



Taller Procesamiento de muestras biológicas (animales y vegetales) para microscopía electrónica de transmisión y de barrido

Instructor: Dr. Kent McDonald, Universidad de California

DIRIGIDO A:

- Microbiólogos
- Biólogos
- Médicos
- Médicos veterinarios
- Químicos
- Físicos
- Agrónomos
- Investigadores de las áreas de ciencias de la salud y algunas ciencias básicas
- Estudiantes avanzados de áreas de ciencias de la salud y algunas ciencias básicas

DURACIÓN DEL TALLER: 24 horas

COSTO DE PARTICIPACIÓN: Gratuito

Descripción:

Este taller está planteado con el fin de que el participante tenga una capacitación teórico-práctico sobre diferentes técnicas en el procesamiento de muestras animales y vegetales, para ser observadas en el microscopio electrónico de barrido y de transmisión. Incluye desde la elaboración de los reactivos y materiales necesarios, así como la correcta aplicación de los procedimientos.

Mediante este taller, el participante podrá profundizar en las aplicaciones de la herramienta de la microscopía de alta resolución para el desarrollo de investigaciones en diversas áreas de trabajo y además, permite al CIEMic desarrollar el potencial en recurso humano y del equipo con que actualmente cuenta.

Objetivos General:

Instruir en técnicas de procesamiento de muestras biológicas (animales y vegetales) para microscopía electrónica e interpretación de imágenes.



Objetivos específicos:

- 1) Desarrollar destrezas y conocimiento preparación de reactivos para el procesamiento de muestras para microscopía electrónica de barrido y transmisión.
- 2) Desarrollar técnicas de fijación, deshidratación e inclusión de muestras biológicas.
- 3) Realizar prácticas sobre las técnicas, instrumentos y accesorios necesarios para elaborar cortes ultrafinos.
- 4) Utilizar los microscopios electrónicos para el análisis e interpretación de las muestras procesadas.

CONTENIDOS

PROCESAMIENTO DE MUESTRAS:

Elaboración de reactivos químicos y aplicación de metodologías para el procesamiento de muestras animales y vegetales

- Elaboración de disoluciones buffer y fijadores
- Técnicas de deshidratación
- Técnicas de inclusión
- Utilización del ultramicrotomo: elaboración de cortes ultrafinos
- Elaboración de cuchillas de vidrios
- Elaboración de rejillas con película y con cobertura de carbón

UTILIZACIÓN DEL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO

Profundización en el uso adecuado y potencial de los microscopios e interpretación de cortes de las muestras procesadas:

Microscopio electrónico de barrido:

- Hitachi S570
- Hitachi 3700N

Microscopios electrónicos de transmisión:

- HT-7000
- HT-7100
- HT-770.



Evaluación

Se realizarán encuestas para conocer el grado de satisfacción e interés de los participantes.

CRONOGRAMA

<i>FECHA</i>	<i>HORA</i>	<i>ACTIVIDAD</i>
10 de noviembre	9:00 a.m. a 12:00 m.d	INTRODUCTIONS and discussions with students about their background and particular needs for electron microscopy LECTURE - Principles and Techniques of Electron Microscopy LECTURE - Fixation for biological samples LAB - Making up buffers and fixatives LAB - Primary fixation of biological specimens for both immunolabeling and morphology
	1:00 p.m. a 5:00 p.m	LAB - Rinsing and secondary fixation of specimens LECTURE - Dehydration and Embedding techniques (during the time it takes for secondary fixation) LAB - Dehydrate specimens at room temperature and by Progressive Lowering of Temperature LAB - Rapid embedding in epoxy and LR White resins LAB - Quick (2 hour) resin polymerization
11 de noviembre	9:00 a.m. a 12:00 m.d	REVIEW AND DISCUSSION OF THE DAYS ACTIVITIES LECTURE - Sectioning techniques



12 de noviembre	1:00 p.m. a 5:00 p.m	LAB - Making glass knives, filmed grids, and carbon coating LAB - Trimming of resin blocks LAB - Cutting and staining semi-thick sections for light microscopy examination LAB - Begin cutting and picking up thin sections LAB - Continue cutting thin sections LAB - Make up reagents for immunolabeling LAB - Post-staining of epoxy sections LAB - Immunolabeling of LR White sections
	9:00 a.m. a 12:00 m.d	LECTURE - How to look at a sample in the electron microscope LAB - Simultaneous activities - some students will be on the microscope(s) looking at results and taking pictures, and others will continue to practice on methods already presented.
	1:00 p.m. a 5:00 p.m	GROUP DISCUSSION - Evaluation of images from the morning sessions. REVIEW of previous topics and discussion of the workshop