

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

Código da disciplina: BQA 410008

Disciplina: Fundamento e Técnicas de Microscopia Eletrônica Aplicada à Biologia Celular

Nº créditos: 2 teórico

Carga horária: 30 horas/aula

Períodos das aulas: 24/05/2010 – 28/05/2010

Docentes responsáveis: Ana de Paul, Jorge Mukdsi, Alexandra Susana Latini

EMENTA

Elementos básicos de óptica eletrônica, das lentes eletrostáticas e magnéticas, alinhamento da coluna, calibragens e problemas de aberrações. Preparação de espécimes biológicas para exame ao microscópio eletrônico. Técnicas de marcação de macromoléculas com radiotraçadores associadas às técnicas de microscopia eletrônica.

CONTEÚDO PROGRAMÁTICO TEÓRICO E PRÁTICO

TEORIA

Histórico da Microscopia Eletrônica

Segurança no laboratório de Microscopia Eletrônica

1. Microscópio Eletrônico

Fundamentos de óptica eletrônica: elétrons livres, trajetória dos elétrons nos campos eletrostáticos e magnéticos. Sistema de lentes. Sistema de vácuo. Formação da imagem, poder de resolução, profundidade de campo e de foco; contraste.

2. Preparo de espécimes para microscopia de transmissão (MET) e de varredura (MEV).

3. Aspectos teóricos de: Fixação; Desidratação; Embebição; Inclusão e Polimerização (MET); Ultramicrotomia (MET); Coloração (MET); Secagem das amostras ao ponto crítico (MEV); Montagem e cobertura (MEV).

4. Reprodução fotográfica: Fundamentos das técnicas fotográficas; Interpretação das eletrofotomicrografias.

5. Auto: Consideração teórica; Interpretação das auto.

6. Aplicações da Microscopia eletrônica em Biologia Celular.

PRÁTICA

Técnicas de preparo de microscopia eletrônica de transmissão.

1. Preparo da lâmina porta

2. Preparo de material em suspensão

a) Metalização

b) Construção positiva e negativa

c) Preparação leaf

3. Replicagem

a) Técnicas histológicas:

i. Fixação com: glutaraldeído; permanganato de potássio, ácido osmico

ii. Pré coloração

iii. Infiltração inclusão e polimerização

- iv. Ultramicrotômia: preparo dos blocos e confecção de navalhas de vidro; obtenção de secções
 - v. Contrastação das secções
 - vi. Exame ao M.E.T. e obtenção de fotografias. Técnicas de preparo de amostras para microscopia eletrônica de varredura.
 - vii. Coleta, seleção e limpeza de amostras. 3. Estabilização da forma: fixação. Desidratação e secagem de amostras pelo método do ponto crítico. Montagem e cobertura. Exame ao M.E.V. e obtenção de fotografias
4. Técnicas fotográficas:
- a) Revelação, fixação de negativos
 - b) Ampliação fotográfica
 - c) Interpretação de fotomicrografias
5. Auto.
- a) Preparo de espécimes e obtenção de secções
 - b) Cobertura das secções com emulsão
 - c) Revelação e fixação das auto
 - d) Coloração, exame e observação ao Microscópio Eletrônico
 - e) Interpretação

BIBLIOGRAFIA

Michael J Dykstra. A manual of Applied Techniques for Biological Electron Microscopy.
Michael J Dykstra. Biological Electron Microscopy. Theory, Techniques, and Troubleshooting.
Arvid Maunsbach, Bjorn Afzelius. Biomedical Electron Microscopy. Illustrated Methods and interpretations.
Margit Pavelka-Jurgen Roth. Functional Ultrastructure. Atlas of tissue biology and pathology.
Patricia C Cross, K Lynne Mercer. Cell and Tissue Ultrastructure. A functional Perspective.

Artigos de Periódicos científicos

Journal Cell Biology
Journal of Electron Microscopy
Experimental Cell Research
Micron
Journal of Molecular Biology

METODOLOGIA:

- Exposição do conteúdo programático através de aulas/palestras
- Apresentação e discussão de artigos científicos
- Aulas práticas

CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO:

- Presença e participação nas aulas
- Apresentação e discussão de seminários
- Atividades práticas