



**Nombre del alumno: García Aguilar
Paola Montserrat**

**Nombre del profesor: Dr. Darío
Cristianderit Gutiérrez Gómez**

Nombre del trabajo: Mapa Conceptual

Materia: Microanatomía

Grado: Primer semestre

Grupo: “B”

Preparación de Muestras Biológicas

Preparación de muestra en tejido blando

Obtención

Se puede tener el tejido en OCM con un tamaño de 10x10x2 mm. Se debe conservar en un medio de OCM hasta el momento de su uso.

Procesamiento

- Sección de la muestra en bloques de 10x10x2 mm.
- Sección de la muestra en bloques de 10x10x2 mm.
- Sección de la muestra en bloques de 10x10x2 mm.
- Sección de la muestra en bloques de 10x10x2 mm.
- Sección de la muestra en bloques de 10x10x2 mm.
- Sección de la muestra en bloques de 10x10x2 mm.

Fixación

Una vez se tiene el tejido en OCM se debe fijar con formalina durante 24 horas.

Inclusión

Se debe incluir la muestra en un bloque de OCM para su corte.

Corte

• Corte lento 50-80 rpm.
• Sección en un tamaño de 10x10x2 mm.
• Sección de la muestra en bloques de 10x10x2 mm.
• Sección de la muestra en bloques de 10x10x2 mm.

Montaje

• Limpieza de la muestra para eliminar el exceso de agua.
• Se debe montar la muestra en un portaobjetos.
• Se debe montar la muestra en un portaobjetos.
• Se debe montar la muestra en un portaobjetos.

Procesamiento de Derivados

Se debe procesar la muestra en un medio de OCM para su corte.

Preparación de muestra en tejido Duro

Obtención

• La muestra debe de ser de un tamaño de 10x10x2 mm.
• De ser necesario se debe lavar con agua.
• Debe estar en un medio de OCM hasta el momento de su uso.
• Limpieza de todo tejido blando.
• Limpieza con agua corriente.
• Limpieza hasta ser procesado.

Corte

• Se realiza por medio de una microtoma con un tamaño de 10x10x2 mm.
• Se realiza en un tamaño de 10x10x2 mm.
• La profundidad de los cortes se realiza en un tamaño de 10x10x2 mm.

Uso de muestra

• Se realiza en el momento de la muestra de 10x10x2 mm hasta obtener un grado 100-200µm.

Desgase

• La muestra se realiza por medio de un tamaño de 10x10x2 mm en un tamaño de 10x10x2 mm.
• Se realiza en un tamaño de 10x10x2 mm.
• Se realiza en un tamaño de 10x10x2 mm.
• Se realiza en un tamaño de 10x10x2 mm.

Montaje

• Limpieza de la muestra para eliminar el exceso de agua.
• Se debe montar la muestra en un portaobjetos.
• Se debe montar la muestra en un portaobjetos.
• Se debe montar la muestra en un portaobjetos.

Erosión Interna de la Muestra

• La muestra debe de ser procesada para su corte.
• Se realiza en un tamaño de 10x10x2 mm.
• Se realiza en un tamaño de 10x10x2 mm.
• Se realiza en un tamaño de 10x10x2 mm.

Preparación de Muestras Biológicas

Preparación de muestra en Tejido Blando.

Obtención

- Para poder tener el tejido en óptimas condiciones para su observación se debe obtener una porción de $0.3 \cdot 0.6 \text{ mm}^2$
Para ser preparada el mismo día.

Procesamiento

Lavar la muestra 3 veces por 5 min con Sol. Organísmica de Tissue Fixative con Alcohol de Etanol con PBS a 4°C + 2x10.
Necesariamente lavar con PBS a 4°C .
El tejido se deshidrata con Alcohol (Durante por 10 min) y Alcohol (Etanol) a 70, 80, 90, y 96% CIO por 10 min.
3 enlaces en Etanol al 100% por 10 min → lavar con glicerol de Propileno 3 x por 10 min.
Preincubarse por 16h (Algunos recomiendan por 1 hora a temperatura de 60°C por 24h).

Fijación

Una vez estén lavadas fijar con Parafomaldehído al 2.5 o 3% y con glutaraldehído al 2.5 o 3%.

Inclusión

La inclusión se realiza con bloques de Parafin más espesa.

Preparación de muestra en Tejido Duro

Obtención

- * La muestra debe de ser de 50-100nm si se emplea MET.
- * De 50-100 - MET.
- * Hasta 0.5 cm^3 → MEB
- * Debe encontrarse ~~metrolado~~ → Evitar Tractoras
- * Limpias de todo tejido blando
- * ~~Lavar~~ con detergente → Eliminar Sangre
- * ~~Rehidratar~~ hasta ser procesada.

Corte.

- * Se recorta por medio de una recortadora con ~~disco~~ de ~~diamante~~ (sin dientes)
- * Se fija en el porta muestra
- * La profundidad de los cortes es cercana a las 2000 mm

Polido de Muestra.

- * Se realiza el desgaste de la muestra de 2.0mm hasta obtener un grosor 100-120 μm .

Inclusión:

La inclusión se realiza con óxido de aluminio más Leica en relación 1:1. Las muestras se dejan por 16h. Posteriormente, se incluyen a un recipiente a 60°C por 24h. → Para la obtención del bloque

- Se deja enfriar y posteriormente se forma la pirámide.

Corte.

- * Grosor óptimo 50-80 nm.
- * Realizadas en un Ultramicrotomo.
- * Primero cortes semifinos de 100-500nm y se contrastan con Azul de toluidina
- * Se observan en microscopio para determinar el sitio de estudio y se realiza cortes de 50-100nm

Montaje.

- * Rejillas de Oro y cobre para permitir el paso de electrones.
- * Las rejillas reussten una fina película de Carbono o de Formvar que funciona de sostén para la muestra.
- * Una vez montada la muestra debe ser manipulada con suma delicadeza.

Recubrimiento de Conductores

Tanto para MET como MEM

- Se realiza un **sobrecobrado** de la muestra con un **materia conductor** (Oro, Platino, Osmio)
- Se usa más el **Carbono** → se coloca la muestra en la base de la evaporadora de carbono
- se crea un vacío de **10⁻⁴ Torr** → se pasa corriente eléctrica por filamentos → despiende el Carbono por sublimación depositándose sobre la muestra.
- * **La película de carbono** que cubre la muestra **permite el paso de electrones** durante la **observación**

Pulido de Muestra.

- * Se realiza el desgate de la muestra de 2.0mm hasta obtener un grosor 100-120µm.

Desgaste.

- * La muestra se coloca por medio de **resina** en un **portamuestras** de acero inoxidable → se coloca sobre esta una solución de pasta de **diamante con granos de 6µm** dispersa en **dióxido**
- * Se inicia el desgaste en la parte central de la muestra → **proceso controlado** → **observación en microscopio**.
- * Grosor parte central de **18±2µm**.
- * La muestra se pule con discos de fieltro y se le coloca una suspensión de pulido.

Montaje

- * Una vez lista la muestra se **desmonta** y se **monta** en una **rejilla de cobre** con perforación central.
- * Mediante **resina epoxi** **calafatear**
- * Se limpia la muestra y se **pinta** su periferia con **pintura de plata**
- * El montaje, limpieza y pintado se realiza **largo** **observación** con un **estereoscopio** o **microscopio invertido**

Erosión Iónica de la Muestra.

- * La muestra debe ser erosionada para **obtener** **la parte central**, que es el sitio de observación.
- * Se realiza en un equipo denominado **ion mill** (**plasma de iones**)
- * Una vez montada la muestra en la rejilla de **cobre** y pintada la muestra → se monta en el **portamuestras** del equipo → se cierra el equipo para obtener el vacío de **10⁻⁴ Torr** → se posiciona dentro de la cámara y se actúa la **rotación de especimen**. → **Cubre muestra con una fina película de carbono**

