIP)	25
1.5.3. Локализация флуоресценции после фотоотбеливания (Fluorescence Localization After Photobleaching — FLAP) . .	25
1.5.4. Фёрстеровская (флуоресцентная) резонансная передача энергии (Forster (Fluorescence) Resonance Energy Transfer — FRET)	26
Литература.....	27
Глава 2. Флуоресцентные красители и другие флуоресцирующие вещества, применяемые в морфологических исследовани- ях (Е. А. Колос, Д. Э. Коржевский)	29
2.1. Ядерные флуоресцентные красители.....	30
2.1.1. Цианиновые красители	32
2.1.2. Фенантридины.....	37
2.1.3. Акридиновые красители	38
2.1.4. Производные индола и имидазола.....	39
2.2. Индикаторы ионов	40
2.3. Флуоресцентные нейротрейсеры.....	41
2.4. Флуоресцентные метки.....	44
2.5. Флуоресцентные белки — генетически кодируемая флуоресцент- ная метка	46
Литература.....	48
Глава 3. Конфокальная микроскопия и иммуноцитохимическое исследование (Д. Э. Коржевский, О. В. Кирик)	54
3.1. Особенности начальных этапов пробоподготовки.....	55
3.1.1. Фиксация материала	56
3.1.2. Декальцинация	57
3.1.3. Обезвоживание и заливка в парафин	58
3.1.4. Изготовление срезов	59

3.2. Процесс окрашивания препаратов для конфокальной микроскопии	60
3.2.1. Приемы, используемые для повышения чувствительности реакций иммунофлуоресценции	61
3.2.2. Приемы, используемые для раздельного выявления нескольких антигенов.....	63
3.3. Учет эффекта автофлуоресценции	65
<i>Литература</i>	66
Глава 4. Выявление синаптических структур нервной системы и их пространственная реконструкция с использованием конфокальной микроскопии (Д. Э. Коржевский, Е. А. Колос, О. В. Кирик).....	68
<i>Литература</i>	72
Глава 5. Трехмерная визуализация патологических структур в центральной нервной системе человека (Е. Г. Сухорукова).....	74
<i>Литература</i>	78
Глава 6. Изучение выстилки желудочков головного мозга с использованием методов конфокальной лазерной микроскопии (О. В. Кирик, Д. А. Суфиева, А. В. Назаренкова, Д. Э. Коржевский).....	81
<i>Литература</i>	87
Приложения	89
1. Флуоресцентные красители, наиболее часто применяемые для окраски ядер клеток	89
2. Органические флуорохромы, используемые для маркировки антител и конъюгации со стрептавидином.....	91
3. Флуоресцирующие белки и их спектральные характеристики . .	93
4. Иммуноцитохимическая реакция на синаптофизин.....	95
5. Двойная иммуноцитохимическая реакция на синаптофизин и глутаматдекарбоксилазу	98
6. Иммуноцитохимическая реакция на GFAP (глиальный фибриллярный кислый белок)	101
7. Иммуноцитохимическая реакция на виментин.....	104
8. Двойная иммуноцитохимическая реакция на виментин и GFAP . .	107
9. Двойная иммуноцитохимическая реакция на альфа-тубулин и GFAP	109