

### Materiais

O.C.T.  
O.C.T. trash  
Lupa, pinças e papel-Toalha;  
Material a ser emblocado;  
Recipiente de emblocamento;  
Gelo seco;  
Pincéis;  
Navalha;  
Caixa de lâminhas;  
Lâminas  
Poli-lisina.

### Procedimentos

#### Pré-utilização - Preparo do bloco de O.C.T. e lâmina

Prepara lâminas com poli-lisina (50 µL/lâmina) mantendo-a em toda a superfície da lâmina – marcar na lâmina o lado com poli-lisina.  
Separar material previamente fixado;  
Pegar gelo seco (freezer do anatômico – Subsolo do bloco F - ICB), pinça, recipiente de emblocamento e O.C.T..  
Coloque O.C.T. no recipiente e depois a amostra a ser cortada de modo a ficar totalmente imersa no O.C.T.  
Utilize a lupa para manter o material na posição ideal para corte.  
Coloque o recipiente no isopor com gelo seco de modo a não modificar a orientação do material a ser cortado – espere o O.C.T. endurecer, ou seja, adquirir com aparência branca.  
Leve as amostras emblocadas, O.C.T., navalha, lâminas com poli-lisina, caixa de lâminas e pincéis para o criostato.

#### Utilização do criostato:

Caso o criostato esteja em temperaturas maiores que -20 graus, ajuste a essa temperatura (temperatura ideal para corte) e espere uma hora para a estabilização da mesma.  
  
Nesse mesmo momento, mantenha a navalha e os pincéis dentro do criostato para deixá-los a -20 durante o procedimento.  
  
Após o resfriamento, ligue a luz do criostato.

Obs.: execute todos os ajustes com o manipulador travado.

A: manipulador travado.  
B: manipulador destravado.

Ajuste a espessura dos cortes.

Obs.: em cortes de olho, cabeça de embrião ou retina utilize 10 µm.

Passa O.C.T. (recipiente O.C.T. trash) no suporte para o material emblocado e cole esse material. Depois encaixe-o no criostato.

A: controle de encaixe do suporte.  
B: material emblocado no criostato, colado no suporte.

Encaixe a navalha gelada no seu suporte e regule a orientação da amostra em relação à navalha de modo a deixá-la perpendicular.

A: suporte da navalha  
B: material a ser cortado.

### Corte:

1. Destrave o manipululo

2. Aproxime ou afaste o corte utilizando os botões do lado esquerdo.

3. Quando o bloco estiver bem próximo a navalha, comece a utilizar o manipululo. A cada vez que ele rodar no sentido horário, o bloco se aproximará da navalha na distância escolhida anteriormente (no exemplo dos olhos, 12 µm).

4. Quando o material a ser cortado chegar à região a ser recolhida, coloque o anti-roller na posição de recolhimento.

5. A imagem a direita ilustra o anti-roller (a) na posição de recolhimento.

6. Gire o manipululo para obter o corte (se fizer isso de forma errada, o corte sairá mais espesso que o pretendido), trave o manipululo e retire o anti-roller da posição de recolhimento.

7. Utilize o pincel para deixar o corte liso e coloque a lâmina do lado com poli-lisina em cima do corte, recolhendo-o.

Obs.: não deixe a lâmina dentro do criostato, pois é a diferença de temperatura que faz o corte 'cole' na mesma.

Esquema de realização de corte em criostato segundo os procedimentos pré-estabelecidos do texto.

13. Retire o máximo de cortes possíveis, tentando deixá-los próximos e centralizados na lâmina.

Quando terminar de retirar os cortes do bloco

14. Trave o manipululo.

15. Retire o restante da amostra com O.C.T. do suporte e deposite no recipiente O.C.T. trash.

16. Retire a navalha e guarde-a em uma caixa de tip colando-a com um pedaço de fita (isso evita que ela bata na parede da caixa e perca a afiação).

17. Limpe o criostato com álcool 70% não deixando nenhum rastro de O.C.T. no equipamento.

18. Deixe a alavanca toda para traz apertando o botão da esquerda (quadrado vermelho abaixo).

19. Desligue a luz, coloque na temperatura ideal (varia de laboratório para laboratório, pergunte ao técnico responsável) e deixe o vidro do criostato um pouco aberto.

OCT	Sakura 4583
Laminas	Objekttrager
Lamínulas	Deckgllaser

**Reagentes**

**Fonte**