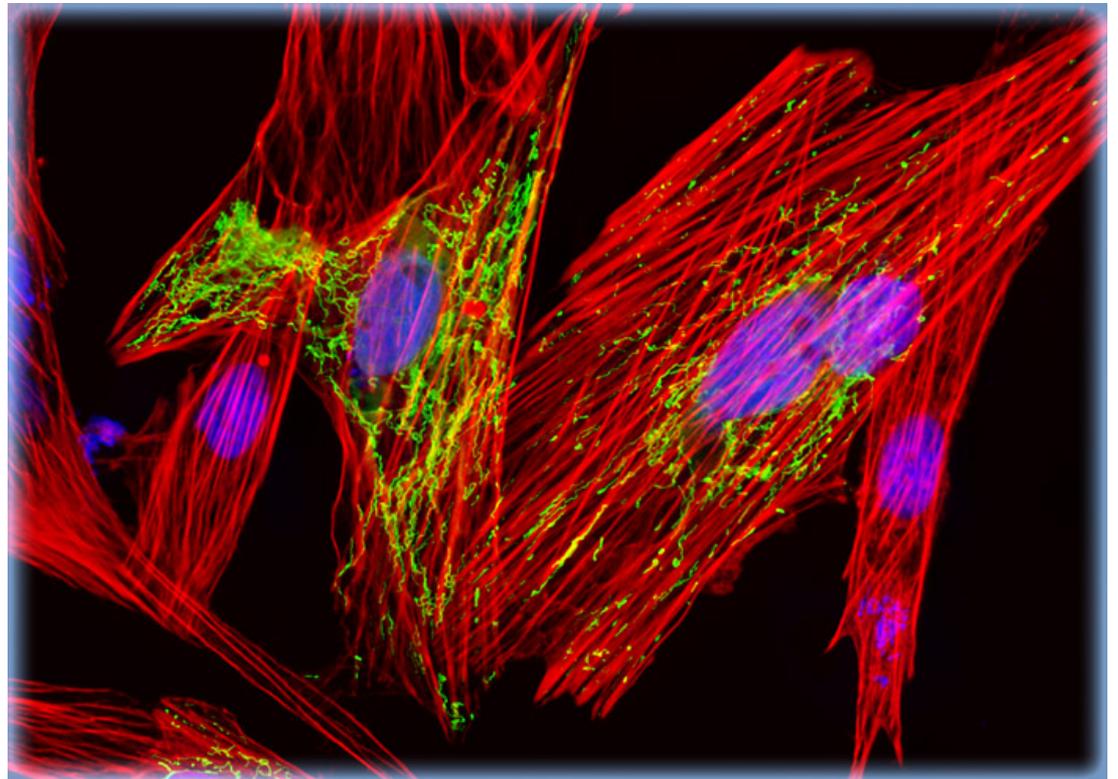
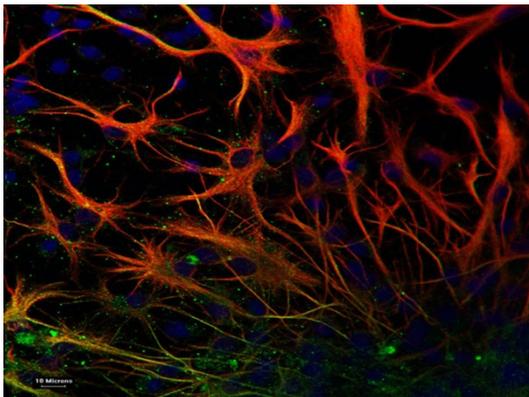
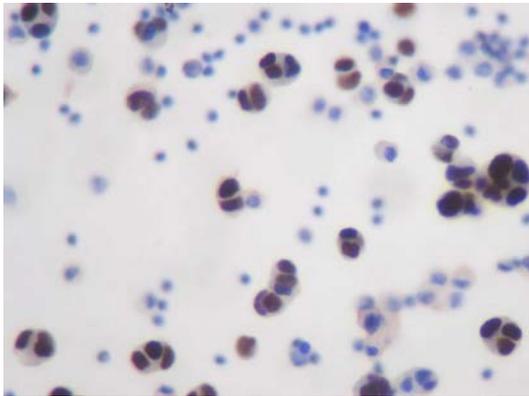


TINCIÓN INMUNOCITOQUIMICA

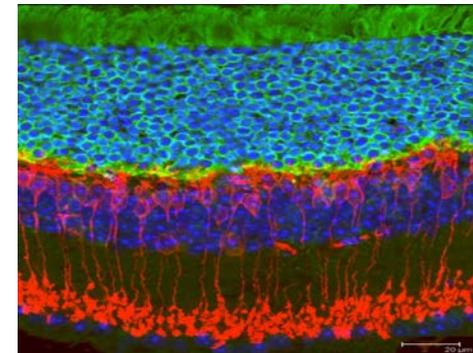
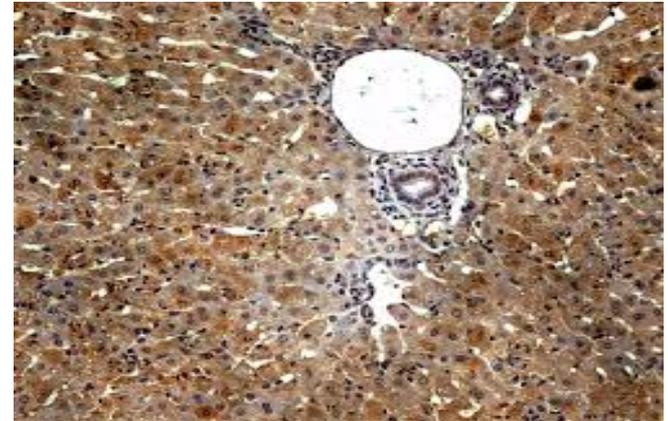


- *Inmunocitoquímica*: localización de moléculas en células en cultivo mediante anticuerpos marcados
- *Inmunohistoquímica*: localización de moléculas en tejidos

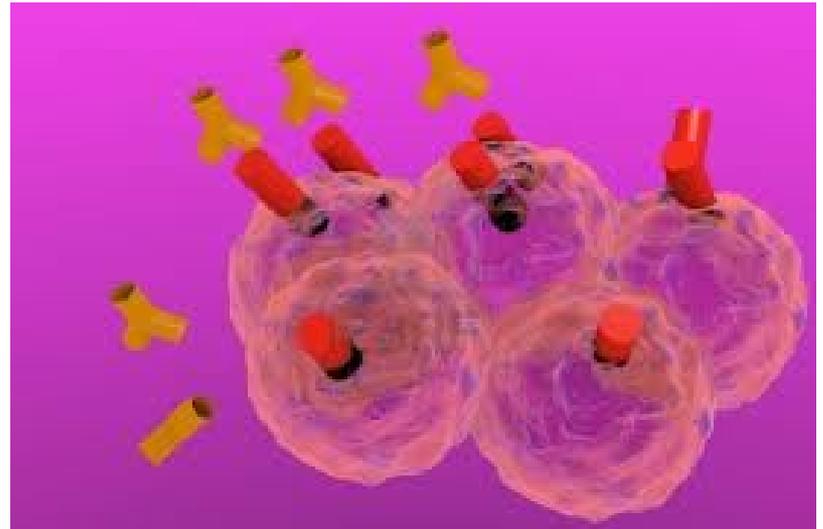
INMUNICITOQUIMICA



INMUNIHISTOQUIMICA



- **Albert H. Coons, 1941:** físico, patólogo e inmunólogo americano. Desarrolló técnicas inmunofluorescentes mediante el marcaje de anticuerpos.
- **Anticuerpos monoclonales:** precisión y especificidad.

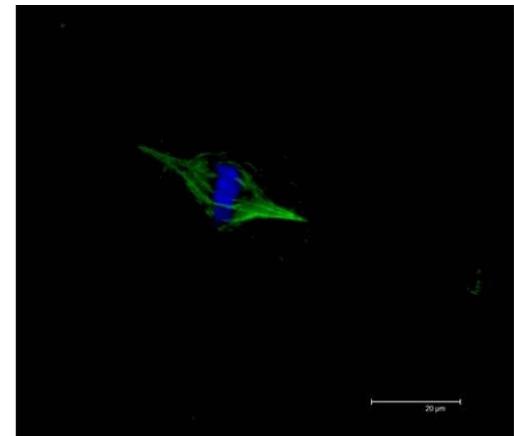


FUNDAMENTO

- 2 PASOS FUNDAMENTALES

1. La técnica se basa en aplicar a la muestra en estudio, el anticuerpo contra el antígeno que se desea detectar.

2. A su vez es necesario emplear un anticuerpo inespecífico (secundario) marcado, que reconoce al primer anticuerpo empleado.

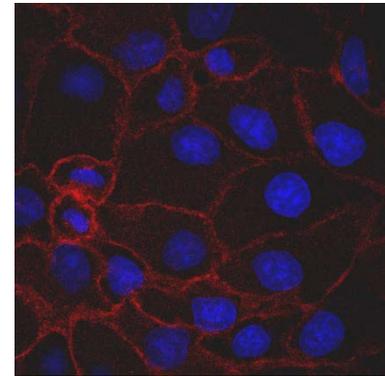


FUNDAMENTO

- Conjugado de anticuerpos secundarios:

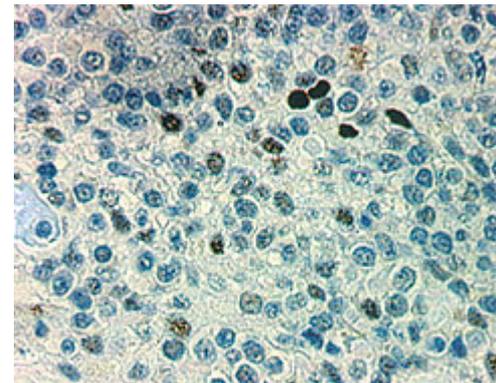
1-Moléculas fluorescentes:

Microscopía de fluorescencia



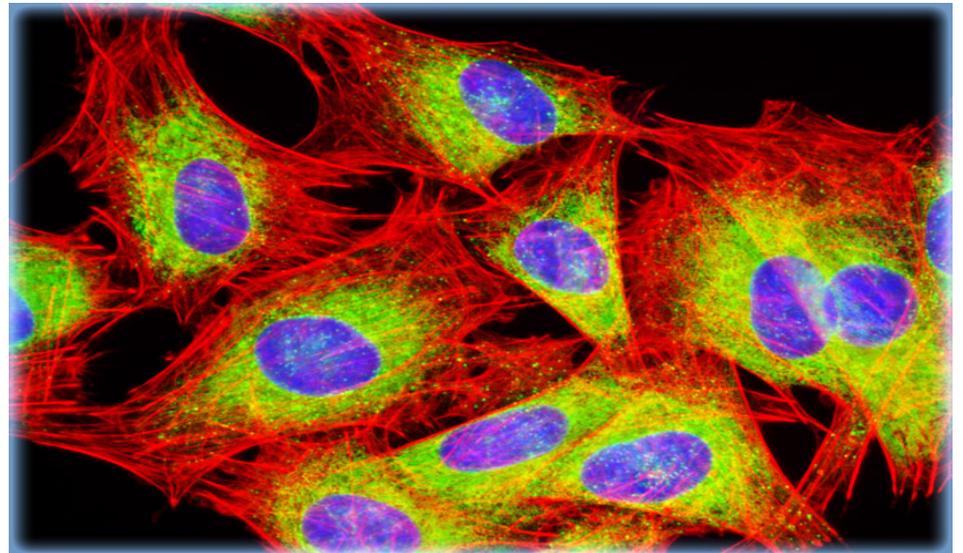
2-Enzimas:

Sustrato soluble \longrightarrow producto insoluble coloreado



INMUNOFLUORESCENCIA

- *Fluorocromos*: moléculas que emiten luz visible cuando se las ilumina con una determinada longitud de onda.
- *Inmunodetección múltiple*: aplicación de 2 o más fluoróforos a una misma preparación para detectar varias moléculas en un mismo tipo celular.



Microscopio de fluorescencia



APLICACIONES CLÍNICAS

- Diferenciación de tumores
- Determinación de la naturaleza de micrometástasis
- Tipificación de linfomas y leucemias

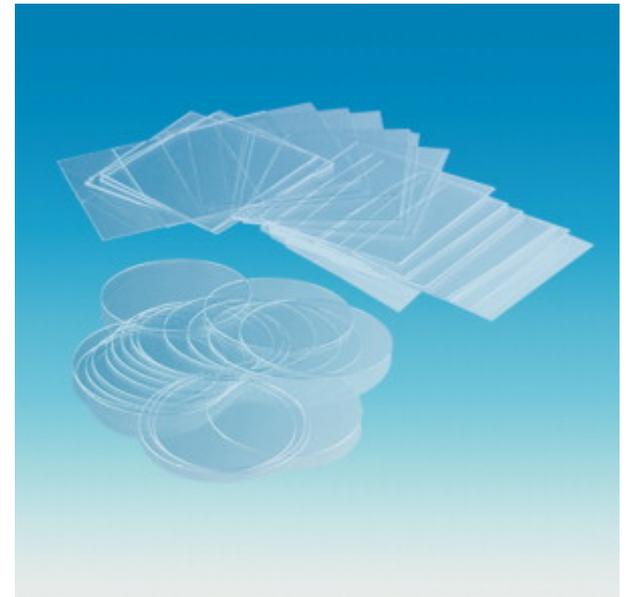
APLICACIÓN PRÁCTICA

- Localización del transportador BCRP en células MDCKII transfectadas

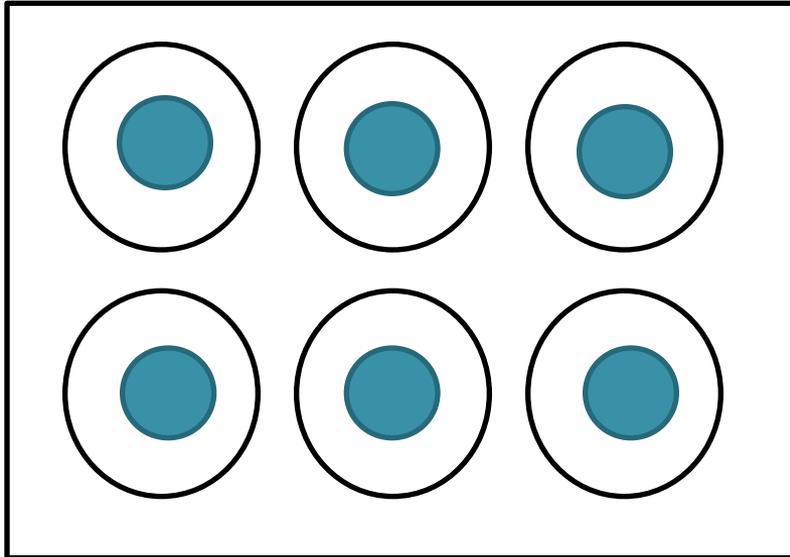
PROTOCOLO EXPERIMENTAL

1-Siembra de células MDCKII en placas de 6 pocillos sobre cubres estériles.

Densidad: 500.000 cel/pocillo



DISEÑO EXPERIMENTAL



PARENTALES

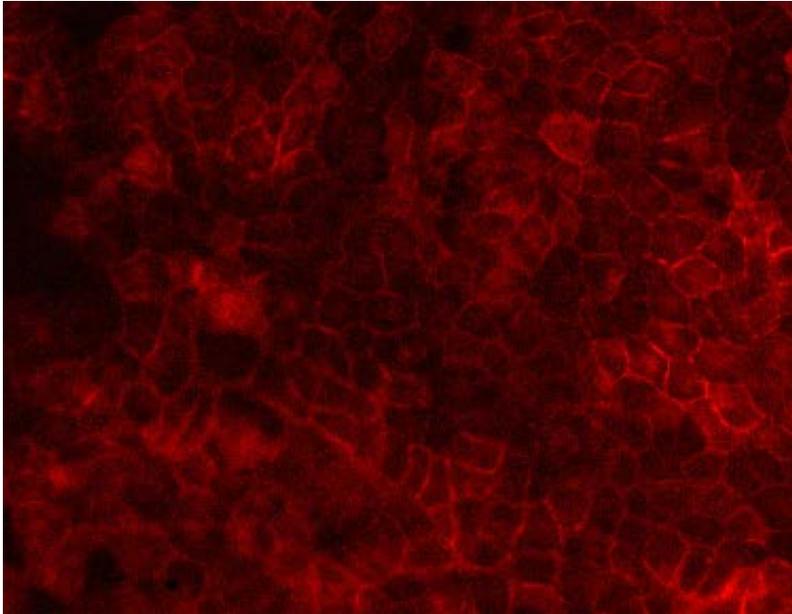
Bcrp1

PROTOCOLO EXPERIMENTAL

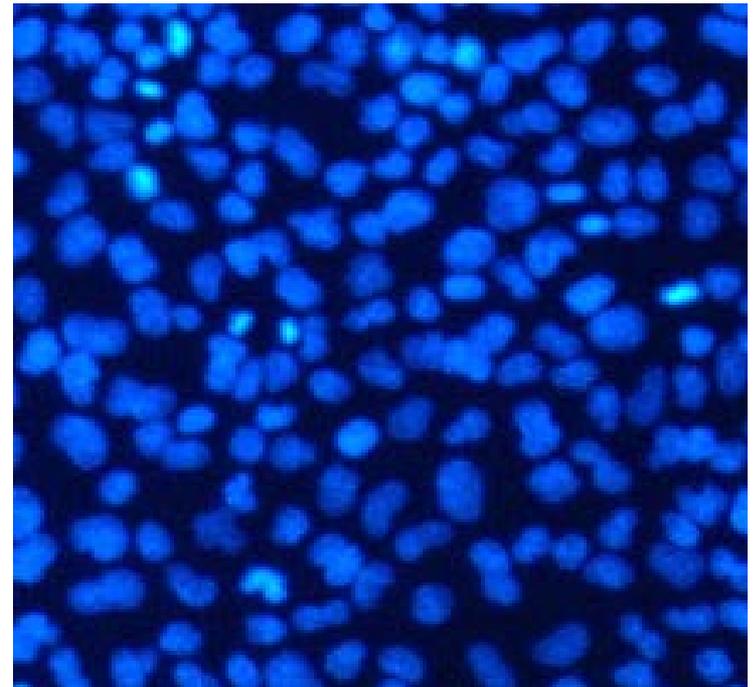
- 2-Fijación con metanol frío (-20°C)
- 3-Permeabilización de la membrana con Tritón-X 100 al 1%
- 4-Incubación con anticuerpo primario anti-BCRP (toda la noche a 4°C)
- 5-Incubación con anticuerpo secundario Alexa Fluor 568
- 6-Tinción de los nucleos con DAPI
- 7-Montaje de las preparaciones y observación al microscopio de fluorescencia

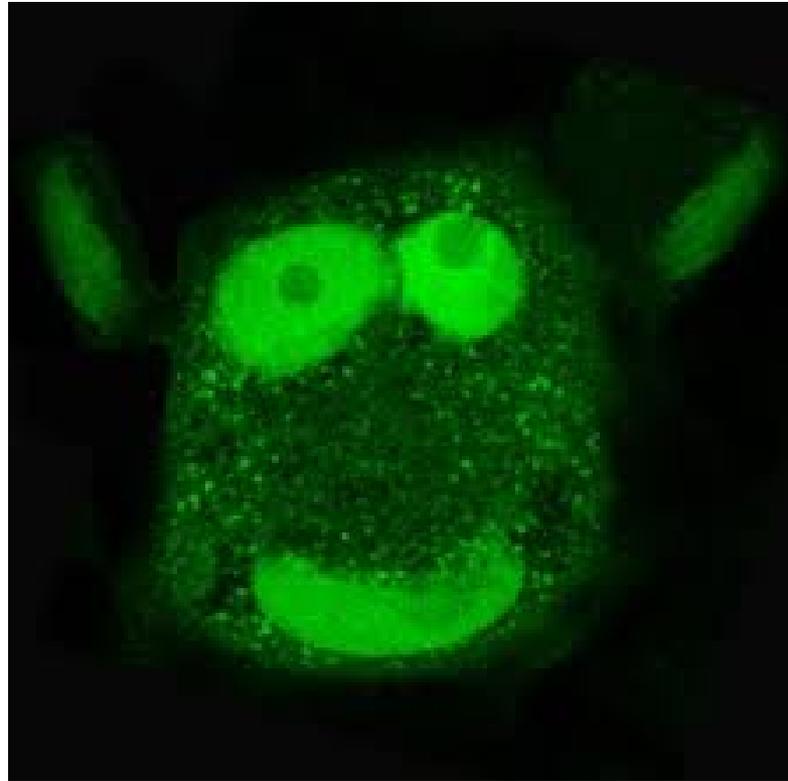
RESULTADOS

ALEXA FLUOR 568



DAPI





¡GRACIAS POR VUESTRA ATENCIÓN!