



## CÉLULAS EN SUSPENSIÓN

**Aclaraciones:** En el caso de suspensiones celulares, se recomienda al usuario enviar cada muestra con una réplica de esta, el costo será como el de una única muestra (repetición sin costo). Durante el procesamiento parte del material se pierde, parcial o totalmente, por resuspensión de la muestra (cuando hay poca concentración celular). Si la muestra es escasa, dificulta la obtención de los cortes para observar en el microscopio electrónico de transmisión.

### Procedimiento

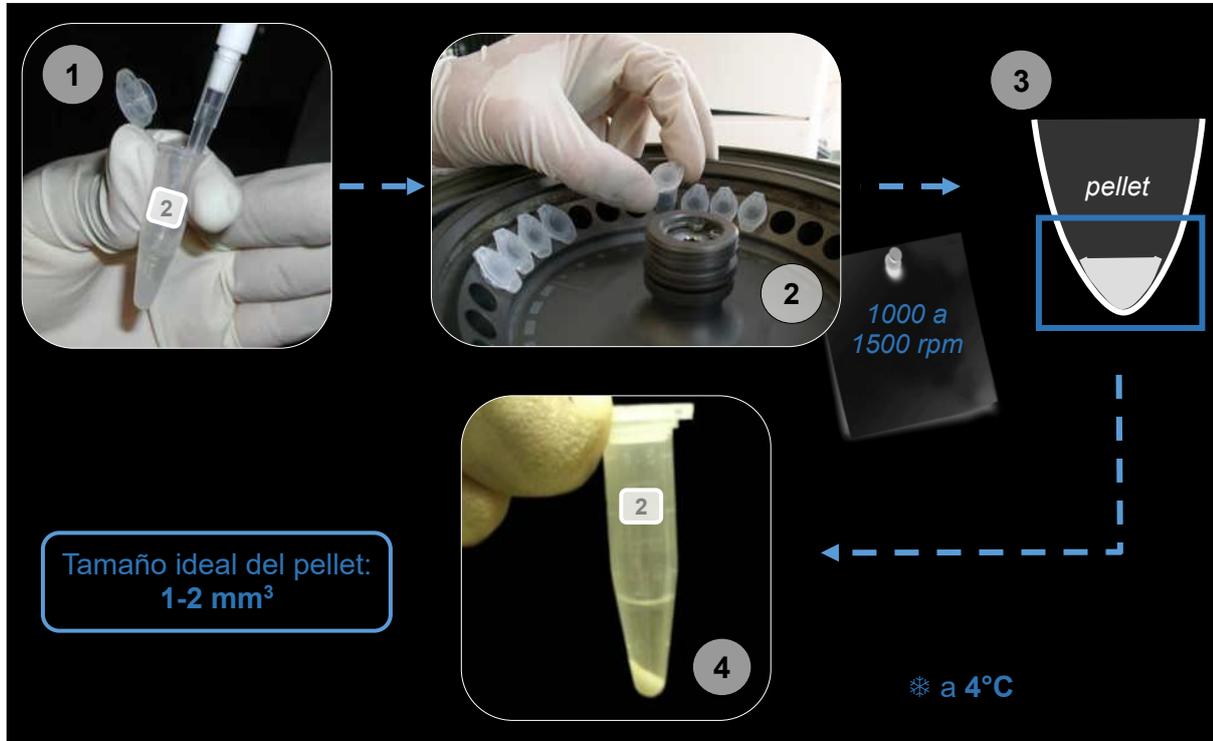
1. Tomar la muestra colocar en un tubo Eppendorf y rotular. Realizar la concentración celular, formar el "Pellet".
2. Centrifugar la suspensión celular a 1000-1500 rpm, durante 3 minutos (hay bacterias y levaduras que necesitan ser centrifugadas a mayor velocidad para poder lograr un pellet, aquí es el usuario quien deberá informar al técnico la velocidad aplicada y asegurando que ésta no genera alteración celular). Se obtiene un pellet de la muestra, concentrado celular. El tamaño del pellet no debe superar los 2 mm<sup>3</sup>. Si el pellet obtenido es mayor al indicado, puede enviarlo así, nosotros lo fraccionamos para continuar con el procesamiento de la muestra.
3. Obtenido el pellet eliminar el sobrenadante, con mucho cuidado, empleando una pipeta.
4. Colocar el glutaraldehído al 2% preparado en buffer fosfato (PB). Dejar a 4°C durante 2 horas (temperatura y tiempo de fijación para microscopía electrónica).

**Nota:** Es conveniente que la solución fijadora sea proporcionada por el Servicio Central de Microscopía Electrónica (SCME), o el laboratorio que procesará las muestras, para evitar diferencias de osmolaridad y pH, en las soluciones de fijación y buffer empleadas.

5. Fijado el pellet eliminar el sobrenadante (solución fijadora).
6. Lavar la muestra con PB para eliminar el exceso de fijador. Colocar el buffer muy lentamente tratando de no resuspender las células. Se realizan 3 cambios cada 30 minutos a 4°C.
7. La muestra puede permanecer en el último buffer hasta 7 días a 4°C (tiempo para remitir las muestras a este o cualquier otro servicio de microscopía electrónica).

**Nota:** En el caso de que por la eliminación del fijador o los posteriores lavados se resuspenda el pellet, centrifugar nuevamente (no más de 1500 rpm).

## SUSPENSIONES CELULARES – FORMACIÓN DE PELLET



## CULTIVOS CELULARES EN MONOCAPA: ¿CÓMO LEVANTAR LA MONO CAPA?

(Click sobre el video o escanear Código QR)





## ANEXO 1

### Buffer fosfato 0,2 M (pH 7,4) (PB)

11,94 gr.	NaHPO <sub>4</sub> (Fosfato dibásico de sodio Anhidro)
2,96 gr.	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (Fosfato ácido de sodio Anhidro)
500	Agua destilada

1. Disolver las sales en 250 ml de agua destilada. Agitar.
2. Agregar los 250 ml de agua destilada restante para terminar de disolver las sales.
3. Medir y ajustar pH a 7,4.

### Solución de glutaraldehído al 2%

Glutaraldehído al 25%	8 ml
Buffer fosfato (PB)	50 ml
Agua destilada	42 ml

**Importante:** En esta solución de trabajo la concentración final de glutaraldehído es del 2 % en PB. Se puede conservar en heladera a 4°C hasta su uso (no más de un mes).

## ANEXO 2

### Acondicionamiento de muestra para envío

**Aclaración:** Antes de enviar la/s muestra/s comunicarse al SCME vía telefónica al (0221) 4236663/64 Interno 453 o por mail con la Dra. Susana Jurado ([sjurado@fcv.unlp.edu.ar](mailto:sjurado@fcv.unlp.edu.ar)) para coordinar la recepción de las muestras.

1. Acondicionar una caja para el envío del material procurando que el mismo llegue refrigerado.

**Importante:** emplear refrigerantes para mantener la/s muestra/s entre 4 a 10 °C, no para congelar. Evitar el exceso de frío y el contacto directo de la/s muestra/s con el refrigerante. Tener presente los volúmenes de las muestras, material del soporte y el frío a generar en el interior de la caja (Ver imágenes de ejemplo más abajo).

2. Enviar muestra/s rotulada/s, en lo posible con etiquetas y lápiz negro.

3. Acompañar la/s muestra/s con detalles e indicaciones que crea conveniente para que el técnico del SCME continúe con el procesamiento del material (fecha y hora de fijación, fijador empleado, envía en fijador o buffer, etc.).

4. Comunicar por qué vía llegará la/s muestra/s, fecha estimada de arribo al SCME (envío personal, empresa de transporte o correo).

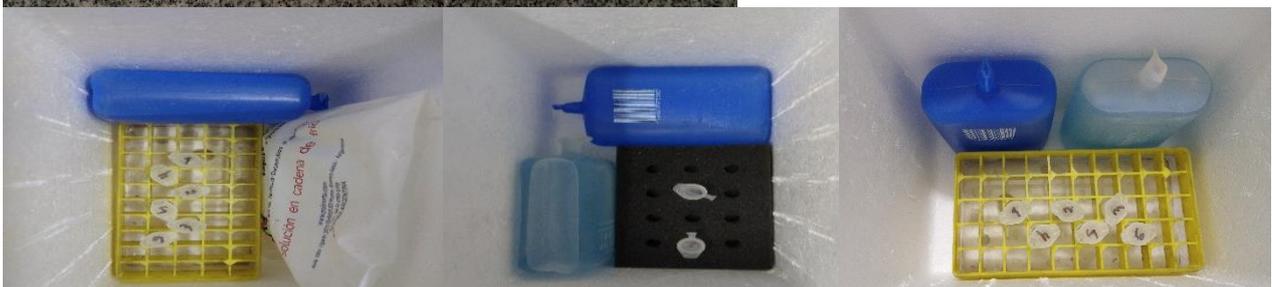


#### Ejemplos para envío de muestra

##### Izquierda. Materiales:

1. Tipo de caja térmica
2. Modelos para soportes de muestras rotuladas.
3. Refrigerantes.

**Abajo.** Secuencia con ejemplo de armado. Importante: la cantidad de refrigerante estará en función del volumen de la caja, número de muestras y el material del soporte a emplear (si aísla un poco el frío o no).





## Recepción de la muestra e ingreso al SCME

---

Una vez recibida la/s muestra/s se constatará el estado y características de ingreso, debiendo esta/s cumplir con las condiciones de preparación (adecuada toma de muestra y fijación de esta) y acondicionamiento de la/s muestra/s para su envío. Se observará tamaños de los trozos de tejido fijados, características de la solución fijadora o buffer en que se encuentra (color, turbidez, pH).

- 1.** Se aceptará sin objeción la/s muestra/s remitida/s correctamente, que se observe/n bien para continuar su procesamiento, dando ingreso y registro a la/s misma/s.
- 2.** Si la/s muestra/s presentara/n alguna característica particular, que pudiera derivar en un artefacto indeseado, se informará al usuario para que determine si desea que se continúe o no con el procesamiento de esta/s.
- 3.** Si la/s muestra/s no cumple/n las condiciones para ser aceptada/s, se informará al usuario las razones y se le solicitará que envíe nuevamente la/s muestra/s.