

Parte A: Análisis de micrografías electrónicas

Observe que las micrografías utilizadas en clase tienen una barra que indica la escala de las mismas.

1.- Observe las micrografías electrónicas de transmisión, identificando las imágenes de cortes ultrafinos y de réplicas de criofractura. En las imágenes de cortes ultrafinos, identifique estructuras electrón-densas y electrón-lúcidas.

2.- Observe las micrografías electrónicas de barrido, comparándolas con las imágenes de microscopía electrónica de transmisión y de microscopía de luz.

3.- Determine las medidas de longitud en micrografías indicando en cada caso el parámetro que mide (ej. diámetro, largo, espesor, etc.).

a) Plancha N° Estructura:.....

La estructura mide..... μm .

b) Plancha N° Estructura:.....

La estructura mide..... μm .

4.- Indique, según corresponda, qué técnica de preparación de la muestra y qué tipo de microscopio electrónico emplearía para resolver los siguientes problemas:

- Comparar ornamentaciones de granos de polen de diferentes plantas
Microscopio
Técnica de preparación de la muestra
.....
- Visualización de filamentos intermedios en el citoplasma celular
Microscopio
Técnica de preparación de la muestra
.....
- Distribución de poros sobre la superficie de la envoltura nuclear
Microscopio
Técnica de preparación de la muestra
.....

- Visualización de moléculas de ADN aisladas

Microscopio

Técnica de preparación de la muestra

.....

5.- Analice las micrografías de la **plancha 2**. Describa cómo se observa una membrana plasmática a nivel ultraestructural utilizando microscopía electrónica de transmisión pero con dos formas diferentes de preparación de la muestra: convencional (de cortes ultrafinos) y criofractura.

6.- Indique el tipo de microscopía utilizado para obtener cada una de las imágenes observadas en la **plancha 108**.

7.- Observe la imagen **108c**. ¿Qué representan las partículas observadas? ¿En cuál de las caras E o P existe mayor cantidad de partículas por μm^2 ? **Justifique su respuesta.**

8.- Mida el espesor de la membrana plasmática de las microvellosidades en la micrografía **108b**. Preste atención al aspecto trilaminar de la misma.

Parte B: Nociones de imagen digital, medición digital y barras de calibración

1.- En la computadora, abra el programa FIJI¹ y genere una nueva imagen (**File > New > Image**)

En la ventana emergente, cree la nueva imagen con los siguientes parámetros:

Name: Prueba.txt

type: 8bit

Fill with Black

10 pixel width

15 pixel height

Slices = 1

Seleccione la herramienta lápiz y realice un dibujo sobre la imagen.

Si no observa el dibujo, cambie el color del lápiz a blanco (**Edit > Option > Color**) y cambie el color a blanco (Foreground to white).

Luego guarde el archivo como imagen de texto (**File > Save as > Text image**).

Abra en el explorador del sistema operativo el archivo .txt.

¹ Schindelin, J.; Arganda-Carreras, I. & Frise, E. et al. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis, *Nature methods* 9: 676-682. Sitio web: <https://fiji.sc/>

1.- ¿Qué representan los números en el archivo generado luego de este procedimiento?

2.- Seleccione la imagen "Rat_Hippocampal_Neuron.tif" (**File > Open Sample > Neuron**). ¿Qué tipo de microscopía fue utilizado para obtener esta imagen?

3.- Determine tamaño de la imagen (en píxeles) y tamaño del pixel (en micrómetros, **Image > Show info...**)

4.- Despliegue el histograma (**Analyze > Histogram**) para el canal 1 (C1) e indique los valores mínimo y máximo de los píxeles de la imagen.

5.- Modifique la LUT de C1 (**Image > Lookup Tables**). Al cambiar la LUT, ¿se modifica la información de la imagen? Justifique brevemente.

6.- Mida y registre:

i) Área del soma neuronal.....

ii) Largo de prolongación.....

iii) Diámetro nuclear

7.- Agregue a la imagen una barra de calibración (**Analyze > Tools > Scale bar**) con una escala apropiada y guarde el archivo EN LA CARPETA CORRESPONDIENTE A **SU GRUPO** con la primera letra de su nombre de pila y su apellido (ej. Bruce Alberts guardará el archivo como balberts.tif).

8.- ¿Por qué considera usted que es imprescindible que al momento de presentar sus resultados sus micrografías posean una barra de calibración?

9.- Abra la imagen "Fly Brain.tif" (**File > Open Sample > Fly Brain**). ¿Con qué tipo de microscopía fue obtenida esta imagen?

10.- Separe los diferentes canales que componen el archivo (**Image > Color > Split Channels**). Desplace la barra inferior de cada canal para moverse a través de las diferentes imágenes que componen el eje Z de la muestra. ¿Por qué el canal “blue” solo muestra una imagen en negro?

11.- Vuelva a unir los canales “red” y “green”. (**Image > Color > Merge Channels > tick Create Composite > Ok**).

12.- Genere una imagen en 3 dimensiones con la imagen resultante (**Image > Stacks > 3D Project > Ok**).

Parte C: Análisis y discusión de resultados experimentales publicados en artículos científicos.

El material será proporcionado por el docente en la clase práctica
