



ANTICORPS SECONDAIRES

Anticorps purifiés anti IgG (H+L) de chèvre
conjugués à la phosphatase alcaline

CODE : BI 2503

pour la recherche uniquement

Immunogène : Immunoglobuline entière de chèvre hautement purifiée

Espèce productrice : lapin

Quantité : 1ml

Conditionnement : TBS, Glycérol 50%, BSA 1%, Na₃N 0,1%

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.

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 : La phosphatase alcaline présente plusieurs avantages. Elle offre une très bonne sensibilité, n'est pas inactivée par certains inhibiteurs comme l'est la peroxydase et dispose également de substrats variés : précipitants (BCIP/NBT, NADP/NF), solubles (pNPP) ou luminescents (dioxétane). L'activité endogène de cette enzyme est particulièrement forte dans la placenta et l'intestin.

Préparation des solutions substrats :

ELISA : pNPP 15mM dans diéthanolamine 1M pH 9,8, MgCl₂ 0,5 mM. Incuber 15 minutes à 37 C. Arrêt de la réaction avec un volume V/5 de K₂HPO₄ 2M. Lecture à 405 nm.

Immunoblot : 34 µl de BCIP (5bromo-4chloroindolyphosphate) 50mg/ml en DMF + 44 µl de NBT (NitroBlue Tétrazolium) 75 mg/ml en DMF 70% + tampon TRIS/HCl 100mM NaCl 500mM MgCl₂ 50mM pH 9,5 qsp10ml.

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 : 1/25 à 1/100

Immunoblot : 1/100 à 1/1000



SECONDARY ANTIBODIES

Alkaline phosphatase labelled purified antibodies
to goat IgG (H+L)

CODE : BI 2503

for research use only

Immunogen : Highly purified whole immunoglobulin from goat

Host : rabbit

Quantity : 1ml

Format : TBS, Glycerol 50%, BSA 1%, Na₃N 0.1%

Storage : +4 C or -20 C for long storage. Products in glycerol do not freeze and can be stored liquid at -20 C.

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 : Alkaline phosphatase presents a lot of advantages. It is very sensible and cannot be inactivated by inhibitors as peroxidase can be. Moreover a lot of substrates are available: precipitating substrates like BCIP/NTB or NADP/NF, soluble substrates like pNPP or luminescent substrates like dioxetan.

Endogenous activity might be important in placental and intestinal tissues.

Substrate buffers :

ELISA : 1M diéthanolamine, 0,5mM MgCl₂, 15mM pNPP, pH 9.8. Incubate for 15 minutes at 37 C. Stop the reaction with V/5 K₂HPO₄ 2M. Read at 405 nm.

Immunoblot : 34 µl of BCIP (5bromo-4chloroindolyphosphate) at 50mg/ml in DMF + 44 µl NBT (NitroBlue Tétrazolium) at 75 mg/ml in DMF 70% + 10ml substrate buffer (0.1M TRIS/HCl, 0.5M NaCl, 0.05M MgCl₂, pH 9.5).

Working dilutions :

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

ELISA : 1/500 - 1/5000

Immunocytology/Immunohistology : 1/25 - 1/100

Immunoblot : 1/100 - 1/1000

Version janv 07