



Dalyko (modulio) pavadinimas	Kodas
Kiekybinė fluorescencinė mikroskopija	

Dėstytojas (-ai)	Padalinys (-iai)
Koordinuojantis: dr. Marijonas Tutkus – paskaitos ir seminarai Kitas (-i):- Laboratoriniai darbai: dr. Marijonas Tutkus - 15 val. x grupių skaičius dokt. Aurimas Kopūstas - 15 val. x grupių skaičius	VU Gyvybės mokslų centras, Saulėtekio al. 7, Vilnius

Studijų pakopa	Dalyko (modulio) lygmuo	Dalyko (modulio) tipas
pirma	-	pasirenkamas

Įgyvendinimo forma	Vykdyto laikotarpis	Vykdyto kalba (-os)
auditorinis/ laboratorinis	Rudens semestras	lietuvių

Reikalavimai studijuojančiajam	
Išankstiniai reikalavimai: Biologijos, Chemijos, Fizikos, Nanoinžinerijos, Sveikatos ir Medicinos mokslų, bei Gyvybės mokslų bakalauro studentams.	Gretutiniai reikalavimai (jei yra): -

Dalyko (modulio) apimtis kreditais	Visas studento darbo krūvis	Kontaktinio darbo valandos	Savarankiško darbo valandos
5	130	48	82

Dalyko (modulio) tikslas: studijų programos ugdomos kompetencijos

- Bendras kurso tikslas yra suteikti praktinius gebėjimus biologinių bandinių tyrimams fluorescencinės mikroskopijos metodais ir atlikti užregistruotų duomenų analizę/apdorojimą, siekiant išgauti kiekybinę informaciją apie biologinių molekulių elgseną ląstelėse ir dirbtinėse sistemose.
- Baigę kursą studentai įgaus šias žinias:
 - Fundamentalias optinės ir fluorescencinės mikroskopijos žinias,
 - Fundamentalias žinias, kurių reikia kiekybinės informacijos išgavimui iš mikroskopijos duomenų,
 - Bazines duomenų apdorojimo ir analizės žinias.
- Baigę kursą studentai įgaus šiuos gebėjimus:
 - Kaip vykdyti klasikinius mikroskopijos eksperimentus,
 - Kaip vykdyti fluorescencinius matavimus pavienių molekulių lygyje,
 - Kaip atlikti kalibravimą, norint vykdyti biologinių bandinių kiekybinį vaizdinimą,
 - Kaip atlikti užregistruotų duomenų analizę ir apdorojimą.
- Baigę kursą studentai gebės:
 - Paašškinti pagrindinius mikroskopijos vaizdinimo principus,
 - Paašškinti principus slypinčius baltymo ir DNR, bei baltymo ir lipidų membranos sąveikoje,
 - Suprasti kaip apdoroti ir išanalizuoti mikroskopijos duomenis, norint išgauti kiekybinę informaciją,
 - Įvertinti šiuolaikinės kiekybinės mikroskopijos metodų galimybes bei ribojimus.

Dalyko (modulio) studijų siekiniai	Studijų metodai	Vertinimo metodai
Suteikti pagrindines ir aukštesnio lygio biologinių bandinių kiekybinės fluorescencinės mikroskopijos vaizdinimo ir užregistruotų duomenų apdorojimo ir analizės žinias.	Paskaitos, savarankiškas darbas	Egzamino pirmoji dalis: testas iš teorinės dalies.
1. Išmokti fluorescencinės mikroskopijos duomenų apdorojimo ir analizės metodus pritaikomus bandiniams nuo ląstelių lygio iki pavienių molekulių. 2. Išmokti tinkamai užregistruoti duomenis naudojant fluorescencinius mikroskopus ir bandinio paruošimo metodus skirtus fluorescencinei mikroskopijai.	Laboratoriniai darbai, seminarai, savarankiškas darbas	Egzamino antroji dalis: vertinamas laboratorinių darbų aprašymas ir jų gynimas žodžiu.

Temos	Kontaktinio darbo valandos						Savarankiškų studijų laikas ir užduotys		
	Pas kait os	Ko nsu ltac ijos	Se mi nar ai	Pra tyb os	La bor ato rini ai dar bai	Pra kti ka	Vis as ko nta kti nis dar bas	Sa var an kiš kas dar bas	Užduotys
1. Mikroskopo optinė schema, konjuguotos plokštumos, difrakcija ir vaizdų formavimas, skiriamoji geba ir skaitmeninė apertūra, kontrasto technikos.	2						2	4	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
2. Molekulinė fluorescencija, dažikliai, filtrai ir dichroiniai veidrodžiai, žadinimo šaltiniai, taško išplitimo funkcija (PSF), difrakcijos limitas.	2						2	4	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
3. Mikroskopų tipai, metodų apžvalga, plataus lauko, konfokalinis, visiško vidaus atspindžio (TIRF), super rezoliucijos mikroskopai.	2						2	4	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
4. Įvadas į TIRF mikroskopiją ir praktinius užsiėmimus naudojant TIRF: kritinis kampas, evanescencinis laukas, poliarizacija. Deguonies šalinimas, tripletinės būsenos gesinimas.	2						2	4	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
5. TIRF mikroskopijos tęsinys: superezoliucija (STORM, PALM), įvadas į vaizdų registravimą - kameros (CCD) ir griūtiniai fotodiodai (APD).	2						2	4	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
6. Įvadas į konfokalinę mikroskopiją ir praktinius užsiėmimus naudojant šį metodą: sekcionavimas, adatos skylė (pinhole), lazerio skanavimo ir besisukančio disko mikroskopo schemas.	2						2	4	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
7. Įvadas į dažiklius leidžiančius stebėti molekulinę sąveiką: dažiklių pasirinkimas, FRET, fluorescencijos gesinimas, filtrų pasirinkimas.	2						2	4	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
8. Įvadas į praktinius užsiėmimus: DNR ir baltymų sąveika (DNR restriktazių tipai, sąveikos stebėjimas naudojant pavienių molekulių FRET).	2						2	4	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
9. Įvadas į praktinius užsiėmimus: transmembraninių baltymų tyrimai liposomose (įvadas į transmembraninius baltymus, šviesą sugeriantys kompleksai - LHCI liposomose ir jų funkcijos tyrimai).	2						2	5	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
10. Praktiniai užsiėmimai: bandinių paruošimas, deguonies šalinimas, tiriamųjų objektų imobilizavimas ant paviršių.					3		3	5	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
11. Praktiniai užsiėmimai: susipažinimas su TIRF ir konfokaliniu mikroskopais, jų valdymas, svarbiausios detalės.					3		3	5	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
12. Kiekybinė mikroskopija naudojant konfokalinį mikroskopą: baltymų tankio matavimas ląstelėse.					3		3		Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
13. Kiekybinė mikroskopija naudojant TIRF mikroskopą: DNR ir restriktazės sąveikos matavimai pavienių molekulių lygyje <i>in vitro</i> .					3		3		Literatūros užsiėmimo tema skaitymas

14. Kiekybinė mikroskopija naudojant konfokalinį mikroskopą: baltymų tankio matavimas <i>in vitro</i> .					3		3		Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
15. Duomenų analizė: įvadas į kiekybinės informacijos išgavimą iš mikroskopijos vaizdų (slenkstinimas, fono nustatymas ir taškelių persiklojimas).	2						2	5	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
16. Duomenų analizė: kiekybinės informacijos išgavimas iš mikroskopijos vaizdų (intensyvumo integravimas, intensyvumo pasikeitimo taškų aptikimas).	2						2	5	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
17. Praktinis užsiėmimas: užregistruotų duomenų analizė (ląstelės).			3				3	5	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
18. Praktinis užsiėmimas: užregistruotų duomenų analizė (DNR-restriktazė).			3				3	5	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
19. Praktinis užsiėmimas: užregistruotų duomenų analizė (LHCII liposomose).			3				3	5	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
21. Savarankiškas studijavimas ir pasiruošimas laboratorinių darbų aprašymo pristatymui.								5	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
22. Savarankiškas studijavimas ir pasiruošimas laboratorinių darbų aprašymo pristatymui.								5	Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
23. Laboratorinių darbų aprašo pristatymas ir žodinės prezentacijos.			2				2		Literatūros užsiėmimo tema skaitymas
Iš viso	22		11		15		48	82	

Vertinimo strategija	Svoris proc.	Atsiskaitymo laikas	Vertinimo kriterijai
Laboratorinių darbų atlikimas, jų aprašai ir žodiniai pristatymai.	70 %	Iki sesijos	Studentui leidžiama laikyti egzaminą, jei yra atlikti laboratoriniai ir praktiniai darbai, bei už jų aprašų žodinį ir raštišką pristatymą surinkta ne mažiau 50% galimų balų. Laboratorinių darbų atlikimas vertinamas 3 balais. Maksimalus laboratorinių darbų aprašo vertinimas yra 2 balai. Maksimalus žodinių pristatymų vertinimas taip pat yra 2 balai.
Egzaminas	30%	Sesijos metu	20 klausimų testas. Vieno klausimo teisingas atsakymas vertinamas 0.15 balo. Galutinis įvertinimas – už visus testo klausimus gautų įvertinimų suma + laboratorinių darbų atlikimo įvertinimas + aprašo įvertinimas + žodiniai pristatymai įvertinimas.

Autorius	Leidimo metai	Pavadinimas	Periodinio leidinio Nr. ar leidinio tomas	Leidimo vieta ir leidykla ar internetinė nuoroda
Privalomoji literatūra				
David A. Roas, Constantinos Pitris, Nimmi Ramanujam.	2011	Handbook of biomedical optics		CRC Press
Partha Pratim Mondal, Alberto Diaspro.	2014	Fundamentals of Fluorescence Microscopy: Exploring Life with Light		Springer

Spencer L. Shorte, Friedrich Frischknecht	2007	Imaging Cellular and Molecular Biological Functions	ISBN-13: 978-3-540-71330-2	Springer-Verlag Berlin Heidelberg
R. Rotomskis, E. Žurauskas, E. Žurauskienė, S. Bagdonas, V. Žalgevičienė.	2008	Fluorescencinis vaizdinimas biomedicinoje		VU Onkologijos institutas, VĮ Mokslotyros institutas
Papildoma literatūra				
Joseph R. Lakowicz.	2007	Principles of Fluorescence Spectroscopy		Springer Science & Business Media.
Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter.	2007	Molecular Biology of the Cell		Garland Science
Paul R. Selvin, Taekjip Ha	2008	Single-molecule Techniques: A Laboratory Manual		CSHL Press