



**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 entre 100-200 micras. Normalmente una pila de 10-20 micras.
Se va depositando en un medio que...

Procesamiento

Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.
Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.
Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.

Fijación

Una vez se haya lavado todo con abundancia de PBS o agua destilada se debe...

Inclusión

Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.
Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.

Corte

Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.
Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.

Montaje

Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.
Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.

Procesamiento de tejidos

Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.
Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.

Preparación de muestra en tejido Duro

Obtención

Se toma una muestra de 10-20 micras de un tejido duro.
Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.
Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.

Corte

Se realiza el corte de la muestra con un microtomo (sin dientes).
Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.

Uso de muestra

Se realiza el depósito de la muestra de 2-0 micras hasta obtener un grosor 100-200 micras.

Desgasificación

Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.
Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.

Montaje

Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.
Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.

Erosión interna de la muestra

Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.
Se debe lavar el tejido con PBS o agua destilada para eliminar cualquier resto de sangre o tejido conectivo.

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 0.1 M a 2×10 .
Necesariamente lavar con PBS a 0.1 M .
El tejido se deshidrata con Alcohol (Luzero por 10 min) y Alcohol (Etanol) a $70, 80, 90, 100\%$ C.O. por 10 min.
3 enlaces en Etanol al 100% por 10 min \rightarrow lavar con glicerol de Propileno 3 veces por 10 min.
Preincubarse por 16 h (a 4°C) con el medio para incluir a temperatura de 60°C por 24 h.

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 $50-100 \text{ nm}$ si se emplea MET.
- * De $50-100$ - MET.
- * Hasta 0.5 cm^3 \rightarrow MEB
- * Debe encontrarse ~~metrolado~~ \rightarrow Evitar Trácticas
- * Limpias de todo tejido blando
- * ~~Lavar~~ con detergente \rightarrow 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 muestras
- * La profundidad de los cortes es cercana a las 2000 mm

Polido de Muestra.

- * Se realiza el desgaste de la muestra de 2.0 mm hasta obtener un grosor $100-120 \mu\text{m}$.

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 100-50nm 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 reciben una fina película de Carbono o de Formvar que funciona de soporte para la muestra.
- * Una vez montada la muestra debe ser manipulada con suma delicadeza.

Recubrimiento de Conductores

Tanto para IEMT 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 condensadora 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 **dilob**.
- * 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** catalizada
- * 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**

