

# Získání a zpracování obrazu v mikroskopii

Pětidenní teoretický kurz s praktickými cvičeními a demonstracemi pro postgraduální výuku v biologii a medicíně.



Pořádá Ústav experimentální medicíny AV ČR a 3. LF UK, Praha pod záštitou a s finančním přispěním Československé mikroskopické společnosti.



Organizátoři:

RNDr. Pavel Hozák, DrSc. (ÚEM AV ČR a 3. LF UK, Praha)

RNDr. Lucie Kubínová, CSc. (Fyziologický ústav AV ČR, Praha)

ing. Jana Nebesářová, CSc. (Parazitologický ústav AV ČR, České Budějovice)

13. - 17. května 2002

Počet účastníků: 30

Poplatek: 3000 Kč včetně obědů, pro členy Československé mikroskopické společnosti 2000 Kč včetně obědů.

Adresa pro přihlášky:

Dr. Pavel Hozák

Ústav experimentální medicíny AV ČR, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4 Krč

Tel./Fax: +420(2)4106-2219

e-mail: hozak@biomed.cas.cz

(upřednostňujeme komunikaci e-mailem, další instrukce budou následovat)

Krátký syllabus

## I. Teoretické základy

Šíření světla a elektronů, optické systémy, vlny, odraz, difrakce, interference, polarizace.

## II. Světelná mikroskopie

Mikroskop a jeho součásti, formování obrazu, Köhlerovo osvětlení, optické aberace, typy objektivů, fázový kontrast, interferenční kontrast, polarizace, fluorescenční mikroskopie, laserová konfokální mikroskopie, dvoufotonová konfokální mikroskopie, studium dynamických pochodů v buňkách, FRET,...

## III. Elektronová mikroskopie

Vlastnosti elektronů, rozlišovací schopnost, vlnová délka urychleného elektronu, elektron v magnetickém poli.

Skanovací elektronový mikroskop: konstrukce, detekce sekundárních a odražených elektronů, tvorba obrazu, vznrtg. záření a jeho využití pro kvalitativní a kvantitativní mikroanalýzu, příprava biologických preparátů (fixace, odvodnění, sušení preparátů metoda kritického bodu, mrazové metody přípravy), digitalizace obrazu ze SEM.

Transmisní elektronový mikroskop: konstrukce, tvorba obrazu, interferenční jevy, příprava biologických preparátů (chemické metody fixace, dehydratace, infiltrace, zalévání, příprava ultratenkých řezů, kontrastování, fyzikální metody nízkoteplotní postupy, mikrovlny), digitalizace obrazu v TEM.

Porovnání fotografického a digitálního záznamu z mikroskopu, CCD kamery.

Využití digitalizace a Internetu ve virtuální elektronové mikroskopii.

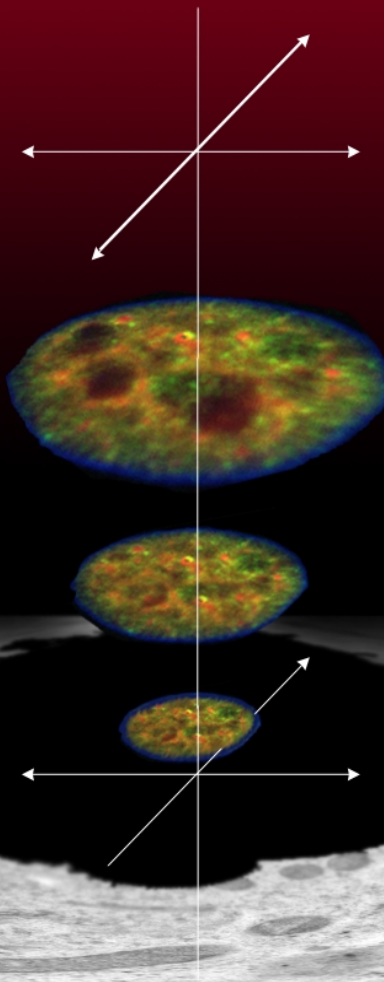
## IV. Zpracování obrazu

1) Snímání a digitalizace obrazu Základní pojmy (rozlišení, úroveň šedi, opakovací snímková frekvence), výhody a nevýhody digitálního zpracování, základní ideové schéma digitalizace obrazu. Typy kamer (analogové versus digitální) a jejich významné charakteristiky. Typy digitalizačních karet do PC, tzv. "frame grabbery", základní princip činnosti.

Možnosti použití a dostupnost SW. Konkrétní příklady konfigurací (potencionální dodavatelé) a řešení některých typických problémů. Parametry obrazu: (kontrast, šum), histogram. Densitometrická kalibrace. Formáty datových souborů (binární, šedotónový, RGB, HSV, Lab) a komprese (ztrátová, bezztrátová. Filtrace a zpracování obrazu.

2) Základní metody segmentace Detekce oblastí: prahování a "růst oblastí", detekce hran: operátory zvýrazňující kontury (Sobel, LoG, DoG), aktivní kontury.

3) Měření geometrických charakteristik digitálního obrazu Interaktivní metody: poloha, délka, profily, histogramy v ROI. Použití Croftonovy formule pro měření obvodu ve 2D. Interaktivní stereologické metody - systém STESYS a automatické - plocha, obvod, Feretovy průměry, počet, Eulerova charakteristika. Vliv anizotropie objektu a šumu na přesnost měření.



4) Obrazová analýza a vizualizace ve 3D Zdroje dat: CLSM a MRI, rozměrová kalibrace. Filtrace a segmentace dat. Použití Croftonovy formule pro měření povrchu a délky ve 3D měření. Interaktivní stereologické metody: Fakir probe a Slicer, automatické: objem, počet, povrch a délka ve 3D. Vizualizace: objemové a povrchové ztvárnění.

## V. Stereologie a morfometrie

Tradiční morfometrické metody: měření délek, plochy, obvodu, počtu. Úvod do stereologie. Vzorkování ve stereologii, Cavalieriho princip pro měření objemu, bodová metoda. Příklady stereologických metod pro měření objemu, povrchu, délky a počtu. Metody pro měření délek a povrchu trojrozměrných struktur z tenkých řezů: metoda vertikálních řezů, orientátor. Metody založené na proostřování silnějších řezů: princip disektoru pro počítání trojrozměrných částic (např. buněk), metody pro měření délky prostorových křivek (např. kapilár) a povrchu trojrozměrné struktury.