

CURSO DE POSTGRADO EN MICROSCOPIA CELULAR Y ANALISIS DE IMAGENES

FUNDACION CIENCIA Y VIDA –REDECA / SCIAN

Organizadores: Dr. Iván Alfaro Cortez
Dra. Soledad Matus
Dra. Nicole Halcaltégaray

Profesores Participantes: Dr. Iván Alfaro (Fundación Ciencia y Vida)
Dr. Jorge Toledo (Universidad de Chile)
Dr. Víctor Castañeda (Universidad de Chile)
Sr. Ignacio Velázquez (Leica Microsystems)
Dr. Christian Wilson (Universidad de Chile)
Sr. Pablo Moll (Olympus Microscopy)
Dra. Chiayu Chiu (CINV-Max Planck)

Fechas: 18 al 29 de Junio de 2018

Sesiones: 8 sesiones teóricas y 5 sesiones prácticas.

Cupos: 15 a 20 (Se dará preferencia a Tesistas de Doctorado)

Patrocinadores: Fundación Ciencia y Vida, SCIAN LAB, REDECA, Merken Biotech.

Programa:

Lunes 18 de Junio

(09:00 – 10:00) Clase Teórica 1A: Introducción a la Microscopía y Lentes Objetivos

- Presentación del curso e introducción. Organización de Grupos.
- Errores típicos en microscopía. Aspectos éticos en la investigación basada en Imágenes.
- Progresión desde lo cualitativo al análisis cuantitativo de imágenes de microscopía.

(10:00 – 10:15) Coffee break

(10:15 – 11:15) Clase Teórica 1B: Formación de Imagen en el Microscopio de Luz transmitida, Resolución Lateral y Lentes Objetivos

- Formación de Imagen en el microscopio de luz transmitida. Conceptos de Óptica de Fourier.
- Resolución limitada por difracción en microscopía óptica convencional.
- Lentes objetivos, conceptos de resolución, apertura numérica y magnificación.

Martes 19 de Junio

(09:00 – 10:00) Clase Teórica 2A: Lentes Objetivos y Microscopía de Luz Transmitida

- Lentes objetivos: DOF, DOI, WD.
- Tipos de Objetivos
- Aberraciones ópticas clásicas en lentes objetivos

(10:00 – 10:15) Coffee break

(10:15 – 11:15) Clase Teórica 2B – Microscopía de Luz Transmitida y Técnicas de Contraste

- Iluminación Köhler
- Microscopía de Campo Claro, Contraste de Fase, DIC y microscopía de luz polarizada.

(11:30 – 13:30) Práctico 1 - Microscopía de Luz Transmitida: Grupo 1

(15:00 – 17:00) Práctico 1 - Microscopía de Luz Transmitida: Grupo 2

- Anatomía y función de partes y piezas del microscopio.
- Ajuste de Iluminación Köhler
- Ajuste de parafocalidad de cámaras digitales.
- Adquisición de imágenes en campo claro (uso de condensador en alta y baja AN)
- Alineación de fases y adquisición de imágenes en contraste de fase.
- Ajuste y adquisición de imágenes DIC.
- Adquisición de imágenes en luz polarizada

Miércoles 20 de Junio

(09:00 – 10:00) Clase Teórica 3A: Microscopía de Fluorescencia - Epifluorescencia

- Fluorescencia: conceptos teóricos
- Resolución lateral en microscopía de fluorescencia convencional.
- Microscopía de Epifluorescencia: Anatomía de microscopios, Fuentes, Dicroicos, Filtros y detectores. Selección de Filtros.

(10:00 – 10:15) Coffee break

(10:15 – 11:15) Clase Teórica 3B: Microscopía de Fluorescencia - Fluoróforos

- Fluoróforos orgánicos, quantum dots y sondas fluorescentes.
- Proteínas fluorescentes. Variantes, propiedades, artefactos.
- Biosensores codificados genéticamente y herramientas optogenéticas.
- Errores clásicos en microscopía de epifluorescencia.

(11:30 – 13:30) Práctico 2 - Microscopía de Epifluorescencia. Grupo 1.

(15:00 – 17:00) Práctico 2 - Microscopía de Epifluorescencia. Grupo 2.

- Anatomía del Microscopio de Epifluorescencia.
- Fuentes, Cubos, Dicroicos y Filtros.
- Adquisición de Imágenes en Cámara Digital.

Jueves 21 de Junio

(10:30 – 11:30) Clase teórica 4A. Microscopía de Fluorescencia Confocal 1

Profesor Invitado: Sr. Ignacio Velásquez (Leica Microsystems)

- Anatomía del microscopio confocal: Láseres y otras fuentes
- Laser scanning vs Spinning Disk.
- AOTF, unidades espectrales y filtros, fotomultiplicadores y detectores.

(11:30 – 11:45) Coffee break

(11:45 – 12:45) Clase Teórica 4B: Microscopía de Fluorescencia Confocal 1

- Aplicaciones de Microscopía Confocal
-

Viernes 22 de Junio

(09:00 – 10:00) Clase Teórica 5A: Microscopía de Fluorescencia Confocal 2

- Resolución lateral y axial en microscopía confocal. PSFs.
- Construcción de imagen en microscopía confocal.

(10:00 – 10:15) Coffee break

(10:15 – 11:15) Clase Teórica 5B: Microscopía de Fluorescencia Confocal 2

- Seccionamiento en Z y reconstrucción tridimensional
- Resolución espectral, Lambda Scan y deconvolución espectral.

(11:30 – 13:30) Práctico 3 - Microscopía de Fluorescencia Confocal XY, XYλ. Grupo 1.

(15:00 – 17:00) Práctico 3 - Microscopía de Fluorescencia Confocal. XY, XYλ Grupo 2.

- Anatomía del Microscopio de Fluorescencia Confocal
 - Adquisición de fluorescencia XY en múltiples canales en muestras fijas
 - Lambda stacking y deconvolución espectral
-

Lunes 25 de Junio

(09:00 – 10:00) Clase Teórica 6A: Live Cell Imaging en Microscopía de Epifluorescencia y Confocal.

- Ambientación y sistemas de perfusión.
- Adquisiciones XYT y XYZT.

(10:00 – 10:15) Coffee break

(09:00 – 10:00) Clase Teórica 6B: Live Cell Imaging en Microscopía de Epifluorescencia y Confocal.

- TIRF, Spinning Disk y otras tecnologías de microscopía en células vivas.
- Imaging de parámetros biológicos, FRET, FRAP y fotoactivación.

(11:30 – 14:00) Práctico 4 - Live Cell Imaging XYT, XYZT. Grupo 1.

(15:00 – 17:00) Práctico 4 - Live Cell Imaging XYT, XYZT. Grupo 2.

- Adquisición en DIC y fluorescencia confocal simultánea.
 - Registros de pH y calcio intracelular en células vivas.
 - Aplicaciones: FRET, FRAP
 - Sistemas automatizados de perfusión y aparatos de microfluído.
-

Martes 26 de Junio

(09:00 – 10:00) Clase Teórica 7A: Digitalización de Imágenes

- Detectores y Cámaras Digitales, tipos y aplicaciones.
- Conceptos de Digitalización de Imagen. Conceptos de profundidad de bits, ganancia, offset, contraste, LUTs. Rango Dinámico, razón señal/ruido, etc.
- Resolución Digital, Binning y Nyquist Sampling

(10:00 – 10:15) Coffee break

(10:15 – 11:00) Clase Teórica 7B: Deconvolución de Imágenes

- Deconvolución de imágenes, aspectos teóricos.
- Métodos lineales y algoritmos iterativos basados en PSF teóricas.
- Deconvolución en análisis de imágenes, reconstrucción y morfometría 3D.

(11:30 – 13:30) Práctico 5 - Microscopía de Fluorescencia Confocal XYZ. Grupo 1.
(15:00 – 17:00) Práctico 5 - Microscopía de Fluorescencia Confocal. XYZ. Grupo 2.

- Adquisiciones XYZ de PSF y cálculo de resolución axial.
 - Adquisición de imágenes fijas en XYZ en múltiple canal.
 - Deconvolución de imágenes tridimensionales.
-

Miércoles 27 de Junio

(09:00 – 1:00) Clase Teórica 8A: High Content Imaging y Análisis de Imágenes

- Screening fenotípico y Tipos de equipamiento.
- Z factor.
- Análisis de imágenes: Introducción
- Análisis de intensidad y morfología, algoritmos de segmentación basados en morfología e intensidad.

(10:00 – 10:15) Coffee break

(10:15 – 11:00) Clase Teórica 8B: Análisis de Señales Dinámicas y Colocalización

- Análisis de Señales Dinámicas
- Análisis de Colocalización.
- Softwares de Análisis.

(11:30 – 14:00) Práctico 6 - High Content Imaging: Grupo 1

(15:00 – 17:00) Práctico 6 - High Content Imaging: Grupo 2

- Cytation 5 High Content Imaging System
 - Observación en modo manual
 - Observación en modo automático: configuración de placas, mapeo de wells, SN autofocus, definición de límites de autofocus, configuración de protocolos y experimentos, output y almacenamiento de imágenes.
-

Jueves 28 de Junio:

Microscopía de Super-resolución y Light-Sheet (SCIEN LAB – REDECA Universidad de Chile)

(09:00 – 10:00) Clase Teórica 9A: Microscopía de Super-resolución

(10:00 – 10:15) Coffee break

(10:15 – 11:00) Clase Teórica 9B: Microscopía Light-Sheet

(11:00 – 12:00) Visita a equipos de REDECA

Viernes 29 de Junio:

(09:00 – 10:00) Charla Microscopía de Pinzas Ópticas

Profesor Invitado: Dr. Christian Wilson (Universidad de Chile)

- Introducción a métodos de moléculas individuales
- Técnicas que permiten aplicación de fuerzas en materiales biológicos
- Pinzas ópticas en aplicaciones biológicas

(10:00 – 10:15) Coffee break

**(10:15 – 11:15) Charla de Microscopía de óptica no lineal y de segunda armónica.
Profesor Invitado: Pablo Mall (Olympus Microscopy)**

(11:30 – 13:30) Entrenamiento en análisis de imágenes con ImageJ (Todos los Grupos)

- Análisis de intensidad y morfología
- Segmentaciones basadas en morfología, intensidad o espectro
- Análisis de señales dinámicas
- Análisis de colocalización
- Uso de scripts y macros.

(13:30-14:30) Almuerzo.

**(15:00 – 16:30) Charla Plenaria de Clausura. Microscopía de 2 fotones.
Dra Chiayu Chiu (CINV – Max Plank).**

(16:30 – 17:00) Charla Plenaria de Clausura.

Dr. Steffen Hartel (Universidad de Chile). Confirmación Pendiente.

(17:00-19:00) Cóctel de Cierre y Entrega de Certificados.