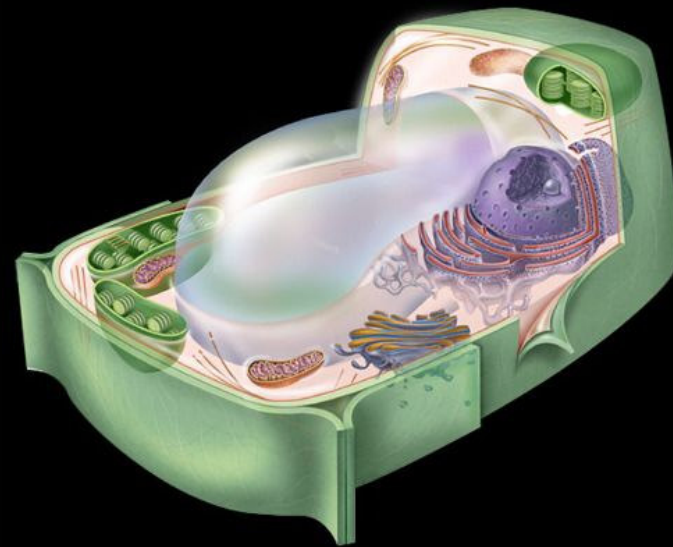
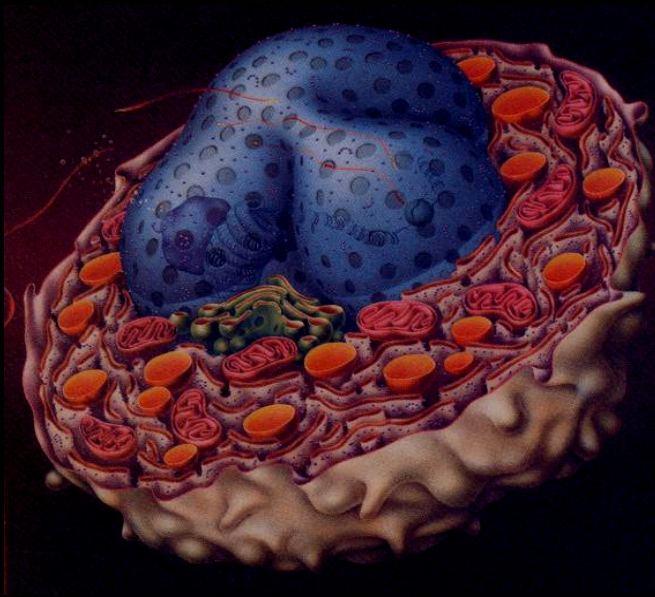


MÉTODOS DE ESTUDO DAS CÉLULAS



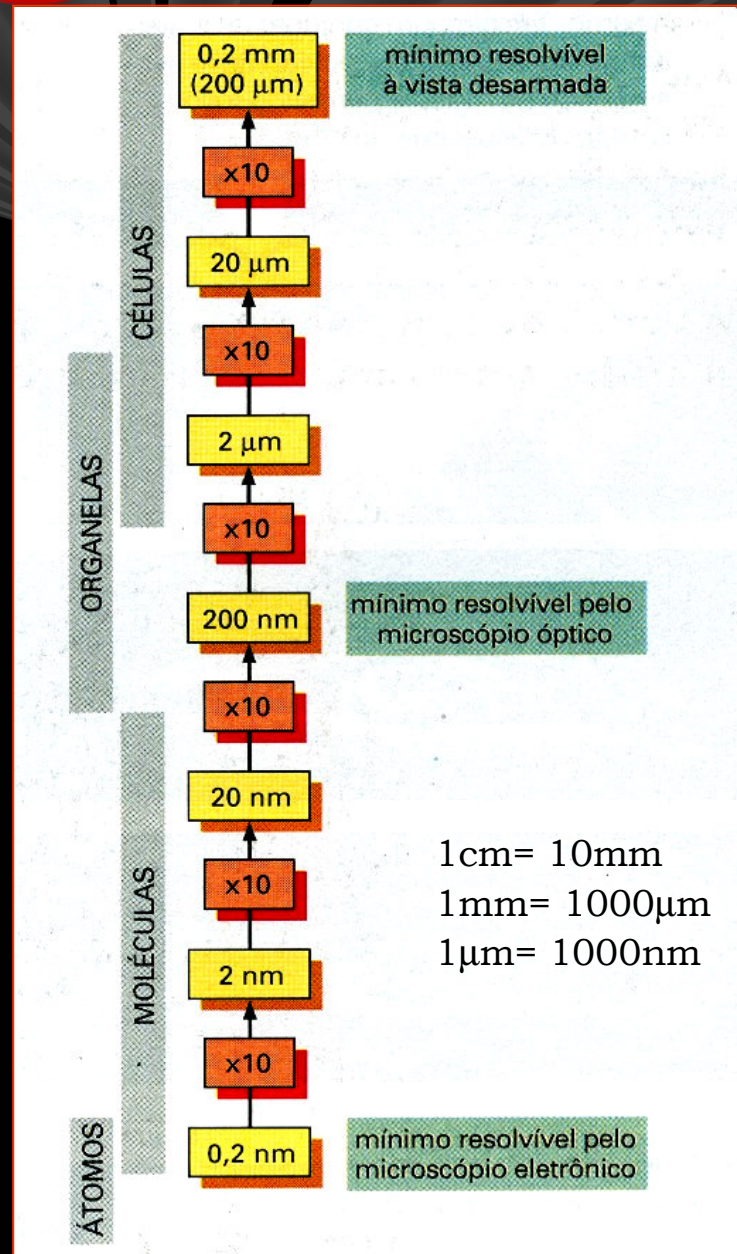
A Biologia Celular

Seres Vivos

→ Células

↓
Biologia Celular
ou
Citologia

↓
MICROSCÓPIOS



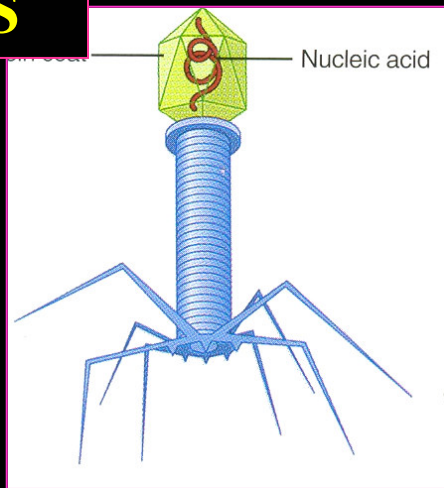
Tamanhos de células e dos seus componentes e as unidades usadas para mensurá-las

TEORIA CELULAR: versão moderna

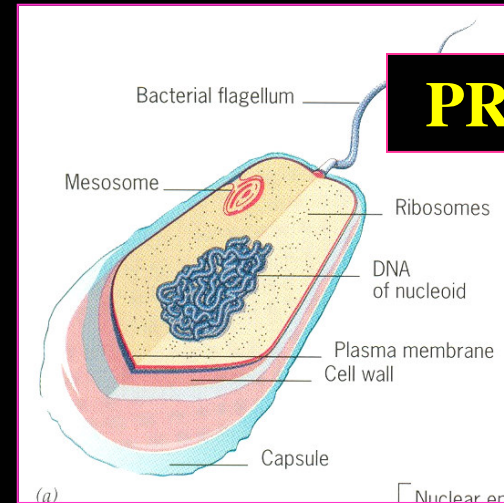
- 1) as células são as unidades morfológicas e fisiológicas de todos os organismos vivos;**
- 2) as propriedades de um dado organismo dependem daquelas de cada uma de suas células;**
- 3) as células originam-se somente de outras células, das quais herdam suas características;**
- 4) a menor unidade da vida é a célula.**

DIVERSIDADE DAS CÉLULAS

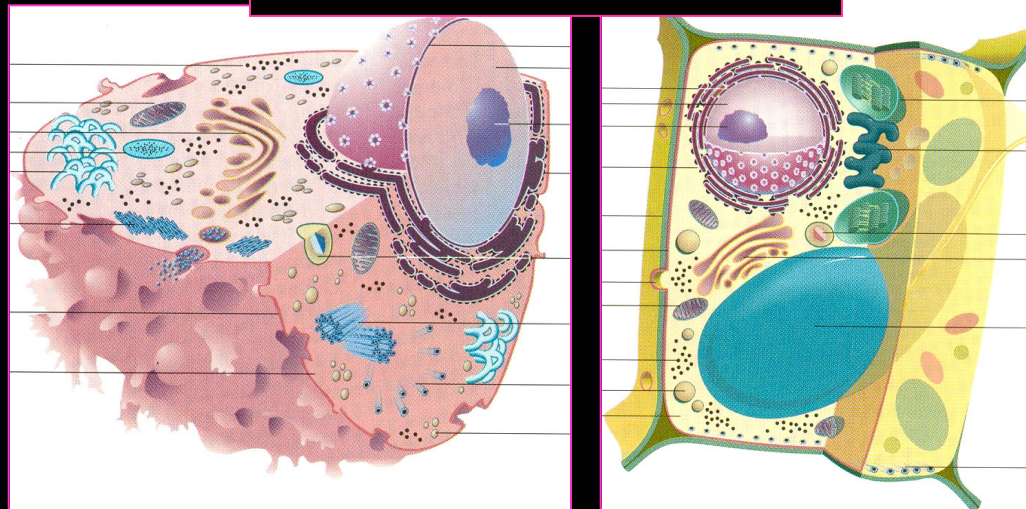
VIRÚS



PROCARIOTES

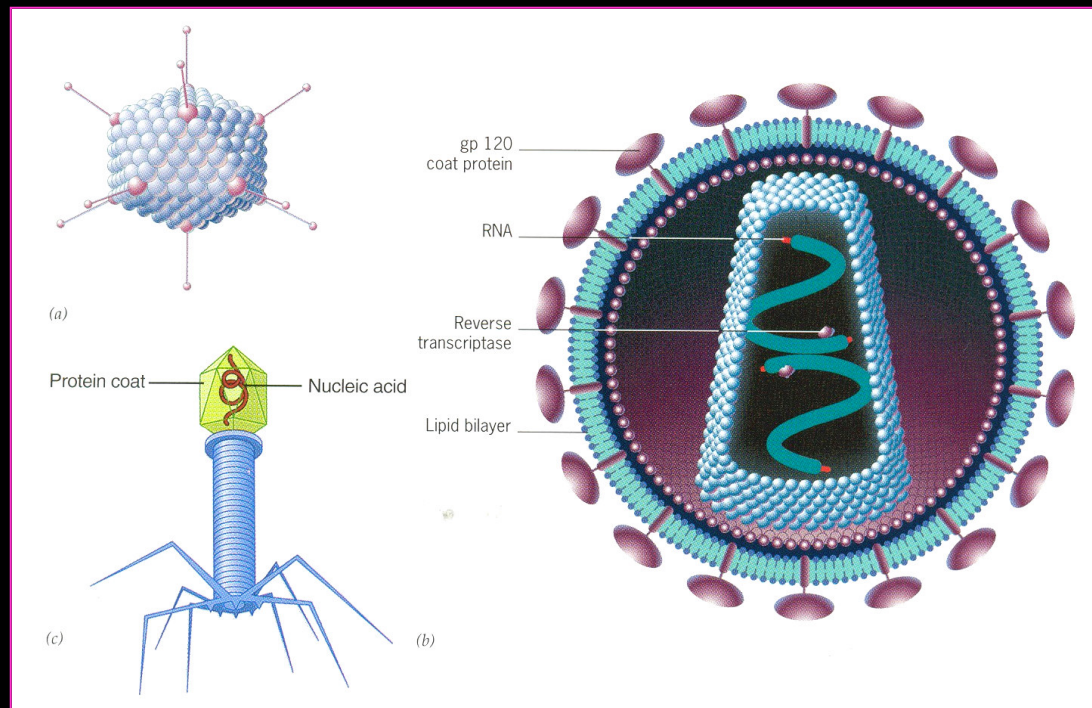


EUCARIONTES



VIRUS

- **PARASITAS INTRACELULARES OBRIGATÓRIOS**
- **DNA ou RNA**
- **Vírus animais, vírus vegetais e bacteriófagos**
- **Parte central (informação genética), parte periférica (proteínas),
invólucro lipoprotéico**

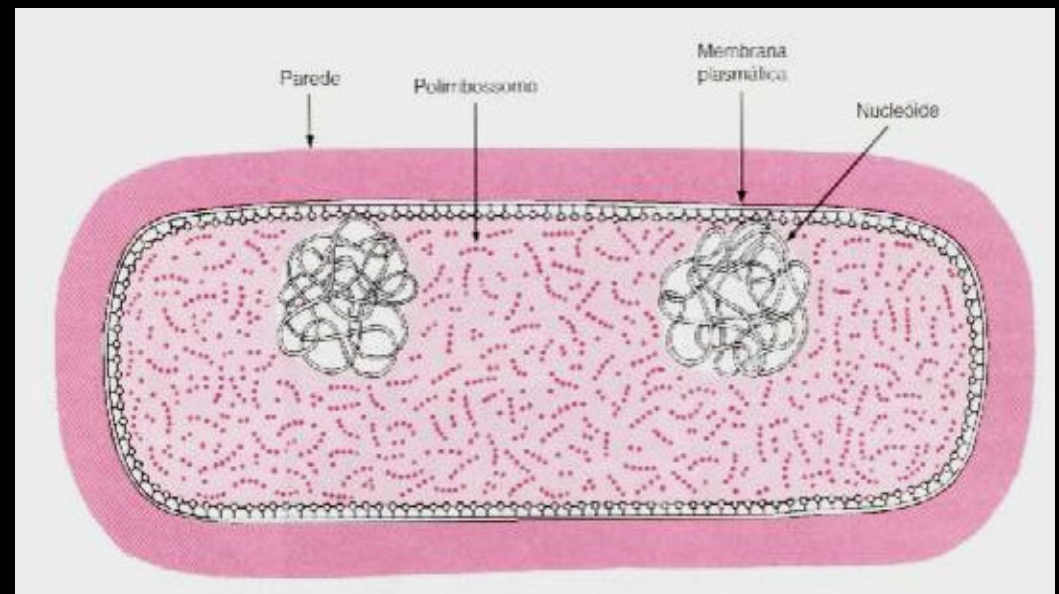


CÉLULAS PROCARIONTES

- caracterizam-se pela pobreza de membranas
- possuem: -membrana plasmática
 - parede extracelular (proteção mecânica)
 - citoplasma não compartimentalizado (polirribossomos)
 - nucleóides
 - não existe citoesqueleto

Bactérias

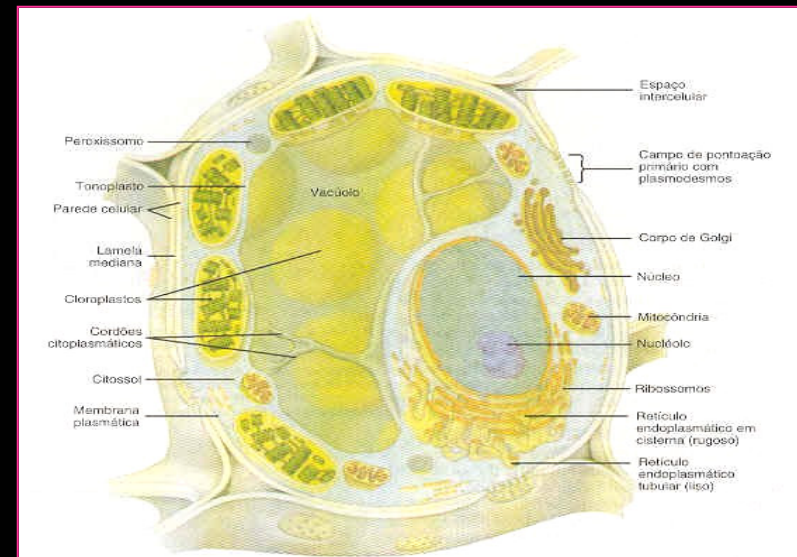
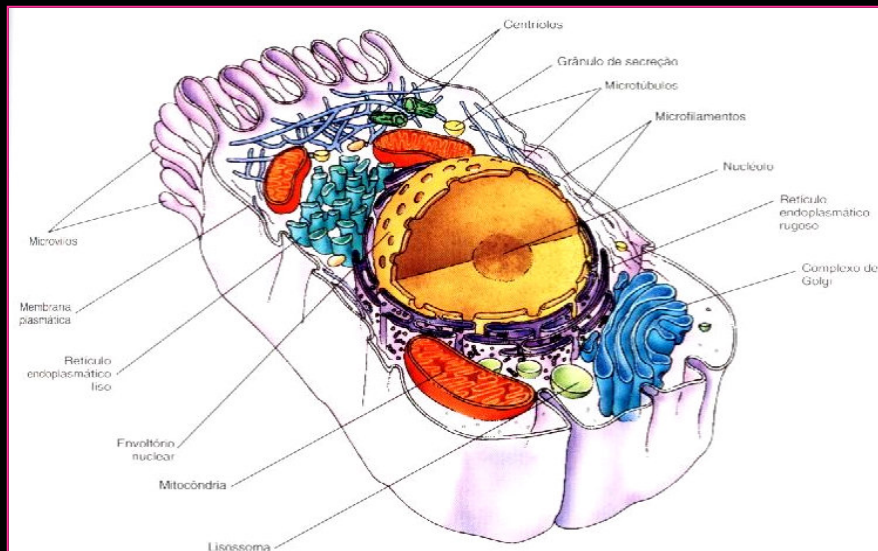
Ex.: *Escherichia coli*



CÉLULAS EUCARIONTES

- caracterizam-se pela riqueza de membranas
- núcleo e citoplasma bem delimitados por membranas (trânsito constante de moléculas)
- formam compartimentos internos que separam os diversos processos metabólicos
- possuem citoesqueleto

Células Animais e Vegetais



Tipos de Microscópios

Microscopia de Luz

- Convencional
- Contraste de Fase
- Contraste Interferencial
- Campo Escuro
- Polarização
- Fluorescência
- Confocal a Laser

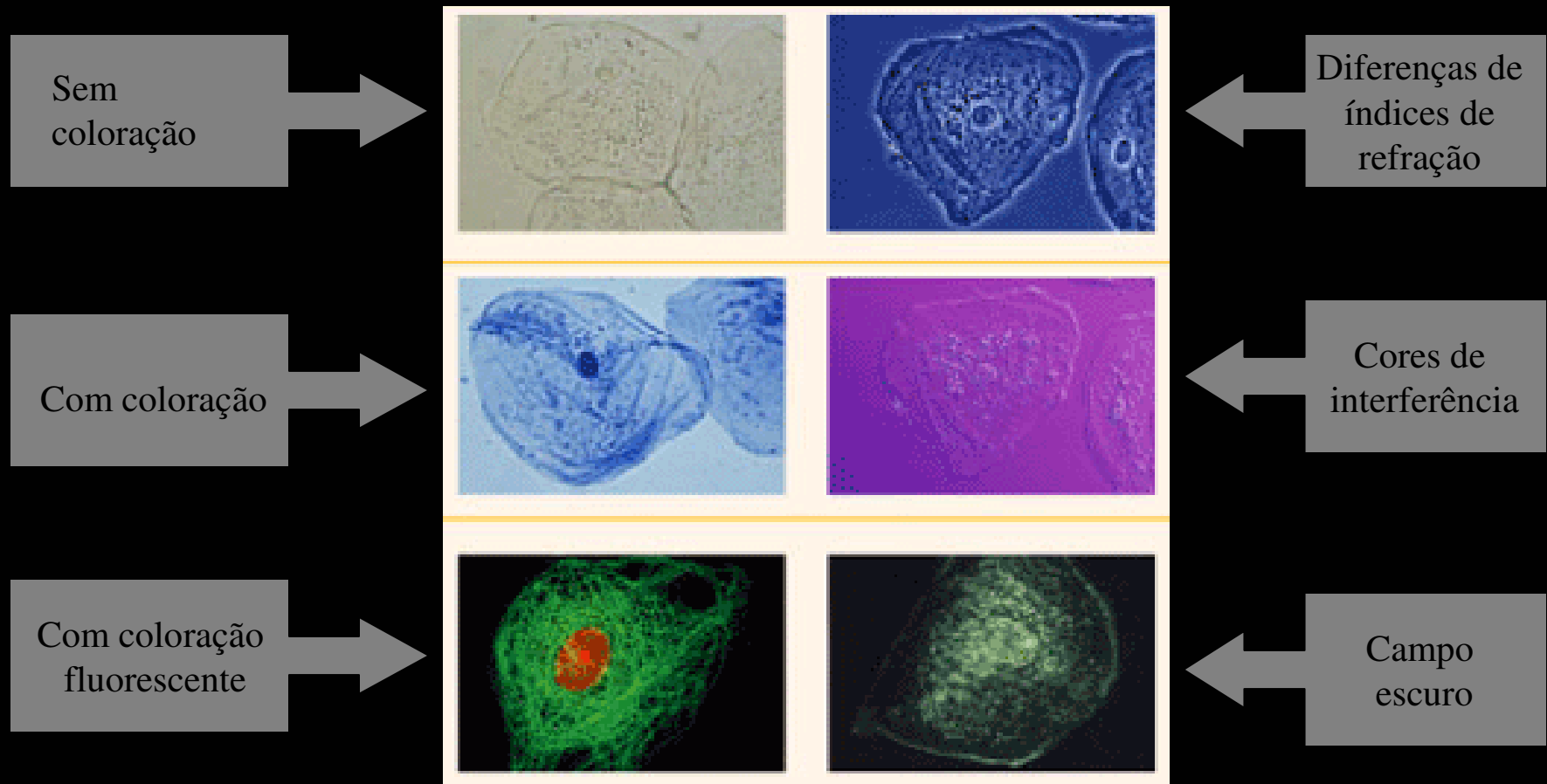
Microscopia eletrônica

- Transmissão
- Alta Voltagem
- Varredura

Outros tipos de microscópio

- Tunelamento Quântico
- Força Atômica
- Microespectrofotometria

MÉTODOS DE ESTUDOS EM BIOLOGIA CELULAR



Componentes de um microscópio



Componentes ópticos:

Fonte de luz

Sistema de lentes (condensador,
objetiva, ocular)

Componentes Mecânicos:

Base ou pé

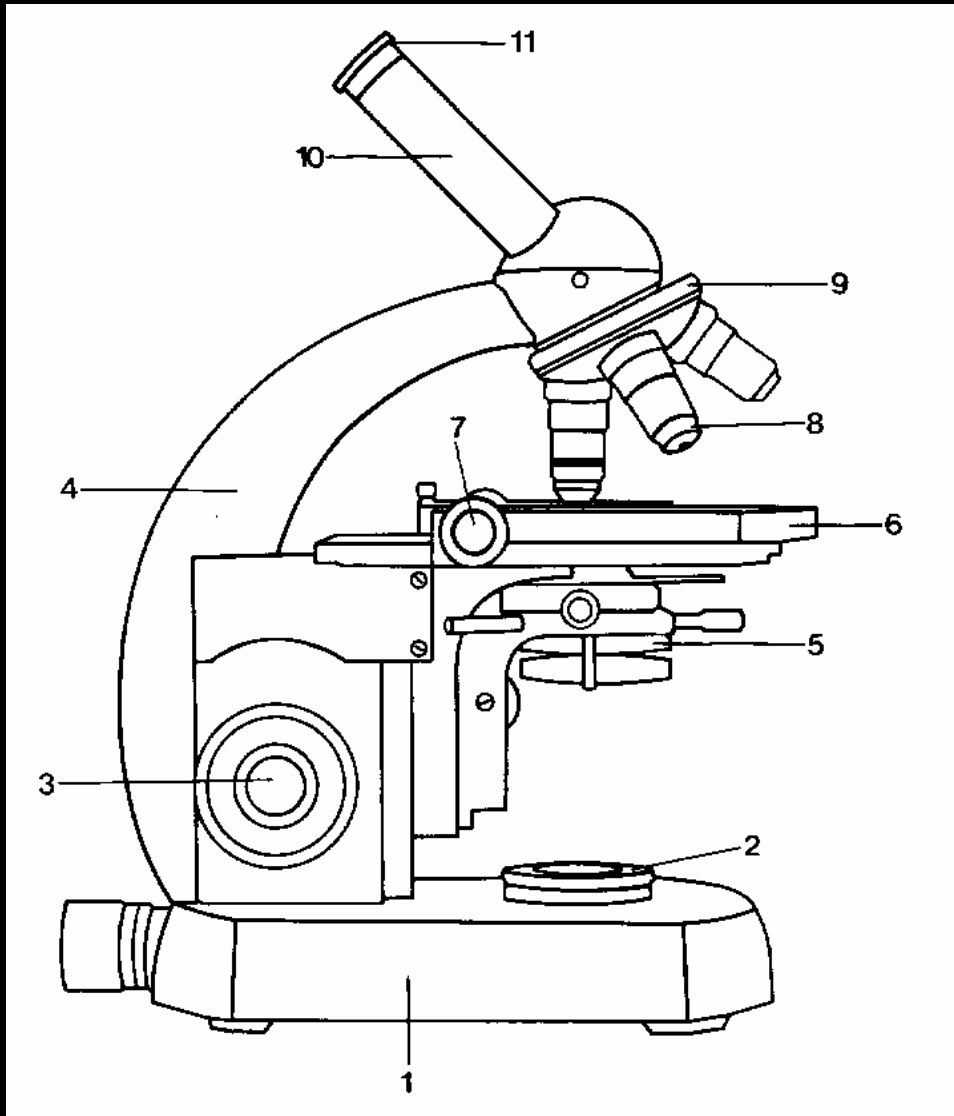
Canhão

Revólver

Platina

Parafusos macro e micrométricos

Charriot



Componentes de um microscópio

1. Base ou pé
2. Fonte de luz
3. Parafusos de foco
4. Braço ou haste
5. Condensador
6. Platina
7. Charriot
8. Objetivas
9. Revólver
10. Canhão
11. Ocular

Os modelos microscópicos variam na forma e no desenho



PREPARO DAS AMOSTRAS...

➤ **Fixação** = estabilização das estruturas celulares e intercelulares.

Fixação Química

- 1)-Fixadores químicos coagulantes:** podem desnaturar as proteínas em graus variáveis conforme sua estrutura molecular.
Ex: etanol.
- 2)-Fixadores químicos não coagulantes:** são os aldeídos reativos, como formaldeído e glutaraldeído, que formam ligações covalentes com os grupos de aa livres de proteínas, produzindo ligações cruzadas com as moléculas de proteínas adjacentes.

PREPARO DAS AMOSTRAS...

Processamento convencional

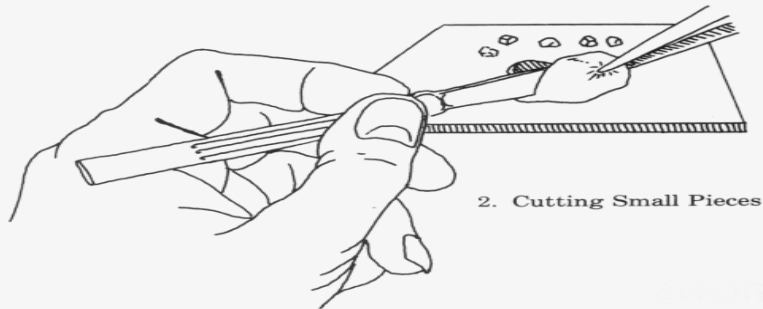
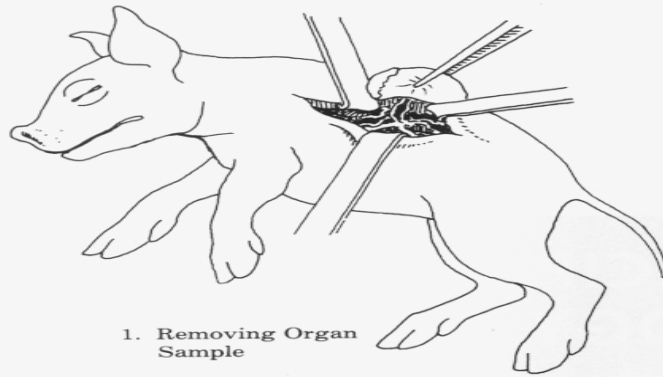
INCLUSÃO EM HISTORRESINA

- 1) Fixação
- 2) Desidratação (álcool 70% e 95%)
- 3) Embebição em mistura de resina + álcool 95%
- 4) Embebição em resina com catalizador
- 5) Inclusão em resina
- 6) Polimerização em estufa
- 7) Colagem dos blocos em suporte

INCLUSÃO EM PARAFINA

- 1) Fixação
- 2) Desidratação (álcool 70%, 80%, 95% e 100%)
- 3) Diafanização em álcool 100% + xilol
- 4) Passagem em xilol puro
- 5) Dois banhos de parafina (estufa)
- 6) Inclusão em parafina em moldes apropriados

SEQUÊNCIA GERAL DE COLETA E PREPARAÇÃO



Fix

Dehydrate

Clear

Embed

Mold with Specimen in Melted Paraffin



Paraffin Block Removed from Mold



Trimmed Block

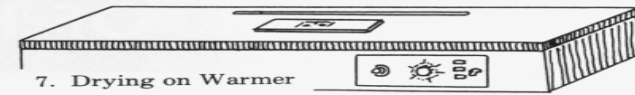
3. Preparing Specimens for Sectioning



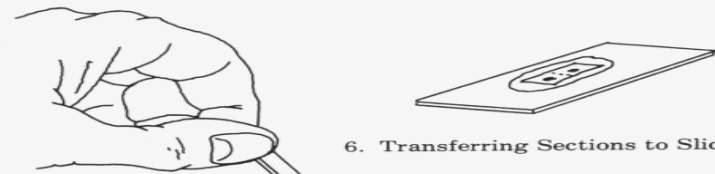
8. Staining



9. Coverslipping

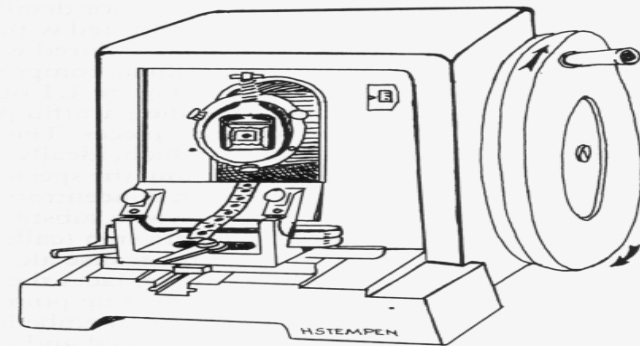


7. Drying on Warmer

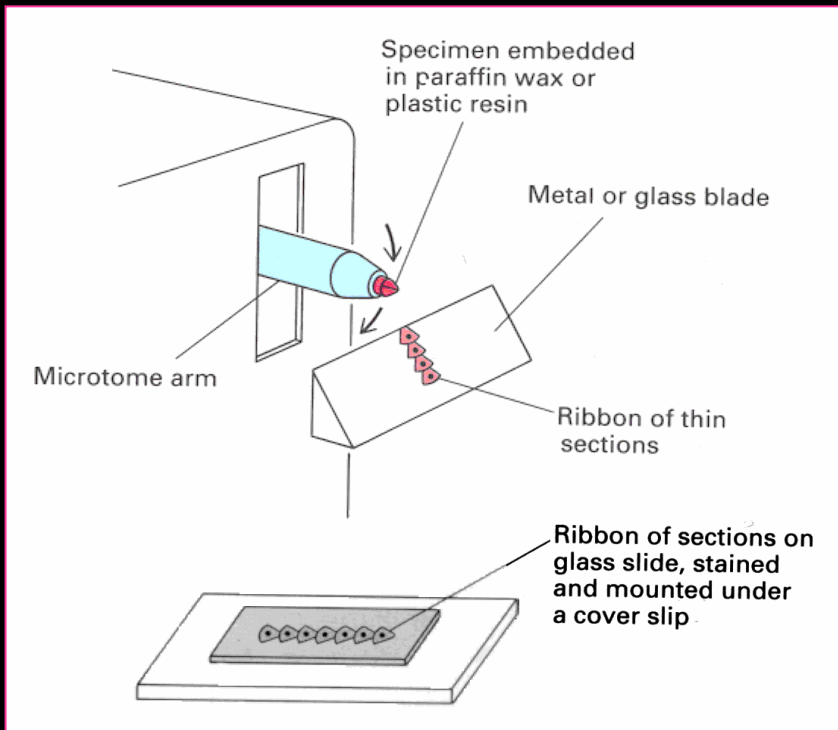


6. Transferring Sections to Slide

5. Straightening Sections on Waterbath



4. Sectioning with Microtome

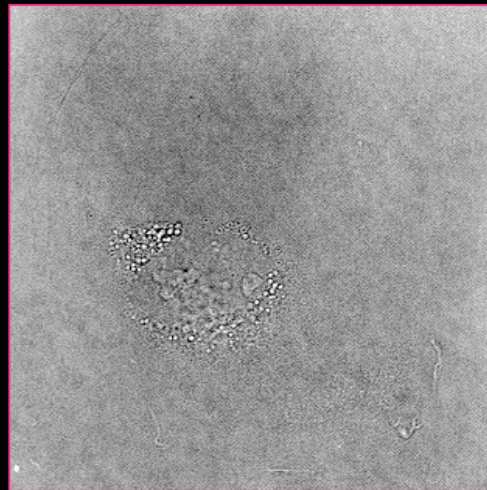
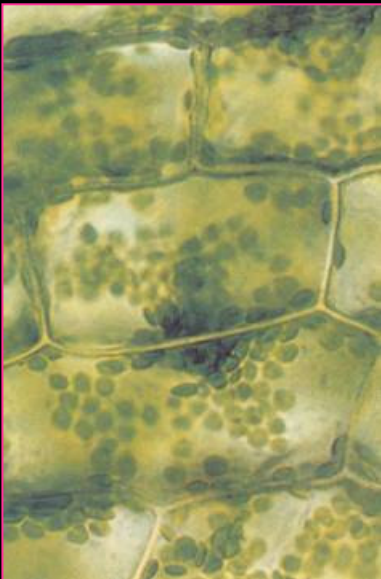


COLORAÇÃO DAS LÂMINAS PERMANENTES

Existe pouco conteúdo dentro das células que impedem a passagem da luz, assim células fixadas e seccionadas vistas ao microscópio óptico são transparentes, com exceção das células vegetais -cloroplastos!!!

Uma maneira de tornar as células visíveis é a utilização de corantes!!!

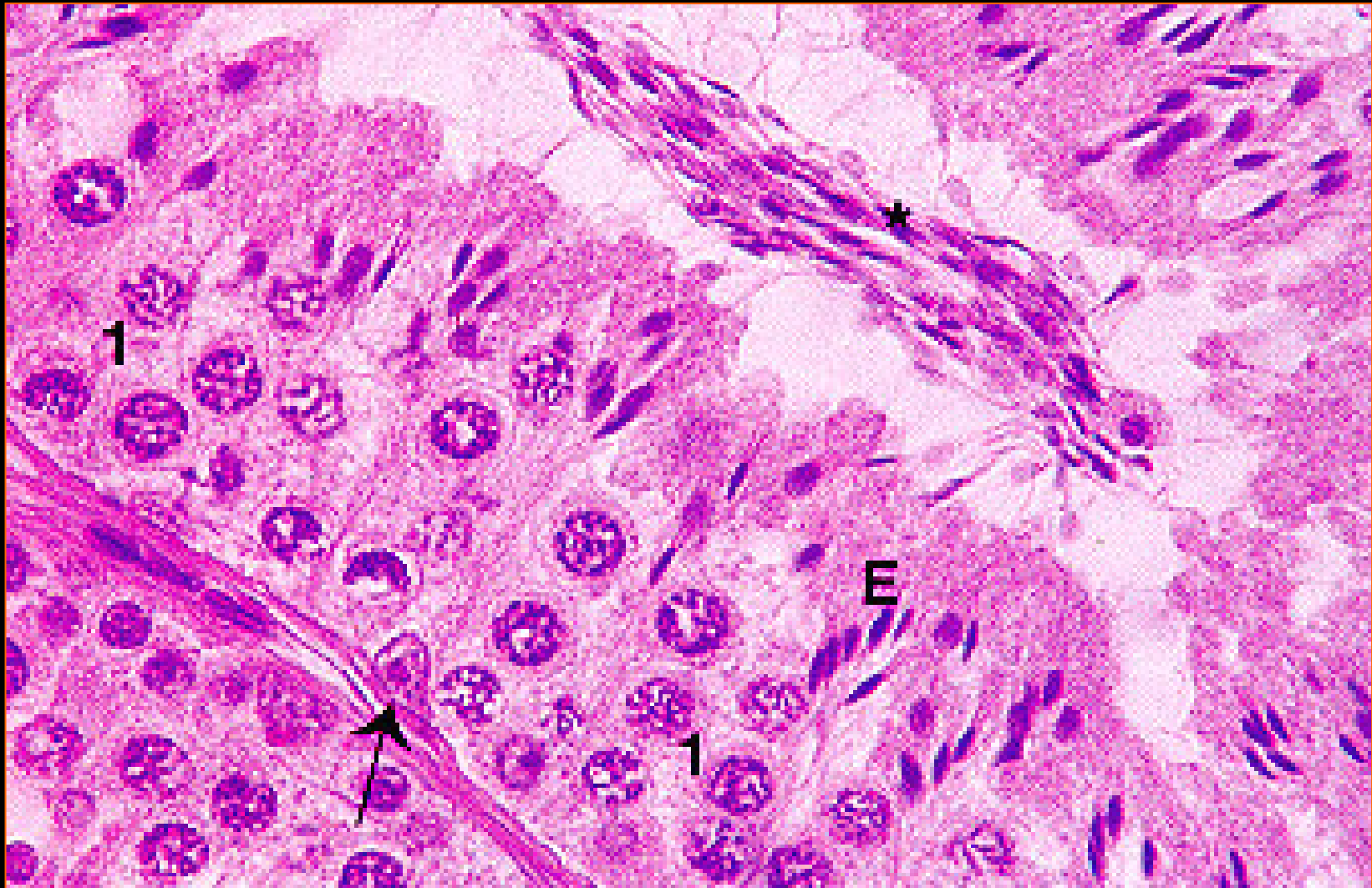
Corantes = grupos cromofóricos (responsáveis pela cor).



Hematoxilina e Eosina

CORANTE BÁSICO (grupo cromofórico é catiônico +) → afinidade por elementos ácidos dentro das células – **moléculas basófilas**)

CORANTE ÁCIDO (grupo cromofórico é aniônico -) → afinidade por elementos básicos dentro das células – **moléculas acidófilas**)



TECIDO EPITELIAL CORADO POR DIFERENTES CORANTES

Hematoxylin and eosin



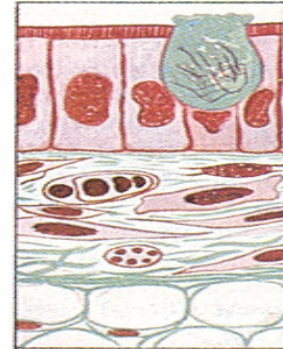
Iron hematoxylin



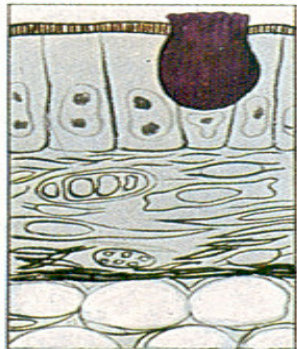
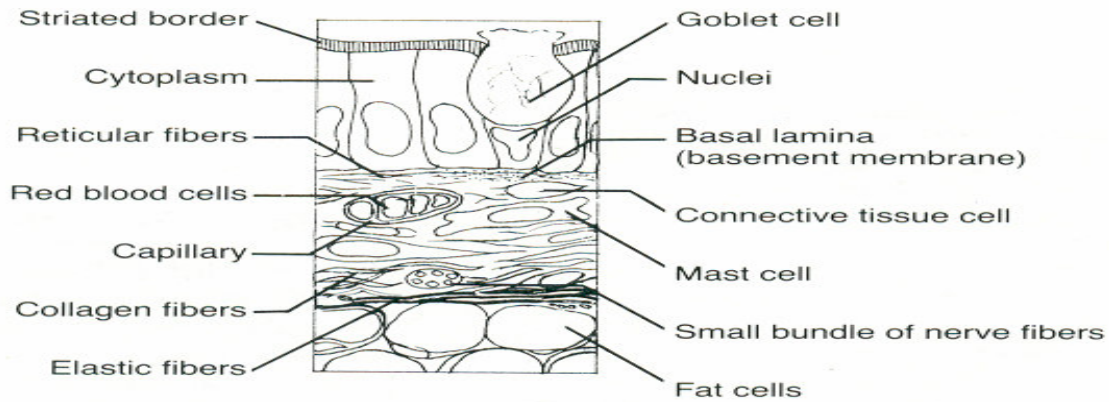
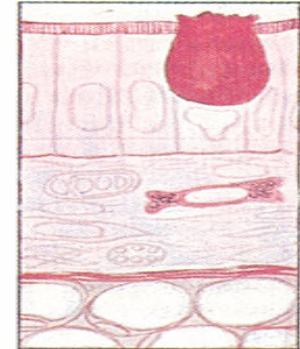
Mallory-Azan



Masson



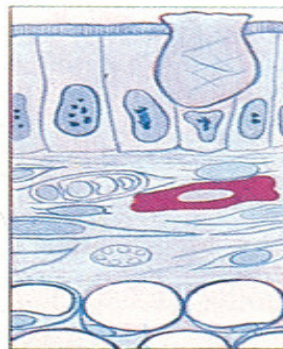
Periodic acid-Schiff



Silver impregnation



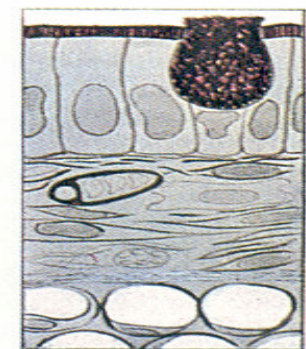
Orcein



Azure A



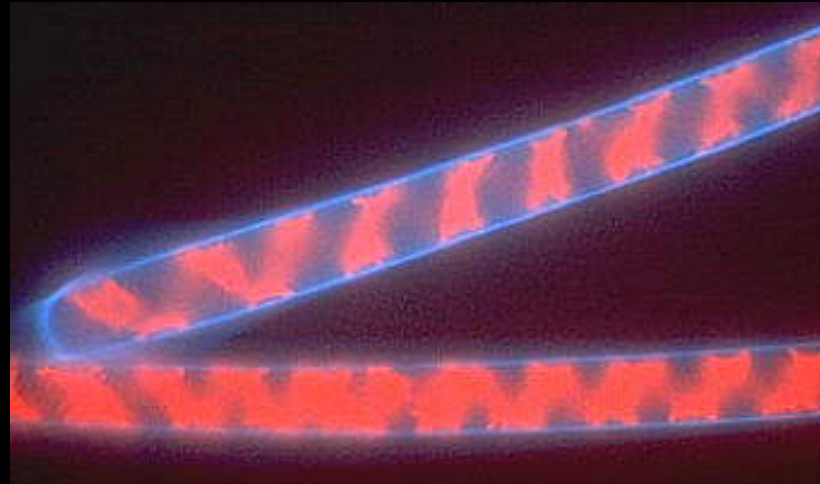
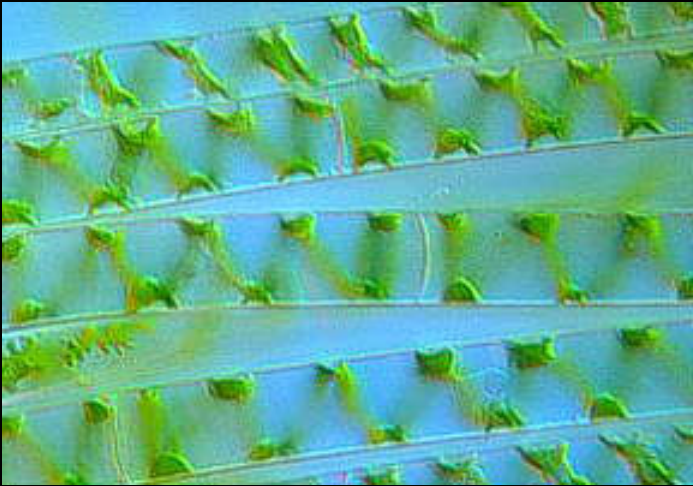
Sudan black B



Alkaline Phosphatase

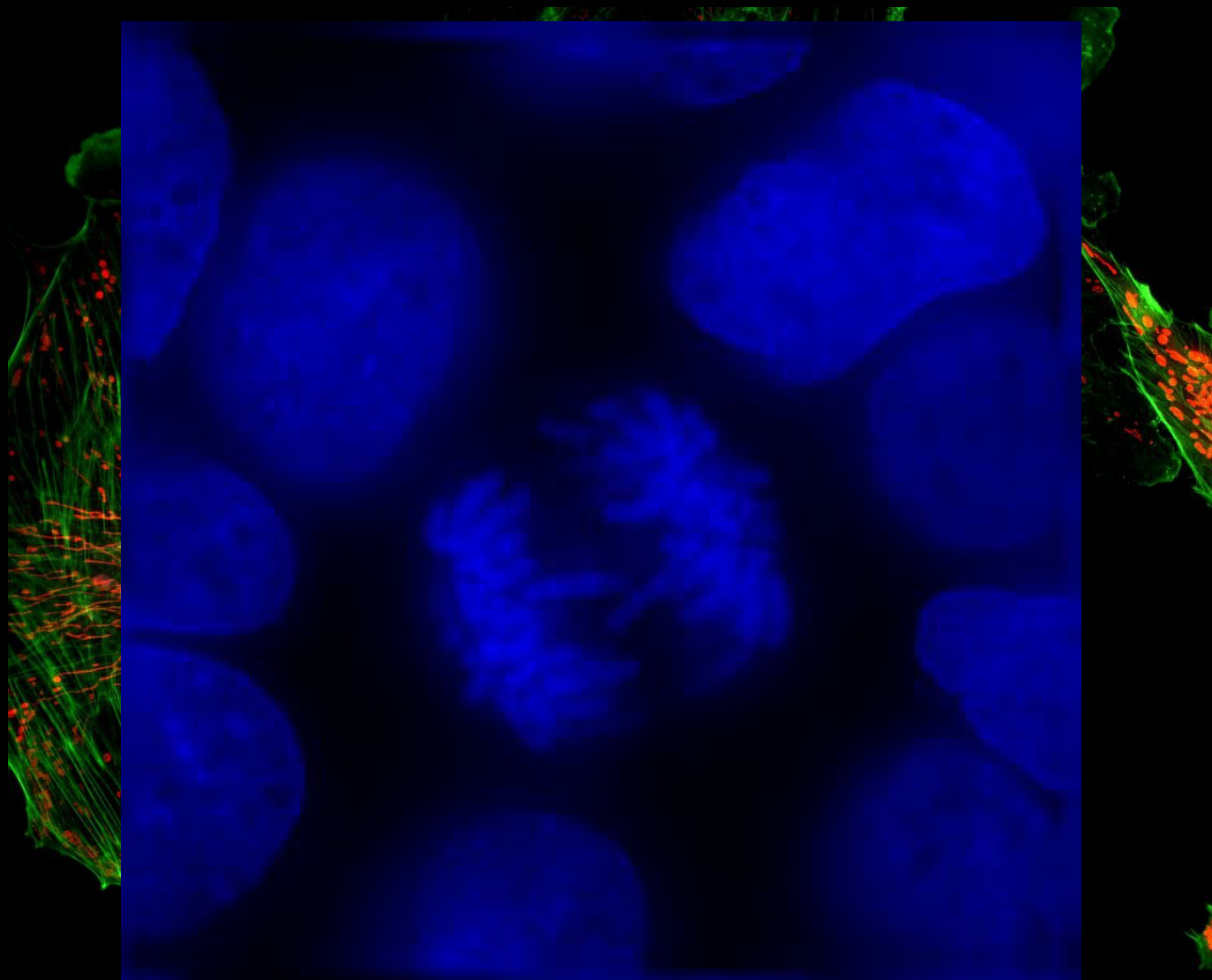
TÉCNICAS ESPECIAIS

Microscopia de Fluorescência



TÉCNICAS ESPECIAIS

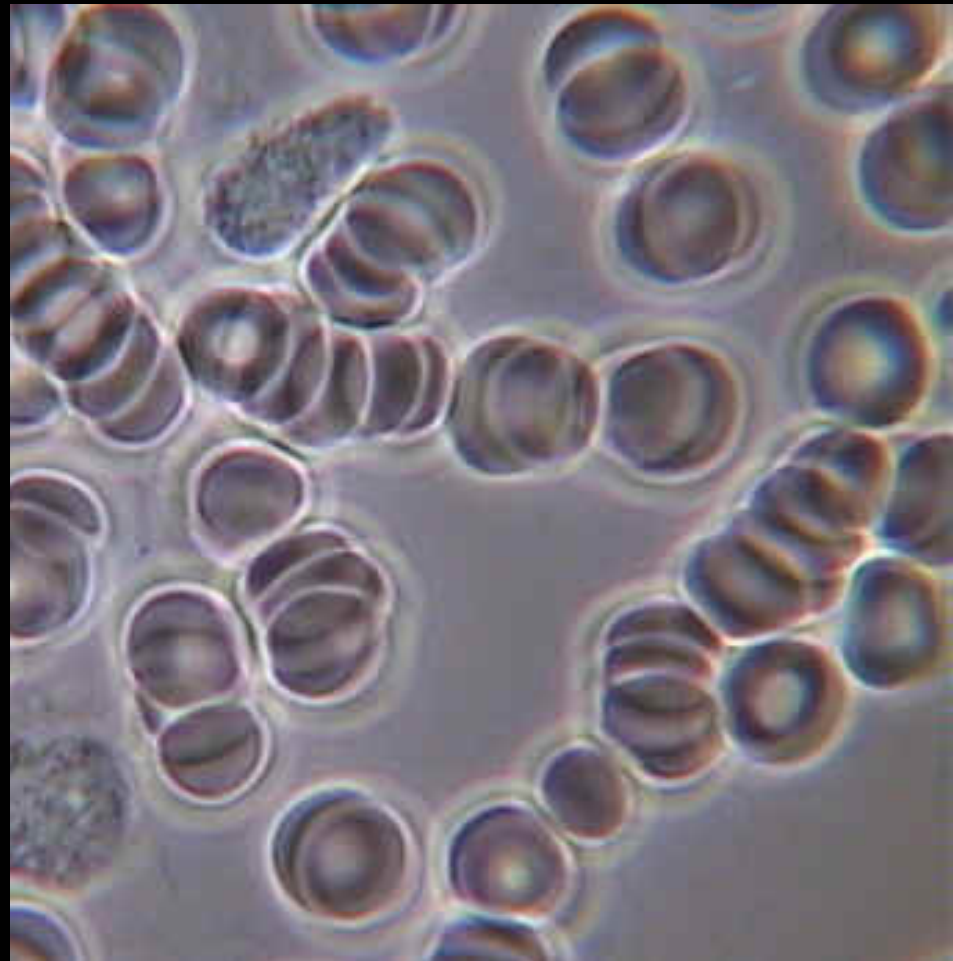
Aplicações da Microscopia de Fluorescência



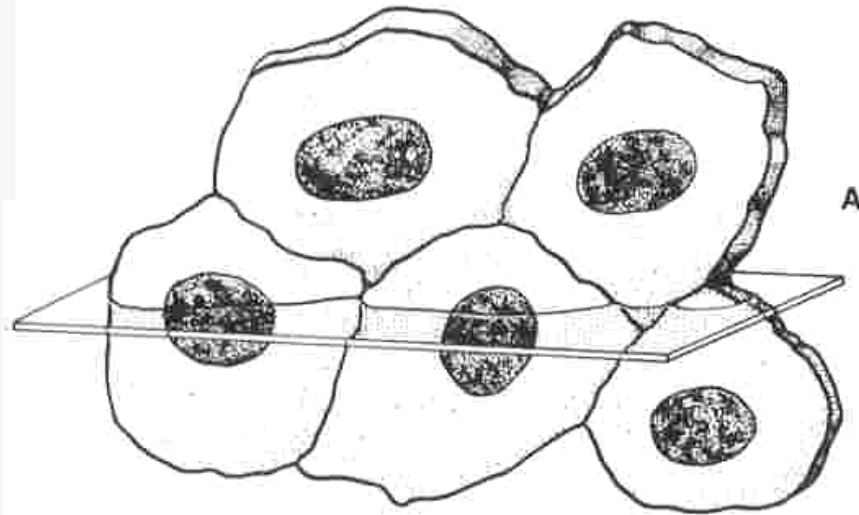
TÉCNICAS ESPECIAIS

Aplicações da Microscopia de Contraste de Fase

1. Análise do material sem coloração prévia
2. Culturas de células
3. Exames parasitológicos
4. Esfregaços e Raspagens de mucosas
5. Sangue
6. Protozoários de ambientes aquáticos



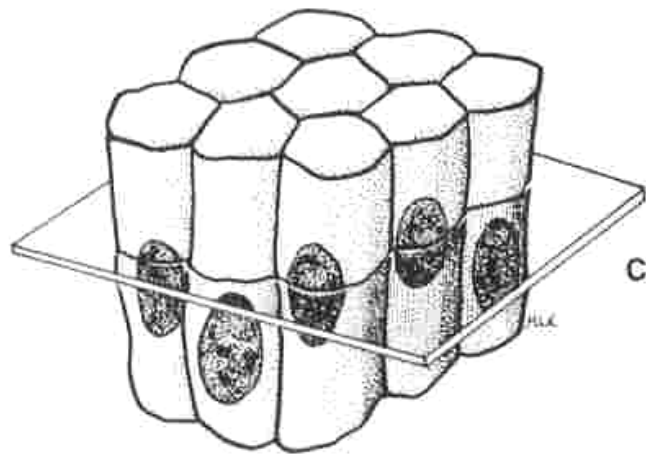
EFEITO DO PLANO DE PLANO DE CORTE NA MORFOLOGIA CELULAR



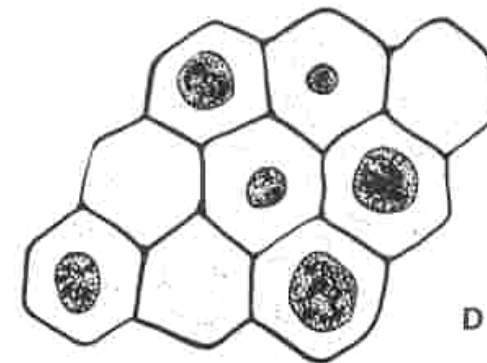
A



B

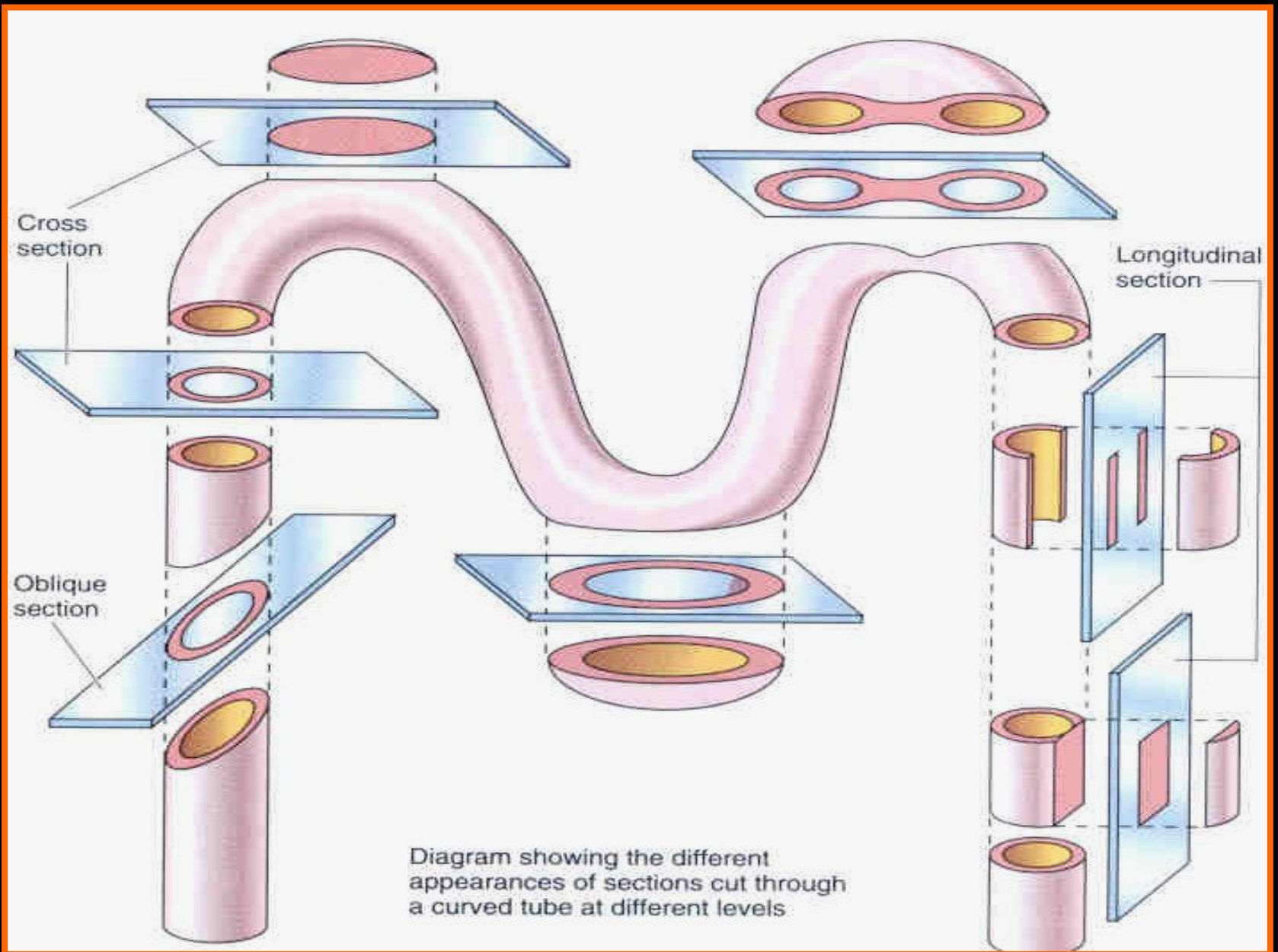


C



D

EFEITO DO PLANO DE PLANO DE CORTE NA MORFOLOGIA TECIDUAL



MICROSCOPIA ELETRÔNICA

MET



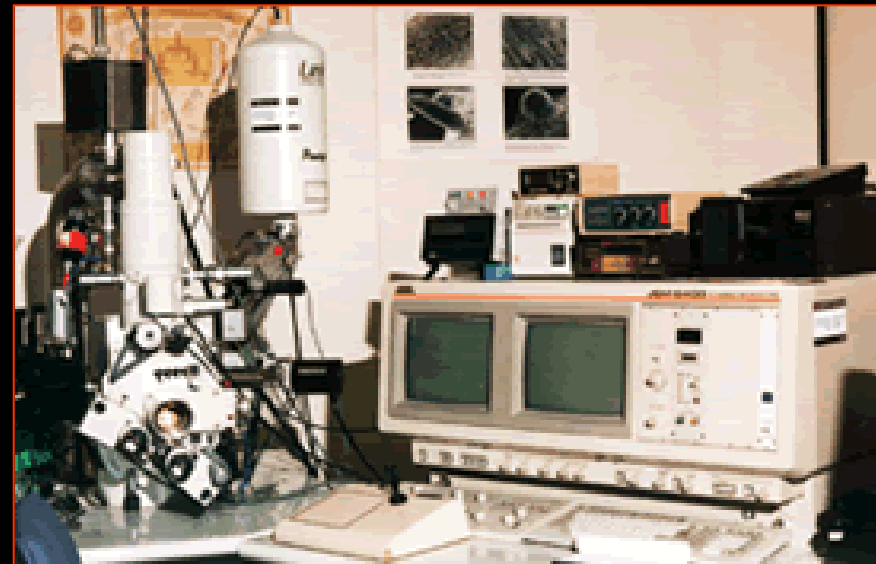
✓ ampliações de até 1 milhão

✓ Anos 30 → **Ernest Ruska**



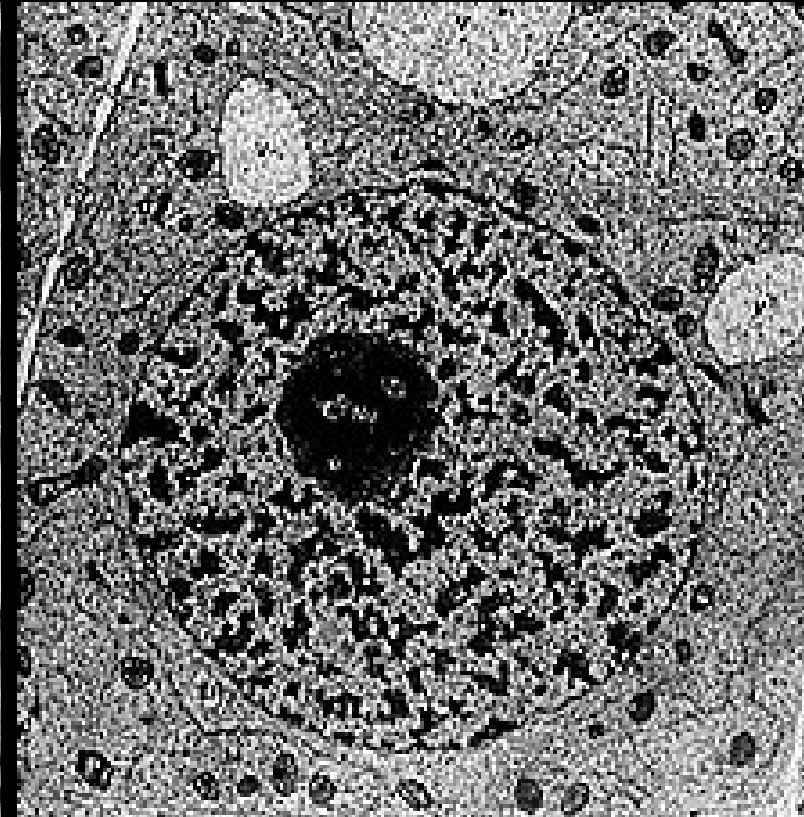
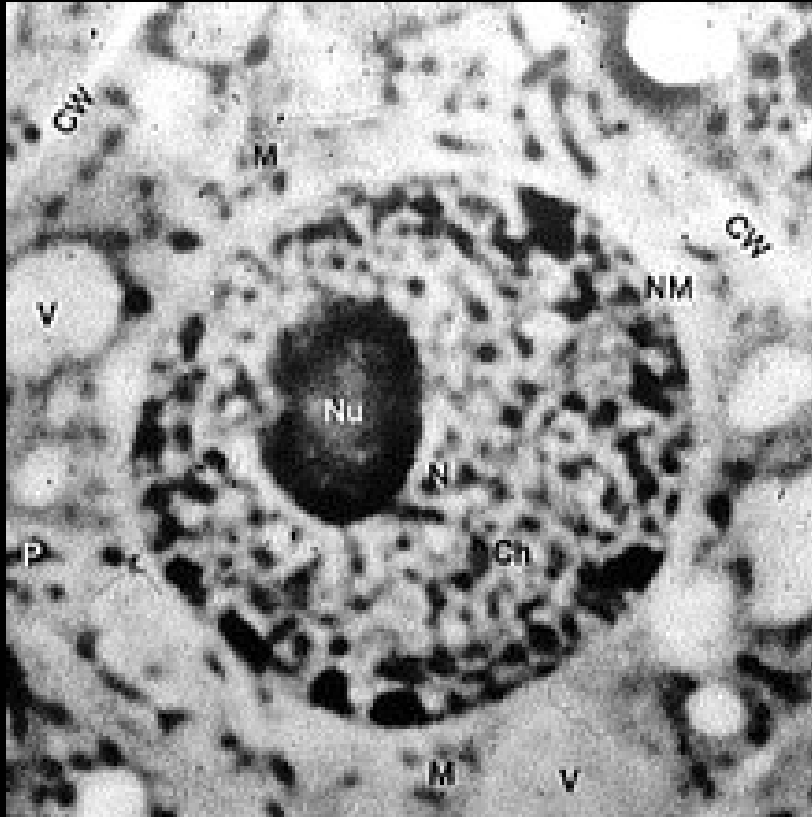
feixes de elétrons e lentes eletromagnéticas
(5 mil/1 bilhão elétron-volts)

~~luz e lentes de vidro~~



MEV

Microscopia de Luz e Microscopia Eletrônica



Questões importantes: Ampliação e Resolução

→ **Microscópio Eletrônico de Transmissão**

→ **Microscópio Eletrônico Varredura**

Convencional

Ambiental



MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

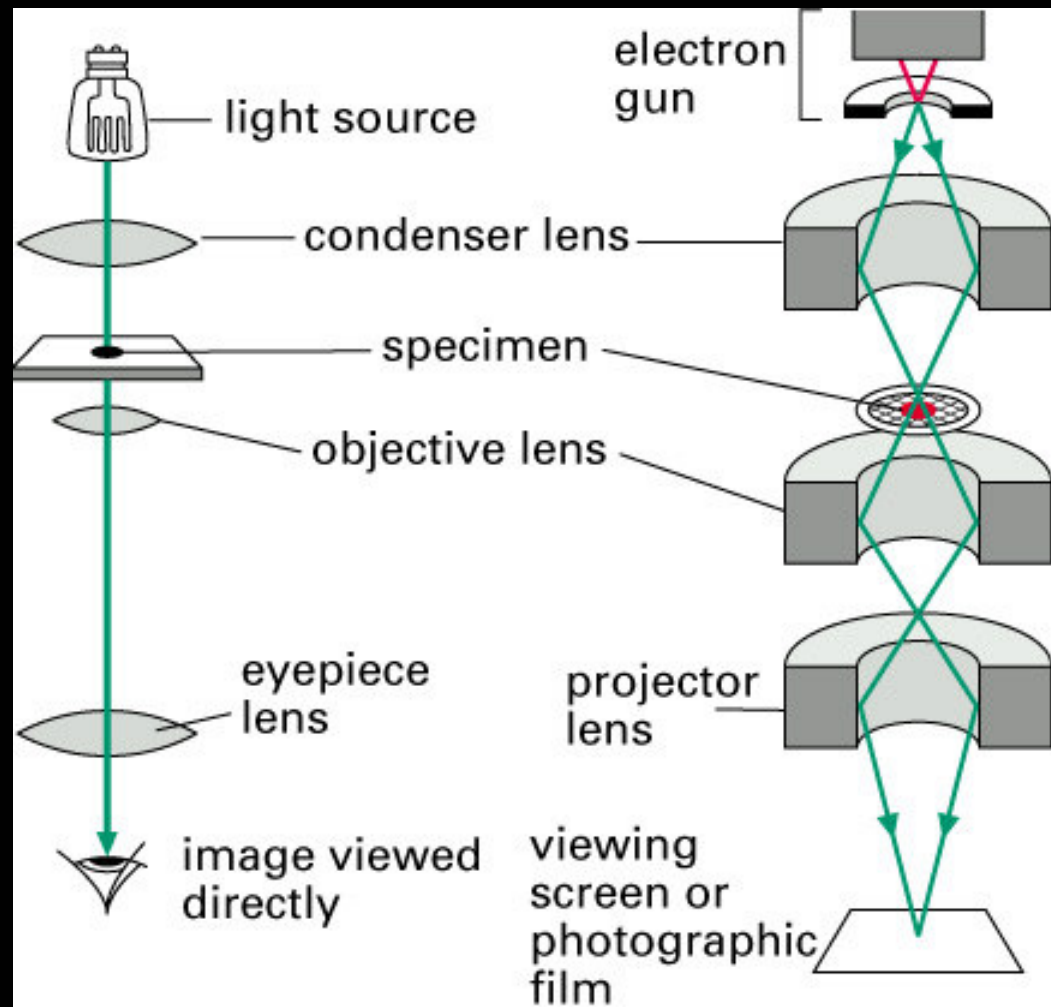
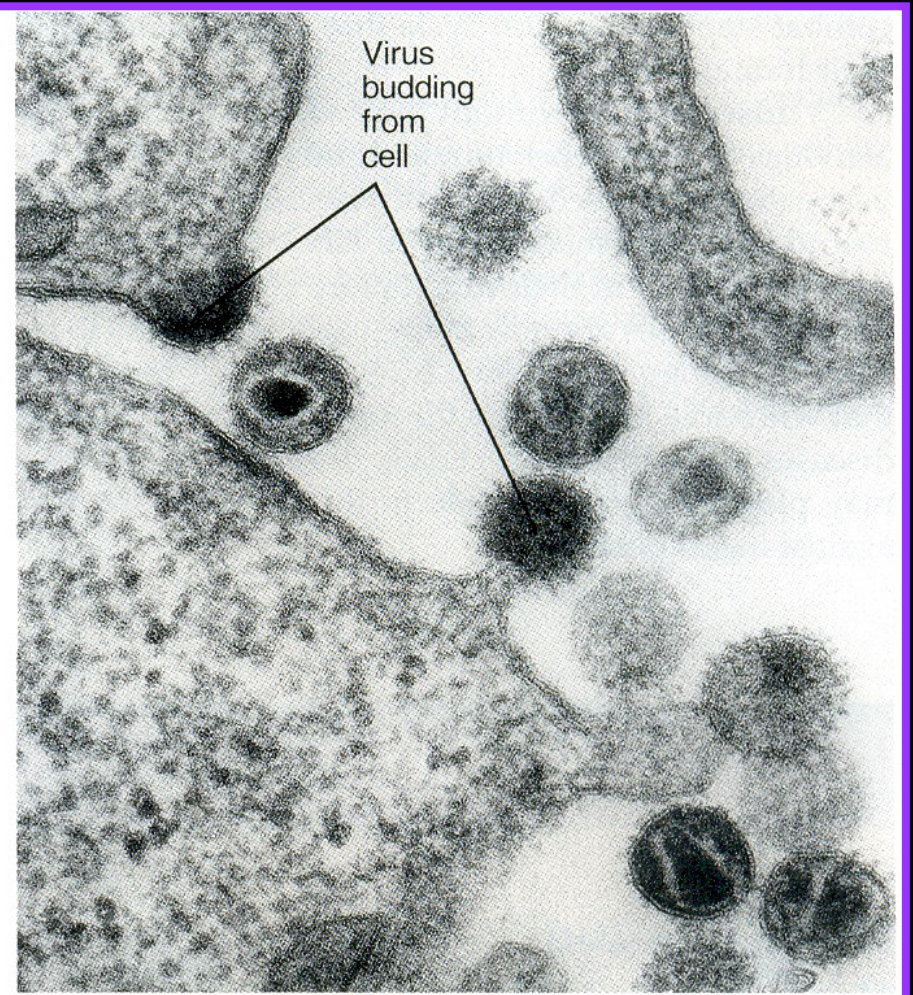
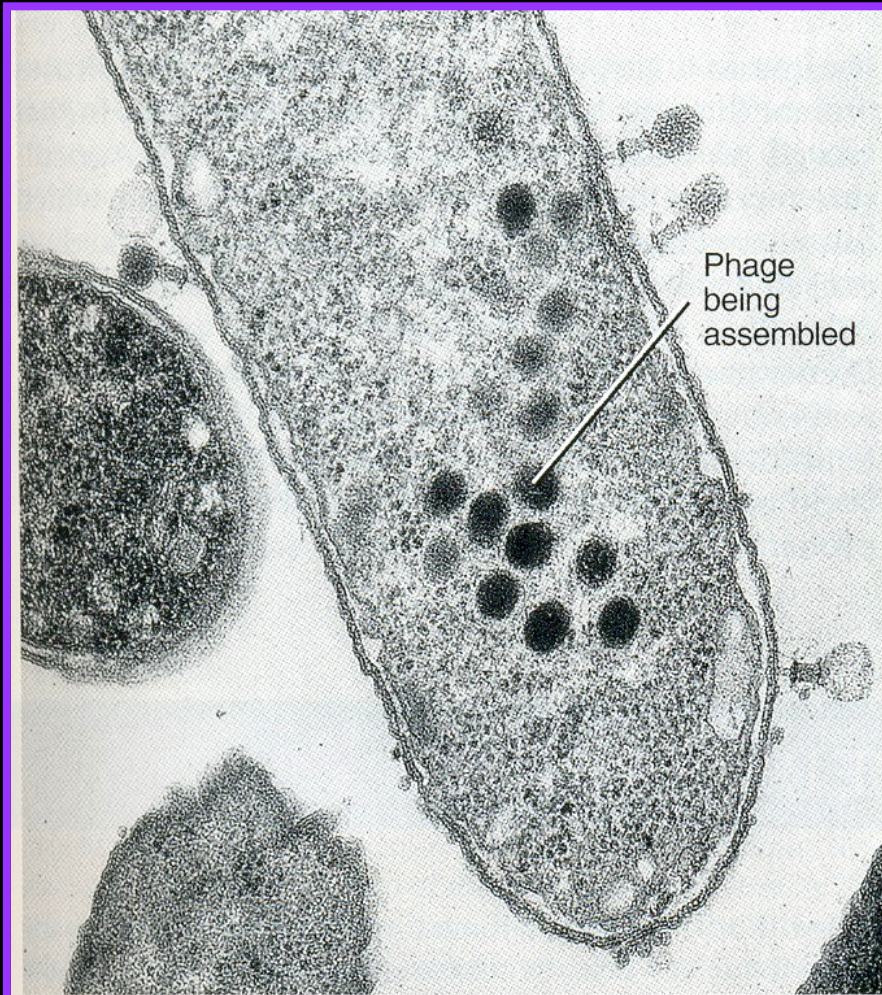
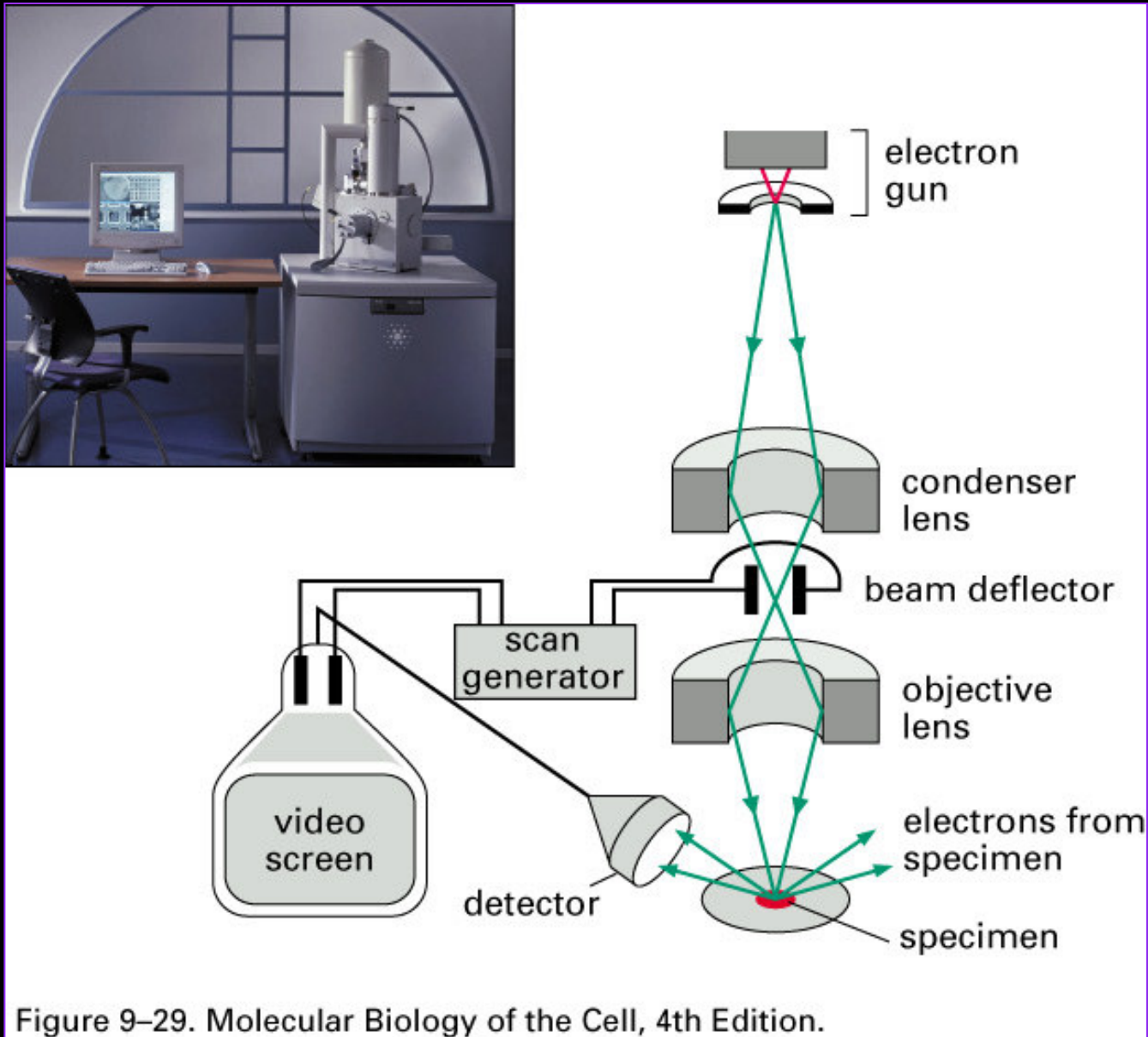


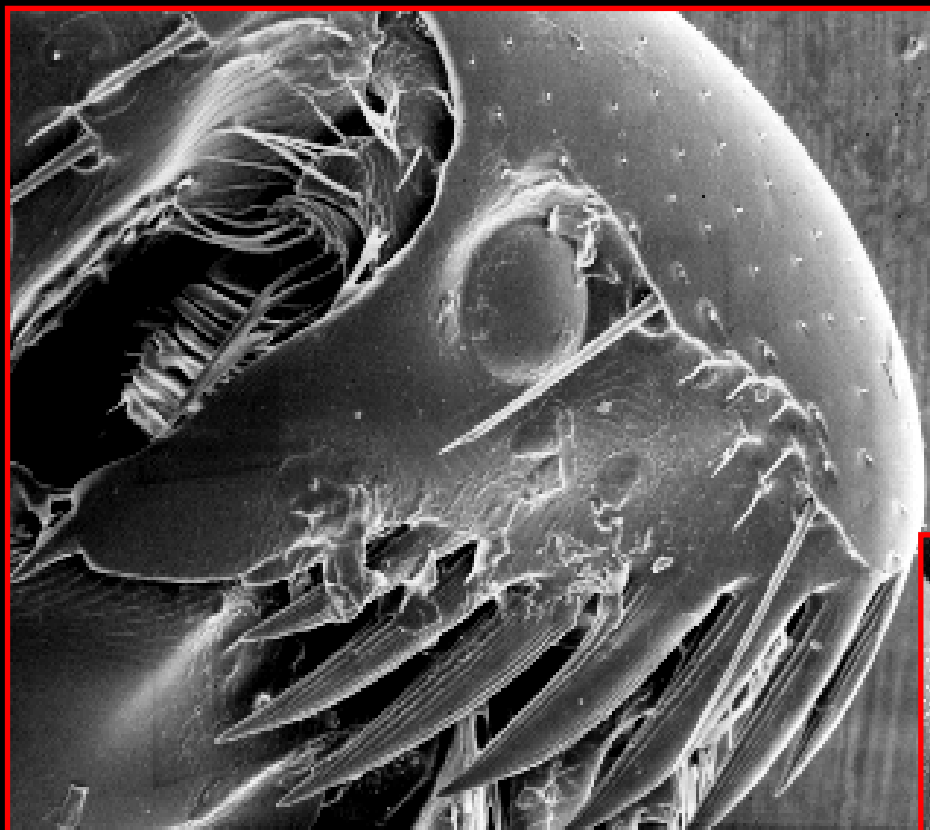
Figure 9-22. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

BACTÉRIA E VÍRUS EM MET



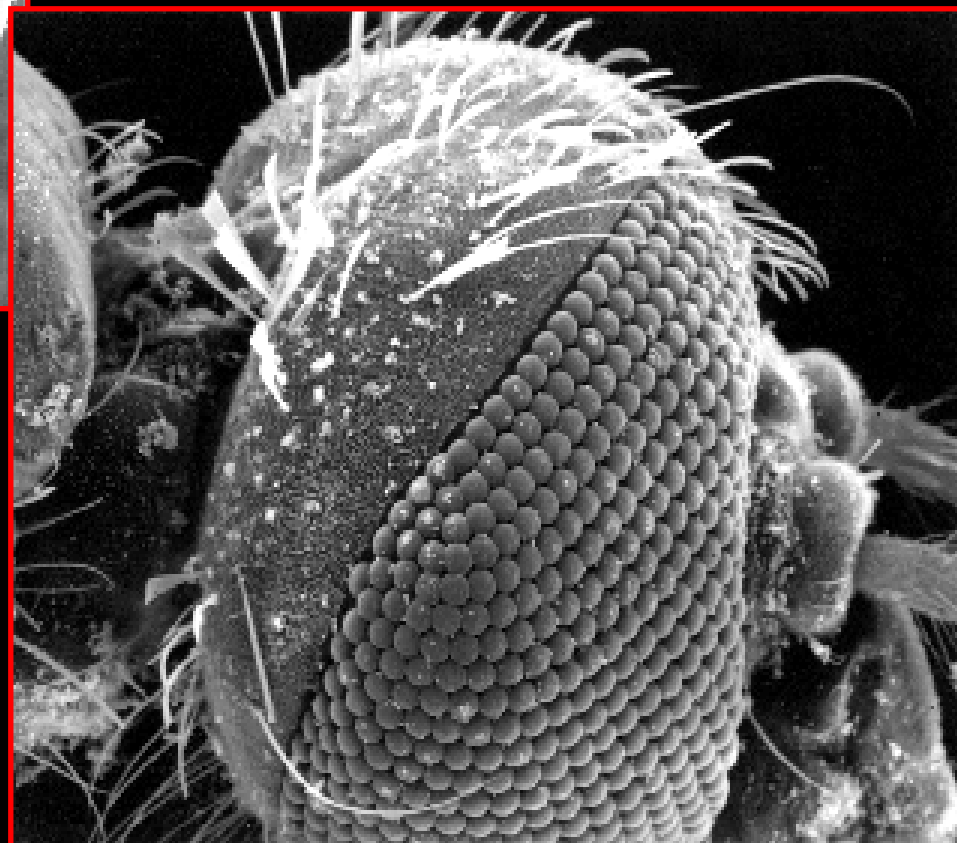
MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA





Pulga

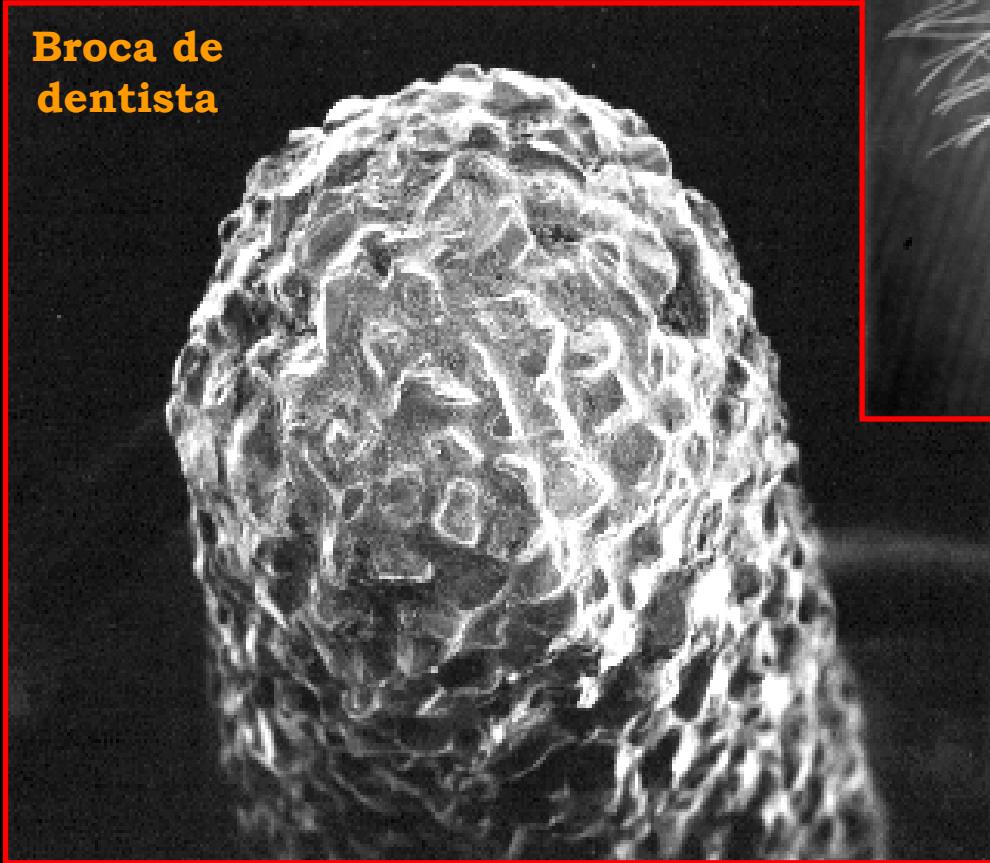
Cabeça de mosquito



**Antena de
mosquito**



**Broca de
dentista**

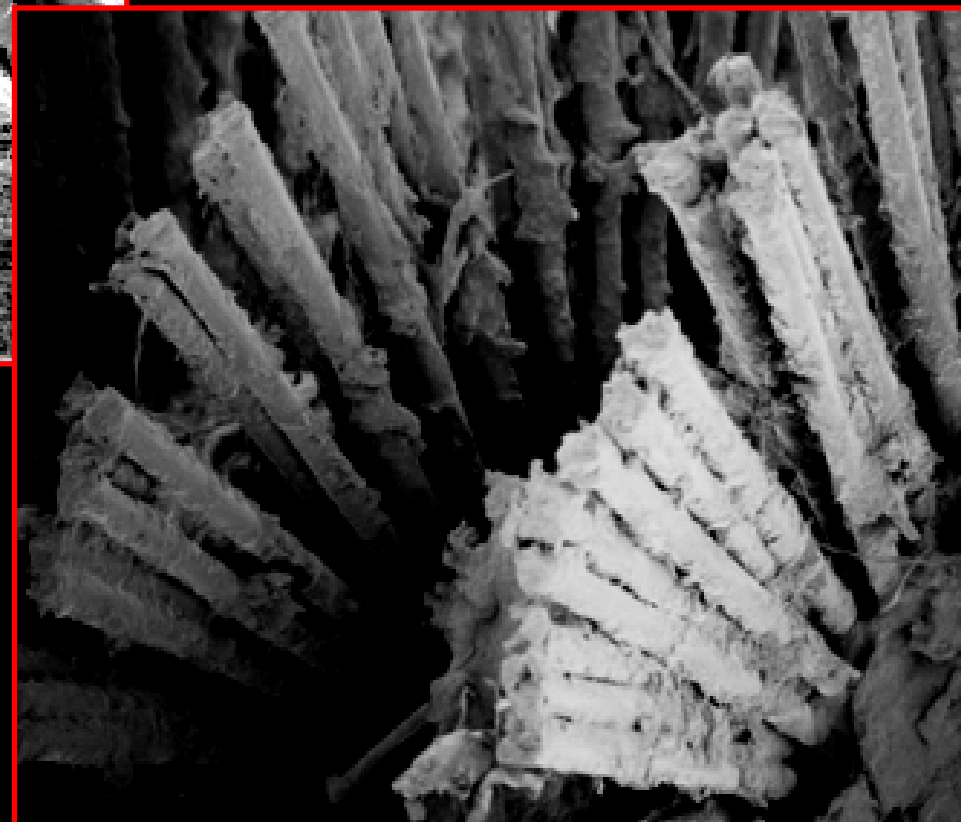


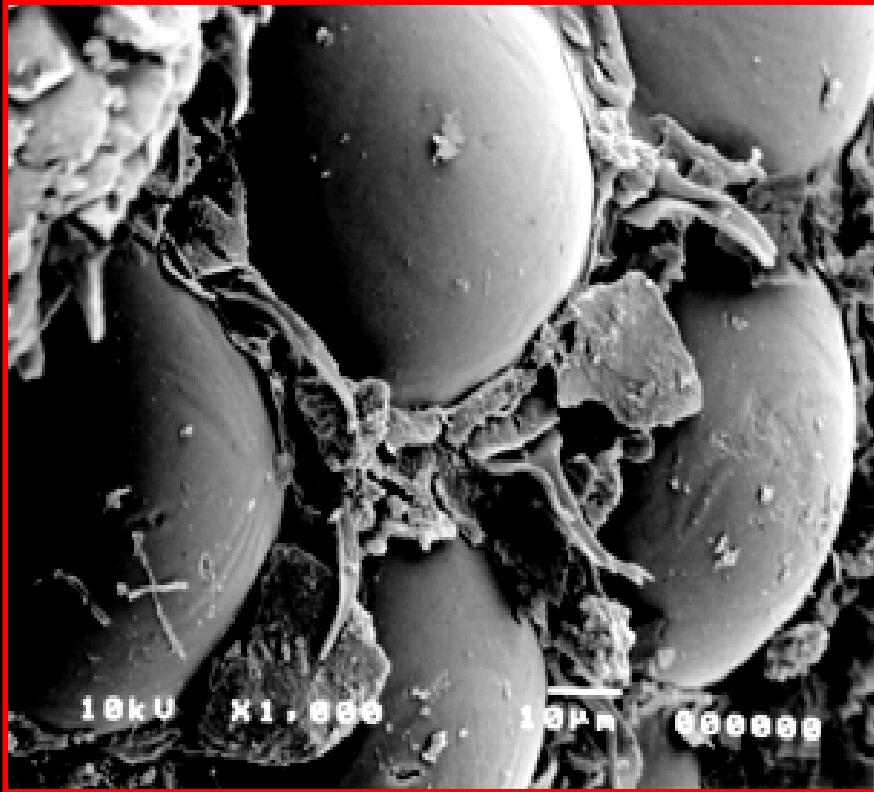
**Clip no
papel**



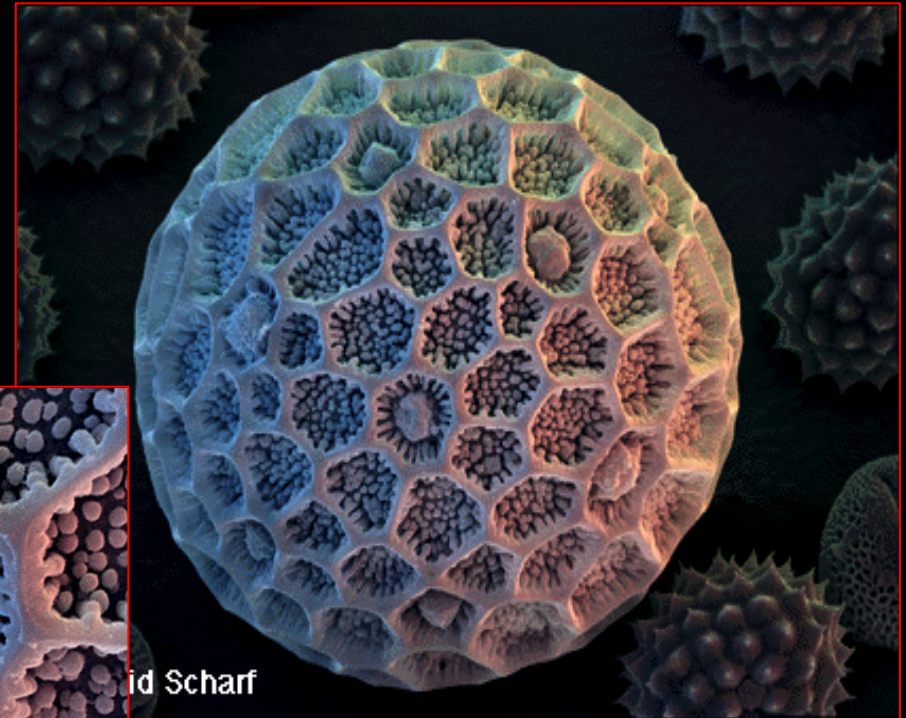
**Escova do
rímel**

Cerdas da escova cobertas
por rímel seco e flocos de
pele

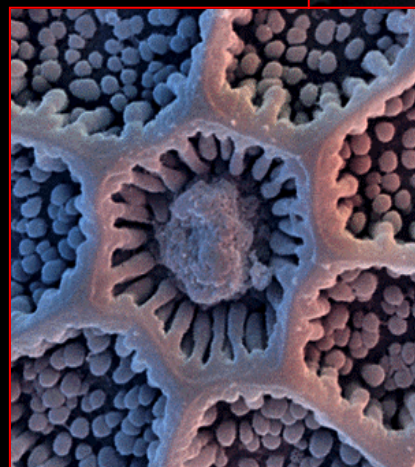


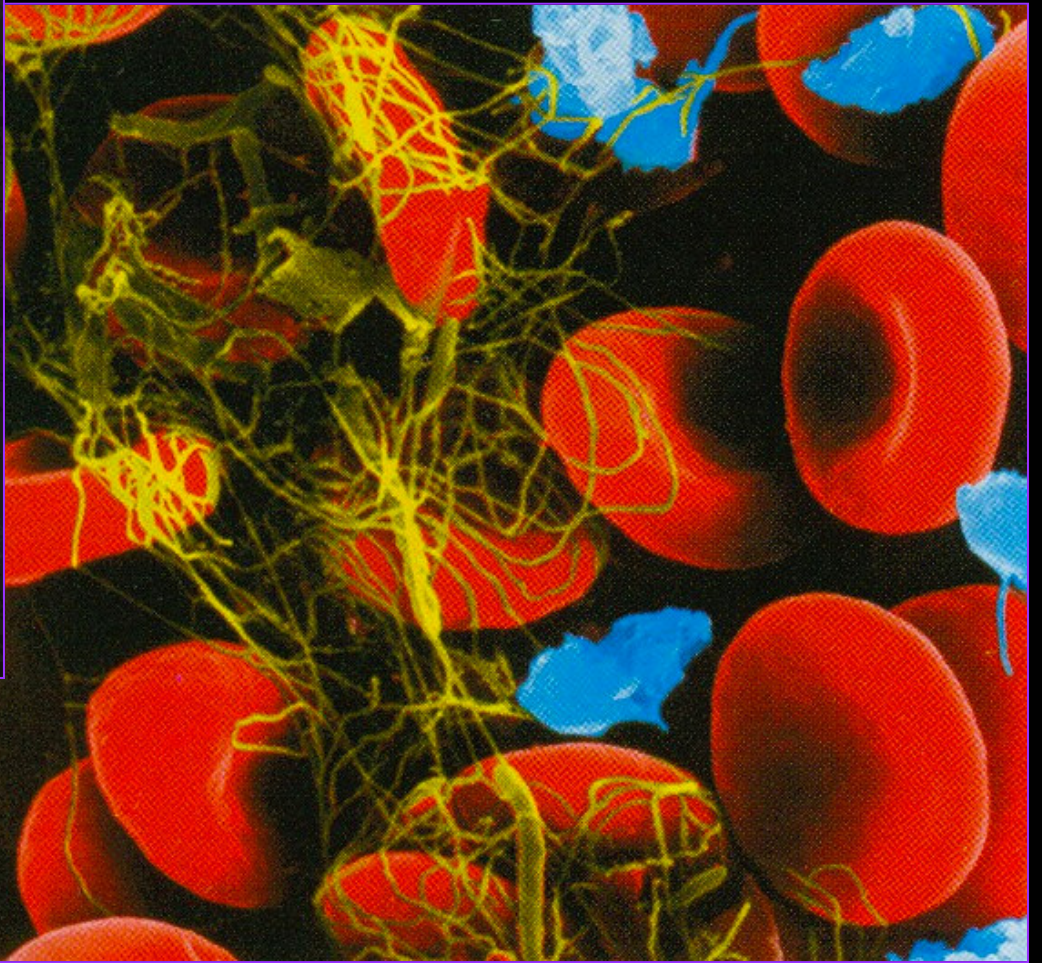
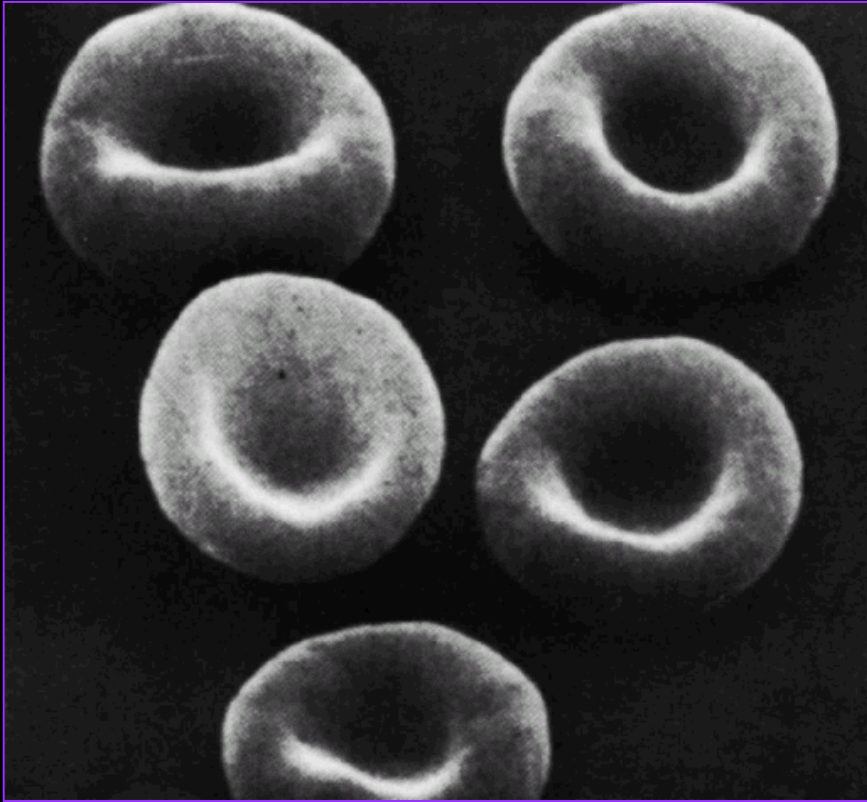


Olhos compostos de inseto



Grão de pólen

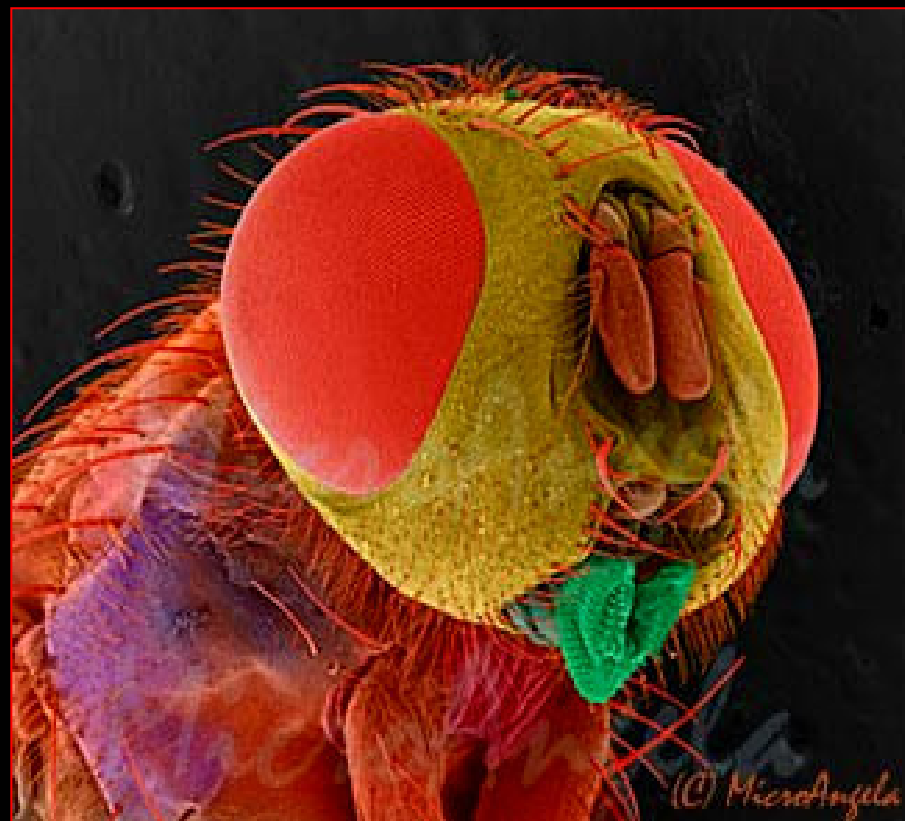




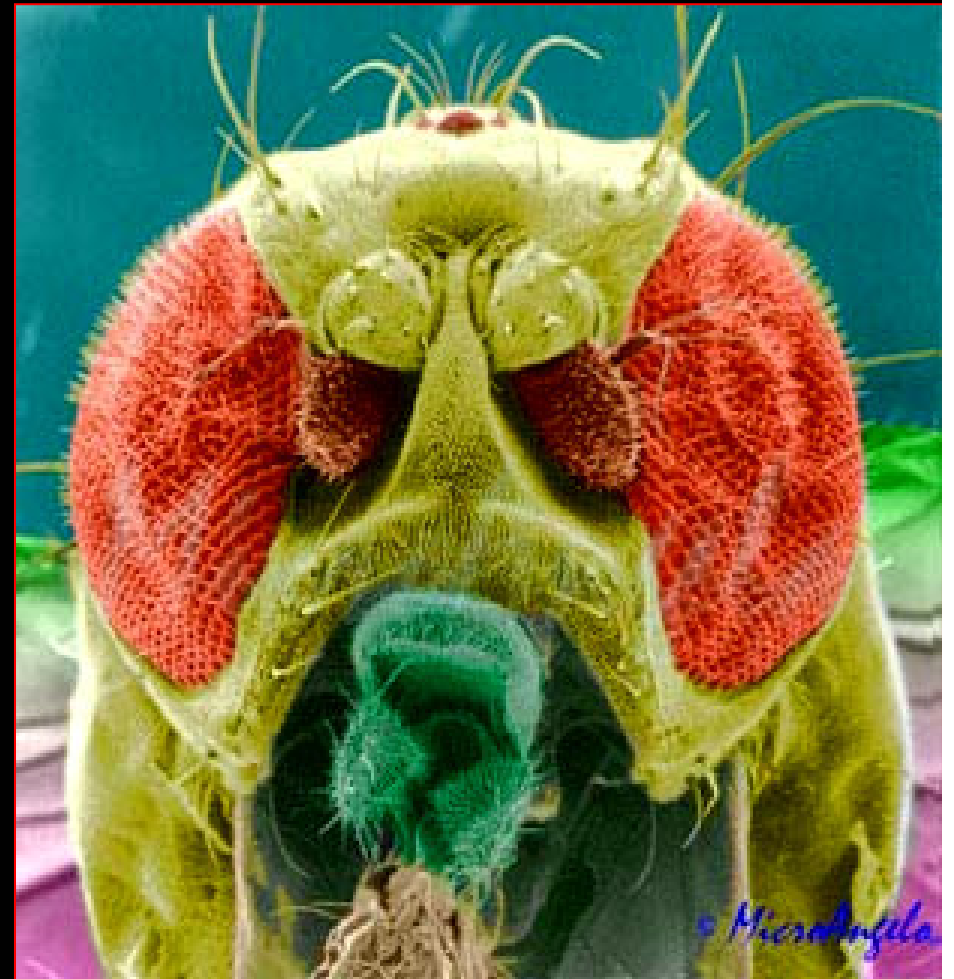


Formiga saúva

Mosca doméstica



Abelha



Mosca da fruta



Borboleta



Asa de borboleta



Centro de Microscopia Eletrônica UNESP - Botucatu



MEV



MET

