








Programma e contenuti del corso

Il corso online **“Vedere per Credere – Scuola di Microscopia” edizione per ricercatori** prevede un percorso suddiviso in 21 moduli. All'interno di ogni modulo ci sarà una video-presentazione, testi di approfondimento e questionari di autovalutazione, ed in alcuni casi tutorial ed esercitazioni pratiche. Il questionario di autovalutazione fa riferimento esclusivamente alla presentazione-video sull'argomento.

Questo corso permette il conseguimento di un attestato di formazione. Per avere diritto all'attestato è necessario completare le attività per **almeno 11 moduli** e compilare il **questionario di gradimento finale**. Un modulo si considera superato completando con almeno 6 su 10 il **test di autovalutazione** del modulo relativo (il test è ripetibile). La scadenza del corso, data entro cui poter completare i moduli per l'ottenimento dell'attestato, è il **31 dicembre 2021**.

1

Legenda:

-  Video-presentazione
-  Testi di approfondimento
-  Esercitazione pratica
-  Tutorial pratico
-  Questionario autovalutazione

Modulo

Modulo 0 – Presentazione del corso

Raffaella Spagnuolo (Responsabile scientifico Laboratori e Program Manager Didattica 14-18 della Fondazione Golinelli) intervista Spartaco Santi (ricercatore del CNR di Bologna e coordinatore scientifico del corso) sugli obiettivi del progetto di e-Learning “Vedere per Credere - Scuola di Microscopia”.



Modulo 1 - Principi di microscopia ottica e componenti di un microscopio ottico

Cesare Covino (Istituto Scientifico San Raffaele di Milano)

Saremo introdotti nel mondo complesso della microscopia ottica. Saranno descritti i principi di base e i componenti essenziali che costituiscono il microscopio. Troverete anche informazioni sulla manutenzione e sull'ergonomia del microscopio.



Modulo 2 - Proprietà della luce e formazione dell'immagine

Cesare Covino (Istituto Scientifico San Raffaele di Milano)

Saranno descritte le principali proprietà fisiche della luce che sono coinvolte nella formazione dell'immagine in un microscopio ottico, come riflessione, diffusione, rifrazione e diffrazione. Saranno introdotti i concetti di ingrandimento e risoluzione delle immagini.



Modulo 3 - Tecniche di contrasto in luce trasmessa

Spartaco Santi (CNR Istituto di Genetica Molecolare di Bologna)

Saranno illustrate le diverse tecniche di contrasto in microscopia a campo chiaro, come il contrasto di fase, il contrasto interferenziale e il campo scuro. Sarà mostrato come allineare il condensatore per eseguire l'illuminazione di Köhler, anche mediante un tutorial eseguito in laboratorio.





Modulo

Modulo 4 - Campionamento, risoluzione e limiti della microscopia ottica

Dario Parazzoli (Istituto FIRCC di Oncologia Molecolare di Milano)

Sarà approfondito il principio della risoluzione di Abbe e la funzione di diffusione del punto (Point Spread Function o PSF), che ci descrive la risposta della luce ad una sorgente puntiforme. Sarà illustrato il Teorema di Nyquist per eseguire il corretto campionamento dei segnali.



Modulo 5 - Storia della microscopia

Alessandro Gambardella (Istituto Ortopedico Rizzoli di Bologna)

Faremo un excursus storico sulla microscopia, dalla tradizione ellenistica delle lenti, passando per la costruzione dei primi microscopi da parte di Van Leeuwenhoek e Galileo, fino al recente rinascimento che ha vissuto la microscopia in particolar modo dopo la metà degli anni Ottanta fino ai giorni nostri.



Modulo 6 - Stereomicroscopio ed osservazioni tridimensionali

Pietro Cirigliano (Nikon Italia)

Anna Tesi e Michele Zanoni (Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori di Meldola)

Sarà introdotto il concetto della visione tridimensionale, saranno presentate le diverse tipologie di strumentazione presenti sul mercato, ed infine visiteremo un laboratorio di ricerca dove vedremo l'utilizzo della strumentazione applicato alla ricerca scientifica nella lotta contro i tumori.



Modulo 7 - Preparazione del campione

Anna Tesi e Michele Zanoni (Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori di Meldola)

Vedremo una parte pratica di laboratorio di preparazione del campione (fissazione, permeabilizzazione, marcatura con anticorpi coniugati o coloranti, montaggio del vetrino), per poi visualizzarlo al meglio in microscopia a fluorescenza.



Modulo 8 - Microscopia a fluorescenza

Chiara Cordiglieri (Istituto Nazionale di Genetica Molecolare di Milano)

Vedremo i principi del fenomeno della fluorescenza che sta alla base della maggior parte delle tecniche di microscopia avanzate. Studieremo i componenti del microscopio a fluorescenza standard, in particolar modo i filtri. Inoltre, approfondiremo il comportamento dei fluorocromi quando vengono irradiati dalla luce visibile.



Modulo 9 - Microscopia confocale

Chiara Cordiglieri (Istituto Nazionale di Genetica Molecolare di Milano)

Vedremo le componenti del microscopio confocale, i principi del suo funzionamento, l'utilizzo del laser come sorgente luminosa, la modalità di scansione del campione, l'effetto del diaframma sulla formazione dell'immagine. Approfondiremo la capacità del microscopio confocale di fornire informazioni 3D mediante un tutorial eseguito in laboratorio.





Modulo

Modulo 10 - Microscopia di singola molecola

Lucia Gardini (CNR Istituto Nazionale di Ottica di Firenze)

Entreremo nel mondo della super risoluzione (oltre il limite di Abbe) con una tecnica recente e raffinata, chiamata microscopia di localizzazione, che ci permetterà di seguire il tracciato nel tempo e nello spazio di una singola molecola.



Modulo 11 - Live cell imaging

Tommaso Mello (Università di Firenze)

Vedremo tutte le problematiche relative all'acquisizione di immagini in microscopia quando abbiamo a che fare con campioni vitali: condizioni di incubazione, marcatura con sonde vitali, photobleaching, fototossicità, decadimento del segnale, rapporto segnale/rumore.



Modulo 12 - Digitalizzazione e analisi delle immagini

Emanuele Martini (Istituto FIRC di Oncologia Molecolare di Milano)

Saranno illustrati i principi che stanno alla base della digitalizzazione delle immagini, i livelli di grigio, lo spazio colore, il campionamento, l'istogramma, la gamma dinamica, e quali analisi numeriche possiamo eseguire su questa matrice di dati. Vedremo anche due tutorial sull'utilizzo del software libero di analisi Fiji.



Modulo 13 - Deep Imaging

Francesca Cella Zancacchi (Università di Pisa)

I campioni spessi costituiscono un enorme problema per la microscopia in quanto disperdono la luce, esistono tuttavia tecniche avanzate per cercare di sopperire a questo ostacolo come la microscopia confocale multifotone, la microscopia a foglietto di luce e le tecniche di chiarificazione del campione.



Modulo 14 - La percezione della visione

Spartaco Santi (CNR Istituto di Genetica Molecolare di Bologna)

Un viaggio per comprendere come funziona il nostro occhio ma soprattutto come funziona il nostro cervello nell'elaborazione delle cose che osserviamo. Parleremo di coscienza cromatica, di memoria a breve e lungo termine, di dove si localizza la memoria nel nostro cervello, di come l'arte ha stimolato le nostre capacità visive. Parleremo inoltre di tecniche di elaborazione dei volti, di intelligenza artificiale e di neuroni specchio



Modulo 15 - Nanotecnologie e microscopia elettronica

Alessandro Gambardella (Istituto Ortopedico Rizzoli di Bologna)

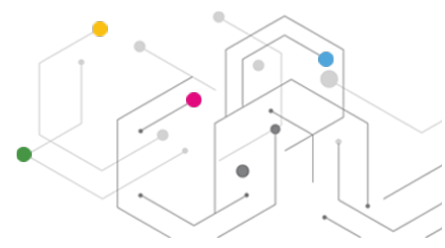
Vedremo come le nanotecnologie sono presenti nella nostra vita di tutti i giorni. Entreremo nel mondo dell'infinitamente piccolo con la microscopia elettronica a trasmissione e a scansione. Inoltre, approfondiremo alcune di tecniche di microscopia elettronica a sonda



Modulo 16 - Microscopia ottica multimessaggera

Alberto Diaspro (Istituto Italiano di Tecnologia di Genova)

Percorso inatteso attraverso le differenti domande alle quali la microscopia ottica ha risposto negli ultimi anni utilizzando differenti tecniche di indagine. Infine, uno sguardo sul futuro per comprendere come si svilupperà nei prossimi anni la scienza microscopica e l'immaginario scientifico.





Modulo 17 - Microscopia TIRF

Spartaco Santi (CNR Istituto di Genetica Molecolare di Bologna)

La microscopia TIRF (Total Internal Reflection Fluorescence) è un metodo con il quale è possibile osservare una regione sottile del campione, generalmente intorno ai 100 nanometri, in prossimità dell'interfaccia costituita dal vetrino portaoggetti ed in grado di migliorare fortemente il rapporto segnale-rumore dell'immagine.



Modulo 18 - Fotochimica della fluorescenza

Spartaco Santi (CNR Istituto di Genetica Molecolare di Bologna)

La fotochimica è una scienza che si occupa delle reazioni indotte dall'interazione della luce con la materia. La maggior parte delle nuove tecniche microscopiche si basa sulla fluorescenza, pertanto abbiamo previsto un approfondimento nella comprensione degli spettri di assorbimento, eccitazione ed emissione dei fluorocromi.



Modulo 19 - Microscopia confocale spinning-disk

Alessandra Scarpellini (CrestOptics)

Questo tipo di microscopio confocale si basa sulla presenza di un disco rotante che contiene una matrice di pori disposti a spirale. La microscopia a spinning-disk è progredita in modo significativo negli ultimi anni e ora rappresenta una delle migliori soluzioni per applicazioni di live imaging.



Modulo 20 - Colocalizzazione della fluorescenza

Spartaco Santi (CNR Istituto di Genetica Molecolare di Bologna)

La capacità di dimostrare una correlazione tra una coppia di biomolecole è stata notevolmente migliorata dal matematico olandese Erik Manders che ha introdotto ai microscopisti il coefficiente di correlazione di Pearson, insieme ad altri coefficienti come K1 e K2, in grado di quantificare il contributo dei singoli canali.



Modulo 21 - Microscopia ad illuminazione strutturata

Spartaco Santi (CNR Istituto di Genetica Molecolare di Bologna)

L'intuizione geniale di Mats Gustafsson ha portato alla possibilità di raddoppiare la risoluzione di ogni sistema ottico grazie all'introduzione di griglie di diffrazione e all'elaborazione delle informazioni raccolte.



Schede tecniche

Questionario di gradimento finale per l'ottenimento dell'attestato di formazione

Relatori

Spartaco Santi (CNR Istituto di Genetica Molecolare di Bologna)
 Cesare Covino (Istituto Scientifico San Raffaele di Milano)
 Dario Parazzoli (Istituto FIRC di Oncologia Molecolare di Milano)
 Alessandro Gambardella (Istituto Ortopedico Rizzoli di Bologna)
 Pietro Cirigliano (Nikon Italia)
 Anna Tesei (Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori di Meldola)
 Michele Zanoni (Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori di Meldola)
 Chiara Cordiglieri (Istituto Nazionale di Genetica Molecolare di Milano)
 Lucia Gardini (CNR Istituto Nazionale di Ottica di Firenze)
 Tommaso Mello (Università di Firenze)
 Emanuele Martini (Istituto FIRC di Oncologia Molecolare di Milano)
 Francesca Cella Zancchi (Università di Pisa)
 Alberto Diaspro (Istituto Italiano di Tecnologia di Genova)
 Alessandra Scarpellini (CrestOptics)

