

# MICROSCOPIA Y ANÁLISIS DE IMAGEN

## Del 15 al 26 de mayo de 2023

**Día 1º (15 de Mayo) \_Introducción a la imagen digital y a la microscopía (2,5 horas, de 15:00 a 17:30). Ponente: José Ángel Rodríguez Alfaro**

- Imagen digital:
  - Historia de la fotografía (de analógico a digital)
  - Resolución espacial (pixel, voxel)
  - Resolución cromática (bit, bytes)
  - El lenguaje informático (código binario)
  - Imagen en escala de grises, imagen a color (RGB, CMYK).
  - El histograma de una imagen
  - Formatos de Archivo.
- Dispositivos de captación de Imagen. CCD.
  - Características; resolución, eficiencia, ruido, rango dinámico, refresco de pantalla, tiempo de exposición, Binning, ganancia...
- Introducción a la óptica:
  - Poder resolutorio,
  - Apertura numérica,
  - Aumento máximo útil
  - Profundidad de foco.
  - Lentes y sus aberraciones, el PSF
  - Tipos y características de los objetivos.

**Día 2º (16 de Mayo) \_Microscopía de Fluorescencia. (2,5 horas, de 15:00 a 17:30). Ponente: José Ángel Rodríguez Alfaro**

- Introducción a la microscopía.
  - Reseña histórica
  - El campo de la microscopía
  - El microscopio, componentes.
  - Tipos de microscopía y microscopios
- Microscopía de Fluorescencia:
  - La luz y sus propiedades. (espectro electromagnético)
  - Fluorescencia.
  - Espectro de excitación y de emisión
  - Fluorocromos: Tipos y propiedades
- Microscopio de fluorescencia.
  - Cubos de filtros y nomenclatura
  - Diagrama de los filtros

- Elección de cubos de filtros dependiendo del marcaje de las muestras.
- Proteínas fluorescentes.
  - GFP (proteína verde fluorescente)
  - Descubrimiento y desarrollo de las proteínas fluorescentes.
  - Aplicaciones en el estudio biológico. Técnicas de fluorescencia para el estudio biológico. Ejemplos.
  - Ratón Brainbow

**Día 3º (17 de Mayo) \_Microscopía Confocal (2.5 horas, de 15:00 a 17:30). Ponente: José Ángel Rodríguez Alfaro**

- Historia
- Funcionamiento del microscopio confocal; Pinhole, PSF y anillos de Airy
- Componentes
  - Microscopio, cabeza escaneadora, bancada laser, AOTF, AOBS.
- Tipos de captura.
  - Captación normal evitando solapamiento
  - Captación secuencial.
  - Captación 3D
  - Captación 4D
  - Biomapping
  - ROI
  - Reflexión (materiales)
- Tipos de microscopio Confocal y otros equipos de fluorescencia;
  - Confocal multiespectral.
  - Confocal Spinning Disk
  - Dos fotones
  - TIRF
  - Microscopía Light-sheet
  - Láser blanco
  - Superresolución.

**Día 4º (18 de Mayo) \_Otras técnicas disponibles en el SMAI (2 horas, de 15:00 a 17:00). Ponente: Javier Mazarío Torrijos**

- Estereología: Breve introducción a la estereología como herramienta en la investigación biológica.
- Microdissección: Descripción y aplicaciones
- *High content analysis*: Descripción y aplicaciones. Empleo de la inteligencia artificial
- Capturas en *video time-lapse*: Descripción de los equipos y ejemplos de VTL

**Día 5º (19 de Mayo) \_Demostraciones de uso de nuestros microscopios de fluorescencia y confocales (2,5 horas, de 15:00 a 17:30). Ponente: José Ángel Rodríguez Alfaro**

- Prácticas microscopio de epifluorescencia,
  - Diseño de un experimento de captura de imagen con diferentes marcadores fluorescentes.
  - Puesta a punto del microscopio para realizar el ensayo diseñado.
  - Captura de imágenes.
- Prácticas de microscopía confocal.
  - Demostración del manejo de un microscopio confocal, software.
  - Diseño de un experimento de captura de imagen con diferentes marcadores fluorescentes.
  - Observación y captura de imágenes muestras.

**Día 6º (22 de Mayo) \_Demostraciones en el SMAI para ver los equipos y sus posibilidades (3 horas, de 15:00 a 18:00). Ponente: Javier Mazarío Torrijos**

- Programa informático NewCast para estereología.
- Microscopio de microdissección láser
- Analizador celular para técnicas de *High content analysis*
- Microscopios para la captura de vídeos de procesos biológicos.

**Día 7º (23 de Mayo) \_Fundamentos del análisis de imagen (2,5 horas, de 15:00 a 17:30). Ponente: Javier Mazarío Torrijos**

- Ética del retoque y la presentación de imágenes
- Procesado de la imagen digital
- Segmentación
- Procesado de la imagen binaria
- Conceptos básicos del manejo de FIJI-ImageJ

**Día 8º (24 de Mayo) \_Introducción al análisis de imagen con FIJI-ImageJ I (2,5 horas, de 15:00 a 17:30). Ponente: Javier Mazarío Torrijos**

- Calibración
- Mediciones
- Obtención de datos
- Ejercicios prácticos

**Día 9º (25 de Mayo) \_Técnicas especiales de microscopía para el estudio biológico (2,5 horas, de 15:00 a 17:30). Ponente: José Ángel Rodríguez Alfaro**

- Colocalización
- FRET y FRAP
- Fotobleaching y Fotoactivación

- EJERCICIOS

**Día 10º (26 de Mayo) \_Introducción al análisis de imagen con FIJI-ImageJ II (2,5 horas, de 15:00 a 17:30). Ponente: Javier Mazarío Torrijos**

- Automatización del procesado y análisis de imágenes
- El editor de *scripts* y su uso
- Grabador de macros
- Adaptación y edición de macros
- Ejercicios prácticos