



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Ciencias Biológicas

Int. Güiraldes 2620
Ciudad Universitaria - Pab. II, 4° Piso
CP:1428 Nuñez, Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Argentina

<http://www.bg.fcen.uba.ar>

Carrera: Licenciatura en Ciencias Biológicas	Código de la carrera: 05
Carrera: Doctorado en Ciencias Biológicas	Código de la carrera: 55
	Código de la materia: 7-210


TÉCNICAS INMUNOCITOQUÍMICAS


CARÁCTER:	[SI / NO]	PUNTAJE:
Curso obligatorio de licenciatura (plan 1984)	NO	--
Curso optativo de licenciatura (plan 1984)	NO	--
Curso de postgrado	SI	2

Duración de la materia:	1 Semana	Cuatrimestre en que dicta:	2°	Cuatrimestre
Frecuencia en que se dicta:	Anualmente			

Horas de clases semanales:	Discriminado por:	Hs.
	Teóricas	15
	Problemas	--
	Laboratorios	30
	Seminarios	--
Carga horaria semanal:		45
Carga horaria total cuatrimestral:		<u>45</u>

Asignaturas correlativas:	
Curso PG. Dirigido a:	Biólogos, Bioquímicos, Médicos, Veterinarios y carreras afines.-
Forma de Evaluación:	Examen Final.

Profesor/a a cargo:	Dr. Dante Paz
Firma:	
Aclaración:	DANTE PAZ
	Fecha: 05/ / 09 / 2000.-


Dr. JUAN C. REBORES
DIRECTOR
DPTO. CS. BIOLÓGICAS

PROGRAMA

- **Introducción a las técnicas inmunocitoquímicas.** Antígenos. Anticuerpos. Reacción antígeno-anticuerpo. Anticuerpos policlonales: Obtención. Ventajas y desventajas de los anticuerpos policlonales. Anticuerpos monoclonales. Obtención. Ventajas y desventajas de su uso. Distintas metodologías inmunocitoquímicas.
- **Obtención del material biológico.** Fijación de las muestras. Distintos tipos de fijadores. Inclusión en parafina. Inclusión en resinas plásticas. Cortes por congelación. Microscopía óptica y electrónica. Inmunomarcación *in toto*.
- **Inmunofluorescencia.** Métodos directos. Métodos indirectos. Distintos marcadores fluorescentes. Doble y triple marcación. Ventajas y desventajas de la inmunofluorescencia. Microscopía de fluorescencia.
- **Inmunoperoxidasa.** Métodos directos. Métodos indirectos. Complejo PAP. Método de avidina-biotina. Ventajas y desventajas de las distintas metodologías que utilizan peroxidasa. Métodos que utilizan otro sistema enzimático: APAAP. Reveladores. Coloración de contraste. Doble marcación. Amplificación de la inmunomarca: distintas metodologías.
- **Immunoblotting.** Caracterización de antígenos por immunoblotting. Obtención de las muestras. Separación por electroforesis. Transferencia a membranas de nitrocelulosa o similares (blotting). Inmunomarcación en la membrana de nitrocelulosa. Distintas opciones de inmunomarcación. Interpretación de los resultados. Ventajas y desventajas del immunoblotting.
- **Otras aplicaciones.** Marcación simultánea de varios antígenos. Lectinas: concepto y aplicaciones. Evaluación de la proliferación celular por métodos inmunocitoquímicos. Hibridación *in situ* fluorescente, FISH: conceptos y aplicaciones.
- **Documentación de resultados.** Microfotografía. Microscopio fotográfico. Iluminación diascópica. Fluorescencia. Fotografía color. Películas color. Papel y diapositivas. Tipos de película. Temperatura color. Filtros. Sobre y subexposición. Ventajas y desventajas. Fotografía blanco y negro. Tipos de películas. Filtros de contraste. Sobre y subexposición. Ventajas y desventajas. Otros tipos de almacenamiento de imágenes.

Trabajos prácticos programados:

**** Inmunofluorescencia:**

1. Inmunomarcación indirecta de una citoqueratina en epitelios de embriones y larvas de anfibios.
2. Doble marcación para evidenciar actina sarcomérica y nCadherina en embriones de anfibios.

**** Inmunoperoxidasa:**

1. Inmunomarcación de células productoras de SL y PRL en hipófisis de *S. marmoratus* (Pisces, Synbranchiformes) y de células productoras de SL y fibras GnRHérgicas en *O. bonarensis* (Pisces, Atheriniformes) mediante el método de la avidina-biotina.
2. Reconocimiento de proliferación celular mediante marcadores inmunocitoquímica de Bromodeoxiuridina.

**** Immunoblotting:**

1. Caracterización de GH y PRL de hipófisis de anfibios mediante Western Blots.

**** Microfotografía:**

1. Fotografía blanco y negro y color de las distintas inmunomarcas obtenidas en el curso.



Dr. JUAN C. REBORDA
DIRECTOR
DPTO. CS. BIOLÓGICAS

BIBLIOGRAFIA

Aiken, K.D. and Roth, K.A. 1992. Temporal Differentiation and Migration of Substance P, Serotonin, and Secretin Immunoreactive Enteroendocrine Cells in the Mouse Proximal Small Intestine. *Dev. Dynamics*. **194**: 303-310.

Carmanchahi, P.D.; C.C. Ferrari, H.J. Aldana Marcos; C.A. Soñez; J.M. Affanni and D.A. Paz. (2000). Characterization of glycoconjugates sugar residues in the vomeronasal organ of the Armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Xenarthra). *J. Anat.* **196**:357-370.

Cuello, A.C. 1993. Immunohistochemistry II. IBRO handbook Series: Methods in Neuroscience. Vol. 14. John Wiley & Sons, Ltd. Sussex. England.

Gresik, E.W., M. Kashimata, et al. 1997. Expression of epidermal growth factor receptor in fetal mouse submandibular gland detected by a biotinyltyramide-based catalyzed signal amplification method. *J. Histochem. Cytochem.* **45**: 1651-1657.

Härtig, W., Brückner G., et al. 1995. Digoxigenylated primary antibodies for sensitive dual-peroxidase labelling of neural markers. *Histochemistry Cell Biol.* **104**:467-472.

Hougaard, D.M., H. Hansen and L.I. Larsson. 1997. Non-radioactive in situ hybridization for mRNA with emphasis on the use of oligodeoxynucleotide probes. *Histochem. Cell Biol.* **108**: 335-344.

Klymkowsky, M.W. and Hanken, J. 1991. Whole-Mount Staining of *Xenopus* and Other Vertebrates. In: "Methods in Cell Biology". Vol. 36. (B.K. Kay & H.B. Peng Eds.) Academic Press. New York.

Larsen, P.J. and Mikkelsen J.D. 1994. Simultaneous detection of neuropeptides and messenger RNA in the magnocellular hypothalamo-neurohypophyseal system by a combination of non-radioactive in situ hybridization histochemistry and immunohistochemistry. *Histochemistry*. **102**:415-423.

Northington, F.J., Koehler, R.C. et al. 1996. Nitric oxide synthase 1 and nitric oxide synthase 3 protein expression is regionally and temporally regulated in fetal brain. *Devel. Brain Res.* **95**:1-14.

Ortego, L.S., Hawkins, W.E., Walker W.W., Krol R.M. and Benson W.H. 1992. Detection of Proliferating Cell Nuclear Antigen in Tissues of Three Small Fish Species. *Biotech. Histotech.* **69**:317-323.

Shimamura, K. and Takeichi, M. 1992. Local and transient expression of E-cadherin involved in mouse embryonic brain morphogenesis. *Development*. **116**:1011-1019.

Stern, C.D. 1993. Immunocytochemistry of embryonic material. In: "Essential Developmental Biology. A Practical Approach" (C. D. Stern and W.H. Holland Eds.) IRL PRESS. Oxford.

Dr. JUAN C. REBOREDA
DIRECTOR
DPTO. CS. BIOLÓGICAS

Szekeres, G., Lutz, Y., Le Tourneau, A. et al. 1994. Steroid Hormone Receptor Immunostaining on Paraffin Sections with Microwave Heating and Trypsin Digestion. *J. Histotechnol.* **17**:321-324.

Tornehave, D., D.M. Hougaard and L.I. Larsson. 2000. Microwaving for double indirect immunofluorescence with primary antibodies from the same species and for staining of mouse tissues with mouse monoclonal antibodies. *Histochem. Cell Biol.* **113**: 19-23.

Tulli, H.M., Carlson C.S., Jayo, M.J., et al. 1992. Immunohistochemical Method for the Simultaneous Demonstration of Three Proteins in EDTA Decalcified Paraffin Embedded Bone Sections. *J. Histotechnol.* **15**:93-97.

Vilaró, S. 1991. Fijación química en inmunocitoquímica: métodos y fundamentos. En: "Técnicas de Inmunocitoquímica en Microscopía Electrónica" (M.Durfort, S. Vilaró, J. Reneau and J. Senatrosa, eds). Estudi General Publications. Univ. Barcelona. Barcelona.

Vissio, P.G.; A.V. Stefano; G.M. Somoza; M.C. Maggese and D.A. Paz. (1999). Close association of gonadotropin-releasing hormone fibers and gonadotropin, growth hormone, somatolactin and prolactin expressing cells in pejerrey, *Odontesthes bonariensis*. *Fish Physiol. Biochem.* **21**: 121-127.



Dr. JUAN C. REBORDA
DIRECTOR
DPTO. CS. BIOLÓGICAS