

LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA APLICADA A LA INVESTIGACIÓN Y AL DIAGNÓSTICO

Carrera: Medicina Veterinaria

Plan de estudios: 2004/14

Ciclo: Básico.

Núcleo: Ciencias Médicas Veterinarias.

Año: Tercer año.

Régimen de Cursada: Cuatrimestral.

Carácter: Electiva.

Carga Horaria total: 44 horas.

Carga Horaria teórica: 24 horas.

Carga Horaria práctica: 20 horas.

OBJETIVOS GENERALES

- Dar a conocer a los estudiantes las técnicas y métodos que se emplean para poder analizar las estructuras celulares y poder reconocerlas durante la observación en el microscopio electrónico de transmisión (TEM).
- Orientar en el aprendizaje, comprensión y aplicación de los principios básicos y fundamentos de las técnicas de microscopía electrónica de transmisión.
- Ofrecer a los estudiantes y tal vez, futuros investigadores en el campo de la Biología Celular, una herramienta con las que poder abordar el estudio de las células y sus componentes de una manera amplia y crítica, profundizar en el estudio de las estructuras e interpretar adecuadamente los resultados y las imágenes que el método ofrece.

CONTENIDOS MÍNIMOS

Microscopio electrónico de transmisión. Procesamiento de material biológico. Ultramicrotomía. Métodos de contraste. Ultraestructura celular. Aplicaciones.

PROGRAMA ANALÍTICO

UNIDAD N°1. EL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN

Introducción. Descripción del microscopio electrónico de transmisión (TEM). Analogías y diferencias entre el microscopio óptico y los microscopios electrónicos (de transmisión y de barrido). Elementos constitutivos del TEM: columna del microscopio, sistema eléctrico y sistema de vacío. Formación de la imagen. Poder de Resolución. Aplicaciones en las ciencias biológicas.

UNIDAD N°2. PROCESAMIENTO DE MATERIAL BIOLÓGICO

Protocolo estándar para el procesamiento de tejidos para TEM: Toma de muestras.

Fijación. Lavado. Pos-fijación. Deshidratación. Infiltración. Inclusión. Polimerización. Comparación con el protocolo estándar aplicado en microscopía óptica y en microscopía electrónica de barrido. Buenas prácticas de laboratorio y normas de bioseguridad en un laboratorio de microscopía electrónica.

UNIDAD N°3. ULTRAMICROTOMÍA

Funcionamiento del ultramicrotomo. Procedimientos generales previos a la obtención de cortes semifinos y ultrafinos. Tallado de los bloques de inclusión. Cuchillas de vidrio y de diamante. Grillas. Tipos de Grillas. Membranas de soporte. Clases de membrana de soporte. Tinción de cortes semifinos: azul de toluidina. Artefactos de cortes.

UNIDAD N°4. MÉTODOS DE CONTRASTE

Contraste positivo: acetato de uranilo y citrato de plomo. Protocolo estándar. Contraste negativo: ácido fosfotúngstico. Procedimientos generales. Artefactos generados durante el contraste de muestras.

UNIDAD N°5. ULTRAESTRUCTURA

Ultraestructura de la célula eucariota y procariota. Morfología e interpretación ultraestructural. Artefactos.

UNIDAD N°6. APLICACIONES

Aportes de la microscopía electrónica en la investigación y el diagnóstico en Ciencias Veterinarias y otras ciencias.

BIBLIOGRAFÍA OBLIGATORIA

BÁSICA

- BOLONDI A, GAGGINO PO (1995) Técnicas generales para microscopía electrónica. Servicio de Microscopía Electrónica y Bioquímica Aplicada. Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias (CICV, INTA). Castelar, Buenos Aires, Argentina.
- BANCROFT JD, STEVENS A (1996) Theory and practice of histological techniques. Bancroft JD y Stevens A (Eds). Cuarta Edición. Churchill Livingstone.
- CRANG RF, KOMPARENS KL (1988) Artifacts in biological electron microscopy. Plenum Press. New York.
- HALL JL, HAWES C (1991). Electron microscopy of plant cells. Academic Press Inc. San Diego.
- HAYAT MA (1981) Fixation for electron microscopy. Academic Press Inc. London.
- HAYAT MA (1986) Basic techniques for transmission electron microscopy. Academic Press Inc. London.
- JEOL (1989) Introduction of general sampling method to electron microscopy. Manual.

- KAY D (1965) Techniques for electron microscopy. Second Edition. Blackwell Scientific Publications. Oxford.
- LOZANO V, MORALES A (1988) Introducción a la microscopía electrónica. Centro Regional de Investigaciones Básicas y Aplicadas de Bahía Blanca (CRIBABB).
- PETRUCCELLI MA, QUIROGA MA (1998) Obtención, acondicionamiento y envío de muestras para microscopía electrónica. Manual del Décimo Curso Internacional de Posgrado en Técnicas de Inmunohistoquímica, Lectín histoquímica y Microscopía Electrónica. Pág: 1-12.
- PIQUERAS JR, MEGÍAS Pág. L (1998) Manual de técnicas de microscopía electrónica (M.E.T.). Aplicaciones Biológicas. Universidad de Granada.
- SANTANDER RG (1969) Técnicas de Microscopía Electrónica en Biología. Aguilar, S. A. de Ediciones, Madrid.
- URBINA C, RODRÍGUEZ P, FINOL H, MÉRIDA T, OGURA M (1997) Introducción a la microscopía electrónica. Guía teórico-práctica. Universidad Central de Venezuela Facultad de Ciencias Escuela de Biología Centro de Microscopía Electrónica (CICV, INTA). Castelar, Buenos Aires, Argentina.

COMPLEMENTARIA

- RICARDO MARTÍNEZ RODRÍGUEZ, RAQUEL GRAGERA MARTÍNEZ. Fundamentos teóricos y prácticos de la histoquímica. Editorial CSIC - CSIC Press, 1/1/2008
<https://books.google.com.ar/books?id=q5piMcoVEr4C&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=true>
- UNIVERSITY OF DELAWARE. Ultramicrotomy and staining of thin sections
<http://www.udel.edu/biology/Wags/b617/micro/micro.htm>