

TINCIÓN DE ALCIAN BLUE + NUCLEAR FAST RED

El Alcian Blue detecta polisacáridos, tanto glucógeno como mucopolisacáridos ácidos, mostrándolos de color azul. También tiñe membranas basales y cartílago. El Alcian Blue es un colorante catiónico que se une a grupos cargados negativamente (ácidos) en las mucinas. Es un método fundamental para identificar mucinas ácidas carboxiladas y sulfatadas, especialmente a un pH de 2.5. Se suele combinar con el Nuclear Fast Red, que tiñe los núcleos de color rojo brillante, actuando como contraste. Este se presenta en solución al 0,1% con sulfato de aluminio.

Protocolo:

1. Desparafinar:

- Xilol 5min
- Xilol 5min

2. Hidratar:

- Etanol 100% 3min
- Etanol 100% 3min
- Etanol 96% 3min
- Etanol 70% 3min
- Agua destilada corriendo 5min.

3. Teñir mucopolisacáridos:

- Alcian Blue 5min (debe estar previamente filtrado)

5. Diferenciación:

- Agua grifo meter y sacar, y cambio 3min
- Agua destilada (meter y sacar)

6. Teñir núcleos:

- Nuclear Fast Red Eosina 5min (debe estar previamente filtrada)

7. Aclarar:

- Agua grifo meter y sacar, y cambio 3min
- Agua destilada (meter y sacar)

8. Deshidratar:

- Etanol 96% (meter y sacar)
- Etanol 96% 3min.

- Etanol 100% 3 min
- Etanol 100% 3 min

9. Preparar montaje:

- Xilol 5min
- Xilol 5min

10. Montaje de los portas con Micro-Mount. Dejar secar O/N.

11. Limpiar exceso de medio de montaje con cuchilla y Etanol 70%.

➤ Si los cortes son de criostato, sacar los portas del -80° y dejar 2h a RT y empezar en el paso 3.

Preparación ALCIAN BLUE y NUCLEAR FAST RED:

- Alcian Blue: solución 1% en 3% ácido acético, pH 2.5. Filtrarlo antes de usar.
- Nuclear Fast Red: solución de sulfato de aluminio al 0,1%. Filtrarlo antes de usar.

Referencias:

Alcian Blue (Merck): ref B8438

Nuclear Fast Red (Merck): ref 1.00121.0500

Resultados:

- ✓ Polisacáridos sacáridos, membranas basales y cartílago: azul.
- ✓ Núcleos: rojo brillante (Nuclear Fast Red).