

よくあるご質問

■ 製品の選び方を教えてください。

P32をご覧ください。

使用する組織の種類(ヒト組織、マウス組織、ラット組織)、発色させる酵素の種類(ペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ)、組み合わせる第一抗体の種類(マウス・ウサギ第一抗体両用、マウス第一抗体、ウサギ第一抗体、ヤギ第一抗体、ラット第一抗体)の順にご選択いただきますと、最適な製品をご確認いただけます。

※第一抗体の種類は、第一抗体を作製した免疫動物種をご確認ください。

■ ヒト組織用のシンプルステイン(P80)とストレプトアビジン-ビオチン(SAB)(P81)の違いを教えてください。

▼ 構成および操作手順の違い

- シンプルステインは、酵素標識第二抗体の1種類の試薬で構成されています。酵素標識第二抗体はアミノ酸ポリマーに酵素とFab'にした第二抗体を結合させたポリマー試薬です。
第一抗体⇒酵素標識第二抗体⇒発色基質の順に反応させます。
- ストレプトアビジン-ビオチン(SAB)は、ブロッキング試薬、第二抗体(ビオチン標識第二抗体)、酵素試薬(酵素標識ストレプトアビジン)の3種類の試薬で構成されています。
ブロッキング試薬⇒第一抗体⇒第二抗体⇒酵素試薬⇒発色基質の順に反応させます。

▼ ブロッキング処理の違い

- シンプルステインは、Fab'化してFc部分を取り除いた第二抗体を使用することで、組織中のFcレセプターと反応せずバックグラウンド染色が生じにくい製品となっており、正常血清等によるブロッキング処理は不要です。
- SABは、第二抗体にWhole IgGが使用されておりFc部分が存在します。Fcレセプターによるバックグラウンド染色を防ぐなどの目的で、キットの構成成分であるブロッキング試薬を用いてブロッキング処理を実施ください。

▼ 内因性ビオチンの影響の違い

- シンプルステインは、アビジン・ビオチン系を利用した免疫組織化学染色試薬ではないため、内因性ビオチンの影響を受けません。
- SABは、内因性ビオチンの影響を受けます。検体に、内因性ビオチン活性が残存する新鮮凍結切片や熱による賦活化処理で内因性ビオチン活性が復活したホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いる場合や、内因性ビオチンを多く含む組織を用いる場合には、第一抗体反応前に、内因性アビジン・ビオチンブロッキングキット(P91 コード: 415041)を用いたブロッキング処理を追加してください。
※内因性ビオチンによるバックグラウンド染色は、陰性コントロールにてご確認くださいませ。

■ 陰性コントロールにはどのような試薬を用いればよいですか。

陰性コントロールには、第一抗体の希釈倍率に合わせて調製した正常動物血清や第一抗体の濃度に合わせて調製した正常免疫グロブリンやアイソタイプコントロールの他、第一抗体希釈液やPBSなどが使用されています。陰性コントロールの染色はできる限り連続切片を用い、第一抗体の染色と同時に行ってください。

※非特異反応の有無を確認するため、陰性コントロールの染色を行っていただくことを推奨しております。

参考「免疫染色玉手箱」



▶ 総論 免疫染色における positiveおよびnegative controlの意義

■ ヒストファイン 第一抗体は動物組織にも使用できますか。

ヒストファイン 第一抗体は、ヒト組織用です。そのため、動物組織での反応性を確認していません。

参考情報として、ヒストファイン 第一抗体交差反応の参考表(マウス、ラット組織)をP167に、ヒストファイン 第一抗体交差反応の参考表(その他動物組織)をP168にまとめております。詳細は各項をご参照ください。



ヒ免疫組織化学染色試薬

■ 動物組織の免疫染色を行いたい、ヒト組織用のシンプルステインを使用することは可能ですか。

使用することは可能ですが、ヒト組織用シンプルステインを用いて動物組織の免疫組織化学染色を行うと、ヒト組織用シンプルステインと動物組織中の内因性免疫グロブリンが反応し、バックグラウンド染色が生じる場合があります。弊社では、マウス組織用としてシンプルステインマウス、ラット組織用としてシンプルステインラットをご用意しております。

▼特長

- マウスステインキット [マウス組織用 マウス第一抗体用 (mouse on mouse)]

ヒストファイン マウスステインキット	<ul style="list-style-type: none"> ① ブロッキング試薬A ② ブロッキング試薬B ③ シンプルステインマウスMAX-PO (M)
--------------------	---

ブロッキング試薬(2種類)と標識ポリマーであるシンプルステインマウスMAX-PO(M)から構成されており、ブロッキング試薬Aとブロッキング試薬Bにより内因性マウス免疫グロブリンとの反応性を阻害することでバックグラウンド染色を抑えます。

- マウスステインキット以外のシンプルステインマウス、シンプルステインラット


マウス組織用	吸収処理	
ヒストファイン シンプルステインマウスMAX-PO(R)	抗ウサギIgG (動物種: ヤギ)	固相化したヒト血清タンパク質、マウスIgGとマウス血清タンパク質
ヒストファイン シンプルステインマウスMAX-PO(G)	抗ヤギIgG (動物種: ウサギ)	固相化したマウスIgGとマウス血清タンパク質
ヒストファイン シンプルステインマウスMAX-PO(Rat)	抗ラットIgG (動物種: ヤギ)	固相化したマウスIgGとマウス血清タンパク質
ラット組織用	吸収処理	
ヒストファイン シンプルステインラットMAX-PO(M)	抗マウスIgG (動物種: ヤギ)	固相化したラット、ヒト、イヌ、ブタ、ウサギおよびウシ血清タンパク質
ヒストファイン シンプルステインラットMAX-PO(R)	抗ウサギIgG (動物種: ヤギ)	固相化したラット、ヒト、イヌ、ブタ、マウスおよびウシ血清タンパク質
ヒストファイン シンプルステインラットMAX-PO(G)	抗ヤギIgG (動物種: ウサギ)	固相化したラットIgGとラット血清タンパク質
ヒストファイン シンプルステインラットMAX-PO(MULTI)	抗マウスIgG (動物種: ヤギ)	固相化したラット、ヒト、イヌ、ブタ、ウサギおよびウシ血清タンパク質
	抗ウサギIgG (動物種: ヤギ)	固相化したラット、ヒト、イヌ、ブタ、マウスおよびウシ血清タンパク質

注) ラット組織用(コード: 414171、414181、414191)は、ラットに追加して複数の動物種の血清タンパク質で吸収処理をしていますが、本製品のラット以外の動物組織での使用について弊社は性能を保証いたしかねます。ご使用の際は、まずはサンプル(試用品)等で性能をご確認ください。

表中に記載の血清タンパク質等での吸収処理により、内因性免疫グロブリンと反応しません。

■ 多重染色をしたいのですが注意するポイントを教えてください。

製品カタログP46~49、Webサイト「免疫染色玉手箱」をご参照ください。

参考「免疫染色玉手箱」 	▶ 技術 熱湯処理を用いた酵素抗体法多重染色
	▶ 技術 酵素抗体多重染色法

疑問は解決されましたか？

ご不明点やご質問等ございましたらお気軽にお問い合わせください。

