

Teoretický uživatelský (ÚDMP) kurz mikroskopie: dekonvoluce, kolokalizace, 3D rekonstrukce (19-21.5.2008)

Organizátor: MUDr. Jakub Sikora, Ph.D.

Místo konání: seminární místnosti KDDL, budova C, 3. patro, Ke Karlovu 2.

e-mail: jakub.sikora@lf1.cuni.cz

skype: dr.jakub.sikora

www: <http://udmp.lf1.cuni.cz/web2/facility/microscope/microscopy.htm>,
<http://udmp.lf1.cuni.cz/>

telefon: 224967031,

Program:

Pondělí 19.5.

15:30-16:00 Úvod

16:00-17:00

Světelný mikroskop jako "convolution machine"

- numerická apertura (NA)
- point spread function (PSF)
- existuje limit rozlišení?
- excitace, emise, selekce
- detekce fluorescenčního signálu v optické mikroskopii (PMT, CCD)

17:10 - 18:00

**Laboratoř mikroskopie ÚDMP – demonstrace zařízení,
provoz - ☹**

Úterý 20.5.

15:30 - 17:00

Fluorescenční mikroskopie

- fluorescence a fluorescenční značky, fluorescenční proteiny
- wide-field vs. konfokální mikroskopie

- multi-photon konfokální mikroskopie
- 4-pí a STED mikroskopie

17:10 - 18:00

F neznamená vždy "fluorescence"

- FRET, FLIM
- FRAP
- TIRF

Středa 21.5.

16:00 - 17:15

Dekonvoluce, 3D rekonstrukce, kolokalizace

17:20 - 18:00

**Kritická evaluace mikroskopického systému
Jak prezentovat obrázky v publikacích, čeho se vyvarovat,
praktické tipy**

Doporučená literatura a www zdroje:

1. **Nikon USA knowledge base -**
<http://www.microscopyu.com/sitemap.html>
2. **Olympus - theory of confocal microscopy**
<http://www.olympusfluoview.com/theory/index.html>
3. **Scientific Volume Imaging knowledge base -**
<http://support.svi.nl/wiki/>
4. **L. LANDMANN (2002) Deconvolution improves colocalization analysis of multiple fluorochromes in 3D confocal data sets more than filtering techniques. Journal of Microscopy 208 (2), 134-147.** <http://www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1046/j.1365-2818.2002.01068.x>
5. **S. BOLTE, F. P. CORDELIÉRES (2006) A guided tour into subcellular colocalization analysis in light microscopy. Journal of Microscopy 224 (3), 213-232.** <http://www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2818.2006.01706.x>
6. **HOWARD R. PETTY: Fluorescence Microscopy: Established and Emerging Methods, Experimental Strategies, and Applications in Immunology. MICROSCOPY RESEARCH AND**

TECHNIQUE 70:687-709 (2007)

<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/114203663/PDFSTART>

7. **Brown CM: Fluorescence microscopy--avoiding the pitfalls. J Cell Sci. 2007 May 15;120(Pt 10):1703-5**
<http://jcs.biologists.org/cgi/reprint/120/10/1703>
8. **Murray, J.M., Appleton, P.L., Swedlow, J.R. & Waters, J.C. Evaluating performance in three-dimensional fluorescence microscopy. J. Microsc. 228, 390-405 (2007).**
9. **Petty, H.R. Fluorescence microscopy: established and emerging methods, experimental strategies, and applications in immunology. Microsc. Res. Tech. 70, 687-709 (2007).**

Mikroskopická literatura na ÚDMP (!!některé osobní JS!!):

1. **Periasami, A. – Day, R.N. Molecular Imaging – FRET Microscopy and Spectroscopy (2005) Oxford University Press (**
<http://www.the-aps.org/publications/books/methods.htm>)
2. **Goldmann, R.D. – Spector, D.L. Live Cell Imaging – A Laboratory Manual (2005) Cold Spring Harbor Laboratory Press**
(http://www.cshlpress.com/default.tpl?cart=12099882841499830&fromlink=T&linkaction=full&linksortby=oop_title&--eqSKUdatarq=462)
3. **Methods in Cell Biology – Cellular Electron Microscopy, (volume 79, 2007), edited by McIntosh, J.R., Elsevier**
(http://www.elsevier.com/wps/find/bookdescription.cws_home/710742/description#description)
4. **Methods in Cell Biology – Digital Microscopy (3rd edition) (volume 81, 2007), edited by Sluder, G., Wolf, D.E. Elsevier**
(http://www.elsevier.com/wps/find/bookdescription.cws_home/711668/description#description)
5. **Kohen E. et al. Atlas of Cell Organelles Fluorescence (2004), CRC Press,**
(http://www.crcpress.com/shopping_cart/products/product_detail.asp?sku=1440&isbn=9780849314407&parent_id=&pc=)