

**Министерство здравоохранения Украины
Харьковский национальный медицинский университет
Кафедра медицинской биологии**

**УРОВНИ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИВОГО.
ОПТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ
В БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ**

**Методические рекомендации
для самостоятельной внеаудиторной работы студентов**

Харьков
2012

Загоруйко Ю.В., Садовниченко Ю.А. Уровни организации живого. Оптические системы в биологических исследованиях: Метод. указ. для самост. внеауд. работы студ. — Харьков: ХНМУ, 2012. — 14 с.

КАФЕДРА МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ХНМУ

Медицина, взятая в плане теории,
— это прежде всего общая биология.

И.В. Давыдовский

Актуальность темы. Необходимость изучения биологии для будущего врача обусловлена тем, что она, как никакая другая наука, является теоретической основой медицины, особенно в свете бурного развития генной и клеточной терапии. Однако возможности биологии в медицине не исчерпываются открытием природы заболевания — разнообразные методы биологических исследований дают врачу важный инструментарий диагностики и лечения заболеваний.

Цель: ознакомиться с основными принципами образования всех уровней организации живого, изучить современные методы цитологических и гистологических исследований как материальную основу для постановки диагноза пациенту.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ

МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ КАК НАУКА

Биология (от греч. *биос* — жизнь, *логос* — слово, наука) представляет собой комплекс наук о живой природе. Ее предметом являются все проявления жизни: строение и функции живых существ, их разнообразие, происхождение и развитие, а также взаимодействие с окружающей средой.

Биологические системы отличаются от тел неживой природы совокупностью признаков и свойств, среди которых основными являются обмен веществ и энергии, способность противостоять нарастанию энтропии, возбудимость, самообновление, саморегуляция, самовоспроизведение, наследственность и изменчивость, рост и развития, а также дискретность и целостность.

Медицинская биология представляет собой раздел биологии, изучающий строение и функции организма человека на разных уровнях организации живой материи, причины их нарушения и возникновения болезней, способы их диагностики и профилактики. Эта наука объединяет знания в области молекулярной и клеточной биологии, биологии индивидуального развития, медицинской генетики, эволюции и экологии человека, а также медицинской паразитологии.

УРОВНИ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИВОГО

Иерархичность организации живой материи позволяет условно подразделить ее на ряд уровней. В настоящее время выделяют несколько основных уровней организации живой материи: молекулярный, клеточный, организменный, популяционно-видовой, биогеоценотический и биосферный.

Молекулярный (молекулярно-генетический) уровень. На этом уровне проявляются такие процессы жизнедеятельности, как обмен веществ и

превращение энергии, запись, изменение и передача наследственной информации (в процессе репликации ДНК).

Клеточный уровень. Клетка является структурно-функциональной единицей подавляющего большинства живых организмов на Земле, за исключением вирусов и прионов. На клеточном уровне можно изучить процессы передачи информации и превращения веществ и энергии.

Организменный уровень. Элементарной единицей организменного уровня служит особь (индивид), которая рассматривается в развитии — от момента зарождения до прекращения существования — как живая система. На этом уровне изучают особь и свойственные ей как целому черты строения и поведения. У одноклеточных организмов совпадает с клеточным уровнем, тогда как у многоклеточных существование организма обеспечивается взаимодействием групп клеток, тканей, органов и их систем, которые часто рассматриваются как отдельные уровни.

Популяционно-видовой уровень. Популяция — надорганизменная система, в которой осуществляются элементарные эволюционные преобразования. На этом уровне изучают факторы, влияющие на численность популяций, проблему сохранения исчезающих видов, а также факторы микроэволюции.

Биогеоценотический уровень (экосистема). На этом уровне осуществляется взаимодействие организмов между собой и с факторами неживой природы, определяющими их численность, видовой состав и продуктивность.

Биосферный уровень. Биосфера — совокупность всех биогеоценозов, система, охватывающая все явления жизни на нашей планете. На этом уровне происходит биогенный круговорот веществ — биогеохимические циклы.

ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Как и любая другая наука, биология имеет свой арсенал методов. В современной клинической практике широко применяются световая, электронная, рентгеновская и атомно-силовая микроскопия, фракционирование, фотометрические методы, проточная цитометрия, рентгеноструктурный анализ, автордиография, полимеразная цепная реакция (ПЦР), а также методы гистологии и гистохимии, культуры клеток и тканей и др.

Метод световой микроскопии позволяет получить увеличенное изображение мелких объектов и их деталей с помощью лучей света, проходящих через исследуемый объект (табл. 1).

Световой микроскоп — сложный оптический прибор, который используется для визуальных наблюдений, фотографирования и точных количественных измерений (рис. 1).

В строении светового микроскопа можно выделить три конструктивные части: механическую, оптическую и осветительную системы.

К *механической системе* относятся: основание, тубусодержатель (штатив), тубус, предметный столик с отверстием для прохождения света, револьвер с гнездами для объективов, механизм для регулировки положения

конденсора с рукояткой, а также макромеханизм с макровинтом и микромеханизм с микровинтом для грубой и тонкой фокусировки микроскопа соответственно.

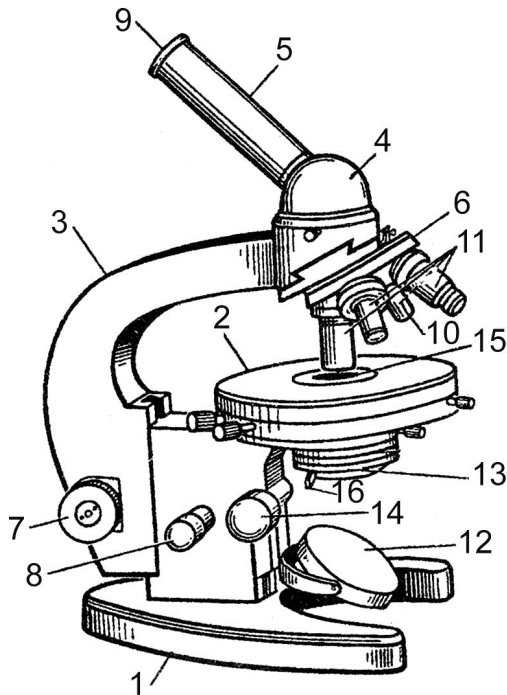


Рис. 1. Строение светового микроскопа.

I. Механическая часть:

1 – основание; 2 – предметный столик;
3 – тубусодержатель; 4 – головка тубусодержателя;
5 – тубус; 6 – револьвер; 7 – макровинт;
8 – микровинт.

II. Оптическая система:

9 – окуляр; 10 – объектив малого увеличения;
11 – объективы большого увеличения.

III. Осветительная система:

12 – зеркало с плоской и вогнутой поверхностями (плоская поверхность используется при ярком освещении, вогнутая – при небольшом освещении); 13 – конденсор с винтом (14);
15 – отверстие предметного столика;
16 – рукоятка, регулирующая просвет ирисовой диафрагмы.

Оптическая система состоит из окуляра и объективов малого (x8, x10) и большого увеличения (x40), а также иммерсионного объектива (x90, x100).

Осветительная система используется для направления световых лучей на световой объект. Она представлена зеркалом или осветителем, а также конденсором с ирисовой диафрагмой.

Важнейшими характеристиками микроскопа являются его общее увеличение и разрешающая способность.

Общее увеличение микроскопа рассчитывается как произведение увеличения окуляра на увеличение выбранного объектива. Эффективное увеличение светового микроскопа составляет около x1000. Несмотря на то, что современные микроскопы способны давать и большее увеличение, это не приводит к выявлению новых деталей, а только к линейному увеличению изображения.

Разрешающая способность микроскопа — это его способность давать раздельное изображение двух точек, лежащих исключительно близко друг от друга. Для светового микроскопа она составляет около 0,2 мкм, или 200 нм (разрешающая способность невооруженного глаза составляет 0,15 мм), что позволяет изучить только общий план строения клетки и ее отдельных органелл. Разрешающая способность светового микроскопа ограничена длиной волны света, которая используется для освещения объекта.

При работе со световым микроскопом необходимо следовать основным правилам, изложенным в «**Протоколах практических занятий по цитологии и генетике человека**» (Тема 1).

Преимуществом световой микроскопии является возможность исследования не только фиксированных, но и живых объектов, в частности, их движения, деления и т.д.

При изучении биологических объектов широко используются методы светлого и темного поля, фазового контраста, поляризационная, флуоресцентная, ультрафиолетовая, инфракрасная, конфокальная сканирующая микроскопия и др.

Световая микроскопия применяется при клиническом анализе крови для подсчета количества форменных элементов, а также для диагностики бактериальных заболеваний, гельминтозов, опухолевых процессов и других патологий.

Метод электронной микроскопии, в отличие от световой микроскопии, основан не на световых, а на электронных лучах. Поток электронов «выстреливается» электронной пушкой, а их движением управляет система электромагнитных линз (конденсор, объектив и окуляр), только вместо сетчатки глаза электроны попадают на фотопластинку или на люминесцирующий экран, изображение с которого передается на монитор. В связи с тем, что длина волны электрона намного меньше длины волны видимого света, разрешающая способность электронного микроскопа составляет около 0,1 нм, и он позволяет увеличивать изображение объектов до 1000000 раз, что позволяет изучать биологические объекты как на клеточном, так и на молекулярном уровнях (табл. 1).

Основными видами электронных микроскопов являются просвечивающий, или трансмиссионный (ТЭМ), и сканирующий (СЭМ), или растровый (РЭМ).

В *трансмиссионном электронном микроскопе* электроны пронизывают исследуемый объект под прямым углом и формируют его плоское изображение, тогда как в *сканирующем электронном микроскопе* бомбардировка электронами производится под разными углами, что дает возможность получить объемное изображение.

Процедура подготовки препаратов для электронной микроскопии включает фиксацию в глутаральдегиде и четырехокиси осмия, обезвоживание в растворах этанола, заливку в эпоксидные смолы (эпон, аралдит), применение ультрамикротомы для получения срезов, окраску тяжелыми металлами или контрастирование солями тяжелых металлов.

Электронная микроскопия нашла широкое применение в медицине при диагностике нарушений костной ткани и других патологий.

Рентгеновская микроскопия использует мягкое рентгеновское излучение, которое дает более высокое разрешение, чем видимый свет. При этом могут быть использованы более толстые образцы по сравнению с электронной микроскопией, и к тому же не подвергнутые специальной обработке. Разрешающая способность рентгеновской микроскопии составляет до 0,1 нм (размер среднего атома), что обусловлено длиной волны рентгеновского излучения. Это дает возможность исследовать пространственное строение многих молекул, что было недоступно ранее.

Атомно-силовая микроскопия — это вид микроскопии, в основе которого лежит силовое взаимодействие атомов. В процессе исследования происходит постоянное измерение силы взаимодействия между зондом, заостренным до размера одного атома, и поверхностью объекта. Наглядное трехмерное изображение исследуемого объекта получается только после компьютерной обработки полученной цифровой информации.

Использование атомно-силового микроскопа имеет широкие перспективы в медицине, например для проведения экспресс-анализов и диагностики заболеваний, поскольку данный метод позволяет исследовать от целых бактерий и клеток различных живых организмов до отдельных белковых молекул.

В основе **метода гистологии и гистохимии** лежит подготовка биологического материала для микроскопирования и использование химических реакций для выявления распределения химических веществ (белков, углеводов, липидов, нуклеиновых кислот и др.) в структурах клеток, тканей и органов.

Этой подготовке предшествует **биопсия** — извлечение небольшого количества клеток или ткани для последующего приготовления временных или постоянных препаратов.

Временные препараты используются для проведения быстрых предварительных исследований. При этом срез или мазок свежего материала помещают на чистое предметное стекло (предварительно протертое спиртом) и капают на него несколько капель красителя, например раствора Люголя. Затем препарат обыкновенно накрывают тонким покровным стеклом, чтобы предотвратить попадание воздуха и пыли.

Объекты, предназначенные для приготовления **постоянных препаратов**, претерпевают сложную обработку, которая включает в себя следующие основные этапы: фиксацию, обезвоживание материала, пропитывание растворителем и жидким парафином, изготовление блоков с тканями, получение срезов с помощью микротомы, депарафинирование, окрашивание и заключение в баальзам.

Фиксацией называют воздействие химическими (формальдегид, этанол и др.) или физическими агентами (замораживание) на ткани в течение 15 минут для коагуляции белков и прекращения процессов жизнедеятельности. На этом этапе происходит закрепление тканевых структур в том виде, в котором они были во время взятия материала. После фиксации объекты можно подвергнуть дополнительной обработке, например, окрашиванию, которое позволяет выявить в них массу деталей. Если препараты одноклеточных организмов и клеточных культур можно подвергать окраске непосредственно после фиксации, то для исследования тканей и органов следует получить их срезы. Для этого после фиксации эти объекты обезвоживают и пропитывают сначала растворителем, а затем парафином.

Обезвоживание материала — это удаление воды в спиртах восходящей концентрации (от 50 до 100 градусов).

Пропитывание растворителем (ксилолом, хлороформом или эфиром) осуществляется для облегчения проникновения в ткани заливочной среды.

При **пропитывании жидким парафином** или иной заливочной средой биопсийный материал в специальной формочке на 2-3 дня заливается смесью парафина и ксилола для насыщения тканей.

Изготовление блоков с тканями заключается в вырезании парафинового блока с тканью и наклеивке его на деревянный брусок густым парафином.

Получение срезов с помощью микротом требует применения специальных приборов — микротомов или криотомов. Блок неподвижно фиксируют в объектодержателе микротом, после чего делают срезы необходимой толщины (5–15 мкм). Затем их аккуратно снимают с ножа препаровальной иглой и переносят в чашку Петри, а потом на предварительно вымытые и обезжиренные предметные стекла.

В процессе **депарафинирования** срезы опускают сначала в теплый ксилол вместе с предметным стеклом для растворения парафина, затем в 96%-ный этанол и подсушивают.

Окрашивание срезов позволяет выявлять микроструктуры клеток и тканей и усиливать их контрастность. Определенные красители в низких концентрациях не токсичны для живых тканей и могут использоваться для окрашивания живого материала. Их называют прижизненными (витальными) красителями. При окрашивании живых клеток краситель собирается в цитоплазме в виде гранул, а в поврежденных или мертвых клетках происходит диффузное окрашивание цитоплазмы и ядра. К витальным красителям относят, например, трипановый синий и литиевый кармин.

Остальные красители применяются только для фиксированного материала. В целом красители делят по их физико-химическим свойствам на основные, кислые и нейтральные.

Основные красители связываются со структурами клетки, имеющими кислую рН, например, ядрышком, хроматином, цитоплазмой базофильных лейкоцитов, и окрашивают их в разные оттенки синего цвета. К основным красителям относятся гематоксилин, метиленовый синий, тионин, азур и другие. Структуры клетки, окрашиваемые основными красителями, называются **базофильными**.

Кислые красители — пикриновая кислота, фуксин, эозин, оранжевый G — связываются со структурами клетки, имеющими щелочную рН, например, цитоплазму, лейкоциты, колагеновые волокна, и придают им цвет самого красителя. Структуры клетки, приобретающие окраску в результате взаимодействия с кислыми красителями, называются **оксифильными** (ацидофильными, эозинофильными).

Нейтральные красители представляют собой смеси основных и кислых компонентов, как, например, судан III. Ими окрашиваются гранулы нейтрофильных лейкоцитов и цитоплазма полихроматофильных эритробластов. Структуры клетки, воспринимающие эти красители, называются **нейрофильными** (полихроматофильными).

Красители для фиксированных клеток могут использовать как по отдельности, так и в виде смесей, как, например, при окраске мазков крови по Романовскому-Гимза смесью азур II — эозин.

При необходимости применяют флуоресцирующие вещества и меченые ими антитела, которые позволяют не только обнаружить локализацию в клетке некоторых веществ, например, нуклеиновых кислот, но и количественно определить их содержание (см. Фотометрические методы, Проточная цитометрия).

В некоторых случаях применяют особую технику выявления структур клеток и тканей, основанную на различной способности их удерживать или восстанавливать соли тяжелых металлов (свинца, серебра, золота) — *импрегнацию*.

Ряд красочных приемов, направленных на выявление специфических химических веществ, получил название *гистохимических*, *цитохимических* и *иммунохимических*, например, специфическое выявление ДНК реактивом Шиффа (реакция Фёльгена).

Таблица 1

Сравнительная характеристика световой и электронной микроскопии

Характеристика	Световой микроскоп	Электронный микроскоп
Источник излучения	естественный свет, лампы	электронная пушка
Линзы	оптические	электромагнитные
Максимальное полезное увеличение	x6000	x500000
Объект	живой или фиксированный	фиксированный
Гистологическая обработка материала:		
- фиксация	растворы формалина или этанола, замораживание	раствор глутаральдегида или его смесь с четырехокисью осмия
- обезвоживание	растворы этанола в возрастающей концентрации	эпоксидная смола или пластмасса
- заливка	парафин	ультрамикротом с алмазным или стеклянным ножом
- приготовление срезов	микротом или криотом со стальным ножом	тяжелые металлы и соли
- окрашивание	цветные красители	

Заключение срезов позволяет длительное время (до 10 и более лет) сохранять препарат, его окраску, прозрачность и структуру. Обыкновенно срезы заливают в канадский бальзам после обезвоживания в спиртах

восходящих концентраций. Иногда препараты заключают в водорастворимые среды (глицерин, желатин либо их смеси).

Хранят окрашенные препараты в специально отведенных местах, защищенных от прямых лучей солнца во избежание выцветания красителей.

Фотометрические методы — спектрофотометрия и колориметрия — основаны на определении степени поглощения света раствором исследуемого вещества, в том числе после предварительного окрашивания. Они позволяют не только выявить вещество в растворе, но и установить его концентрацию. Данные методы незаменимы, например, при исследовании содержания гемоглобина и глюкозы в крови.

Особым видом фотометрии является **проточная цитометрия**, основанная на выявлении рассеяния света лазерного луча при прохождении через него клетки в струе жидкости, а также определении степени флуоресценции химических веществ самой клетки и красителей. Данный метод позволяет определить размеры клетки, содержание в ней ДНК и других компонентов, а также происходящие в клетке процессы. Он широко используется в медицинской практике для выявления опухолевых процессов, диагностики бактериальных и грибковых заболеваний и определения чувствительности возбудителей заболеваний к лекарственным препаратам, а также для исследования течения болезни у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Метод автордиографии (изотопный метод) — важный метод, позволяющий изучать распределение в клетках и тканях веществ, меченых радиоактивными изотопами (^{32}P , ^{14}C , ^{35}S , ^3H), а также скорость их превращения. Введенный в организм животного или в среду культивирования клеток изотоп включается в определенные структуры (например, меченый тимидин — в ядра клеток, синтезирующих ДНК), после чего в отдельных частях клетки регистрируется его наличие при помощи специальных счетчиков и фотопленки. Автордиография используется, например, при диагностике опухолевых процессов.

Метод культуры клеток и тканей заключается в выращивании клеток или фрагментов тканей на искусственной питательной среде при благоприятных условиях. В этой среде клетки не только живут длительное время, но и растут, размножаются и даже дифференцируются. Культивирование клеток используется в генной и клеточной инженерии (например, для получения гибридных клеток человека и других животных — гетерокарионов), при клонировании и изучении процессов дифференцировки и роста клеток, для вирусологических и биохимических исследований, получения биологически активных соединений. Происходящие в клетках процессы регистрируют в виде фотографий, а также замедленной или ускоренной киносъемки (цейтраферной).

Метод микрохирургии (микрургии) связан с оперативным воздействием на клетки. С помощью прибора микроманипулятора клетки разрезают, извлекают из них отдельные части, вводят в них вещества и другие компоненты (микроинъекция), а с помощью микропучка ультрафиолетового света или лазерного микропучка можно мгновенно нарушить функцию любого участка клетки. Данный метод вместе с предыдущим приобрел особое значение

в связи с открытием искусственного (экстракорпорального) оплодотворения (ЭКО).

Фракционирование клеток (дифференциальное центрифугирование) заключается в разделении отдельных компонентов клетки под действием центробежной силы, так как в зависимости от плотности компоненты клетки оседают или скапливаются в надосадочной жидкости. Это дает возможность не только изучить химический состав, строение и функции этих компонентов, но и использовать их для создания бесклеточных систем, а также в процессе исследования лекарственных средств, например, антибиотиков. Для осуществления фракционирования используются центрифуги, имеющие скорость вращения от 200 до 150000 оборотов в минуту.

Метод рентгеноструктурного анализа позволяет изучить строение веществ на молекулярном уровне с помощью рентгеновского излучения. Особенностью этого метода является возможность определения размеров и пространственного размещения молекул и атомов. С помощью данного метода исследуют строение белков и нуклеиновых кислот.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — это метод избирательного размножения определенных фрагментов ДНК, имеющиеся в пробе в малом количестве. Данный метод используется для диагностики вирусных, бактериальных и наследственных заболеваний, а также для определения индивидуальной восприимчивости пациента к лекарственным препаратам.

В биологических исследованиях также используются такие биофизические методы как ультразвуковое исследование (УЗИ), магнитно-резонансная (МРТ) и компьютерная (КТ) и другие виды томографии, методы биохимии — хроматография, электрофорез и др. Большинство методов используется в биологических исследованиях не по отдельности, а в различных сочетаниях.

Контрольные вопросы

1. Предмет и задачи медицинской биологии.
2. Уровни организации живого и науки, изучающие их.
3. Основные биологические методы исследования.
4. Конструктивные части светового микроскопа и основные правила работы с ним.
5. Что такое разрешающая способность микроскопа? Чем ограничена разрешающая способность светового микроскопа?
6. Основные принципы электронной микроскопии.
7. Рентгеновская и атомно-силовая микроскопия.
8. Этапы гистологической обработки ткани.
9. Классификация красителей, используемых в световой микроскопии.
10. Применение биологических методов исследования в современной медицине.

Тестовые задания для проверки качества усвоения материала

Выберите один правильный ответ:

1. На каком уровне организации живого формируется его элементарная функциональная единица:

- A. молекулярно-генетический
- B. клеточном
- C. тканевом
- D. организменном
- E. биосферном

2. К механической части светового микроскопа НЕ относится:

- A. микровинт
- B. штатив
- C. окуляр
- D. предметный столик
- E. тубус

3. В электронной микроскопии в качестве заливочной среды используют:

- A. Парафин
- B. Канадский бальзам
- C. Целлоидин
- D. Формалин
- E. Эпоксидная смола

4. Окраска постоянных микропрепаратов может быть основана на образовании химических связей между красителем и клеточной структурой. Какой краситель следует использовать для выявления кислых структур клетки?

- A. Азур
- B. Кислый фуксин
- C. Судан III
- D. Эозин
- E. Эритрозин

5. С помощью какого метода биологических исследований можно установить концентрацию лекарственного препарата в органе-мишени его действия?

- A. Световой микроскопии
- B. Электронной микроскопии
- C. Проточной цитометрии
- D. Фотометрического
- E. Культуры клеток

Эталоны ответов: 1. B; 2. C; 3. E; 4. A; 5. D.

Ситуационные задачи

1. Вы — врач в клинике репродукции человека. Перед Вами стоит задача произвести искусственное оплодотворение. Какие методы биологических исследований Вы используете, учитывая, что диаметр яйцеклетки человека около 130 мкм, а длина сперматозоида — 50 мкм? Объясните свой ответ.
2. Известно, что содержимое лизосом — органелл, осуществляющих расщепление отработавших и чужеродных молекул и структур, должно иметь кислую реакцию. Какие биологические методы и красители следует применить для исследований природы различных лизосомных болезней?

Литература:

Основная

1. Биология / Под ред. В.Н. Ярыгина. — М.: Высшая школа, 2001. — 432с.
2. Медична біологія / В.П. Пішак, Ю.І. Бажора та ін./ Під ред. В.П. Пішака, Ю.І. Бажори. — Вінниця: Нова книга, 2004. — 656 с.
3. Слюсарев А.О., Жукова С.В. Біологія. — К.: Вища шк., 1992. — 422 с.
4. Ченцов Ю.С. Цитология: Уч. для вузов. — М.: Мед. информ. агентство, 2010. — 368 с.

Дополнительная

1. Аппаратные методы исследований в биологии и медицине: Учеб. пособие / В.П. Олейник, С.Н. Кулиш. — Харьков: Нац. аэрокосм. ун-т “Харьк. авиац. ин-т”, 2004. — 110 с.
2. Артюхов В.Г., Путинцева О.В. Оптические методы анализа интактных и модифицированных биологических систем. — Воронеж: Изд-во ВГУ, 1996. — 240 с.
3. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. — М.: Наука, 1989. — 277 с.
4. Миронов В.Д. Основы сканирующей зондовой микроскопии. — Н. Новгород: РАН, Ин-т физики микроструктур, 2004. — 110 с.
5. Молекулярная биология клетки: В 3-х т. Т. 1 / Б. Албертс, Д. Брей, Дж. Льюис и др. — М.: Мир, 1994. — 517 с.
6. Плескова С.Н. Атомно-силовая микроскопия в биологических и медицинских исследованиях: Уч. пос. — М/о: ИД Интеллект, 2011. — 184 с.
7. Руководство к практическим занятиям по биологии: Учеб. пособие для студ. сред. учеб. заведений / Н.В. Чебышев, А.Н. Демченко, М.В. Козарь. — М.: Издательский центр “Академия”, 2004. — 160 с.
8. Селиванов Е.В. Красители в биологии и медицине: Справочник. — Барнаул: Азбука, 2003. — 40 с.
9. Atomic Force Microscopy: Biomedical Methods and Applications / Eds. P. C. Braga, D. Ricci // Methods in Molecular Biology. — 2003. — Vol. 242. — 394 p.

10. Flow Cytometry Protocols / Eds. T.S. Hawley, R.G. Hawley // Methods in Molecular Biology. — 2011. — Vol. 699. — 486 p.
11. Microscopy, Optical Spectroscopy, and Macroscopic Techniques / Eds. C. Jones, B. Mulloy, A.H. Thomas // Methods in Molecular Biology. — 1994. — Vol. 22. — 251 p.
12. Molecular biology of the cell / B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis et al. — N.-Y.: Garland Science, 2008. — 1725 p.
13. PCR Protocols / Ed. D.J. Park // Methods in Molecular Biology. — 2011. — Vol. 687. — 348 p.

КАФЕДРА МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ ХНМУ