

HISTOLOGISKA METODER

Parafinering

Vävnadsprov (biopsi) tas

- ① Fixering - denaturering av proteiner - stoppar nedbyggn.
 - Formalin - formaldehyd
 - (
korsbinder proteiner → stoppar deras funktion (ex enzym)
Tränger in 1-2 mm/h → tunna preparat krävs

Lösningsmedel (sämre än formalin)

- ersätter vattnet i vävnaden med lösningsmedel.

- ② Dehydrering

Vattnet avlägsnas genom att doppa preparatet i löshingar med succ. högre konc. av etanol.

- ③ Inbäddning i paraffin

- ④ Snittning i mikrotom. 4-7 μm

- ⑤ Färgning

• katjonfärger - basisk → färgar ^(basofila) sura substanser: ex DNA, RNA ^(cellkärnor)
Blå: hematoxylin: HTX

• Anjonfärger - sura → färgar basiska strukturer
acidofila - eosinofil

- ⑥ Montering med täckglas.

forts.

hematoxylin + eosin är en vanlig kombination av infärgning.

Van Gieson - bindvävsfärgning

° muskel: gul bindväv: röd

Azan muskel: röd bindväv: blå

Fryssnitt - snabbare ^{~20min} metod, används exv. under operation
° skonsam

① Frysning - flytande kväve el. kolsyreis

② Cryostat: snittning - skärapp som är nedkyld

③ Färgning och montering

④ Titta → resultat

LJUSMIKROSKOP

- ° Upplösning: $0,2\mu\text{m}$
 - mikrovilli $\sim 0,1\mu$ kan inte ses.
 - cilier $\sim 0,25\mu\text{m}$ går att se.

Preparering av hårda vävnader

- Ta bort kalcium - urkalkning
- Slipsnitt

HISTOKEMISKA FÄRGNINGAR

1. Enkel histokemi

- PAS - periodic Acid Shift. Färgar neutrala sockerarter.
- Färgar slem/glukogen röd/rosa

Fettfärgning - ofta med fryssnitt för att behålla lipiderna

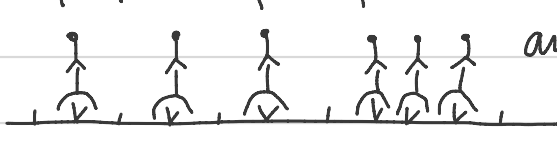
Enzymhistokemi

- ° Buffert + substrat - Något behövs som färgar enzymets produkt. Används exv. vid fibertypning

Immunhistokemi

ex: Var finns insulin?

- ° preparat från pancreas

antikropp mot insulin - antiinsulin λ
- fäster vid insulin

Sekundärantikropp med markör - fäster mot antiinsulin λ
Markören är exv. fluorocerande och kan ses med speciellt mikroskop.

Horse Radish Peroxidas
HRP är en markör som används

Autoradiografi

- radioaktiv isotop injiceras
- Inte så ofta använt längre - mest inom läkemedelsindustrin.

Hybridiseringshistokemi

- In situ hybridisering
- letar efter specifika DNA/mRNA
- prob med anti-sense-sekvens och en markör.