

TINCIÓN DE NISSL

Muy usada en tejido nervioso, sobre todo en encéfalo y médula espinal, para estudiar la organización de las neuronas en núcleos y capas, aunque sirve para cualquier tejido. Tiñe estructuras ácidas, como el núcleo y los cúmulos de ribosomas. En el citoplasma de las neuronas aparecen unas estructuras fuertemente teñidas de azul-violeta denominadas cuerpos de Nissl, que se corresponden con acumulaciones de retículo endoplasmático rugoso (tiñe ARNr y ARNm).

Protocolo:

1. Desparafinar:

- Xilol 5 min
- Xilol 5 min

2. Hidratar:

- Etanol 100% 3 min
- Etanol 100% 3 min
- Etanol 96% 3 min
- Etanol 70% 3 min
- Agua destilada corriendo 5 min (cuidado que no le caiga directamente a la muestra).

3. Tinción de ARN: solución Cresil Violeta Acetato 7min.

4. Lavar con H₂O (meter y sacar).

5. Deshidratar: (no dejar más tiempo del que pone, porque la calidad de la tinción depende del tiempo de diferenciación durante la deshidratación, por lo que los tiempos en estos alcoholes afectaran al resultado final):

- Etanol 96% (meter y sacar)
- Etanol 100% 3 min. Repetir este paso

6. Montaje:

- Xilol 5 min. Repetir este paso
- Montaje de los portas con Micro-Mount. Dejar secar O/N.
- 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 H₂Od anterior al paso 3.
- Se usa como Control+ un corte de cerebro.

Preparación de reactivos:

- Solución de Cresil Violeta al 0.1%:

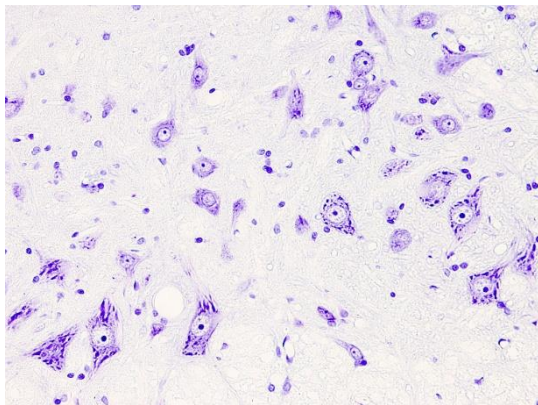
Para 50ml: 0.05g violeta de cresilo acetato + 50ml H₂Od + 125uL de ác. acético (añadirlo justo antes de usarlo). miliQ. Filtrarlo antes de usar.

Para 250ml: 0.25g violeta de cresilo acetato + 250ml H₂Od + 625uL de ác. acético (añadirlo justo antes de usarlo). miliQ. Filtrarlo antes de usar.

Referencias:

Cresyl Violet acetate (Alfa Aesar): ref. J64318

Resultados:



- ✓ Cuerpos de Nissl: azul oscuro-violeta
- ✓ Núcleos: rosa-violeta.

Imagen de motoneuronas de la médula espinal de rata teñidas con violeta de cresilo. Los grumos oscuros que aparecen en el citoplasma son los cuerpos de Nissl.