

Padrão Resposta às Questões Discursivas
Técnico de Laboratório – Biomedicina/Microscopia Eletrônica e Confocal

Questão 1

- a) Microscopia eletrônica de varredura.
- b) 1. Fixação da amostra: glutaraldeído e paraformaldeído;
2. Pós-fixação: tetróxido de ósmio;
3. Desidratação: etanol;
4. Ponto Crítico: CO₂;
5. Montagem no suporte do microscópio eletrônico de varredura;
6. Metalização: ouro, ouro/paládio ou carbono.
- c) 1. A quantidade de água destilada a ser adicionada deveria ser 100 ml;
2. Na capela, a solução deve ser levada em placa agitadora / aquecedora e deve-se aguardar até que a temperatura atinja 60°- 65°C;
3. A substância adicionada para que a solução ficasse transparente deveria ser NaOH (0,5-1 M – 40%).

Questão 2

- a) A e B: São imagens obtidas pela emissão de fluoróforos usadas na dupla marcação;
C: O “merge” ou sobreposição das duas imagens anteriores.
- b) A superposição, *overlap* ou colocalização de *pixels* das imagens A e B.
- c) 1. Abertura do *pin hole*;
2. Ganho;
3. Filtro de densidade;
4. Nível de preto;
5. Nível de Branco.

Questão 3

- a) Microscopia eletrônica de transmissão.
- b) 1. Fixação: glutaraldeído, em tampão cacodilato.
2. Pós-fixação: OsO₄.
3. Desidratação: acetona.
4. Infiltração: acetona; epon.
5. Ultramicrotomia.
6. Contratação: acetato de uralina e citrato de chumbo.
- c) Substâncias:
- 25 ml da resina Poly BED 812 (glycerol Polyglycidyl Ether);
 - 17 ml de NMA (Nadic Methyl Anhydride)
 - 8 ml de DDSA (Dodecanyl Succinic Anhydride).

Procedimentos:

- Misturar as substâncias;
- Agitar na bateadeira por 20 minutos ou um pouco mais, até que a mistura fique homogênea;
- Colocar 32 gotas de DMP-30 e agitar por mais 5 minutos.

Questão 4

- a) O histograma A, pois contém grande quantidade de *pixels* escuros que compõem o fundo da imagem e alguns *pixels* no valor máximo, representando o branco absoluto. O histograma B apresenta frequência de *pixels* claros não condizentes com a imagem, e o C, por outro lado, não tem representação de *pixels* claros.
- b) Pela obtenção de imagens em séries temporais (*time lapse*) e posterior comparação dos histogramas das imagens.
- c) 1. Mensuração do decaimento ou *photobleaching* de região do espécime onde não esteja ocorrendo o decaimento de cálcio, assim a comparação com a mesma medida na região de interesse apontaria a real variação de intensidade;
2. Calibração do *range* de exposição para evitar a perda de sinal emitido pelo fenômeno;
3. Fixação dos parâmetros de aquisição para todos os *frames* (abertura do *pin hole*, ganho, correção do *background* e desativação de controles automáticos capazes por si de provocarem alterações nas aquisições entre os *frames*).
- d) A partir do sequenciamento de diversos *frames* obtidos por *time lapse* da mesma região.