

組織多重染色や抗体の力価確認の際の 直接法での検出をご提案いたします。

タンパク質標識キットシリーズ DOJINDO Labeling Kit

お試し容量を数量限定で
ご用意しました!

品名	容量	希望納入価格(¥)	コード	メーカーコード
Fluorescein Labeling Kit - NH ₂	1 sample	9,000	343-90913	LK01
Biotin Labeling Kit - NH ₂	1 sample	5,250	343-90893	LK03
Peroxidase Labeling Kit - NH ₂	1 sample	7,500	344-90823	LK11
Alkaline Phosphatase Labeling Kit - NH ₂	1 sample	9,000	349-90873	LK12

1. 簡単、迅速なラベル化キット
フィルトレーションチューブ中で3時間以内に完了

2. 高分子から低分子まで
分子量50,000以上の高分子をラベル化
酵素標識では分子量5,000以下も可能

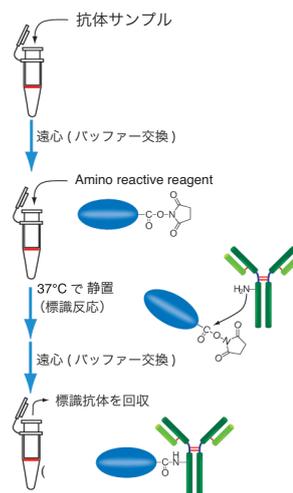
Dojindo Labeling Kitsは活性化試薬とフィルトレーションチューブにより、抗体等を簡単に標識するためのキットです。前処理-反応-精製まで全て一つのフィルトレーションチューブ上で行うことができ、3時間以内に標識体が得られます。

1回の標識操作で50~200 µgのサンプルを処理することができます。フィルトレーションチューブを用いた精製はゲルろ過や透析などに比べ標識体の回収率が高く、貴重なサンプルの標識に適しています。キットには保存溶液が付属しており、標識体を安定に保存することができます。

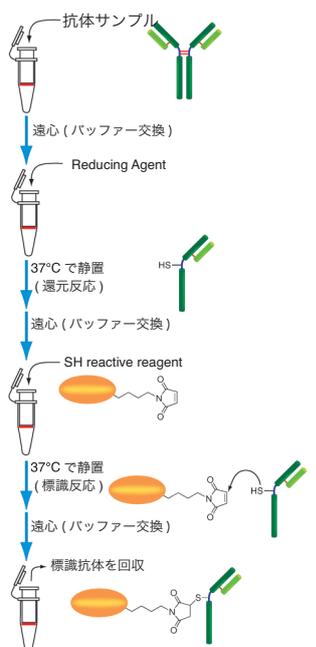
キットでは、分子量50,000以上の高分子のラベル化を行うことができます。活性化酵素を標識するPeroxidase Labeling KitsとAlkaline Phosphatase Labeling Kitsに関しては、さらに分子量5,000以下の低分子の標識も可能です。

NH₂ 標識、SH 標識の操作手順

a) NH₂ 標識



b) SH 標識*



*ヒンジ部以外のSS結合が還元される場合があります。

詳細はこちら

1. 多重染色法における直接法活用のメリット

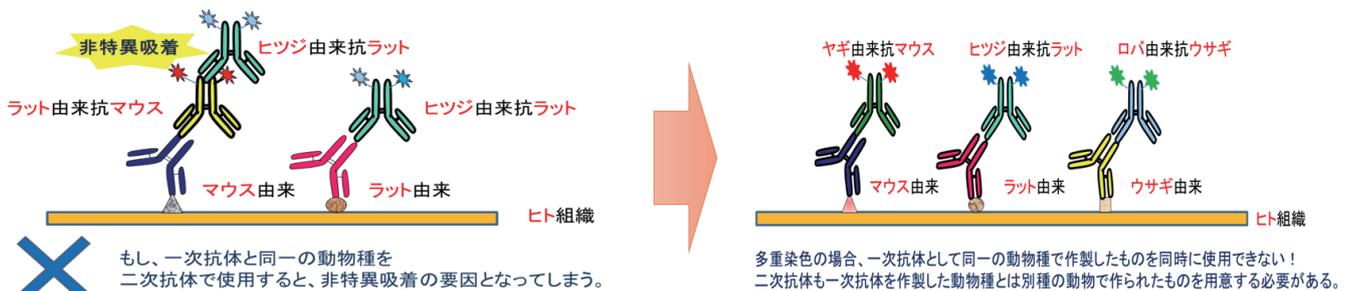
多重染色法は、同一の試料で複数の分子を同時に検出しその局在を比較することができるという有用な手法で、励起・蛍光波長の異なる色素の開発や、蛍光顕微鏡の高性能化も進み、多用されている実験手法である。しかし、一般にイムノアッセイに用いられる標識二次抗体を用いた間接法では、以下のことに留意しなくてはならない。

- 1) 一次抗体として同一の動物種で作製したものを同時に使用できない。
- 2) 二次抗体は一次抗体を作製した動物とは別種の動物で作られたものを用意しなければならない。
- 3) 二次抗体は多重染色用のもの(交差反応*1を防ぐために他の動物の血清で吸着処理*2したもの)を使用しなければならない。
- 4) サンプルの細胞腫と同一の動物種で作製した一次抗体は、使用できない。

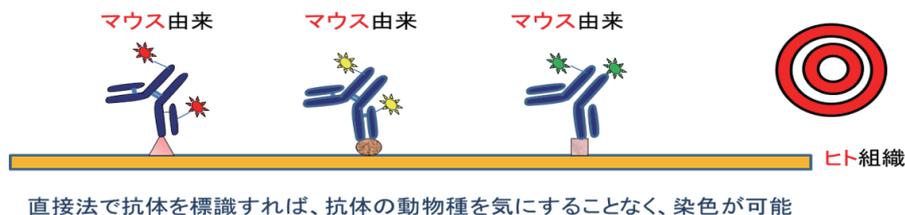
一方、一次抗体に蛍光色素などを直接標識し検出する直接法であれば、このような交差反応や二次抗体による非特異吸着を考慮する必要はなく、多重染色に適した方法といえる。

多重染色の場合

間接法



直接法なら・・・



※1 交差反応とは

二次抗体は一次抗体の宿主動物種に反応する抗体を選ぶが、その二次抗体が他の動物種に対しても多少反応してしまう。これを交差反応と呼ぶ。交差反応の影響を抑える方法の一つとして、吸着処理という方法がある。

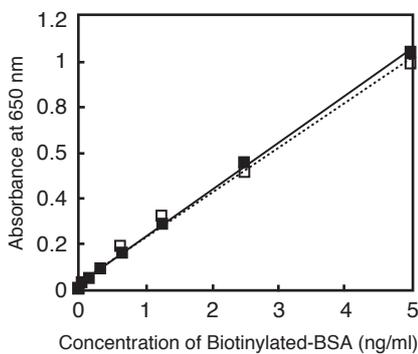
※2 吸着処理とは

予め交差反応を示す可能性のある動物の血清を固定化したビーズを充填したカラムに二次抗体溶液を添加し、それらの血清と反応する抗体をあらかじめ除く処理のこと。

2. 直接法と間接法の感度比較

一般的に、二次抗体を用いた間接法は直接法よりも感度が高いとされている。しかし弊社 Peroxidase Labeling Kit-NH₂ で標識した一次抗体を用いた直接法と、市販の HRP 標識二次抗体を用いた間接法の感度比較を行ったところ、ほぼ同等の感度を示した。

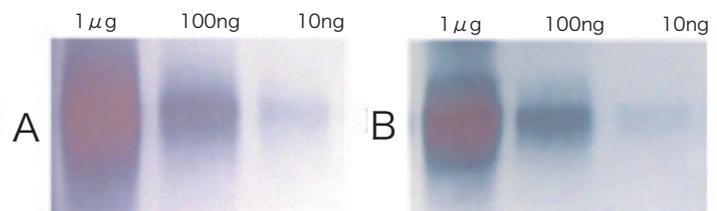
ELISA



ビオチン化 BSA の ELISA の感度比較 (TMB 発色)

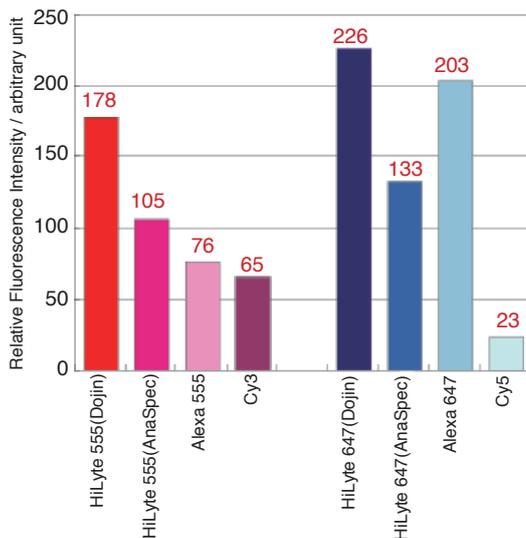
- : 直接法 (HRP 標識抗ビオチン抗体で検出)
- : 間接法 (抗ビオチン抗体と HRP 標識二次抗体で検出)

ウェスタンブロッティング



リン酸化チロシン BSA のウェスタンブロッティング (TMB 発色)
 A: 直接法 (HRP 標識抗リン酸化チロシン抗体で検出)
 B: 間接法 (抗リン酸化チロシン抗体と HRP 標識二次抗体で検出)

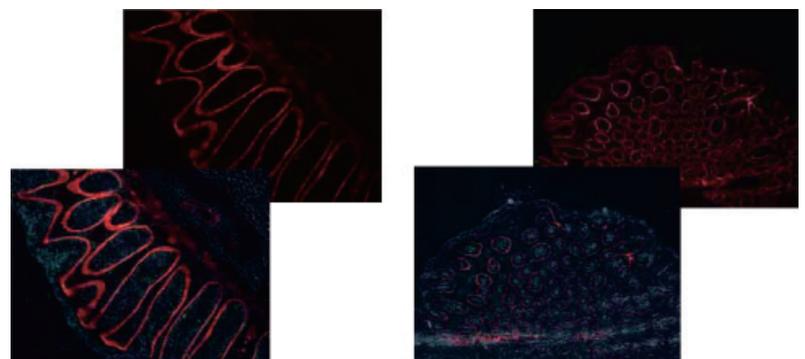
3. 各キットを用いて標識した標識体蛍光強度 (1 μg IgG / 3 ml PBS中)



4. キットを用いた免疫染色例

HiLyte Fluor™ 標識抗 IV 型コラーゲン α5(IV) 鎖抗体を用いて、各組織の基底膜を染色。各組織の α5(IV) 鎖を持つ基底膜のみ明瞭に染まっていることが確認できる。

使用抗体: V型コラーゲン α5(IV) 鎖特異的ラット単クローン抗体



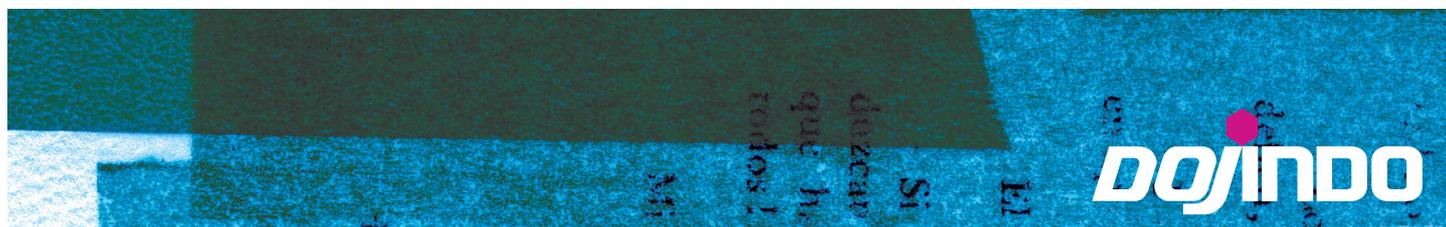
ヒト横行結腸の免疫染色画像(左上)およびその位相差像との合成(左下)

使用キット: HiLyte Fluor™ 555 Labeling Kit - NH₂ (撮影倍率x20)

ヒト盲腸粘膜上の免疫染色画像(右上)およびその位相差像との合成(右下)

使用キット: HiLyte Fluor™ 647 Labeling Kit - NH₂ (撮影倍率x10)

(画像提供: 岡山大学大学院 歯学総合研究科 人体構成学分野 内藤一郎先生、重井医学研究所 佐渡義一先生)



DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.

Dojindo Labeling Kit のラインナップ

品名	容量	希望納入価格 (¥)	コード	メーカーコード
Fluorescein Labeling Kit - NH ₂	1 sample	9,000	343-90913	LK01
	3 samples	21,600	347-90911	LK01
HiLyte Fluor™ 555 Labeling Kit - NH ₂	3 samples	21,600	348-91041	LK14
HiLyte Fluor™ 647 Labeling Kit - NH ₂	3 samples	21,600	345-91051	LK15
HiLyte Fluor™ 750 Labeling Kit - NH ₂	3 samples	49,000	346-91221	LK16
ICG Labeling Kit - NH ₂	1 sample	20,600	341-91433	LK31
	3 samples	46,400	345-91431	LK31
Allophycocyanin Labeling Kit - NH ₂	3 samples	44,200	349-90971	LK21
R-Phycoerythrin Labeling Kit - NH ₂	3 samples	44,200	347-91011	LK23
Allophycocyanin Labeling Kit - SH	3 samples	42,000	346-90981	LK24
R-Phycoerythrin Labeling Kit - SH	3 samples	42,000	344-91021	LK26
Biotin Labeling Kit - NH ₂	1 sample	5,250	343-90893	LK03
	3 samples	12,400	347-90891	LK03
Biotin Labeling Kit - SH	3 samples	12,400	348-90941	LK10
Peroxidase Labeling Kit - NH ₂	1 sample	7,500	344-90823	LK11
	3 samples	17,600	348-90821	LK11
Peroxidase Labeling Kit - SH	3 samples	17,600	345-90831	LK09
Alkaline Phosphatase Labeling Kit - NH ₂	1 sample	9,000	349-90873	LK12
	3 samples	21,600	343-90871	LK12
Alkaline Phosphatase Labeling Kit - SH	3 samples	21,600	346-90861	LK13

1) 記載価格は本体価格のみで、消費税等は含まれておりません。

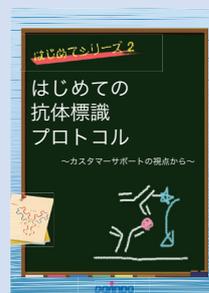
2) 記載価格はこのパンフレット編集時(2015/08/17)における希望納入価格です。予告無しに変更する場合がございますのでご注意ください。

3) 試験・研究用です。医薬品としては使用できません。

抗体標識に関する資料をご準備しております。
下記までご請求下さい。

請求先: 和光純薬工業株式会社
営業企画部 学術課

E-mail: labchem-tec@wako-chem.co.jp
FAX: 0120-052-806



はじめてシリーズ2
はじめての抗体標識プロトコル

直接標識法の利点や実施例などを
解りやすくまとめました。

はじめて抗体を標識される方に
ご覧いただきたいプロトコルです。

国内販売元

和光純薬工業株式会社

URL <http://www.wako-chem.co.jp>
フリーダイヤル 0120 052 099
フリーファックス 0120 052 806

開発元

DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.

30 W Gude Dr, Suite 260, Rockville, MD 20850, U.S.A.
URL <http://www.dojindo.com>

委託製造元・国内問い合わせ先

株式会社 同仁化学研究所

TEL096 286 1515(代表) FAX096 286 1525
ドージン・イースト(東京)
TEL03 3578 9651(代表) FAX03 3578 9650

URL <http://www.dojindo.co.jp/> E-mail info@dojindo.co.jp

Free dial 0120-489-548 Free fax 0120-021-557