

Taller Internacional de Microscopias Ópticas Avanzadas
IV Edition of High-Resolution Optical Microscopy
Engineering School-UNER

25 al 29 de noviembre de 2019

Organizan

- Laboratorio de Microscopia Aplicada a Estudios Moleculares y Celulares (LAMAE) - Facultad de Ingeniería - Universidad Nacional de Entre Ríos (FI-UNER)
- Instituto de Investigación y Desarrollo en Bioingeniería y Bioinformática (IBB CONICET-UNER)

PROGRAMA

ESCUELA TEÓRICA

- **Lunes 25 de noviembre de 2019**

Conferencia 1: Introducción: Presente y futuro de las microscopias ópticas avanzadas

Dr. Carlos Lenz Cesar (UFC - Brasil) - Presentación de las principales técnicas. Plataforma multimodales. Centros en Latinoamérica.

Conferencia 2: Restauración de imágenes en Microscopia de Fluorescencia

Dr. Javier Díaz-Zamboni (LAMAE FI-UNER - Argentina) - Introducción a la microscopia de fluorescencia. Modelo de formación de la imagen. Formas de determinación de la función de esparcimiento puntual o PSF. Técnicas de restauración de imágenes.

Conferencia 3: Microscopia Laser Confocal

Tec. Roberto Fernández (IFIBYNE UBA CONICET- Argentina) - Principio. Tipos de microscopios confocales. Sistemas de barrido. Sistemas de registro. Estudios en 3D, 4D y Timelapse.

Conferencia 4: Análisis de Imágenes

Dr. Guillermo Gómez (Centre for Cancer Biology, SA Pathology and University of South Australia-Australia) – Imágenes digitales: Discretización del espacio: pixel, voxel. Criterio de Nyquist para resolución. Matrices y propiedades de imágenes digitales. Cuantificaciones morfométricas y de intensidades sobre regiones de interés. Stacks multidimensionales y cuantificaciones en dimensiones múltiples. Macros simples para el análisis de imágenes en ImageJ y Matlab.

Conferencia 5: Marcadores Fluorescentes

Dr. Víctor H. Casco (FI-IBB CONICET UNER - Argentina) - Resumen de las principales técnicas de marcación con sondas fluorescentes. Propiedades físico-químicas de las principales sondas fluorescentes. Ventajas y desventajas de las principales sondas fluorescentes. Algunas estrategias actuales de marcación con sondas fluorescentes.

- **Martes 26 de noviembre de 2019**

Conferencia 6: Sistema AiryScan

Dr. Daniel Koch (Especialista Zeiss Alemania - Alemania) - Principio de funcionamiento. Desarrollo AiryScan. Superresolución utilizando la técnica de AiryScan. Análisis de sensibilidad, resolución y velocidad con el nuevo sistema.

Conferencia 7: Microscopia Multifotón

Ing. Hernán Mendoza (Zeiss Argentina - Argentina) - Principio de funcionamiento. Laser pulsado. Profundidad de penetración. Ventajas de la microscopia multifotón. Equipamiento.

Conferencia 8: Microscopia FLIM y FRET

Dr. Guillermo Gómez (Centre for Cancer Biology, SA Pathology and University of South Australia - Australia) - Concepto FRET. Pares donador y aceptor. Aplicaciones en sistemas biológicos. Consideraciones prácticas para mediciones de FRET usando diferentes métodos.

Conferencia 9: Microscopia No Lineal SHG y THG

Dr. Javier Adur (FI-IBB CONICET UNER - Argentina) - Propiedades de las microscopias no lineales. Equipamientos. Consideraciones sobre las fuentes laser pulsadas. Origen del contraste en SHG y THG. Plataforma multimodales. Principales aplicaciones.

Conferencia 10: Microscopia CARS

Dr. Carlos Lenz Cesar (UFC – Brasil) - Principio de funcionamiento. Equipamiento. Sincronización espacial y temporal de las fuentes láser. Especificidad química. Principales aplicaciones.

- **Miércoles 27 de noviembre de 2019**

Conferencia 11: Nanoscopia óptica con resolución molecular.

Lic. Luciano Masullo (CIBION-CONICET - Argentina) - STED y STORM/PAINT. Dos setups de super-resolución con resoluciones hasta $\sim 20/30$ nm. Ejemplos de aplicaciones. Desarrollo actual de técnicas nanoscopías con resoluciones en la escala de 1 a 10 nm: escala molecular.

Conferencia 12: Microscopia de Superresolución

Dr. Francisco Barrantes (BIOMED UCA CONICET- Argentina) - Concepto de superresolución. Clasificación de las diferentes técnicas. Ventajas y desventajas. Principales aplicaciones.

Conferencia 13: Técnicas de FCS y FCCS

Dra. Valeria Levi (FCEyN UBA - Argentina) - Microscopia de correlación de fluorescencia y de correlación cruzada para el estudio de la dinámica de los procesos intracelulares en sistemas de células vivas.

- **Jueves 28 de noviembre de 2019**

Conferencia 14: Explorando circuitos cerebrales mediante técnicas de Array Tomography

Dr. Mariano Soiza-Reilly (IFIBYNE UBA CONICET - Argentina) - *Array tomography*: una técnica cuantitativa de inmunofluorescencia de alta resolución. Preparación de la muestra y procedimientos generales de la técnica. Múltiples inmunomarcaciones. Análisis cuantitativo de

la anatomía molecular de las sinapsis. Evaluación de asociaciones sinápticas axo-axónicas. Análisis selectivo de circuitos cerebrales input-específicos.

Conferencia 15: Aplicaciones de FRET-FLIM y Microscopia de superresolución (SIM)

Dr. Guillermo Gómez (Centre for Cancer Biology, SA Pathology and University of South Australia - Australia) - Biosensores basados en FRET-FLIM para mediciones de activación de vías de señalización dentro de células y tensión intramolecular. Ejemplo usando “*tensión-sensors*” y RhoGTPases. Aplicaciones de láseres multifotónicos para ablación y medidas de tensión mecánica en uniones célula-célula y fotoactivación para mediciones de estabilidad de filamentos de actina. Aplicaciones de microscopia super-resolucion (SIM) para estudios de organización del córtex de actina y su rol en el establecimiento de propiedades mecánicas en células epiteliales.

Conferencia 16: Resolviendo la diferenciación neuronal en la retina de los vertebrados mediante microscopía confocal in vivo.

Dr. Flavio Zolessi (Instituto Pasteur de Montevideo – Uruguay) – La polarización y orientación neuronal se ha estudiado extensivamente en cultivos celulares. Sin embargo, en el organismo vivo las neuronas se encuentran con restricciones espaciales y una distribución de señales que es muy difícil de remedar en cultivo. Por esta razón, hace varios años decidimos combinar la eficiencia de la microscopía láser confocal para generar imágenes en 3D y en el tiempo de gran resolución, con la transparencia y posibilidad de manipulaciones experimentales del embrión de pez cebra y expresando proteínas fluorescentes de distintos tipos celulares. Se presentan resultados sobre la diferenciación celular de las células ganglionares de la retina, de la cilia primaria en aspectos como la neurogénesis y posicionamiento del cuerpo celular y análisis del proceso de diferenciación in vivo de los fotorreceptores,

Conferencia 17: Mecanismos moleculares de la regulación del tamaño celular en células únicas vegetales.

Dr. José Estevez (Instituto Leloir – Argentina)

Viernes 29 de noviembre de 2019

Conferencia 18: Microscopias No Lineales en cáncer

Dr. Hernandes F. Carvahlo (UNICAMP INFABIC - Brasil) - Aplicaciones de las técnicas no lineales de microscopia para el estudio del cáncer.

Conferencia 19: Gráfico de fasores en FLIM.

Dr. Leonel Malacrida (Universidad de la Republica - Uruguay)- Gráfico de fasores para imágenes FLIM e Hiperespectral. Análisis e interpretación.

Conferencia 20: Adquisición de imágenes por espectrometría de masas

Dr. Rolando Rivera Pomar (UNNOBA CONICET - Argentina) –Proteómica o metabolómica a nivel espacial por espectrometría de masas. Obtención de imágenes de distribución de proteínas y metabolitos en tejidos, órganos u organismos por sistemas de detección *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization* (MALDI) o *Secondary Ion Mass Spectrometry* (SIMS). Se analizarán ventajas y las limitaciones actuales y los posibles desarrollos futuros.

ESCUELA PRÁCTICA

Miércoles 27/11, Jueves 28/11 y Viernes 29/11 (13:30 a 16:30)

Laboratorio 1: Microscopia de Fluorescencia (Dr. César González, Dra. María F. Izaguirre, Dra. Valeria Sigot - FI-LAMAE-IBB CONICET)

Trabajo con el equipo Olympus IX83. Componentes y principios básicos del microscopio. Seccionamiento óptico, consideraciones del número y espesor de las secciones ópticas. Determinación de la PSF y representación 3D. Visualización del pez cebra, mucosa de colon, otros.

Laboratorio 2: Microscopia Confocal + AiryScan + FLIM (Bioing. Juan Etchart, Dr. Javier Adur – FI-LAMAE-IBB CONICET / Ing. Hernán Mendoza – ZEISS ARGENTINA)

Trabajo con el equipo Zeiss LSM880. Componentes y diagrama del equipo. Funcionamiento. Obtención de imágenes 2D, 3D, FLIM, superresolución. Consideraciones de setup para cada tipo de captura. Utilización del sistema AiryScan, principio de funcionamiento y ejemplo de capturas.

Miércoles 27/11, Jueves 28/11 y Viernes 29/11 (17:00 a 20:00)

Taller Avanzado de Computación con ImageJ (Lic. Luciana Erbes, Bioing, Ángel Zeitoune, Dr. Javier Díaz Zamboni - FI-LAMAE-IBB CONICET)

Herramientas de ImageJ: Procesamiento, mejora, visualización y cuantificación de imágenes digitales 2D y 3D de microscopia ópticas aplicadas al análisis de problemas biológicos.

MINI CURSO IMAGE J

Miércoles 27/11 y Jueves 28/11 (14:30 a 17:00)

Curso Básico de ImageJ (Bioq. José M. Pellegrino - UNR-CONICET)

Introducción al Análisis Digital de Imágenes. Presentación del programa ImageJ/FIJI. Operaciones más comunes. Calibración de imágenes. Conteo de partículas. Medición de intensidades