

Concurso Público 2015

Padrão Resposta às Questões Discursivas Biólogo / Morfologia - Microscopia Eletrônica

Após recursos

Questão 1

- a) Tipo: Microscopia eletrônica de transmissão.
Técnica: Imunocitoquímica ultraestrutural ou **imunocitoquímica ultraestrutural pós-inclusão**.
- b) 1. Paraformaldeído. Não destrói os sítios antigênicos, ao contrário do glutaraldeído;
2. **De modo geral, o formaldeído nascente (recém preparado a partir do paraformaldeído) é o fixador de escolha, por não destruir os sítios antigênicos da amostra. O glutaraldeído a 2,5%, utilizado no processamento de rotina, pode levar à destruição dos sítios antigênicos. Para melhor preservação do material, pode-se utilizar o glutaraldeído em baixas concentrações (de 0,05% a 1,0%) associado ao paraformaldeído. Pode-se utilizar também em associação, a adição de ácido pícrico e Cloreto de Cálcio.**
- c) Resinas acrílicas, como LR White ou Lowicryl. As resinas acrílicas possuem trama mais aberta, são hidrofílicas e não necessitam de altas temperaturas para polimerização, preservando os sítios antigênicos.

Questão 2

- a) O elétron do feixe primário sofre um grande desvio angular sem perder energia **ou com pequena perda de energia**. Esse tipo de espalhamento pode dar origem a elétrons retroespalhados, que podem ser utilizados para gerar imagens de contraste dependendo do número atômico da composição química da amostra. Detector de elétrons retroespalhados na coluna do microscópio.

- b) O elétron do feixe primário interage com um elétron da amostra, sofrendo perda de energia e um pequeno desvio angular. Nessa interação, o elétron da amostra é ejetado, deixando uma vacância na camada eletrônica, que é preenchida por outro elétron da camada seguinte, liberando energia em diferentes formas, como, por exemplo, emissão de raios X e catodo luminescência. Nesse espalhamento são gerados os elétrons secundários, que são importantes para a formação da imagem topográfica por meio de um detector de elétrons secundários. Também são gerados raios X específicos que podem ser utilizados para identificar diferentes elementos químicos. Detector de elétrons retroespalhados na coluna do microscópio.

Questão 3

- a) A – Microscópio eletrônico de transmissão
B – Microscópio eletrônico de varredura
- b) A – Observação das organelas e estruturas internas na célula
B – Observação da superfície celular
- c) A – Fixação, pós-fixação, desidratação, inclusão, ultramicrotomia (ou seccionamento do material), contrastação
B – Fixação, pós-fixação, desidratação, ponto crítico, metalização

Questão 4

- a) Primeiramente, a amostra deve ser lavada para retirada de detritos, fixada com aldeídos, pós-fixada em tetróxido de ósmio e desidratada em série crescente de etanol. As amostras são secas por meio da técnica de secagem por ponto crítico utilizando CO₂, montadas em suporte específico e cobertas com uma fina camada de um metal (normalmente ouro), para então serem levadas ao microscópio eletrônico de varredura para observação.
- b) Para melhorar a visualização de detalhes finos da superfície da amostra por MEV de alta resolução é importante que as amostras estejam bem preservadas e livres de artefatos que possam mascarar estruturas na superfície, já que a alta resolução possibilita observar maiores detalhes em comparação com a MEV convencional.

Dessa forma, sempre que possível, deve-se evitar na superfície da amostra a metalização com ouro, utilizando metais com menor granulosidade, como o paládio, **platina**, cromo ou uma mistura desses metais com ouro ou substituindo por cobertura de carbono, estabilizando dessa forma a amostra. **Outras medidas como ajustes dos parâmetros do microscópio durante a aquisição das imagens também podem ser utilizadas para melhorar a visualização de detalhes da amostra, aumentando a resolução da imagem. Para isto, pode-se utilizar dos seguintes ajustes: redução da distância de trabalho, utilização de baixas voltagens de aceleração, utilização de menores “spot sizes” e aberturas de menores diâmetros.**

Questão 5

- a) A secagem por ponto crítico se baseia no princípio de que em uma determinada condição de temperatura e pressão, as fases gasosa e líquida de um fluido não coexistam, tornando nula a tensão superficial sobre a amostra. Nessa técnica utiliza-se o CO₂ como fluido, devido ao fato de ter seu ponto crítico em temperatura e pressão conveniente, sem causar danos à amostra.

- b) Após a desidratação completa da amostra com agentes químicos, ela é mantida imersa em um pequeno volume do agente desidratante a 100%, à temperatura ambiente, e em seguida transferida para a câmara pressurizada do aparelho do ponto crítico. Com a câmara selada, injeta-se o CO₂ líquido, fazendo-se várias substituições, até a remoção total do agente desidratante. Em seguida, eleva-se a temperatura da câmara até que a temperatura e pressão crítica do CO₂ sejam alcançadas, em torno de 31°C e 73 atm. Nesse momento, a densidade da fase líquida é reduzida, enquanto aquela da fase gasosa é aumentada, passando, portanto, por um intervalo em que a densidade de moléculas líquidas e moléculas gasosas se igualam, desaparecendo o menisco líquido/gás (nesse intervalo não podem coexistir duas fases, mas haverá um único fluido altamente pressurizado na câmara, e, portanto, a tensão superficial é zero). Em seguida, a câmara é lentamente despressurizada, fazendo-se purgar o gás até a pressão atmosférica, e a amostra é removida da câmara seca.