

PREPARACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Tejido blando

PREPARACIÓN

~ Obtención de muestras biológicas de tejido blando.
Una porción de aproximadamente $0.3 - 0.6 \text{ mm}^3$ para ser preparada el mismo día.

INCLUSIÓN:

Se realizó con óxido de propileno más epón en una relación $1:1$.

CORTE:

Los cortes de ME son mucho más delgados. $g: 100 - 150 \text{ nm}^2$ $50 - 100 \text{ nm}$.

MONITAJE:

Para permitir tir el paso de electrones, usar rejillas de oro o cobre.

PROCESAMIENTO:

- Lavar la muestra 3 veces por 5 min. con **PBS** a 0.1 M con pH de 7.4
- Evaporar la muestra con **PBS** por 10 min . y alcoholés, etanoles específicamente al $30, 50, 80, 90$ y 96% . Cada uno por 10 min .
- 3 enjuagues por 10 min en etanol al 100% .
- Lavar con óxido de propileno 3 veces por 10 min .

FIXACIÓN:

Usar paraformaldehído al 2.5 ó 3.0% y glutaraldehído al 2.5 ó 3.0% . Se trata de un fijador que penetra de manera **vento** y debe conservarse en refrigeración para evitar cambios en su composición.

(Su bajo poder de penetración lo hacen poco práctico por eso sólo se emplea en ME).

Tejido duro

PREPARACIÓN:

Obtención de la muestra (hueso, esmalte, dentina). No tiene dimensión específica. **MEI** = $50 - 100 \text{ nm}$ / **MEB** = hasta de 0.5 cm^2 . Debe estar hidratada hasta ser procesada, eliminar la sangre al lavar con detergente u otro producto orgánico.

MEI

PROCESAMIENTO:

Ya limpio se prepara un cojón de acetato para formar una columna (aprox.) de $10 \times 10 \times 20 \text{ mm}$. para vaciar el poliacrato de metilo.

CORTE:

Con una recortadora de disco de diamante $5/8$ dientes. Profundidad de 2.0 mm .

PULIDO:

Habría tener un grosor de $100 - 120 \text{ nm}$. Evitar el sobre calentamiento. Debe tener un "terminado de espejo".

DESGRASANTE:

Grosor de $1.8 \pm 2 \text{ mm}$.

MONITAJE DE MUESTRA:

Una rejilla de cobre con perforación central mediante resina epóxica colorable y pinchar periferia con plata.

EXPOSICIÓN BÓMBICA DE LA MUESTRA:

Debe ser erosionado para adelgazar la parte central (sitio de observación) y perforado y revisada se cubre con una fina película de carbón.

RECUBRIMIENTO DE CONDUCTIVIDAD:

Sombreado de muestra con una fina película de carbón, permite paso de elect.

MEB

PROCESAMIENTO:

Debe tener un espesor de 1 cm^2 . Se forman bloques respetando la superficie que se quiere observar.

Ya recortado y seco se desmineraliza con ácido fosfórico al 20% por 60 s .

Se lava con agua corriente por 10 min se seca y se observa en el micro. fotónicas

Se limpia de impurezas por medio de vibración ultrasónica y quejono por un espacio de 15 min .

Se deja evaporar la acetona (se monta en un cilindro de cobre para evitar contaminación).

La muestra se fija por medio de pintura plata para ME.

Se sombrea con carbón, la muestra está lista para su observación.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

tejido blando

PREPARACIÓN

- Obtención de muestras biológicas de tejido blando. Una porción de aproximadamente $0.3-0.6 \text{ mm}^3$ para ser preparada el mismo día.

PROCESAMIENTO:

- Lavar la muestra 3 veces por 5 min. con PBS a 0.1M con pH de 7.4
- Ejuagar la muestra con PBS por 10 min. y alcoholes, etanoles específicamente al 30, 50, 80, 90 y 96%. Cada uno por 10 min.
- 3 enjuagues por 10 min en etanol al 100%.
- Lavar con óxido de propileno 3 veces por 10 min.

INCLUSIÓN: Se realizó con óxido de propileno más epón en una relación 1:1.

CORTE: Los cortes de ME son mucho más delgados. $G = 100-150 \text{ nm} \rightarrow 50-100 \text{ nm}$.

MONTAJE: Para permitir el paso de electrones, usar rejillas de oro o cobre.

• Preincluir por 16 hrs., sumergida, para después incluirlo, a una temperatura de 60°C por 24 hrs. y formar pirámides (con el bloque que se obtuvo y en frío).

FIJACIÓN: Usar paraformaldehído al 2.5 ó 3.0% y glutaraldehído al 2.5 ó 3.0%. Se trata de un fijador que penetra de manera lenta y debe conservarse en refrigeración para evitar cambios en su composición. (Su bajo poder de penetración lo hacen poco práctico por eso sólo se emplea en ME).

PLASTAS BIOLÓGICAS

Tejido duro

PREPARACIÓN: Obtención de la muestra (hueso, esmalte, dentina). No tiene dimensión específica. **MET** = 50-100 nm / **MEB** = hasta de 0.5 cm². Debe estar hidratada hasta ser procesada, eliminar la sangre al lavar con detergente u otro producto orgánico.

MET

PROCESAMIENTO: Ya limpia se prepara un cojín de acetato para formar una columna (aprox.) de 10 × 10 × 20 mm. para vaciar el poliácbrato de metilo.

CORTE: Con una recortadora de disco de diamante ⁵/₈ dientes. Profundidad de 2.0 mm.

PULIDO: Hasta tener un grosor de 100 - 120 μm. Evitar el sobrecalentamiento.

Debe tener un "terminado de espejo".

DESGASTE: Grosor de 1.8 ± 2 mm.

MONTAJE DE MUESTRA: Una rejilla de cobre con perforación central mediante resina epóxica catalizable y pintar periferia con plata.

EROSIÓN IÓNICA DE LA MUESTRA:

Debe ser erosionado para adelgazar la parte central (sitio de observación) ya perforado y revisada se cubre con una fina película de carbón.

RECUBRIMIENTO DE CONDUCCIÓN:

Sombreado de muestra con una fina película de Carbón, permite paso de elect.

MEB

PROCESAMIENTO:

↪ Debe tener un espesor de 1 cm². Se forman bloques respetando la superficie que se quiere observar.

↪ Ya recortado y seco se desmineraliza con ácido fosfórico al 20% por 60 s.

↪ Se lava con agua corriente por 10 min se seca y se observa en el micro. fotónico.

↪ Se limpia de impurezas por medio de vibración ultrasónica y acetona por un espacio de 15 min.

↪ Se deja evaporar la acetona (se monta en un cilindro de cobre para evitar contaminación).

↪ La muestra se fija por medio de pintura plata para ME.

↪ Se sombrea con carbón. La muestra está lista para su observación.