

Inmunohistoquímica rápida

Antonio Hartley

Abstract

Citation: Antonio Hartley Inmunohistoquímica rápida. **protocols.io**

dx.doi.org/10.17504/protocols.io.r7sd9ne

Published: 31 Jul 2018

Protocol

Desparafinación

Step 1.

Xilol 1 x 2 minutos

Xilol 2 x 2 minutos

Xilol 3 x 2 minutos

Hidratación

Step 2.

Alcohol 100 x 2 minutos

Alcohol 100 x 2 minutos

Alcohol 95 x 2 minutos

Alcohol 95 x 2 minutos

Alcohol 70 x 2 minutos

Agua corriente hasta recuperación antigénica

Recuperación antigénica

Step 3.

Sumergir en buffer citrato pH 6 x 40 minutos en vaporera

Lavados

Step 4.

Lavar en PBS x 2 minutos

Bloqueo peroxidasa endógena

Step 5.

Peróxido de hidrógeno 10% diluido en metanol x 15 minutos

Lavados

Step 6.

PBS x 2 minutos

PBS x 2 minutos

Bloqueo inespecífico proteínas

Step 7.

PBS + BSA x 15 minutos

Incubación Ac primario

Step 8.

Incubar en Ac primario diluido en PBS Twinn 20 x 40 min a 37°C en cámara húmeda

Lavados

Step 9.

PBS + Twinn 20 x 2 minutos

PBS + Twinn 20 x 2 minutos

PBS + Twinn 20 x 2 minutos

Incubación Ac secundario

Step 10.

A. Incubar en Ac secundario diluido en PBS Twinn 20 x 40 min a 37°C en cámara húmeda

o

B. Incubar conjugado Ac secundario-polímero marcado x 20 min a 37°C en cámara húmeda

Lavados

Step 11.

PBS + Twinn 20 x 2 minutos

PBS + Twinn 20 x 2 minutos

PBS + Twinn 20 x 2 minutos

Incubación streptavidina + peroxidasa

Step 12.

Solo paso A incubar x 15 minutos a 37°C

Lavado

Step 13.

PBS + Twinn 20 x 2 minutos

PBS + Twinn 20 x 2 minutos

PBS + Twinn 20 x 2 minutos

Revelado

Step 14.

Incubar con DAB o sustrato adhoc, poniendo lámina sobre fondo blanco

Controlar al microscopio

Detención reacción

Step 15.

Sumergir láminas en agua destilada x 5 minutos

Tinción contraste

Step 16.

Si la marca es nuclear, teñir por 5 segundos con hematoxilina

Si la es citoplasmática o membrana, teñir por 20 segundos con hematoxilina

Virar en PBS

Lavados

Step 17.

Agua corriente x 2 min

Deshidratación y montaje

Step 18.

Deshidratar en alcoholes ascendentes y montar en medio de montaje hidrófobo