

Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - AC: ZOOLOGIA

## PLANO DE ENSINO

### DISCIPLINA

**NOME :** Microscopia Eletrônica e Ultraestrutura Celular

**NÚMERO DE CRÉDITOS:** 4 C

**CARGA HORÁRIA:** 60 horas

**DISTRIBUIÇÃO:** Teórica : 12 horas    Prática: 20 horas    Teórico-Prática: 20 horas  
Seminários: 8 horas    Outras: \_\_\_ horas

**NÍVEL :** ( X ) Mestrado                      ( ) Obrigatória                      ( ) Área de Concentração  
( X ) Doutorado                      ( X ) Optativa                      ( X ) Domínio Conexo

**DEPARTAMENTO:** Departamento de Morfologia e Centro de Microscopia Eletrônica  
- Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Botucatu.

### DOCENTE(S)

**RESPONSÁVEL :** Elisa Aparecida Gregório

**COLABORADOR(ES) :** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**OBJETIVOS DA DISCIPLINA:** (definição resumida dos objetivos, face ao contexto do Curso de Pós-Graduação)

A disciplina visa fornecer conhecimentos teórico-práticos sobre diferentes metodologias de preparação e análise de materiais biológicos, ao nível de Microscopia Eletrônica, e sua aplicabilidade nas diferentes áreas de pesquisa, especialmente aquelas relacionadas com a Zoologia.

Também tem por meta capacitar o aluno na interpretação da morfologia subcelular, correlacionando-a com o funcionamento celular.

**METODOLOGIA DE ENSINO:** (informar resumidamente como será desenvolvido o programa, especificando os recursos didáticos a serem empregados nas aulas)

O conteúdo será ministrado na forma de aulas teóricas expositivas, quando apresentaremos os fundamentos teóricos dos diferentes equipamentos e metodologias utilizados na Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e de Varredura (MEV).

O aluno, ao longo da disciplina, deverá processar material biológico de interesse, quando, de modo prático, terá acesso às metodologias convencionais e especiais de MET e MEV.

A capacitação do aluno no uso do ME será realizada de maneira teórico-prática, através de acompanhamento individual e com diferentes materiais biológicos.

Os alunos deverão apresentar, na forma de seminários, o resultado de suas análises práticas, com o material fotográfico obtido ao longo da disciplina.

**CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO DA APRENDIZAGEM** (descrever os instrumentos de avaliação que serão utilizados, com os critérios para obtenção do resultado final)

A avaliação será baseada em três parâmetros, de igual importância:

- a) desempenho do aluno, ao longo de suas atividades práticas
- b) demonstração dos resultados obtidos, no seminário
- c) apresentação de relatório final das atividades teórico/práticas.

**CONTEÚDO PROGRAMÁTICO** (descrever os assuntos a serem abordados, com as subdivisões necessárias, apresentando o programa teórico e prático)

Princípios teóricos de funcionamento dos Microscópios Eletrônicos de Transmissão (MET) e de Varredura (MEV), e dos equipamentos auxiliares (ultramicrotomos, metalizadores, secadores em ponto crítico, aparelhos de fazer navalhas de vidro).

Procedimentos de coleta e fixação de material biológico para estudo ultra-estrutural: tipos de fixadores, tampões, e suas aplicações em diferentes tecidos/técnicas especiais.

Procedimentos de preparo convencional de material para análise ao MET: desidratação, embebição e emblocagem. Tipos de resinas e de moldes de inclusão.

Ultramicrotomia: obtenção e coloração de cortes semi-finos e ultra-finos. Princípios teóricos da ultramicrotomia.

Uso dos MET e MEV: treino individual do manejo dos ME e da obtenção de documentação fotográfica.

Interpretação da ultraestrutura celular em fotografias de diferentes células e diretamente, ao analisar materiais biológicos ao ME.

Procedimentos de preparo convencional de material para análise ao MEV: desidratação, secagem e metalização.

Noções básicas teórico-práticas de fotografias: como revelar negativos, obter ampliações fotográficas e montar pranchas.

Técnicas especiais de detecção de moléculas e macromoléculas: citoquímica, enzimologia, imunohistoquímica, uso de traçadores biológicos, detecção de cargas negativas de superfície, coloração negativa, crio-fixação e crio-cortes, crio-fratura, obtenção de réplicas, etc.

Técnicas especiais em MEV: análise de superfícies obtidas por crio-fraturas e/ou digestão, marcações de superfície, preparo de células/frações celulares isoladas.

Reconhecimento de artifícios técnicos e efeitos de cortes.

Correlação entre ultra-estrutura e funcionamento celular.

## **BIBLIOGRAFIA BÁSICA**

- Alberts, B. Bray, D.; Johnson, A., Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K. E Walter, P. Fundamentos de Biologia Celular, 1ª Edição, Editora Artes Médicas Sul Ltda, Porto Alegre, 1999, 630p.
- Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K. E Watson, J.D. Biologia Molecular da Célula. Editora Artes Médicas Sul Ltda, Porto Alegre, 3ª Edição, 1997, 1294p.
- Alberts, B; Bray, D.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K. And Walter, P. Essential Cell Biology. Garland Publishing, Inc. New York, 1998, 603p.
- Bozzola, J.J. & Russell, L.D. Electron microscopy, principles and techniques for biologists. Boston: Jones & Bartlett Publ. 1992.
- Bullock, G.R. The current status of fixation for electron microscopy: a review. J. Microc., 133: 1-19, 1984.
- Cooper, G.M. The Cell: A Molecular Approach. ASM Press, Washington DC., 1997, 673p.
- Cross, P.C. & Mercer, K.L. Cell and Tissue Ultrastructure. A functional perspective. W.H. Frumand and Company, New York, 1993, 419p.
- Dykstra, M.J. Specialized scanning electron microscopy procedures. In: A manual of applied techniques for biological electron microscopy. New York: Plenum Publ. Corp., 1993, 235p.
- Glauert, A.M. Practical methods in electron microscopy. Glauert A.M (ed), North-Holland Publishing Company. 1975, 257p
- Gldsein, J.I., Newbury, D.E., Echlin, P., et al. Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis: a text for biologists, material scientists and geologists. New York: Plenum Press. 1994.
- Griffths, G. Fine structure immunocytochemistry. Heidelberg: Springer Verlag, 1993.
- Hayat, M.A. & Miller, S.E. Negative staining. Hayat M.A (ed), London: McGraw Hill Publ. Comp. 1990, 253p.
- Hayat, M.A. Fixation for electron microscopy. London: Academic Press, 1981, 375p.
- Karp, G. Cell and molecular Biology. John Wiley & Sons, New York, 1999, 816p.
- Kendrew, J. The encyclopedia of Molecular Biologists. Blackwell Science Ltd., Oxford, 1994, 1165p.
- Lewis, P.R. & Knight, D.P. Staining methods for sectioned material . In: Glauert A. M. (ed). Practical Methods in electorn microscopy. Cambridge: North-Holland Publishing Company. 1977, 311p.
- Lodish, H; Baltimore, D.; Berk, A.; Zipursky, S.L.; Matsudaira, P. And Darnell, J. Molecular Cell Biology. Scientific American Books, W. H. Freeman and Company, New York, 3<sup>rd</sup> editon, 1344p.
- Pollack, J.M. & Verndell, I.M. Immunolabelling for electron microscopy. Oxford: Elsevier Science Publ., 1984.
- Rintoul, D. ; Welti, R.; Stonie, B. & Lederman, M. Student companion for molecular cell biology. W.H. Frumand and Company, New York, 1953, 518p.
- Souza, W. Técnicas Básicas de Microscopia Eletrônica Aplicadas às Ciências Biológicas. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica. 1998, 179p.
- Stirling, J.W. Immuno and affinity probes for electron microscopy. A review of labeling and preparation techniques. J. Histochem. Cytochem., 38: 145-57, 1990.
- Tobin, A.J. & Morel, R.E. Asking about the cell. Saunders College Publishing, Orlando, 1997, 968p.

**EMENTA PROGRAMÁTICA** (resumo do conteúdo programático - cerca de 30 palavras organizado de forma que não prejudique a compreensão global do conteúdo, com o uso dos termos técnicos e científicos adequados)

Microscopia Eletrônica de Transmissão e Varredura: princípios de funcionamento, metodologias empregadas e aplicação biológica. Preparo de materiais biológicos para estudo nos diferentes tipos de microscópios eletrônicos. Observação e análise de células/tecidos ao microscópio eletrônico. Técnicas especiais de preparo de materiais para detecção de moléculas e macromoléculas.

Botucatu, 16 de novembro de 1999

---

Assinatura do professor responsável

Aprovado pelo Conselho de Área  
em reunião de \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

Coordenador(a)