

Nombre de alumnos: Keyla Samayoa Pérez.

Nombre del profesor: Darío Cristiaderit Gutiérrez Gómez

Nombre del trabajo: Mapa de la secuencia para la preparación de muestras biológicas

PASIÓN POR EDUCAR

Materia: Microanatomía

Grado: 1

Grupo: A

Preparación de muestras biológicas.

Tejidos blandos

Tejidos duros.

1 Obtención de la muestra de tejido blando.

Para poder obtener el tejido en buenas condiciones para poder observarlo con un microscopio electrónico, se debe obtener una porción de tejido blando de un tamaño aproximado de 0,3 x 0,6 mm² para poder prepararla el mismo día.

2 Proceso de muestras biológicas.

una vez que se tiene el tejido blando se lava tres veces por 5 min con solución amortiguadora de fosfato a 0,1 M con pH de 7,4 para posteriormente fijarlo con glutaraldehído al 2,5-0,5% después de eso se enjuaga la muestra con PBS a 0,1 M, tres veces por 10 min. la postura este proceso se realiza con telaonda de camión al 1% en PBS a 0,1 M. Nuevamente se lava con PBS a 0,1 M. el tejido se deshidrata con acetona en dos ocasiones durante 10 minutos y alcoholos, etanolos de 30-96%, cada uno por 10 min por ultimo se realiza tres enjuagues por 10 min en etanol al 100%. posteriormente se lava con óxido de plomo tres veces por 10 min se preincuba por 16 horas h, quedando la muestra congelada para después inducir a temperatura de 60 °C por 24 h.

3 Fijación

una vez que la muestra de tejido blando estén lavadas, se fija con paraformaldehído al 2,5-0,5% y con glutaraldehído al 2,5-0,5%. Con PBS a 0,1 M, tres veces por 10 min. la postura este proceso se realiza con telaonda de camión al 1% en PBS a 0,1 M. Nuevamente se lava con PBS a 0,1 M. el tejido se deshidrata con acetona en dos ocasiones durante 10 minutos y alcoholos, etanolos de 30-96%, cada uno por 10 min por ultimo se realiza tres enjuagues por 10 min en etanol al 100%. posteriormente se lava con óxido de plomo tres veces por 10 min se preincuba por 16 horas h, quedando la muestra congelada para después inducir a temperatura de 60 °C por 24 h.

4 Inclusión

una vez que la muestra a pasado por la preparación, la preincubación se realiza con óxido de propileno ma (ppom) en una relación de 1:1. Las muestras se dejan por 1 h después se incluye las muestras en resina que debe conservarse a una temperatura de 60 °C por 24 h para la obtención del bloque que se debe seguir y posteriormente formar la pirámide

5 Corte.

Por medio de cuchillas de diamante, o de unos conos con ello, cuchillas de vidrio. Los cortes de ME son mucho mas delgadas G=100-1000mm 50-100mm.

6 Montaje.

Es necesario el empleo de resillas se revisien con una fina película de carbono una película plástica delgada que sirve de sostén de la forma que la resilla sostiene la película y la película a la muestra. Y debe ser manipulada con mucha delicadeza para evitar dañar la Preparación.

1 Obtención de la muestra de tejido duro.

Adiferencia de la muestra de tejido blando esta al inicio no tiene una dimensión específica. Si se emplea la MET el final de su procedimiento la muestra debe ser de 50-100mm en el caso de la MEB el tamaño de la muestra puede ser de hasta 0,5 m cm². una vez obtenida la muestra debe mantenerse hidratada para evitar fracturas y se lava con detergente para eliminar sangre u otro producto orgánico.

Procesamiento
Ya limpia se prepara un sajon de acetato para poner una columna aproximadamente de 10x10x20 mm para vaciar el polidacato de metilo.

Corte
Con una recordadora de discos de diamante y dientes. Profundidad de 2.0 mm.

Pulido
Hasta tener un grosor de 100-120 pm. cortar el sobre lentamente. Debe tener un terminado de espejo.

Desgaste
Para este paso se coloca por medio de resina. este proceso debe ser controlado con la observación en el microscopio telemicr. el desgaste sera de un grosor de 1.8 ± 2 mm.

Montaje de muestra
una resilla de cobre con fijación ambiental mediante resina epoxica adhi- zable y se pinta su periferia con pintura plata.

Emisión iónica de la muestra
Debe ser colocada para adaptarla la parte antrol sitio de absorción ya perforado y realizado se debe con una fina película de carbon.

Recubrimiento de conducción
Cambiado de muestra con una fina película de Carbon, y permite el paso de una corriente eléctrica.

Procesamiento.

- Debe tener un espesor de 1cm. formando bloques respetando la superficie que se quiere observar.
- Ya cortada y secada se desmineraliza con ácido fosforico al 20% por 60s.
- Se lava con agua corriente por 10m, se seca y se observa en el microscopio telemicr.
- Se limpia de impurezas por medio de vibración ultrasónica y acetona por un espacio de 10 minutos.
- Se debe evaporar la acetona. Se mete en un cilindro de cobre para evitar contaminación.
- La muestra se fija por medio de pintura plata.
- Se cubre de carbon. la muestra esta lista para observarla.

MET

MEB