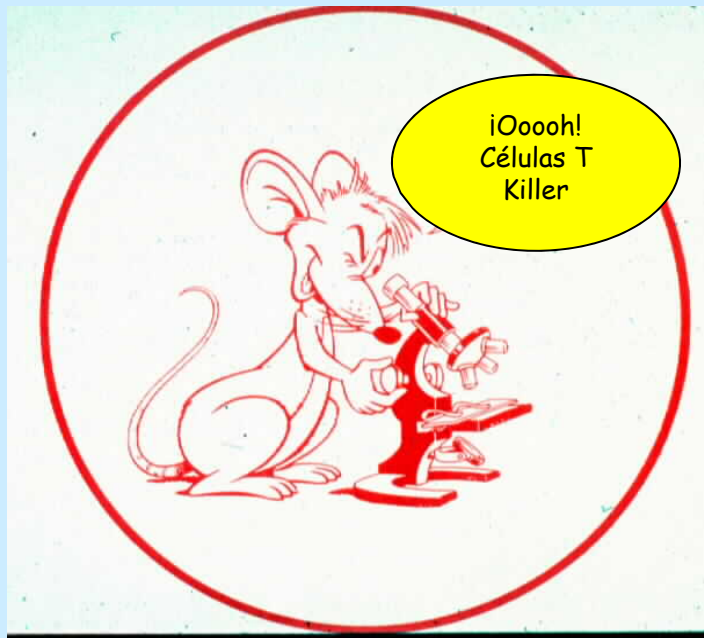


# CIENCIAS DE LA VIDA

## TÉCNICAS ESTUDIO

ACMSCB ASSOCIACIÓ D' ANATOMIA PATOLÒGICA

TÈCNIQUES  
IMMUNOHISTOQUIMIQUES  
DE LA FICCIÓ A LA REALITAT



Dr. A. Palacín Forgue

17 OCTUBRE 2013

**TECNICAS** ↑ **AFINIDAD** ↑ **ESPECIFICIDAD** **EN BIOMEDICINA**

## **INMUNOHISTOQUIMICA**

**Aspectes pràctics de les tincions d' immunohistoquímica**

**I Jornades Catalanes de Tècnica Histopatològica**

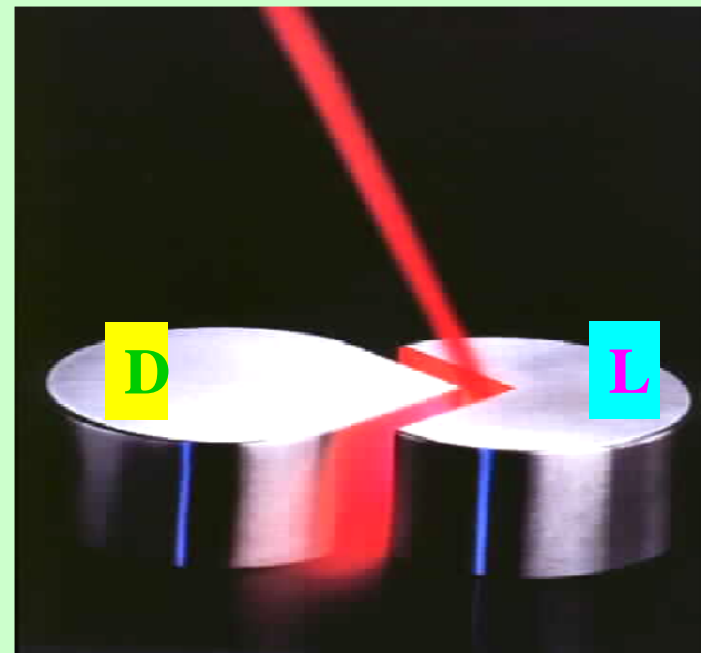
**Associació d' Anatomia Patològica de la ACMCB**

**26 - 31 març 1984**



TECNICAS ↑ AFINIDAD ↑ ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

LIGANDOS (AFINITINAS)  
DE ALTA AFINIDAD Y ESPECIFICIDAD



TECNICAS  **AFINIDAD**  **ESPECIFICIDAD** EN BIOMEDICINA

Grado  
Complemen  
taridad

ALTA

Fuerza  
unión

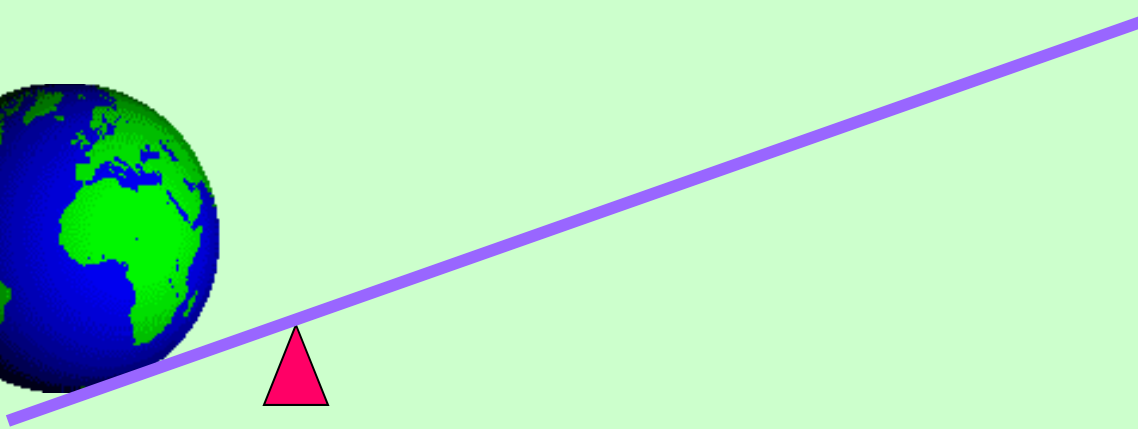
AFINIDAD

ESPECIFICIDAD





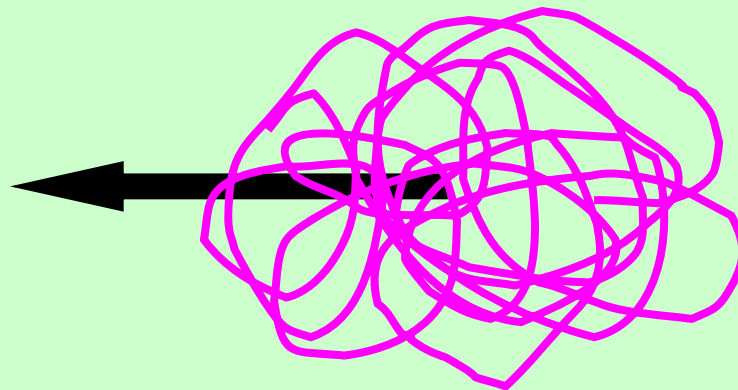
**TECNICAS** ↑ **AFINIDAD** ↑ **ESPECIFICIDAD** **EN BIOMEDICINA**



**TECNICAS** ↑ **AFINIDAD** ↑ **ESPECIFICIDAD** **EN BIOMEDICINA**



DIANA



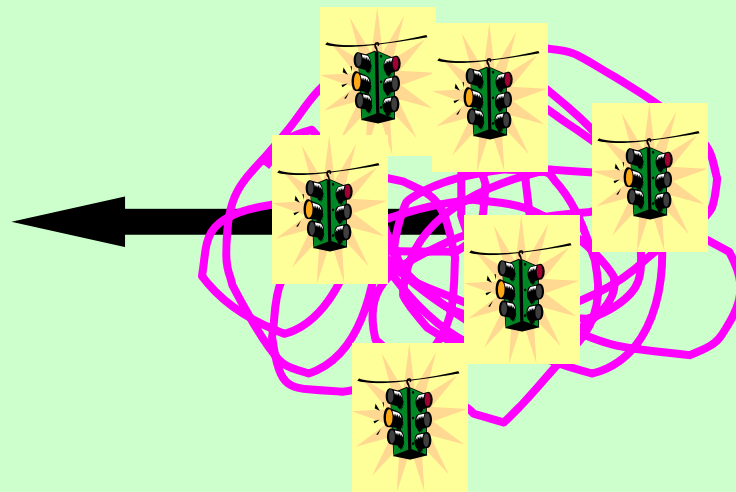
LIGANDO



TECNICAS ↑ AFINIDAD ↑ ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA



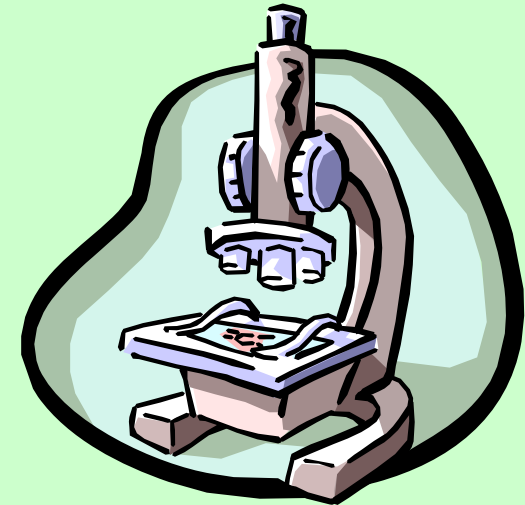
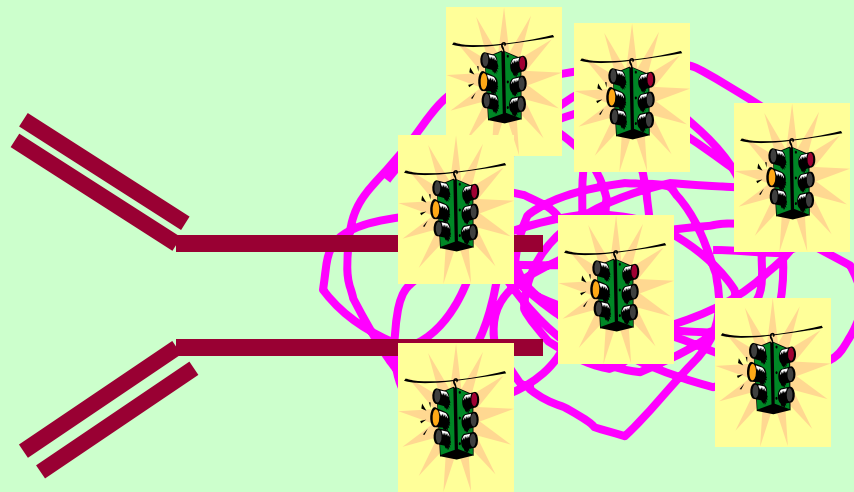
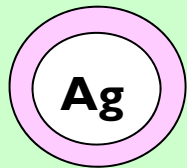
DIANA



LIGANDO  
MARCADO



TECNICAS **↑** AFINIDAD **↑** ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

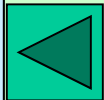


IDENTIFICACION  
LOCALIZACION  
CUANTIFICACION



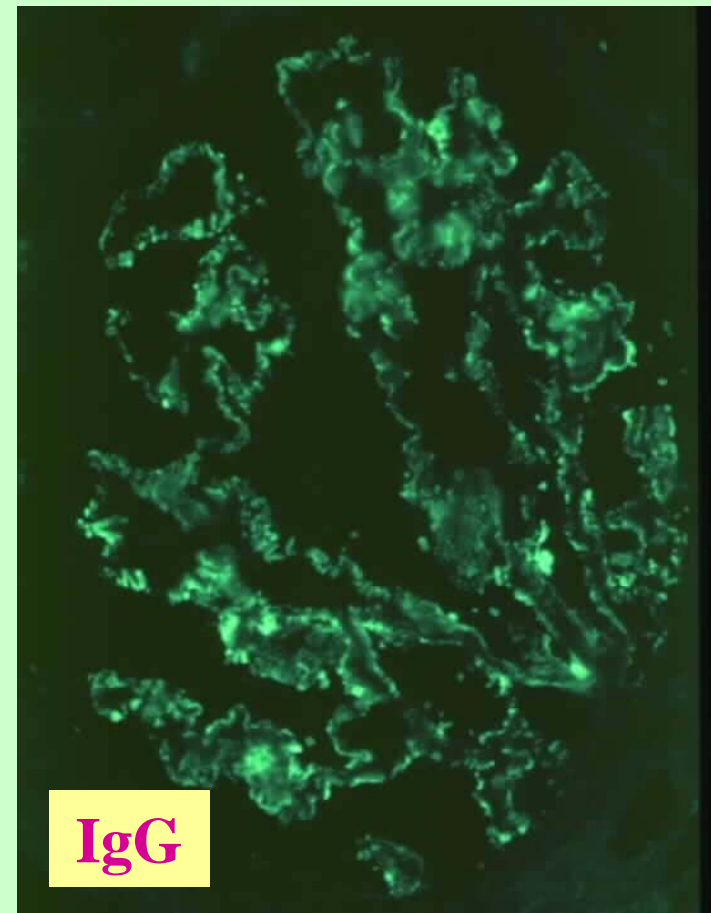
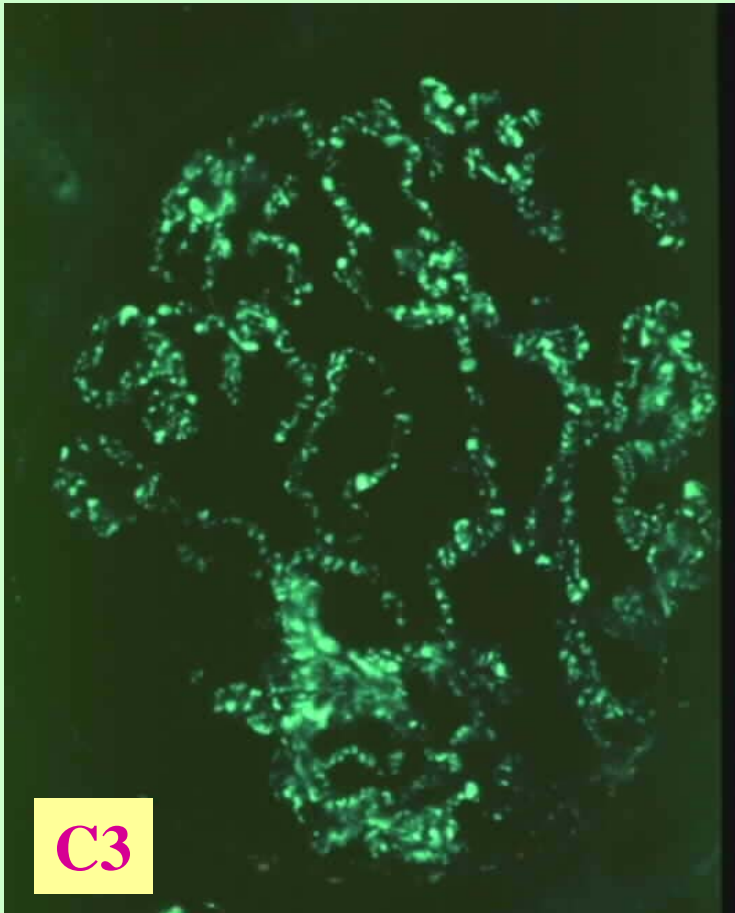
# TECNICAS AFINIDAD ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

- **Anticuerpo – Antígeno**
- **Lectinas - Monosacáridos**
- **DNA-DNA/Proteína**
- **Aptameros-Substrato.** Moléculas de ssDNA o RNA que se unen a otras moléculas
- **Anticalinas-Substrato** (proteínas de afinidad específica que pueden ser diseñadas para unirse a una molécula diana)
- **Proteínas-Proteínas** (Enzima-ligando, Receptor-ligando, Regulador - diana, etc)
- **Proteínas-Ligando** (azúcares, lípidos, metales, etc.)



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

## Inmunofluorescencia



# TECNICAS **↑** AFINIDAD **↑** ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

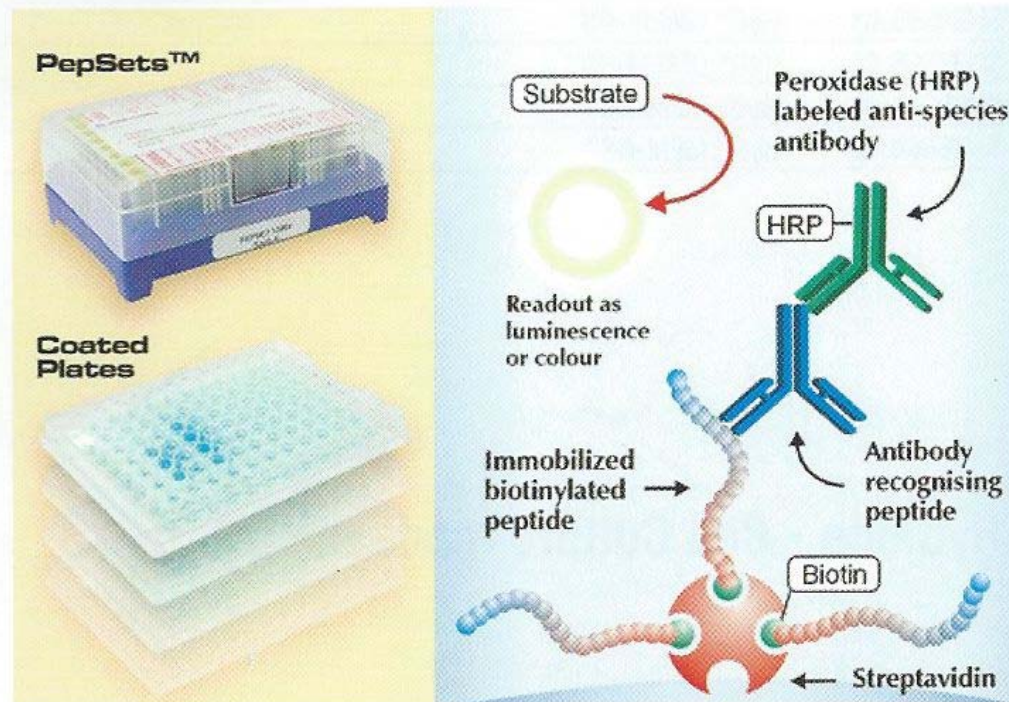


Figure 1. Indirect ELISA schematic using biotinylated peptides and streptavidin or NeutrAvidin™ Coated Plates.





TECNICAS  AFINIDAD  ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA



ALBERT HEWETT COONS





# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

## Eslabones previos

PRIMER TERCIO SIGLO PASADO (XX):

### INMUNOLOGÍA:

1907	ARRHENIUS	INMUNOQUÍMICA
1926	FELTON	PURIFICACIÓN ANTICUERPOS
1934	MARRACK	REACCIÓN Ag-Ac
1936	IRWIN	INMUNOGENÉTICA
1939	TISELIUS	Ac = $\gamma$ GLOBULINAS



TECNICAS ↑ AFINIDAD ↑ ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

ALBERT HEWETT COONS

1912 (28 JUNIO) ----- 1978 (30 SEPTIEMBRE)

1934 --- 1937 GRADO DOCTOR

1935 CURSO INMUNOLOGIA HANSS ZINSSER HARVARD M S

Dr ENDERS J (VERANO 1935) Se familiariza y adquiere destreza utilizacion Ac

1937 --- 1939 RESIDENCY TRAYNING MEDICINA MASS GEN HOSP

1939 THORNDIKE MEM LAB (BOSTON CITY HOSP)  
DR HANSS ZINSSER

1939 (Verano) INSTITUTO DE PATOLOGIA LA CHARITE BERLIN DR APITZ K

NODULO DE ASCHOFF (FIEBRE REUMATICA) HIPERSENSIBILIDAD LOCAL  
estreptococo A / anticuerpos circulantes

DESARROLLA LA ORIGINAL IDEA DEL MARCAJE Ac CON SEÑAL VISIBLE



# TECNICAS AFINIDAD ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

ALBERT HEWETT COONS

1912 (28 JUNIO) ----- 1978 (30 SEPTIEMBRE)

1940 --- 1942

REGRESA LAB BACT / INMUNOL (HARVARD M S) RESEARCH FELLOW

MINOT G (TML) y ENDERS J (DEP BACT / INMUNOL) animan a proseguir estudios

FIESSER L (Prof quimica organica (HARVARD M S)

CREECH H y JONES N : CONJUGACION ISOCIANATOS CON PROTEINAS

BERLINER E (estudiante) resolver problemas sintesis

ISOCIANATO FLUORESCEINA

1941 produce anticuerpos marcados con: isocianato antraceno / fluoresceina

1942--- 1945

Sirve en MEDICAL CORPS of the ARMY como PATOLOGO y director LAB Pacifico sud-oeste



TECNICAS ↑ AFINIDAD ↑ ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

ALBERT HEWETT COONS

1912 (28 JUNIO) ----- 1978 (30 SEPTIEMBRE)

1946 --- 1959

REGRESA LAB BACT / INMUNOL (HARWARD M S) RESEARCH FELLOW / 1967  
INSTRUCTOR y luego VISITING PROFESSOR-  
En 1971 Prof Dep PATHOLOGY

1950 LOCALIZACION Ag EN TEJIDOS ANIMALES y Ag VIRALES  
MARCAJE Ac e identificacion Ag

1960 PREMIOS y HONORES. COONS: persona tranquila, afable y modesta, volcada en su  
trabajo, familia, amigos y estudiantes

TECNICA RUTINARIA : IF directa e indirecta

1969 NAIRN RC : FLUORESCENT PROTEIN TRACING 172 / 500 pag 3000 citas  
GRAN IMPACTO EN LABS INVESTIGACION CELLULAR, BIOLOGIA MOLECULAR,  
NEUROBIOLOGIA

Ausencia aceptacion Patologos (dogmatizantes) colorantes histologia clasica



TECNICAS

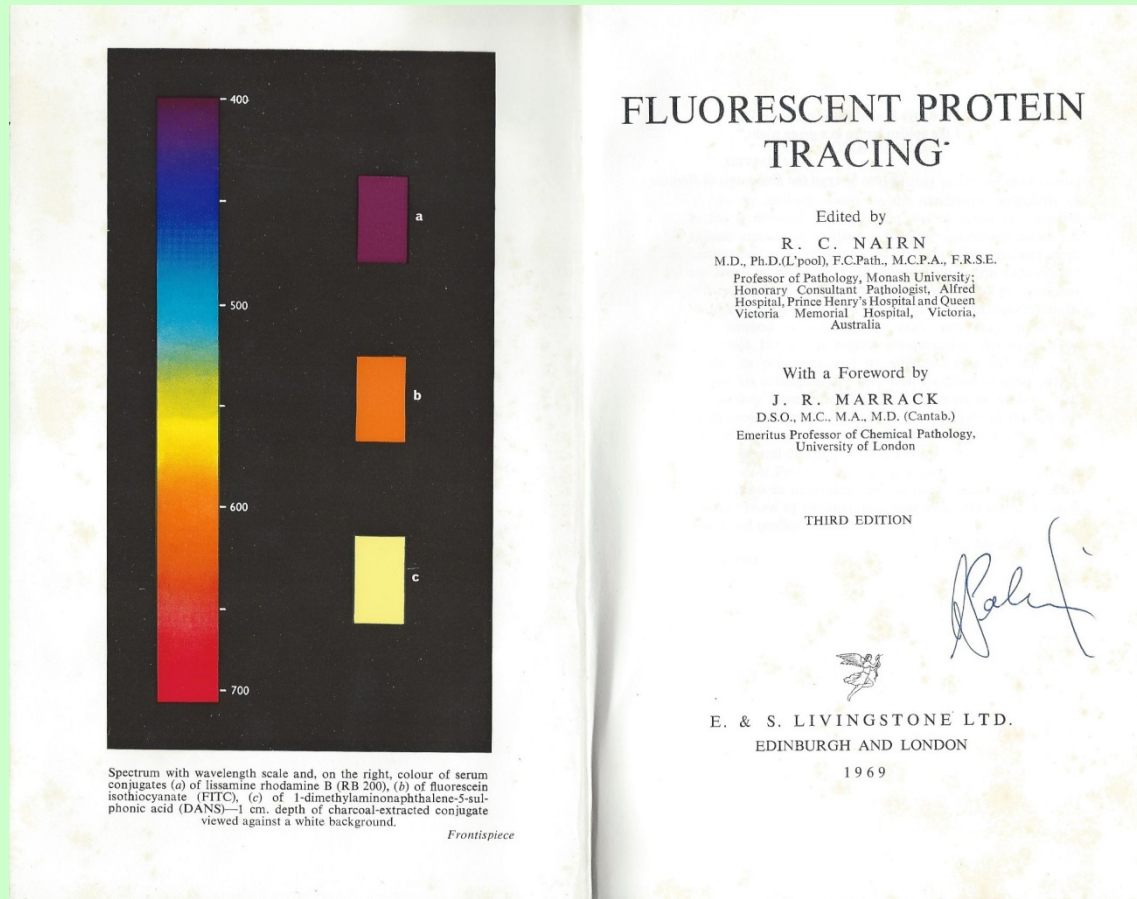


AFINIDAD

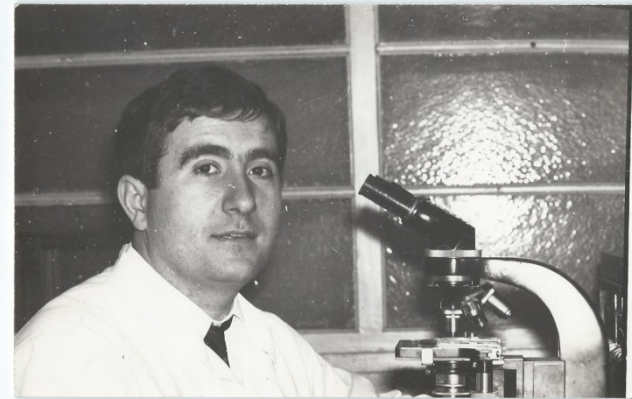
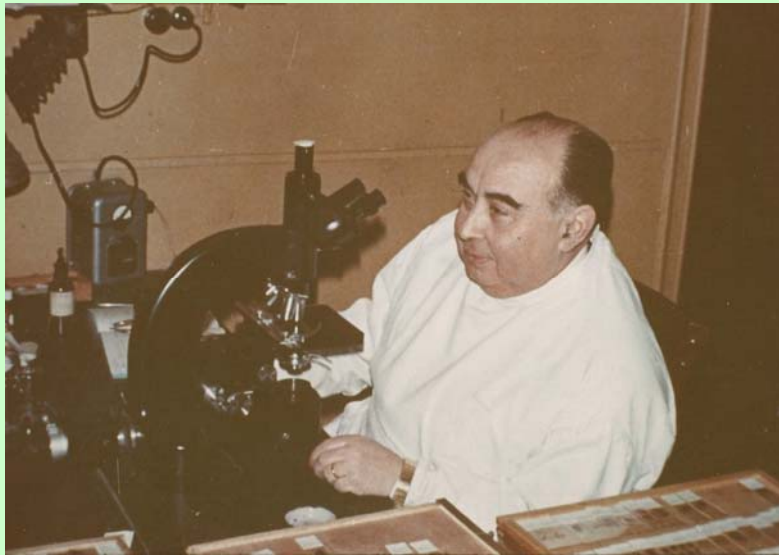


ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA



**TECNICAS** ↑ **AFINIDAD** ↑ **ESPECIFICIDAD** **EN BIOMEDICINA**



**TECNICAS ↑ AFINIDAD ↑ ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA**

**CATEDRA HISTOLOGÍA y ANATOMÍA PATOLÓGICA  
PROF JG SANCHEZ LUCAS**

1960 (julio )

ALUMNO INTERNO

LABORATORIO ANATOMIA PATOLOGICA:

PROCEDIMIENTOS:

CONGELACION CO<sub>2</sub>. Tecnicas: Pepita y Pruden

PARAFINA: muy pocas inclusiones

TECNICAS ESPECIALES: PAS, ROJO CONGO, AZUL de PRUSIA  
ORCEINA, TRICROMICO MASON van GIESON, PLATAS ..... etc

EQUIPAMIENTO:

MICROTOMO CONGELACION CO<sub>2</sub>, MICROTOMOS ROTATORIO Y  
DESLIZAMIENO PARAFINA

ESTUFA PARAFINA, BALANZA PRECISION

LABORATORIO FOTOGRAFICO B / N

MICROSCOPIOS TRINOCULARES (2), MONOCULARES PRACTICAS





TECNICAS  AFINIDAD  ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA





**TECNICAS ↑ AFINIDAD ↑ ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA**

**CATEDRA HISTOLOGÍA y ANATOMÍA PATOLÓGICA  
PROF JG SANCHEZ LUCAS**

1960--- 1970 AUTOFORMACION

**ASPECTOS MORFOLOGICOS:**

TEORICOS: HISTOLOGIA / CITOLOGIA / ANATOMIA PATOLOGICA

PRACTICOS: REPASO DIAGNOSTICOS PROF SANCHEZ LUCAS

BIBLIOGRAFIA: ASCHOFF, MASON, ALBERTINI, EVANS, ACKERMAN,  
FASCICULOS AFIP. REV: CANCER, AJCP

**ASPECTOS TECNICOS HISTOPATOLOGICOS:**

CLASICOS: COLORANTES ANILINA, IMPREGNACIONES ARGENTICAS

MANUALES: CONN (1960), ROMEIS (1928)

**STAIN TECHNOLOGY:**

EQUIPAMIENTO PROCESAMIENTO MUESTRAS TISULARES

MYR ( Sr OLIVAR )

COLORANTES: INDICE COLOR (Stain commis 1922), COL CERTIFIC  
COMERCIALIZACION ANTICUERPOS MARCADOS FLUORESCEINA



TECNICAS



AFINIDAD



ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA

ELEMENTOS  
DE  
**HISTOLOGÍA NORMAL**  
Y DE TÉCNICA MICROGRÁFICA

POR  
S. RAMÓN Y CAJAL  
Y  
J. F. TELLO Y MUÑOZ  
Profesor de Histología y Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina  
de Madrid, jubilado

DÉCIMOCUARTA EDICIÓN  
de los ELEMENTOS DE HISTOLOGÍA NORMAL  
y de TÉCNICA MICROGRÁFICA, de S. RAMÓN Y CAJAL  
notablemente reformada

EDITORIAL CIENTIFICO-MEDICA  
BARCELONA - MADRID - VALENCIA - LISBOA - RIO DE JANEIRO  
1 9 5 6

SEPTIMA EDICION

*Tratado de*  
**HISTOLOGIA**

DR. ARTHUR W. HAM

Profesor, Departamento de Anatomía,  
Facultad de Medicina, University of Toronto

Traducido al español por  
DR. ALBERTO FOLCH PI  
DR. SANTIAGO SAPIÑA RENARD



*Interamericana*

México - Argentina - España - Brasil - Colombia - Chile - Ecuador - Perú - Uruguay - Venezuela

**HISTOLOGÍA**  
Y ANATOMÍA MICROSCÓPICA  
HUMANAS

POR EL  
Prof. Dr. W. BARGMANN  
Catedrático de Anatomía en la Universidad de Kiel

TRADUCCIÓN ESPAÑOLA  
DE LA SEXTA EDICIÓN ALEMANA

POR EL  
Prof. Dr. JULIO G. SÁNCHEZ-LUCAS  
Catedrático de Histología y Anatomía Patológica  
de la Facultad de Medicina de Barcelona

Con 695 ilustraciones en negro y color

TERCERA EDICIÓN



EDITORIAL LABOR, S. A.  
BARCELONA - MADRID - BUENOS AIRES  
BOGOTÁ - CARACAS - LISBOA  
RIO DE JANEIRO - MÉXICO - MONTEVIDEO

1968



TECNICAS



AFINIDAD



ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA

ATLAS OF TUMOR PATHOLOGY  
Section VII—Fascicle 25  
**TUMORS OF THE LIVER  
AND  
INTRAHEPATIC BILE DUCTS**  
by  
**Hugh A. Edmondson, M. D.**  
Professor of Pathology, University of Southern California, School of Medicine  
Los Angeles, California

Published by the  
ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY  
Under the Auspices of the  
SUBCOMMITTEE ON ONCOLOGY  
of the  
COMMITTEE ON PATHOLOGY  
of the  
DIVISION OF MEDICAL SCIENCES  
of the  
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES—NA  
RESEARCH COUNCIL  
Washington, D. C.  
1958  
Accepted for Publication February 1957

For sale by the American Registry of Pathology  
Annual Forces Institute of Pathology  
Washington 25, D. C.

**Cancer**  
DIAGNOSIS, TREATMENT, and PROGNOSIS

**Lauren V. Ackerman, M.D.**  
Professor of Surgical Pathology and Pathology,  
Washington University School of Medicine, St.  
Louis, Mo.; Surgical Pathologist in Chief for  
Barnes and Affiliated Hospitals and St. Louis  
Children's Hospital, St. Louis, Mo.; Consultant,  
Elliott Pritchard State Cancer Hospital, Columbia,  
Mo.; Consultant, Armed Forces Institute of  
Pathology, Visiting Professor of Surgical Pathology,  
University of Wisconsin, Johannesburg,  
R.S.A. (1969)

**Juan A. del Regato, M.D.**  
Director, Franco Cancer Hospital, Colón,  
Spain, Cuba; Clinical Professor of Pathology,  
University of California School of Medicine,  
Member, National Advisory Cancer Council  
Member, Board of Consultants, American  
of Radiology; Member, Advisory Council  
Diagnosis and Medicine, Puerto Rico  
Center; Member, Committee on the Canal  
System, National Academy of Science-National  
Research Council

With 783 text figures and 4 color plates  
FOURTH EDITION

**THE C. V. MOSBY COMPANY**  
St. Louis 1970

CLAUDE GOMPEL  
PAUL WILKIN  
*Service d'Anatomie pathologique de l'Institut Jules Bordet,  
Centre des Tumeurs de l'Université Libre de Bruxelles,  
Service d'Anatomie pathologique de l'Hôpital de  
St-Gilles - Bruxelles*

**ANATOMIE PATHOLOGIQUE  
GYNÉCOLOGIQUE  
ET OBSTÉTRICALE**  
CORRÉLATIONS ANATOMO-CLINIQUES

Avec la collaboration de  
PAUL WILKIN  
*Service de gynécologie et d'obstétrique  
Hôpital universitaire Saint-Pierre - Bruxelles*

*Julien Salain-Forgue*

EDITIONS ARSCIA S.A.  
60, rue de l'Étoile  
BRUXELLES

LIBRAIRIE MALOINE S.A.  
27, rue de l'École de Médecine  
PARIS V<sup>e</sup>

1963

**TRATADO DE  
PATOLOGÍA GENERAL  
Y  
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

FOR  
**HERWIG HAMPERL**  
PROFESOR E IBERICISTA DEL INSTITUTO DE PATOLOGÍA  
DE LA UNIVERSIDAD DE BONN

TRADUCCIÓN DE LA 27.<sup>a</sup> EDICIÓN ALEMANA  
FOR  
**JULIO G. SÁNCHEZ-LUCAS**  
COORDINADOR DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENTE, CLÍNICA  
DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE BARCELONA

CON 665 FIGURAS  
OCTAVA EDICIÓN ESPAÑOLA

*Julien Salain-Forgue*

EDITORIAL LAB  
BARCELONA - MADRID - BUENOS AIRES  
MÉDICO - MONTEVÍDEO  
1967

F. MASSON  
PROFESOR A L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER  
MEMBRE DU CONSEIL NATIONAL DE RECHERCHE

**TUMEURS HUMAINES  
HISTOLOGIE  
DIAGNOSTICS ET TECHNIQUES**

DEUXIÈME ÉDITION  
ENTièrement révisée et augmentée  
405 FIGURES DANS LE TEXTE  
10 PLANCHES EN COULEURS

*Julien Salain-Forgue*

LIBRAIRIE MALOINE  
UNIQUE ANCIENNE D'ÉDITIONS MÉDICALES ET SCIENTIFIQUES  
81, RUE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE - PARIS  
1956

**HISTOLOGICAL  
APPEARANCES  
OF TUMOURS**

WITH A CONSIDERATION OF THEIR  
HISTOGENESIS AND CERTAIN ASPECTS OF  
THEIR CLINICAL FEATURES AND BEHAVIOUR

By  
**R. WINSTON EVANS**  
F.D., M.S.(GÉNÉRAL PRACTICE), M.B.C.S.(GEN.), L.R.C.P.(GEN.), F.R.C.P.  
Consultant Pathologist, United Liverpool Hospitals, Chester, Liverpool  
Resident, Visiting Professor of Pathology, University of Chicago and  
University of Texas, Lecturer in Clinical Pathology, University of  
Liverpool, Faculty Research Fellow in Haematology and Immunity,  
Medical Research Unit at the Christie Hospital and Holt Radium Institute,  
Manchester.

With 1311 Illustrations  
SECOND EDITION  
REPRINT

*Julien Salain-Forgue*

**E. & S. LIVINGSTONE LTD.**  
EDINBURGH AND LONDON  
1968

**GYNECOLOGY**

By **LANGDON PARSONS, M.D.**  
*Clinical Professor of Obstetrics and Gynecology,  
Harvard Medical School*

And **SHELDON C. SOMMERS, M.D.**  
*Associate Pathologist, Francis and Taylor Hospital  
Associate Professor of Pathology,  
Columbia University College of Physicians and Surgeons*

**W. B. SAUNDERS COMPANY**  
*Philadelphia and London*  
**1964**

**PATHOLOGY  
ANNUAL**

VOLUME 3  
**1968**

*Julien Salain-Forgue*

BUTTERWORTHS  
LONDON

APPELLA-CENTURY-CROFTS  
Division of the Macmillan Group  
NEW YORK



TECNICAS



AFINIDAD



ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA

Prog Obst Gine 1966

LA CITOLOGIA HORMONAL DEL EMBARAZO

S. DEXEUS, JR., J. M. CARRERA, R. CASANELLES

1964

THE CYTOLOGIC  
DIAGNOSIS  
OF CANCER

RUTH M. GRAHAM

ROSWELL PARK MEMORIAL INSTITUTE  
BUFFALO, NEW YORK

Second Edition

W. B. SAUNDERS COMPANY  
PHILADELPHIA AND LONDON

FACULTAD DE MEDICINA DE BARCELONA. CATEDRAS DE ANATOMIA PATOLOGICA Y OBSTETRICIA  
Y GINECOLOGIA II.ª — PROFESORES: DR. J. G. SANCHEZ LUCAS Y DR. M. USANDIZAGA

EMILIO GIL VERNET

(Profesor Adjunto de Obstetricia y Ginecología II.ª — Becario del C. S. de I. C.)

J. ESTEBA CABALLERIA  
R. IBÁÑEZ SORIANO

Acta ginecologica 1952

FUNDAMENTOS Y VALOR DE LA CITOLOGIA  
VAGINAL EN EL DIAGNOSTICO DEL  
CANCER DE CUELLO DE UTERO

Sociedad Española  
de  
Citología

Título de Socio  
de Número

Dr. Don Antonio Palacín Forgue

se acredita por este título como miembro de la Sociedad Española  
de Citología, con todos los derechos reglamentarios.

Madrid, 7 de Diciembre de 1967



Secretario

Presidente

Tesorero

DIAGNOSTIC CYTOLOGY  
AND  
ITS HISTOPATHOLOGIC BASES

LEOPOLD G. KOSS, M.D.

Attending Pathologist and Chief, Cytology Service,  
Memorial Hospital for Cancer and Allied Diseases;  
Associate Member and Head, Section of Cyto-  
pathology, Division of Pathology, Sloan-Kettering  
Institute for Cancer Research; Associate Professor  
of Pathology, Postgraduate School of Medical Sci-  
ences, Sloan-Kettering Division of Cornell University  
Medical School; Visiting Pathologist, The James  
Ewing Hospital, New York, New York

In Association with  
GRACE R. DURFEE, B.S.  
Chief Cytotechnologist  
Memorial Hospital for Cancer and Allied Diseases

Antonio Palacín Forgue



London  
PITMAN MEDICAL PUBLISHING CO., LTD.

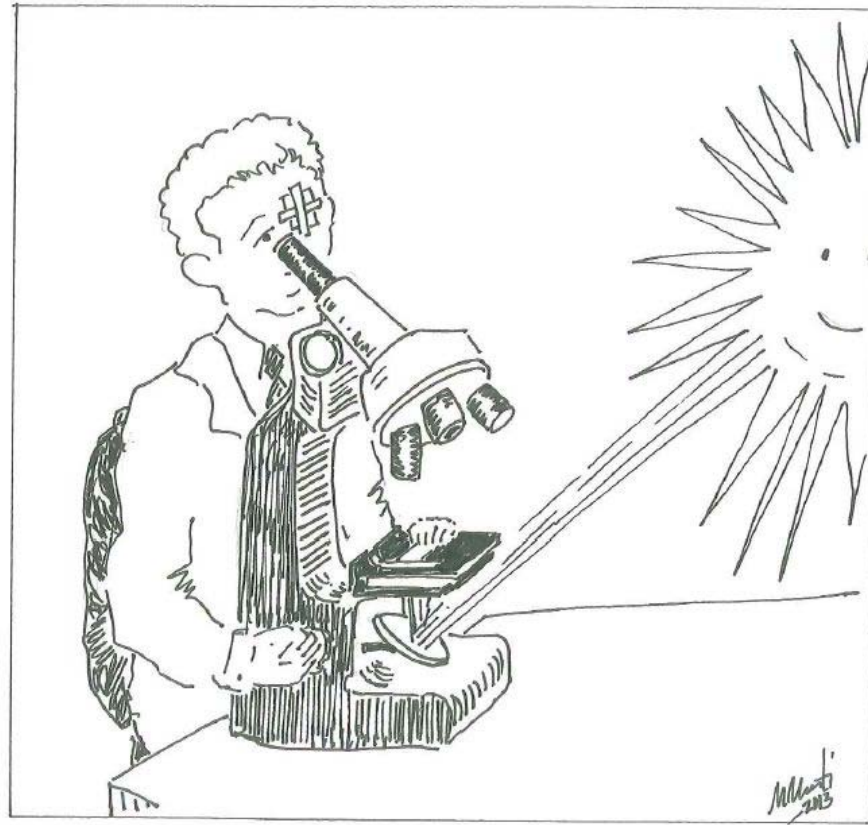
Philadelphia  
J. B. LIPPINCOTT COMPANY

1961





**TECNICAS** ↑ **AFINIDAD** ↑ **ESPECIFICIDAD** **EN BIOMEDICINA**



TECNICAS

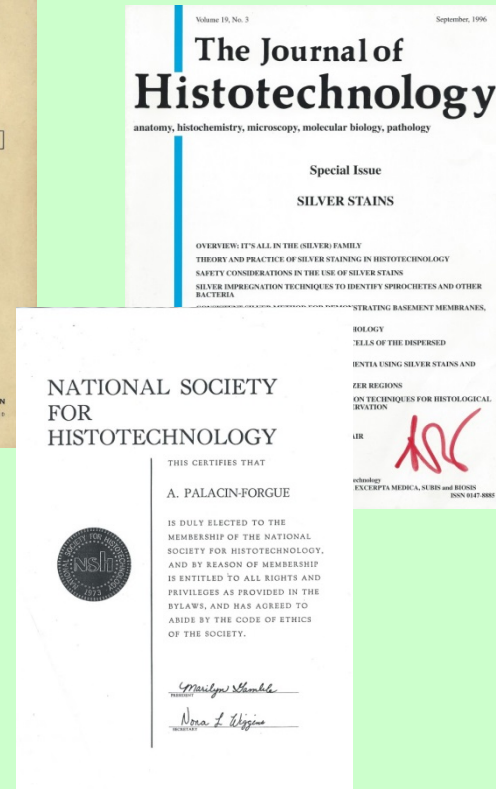
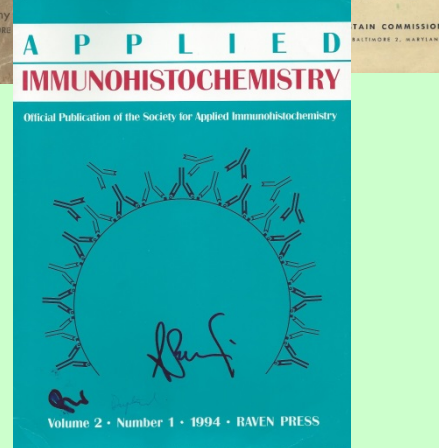
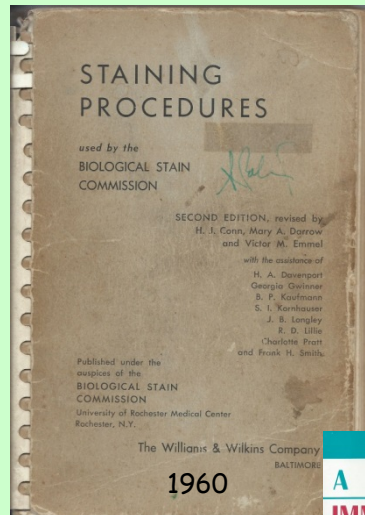
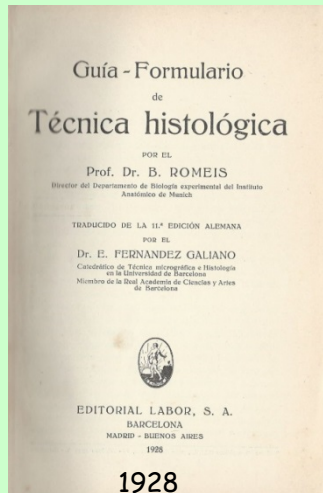


AFINIDAD



ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA



TECNICAS

↑ AFINIDAD

↑ ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA

STAIN TECHNOLOGY 9

*Lipshaw* Announces

# AUTOMATION

in STAINING \*



MODEL NO. 2000

**Automatic HISTOLOGY STAINER**

(PAT. APPD FOR)  
Please request complete literature

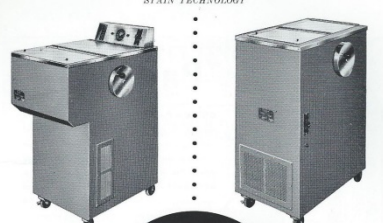
**Lipshaw MANUFACTURING COMPANY**  
7446 CENTRAL AVENUE,  
DETROIT, MICHIGAN 48210

*For Distinct Detail*

A NEWLY DEVELOPED, THOROUGHLY TESTED AND APPROVED INSTRUMENT TO AUTOMATICALLY PERFORM PRACTICALLY EVERY FUNCTION OF ANY PROGRAM FOR ROUTINE AND SPECIAL STAINING OF MICROSCOPE SLIDES.

- Hematology Slides
- Routine Histology
- Papanicolaou Smears
- Special Staining
- Precise Time Control
- Circulating Water Washes
- 25 Stations
- Large Capacity

STAIN TECHNOLOGY 7



**Lipshaw CRYO MICROTOME**  
CRYOSTAT TOME

**NOW AVAILABLE IN THREE MODELS**

**No. 1500 "DELUXE"** Model has every movement known for the most exacting type of frozen sectioning. Complete with 50-AB Rustproof Rotary Microtome. Only \$1490.00

**No. 1700 "CENTRAL"** Model is compact and ideally suited for operating room diagnosis. Complete with 60-AB Rustproof Clinical Microtome. Only \$895.00

**No. 1600 "COMPANION"** Model is readily converted and of practical design with every necessary accessory. Complete with 50-AB Rustproof Rotary Microtome. Only \$1265.00

**Model 50-AB** Is a sturdy, reliable, precise instrument completely equipped with metal-plate and all accessories. Easy to adjust. Adjustable plate and all accessories. Only \$620.00

**Model 60-AB** Is of an entirely new design with all controls on the top. Convenient to use. Easy to adjust. Adjustable plate and all accessories. Only \$345.00

**RUST-PROOF MICROTOMES**

PLEASE WRITE FOR COMPLETE LITERATURE

**Lipshaw MANUFACTURING CO.** 7446 CENTRAL AVE. • DETROIT 10, MICH.

VERSATILE . . .

SOLID STAINLESS STEEL  
**TISSUE CAPSULES and AUTOPSY BASKETS**  
*of the finest quality by*  
**Lipshaw MANUFACTURING CO.**  
7446 CENTRAL AVENUE • DETROIT 10, MICHIGAN

Immediate Delivery COMPLETE LITERATURE AND CATALOG AVAILABLE

. . . FOR MICRO SPECIMEN

**NO. 350** 1/4 SIZE  
General purpose capsule for routine or micro specimens. Very precise enclosure. 25 mm in diameter by 6 mm deep. Extra fine (50 x 50) bottom mesh. \$1.25 each \$19.00 dozen

**FOR ROUTINE HISTOLOGY**

**NO. 331** ACTUAL SIZE  
Positive clip-on cover for micro specimen, 20 mm in diameter by 5 mm deep. Fine mesh (20 x 20). \$1.50 ea. \$16.50 doz.

**NO. 331-X** 1/2 SIZE  
With extra fine mesh (50 x 50). \$1.60 ea. \$17.60 doz.

**LARGE CAPACITY**

**NO. 330** 1/4 SIZE  
Allows partitioning up to four sections. Five sturdy hugs grasp the base securely. Inside measurements 27 mm x 6 mm deep. \$2.60 each \$17.60 dozen

**NO. 330-S** 1/4 SIZE  
Separators for same. \$2.20 doz. sets \$20 set

**NO. 349** 1/2 SIZE  
Flexible snap cover easily attached and removed. 50 mm long, 23 mm wide, 12 mm deep. \$5.00 each \$55.00 dozen

**UNIQUE DESIGN . . .**

**NO. 343** ACTUAL SIZE  
Spring clamp provides a secure enclosure. Inside dimensions 19 x 12 mm. Fine mesh (20 x 20). \$1.75 each \$19.00 dozen

**NO. 343-X** 1/2 SIZE  
With extra fine mesh (50 x 50). \$1.90 ea. \$20.90 doz.

**FOR AUTOPSY**

**NO. 342** 1/2 SIZE  
Perforated throughout for free movement of fluids. Snap cap provides positive enclosure. 35 mm in diameter by 20 mm deep. \$3.00 each \$33.00 dozen

**NO. 332** 1/2 SIZE  
Same construction as No. 342 (above). Dimensions are 35 mm in diameter by 20 mm deep. \$3.50 each \$38.00 dozen

**NO. 328** 1/2 SIZE  
Clip-on cover provides a tight and positive enclosure. Inside dimensions are 23 mm by 7 mm deep. \$1.50 ea. \$16.50 dozen

**NO. 329** 1/2 SIZE  
Rim expansion feature. Closed dimensions are 40 mm by 7 mm deep and may be expanded to 11 mm deep. \$1.50 each \$16.50 dozen





TECNICAS

↑ AFINIDAD

↑ ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA

enero 1965

STAIN TECHNOLOGY

5

# CHROMA - GRÜBLER STAINS

By Chroma-Gesellschaft, formerly G. Grübler & Co.  
Biological Stains, Chemicals, Indicators, Reagents

A few of our world-renowned products:

Amido Black	Hematoxylin	Osmic Acid
Azure I and II	Methyl Green	Pyronin
Cresyl Fast Violet	Nuclear Fast Red	Saffron
Giemsa Stain	Orcein	Wright's Stain

A complete line of dyes for routine staining

Pre-cleaned Microscope Slides and Cover Glasses

Progressive Laboratories' Fluorescent Antibody

Stainless Steel Surgical Instruments

No shipping charges within the United States  
Federal Supply catalog V7023P-8499

Write for Catalog

Order from

U. S. Distributor:

**ROBOZ SURGICAL INSTRUMENT CO., INC.**

810 18th Street, N.W.

Washington 6, D. C.



## PIONEERS YES... OLD-HAT NO!

In 1922, when the Biological Stains Commission was organized, National Aniline fully supported the endeavor to set uniform standards.

Fact is, at that time we were the only domestic producers, having served the needs of pathologists for years. We had already developed a rigid quality control program to assure consistent results in the use of our stains.

Today we manufacture, from our own basic raw materials, a comprehensive range of biological stains and indicators, including a complete line of certified products. Our quality standards are still unsurpassed. Prompt service is available through our network of 85 local distributors.

Mail the coupon below for a copy of our complete catalog and a list of our distributors. You'll see why more users specify National® Stains than any other brand.



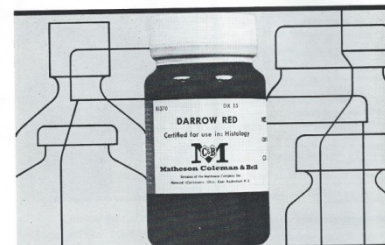
**NATIONAL ANILINE DIVISION**  
100 HUNTERS GREENWAY, NEW YORK 46, N. Y.  
Sales Office: Chicago, Cleveland, Dallas, Houston, Indianapolis, Philadelphia, St. Louis, St. Paul, Washington, D. C.  
1000 Broadway, New York 18, N. Y.  
Branches: London, London, England  
40110 (CINCINNATI) O., East Rutherford, N. J.

Please send me your distributor list and the new National Biological Stains and Indicators Price List.

NAME \_\_\_\_\_ TITLE \_\_\_\_\_  
HOSPITAL or COMPANY \_\_\_\_\_  
ADDRESS \_\_\_\_\_  
CITY \_\_\_\_\_ ZONE \_\_\_\_\_ STATE \_\_\_\_\_

12

STAIN TECHNOLOGY



Is there a difference in Certified Stains?

You bet there is!

It's true, all certified stains that require an assay have a minimum acceptable dye content—but MC&B goes further. We strive for and frequently achieve higher levels. This results both in a bonus of active product and a minimum of possible objectionable intermediates.

MC&B is a pioneer in the development of quality stains. In fact, the most recent biological stain granted certified status, by The Biological Stains Commission, was developed in conjunction with MC&B research. Write for Catalog, or call your MC&B Distributor.

Division of The Matheson Ch., Inc.  
Newwood (Cincinnati) O., East Rutherford, N. J.

MC&B





TECNICAS ↑ AFINIDAD ↑ ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

## Claves de la evolución histórica

- VISUALIZACIÓN: MO, ME, FOTOCOLORIMETRO, LASER, EMISION RAD  
MARCAJE  
AMPLIFICACIÓN  
LECTURA
- LIGANDOS: ANTICUERPOS, LECTINAS, SONDAS  
ALTA AFINIDAD Y ESPECIFICIDAD
- DIANA: ANTÍGENO, OLIGOSCARIDOS, SECUENCIA BASES  
PRESERVACIÓN; RECUPERACIÓN ANTIGÉNICA



**TECNICAS** ↑ **AFINIDAD** ↑ **ESPECIFICIDAD** **EN BIOMEDICINA**  
**Desarrollo histórico INMUNOHISTOQUÍMICA**

## **CONJUGACION LIGANDOS CON SEÑAL**

1966

**GRAHAM  
KARNOVSKY**

Revelado PR por DAB

1966 Cr h. Séanse Acad Sci

**AVRAMEAS  
URIEL J**

Marcaje de Ac con enzimas en  
immunodifusión (glutaraldehido)

1966 HISTOCHEM CYTOCHEM

**NAKANE PK  
PIERCE GB**

Marcaje de Ac con enzimas  
(periyodato)



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

## Señales

Igs  
PROT-A  
AVIDINA

M/F

FLUOROCROMOS: FITC, TRITC

M/O

ENZIMAS

PEROXIDASA RABANO  
FOSFATASA ALCALINA  
B GALACTOSIDASA  
GLUCOSA OXIDASA

COLOIDES METÁLICOS

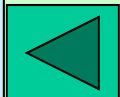
ORO  
PLATA

M/E

ENZIMAS: PEROXIDASA RABANO

FERRITINA

ORO COLOIDAL



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

## Señales

-SUERO TOTAL  
-FRACCIÓN Igs  
-FRACCIÓN Ig ESPECÍFICA  
-FRAGMENTO Fab  
-FRAGMENTO F(ab')<sub>2</sub>  
-FRAGMENTO Fab'

CONJUGACIÓN

### FLUOROCROMOS

- \*FITC (Isotiocianato de Fluoresceina)
- \*TRITC (Isotiocianato de tetrametil-Rodamina)

### ENZIMAS

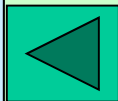
- \*Peroxidasa
- \*Fosfatasa alcalina
- \*Glucosa oxidasa
- \*β Galactosidasa

### METALES ELECTRODENSOS

- \*Ferritina
- \*Oro coloidal

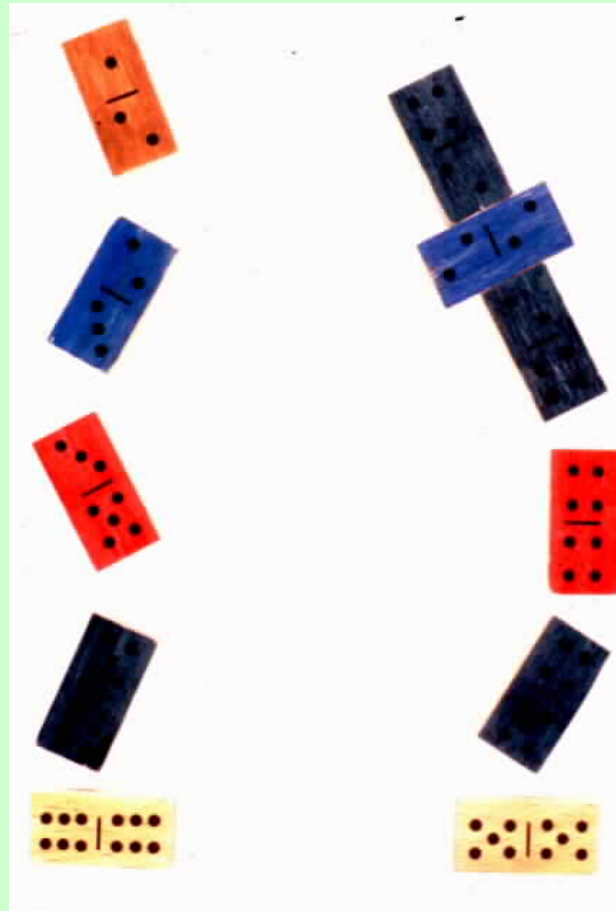
### BIOTINA

### HAPTENOS



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

## AMPLIFICACION DE LA SEÑAL



AMPLIFICACION  
SEÑAL



TECNICAS ↑ AFINIDAD ↑ ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA  
AMPLIFICACION DE LA SEÑAL

1968 J HISTOCHEM CYTOCHEM  
MASON TE

T. puente Ig-Enzima (amplificación)

1970 J HISTOCHEM CYTOCHEM  
STERNBERGER LA

Técnica PAP

1979 J HISTOCHEM CYTOCHEM  
GUESDON JL

AVI-BIO en IHQ

1981  
HSU

COMPLEJO AVIDINA-BIOTINA-PR

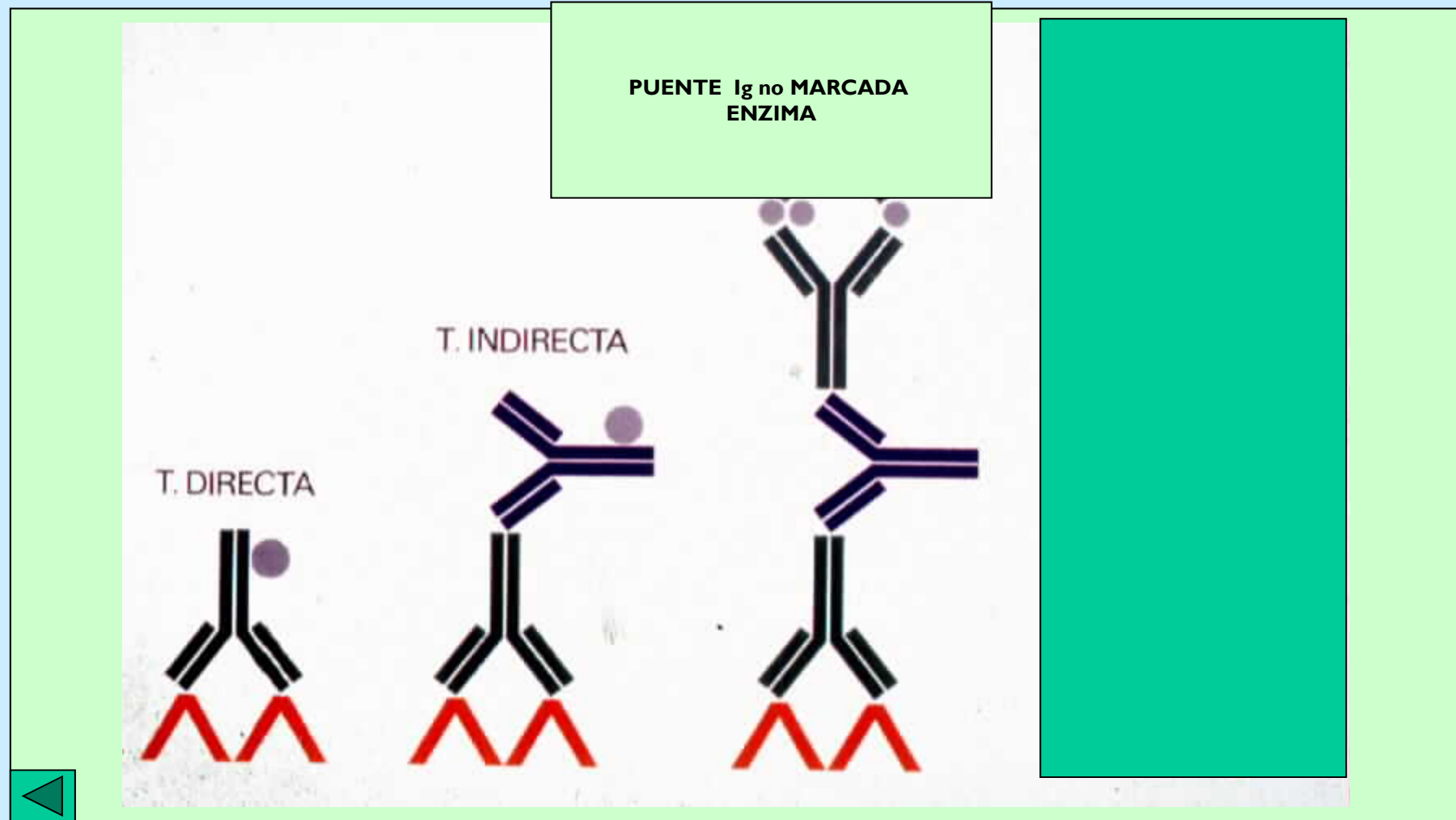


TECNICAS  $\uparrow$  AFINIDAD  $\uparrow$  ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

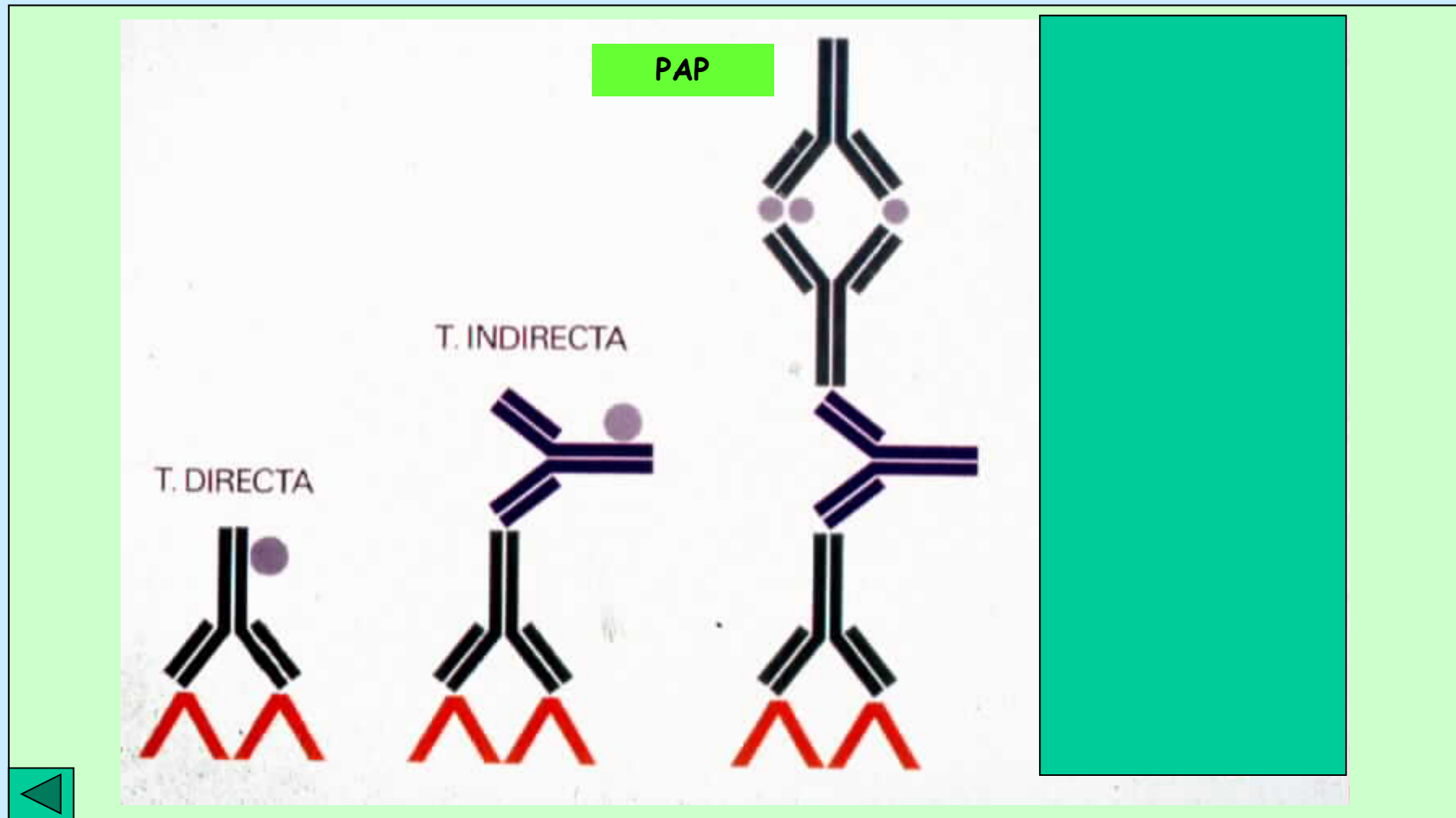
## Amplificación de la señal



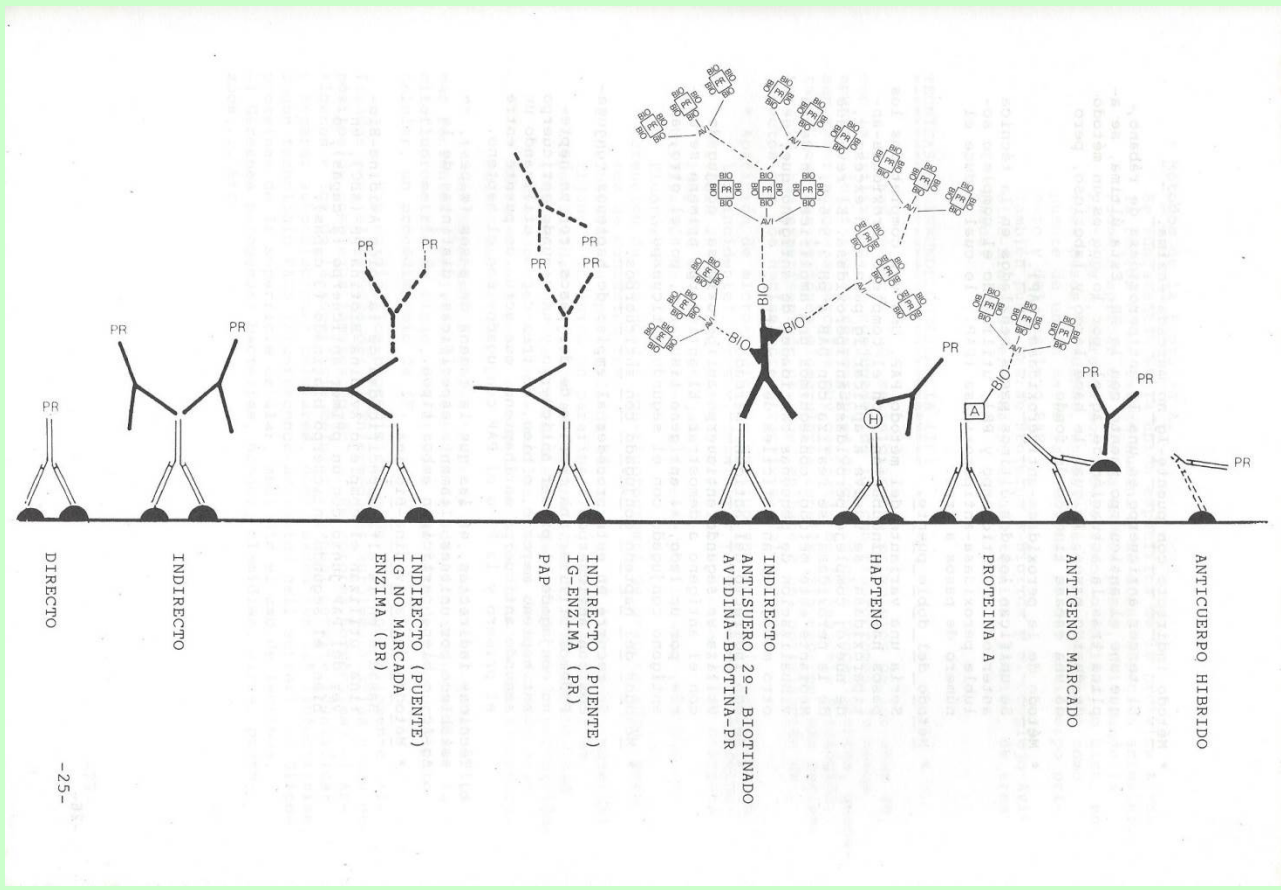


# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

## Amplificación de la señal



# TECNICAS AFINIDAD ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA



TECNICAS

↑ AFINIDAD

↑ ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA

**Qualityline**  
Miles Scientific Europe MILES  
No. 2 1983

**THE AVIDIN-BIOTIN COMPLEX: A UNIVERSAL TOOL FOR BIOLOGICAL SYSTEMS**  
by Meir Wilchek and Edward A. Bayer  
Department of Biophysics, The Weizmann Institute of Science  
Rehovot, Israel

**Introduction**  
The avidin-biotin system consists of the omnipresent vitamin biotin and the egg-white glycoprotein avidin, which is of restricted distribution in nature. These two molecules are characterized by the strongest known biological recognition and subsequent noncovalent interaction. The affinity constant has been estimated at  $10^{15} M^{-1}$ . Reasons for this unprecedented biological interaction are not yet clear, despite several decades of intensive research. More insight into the chemical nature of this interaction may soon be elucidated by X-ray crystallography and other physical means.<sup>1,2</sup>

Although the exact mechanistic features are not known, the strong recognition and binding qualities of avidin, which has four binding sites for biotin, have rendered the system one of the most useful for a wide variety of biological applications.<sup>3-9</sup> To date the avidin-biotin complex has been used as a mediator in isolation, localization and immunological studies. This system is complementary to, or can be substituted for other biological recognition systems (e.g. lectin-sugar, antibody-antigen, and receptor-effector interactions), which exploit the specific binding properties between a protein and its biological counterpart.

**Principle**  
The principle of this system was first implicated by studies which demonstrated that avidin can interact physically with certain enzyme systems, termed "biotin-requiring enzymes" (e.g. carboxylases, decarboxylases and transcarboxylases), in which biotin serves as a natural prosthetic group.<sup>5</sup> The principle was further demonstrated by the purification of avidin on biotin-containing columns,<sup>6</sup> by the binding of avidin to biotin-modified bacteriophages,<sup>7</sup> and conversely by using avidin-containing columns for the isolation of the biotin-containing subunits from biotin-requiring enzyme systems.<sup>8,9</sup> These studies served as prototypes for the development of the system as a general tool; the only obstacle remaining at that point was to devise appropriate means by which to artificially implant the biotin moiety into various biological systems.

Since only the ureido ring is required for recognition of the biotin molecule, the carboxyl group of the valeric acid side chain can be modified chemically for the design of reactive biotinyl derivatives.<sup>10</sup> The latter can be then be used for

grafting into the desired experimental system. The two basic biotin derivatives used today are biotinyl-N-hydroxy-succinimide ester (BNHS) for the biotinylation of amines<sup>11,12</sup> and biotin hydrazide (BHZ) for coupling to aldehyde-derivatives of sugars.<sup>13,14</sup> The system is not limited to these two biotin derivatives, and other possibilities are also available as shown in Figure 1.

Both BNHS (compound I) and BHZ (compound IV) are available from Miles Scientific, and their general use for binding proteins or glycoproteins is presented below. For coupling of BNHS to proteins (Figure 1), the compound is usually dissolved in dimethylformamide and added to the required protein at pH 8.5. The relative amounts of BNHS per protein used depends on the extent of biotinylation desired in any given experimental system. The effective coupling capacity is usually about 70%. A two-fold molar excess of BNHS per number of lysine residues in the given protein is therefore sufficient to modify most of the available lysine groups. Higher ratios may be used to ensure total coupling, however these conditions generally lead to inactivation or even denaturation of the protein. In most cases modification of fewer lysines per protein is advised. For an average-size protein, about five biotin molecules per protein is usually sufficient for subsequent recognition by avidin. There are specific systems described in the literature wherein single biotin molecules have been attached to a given protein molecule (generally a polypeptide effector) which is sufficient for subsequent recognition by avidin. In these systems the biotinyl protein is highly defined and the position and orientation of the biotin group are optimal.<sup>15</sup>

The same criteria apply for the introduction of BHZ to glycoconjugates via reactive aldehyde intermediates or to carboxyl groups (e.g. of proteins) mediated by an appropriate carbodiimide. In the case of glycoconjugates, the extent of biotinylation is controlled by the amount of aldehyde-derivatized sugar moieties generated by prior chemical or enzymatic oxidation. The biotinylated probe can then be interacted with the receptor counterpart and the implanted molecule can in turn be used for isolation, localization or assay purposes using an appropriate avidin-conjugated probe.<sup>16</sup>

Several types of avidin-conjugated probes are possible, including fluorescent,<sup>18</sup> radioactive,<sup>17</sup> electron-dense<sup>18,19</sup>


© Miles Laboratories 1983

*Methods in Enzymology*  
Volume 184

**Avidin-Biotin Technology**

EDITED BY  
**Meir Wilchek**  
DEPARTMENT OF BIOPHYSICS  
THE WEIZMANN INSTITUTE OF SCIENCE  
REHOVOT, ISRAEL

**Edward A. Bayer**  
DEPARTMENT OF BIOPHYSICS  
THE WEIZMANN INSTITUTE OF SCIENCE  
REHOVOT, ISRAEL



ACADEMIC PRESS, INC.  
Harcourt Brace Jovanovich, Publishers  
San Diego New York Boston  
London Sydney Tokyo Toronto

**1990**



TECNICAS  $\uparrow$  **AFINIDAD**  $\uparrow$  **ESPECIFICIDAD** EN BIOMEDICINA  
AVIDINA  $\leftrightarrow$  BIOTINA

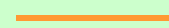


PR

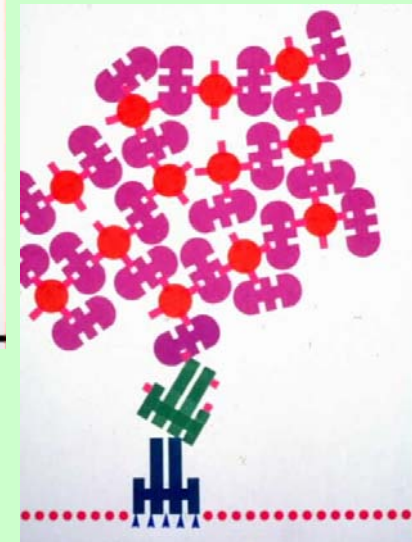
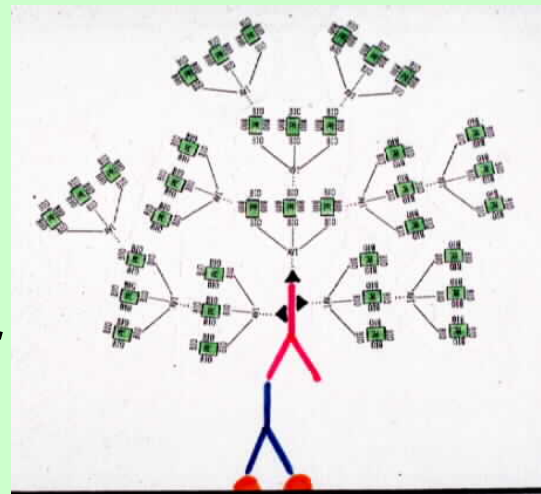
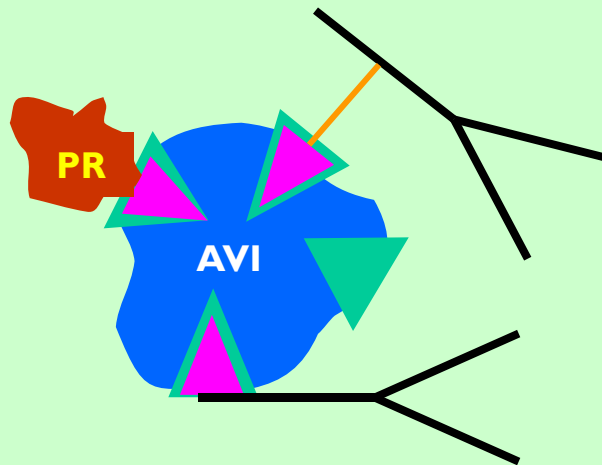
PEROXIDASA DE RÁBANO



BIOTINA



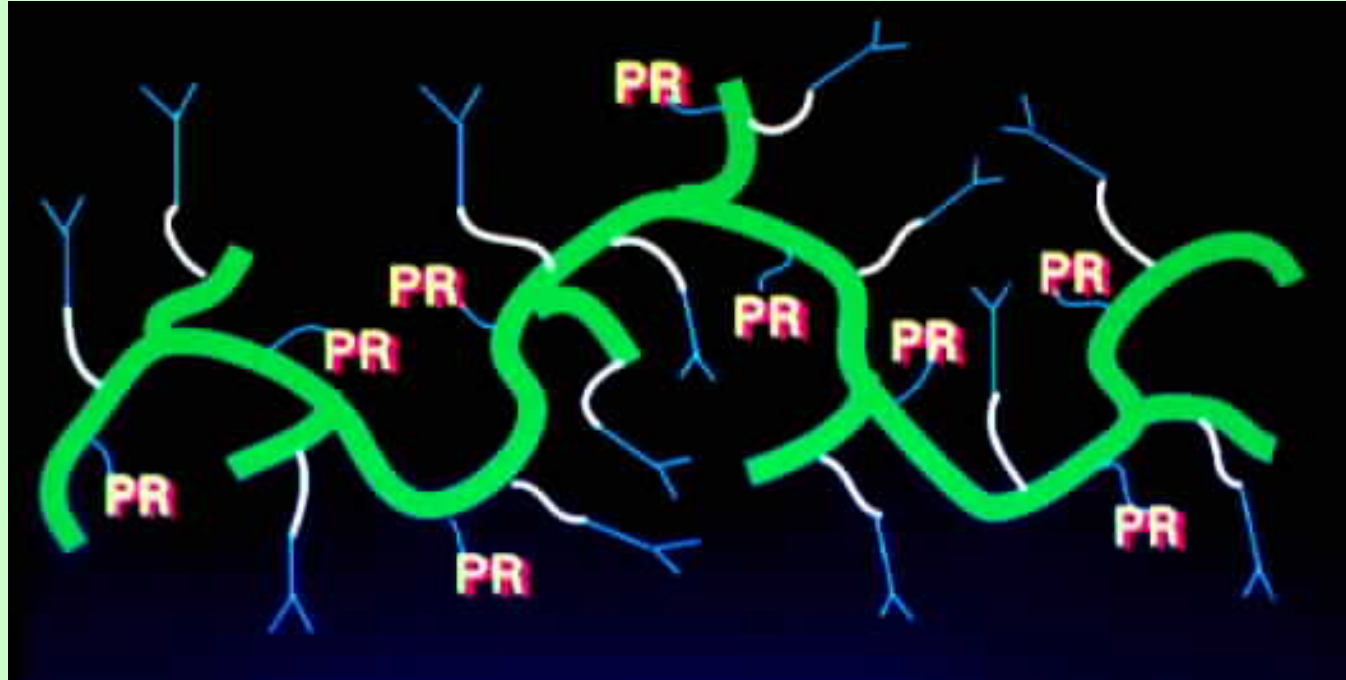
BRAZO ESPACIADOR



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

Amplificación señal: no AVI ↔ BIO

**POLÍMEROS**

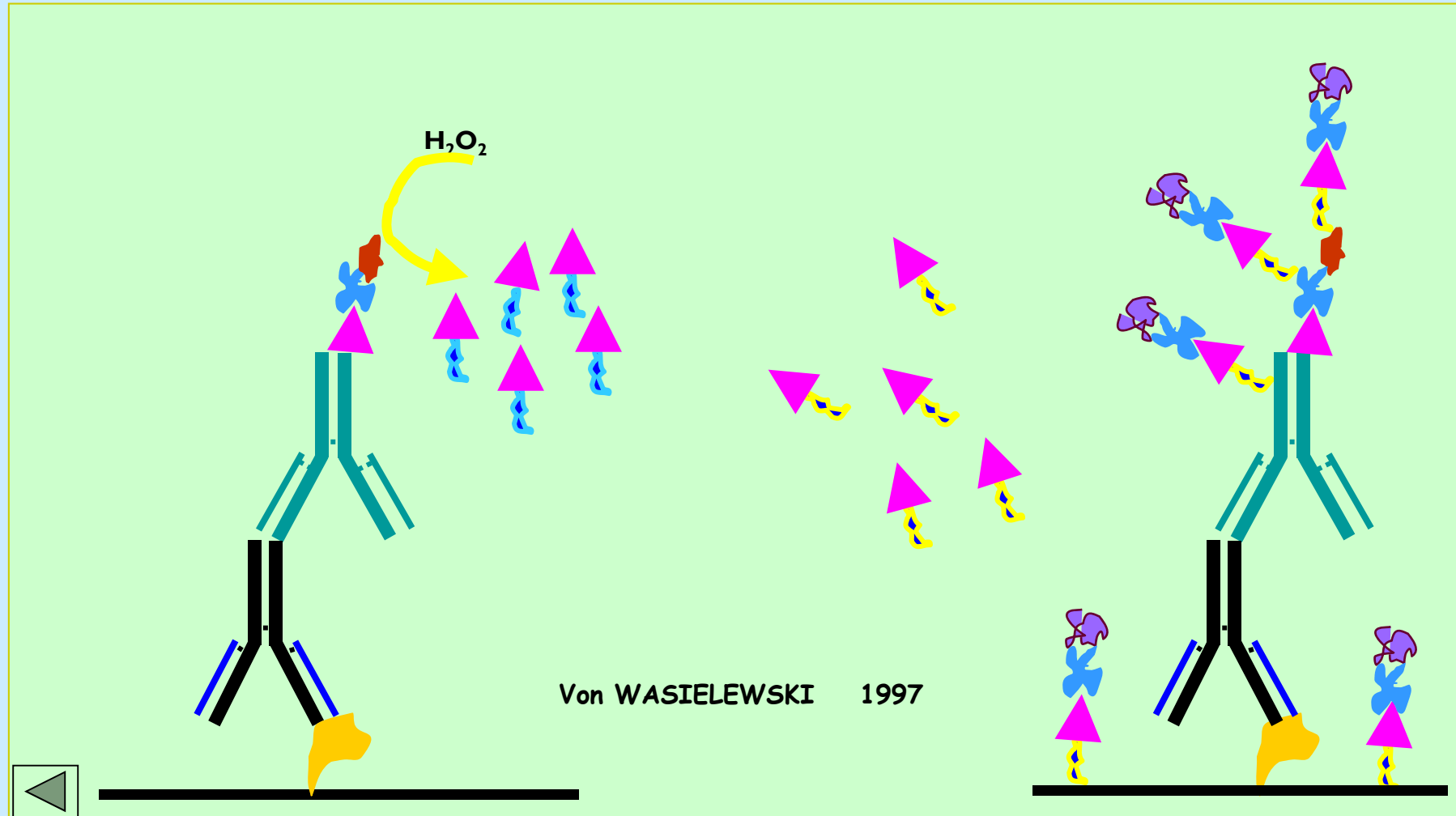


DAKO: EPOS 1993 EnVision+ 1997



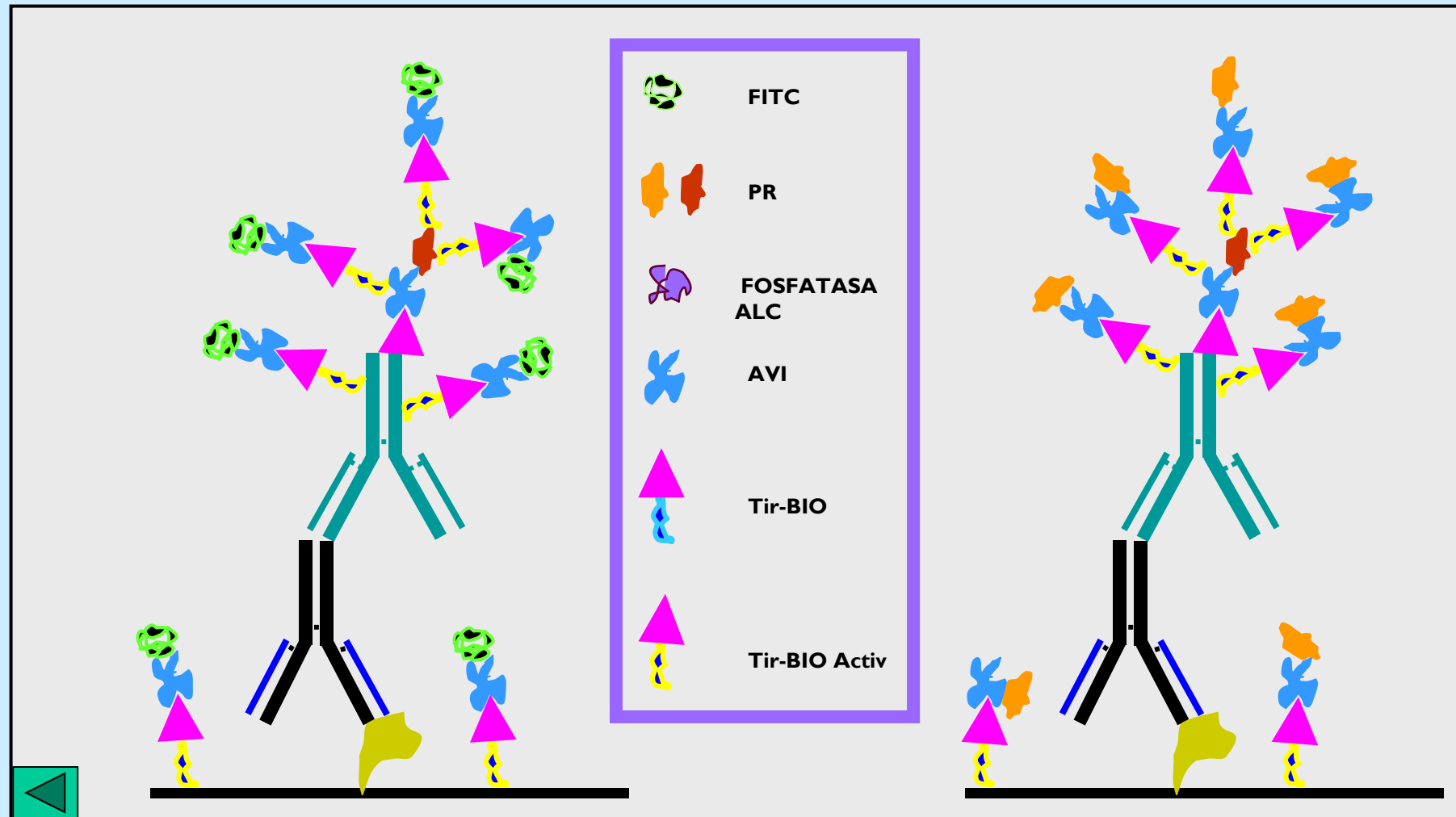
# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

Amplificación señal: **CARD** (Catalyzed Reporter Deposition)



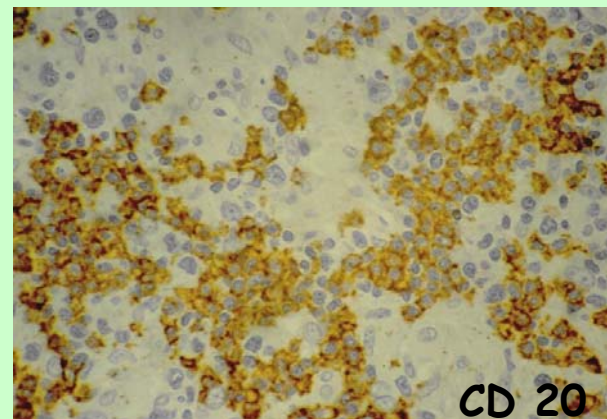
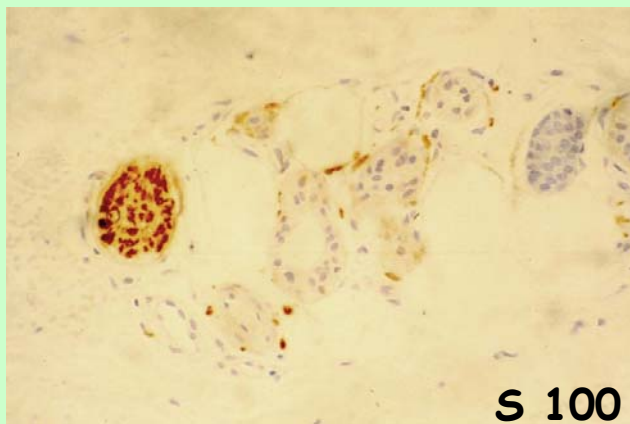
# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

## Amplificación señal: CARD

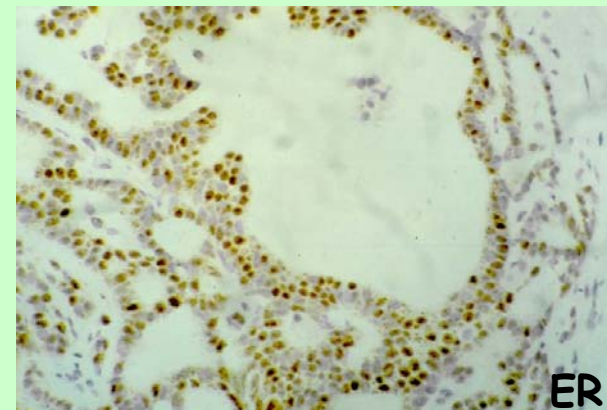
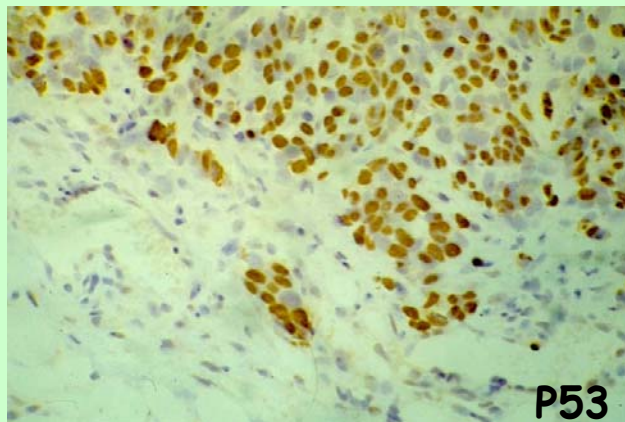




TECNICAS **↑** AFINIDAD **↑** ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA



1:20000

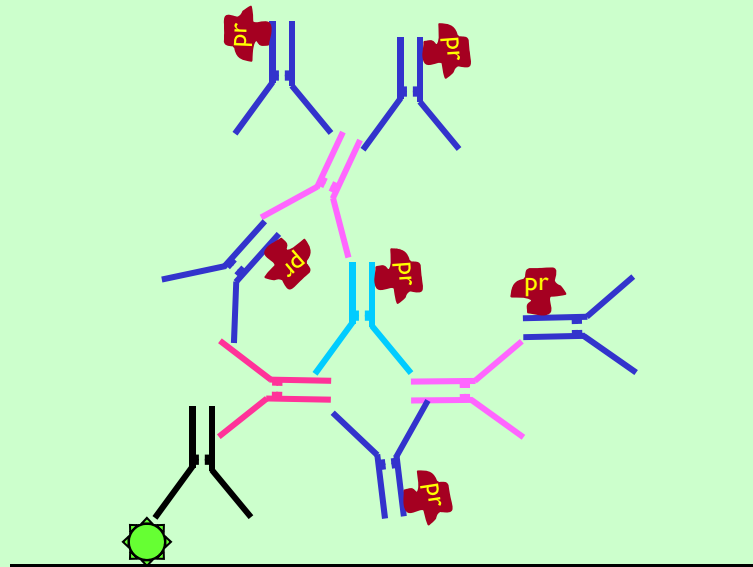




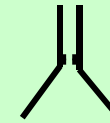
# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

Amplificación señal: no AVI ↔ BIO

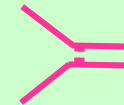
**polyMICA**: (Polyclonal Mirror Image Complementary Antibodies)



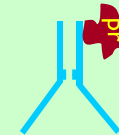
Raton anti Ag



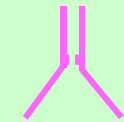
Oveja anti RATON



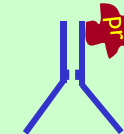
Asno anti OVEJA PR



Oveja anti ASNO



Asno anti OVEJA PR



Unión secuencial de anticuerpos mutuamente atractivos ISAACSON 1999



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

## Sensibilidad

### SENSIBILIDAD DE LOS PROCEDIMIENTOS DE DETECCIÓN

CARD (TSA / CSA)

ORO COLOIDAL  
Epipolarización

NBA

ORO COLOIDAL (MO)

ABC

POLÍMEROS

LSAB+

LSAB

PAP / APAAP



TECNICAS



AFINIDAD



ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA

## RECUPERACION ANTIGENICA: PROCEDIMIENTOS

### QUIMICOS:

- 70 ENZIMAS: PEPSINA, TRIPSINA, PRONASA
- 80 SUSTANCIAS CAOTROPICAS: UREA 3M, GUANIDINA 6M  
ACIDOS: FORMICO, PERYODICO  
SALES METALES PESADOS: TIOCIANATO Pb, SULFATO / CLORURO Zn  
DETERGENTES: SAPONINA, SDS 0,1%

### FISICO / QUIMICOS:

- 90 CALOR + FASE LIQUIDA  
TAMPON CITRATO 0,01 M pH 6,0  
EDTA 0,1M pH 8,0



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

## Técnicas recuperación antígenos

### RECUPERACION ANTIGENICA

FRAENKEL-CONRAT	1947	REVERSIBILIDAD REACCIÓN FORMOL- POR CALOR
HUANG et al,	1975	TRATAMIENTO ENZIMÁTICO
COSTA PP et al	1986	TRAT CON UREA O GUANIDINA MEJORA IHQ TTT
KITAMOTO T et al	1987	TRAT CON AC FORMICO MEJORA IHQ AMILOIDE
SHI SR et al	1991	MICROONDAS (ANTIGEN RETRIEVAL)
SHIN RW et al	1991	AUTOCLAVE
CATTORETTI G	1993	TAMPON CITRATO 0,01M pH 6,00
NORTON AJ	1993	OLLA A PRESIÓN



# TECNICAS



# AFINIDAD



# ESPECIFICIDAD

# EN BIOMEDICINA

**TABLE 2. Antigen retrieval of difficult antigens**

	p53	ER	PR	TdT	Granulocyte colony-stimulating factor	Ker 7
Distilled H <sub>2</sub> O	+++	0	+	0	++	++
0.1 M citrate, pH 6.0	++++	+++	++	++	++++	++
0.1 M phosphate, pH 7.4	++	++	+	++	+++	++
0.05 M Tris-HCl, pH 7.2	+++	0	+	+	+	++
0.1 M HEPES, pH 7.4	++	0	0	0	+	++
0.5 M Tris base, pH 10	++++	++++	+++	++++	++++	++++
Biogenix antigen retrieval	+++	0	+	0	+	++
0.5% ZnCl	++	0	+	0	+	++
6 N guanidine-HCl	++	0	0	0	+	+
3 M urea	++++	++++	+++	+++	++++	++++
0.5% saponin	++	0	+	0	+	+
30% sucrose	++	0	+	0	+	++
0.05 M glycine-HCl, pH 3.5	NT	+	NT	+	+	NT
0.05 M Tris-HCl, pH 4.7	NT	0	NT	0	0	NT
0.1 M citrate, pH 3.0	NT	+	NT	0	++	NT
Carb/bicarb, pH 10	NT	A	NT	++	+	NT
0.5 M Tris base, pH 12	NT	A	NT	A	A	NT
No Rx	+	0	0	0	+	0
15-min trypsin, 37°C	0	0	0	0	+	0
Three-step digestion	0	0	0	0	+	0

Reactions graded semiquantitatively: 0 to + + + +. NT, not tested; A, poor adhesion—loss of sections; HEPES, *N*-2-hydroxyethylpiperazine-*N'*-2-ethanesulfonic acid.



TECNICAS

↑  
AFINIDAD

↑  
ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA

1- Los comentarios y sesiones prácticas correrán a cargo del Dr. ARTUR MARGOVITZ de la firma BICO.

2- La inscripción previa puede efectuarse mediante el envío de la tarjeta respuesta adjunta, una vez rellenada con todos los datos.

3- Las plazas serán limitadas y se subirán por riguroso orden de recepción de las mencionadas tarjetas. La inscripción definitiva se confirmará posteriormente por escrito y telemáticamente. Los derechos de inscripción al curso son de 3.000 pesetas, y se abona el primer día del curso.

4- El horario del curso será de las 10 h. a las 14 h. y de las 16 a las 18 h.

5- El curso tendrá lugar en los laboratorios de ATOM, S.A., Pº del Mar, 18 de Barcelona.

6- Las sesiones del curso se desarrollarán en inglés/español.

7- Para mayor información preguntar por SIDA, Mercedes.

ATOM, S.A.  
Pº del Mar, 18 bajo  
Tel. 212500 y 212501  
BARCELONA 24

**atom**  
CURSILLO TEORICO-PRACTICO DE  
**INMUNOFLUORESCENCIA**

BARCELONA 10 y 11 de Noviembre de 1980.

**DIPLOMA**

Acreditativo de la asistencia al

**CURSO TEORICO-PRACTICO SOBRE INMUNOFLUORESCENCIA**

Celebrado en Barcelona durante los días 10 y 11 de Noviembre de 1980

Expedido a favor de

**Antonio Palacín Forgue**

En Barcelona a 13 de Noviembre de 1980

Dirección general: *[Signature]*  
Dirección del Curso: *[Signature]*

Dr. J. A. Bado  
Dr. A. Melero

**atom**

Programa:

Día 10 de NOVIEMBRE

I. MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA.

A.- Luz y Color.

1. Espectro visible.
2. Luz blanca.
3. Fuentes de luz para microscopía.
4. Fluorescencia, curvas de emisión y excitación.

B.- Filtros.

1. Primario/Secundario.
2. Absorción/Interferencia.
3. Banda estrecha.
4. Tinción de contraste.

C.- Óptica del microscopio.

1. Luz incidente.
2. Luz transmitida.
3. Campo oscuro.

II. INMUNOFLUORESCENCIA.

A.- Principios serológicos.

1. Prozona.
2. Relación F/P.
3. Preparación del conjugado.
4. Fluorocromos.
5. Ensayo de la especificidad del conjugado.
6. Valoración del conjugado.

B.- Procedimientos de tinción de inmunofluorescencia.

1. Directa.
2. Indirecta (Técnica de "sandwich").
3. Complemento.
4. Antígenos marcados.

III. ENSAYOS DE RUTINA EN ENFERMEDADES AUTOINMUNES.

A.- Lupus eritematoso.

B.- Cirrosis biliar primaria.

C.- Hepatitis crónica activa.

D.- Anemia perniciosa/Gastritis atrófica.

E.- Bocio exoftálmico/Enfermedad de Hashimoto/Mixedema primario.

IV. SESION PRACTICA.

A.- Cada cursillista podrá realizar ensayos con ANA, nDNA, PCA, TA, MA y SMA.

B.- Diferenciación entre anticuerpos órgano-específicos y no órgano-específicos.

V. DISCUSION DE LOS PROBLEMAS COMUNES EN MICROSCOPIA.

Día 11 de NOVIEMBRE

I. DISCUSION DE LOS TEMAS TRATADOS EL DIA ANTERIOR.

II. SESION TEORICO-PRACTICA SOBRE LOS TEMAS SIGUIENTES:

- 1.- Sífilis. FTA-ABS (Indirecto)
- 2.- Gonorrea. GC-Directo.
- 3.- Enfermedad del Legionario. Legionella-Indirecta y Legionella-directa.
- 4.- Diabetes juvenil. Células AB-Indirecta.
- 5.- Pénfigo. Inmunodermatología.
- 6.- Tumores trofoblásticos. Anti HCG- $\beta$  ¿Un nuevo marcador de la investigación tumoral?

# TECNICAS ↑ AFINIDAD ↑ ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

Parte	Forma	Diluyente
PBS	20 ml.	20 ml.
LCG	0'002 gr.	0'002 gr.
SAB	0'1 gr.	0'1 gr.
PVP (PVP-10 Gyn)	0'04 gr.	0'04 gr.
Ficoll (Gyn F2637)	—	0'04 gr.
SD (Gyn D 8906)	—	0'5 gr.
A <sub>2</sub> Na	0'04 gr.	0'04 gr.
Seche	0'2 gr.	—

## 1) Inhibición B10 endogen: [A1H95HP7; 6355; 199]

- 1) Llenar bien diluido a H<sub>2</sub>O dest. — 10'
- 2) Pm a H<sub>2</sub>O dest — 15'
- 3) Seche 0'2% a PBS

- 1) Llenar bien diluido a H<sub>2</sub>O dest. — 10'
- 2) Pm a H<sub>2</sub>O
- 3) Seche dematada

- 1) Mantener cortos a pasta g de m a H<sub>2</sub>O 650W/Atto — 3'
- 2) Suspensión H<sub>2</sub>O - PBS
- 3) Recuperación antígeno
- 4) PBS
- 5) Seche 1<sup>a</sup>

Dilución B10 a H<sub>2</sub>O 100 kg/ml. - 15'

AVI con B10 20 kg/ml 15'

50 mg proteína del a 5 ml H<sub>2</sub>O dest  
 Alimota a 0'5 ml y guardar a -80°C  
 450 { Alimota — 0'5 ml  
 Temp PBS — 19'5 ml  
 20'5 ml.

## PEROXIDASA:

50 mg DAB a 10 ml ~~Tamp~~ Trisidazol  
 50 mg cada una de reagen 2 min  
 Filtrar y hacer alimota 0'5 ml.  
 Alimota 0'5 ml + 4'5 ml tamp Trisidazol + I H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
 total 10 ml.  
 Usar 5 ml. → 5-7'

Segunda reacción:  
 { Pasta — 5 ml } 4 min  
 { DAB 0'02% }

Tamp Trisidazol g H 6-7  
 H<sub>2</sub>O — 100  
 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> — 0'5 gr.  
 Trisidazol — II  
 DAB 35/30% — 0'1 ml.  
 Trisidazol — 0'1 gr. } g H



# TECNICAS ↑ AFINIDAD ↑ ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

*MERCA: 821619: 3-(nitroarivill)propilamina*

Xilamizol: 3-amino-propyltriethoxysilane  
SIGMA A36480 Pm 2214

- 1) Se en un beca 75 el 2%
- 2) Se en H<sub>2</sub>O a 60°C — 1h.
- 3) Se en H<sub>2</sub>O dest variis cambiis
- 4) Agua destilada 1% brodo
- 5) Variis cambiis H<sub>2</sub>O dest.
- 6) Acetona
- 7) Acetona
- 8) APEX 2% e acetona — 5'
- 9) Secado rapido e acetona
- 10) Secado e H<sub>2</sub>O destilada
- 11) Secado a 37°C.

SERVICIO ANATOMIA PATOLOGICA HCP  
Jefe Servicio: Prof. A. CARDESA  
UNIDAD DE INMUNOHISTOCQUIMICA  
Jefe Sección DR. A. PALACIN  
Tel: +34 93 275400, +34 93 27788346  
FAX: +34 93 2775117  
Email: palacin@medicina.ub.es

HOSPITAL CLINIC  
C/ VILARROEL 170  
08036 BARCELONA  
ESPAÑA

### HOJA TECNICA IHQ N° 8

#### EDTA 1mM pH 8,0 100 X

EDTA (Acido)(Ac. Etilen-diamino-tetraacetico, Sigma EDS) 29,22 gr  
H<sub>2</sub>O 800,00 ml

Ajustar a pH 8,0 con NaOH 5N (20 gr en 100 ml H<sub>2</sub>O)  
Aproximadamente 64 ml NaOH 5N. Luego acabar de ajustar a pH 8,00  
añadiendo gota a gota  
Completar hasta 1 litro.

Para uso diluir con H<sub>2</sub>O 1:100

Nota: Si en vez de EDTA acido se utiliza EDTA Na<sub>2</sub> las proporciones son:

EDTA (Na<sub>2</sub>) 37,22 gr  
H<sub>2</sub>O 800,00 ml

Para uso diluir con H<sub>2</sub>O 1:100

REF.	Anticuerpo	FRAG INHIBO	CELULAS	DILUCION	NO. PREP.	FIJADOR
DAKO 2334	GFAP (poli)	IgG	Astroctos	1:1000	"	"
" J 1708	NSE (poli)	"	Neuronas	1:1000	4 boxes	"
" Z 311	S-100 "	"	Schwann	1:1000	1:2000 4L	"
" S-100 "	S-100 (ultra)	"	Neuronal	1:2000	1:2000	"
DAKO 474	GFAP	"	Virus papil.	1:700	"	"
" D 500	GFAP	"	"	1:700	"	"
MALLINCHER	GFAP	"	Epiteliales	1:0	"	"
DAKO 4565	Glucagon "	"	Langerhans	1:2000	"	"
" H 613	BHA (mono)	"	Epiteliales	1:2000	"	"
" A 008	APP (poli)	"	"	1:1000	"	"
" A 009	Lisozima "	"	"	1:2000	"	"
BIOHERES	MA126-UG	(mono)	Cesulas	1:3000	"	"
DAKO H760	Desmina(MONO)	"	Fibras muscu.	1:1000	"	"
BIOHERES	Vin (mono)	"	Hesquist	1:400	"	"
DAKO 4562	PSA (poli)	"	Endote. vasco	1:200	"	"
" H776	Synapto.	"	Neuroendocr.	1:400	"	"
			Carcinoides			
			Carcinomas			
BERLING	CEA, D-D, G.	"	Colon	1:1000	"	"
DAKO D116	Herpes. II	"	"	1:1000	"	"
" D114	" I	"	"	1:1000	"	"
" H 778	Neurotestis	"	TEB	1:20	"	"
" H 758	Serotonina	ultra	Eg6	1:10	"	"
BTJ 8783	APP	"	"	1:100 noche	1:100	che. alcohol. ch.
BTJ 676	APP	"	"	1:1001 hora	"	"
" A 571	ACTH	"	"	1:400	1:1000	"
" A 623	PSB	"	"	1:500	1:1000	"
" A 137	LPH	"	"	1:200	"	"
" L 1006	BCCO	"	"	1:5000, 1:2000	1:1000	"
" H 616	F VIII	"	"	1:50	1:1000	"
" A 080	Fibrinogeno	"	"	1:100	"	"
" A 022	A1AOT	"	"	1:2000	"	"
DAKO H.757	CMV	"	"	1:50	"	"
DEMARSA 93/89	Anti CMV	"	"	1:200	NO	"





TECNICAS

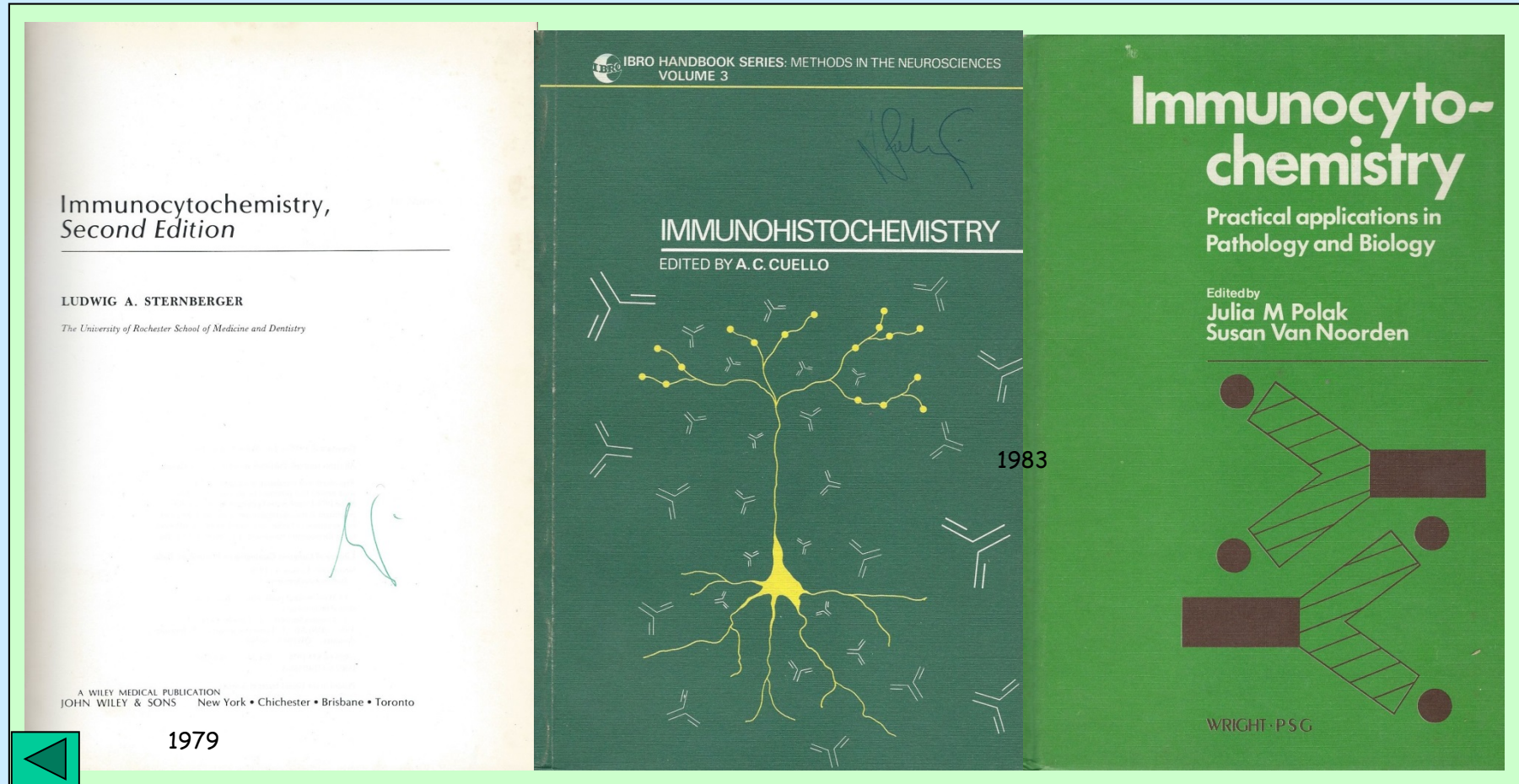


AFINIDAD



ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA



TECNICAS



AFINIDAD



ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA

#### PROGRAMA

##### Barcelona, 30 y 31 de Marzo

- 1º día. — Introducción teórica: Inmunoglobulinas con reacción antígeno-anticuerpo, generalidades sobre técnicas inmunohistoquímicas, esquema de la técnica, etc...  
— Prácticas: Identificación de CEA, AFP, PSA...  
Preparación de la exposición de 24 h. para inmunoglobulinas.
- 2º día. — Análisis de los factores que influyen en la técnica de tinción con inmunoperoxidasa.  
— Prácticas: Identificación de inmunoglobulinas (cadenas ligeras y pesadas) insulina, F VIIIIRAg,...

##### Madrid, 25 y 26 de Mayo

- 1º día. — Teoría: Utilidad de la técnica inmunoperoxidásica PAP.  
— Fundamentos inmunohistoquímicos de la técnica.  
— Control y artefactos.
- 2º día. — Realización y demostración visual de IgG, IgA, cadenas Kappa y Lisozima.  
— Visualización de resultados en hormonas pancreáticas.

**atom**

ATOM S.A.

BARCELONA-24  
Paseo del Monte, 18  
Tels. 214 79 04  
213 50 02

BILBAO-14  
Pl. Celestino M<sup>o</sup> del Arenal, 5  
(San Ignacio)  
Tel. 425 26 00

LA CORUÑA  
Alcalde Lema, 34, 1º, C  
Tel. 27 23 10

LAS PALMAS-4  
Luis Dorreste Silva, 16  
Tel. 23 47 00

MADRID-2  
Baeta, 6  
Tels. 416 11 58  
413 02 67

SEVILLA-9  
Hondros, 6  
(Los Naranjos)  
Tel. 37 26 66

VALENCIA-10  
Pl<sup>a</sup> de la Armada, 13  
Tel. 609 93 40

VALLADOLID-4  
Nicolás Salmerón, 13, 1º, D  
Tel. 20 04 52

ZARAGOZA-13  
Miguel Servet, 60, esc. 1º, 1º, C  
Tel. 40 69 89

delegaciones en: GIJÓN, MÁLAGA, MURCIA.

**atom**

JORNADAS TEORICO-PRACTICAS SOBRE

#### LA TECNICA INMUNOPEROXIDASICA PAP

Barcelona, 30 y 31 de marzo de 1982  
Madrid, 25 y 26 de mayo de 1982

Organización:  
Servicio de Anatomía Patológica de la Q.S. La Alianza  
Dep. de Anatomía Patológica de la C.S. La Paz.  
y Dep. Técnico de ATOM, S.A.



# TECNICAS ↑ AFINIDAD ↑ ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA



18).- DESPARAFINAR, hasta alcohol absoluto.

20).- BLOQUEO PEROXIDASA ENDOGENA  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,1-1% en alcohol metílico ..... 30 min.

30).- HIDRATACION progresiva a través de alcoholes decrecientes  
hasta H<sub>2</sub>O destilada.

40).- SUPRESION DE LA FUNCION DE FONDO  
PBS pH 7,2 - 5% SNC - 15 SAB ..... 30 min.  
Decantar la preparación sin secarla.

50).- ANTISUERO PRIMARIO ESPECIFICO  
Producido en conejo y diluido segun su concentración  
temperatura y tiempo de actuación en PBS pH 7,2 -  
5% SNC - 15 SAB.

60).- LAVADO en 3 cambios sucesivos de PBS pH 7,2 ..... 30 min.

70).- ANTISUERO "PUENTE"  
De conejo anti IgG de conejo diluido 1:20 en PBS pH 7,2  
+ 5% SNC + 15 SAB ..... 30 min.

80).- LAVADO en 3 cambios sucesivos de PBS pH 7,2 ..... 30 min.

90).- INCUBACION en PAP  
De conejo diluido 1:40 - 1:200 en PBS pH 7,2 ..... 30 min.  
+ 5% SNC + 15 SAB.

100).- LAVADO en 3 cambios sucesivos de TRIS buffer 0,05 M, pH 7,6 . 30 min

110).- REVELADO de la PEROXIDASA

DIBENCILIN	3 mg	HANKER-YATES	7-15 mg	AEC	2 mg
Tris 0,05 M, pH 7,6	10 cc	Tris 0,1 M, pH 7,6	10 cc	NN Dimetil formolida	0,5 cc
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3%	0,03 cc	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3%	0,03 cc	Acetato buffer pH 5,2	9,5 cc
				H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3%	0,1 cc
	3-7 min		5-10 min		20-40 min

120).- LAVADO en agua destilada

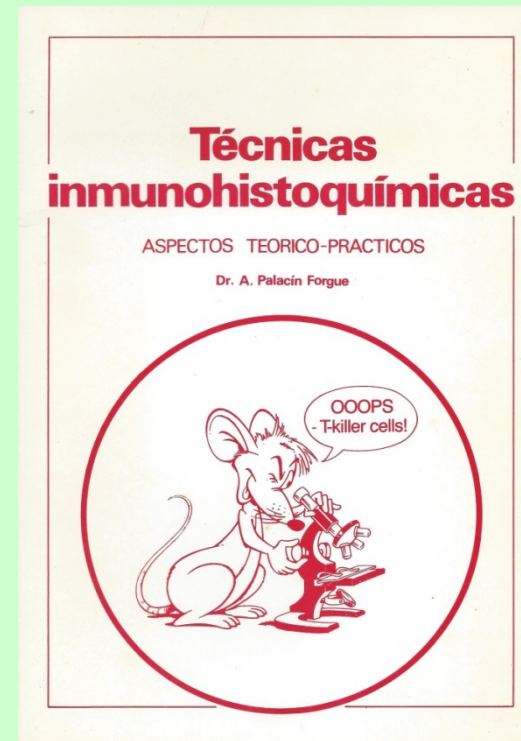
130).- DEMONSTRACION  
Solamente en caso de revelar con DAB o HY  
Ac. camico 0,1-1% ..... 5 seg-5 min.

140).- LAVADO en agua destilada

150).- CONTRASTADO  
Con hematoxilina o Rojo nuclear o verde metilo o verde luz  
o azul de metileno.

160).- MONTAJE de la PREPARACION  
Si se revela con DAB o HY se puede deshidratar, aclarar y  
montar en DPX  
Si se revela en AEC o en HCL-1 Nafol, montar en medio acuoso  
sin deshidratar ni aclarar.

QUINTA DE SALUD LA ALIANZA





TECNICAS



AFINIDAD



ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA

**PROGRAMA**

16.30 - 16.45 - INTRODUCCION DAKO EPOS :  
LA INMUNOHISTOQUIMICA EN UNA SOLA ETAPA  
Sr. Ferran Prat - ATOM, S. A.

16.45 - 18.15 - DAKO EPOS : - Conceptos Teóricos  
- Aplicación Práctica

Dr. A. Palacin Forgué  
Hospital Clínico Facultad de Medicina de  
la Universidad de Barcelona -  
Dpto. Anatomía Patológica

Quinta de la Salud "La Alianza" de Barce-  
lona - Dpto. Anatomía Patológica

Srta. Pilar Pérez  
Quinta de la Salud "La Alianza" de  
Barcelona - Dpto. Anatomía Patológica

18.15 - 18.30 - Coffee break.

18.30 - 19.00 - DAKO EPOS : Aceleración por microondas (DE LA  
PARAFINA AL MICROSCOPIO EN 15  
MIN.)

- Conceptos Teóricos  
- Aplicación Práctica

Dr. A. Palacin Forgué  
Srta. Pilar Pérez

**atom**

**DAKO EPOS**

**CURSO TEORICO PRACTICO**

**LA INMUNOHISTOQUIMICA**  
**EN UNA SOLA ETAPA**

**DAKO EPOS**

**DIA :** 9 de MARZO de 1994

**HORA :** 16:30 H

**LUGAR :** HOTEL PLAZA DE ARMAS  
c/ Marques de Parada, s/n  
SEVILLA

**1 9 9 4**

**atom**


Especialistas en diagnóstico clínico y biotecnología

ATOM, S. A.  
08024 BARCELONA  
Passeig d'Amunt, 18  
Tel.: (93) 264 79 04  
Fax: (93) 210 82 55  
(93) 213 50 02

41009 SEVILLA  
Sanchez Perrier,3-D, casa 5, 1º-D  
Tel.: (95) 437 28 66  
Fax: (95) 437 94 04

**JORNADAS**  
TEÓRICO-PRÁCTICAS

**ATOM**  
*Diagnóstico Clínico y Biológico*



**Actualización en Técnicas  
Inmunohistoquímicas**

**\*SISTEMAS DE VISUALIZACIÓN**

**\*OPTIMIZACIÓN DE LA RELACIÓN SEÑAL/RUIDO**

**\*DESENMASCARAMIENTO ANTIGÉNICO**

**Barcelona, 26 y 27 de Junio de 1996**



Actualización en  
Técnicas  
Inmunohistoquímicas

**PROGRAMA**

**Día 26 de Junio**

- 9:00 Recepción
- Presentación de las Jornadas
- 10:00 Conferencia inaugural:  
"18 Años de Inmunohistoquímica en el  
Laboratorio de Anatomía Patológica".  
Dr. A. Palacin Forgué
- 11:30 Café
- 11:45 Sesiones teóricas:  
\* El flujo de trabajo en el laboratorio de  
anatomía patológica  
\* Sistemas de visualización
- 13:00 Sesiones prácticas  
Δ Inhibición de la peroxidasa endógena
- 14:00 Lunch
- 15:00 Finalización de las prácticas y discusión de resultados

**Día 27 de junio**

- 10:30 Recepción
- 11:00 Sesión teórica:  
\* Desenmascaramiento antigénico
- 12:30 Café
- 12:45 Sesión práctica  
Δ Antígenos nucleares: receptores de  
estrógenos y progesterona, Ki67, p53.  
Δ Antígenos de membrana: CD3
- 14:00 Lunch
- 15:00 Finalización de las prácticas y discusión de resultados



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

## ASPECTOS PRACTICOS: LA TECNICA IHQ PASO A PASO:

**FIJACION DE LOS TEJIDOS  
INCLUSION EN PARAFINA  
ADHERENCIA CORTES A PORTAS  
RECUPERACION ANTIGENICA  
INHIBICION DE LA PEROXIDASA ENDOGENA  
SUPRESION TINCION INESPECÍFICA DE FONDO  
ANTICUERPO PRIMARIO ESPECÍFICO  
CADENA AMPLIFICACION  
LIQUIDOS DE LAVADO INTERMEDIO  
REVELADO DE LA PEROXIDASA  
CONTRASTE CON HEMATOXILINA  
DESHIDRATACION, ACLARAMIENTO, MONTAJE ACUOSO /**



**DPX**

**TECNICAS** ↑ **AFINIDAD** ↑ **ESPECIFICIDAD** **EN BIOMEDICINA**

**ASPECTOS PRACTICOS: LA TECNICA IHQ PASO A PASO:**

**FIJACION DE LOS TEJIDOS**

**FIJADORES ALDEHIDOS**

**FIJADORES ALCOHOLICOS**

**ADITIVOS: Ac ACETICO, Zn**



TECNICAS

↑ AFINIDAD

↑ ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA

## GLYOFIXX®, AN EXCELLENT FIXATIVE FOR IMMUNOHISTOCHEMISTRY (IHC)

Palacín A\*#, Martínez A\*, Cases JL#, Muñoz J#, Badia F#, Ordí J\*, Martí M#, Pérez M\*P#, Mainar M\*, Gonzalvo E\*, and Sánchez M.\*  
Dpts. of Pathology, \*Hospital Clinic, #Hospital Sagrado Corazón, Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona, Barcelona, España

GLYOFIXX®

+

TechMate 500® / EnVision System ®

### GLYOFIXX®, AN EXCELLENT FIXATIVE FOR IMMUNOHISTOCHEMISTRY (IHC)

**Palacín A, Martínez A, Cases JL, Muñoz J, Badia F, Ordí J, Martí M, Pérez M\*P, Mainar M, Gonzalvo E, and Sánchez M.**  
Dpts. of Pathology, Hospital Clinic, Hospital Sagrado Corazón, Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona, Barcelona, España

**Background:** Antigen retrieval (AR) techniques have allowed the use of many polyclonal and monoclonal antibodies (Abs) in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. However, AR has some problems: it is not effective for some Abs, there are false positives due to the enhancing of the endogenous biotin activity, it impairs the morphology and it causes a loss of tissue attachment to the slides. Moreover, a standard protocol for all Abs is not available yet. Recently, some fixatives have been described that adequately preserve the morphology and allow to apply IHC staining for different Abs without AR.

**Aim:** To test the applicability of GLYOFIXX® (GLX, Standon, UK), a new commercially available fixative in surgical samples, and to determine the results obtained with IHC.

**Methods:** Samples from tonsils, lymph nodes, spleen, liver, thyroid, pancreas, brain, kidney, and bowel were fixed 4-20 hours in GLX, embedded in paraffin, and routinely processed. TechMate 500® and EnVision System ® (Dako) were used in IHC stains.

**Results:** Excellent morphological and IHC results without AR were obtained with the following Abs: CD3, 15, 20, 21, 23, 31, 34, 35, 45, CD45, 49RO, 66, 79a, Ki67, CNA42, EMA, Keratin, TPA, 3E12, CEA, PSA, Actin, Desmin, Vimentin, Factor VIII, ER and p53. Suboptimal results were obtained with CD1a, 4, 7, 8, and 10, but they improved with the use of overnight (18 hours) low-temperature heating (90°C) in 1 mM EDTA at pH 8.

**Conclusions:** GLYOFIXX® adequately preserves the morphology of tissues and allows the use of IHC without AR techniques for many Abs. GLX is a safe fixative, much less toxic than formalin.

### GLYOFIXX®

#### CHARACTERISTICS AND SAFE HANDLING

GLYOFIXX is an aldehyde type fixative, glynsalbased (a two carbon dialdehyde) composed of:

- Glyoxal 10-30% - Acetic acid 0-5%
- Methanol 0-5% - Ethanol 5-10%

It has virtually no vapor pressure, which means that it does not evaporate to any great extent and so it has no detectable odor.

There is no longer a problem with inhalation or eye irritation from vapors except in case of badly ventilated area.

Therefore, it is mildly irritating and care should be used to avoid contact with skin, eyes, and clothes.

It provides a safer working environment than formalin, eliminates need for compliance with formaldehyde regulations and is readily biologically biodegradable.

#### ADVANTAGE AS A FIXATIVE FOR IMMUNOHISTOCHEMISTRY

Glyoxal fixes in a similar manner to formaldehyde, but the cross-links it makes between proteins are longer and more flexible.

This results in good morphology without impacting immunoreactivity of tissue antigens.

Antigen retrieval procedures are not necessary for many antigens as are necessary for tissues fixed in formalin. And so the morphology is better preserved.

For some antigens only a low temperature heating (90°C) in EDTA 1 mM pH 8.0 overnight is necessary, whereas some others require a more drastic treatment with high pressure and temperature.



	WITHOUT RETRIEVAL				WITH RETRIEVAL			
CD3								
CD15								
CD20								
CD21								
CD23								
CD31								
CD34								
CD35								
FDC CNA42								
Ki67								
CD45								
CD49RO								
CD49								
CD79a								
CD138								
CALCITONIN								
THYROGLOBULIN								
PLACENTAL LACTOGEN								
ESTROGEN RECEPTOR								
PROGESTERONE RECEPTOR								
CK CAM5.2								
TPA								
CK7								
CK20								
CK HMW 34E12								
PROSTATIC ACID PHOSPHATASE								
PROSTATE SPECIFIC ANTIGEN								
DESMIN								
ACTIN (MUSCLE)								
ACTIN (SMOOTH MUSCLE)								
CEA								
NEUROFILAMENT PROTEIN								
S-100 PROTEIN								
INSULIN								
GALCAGON								
SOMATOSTATIN								
α-IRIBIN								



**TECNICAS** ↑ **AFINIDAD** ↑ **ESPECIFICIDAD** **EN BIOMEDICINA**

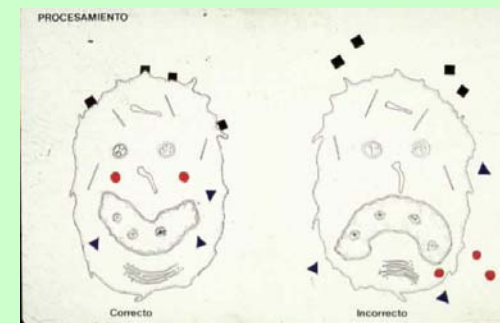
**ASPECTOS PRACTICOS: LA TECNICA IHQ PASO A PASO:**

**INCLUSION EN PARAFINA**

**PARAFINAS + SUSTANCIAS PLASTICAS**

**DESPARAFINACION**

**CONSERVACION CORTES PARAFINA: PARAFINACION**





# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

ASPECTOS PRACTICOS: LA TECNICA IHQ PASO A PASO:

**ADHERENCIA CORTES A PORTAS**

**GELATINA ALUMBRE DE CROMO / FORMOL 10%**

**ACETATO POLIVINILO**

**POLI-LISINA**

**XILANO**



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

## ASPECTOS PRACTICOS: LA TECNICA IHQ PASO A PASO:

### RECUPERACION ANTIGENICA

**ENZIMATICA**

**QUIMICA**

**CALOR + SOLUCIONES    Microondas, olla a presion**

- |            |                                      |
|------------|--------------------------------------|
| 1ª seccion | hematoxilina eosina                  |
| 2ª seccion | pepsina                              |
| 3ª seccion | olla presion + citrato 0,01 M pH 6,0 |
| 4ª seccion | olla presion + EDTA 0,1 M pH 8,0     |



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

ASPECTOS PRACTICOS: LA TECNICA IHQ PASO A PASO:

INHIBICION PEROXIDASA ENDOGENA

$\text{H}_2\text{O}_2$  3% en  $\text{H}_2\text{O}$



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

**ASPECTOS PRACTICOS: LA TECNICA IHQ PASO A PASO:**

**SUPRESION TINCION INESPECIFICA FONDO**

**ABSORCION ANTISUERO CON HOMOGENEIZADOS  
TISULARES**

**SUERO NORMAL (no inmunizado) + 5-20% SAB**

**UTILIZAR ANTICUERPOS  $F(ab')_2$  o Fab carentes de Fc**



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

ASPECTOS PRACTICOS:  
LA TECNICA IHQ PASO A PASO:

ANTICUERPO PRIMARIO ESPECIFICO

HOJA TECNICA

Home»Human IgG Fab'2  
Please enter details of your inquiry in the form below

First Name: \*  
Last Name: \*  
Institute/Company:  
Email: \*  
Phone: \*  
Question: \*  
Security Code: \*



CANCEL SUBMIT

\*Not able to read?  
click here to refresh We will respond to your inquiry within 1-2 working days.

Human IgG Fab'2 ( 31R-1038 )

Product Data Reviews Protocols References

Print Request Info Buy Now

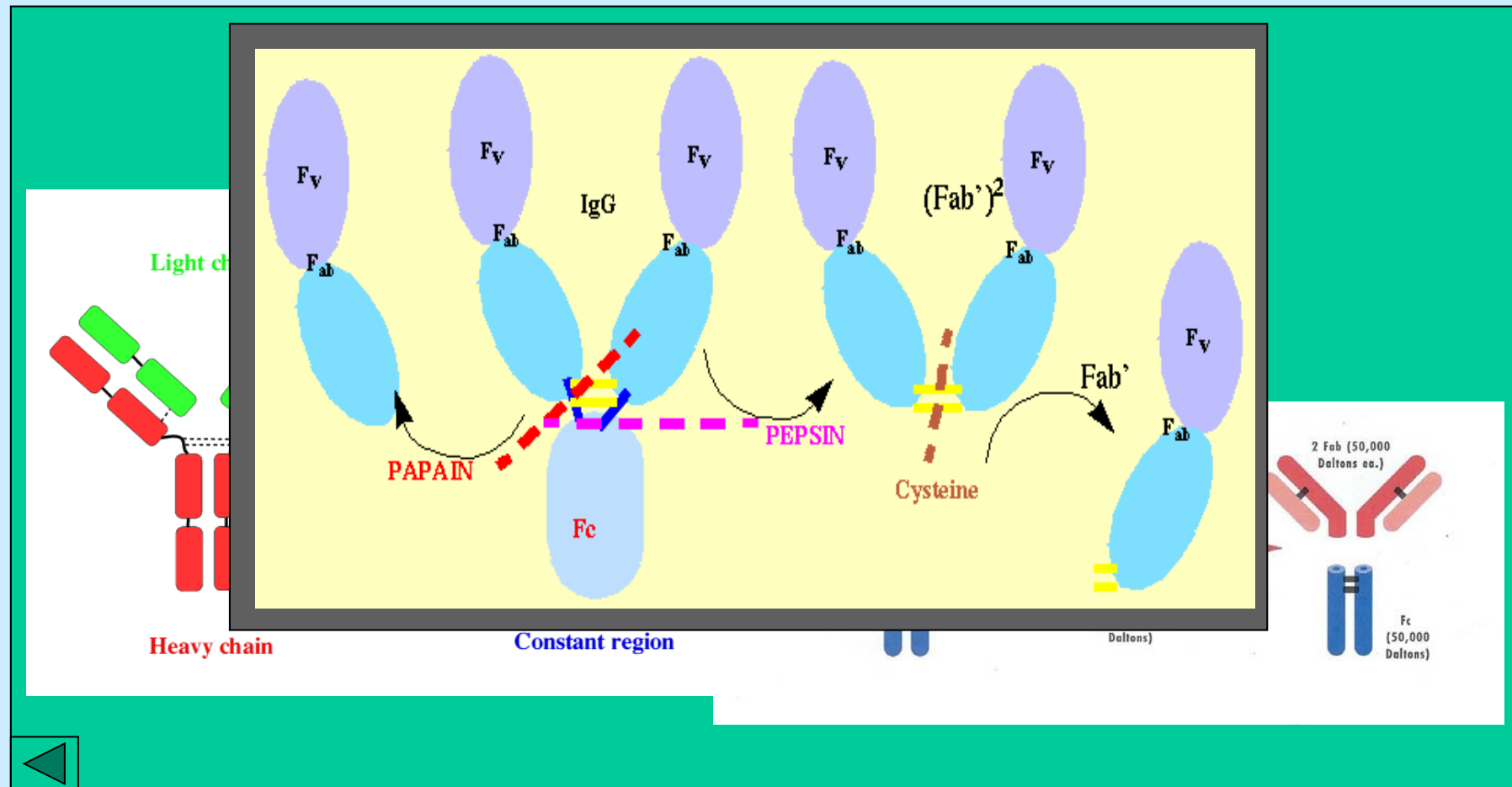
Product Name	Human IgG Fab'2
Catalog No	31R-1038
Size	2 mg
Concentration	>4.5 mg/ml
Price	\$ 215.00
Synonyms	Human Immunoglobulin G Fab'2
Description	Purified Human IgG Fab'2 for use as a control or blocking reagent
Background	Fab'2 fragments of antibodies are generated by pepsin digestion of whole IgG antibodies to remove most of the Fc region while leaving intact some of the hinge region. Fab'2 fragments have two antigen-binding Fab portions linked together by disulfide bonds, and therefore are divalent. The average molecular weight is about 110 kDa. They are used for specific applications, such as to avoid binding of antibodies to live cells with Fc receptors or to Protein A or Protein G. <a href="#">Please check the Protocols</a> <a href="#">Please login first to post reference</a>
Species	Human
Grade & Purity	> 95% based on SDS-PAGE
Source	Normal Human Serum/Plasma was obtained from healthy donors of US origin.
Form & Buffer	Clear, colorless liquid, 0.2 um filtered, containing 10 mM Sodium Phosphate, 0.15 M Sodium Chloride and 0.05% (w/v) Sodium Azide. Prolase/IgG free.
Storage	Store at 2-8 deg C.
Applications	User optimized
Usage Recommendations	The optimal working dilution should be determined by the end user
Biohazard Information	Donor serum was tested by FDA approved methods and found negative for antibodies to HIV1/HIV1 and HCV. Donor serum was tested by FDA approved methods and found negative for HBsAg, HIV-1 RNA, HCV RNA and Syphilis.

Submit a Review



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

## Inmunoglobulinas y sus fracciones



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

## Inmunoglobulinas y sus fracciones

### Pesos moleculares fracciones IgG:

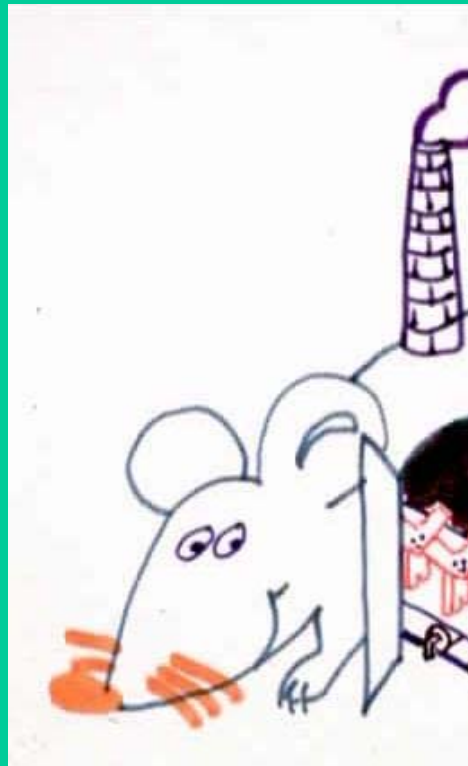
IgG	160 Kd:	2x55 + 2x25
F(ab') <sub>2</sub>	110 Kd	Pepsina
Fab	50 Kd	Papaina
Fc	50 Kd	





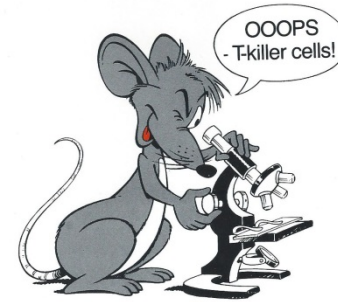
# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

## Producción anticuerpos



# TECNICAS ↑ AFINIDAD ↑ ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

REF.	Antígeno ANTICUERPO	FRAG INMUNO	CELULAS	DILUCION	NO PEP.	FIJADOR
DAKO 2334	GFAP (poli)	IgG	Astrocitos	1:1000	"	"
" J 1708	NSE (poli)	"	Neuronas	1:1000	"	"
" Z 311	S-100 "	"	Schwann Dendriticas	1:1000	"	"
BIOGENEX	S-100 iso 2/6	"	"	1:2000	"	"
" B 580	HPV	"	Virus papil.	1:700	"	"
MALLINCHROTT	TPA	"	Epiteliales	1:0	"	"
DAKO A565	Glucagon	"	Langerhans	1:2000	"	"
" M 613	EMA (mono)	"	Epiteliales	1:200	"	"
" A 008	APP (poli)	"	"	1:1000	"	"
" A 009	Lisozima	"	"	1:2000	"	"
BIOGENEX	W126-UC	(mono)	Granulos	1:3000	"	"
DAKO M760	Desmina (MONO)	"	Fibras muscu.	1:100	"	"
BOEHRINGER	Vim (mono)	"	Mesangi	1:50	"	"
BEH	Vim "	"	Endote.vasos	1:50	"	"
DAKO A562	PSA (poli)	"	Neuroendocr.	1:800	"	"
" H776	Synapto.	"	Carcinoides	1:40	"	"
			Carcinomas			
BEHRING	CEA, A, B, C	"	C Colon	1:800	"	"
DAKO B116	HerpesV.II	"	"	1:1000	"	"
" B114	" I	"	"	1:1000	"	"
" M 778	Neumocistis	IgM	"	1:20	"	"
" M 758	Serotonina	M. IgG	"	1:10	"	"
BTJ 873	"	"	"	1:10 noche	"	ch alcohol etc
BT 620	"	"	"	1:081 hora	"	"
" A 571	ACTH	"	"	1:400	PEPSINIZACION	"
" A 623	PBM	"	"	1:500	PEPSIN 2A 30 min.	"
" A 137	LPH	"	"	1:200	"	"
" L 1806	HCG	"	"	1:5000, 1:2000	"	"
" M 616	F VIII	"	"	1:50	"	"
" A 080	Fibrinogeno	"	"	1:100	"	"
" A 022	A1AQT	"	"	1:2000	"	"
DAKO M-757	CMV	"	"	1:50	"	"
BEHRING	M 150 Rata CHO	"	"	1:200	NO	"



Anticuerpos monoclonales de: LC, IgM, IgD, HLA-DR, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>8</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>H</sub>, pan B, EMA, FVIIIARag, DRC 1, C<sub>2</sub>bR, queratina, cadena Lambda.

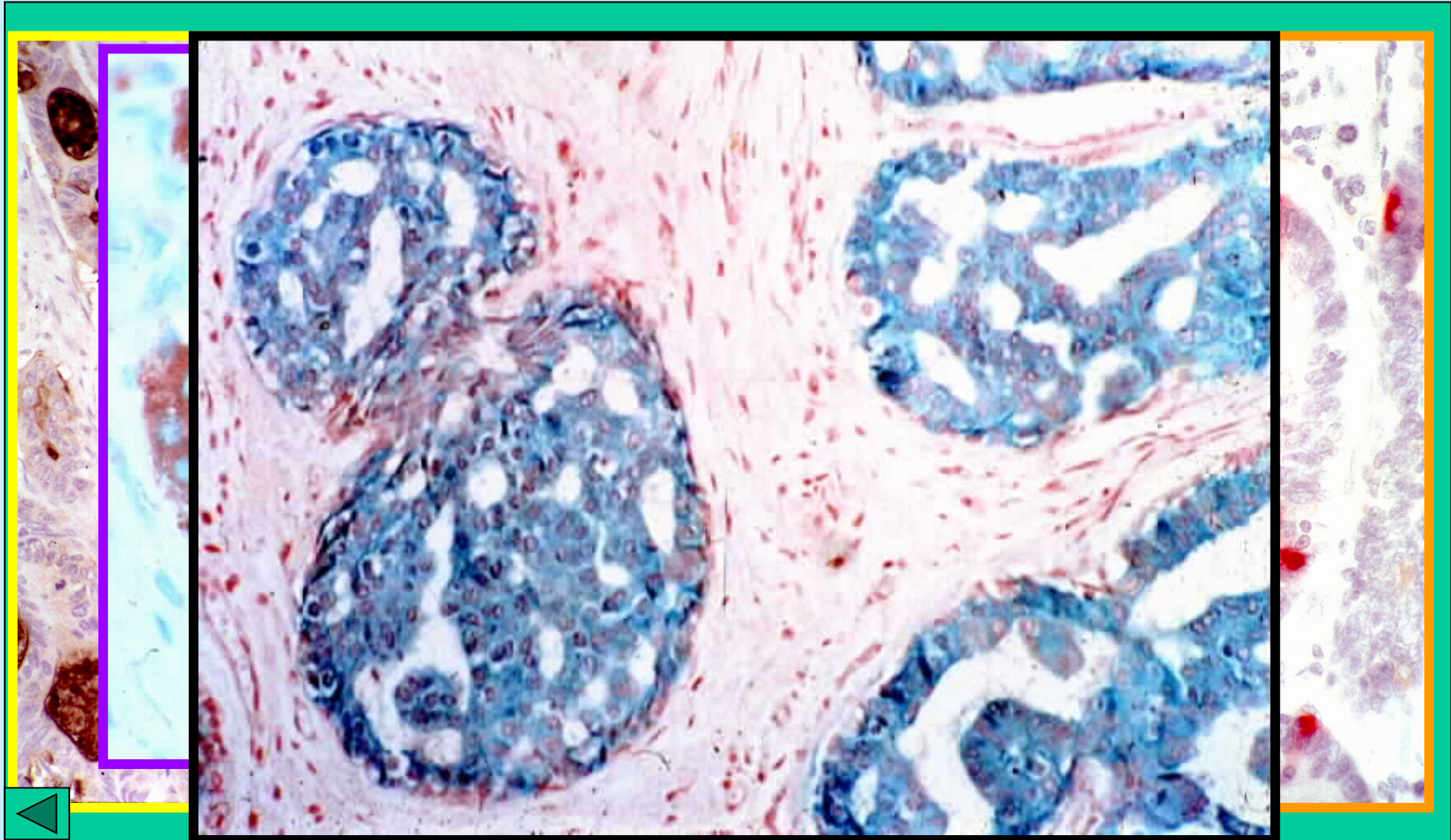
- Novedades para Enero de 1986**  
 Anticuerpos monoclonales de T<sub>1</sub>  
 Citokeratina  
 Desmina  
 Vimentina  
 Proteína de Neurofilamento  
 Macrófago  
 Célula proliferante  
 Glucoproteína Ib de plaqueta  
 Célula de Reed Sternberg  
 CALLA

- Novedades para Junio de 1986**  
 Anticuerpo monoclonal de IgG  
 IgA  
 Cadena Kappa  
 Receptor de Interleukina 2  
 MLEV 1  
 P150, 95  
 HLA-Clase I  
 Receptor TB



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

## Visualización





TECNICAS



AFINIDAD



ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA

## Hormonabhängige Lektin-Bindungsstellen: I. Histochemischer Nachweis von Lektin-Bindungsstellen und ihre hormonelle Steuerung im Brustdrüsengewebe der Ratte

M. Vierbuchen<sup>1</sup>, P. J. Klein<sup>1</sup>, G. Uhlenbruck<sup>2</sup> und R. Fischer<sup>1</sup>  
Pathologisches Institut<sup>1</sup> und Immunologische Abteilung<sup>2</sup> der Med. Klinik an der Universität Köln

Tumor Diagnostik 2, 235-239 (1981)

**Zusammenfassung:** Brustdrüsengewebe von Ratten wurde histochemisch auf das Vorkommen von Bindungsstellen für das Lektin der Erdnuß (peanut agglutinin, PNA) hin untersucht. Nach Ovariectomie fand sich im Brustdrüsengewebe geschlechtsreifer Tiere eine Abnahme der PNA-Bindungsstellen. Die Gabe von 17 $\beta$ -Östradiol führte am ovariectomierten Tier zu einer starken Biosynthese von PNA-Bindungsstellen, die im apikalen Bereich der Epithelzellen und im Sekret lokalisiert waren. Demgegenüber führte die alleinige Gabe von Progesteron am ovariectomierten Tier zu keiner Stimulation der PNA-Rezeptorbiosynthese im Brustdrüsenparenchym. Die Östrogen-

**Hormone Dependent Lectin Binding Sites: I. Histochemical Demonstration of Lectin Binding Sites and their Hormonal Control in Rat Mammary Tissue.**

**Summary:** Rat mammary tissue was histochemically examined for the presence of binding sites for the lectin from *Arachis hypogaea* (peanut agglutinin, PNA) under different hormonal conditions. Ovariectomy reduced the number of PNA binding sites in mammary tissue of mature rats. The administration of 17 $\beta$ -oestradiol to ovariectomized rats resulted in the formation of large amounts of PNA binding sites which

### Einleitung

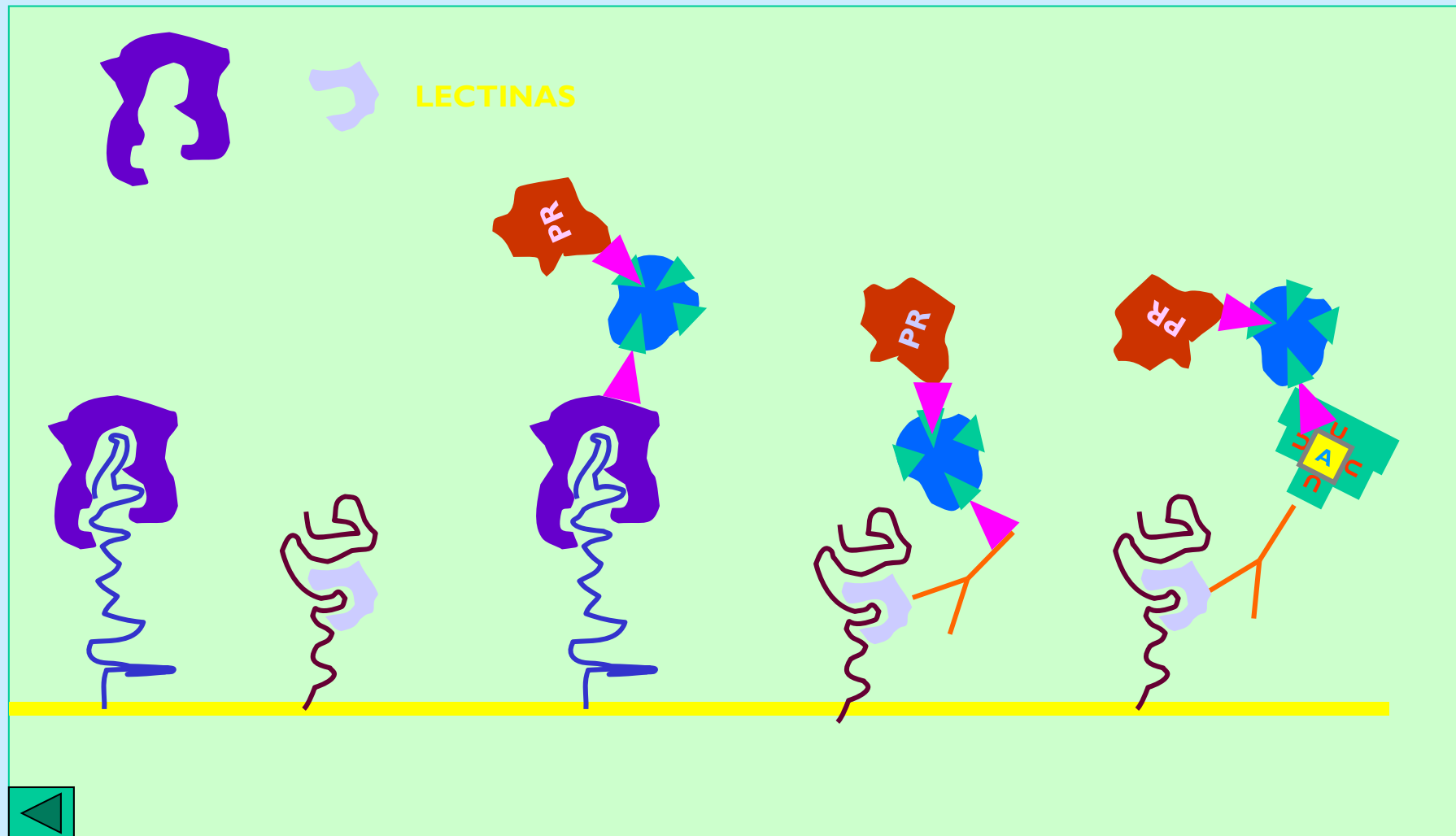
Die Struktur, der funktionelle Zustand und die Entwicklung der Brustdrüse wird durch das Zusammenwirken zahlreicher Hormone gesteuert [9, 14]. Eine charakteristische Eigenschaft des Brustdrüsenparenchyms besteht in der Produktion und Sekretion von Kohlehydraten, Lipiden und milchspezifischen Proteinen [14].

Kürzlich durchgeführte Untersuchungen ergaben, daß markierte Lektine wertvolle Instrumente zur histochemischen Analyse von Kohlehydratstrukturen darstellen [5]. In diesem Zusammenhang



TECNICAS  AFINIDAD  ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

Lectinas



# TECNICAS AFINIDAD ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

- 70 -

DENOMINACION	LECTINAS	PROCEDENCIA	CARBOHIDRATO AFIN
LBA	PHASEOLUS LIMENSIS	LIMA BEAN	$\alpha$ -D-GALNAC > $\alpha$ -D-GAL
PHA	PHASEOLUS VULGARIS	RED KIDNEY BEAN	D-GALNAC ; $\beta$ -D-GAL(1→3,4) $\beta$ -D-GLUNAC(1→2); D-MAN
PWA	PHYTOLACCA AMERICANA	POKE WEED	$\beta$ -(1→4)-D-GLUNAC
PSA	PISUM SATIVUM	PEA BEAN	$\alpha$ -D-MAN > $\alpha$ -D-GLU ; $\alpha$ -D-GLUNAC
PPA	PTILOTA PLUMOSA	RED MARINE ALGAE	$\alpha$ -D-GAL
RCA I	RICINUS COMMUNIS	CASTOR BEAN	$\beta$ -D-GAL > $\alpha$ -D-GAL
RCA II			$\alpha$ ó $\beta$ -GAL = D-GALNAC
STA	SOLANUM TUBEROSUM	POTATO	$\beta$ -D-GLUNAC ((1→4)- $\beta$ -D-GLUNAC-(1→4)) <sub>2</sub>
SJA	SOPHORA JAPONICA		$\alpha$ -D-GALNAC
WGA	TRITICUM VULGARIS	WHEAT GERM	$\beta$ -D-GLUNAC-(1→4)GLUNAC
WGA S			GLUNAC
UEA I	ULEX EUROPEUS	GORSE SEEDS	$\alpha$ -L-Fuc
UEA II			L-Fuc(1→2)-D-GAL-(1→4); D-GLUNAC(1→6) 2-FUCOSILLACTOSA
VFA	VICIA FABA	BROAD BEAN	$\alpha$ -D-MAN > $\alpha$ -D-GLU > $\alpha$ -D-GLUNAC
VVA	VICIA VILLOSA		D-GALNAC
VAA	VISCUM ALBUM L	MISTLETOE	D-GAL(1→4)
WFA	WISTARIA FLORIBUNDA		D-GALNAC



TECNICAS



AFINIDAD



ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA

Reprinted from DISEASES OF THE COLON & RECTUM, November 1988  
Vol. 31, No. 11  
© J. B. Lippincott Co. Printed in U.S.A.

## Lectin Binding Patterns in Normal and Neoplastic Colonic Mucosa

A Study of *Dolichos biflorus* Agglutinin,  
Peanut Agglutinin, and Wheat Germ Agglutinin

ELIAS CAMPO, M.D., ENRIC CONDOM, M.D., ANTONIO PALACÍN, M.D.,\*  
ENRIQUE QUESADA, M.D.,\*ANTONIO CARDESA, M.D.

Campo E, Condom E, Palacín A, Quesada E, Cardesa A. Lectin binding patterns in normal and neoplastic colonic mucosa: a study of *Dolichos biflorus* agglutinin, peanut agglutinin, and wheat germ agglutinin. *Dis Colon Rectum* 1988;31:892-899.

The cellular distribution of the carbohydrates labeled by *Dolichos biflorus* agglutinin (DBA), peanut agglutinin (PNA), and wheat germ agglutinin (WGA) were studied in 21 normal colonic mucosae, 17 transitional mucosae, 9 nonneoplastic polyps (NNP), 27 adenomas, and 25 colorectal carcinomas. In normal mucosa DBA bound selectively to mucin of the goblet cells in the upper colonic crypt and to apical cytoplasm of the superficial columnar cells with a strong linear pattern. PNA binding was present only in the supranuclear portion

*From the Department of Pathology,  
Hospital Clínic i Provincial de Barcelona,  
Facultad de Medicina, Estudi General de Lleida,  
Universitat de Barcelona, and Q.S. La Alianza,\*  
Barcelona, Spain*

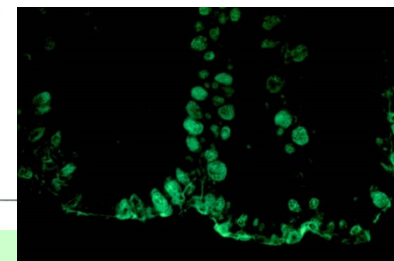
NEOPLASTIC TRANSFORMATION of the colonic mucosa is associated with important changes in the epithelial glycosubstances. Biochemical, histochemical, and immunohistochemical studies have demonstrated differences between the glycoconjugates of normal mucosa and those

**E.Y.**   
**LABORATORIES, INC.**

**PRICE  
LIST**

**DBA DOLICHOS BIFLORUS AGLUTININ**  
frijol

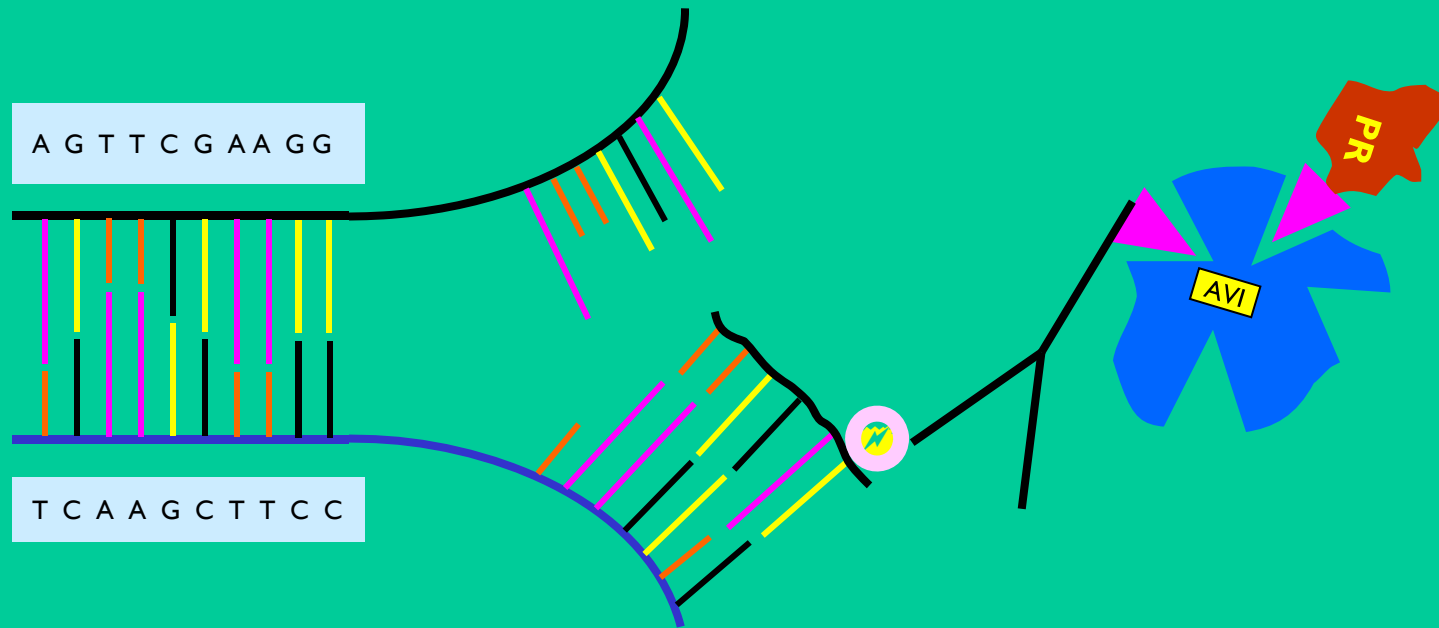
**1990-1991**





TECNICAS ↑ AFINIDAD ↑ ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

## Hibridacion in situ



TECNICAS



AFINIDAD



ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES CITOLÓGICAS  
DE LA CAJA DE AHORROS DE VALENCIA  
CENTRO SUPERIOR DE INVESTIGACION ADSCRITO A LA FACULTAD DE MEDICINA DE VALENCIA

SANTIAGO GRISOLIA

DIRECTOR DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES CITOLÓGICAS

**CERTIFICA:** Que D. ANTONIO PALACIN FORGUE

ha asistido con aprovechamiento al curso sobre Genética Microbiana : Iniciación a la Ingeniería Genética

impartido en este INSTITUTO DE INVESTIGACIONES CITOLÓGICAS desde el 7 al 11 de Julio de 1986

VALENCIA, 11 de Julio de 1986

El Director del curso,

El Director,

Dra. Mª Eugenia Armengod

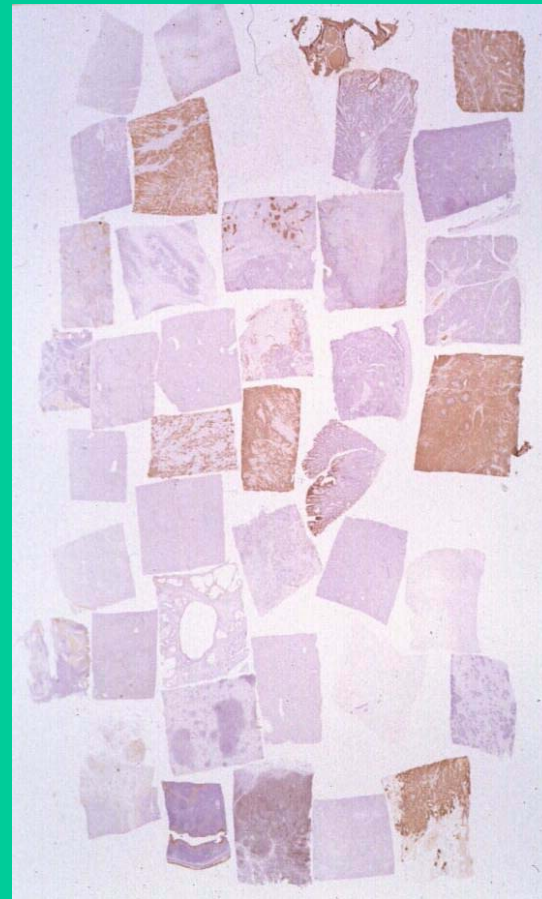
Dr. Manuel Blanco

Prof. Santiago Grisolia



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

Prueba anticuerpos, controles



# TECNICAS ↑ AFINIDAD ↑ ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

CH071-5

3-7-89

- B. 3974-89: Adenocarcinoma
- B. 3702-89: Neo pulmón
- B. 4057-89: Adenocarcinoma
- B. 3709-89: Bazo y neo
- B. 4153-89: Neo de Colon
- B. 3557-89: Hígado y Hepatoma (Cinosis) \*
- B. 4367-89: Feocromocitoma, Suprarenal \*
- 6501-89: Linfoma
- 6653-89: Adenocarcinoma de estomago
- 6850-89: Sarcoma muslo
- F 3456: Metast. Vaginal de Adenocarcinoma de endometrio
- B. 4347-89: cinosis
- 6864-89: Riñon, Carcinoma de Cel. Clav. \*
- 6940-89: Cista hepática
- F. 46234: Adenocarcinoma de Cervix
- 6848-89: Neo de mama
- 6650-89: Mastopatía
- 6859-89: Carcinoma gástrico
- 6868-89: Polipo Colon
- 6818-89: Tenosinovitis nodular
- 6997-89: Prostata, hiperplasia

21

- B. 3970-89: Amígdala
- 7113-89: Bazo linfoma
- 7009-89: Hígado y metástasis neo de recto \*
- 6928-89: Polipo Sigmoide
- 7571-89: Melanoma
- B. 4523-89: Ameloblastoma
- 7298-89: Carcinoma de pulmón
- B. 4672-89: Teratocarcinoma
- 7536-89: Lipoma
- B. 4357-89: Tejido glandular quístico de parótida
- B. 4433-89: Riñon
- 7030-89: ~~Adenocarcinoma~~ de parótida
- 7451-89: Sarcoma retroperitoneal
- 7393-89: Metastasis axilar de Car. de mama
- 7398-89: Neo mama
- 4887-89: Neurofibroma
- 6437-89: Carcinoma de glándula Sudor. parot.

- 3554/85: Hígado + Hepatoma
- 6940/89: Cista hepática
- 7009/89: Hígado + metást. neo recto
- 3702/89: Neo pulmón
- 7298/89: Car. pulmón

38



TECNICAS



AFINIDAD



ESPECIFICIDAD

EN BIOMEDICINA

**ICN**  
**IMMUNOHISTOCHEMISTRY - TUMORAL PATHOLOGY**  
QUALITY CELL MARKERS TO HELP THE DIAGNOSTIC

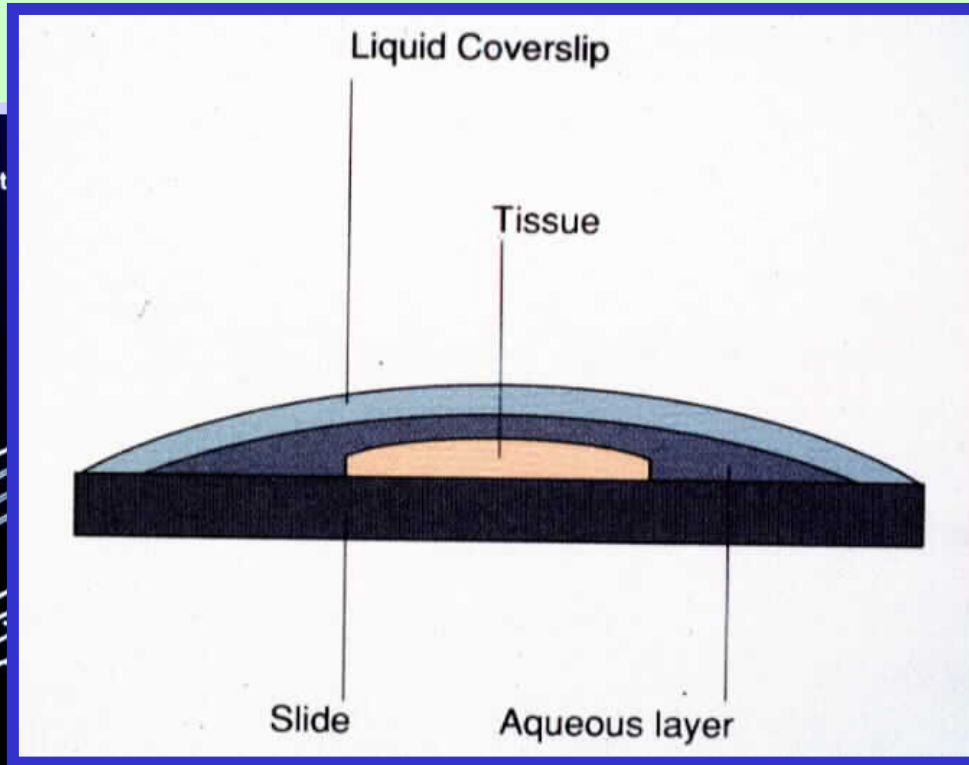
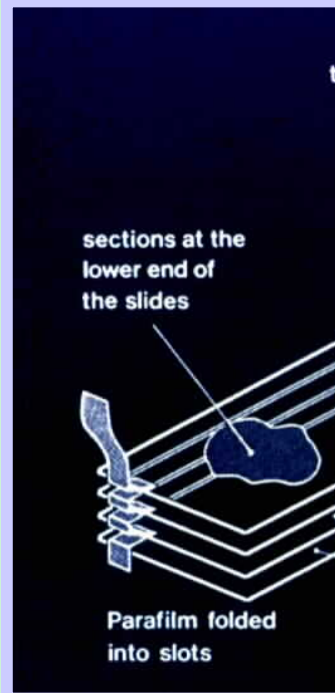
E P I T H E L I U M	<b>Epidermal Carcinomas</b> CYTOKERATINS 4, 10, 13, 14  CYTOKERATIN 4 CYTOKERATIN 10 CYTOKERATIN 13 CYTOKERATIN 14	<b>Urotelial Carcinomas</b> CYTOKERATINS 7, 13  CYTOKERATIN 7 CYTOKERATIN 13	<b>Adenocarcinomas</b> CYTOKERATINS 8, 18, 19  CYTOKERATIN 8 CYTOKERATIN 18 CYTOKERATIN 19  CEA  THYROGLOBULIN Thyroid Cancer  PSA, PSAP Prostatic Cancer  OV362 Ovarian Cancer	<b>Neuroendocrine Tumors</b> SYNAPTOPHYSIN CHROMOGRANIN  NEUROHORMONAL PEPTIDES  MOC Lung cells cancer	
	<b>CARCINOMAS</b>				
	<b>PROLIFERATION</b> BclU PCNA  E-CADHERIN LAMININ COLLAGEN TYPE IV TENASCIN FIBRONECTIN  <b>INVASION</b>	<b>TUMOR GROWTH</b>	<b>NON DIFFERENTIATED NEOPLASMA</b>	<b>PAN-CYTOKERATIN + SYALOMUCIN +</b>	Thyroid Carcinoma Kidney Carcinoma Sinovial Sarcoma Epitheloid Sarcoma  CEA MOC 31 Mesothelioma
	<b>PAN-CYTOKERATIN - VIMENTIN +</b> PAL-9H NK1-C3 S100  Melanomas	<b>PAN-CYTOKERATIN + VIMENTIN +</b>	<b>COMMON LEUCOCYTE ANTIGEN</b> Lymphomas Natural Killer Cells	<b>B Cells Lymphomas</b> <b>T Cells Lymphomas</b> <b>Natural Killer Cells</b>	
<b>SARCOMAS</b>					
COLLAGEN TYPE IV  Fibrosarcomas Osteosarcomas Condrosarcomas	COLLAGEN TYPE IV DESMIN MIOSIN ACTIN  Myosarcomas	COLLAGEN TYPE IV FACTOR VIII Ag (FACTOR WILLEBRAND) PAL-E  Angiosarcomas	GFAP Glial Tumors	NEUROFILAMENTS Neurogenic Tumors Nervous Tumors	

**ICN Ibérica S.A.**  
Casanova 27-31  
08757 Corbera de Llobregat-Barcelona  
Tel. 93-688 28 34 Fax 93-688 04 01

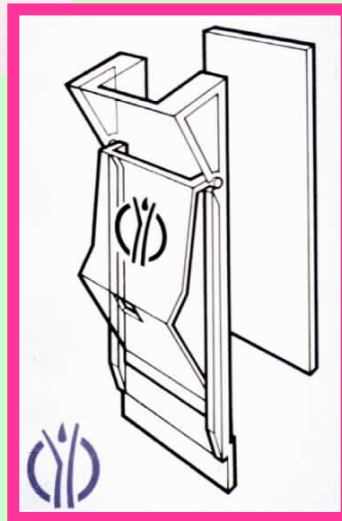
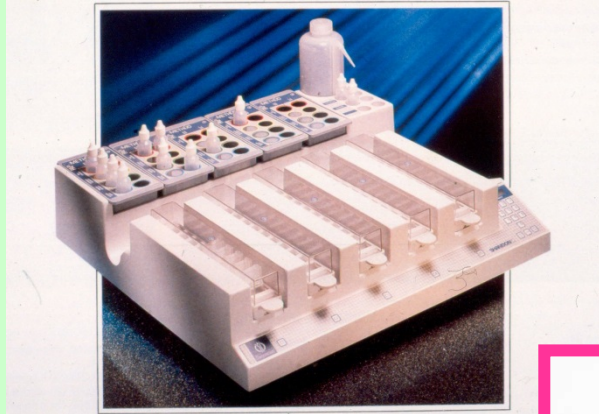


# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

## Automatización



TECNICAS ↑ AFINIDAD ↑ ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA





TECNICAS  AFINIDAD  ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

LO QUE VIENE:

NUEVOS LIGANDOS (AFINITINAS)  
DE ALTA AFINIDAD Y ESPECIFICIDAD

- APTÁMEROS
- ANTICALINAS



TECNICAS ↑ AFINIDAD ↑ ESPECIFICIDAD EN BIOMEDICINA

## APTÁMEROS

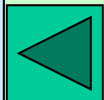
(Latín: aptus = Ligado, atado, dependiente)

OLIGOBODIES (oligonucleotid-based syntetic antibodies)

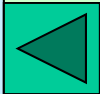
“ANTICUERPOS SINTÉTICOS”

## ANTICALINAS

Prof. A. SQUERRA, Dr. PÖHLCHEN, Dr. SCHLEÜBER



# TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS



**TECNICAS** ↑ **AFINIDAD** ↑ **ESPECIFICIDAD** **EN BIOMEDICINA**



**TECNICAS** ↑ **AFINIDAD** ↑ **ESPECIFICIDAD** **EN BIOMEDICINA**

