

|   |   |                                  |                  |
|---|---|----------------------------------|------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN TÉCNICA</b>  | <b>Código</b><br>IT 4130724 6006 | <b>Ed.</b><br>02 |
|   | <b>MANEJO BÁSICO DEL MICROSCOPIO<br/>ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN JEM1010</b> | Fecha: 13/11/2017                |                  |
|   | Página 1 de 8   |                                  |                  |

## INDICE

|          |  |          |
|----------|--|----------|
| <b>1</b> | <b>OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN.....</b>     | <b>2</b> |
| <b>2</b> | <b>DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA.....</b>      | <b>2</b> |
| <b>3</b> | <b>DESARROLLO.....</b>                       | <b>2</b> |
| 3.1      | RESOLUCIÓN Y CAMPO DE APLICACIÓN.....        | 2        |
| 3.2      | USO Y LIMITACIONES.....                      | 2        |
| 3.3      | MANEJO BÁSICO DEL EQUIPO.....                | 3        |
| 3.4      | REQUISITOS DE CUALIFICACIÓN DE USUARIOS..... | 7        |
| 3.5      | GESTIÓN DEL EQUIPO (POR TÉCNICO).....        | 8        |
| <b>4</b> | <b>CONTROL DE CAMBIOS .....</b>              | <b>8</b> |

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| Elaborado: Dra. M.L. García | Revisado y Aprobado: Prof. J.M. González |
|                             |  |
| Fecha: 13/11/2017           | Fecha: 13/11/2017                        |
| Técnico responsable         | Director/a CNME                          |

|   |   |                                  |                  |
|---|---|----------------------------------|------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN TÉCNICA</b>  | <b>Código</b><br>IT 4130724 6006 | <b>Ed.</b><br>02 |
|   | <b>MANEJO BÁSICO DEL MICROSCOPIO<br/>ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN JEM1010</b> | Fecha: 13/11/2017                |                  |
|   | Página 2 de 8   |                                  |                  |

## 1 OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Se detallan las instrucciones para el manejo del equipo JEM 1010.

### 1.1. Definiciones

Según el Documento *Glosario de términos y definiciones* del SIGCAL.

## 2 DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA

- Documento Glosario de términos y definiciones del SIGCAL.
- Manual de equipo

## 3 DESARROLLO

### 3.1 Resolución y campo de aplicación

| TIPO        | RESOLUCIÓN<br>(nm) | MATERIALES | CIENCIAS DE LA VIDA | CIENCIAS DE LA TIERRA | PATRIMONIO |
|-------------|--------------------|------------|---------------------|-----------------------|------------|
| Transmisión | 0.35               | SI         | SI                  | SI                    | SI         |

### 3.2 Uso y limitaciones

|  |  |
|--|--|
| <b>Uso</b>                                 | Estudio de la ultraestructura celular en secciones ultrafinas (50-70nm) obtenidas con un ultramicrotomo. En este equipo se puede llevar a cabo el estudio de virus, bacterias y proteínas mediante técnicas de tinción negativas. Asimismo, es posible la observación de nanopartículas. |
| <b>TIPO DE ANÁLISIS</b>                    | Transmisión para el análisis de la ultraestructura celular y nanopartículas.   |
| <b>TÉCNICAS ASOCIADAS</b>                  |  |
| <b>PRINCIPIO DEL MÉTODO</b>                | Imagen de transmisión derivada de la dispersión de electrones.   |
| <b>DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO</b>              | Microscopio de Transmisión JEM1010. Está dotado de un cañón de electrones de cátodo termoiónico con filamento de tungsteno, dotado de una cámara CCD GATAN Erlangshen ES 500W.   |
| <b>TIPO DE MUESTRA COMPATIBLE</b>          | Muestras y tejidos biológicos específicamente procesadas para su seccionamiento en un ultramicrotomo.<br><br>Suspensiones de virus bacterias y proteínas<br><br>Nanopartículas.<br><br>Es incompatible con muestras que contengan agua u otro tipo de disolvente.                        |
| <b>PREPARACIÓN NECESARIA DE LA MUESTRA</b> | Inclusión de tejido biológico en resinas para su posterior seccionamiento en un ultramicrotomo.<br><br>Tinción negativa.   |

|   |   |                                  |                  |
|---|---|----------------------------------|------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN TÉCNICA</b>  | <b>Código</b><br>IT 4130724 6006 | <b>Ed.</b><br>02 |
|   | <b>MANEJO BÁSICO DEL MICROSCOPIO<br/>ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN JEM1010</b> | Fecha: 13/11/2017                |                  |
|   |   | Página 3 de 8                    |                  |

Aplicación directa de muestras en la rejilla, nanopartículas o suspensiones de virus, bacterias o proteínas que no requieran tinción.

### 3.3 Manejo básico del equipo

#### 1. Encendido del equipo.

Girar la llave de arranque hasta posición start.



|   |   |                                  |                  |
|---|---|----------------------------------|------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN TÉCNICA</b>  | <b>Código</b><br>IT 4130724 6006 | <b>Ed.</b><br>02 |
|   | <b>MANEJO BÁSICO DEL MICROSCOPIO<br/>ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN JEM1010</b> | Fecha: 13/11/2017                |                  |
|   | Página 4 de 8   |                                  |                  |

2. Asegurarse de que las condiciones de vacío son adecuadas. En este caso, se enciende en el botón HT la luz verde, lo que indicaría que está preparado para subir la tensión.
3. Subir la tensión a 80 KV. Para ello en el teclado del ordenador del microscopio teclear el siguiente comando:

3.1 loadht

3.2 run

3.3HT inicial 30

3.4 HT final 70

3.5 STEP 1 Tiempo 5

Presionar el botón HT

Esperar a que la tensión suba a 70 Kv

Introducir el nuevo comando para terminar de subir la tensión a 80 Kv

loadht

run

HT inicial 70


Ht final 80

STEP 1 time 5



4.Colocación de las rejillas en el portamuestras. Se pueden colocar 2 rejillas simultáneamente La posición 1 es la más cercana a la punta. Se levanta la pestaña, se introduce la rejilla y se cierra la pestaña.




|   |   |                                  |                  |
|---|---|----------------------------------|------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN TÉCNICA</b>  | <b>Código</b><br>IT 4130724 6006 | <b>Ed.</b><br>02 |
|   | <b>MANEJO BÁSICO DEL MICROSCOPIO<br/>ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN JEM1010</b> | Fecha: 13/11/2017                |                  |
|   |   | Página 5 de 8                    |                  |



#### 5. Introducción de la muestra en el microscopio

Alinear el pin del portamuestras con la guía en el goniómetro, empujar hasta que entra. Entonces se sigue presionando hasta que en la lámpara al lado del botón gonio light se enciende una luz verde, lo que indica que comienzan los ciclos de vacío. Hay que esperar al menos 3 ciclos de vacío, (la luz verde debe encenderse y apagarse al menos 3 veces antes de la inserción de la muestra.). Después del tercer ciclo de vacío y después de apagarse la luz verde, girar el portamuestras en el sentido de las agujas del reloj, parar cuando se encuentre un tope e insertarlo lentamente.

|   |   |                                  |                  |
|---|---|----------------------------------|------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN TÉCNICA</b>  | <b>Código</b><br>IT 4130724 6006 | <b>Ed.</b><br>02 |
|   | <b>MANEJO BÁSICO DEL MICROSCOPIO<br/>ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN JEM1010</b> | Fecha: 13/11/2017                |                  |
|   | Página 6 de 8   |                                  |                  |

6. Generación del haz de electrones.

7. Chequear que la HT está lista.

8. Encender el filamento presionando el botón FIL. La luz debe estar verde para indicar que está listo para emitir electrones. Verificar que una vez encendido el filamento la lectura del BEAM CURRENT a 80 KV está entre 53-63  $\mu$ A

9. Alineamiento del sistema de iluminación  
Centrar el haz de electrones con los botones shift x y shift y

10. Introducir apertura de condensadora y centrarla

11. Introducir apertura de objetivo y centrarla.

12. Corregir astigmatismo de lente condensadora. Apretar botón COND STIG. Corregir con DEF X y DEF Y.

13. Enfocar con el botón OBJ FOCUS.

14. Corregir astigmatismo de la lente objetivo. Presionar botón OBJ STIG y corregir con DEF X y DEF Y si fuera necesario. Esto se puede realizar obteniendo la imagen en la cámara CCD.


15. Obtención de la imagen con la cámara CCD usando el programa GATAN Digital Micrograph.



16. Cierre de la sesión

16.1 Se apaga el filamento apretando el botón FIL.

16.2 Extracción del portamuestras. Se extrae el portamuestras lentamente hasta que llegue al tope. Se gira en sentido contrario a las agujas del reloj hasta llegar a un tope para finalmente extraer el portamuestras.

|   |   |                                  |                  |
|---|---|----------------------------------|------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN TÉCNICA</b>  | <b>Código</b><br>IT 4130724 6006 | <b>Ed.</b><br>02 |
|   | <b>MANEJO BÁSICO DEL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN JEM1010</b> | Fecha: 13/11/2017                |                  |
|   | Página 7 de 8   |                                  |                  |

16.3 Se apaga la tensión apretando el botón HT

#### 17. Recuperación de datos

Los datos obtenidos que previamente se han grabado en el servidor pueden ser recuperados<sup>1</sup> con el nombre de usuario y la clave del usuario desde la página web del centro.

El equipo no se apaga entre sesiones.

Apagado del equipo

**Este equipo sólo lo apaga el Técnico responsable**

### 3.4 Requisitos de cualificación de Usuarios

|   |  |
|---|--|
| <b>FORMACIÓN PREVIA<sup>2</sup></b>                           | Conocimiento de la IT.   |
| <b>FORMACIÓN COMPLEMENTARIA<sup>3</sup></b>                   | Entrenamiento a cargo de un técnico del Centro.                          |
| <b>EXPERIENCIA<sup>4</sup></b>                                | No requerida.  |
| <b>SESIONES ACOMPAÑANDO A TÉCNICO<sup>5</sup></b>             | ≥5 en un máximo de tres meses, según criterio del técnico.               |
| <b>TIEMPO MÁXIMO ENTRE SESIONES CON TÉCNICO Y SUPERVISADO</b> | NA. Debe ser proceso continuo.   |
| <b>SESIONES SUPERVISADO POR TÉCNICO<sup>6</sup></b>           | ≥5 en un máximo de tres meses, con visto bueno del técnico que supervisa |

<sup>1</sup> El tiempo máximo que se mantienen en el servidor los datos tras la finalización de la sesión se indica en las Normas de funcionamiento del CNME y en las condiciones de servicio al solicitar cita en la Web.

<sup>2</sup> Conocimientos previos para poder manejar el equipo.

<sup>3</sup> Conocimientos o formación complementaria que debe demostrar el usuario en proceso de cualificación antes de empezar a manejar el equipo por sí mismo con o sin supervisión directa.

<sup>4</sup> Experiencia previa en el manejo de este equipo u otro similar

<sup>5</sup> Número mínimo de sesiones que el usuario debe acompañar a un técnico antes de poder comenzar a utilizar el equipo por sí mismo, acompañado de un técnico del CNME que supervise el manejo que realiza el usuario en proceso de cualificación del equipo.

<sup>6</sup> Número mínimo de sesiones que el usuario debe utilizar el equipo por sí mismo, bajo supervisión directa de un técnico del CNME que verifique que el manejo que realiza el usuario es correcto. El número de sesiones se podrá ajustar a juicio del técnico del CNME que supervisa.

|   |   |                                  |                  |
|---|---|----------------------------------|------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN TÉCNICA</b>  | <b>Código</b><br>IT 4130724 6006 | <b>Ed.</b><br>02 |
|   | <b>MANEJO BÁSICO DEL MICROSCOPIO<br/>ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN JEM1010</b> | Fecha: 13/11/2017                |                  |
|   |   | Página 8 de 8                    |                  |

### **3.5 Gestión del equipo (por Técnico)**

#### **3.5.1 Apagado del equipo**

Girar la llave hacia off.

#### **3.5.2 Mantenimiento del equipo**

Mantenimiento preventivo general anual (según contrato de mantenimiento).

#### **3.5.3 Cambio de filamento**

Se realizará por personal técnico especializado.

#### **3.5.4 Verificación del equipo**

Mantiene el vacío (con el cuadro de luces) y emite el filamento.

## **4 CONTROL DE CAMBIOS**

| <b>EDICIÓN ANTERIOR</b> | <b>FECHA EDICIÓN ANTERIOR</b> | <b>NATURALEZA DE LOS CAMBIOS RESPECTO A LA EDICIÓN ANTERIOR</b>   |
|-------------------------|-------------------------------|---|
| 01                      | 06/11/20107                   | Se modifican parámetros de control y se adjuntan nuevas imágenes. |

FIN DEL DOCUMENTO