

2008

Curso de post-grado

**MÉTODOS INMUNOCITOQUÍMICOS APLICADOS A TEJIDOS ANIMALES**

**Docentes responsables:**

**Dra. Andrea G. POZZI**

**Dr. Dante A. PAZ**

**Contenido teórico:**

- **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*. Microarreglos tisulares.
- **Inmunofluorescencia.** Métodos directos. Métodos indirectos. Distintos marcadores fluorescentes. Fluorocromos. Excitación y emisión. Doble y triple marcación. Ventajas y desventajas de la inmunofluorescencia. Problemas con autofluorescencia. Microscopios de fluorescencia. Las ventajas del microscopio confocal. Microscopio bi y multifotón. Hibridación In Situ Fluorescente (FISH). El uso de colorantes fluorescentes para tinciones *in vivo*. Otros métodos que utilizan microscopía de fluorescencia: TUNEL.
- **Inmunoperoxidasa.** Métodos directos. Métodos indirectos. Complejo PAP. Método de avidina-biotina peroxidasa (ABC). Ventajas y desventajas de las distintas metodologías que utilizan peroxidasa. Métodos que utilizan otro sistema enzimático: APAAP. Reveladores. Coloración de contraste. Kit de revelado ABC. El problema del fondo ("Background"): interacciones hidrofóbicas, Interacciones iónicas y electroestáticas, actividad de enzimas endógenas. Reactividad cruzada. Inhibición de biotina endógena.
- **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 (PCNA, BrdU, histonas). Apoptosis: distintos métodos para poner en evidencia células apoptóticas (TUNEL, caspasa 3- activada, Recuperación antigénica: importancia para

material de archivo. Principios y técnicas de la recuperación antigénica. Recuperación antigénica y dobles coloraciones. Recuperación enzimática. Morfología de la viabilidad celular *in vitro*.

- **Documentación de resultados.** Fotomicrografía. Distintos tipos de cámaras. Cuantificación en inmunohistoquímica: que se puede cuantificar y que no. Microdensitometría cuantitativa en campo claro y en fluorescencia. Aplicaciones. Videomicroscopía y análisis de imágenes. El análisis de imágenes. Distintos programas de análisis de imágenes. Obtención de imágenes para reconstrucción 3D y procesamiento de imágenes.

### **Trabajos Prácticos Programados:**

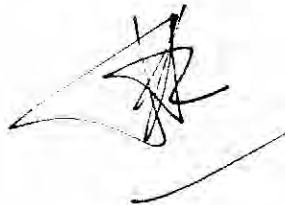
- 1.- Identificación Inmunohistoquímica de distintas células de la hipófisis
- 2.- Marcación con lectinas y colorantes de contraste. Microscopio de fluorescencia confocal.
- 3.- Inmunofluorescencia aplicada a la marcación en oocitos de mamíferos.
- 4.- Proliferación celular: doble inmunomarcación con peroxidasa o con fluorescencia
- 5.- Identificación de células apoptóticas mediante microscopía confocal

### **BIBLIOGRAFÍA**

- Bankfalvi A, *et al* – Wet Autoclave Pretreatment for Antigen Retrieval in Diagnostic Immunohistochemistry. *J.Pathol.* 174, 223-228,1994.
- Dolbeare, F. 1995. Bromodeoxyuridine: a diagnostic tool in biology and medicine, Part I: Historical perspectives, histochemical methods and cell kinetics. *Histochem. J.* 27:339-369.
- Gratzer, H.G. 1982. Monoclonal antibody to 5-bromo and 5-iododeoxyuridine: a new reagent for detection of DNA replication. *Science* 218: 474-475.
- Ishizuka-Oka A. and A. Shimosawa. 1987. Development of the connective tissue in the digestive tract of the karvak and metamorphosing *Xenopus laevis*. *Anat Anz* 164:81-93.
- Ishizuka-Oka A. and Sh. Ueda. 1996. Apoptosis and cell proliferation in the *Xenopus* small intestine during metamorphosis. *Cell and Tissue Research* 286: 467-476.
- Portiansky EL, Massone AR, and GimenoEJ.- Kinetics of Epitope Retrieval Techniques for unmasking cytokeratins in bovine prostatic tissues after different formaldehyde fixation times. *Applied Immunohistochemistry* 5, 194-201, 1997.
- Portiansky EL and GimenoEJ. – A new Epitope Retrieval Method for Detection of Structural Cytokeratines in the Bovine Prostatic Tissue. *Applied Immunohistochemistry* 4, 208-214,1996.

-Shi SR, Key ME and Kaira KL – Antigen Retrieval in Formalin-fixed, Paraffin-embedded Tissues: An Enhancement Method for Immunohistochemical Staining Based on Microwave Oven Heating of Tissue sections. J. Histochem. Cytochem. 41, 1599- 1604, 1991.

-Shi, Y-B. and Ishizuda Oka. . Biphasic intestinal development in amphibians: embryogenesis and remodeling during metamorphosis. Curr. Top. Dev. biol. 32: 205-235.1996

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Dante A. Paz', with a long horizontal stroke underneath.

Dr. DANTE A. PAZ  
INVEST. INDEPENDIENTE  
CONICET



Universidad de Buenos Aires  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Ref. Expte. N° 494.530/2008

Buenos Aires, 06 OCT 2008

**VISTO:**

La nota BBE 054 de fecha 05/09/2008, presentada por el Dr. Enrique Rodríguez Director del Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, mediante la cual eleva la Información del Curso de Posgrado **MÉTODOS INMUNOCITOQUÍMICOS APLICADOS A TEJIDOS ANIMALES**, que será dictado en el Segundo Cuatrimestre de 2008 (desde el 24/11/2008 al 05/12/2008) por el Dr. Dante Agustín Paz y la Dra. Andrea Gabriela Pozzi con la colaboración de: Carolina Pustovrh, Vanesa Rawe, Juan Carlos Sockert, Carola Yovanovich, Tamara Heer, Lucas David Jungblut,

El CV de la Dra. Vanesa Rawe

**CONSIDERANDO:**

- lo actuado por la Comisión de Doctorado de esta Facultad el 17/09/2008
  - lo actuado por la Comisión de Enseñanza, Programas, Planes de Estudio y Postgrado,
  - lo actuado por la Comisión de Presupuesto y Administración,
  - lo actuado por este cuerpo en Sesión Ordinaria realizada en el día de la fecha,
- en uso de las atribuciones que le confiere el Artículo 113° del Estatuto Universitario,

**EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD  
DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES  
RESUELVE:**

**Artículo 1°:** Autorizar el dictado del Curso de Posgrado **MÉTODOS INMUNOCITOQUÍMICOS APLICADOS A TEJIDOS ANIMALES** de 70 horas de duración.

**Artículo 2°:** Aprobar el Programa del Curso de Posgrado **MÉTODOS INMUNOCITOQUÍMICOS APLICADOS A TEJIDOS ANIMALES** obrante a fs 6 del Expediente de la referencia.

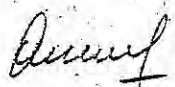
**Artículo 3°** Aprobar un Puntaje de tres (3) puntos para la Carrera del Doctorado.

**Artículo 4°:** Aprobar un Arancel de 300 Módulos. Disponer que los fondos recaudados por el dictado del Curso deberán ser utilizados según lo dispuesto en la Resolución 072/2003.

**Artículo 5°:** Comuníquese a la Dirección del Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, a la Subsecretaría de Postgrado y a la Biblioteca de la FCEN con fotocopia del Programa. Comuníquese a la Dirección de Alumnos y Graduados sin fotocopia del Programa. Cumplido Archívese,

**RESOLUCION CD N°**  
SP/med 19/09/2008

**-2501-**

  
Dra. NORA SEPALLOS  
SECRETARÍA ACADÉMICA

  
Dr. JC. SOCKERT  
SECRETARÍA ACADÉMICA