

Patoloji Tanı Teknikleri

İmmunohistokimya

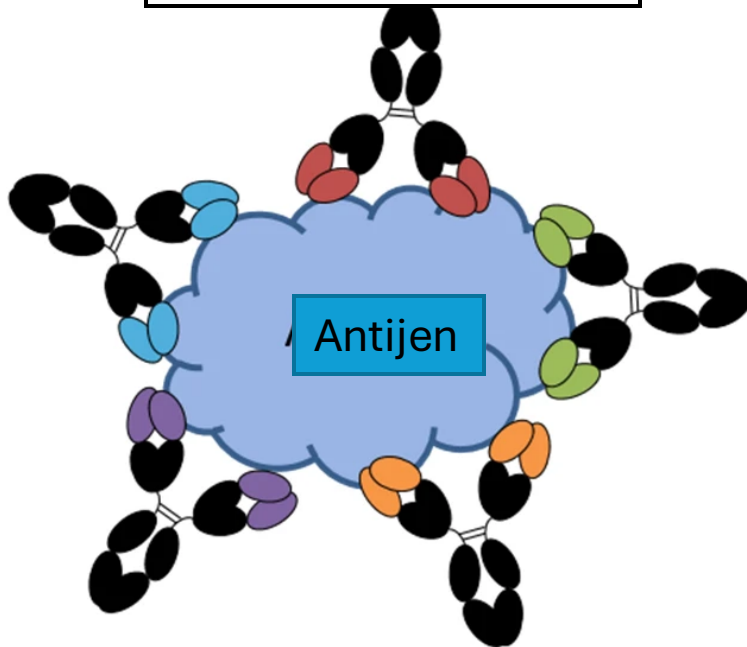
- Hücre ve dokularda yer alan endojen ve/veya ekzojen immunojenik yapıdaki maddelerin, özel yöntemlerle hazırlanmış işaretli antikorlar aracılığıyla ışık, floresans ve/veya elektron mikroskopta saptanması

İmmunohistokimya

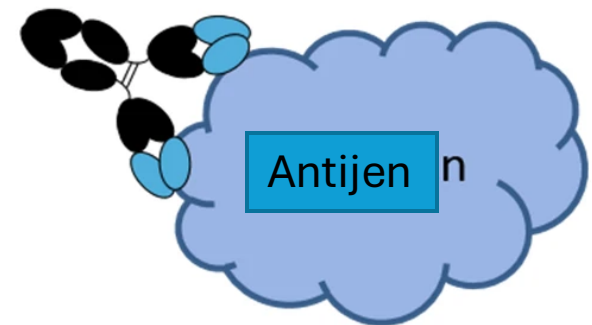
- ***Antijen:*** Organizmada immun yanıt oluşturabilen ve bunun sonucunda kendilerine karşı özel antikor şekillendirebilen maddeler (protein, glikoprotein veya lipoprotein yapısında)
- ***Antikor:*** Antijene karşı immun sistem tarafından oluşturulmuş olan Ig yapısındaki tüm bu maddeler (A, D, E, G ve M)

Antikorlar

P Poliklonal antikor



Monoklonal antikor **y**



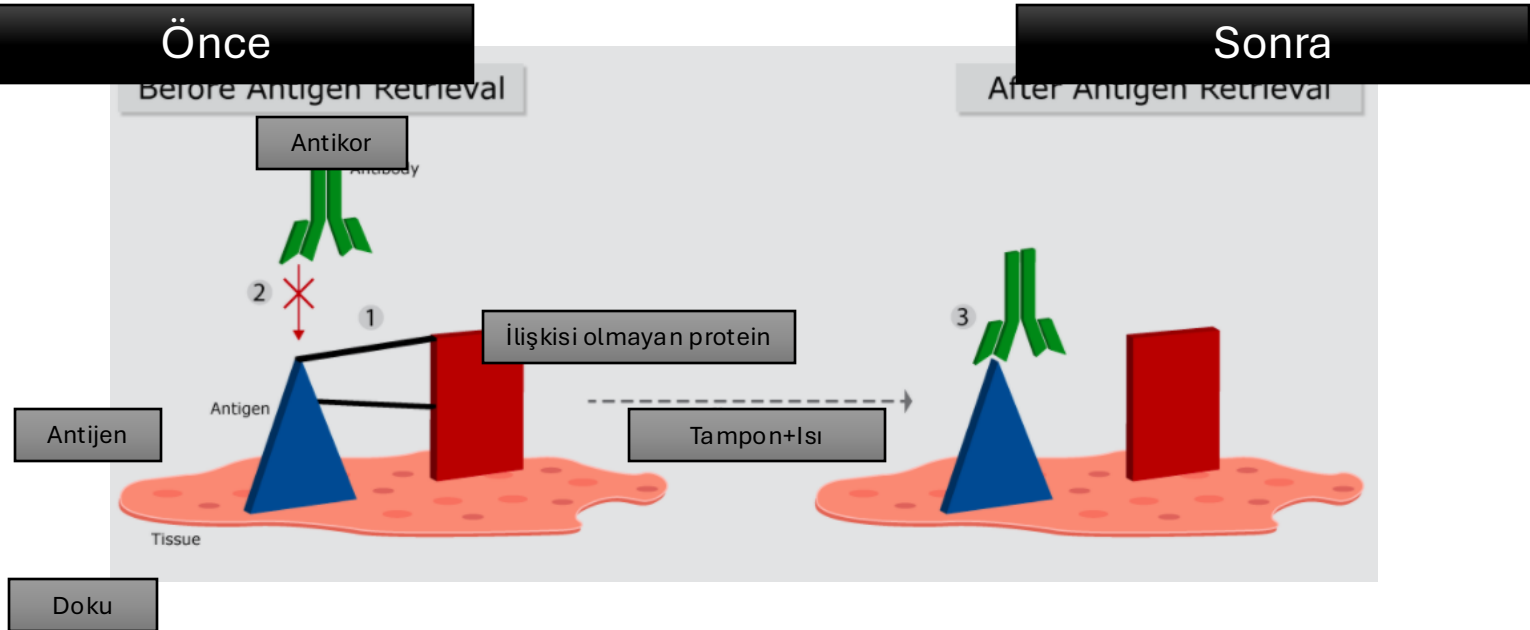
Nonspesifik reaksiyonların engellenmesi

- Boyamada kullanılan primer antikor, antijenin dışında hücre duvarı ve pek çok doku proteinleri ile tepkimeye girerek nonspesifik (istenmeyen, özel olmayan) reaksiyonlara sebep olur.

Nonspesifik reaksiyonların engellenmesi

- **Serum inhibisyonu:** sığır serum albumini ya da normal keçi serumu
- **Enzim inhibisyonu:** oda ısısında metanol ve %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2)
- **Antigen retrieval:** enzimlerle (proteinase K, pronase, trypsin vs) ya da ticari olarak bu işe özel hazırlanmış solüsyonların mikrodalga fırında, düdüklü tencerede veya kaynatılarak doku kesitlerine uygulanmasıyla gerçekleştirilir.

Antigen retrieval



İmmunohistokimyada önemli noktalar

- Ortamdaki serbest antikorları uzaklaştırmak için kesitler tamponlu solüsyonlarla (Phosphate buffer solutions-PBS, Tris buffer) iyice yıkanmalıdır.
- Kullanılan **antikorların sulandırılmalarına** dikkat edilmelidir.
- Antikor seçiminde özellikle kullanılacak serum ve kimyasalların uyumu sağlanmalıdır. (**primer antikor, sekonder antikor ve kullanılan ticari kit uyumu gibi**)

İmmunohistokimyada önemli noktalar

- İstenmeyen reaksiyonlar en aza indirgenmelidir.
- Kullanılan solüsyonların fazlası kurutma kağıdı veya kağıt havlu ile alınmalıdır ya da kesitlerin etrafı özel kalemlerle çizilmelidir.
- Boyamada kullanılan solüsyonlarla işlem nem odası içerisinde ve uygun ısıda (**+4°C, 37°C**) yapılmalıdır.
- Floresans boyamalar karanlık bir ortamda gerçekleştirilmelidir.

İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemleri

İmmünoenzim

- Primer antikor, sekonder antikor, enzim veya enzim anti-enzim kompleksi, substrat ve kromojen
- *Horse radish peroxidase* (*AEC*, *DAB* ve *CN*)
- *Alkaline phosphatase* (*Fast red*, *BCIP/NBT*, *New Fuchsin*, *AP-Orange*)

İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemleri

İmmunofloresans

- İmmunoperoksidaz boyama yöntemine benzer
- Direkt veya indirekt
- Antikoru çeşitli florokromlarla (**Fluorescein isothiocyanate (FITC)**, **Tetramethylrhodamine isothiocyanate (TRITC)**, **Cyanine**) bağlanması söz konusu