



ANTICORPS SECONDAIRES

Anticorps purifiés anti IgG (H+L) de mouton
conjugués à la peroxydase

CODE : BI 2408

pour la recherche uniquement

Immunogène : Immunoglobuline entière de mouton hautement purifiée

Espèce productrice : lapin

Quantité : 1ml

Conditionnement : TBS Glycérol 50%

Conservation : +4 C ou -20 C pour de longues conservations. Les produits glycinés ne congèlent pas, il n'est pas nécessaire de les répartir en aliquotes. Ne pas stocker en flacons plastiques (exemple : eppendorf) pour éviter une perte d'activité.

Utilisation : Les anticorps P.A.R.I.S sont fortement spécifiques, donc particulièrement bien indiqués pour une utilisation dans les techniques les plus sensibles (ELISA, immunohistochimie, immunocytochimie, immunoblot). Leurs qualités sont garanties par le respect d'un protocole de purification très exigeant où se succèdent purifications non spécifiques et spécifiques (chromatographie d'affinité).

Nos anticorps subissent un contrôle systématique des réactions croisées entre espèces cibles. Ce phénomène, qui peut présenter un inconvénient pour certaines techniques, est partiellement évité par une sélection rigoureuse des immunosérums. Le cas échéant l'élimination totale des réactions croisées peut nécessiter un « épuisement » par chromatographie d'affinité contre l'antigène dont la reconnaissance n'est pas souhaitée.

Marquage : Les marquages à la peroxydase ont l'avantage d'être sensibles et permanents. Ses substrats sont nombreux et variés : précipitants pour immunohistochimie ou immunoblot (DAB, AEC, 4CN, TMB), solubles pour ELISA (TMB, OPD, ABTS), chimiluminescents (luminol).

Les marquages à la peroxydase ont certains inconvénients:

- La peroxydase est inactivée par l'oxygène, l'acide hypochlorique et l'azide de sodium. Il est donc conseillé d'utiliser une eau très pure.

- La présence de peroxydase endogène dans certains tissus (macrophages, globules rouges, cellules de la moelle osseuse, plantes) peut augmenter le bruit de fond.

Préparation des solutions substrats :

ELISA : OPD (orthophénylène diamine) : 0,4mg/ml dans un tampon citrate phosphate 0,1M pH5 + H2O2 (eau oxygénée 30%) 0,4µl/ml. Incubation 10 minutes à l'obscurité. Arrêt de la réaction avec un volume V/2 de H2SO4 1M. Lecture à 492nm.

Immunocytochimie : DAB (diaminobenzidine) : 0,5mg/ml dans un tampon TRIS / HCl 0,1M pH7,4 + H2O2 (eau oxygénée 30%) 5µl/ml. Incubation 10 minutes à l'obscurité.

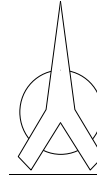
Immunoblot : 4CN (4-chloro-1-naphtol) : 25 mg dans 49,5 ml de PBS 0,1M pH7,4 + 0,5ml d'éthanol à 100%. Filtrer sur papier wattman. Ajouter 25µl de H2O2 30%. Incuber 10 mn à température ambiante.

Dilutions d'utilisation conseillées : Les dilutions optimales doivent être déterminées en fonction du protocole et du matériel utilisé. Nous indiquons ici les dilutions moyennes d'utilisation.

ELISA : 1/500 à 1/5000

Immunocytochimie/Immunohistologie : 1/20 à 1/100

Immunoblot : 1/100 à 1/1000



SECONDARY ANTIBODIES

Peroxidase labelled purified antibodies
to sheep IgG (H+L)

CODE : BI 2408

for research use only

Immunogen : Highly purified whole immunoglobulin from sheep

Host : rabbit

Quantity : 1ml

Format : TBS Glycerol 50%

Storage : +4 C or -20 C for long storage. Products in glycerol do not freeze and can be stored liquid at -20 C. Do not store in plastic tubes (i.e. eppendorf) to avoid losing activity.

Applications : P.A.R.I.S antibodies are highly specific, therefore they are particularly suitable for use in the most sensitive procedures (ELISA, immunohistochemistry, immunocytology and western blot). Their quality is guaranteed because a very stringent purification protocol is followed where non-specific and specific purifications alternate (affinity chromatography). Our antibodies undergo a routine inspection of the cross reactions between target species. This phenomenon, which can present a disadvantage for certain techniques, is partially avoided by a rigorous selection of immune sera. If necessary, the total elimination of the cross reactions can require an adsorption by affinity chromatography against the antigen whose recognition is not desired.

Conjugate properties : Peroxidase labelling has the advantage of being sensitive and permanent. Peroxidase substrates are numerous and varied – precipitating substrates for immunohistochemistry or western blot (DAB, AEC, 4CN, TMB), soluble substrates for ELISA (TMB, OPD, ABTS) and chemiluminescent substrates (luminol).

However peroxidase labelling has some disadvantages:

- Peroxidase is rendered inactivated by oxygen, hypochloric acid and sodium azide. It is therefore advisable to use highly purified water.

- The presence of endogenous peroxidase in certain tissues like macrophages, red cells, bone marrow cells and plants could increase the background.

Preparation of Substrate Solutions:

- ELISA : OPD (orthophénylène diamine): 0.4mg/ml in a 0.1M pH5 phosphate citrate buffer + 0.4µl/ml H2O2 (30% hydrogen peroxide solution). Incubation 10 minutes in darkness. Stop reaction with V/2 volume of 1M H2SO4. Reading at 492nm

- Immunocytochemistry: DAB (diamino-benzidine): 0.50mg/ml in a 0.1M pH7.4 TRIS/HCl buffer + 5µl/ml H2O2 (30% hydrogen peroxide solution). Incubation 10 minutes in darkness.

- Western Blot : 4CN (4-chloro-1-naphtol): 25mg in 49.5ml of 0.1M pH 7.4 PBS + 5µl/ml 100% ethanol. Filter on "wattman paper". Add 25µl of 30% H2O2. Incubate 10 mn at room temperature.

Working dilutions :

Dilutions must be determined according to user's experience. Only general bases are indicated here.

ELISA : 1/500 - 1/5000

Immunocytology/Immunohistology : 1/20 - 1/100

Immunoblot : 1/100 - 1/1000

Version janv 07