



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Mikroskopia konfokalna i fluorescencyjna

Karta opisu przedmiotu

Informacje podstawowe

Kierunek studiów biofizyka molekularna i komórkowa	Cykl kształcenia 2020/21	
Ścieżka -	Kod przedmiotu UJ.WBtBMKS.140.5cac67be65cdb.20	
Jednostka organizacyjna Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii	Języki wykładowe Polski	
Poziom kształcenia pierwszego stopnia	Dyscypliny Nauki biologiczne	
Forma studiów studia stacjonarne	Klasyfikacja ISCED 0511 Biologia	
Profil studiów ogólnoakademicki	Kod USOS	
Obligatoryjność fakultatywny		
Koordinator przedmiotu	Jerzy Dobrucki	
Prowadzący zajęcia	Agnieszka Waligórska, Mirosław Zarębski, Jerzy Dobrucki	
Okres Semestr 3	Forma weryfikacji uzyskanych efektów uczenia się zaliczenie	Liczba punktów ECTS 4.0
	Sposób realizacji i godziny zajęć wykład: 20, ćwiczenia: 25	

Cele kształcenia dla przedmiotu

C1	Student poznaje podstawowe informacje dotyczące różnych technik mikroskopii optycznej, ze szczególnym uwzględnieniem technik mikroskopii fluorescencyjnej i konfokalnej, a także zasady prawidłowej rejestracji obrazów mikroskopowych i wykorzystania mikroskopu jako wszechstronnego narzędzia badawczego, używanego do badania struktury i funkcji komórek roślinnych i zwierzęcych, w tym do badania subkomórkowej lokalizacji ząsteczek różnych typów oraz do badania dynamiki białek w komórkach. Student poznaje teoretyczne podstawy oraz zyskuje praktyczne umiejętności laboratoryjne potrzebne do posługiwania się najnowszymi osiągnięciami technik mikroskopowych.
----	---

Efekty uczenia się dla przedmiotu

Kod	Efekty w zakresie	Kierunkowe efekty uczenia się	Metody weryfikacji
Wiedzy - Student zna i rozumie:			
W1	potrafi wyjaśnić zasadę działania mikroskopu optycznego (w tym mikroskopu z kontrastem fazowym, z kontrastem interferencyjnym Nomarskiego, mikroskopii ciemnego pola, mikroskopii fluorescencyjnej szerokiego pola) dla prostych przypadków.	BMK_K1_W08	zaliczenie pisemne, zaliczenie na ocenę, zaliczenie
W2	umie określić rolę kluczowych elementów leżących w drodze optycznej i wyjaśnić zasadę działania fluorescencyjnej mikroskopii szerokiego pola oraz skaningowej mikroskopii konfokalnej.	BMK_K1_W07, BMK_K1_W08	zaliczenie pisemne, zaliczenie na ocenę, zaliczenie
W3	posiada podstawowe informacje na temat powszechnie używanych znaczników i sond fluorescencyjnych, oraz białek fluorescencyjnych używanych w badaniach komórek zwierzęcych i roślinnych z wykorzystaniem wybranych metod mikroskopii fluorescencyjnej	BMK_K1_W08, BMK_K1_W09	zaliczenie pisemne, zaliczenie na ocenę, zaliczenie
W4	rozumie możliwości, ale i ograniczenia współczesnych metod mikroskopowych (FRAP, FLIP, FCS, FRET i in.) w badaniach struktury i funkcji komórki (fototoksyczność, ograniczona rozdzielczość przestrzenna i czasowa itp.) i potrafi zaproponować ich właściwe wykorzystanie w rozwiązywaniu różnych problemów doświadczalnych.	BMK_K1_W08	zaliczenie pisemne, zaliczenie na ocenę, zaliczenie
Umiejętności - Student potrafi:			
U1	umie dobierać optymalne warunki pomiaru, w tym rozmiary voksela dla rejestrowania obrazu trójwymiarowego w fluorescencyjnej mikroskopii konfokalnej.	BMK_K1_U08	zaliczenie pisemne, zaliczenie na ocenę, zaliczenie
U2	potrafi przeprowadzić prawidłowo obserwację żywych komórek przy optymalnych ustawieniach dla rejestrowania serii zdjęć poklatkowych w mikroskopii fluorescencyjnej i konfokalnej.	BMK_K1_U08	zaliczenie na ocenę, zaliczenie
U3	potrafi wykorzystać na podstawowym poziomie mikroskop konfokalny do określenia danych liczbowych badanego układu wewnątrzkomórkowego (FRAP, FLIP, FCS, FLIM i in.)	BMK_K1_U05, BMK_K1_U08	zaliczenie na ocenę, zaliczenie
Kompetencji społecznych - Student jest gotów do:			

K1	potrafi współdziałać w grupie ćwiczeniowej. Wykonuje sprawnie przydzielone zadania dążąc do wyznaczonego celu.	BMK_K1_K01	zaliczenie na ocenę, zaliczenie
----	--	------------	---------------------------------

Bilans punktów ECTS

Forma aktywności studenta	Średnia liczba godzin* przeznaczonych na zrealizowane rodzaje zajęć	
wykład	20	
ćwiczenia	25	
przygotowanie do ćwiczeń	25	
zbieranie informacji do zadanej pracy	15	
przygotowanie do egzaminu	20	
Łączny nakład pracy studenta	Liczba godzin 105	ECTS 4.0
Liczba godzin kontaktowych	Liczba godzin 45	ECTS 1.7

* godzina (lekcyjna) oznacza 45 minut

Treści programowe

Lp.	Treści programowe	Efekty uczenia się dla przedmiotu
1.	Podstawowe wiadomości o detekcji składników i przemian komórkowych metodami optycznymi, z szczególnym uwzględnieniem metod fluorescencyjnych. Podstawy optyki związane z tworzeniem obrazu w mikroskopie. Podstawowe informacje dotyczące mikroskopii szerokiego pola (transmisyjnej i fluorescencyjnej), bezpieczna obsługa i zasada działania mikroskopu, metody uzyskiwania kontrastu.	W1, W2, U1, K1
2.	Badanie struktury i funkcji nienaruszonych komórek in vitro różnymi metodami mikroskopowymi, z użyciem niskocząsteczkowych i białkowych sond fluorescencyjnych. Budowa i działanie mikroskopu fluorescencyjnego, teoretyczne i praktyczne podstawy rejestracji optymalnego obrazu za pomocą kamery cyfrowej (CCD, emCCD, sCMOS). Zasady pracy z żywymi komórkami, dekonwolucja.	W2, W3, U1, U2, K1
3.	Rejestracja obrazów i tworzenie rekonstrukcji 3D i obserwacja żywych komórek i organelli (serie obrazów w czasie) za pomocą mikroskopu konfokalnego. Zalety i ograniczenia mikroskopii fluorescencyjnej i konfokalnej. Wprowadzenie do prowadzenia obserwacji ilościowych za pomocą mikroskopii.	W2, W3, U1, U2, K1
4.	Detekcja oddziaływań między cząsteczkami (białko-białko, receptor-ligand, DNA-interkalator, etc.) metodami wygaszania fluorescencji, rezonansowego przekazywania energii Förstera, pomiaru czasów trwania fluorescencji. Zastosowania metod FRAP, FLIP, FRET, FLIM, FLIM-FRET, „speckle microscopy”, mikroskopii CARS do badania lokalizacji, dyfuzji, dynamiki i modyfikacji potranslacyjnych białek in situ, w nienaruszonej komórce, oraz oddziaływania leków ze składnikami komórek.	W3, W4, U3, K1

5.	Dynamika histonu łącznikowego H1, histonów korowych oraz innych białek jądrowych w żywych komórkach (FRAP), Problematyka fototoksyczności. Analiza krzywych FRAP.	W4, U1, U3, K1
6.	Podstawy zastosowania pomiaru czasu życia fluorescencji za pomocą mikroskopii konfokalnej, stosowanie mikroskopii superrozdzielczej.	W4, U1, U2, U3, K1

Informacje rozszerzone

Metody nauczania:

wykład konwersatoryjny, wykład z prezentacją multimedialną, dyskusja, ćwiczenia laboratoryjne

Rodzaj zajęć	Formy zaliczenia	Warunki zaliczenia przedmiotu
wykład	zaliczenie pisemne, zaliczenie na ocenę	Wymagane 50% punktów na zaliczenie.
ćwiczenia	zaliczenie na ocenę, zaliczenie	Uzyskanie w sumie 60% punktów ze wszystkich ćwiczeń.

Literatura

Obowiązkowa

1. Handbook of Biological Confocal Microscopy, edited by J. Pawley, Springer.
2. Fluorescence Microscopy: From Principles to Biological Applications, edited by Ulrich Kubitscheck, Wiley.
3. F.W.D. Rost, Fluorescence Microscopy, Cambridge University Press.

Dodatkowa

1. Fluorescent and Luminescent Probes for Biological Activity. W. Maon (ed.). Academic Press.

Kierunkowe efekty uczenia się

Kod	Treść
BMK_K1_W08	Absolwent zna i rozumie metody badania układów komórkowych, w tym podstawowe i zaawansowane techniki mikroskopowe, metody biofizyczne stosowane w badaniu i inżynierii komórki oraz biofizyczne aspekty funkcjonowania komórki;
BMK_K1_W07	Absolwent zna i rozumie/ posiada dobrą znajomość podstaw fizyki doświadczalnej w tym mechanikę, termodynamikę, optykę, elektryczność i magnetyzm, fizykę atomową
BMK_K1_W09	Absolwent zna i rozumie budowę, rolę i funkcję biocząsteczek, zna podstawowe i zaawansowane metody spektroskopowe i inne biofizyczne metody badań biocząsteczek
BMK_K1_U08	Absolwent potrafi/ ma doświadczenie w pracy w laboratoriach biochemicznych i biofizycznych; umie zorganizować swoją pracę laboratoryjną; posiada umiejętność i doświadczenie w posługiwaniu się typowym sprzętem laboratoryjnym; zaawansowaną aparaturą pracowni biochemicznej i biofizycznej
BMK_K1_U05	Absolwent potrafi dobrać metody biofizyczne i współczesną aparaturę do badania struktury i dynamiki biocząsteczek i ich układów oraz zastosować je w praktycznych badaniach biofizycznych
BMK_K1_K01	Absolwent jest gotów do/ potrafi odpowiedzialnie realizować zadania przydzielone w zespole, dostosować własną działalność do realizacji uzgodnionego wspólnie planu; umie terminowo wykonać zaplanowane zadanie i rozumie tego konieczność