

7. Detektionssysteme & Zubehör

7.1 Anti-Biotin, -Digoxin, -DNP, -FITC und -Peroxidase (Anti Hapten)	445
7.2 PAP-Komplexe (Peroxidase-Anti-Peroxidase)	449
7.3 Streptavidin-Konjugate	450
7.4 IgG-Agarosen für Festphasenimmunsorption	451
7.5 Reaktive Farbstoffe und Label	452
7.6 Blockierungsreagenzien	454
7.6.1 Normalseren und Serum-Gammaglobuline	454
7.6.2 IgG- und Protease-freies BSA (Rinderserumalbumin)	455
7.6.3 NOVADetect Protein- und Rodent-Block	455
7.6.4 NOVADetect Peroxidase-Block	455
7.7 Substrate, Gegenfärbemittel und Eindeckmedien	456
7.7.1 Chromogen-Substrate für Alkalische Phosphatase und Peroxidase	456
7.7.2 Reagenzien zur Gegenfärbung	457
7.7.3 NOVAMount IHC-Eindeckmedium	457
7.7.4 Fluoreszenz-Eindeckmedium	457
7.8 Adhäsionsobjektträger	458
7.9 Immunhistochemie Kits	459
7.9.1 NOVADetect Labeled Polymer Kits	459
7.9.2 NOVADetect StreptAB Kits (AEC, DAB, BCIP/NBT, Fast Red)	460
7.9.3 NOVADetect StreptAB Kits (AEC, DAB, BCIP/NBT, Fast Red)	462
7.9.4 Quick Kits für Primärantikörper aus Maus und Kaninchen	463

7.1 Anti-Biotin, -Digoxin, -DNP, -FITC und -Peroxidase (Anti Hapten)

Anti-Biotin, -Digoxin und FITC (Hapten-anti-Hapten-Systeme)

Liegen an Haptene wie Biotin oder Digoxigenin gekoppelte Primärantikörper (oder Lektine für die Detektion von Glycokonjugaten) vor, können sie mit Hapten-erkennenden fluorochromierten Reagenzien in großer Vielfalt (z.B. gekoppelt an AMCA, FITC, Cy2, Cy3 und Cy5) visualisiert werden. In Betracht kommen dabei Streptavidin- und anti-Biotin-Konjugate für die Darstellung biotinylierter Marker, während anti-Digoxin-Konjugate stark mit dem Aglycon Digoxigenin kreuzreagieren und somit geeignet für die Detektion digoxigenylierter Proteine sind (Härtig et al., J. Neurosci. Methods 1996, 67, 89-95). Hapten-anti-Hapten-Techniken sind unter anderem dann von Vorteil, wenn in Mausgeweben (z.B. von transgenen Tieren) der Einsatz von sekundären, gegen Maus gerichteten Antikörpern unerwünscht zur Detektion endogener Immunglobuline führen würde.

Besonders bewährt hat sich der Einsatz von anti-Hapten-Konjugaten in der Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH) für Mehrfarbenmarkierungen und Amplifizierungen von mehreren Sonden. Markierte Nukleinsäure-Proben liefern manchmal nur ein schwaches FISH-Signal. Wenn sie mit einem Hapten-dUTP (Biotin, Digoxigenin) markiert sind, wird das Fluoreszenz-Signal normalerweise von einem fluoreszenzmarkierten anti-Biotin oder anti-Digoxin Antikörper geliefert. Um das Signal zu verstärken kann

ein unkonjugierter Maus anti-Biotin oder anti-Digoxin Antikörper verwendet und über einen fluoreszenzmarkierten sekundären Antikörper gegen Maus IgG nachgewiesen werden (siehe folgende Abbildung). Auch eine tertiäre Signalverstärkung mit einem fluoreszenzmarkierten Sekundärantikörper gegen das anti-Maus-Fluoreszenzkonjugat ist möglich.

Auch anti-FITC-Konjugate werden zur Signalverstärkung in der Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH) eingesetzt. Wenn eine Nukleinsäure-Probe mit einem FITC-dUTP markiert ist, sind die Signale ohne Signalverstärkung durch einen Antikörper normalerweise schwächer. Der Grund ist, dass an einem Antikörper 3 – 4 Fluorochrome gekoppelt sind. Das schwache Signal einer FITC-markierten Nukleinsäure-Probe kann manchmal durch einen anti-FITC Antikörper verstärkt werden: dazu wird die Sonde mit einem unkonjugierten Maus anti-FITC Antikörper, gefolgt von einem FITC- oder Cy2-markierten anti-Maus IgG Sekundärantikörper nachgewiesen.

Anti-Biotin (monoklonal)

Monoklonale Maus anti-Biotin Antikörper bieten eine Alternative zu anderen Amplifizierungsmethoden (z.B. ABC-Methoden), wie sie in der Immunhistochemie (Gefrier- und Paraffinschnitte), in situ Hybridisierung und Durchflusszytometrie eingesetzt werden.

Maus anti-Biotin (monoklonal)

Konjugation	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj. ABF	1,0 mg	152,00	200-002-096
TRITC	0,5 mg	170,00	200-022-096
HRPO	0,5 ml	193,00	200-032-096
Alk. Phos.	0,5 ml	213,00	200-052-096
Texas Red	0,5 mg	206,00	200-072-096
FITC	0,5 mg	170,00	200-092-096

Konjugation	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
AMCA	0,5 mg	196,00	200-152-096
Cy3	0,5 mg	215,00	200-162-096
Cy5	0,5 mg	215,00	200-172-096
Cy2	0,5 mg	215,00	200-222-096
Rhod. Red-X	0,5 mg	170,00	200-292-096

Anti-Digoxin (monoklonal)

Digoxin ist ein Sekundärglykosid aus Digitalis. Es besteht aus dem Aglykon Digoxigenin und einem Triglykosid (drei D-Ribohexapyranosyl). Anti-Digoxin erkennt auch den Aglykon-Bereich allein. Anti-Digoxin kann als Konjugat direkt eingesetzt

werden. Zur Erhöhung der Sensitivität kann anti-Digoxin unkonjugiert verwendet und über einen sekundären Antikörper gegen Maus IgG nachgewiesen werden. Der Antikörper ist an Paraffinschnitten einsetzbar.

Maus anti-Digoxin (monoklonal)

Konjugation	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj. ABF	1,0 mg	152,00	200-002-156
TRITC	0,5 mg	170,00	200-022-156
HRPO	0,5 ml	193,00	200-032-156
Alk. Phos.	0,5 ml	213,00	200-052-156
Biotin	0,5 ml	193,00	200-062-156
Texas Red	0,5 mg	206,00	200-072-156

Konjugation	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
FITC	0,5 mg	170,00	200-092-156
AMCA	0,5 mg	196,00	200-152-156
Cy3	0,5 mg	215,00	200-162-156
Cy5	0,5 mg	215,00	200-172-156
Cy2	0,5 mg	215,00	200-222-156
Rhod. Red-X	0,5 mg	170,00	200-292-156

Anti-Dinitrophenyl (DNP, dianova)

Antikörper gegen das Hapten Dinitrophenyl (DNP) sind sensitive Reagenzien, um DNP-markierte Moleküle nachzuweisen. Die FITC- und Biotin-markierten anti-DNP Konjugate können als

Second-Step-Reagenzien in der Signalamplifikation von Protein- und Nukleinsäurenachweissystemen, wie z.B. der in situ Hybridisierung (FISH) mit DNP-modifizierten DNA-Proben eingesetzt werden.

Maus anti-DNP

Maus anti-DNP (Klon MA-DNP-1, monoklonal IgG1/k)

Konjugation	Einheit	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj. BF	0,5 mg	159,00	SAB-28536
unkonj. BF	1 mg	242,00	SAB-28537
Biotin	0,5 mg	184,00	SAB-28540
FITC	0,5 mg	192,00	SAB-28542
HRPO	0,5 mg	342,00	SAB-28544

Maus anti-DNP (Klon MA-DNP-4, monoklonal IgG3/k)

Konjugation	Einheit	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj. BF	0,5 mg	159,00	SAB-28566
unkonj. BF	1 mg	242,00	SAB-28567
Biotin	0,5 mg	184,00	SAB-28570
FITC	0,5 mg	192,00	SAB-28572
HRPO	0,5 mg	342,00	SAB-28574

Maus anti-DNP (Klon MA-DNP-2, monoklonal IgG2a/k)

Konjugation	Einheit	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj. BF	0,5 mg	159,00	SAB-28546
unkonj. BF	1 mg	242,00	SAB-28547
Biotin	0,5 mg	184,00	SAB-28550
FITC	0,5 mg	192,00	SAB-28552
HRPO	0,5 mg	342,00	SAB-28554

Maus anti-DNP (Klon MA-DNP-5, monoklonal IgM/k)

Konjugation	Einheit	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj.	0,5 mg	159,00	SAB-28576
unkonj.	1 mg	242,00	SAB-28577
Biotin	0,5 mg	184,00	SAB-28580
FITC	0,5 mg	192,00	SAB-28582
HRPO	0,5 mg	342,00	SAB-28584

Maus anti-DNP (Klon MA-DNP-3, monoklonal IgG2b/k)

Konjugation	Einheit	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj. BF	0,5 mg	159,00	SAB-28556
unkonj. BF	1 mg	242,00	SAB-28557
Biotin	0,5 mg	184,00	SAB-28560
FITC	0,5 mg	192,00	SAB-28562
HRPO	0,5 mg	342,00	SAB-28564

Ratte anti-DNP (dianova)
Ratte anti-DNP (Klon LO-DNP-1, monoklonal IgG1/k)

Konjugation	Einheit	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj. BF	0,5 mg	136,00	SAB-28411
unkonj. BF	1 mg	207,00	SAB-28412
Biotin	0,5 mg	157,00	SAB-28419
FITC	0,5 mg	167,00	SAB-28421
HRPO	0,5 mg	309,00	SAB-28423

Ratte anti-DNP (Klon LO-DNP-57, monoklonal IgG2b/k)

Konjugation	Einheit	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj. BF	0,5 mg	136,00	SAB-28481
unkonj. BF	1 mg	207,00	SAB-28482
Biotin	0,5 mg	157,00	SAB-28485
FITC	0,5 mg	167,00	SAB-28487

Ratte anti-DNP (Klon LO-DNP-16, monoklonal IgG2a/k)

Konjugation	Einheit	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj. BF	0,5 mg	136,00	SAB-28451
unkonj. BF	1 mg	207,00	SAB-28452
Biotin	0,5 mg	157,00	SAB-28455
FITC	0,5 mg	167,00	SAB-28457

Anti-FITC (monoklonal)

Mit Hilfe des Biotin- oder Enzym-konjugierten anti-FITC Antikörpers kann das Fluoreszenzsignal in enzymatischen Immunoassays in ein unlösliches Farbprodukt der Enzymreaktion umgeformt werden. Der Antikörper ist an Paraffinschnitten einsetzbar.

Konjugate monoklonaler anti-FITC Antikörper sind zum Gebrauch für FITC-anti-FITC-Systeme wie sie z.B. in der Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH) eingesetzt werden.

Maus anti-FITC (monoklonal)

Konjugation	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj. ABF	1,0 mg	92,00	200-002-037
TRITC	0,5 mg	170,00	200-022-037
HRPO	0,5 ml	192,00	200-032-037
Alk. Phos.	0,5 ml	213,00	200-052-037
Biotin	0,5 ml	192,00	200-062-037
Texas Red	0,5 mg	206,00	200-072-037

Konjugation	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
AMCA	0,5 mg	195,00	200-152-037
Cy3	0,5 mg	215,00	200-162-037
Cy5	0,5 mg	215,00	200-172-037
Cy2	0,5 mg	215,00	200-222-037
Rhod. Red-X	0,5 mg	170,00	200-292-037

Ratte anti-FITC (Klon LO-FLUO-1, monoklonal Ratte IgM)

Konjugation	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj. BF	0,5 mg	136,00	SAB-28586
unkonj. BF	1 mg	207,00	SAB-28587
Biotin	0,5 mg	157,00	SAB-28590
FITC	0,5 mg	167,00	SAB-28592
HRPO	0,5 mg	309,00	SAB-28594

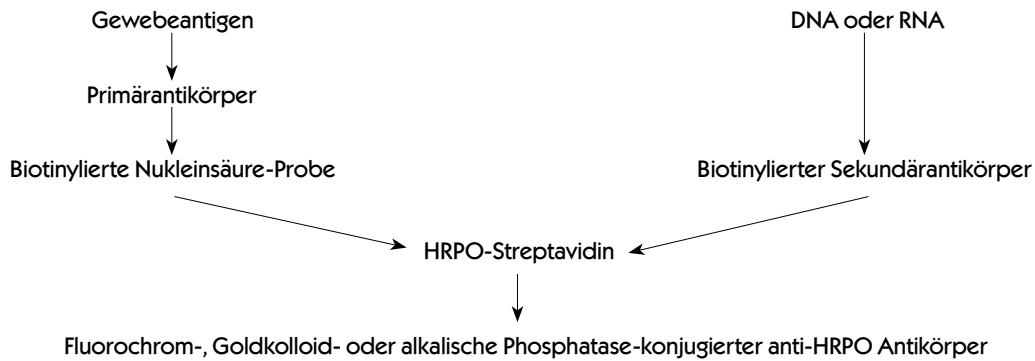
Anti-Meerrettichperoxidase (HRPO, polyklonal)

Polyklonale affinitätsgereinigte anti-Meerrettichperoxidase (HRPO) Antikörper können zur Detektion von Meerrettichperoxidase oder zur Signalverstärkung durch Bindung an HRPO-konjugierte Moleküle (z.B. HRPO-konjugierte Sekundärantikörper oder HRPO-konjugiertes Streptavidin) bzw. HRPO-Komplexe (z.B. PAP) eingesetzt werden.

Bei der Immunfärbung von Säugerzellen ist die Verwendung von anti-Meerrettichperoxidase Antikörpern von Vorteil, da die endogenen Peroxidase-ähnlichen Enzyme dieser Zellen nicht erkannt werden, und somit die Hintergrundfärbung reduziert wird.

So sollten anti-HRPO Antikörper anstelle von PAP löslichen Immunkomplexen in Zellen und Geweben eingesetzt werden, bei denen eine endogene Peroxidaseaktivität nicht unterdrückt werden kann.

Anti-HRPO wurde auch im Komplex mit Goldkolloid-Partikeln mit Silberverstärkung anstelle von DAB verwendet, um weniger diffuse Bilder nach Markierung von Gewebeproben mit HRPO-Reagenzien zu erhalten (Gee et al., J.Histochem. Cytochem. 199, .39, 863; Roth et al., 1992, 98, 229). Ein weiterer Vorteil dieser Technik war eine Reduktion der von endogenen, Peroxidase-ähnlichen Enzymen stammenden Hintergrundfärbung. Die störende endogene Enzymaktivität, die mit DAB normalerweise detektiert wird, wurde nicht mit einem Antikörper gegen Meerrettichperoxidase (einem pflanzlichen Enzym) nachgewiesen. Die Methode kann auch zur Signalverstärkung mit einem Fluorochrom- oder Alkalische Phosphatase- konjugierten anti-HRPO durchgeführt werden, wie in dem Beispiel unten gezeigt.



Schema zu Einsatzmöglichkeiten von Anti-Meerrettichperoxidase (HRPO) Antikörpern

Antiserum

anti-HRPO, unkonjugiert

aus Spezies	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
Kaninchen	2,0 ml	75,00	323-001-021
Maus	2,0 ml	85,00	223-001-021

aus Spezies	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
Schaf	2,0 ml	47,00	523-001-021
Ziege	2,0 ml	47,00	123-001-021

Kaninchen anti-Meerrettichperoxidase (polyklonal)

Konjugation	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj.	2,0 mg	112,00	323-005-021
TRITC	1,5 mg	102,00	323-025-021
Alk. Phos.	1,0 ml	176,00	323-055-021
Biotin	1,5 ml	152,00	323-065-021
Texas Red	1,5 mg	123,00	323-075-021
FITC	1,5 mg	102,00	323-095-021

Konjugation	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
AMCA	1,5 mg	117,00	323-155-021
Cy3	1,5 mg	129,00	323-165-021
Cy5	1,5 mg	129,00	323-175-021
Cy2	1,5 mg	129,00	323-225-021
Rhod. Red-X	1,5 mg	102,00	323-295-021

7 Detektionssysteme & Zubehör

Ratte anti-HRPO (dianova)
Ratte anti-HRPO (Klon LO-HRP-13 monoklonal IgG1/k)

Konjugation	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj. BF	0,5 mg	136,00	SAB-28596
unkonj. BF	1 mg	207,00	SAB-28597
Biotin	0,5 mg	157,00	SAB-28600
FITC	0,5 mg	167,00	SAB-28602
HRPO	0,5 mg	309,00	SAB-28604

Ratte anti-HRPO (Klon LO-HRP-14 monoklonal IgG1/k)

Konjugation	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj. BF	0,5 mg	136,00	SAB-28606
unkonj. BF	1 mg	207,00	SAB-28607
Biotin	0,5 mg	157,00	SAB-28610
FITC	0,5 mg	167,00	SAB-28612
HRPO	0,5 mg	309,00	SAB-28614

Ziege anti-HRPO (polyklonal)

Konjugation	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj. ABF	2,0 mg	87,00	123-005-021
TRITC	2,0 mg	102,00	123-025-021
Alk. Phos.	1,0 ml	170,00	123-055-021
Biotin	2,0 ml	129,00	123-065-021
Texas Red	2,0 mg	123,00	123-075-021
FITC	2,0 mg	102,00	123-095-021
AMCA	2,0 mg	117,00	123-155-021
Cy3	2,0 mg	129,00	123-165-021

Konjugation	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
Cy5	2,0 mg	129,00	123-175-021
Gold 4nm	1,0 ml	166,00	123-185-021
Gold 6nm	0,5 ml	145,00	123-195-021
Gold 12nm	0,5 ml	105,00	123-205-021
Gold 18nm	0,5 ml	145,00	123-215-021
Cy2	2,0 mg	129,00	123-225-021
Rhod. Red-X	2,0 mg	102,00	123-295-021

7.2 PAP-Komplexe (Peroxidase-Anti-Peroxidase)

Peroxidase-Anti-Peroxidase (PAP)-Komplexe werden nach der Methode von Sternberger et al. (J. Histochem. Cytochem. 1970, 18, 315) hergestellt. Obwohl neuere Methoden wie die Verwendung von Peroxidase-konjugiertem Streptavidin sensitiver sind, werden PAP-Komplexe teilweise noch immer wegen ihrer sehr geringen Hintergrundfärbung verwendet.

PAP-Komplexe werden normalerweise mit 25- 50 µg/ml eingesetzt. Die Verwendung von Gesamtsereen gegen IgG (H+L) wird als Brücke zwischen PAP-Komplex und Primäantikörpern empfohlen. Antisereen gegen IgG (H+L) oder gegen F(ab')₂-Fragmente können ebenfalls als Brücke für den PAP-Komplex zu IgM-Primäantikörpern, aufgrund der Erkennung der gemeinsamen leichten Ketten, eingesetzt werden.

Um eine unspezifische Bindung zu minimieren, werden zur Blockierung Normalseren aus derselben Spezies wie der Brückenantikörper eingesetzt.

PAP-Komplexe sollten nicht für Zellen und Gewebe verwendet werden, bei denen eine endogene Peroxidaseaktivität nicht unterdrückt werden kann. Alternativ kann in diesem Fall ein anti-HRPO Alk. Phos.- oder Fluorochromkonjugat eingesetzt werden.

Alle PAP-Komplexe werden in hoher Konzentration gefriergetrocknet, um eine hohe Stabilität und hohe Verdünnbarkeit zu gewährleisten.

Empfohlene Verdünnungen für Peroxidase-Anti-Peroxidase-Komplexe

Produkt	ELISA	Western Blot	Histo-/Zytochemie
PAP-Komplexe	1:5000-1:100.000	1:5000-1:100.000	25-50µg/ml

PAP-Komplexe

Produkt	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
Kaninchen PAP-Komplex, polyklonal	0,25 ml	94,00	323-005-024
Maus PAP-Komplex, polyklonal	0,25 ml	133,00	223-005-024
Maus PAP-Komplex, polyklonal	0,25 ml	100,00	223-005-024

Konzentration der PAP-Stammlösung nach Rekonstitution: 20 mg/ml, Langzeitstabil mit 50% Glycerol-Zusatz und Lagerung bei -20°C)

Alle Produkte sind nur für Forschungszwecke bestimmt, falls nicht gegenteilig indiziert.
Informationen zur CE-Kennzeichnung von Produkten für In-vitro-Diagnostik s. Seite X
Alle Preise verstehen sich zzgl. Mehrwertsteuer.

Telefon 040 / 45 06 70, Telefax 040 / 45 06 74 90
E-Mail: info@dianova.de
Detektionssysteme & Zubehör im Internet: www.dianova.de

7.3 Streptavidin-Konjugate

Streptavidin, ein Protein bakteriellen Ursprungs, wird gerne anstelle von Avidin (aus Hühnereiweiß) eingesetzt, da es keine Kohlenhydratgruppen enthält, bei neutralem pH ungeladen ist und weniger unspezifisch bindet.

Die besten Ergebnisse mit Streptavidin-Konjugaten werden in Verbindung mit Biotin-SP (langer Spacer)-konjugierten Sekundärantikörpern (Kapitel 5) und ChromPure Proteinen (Kapitel 6.2) erreicht. Mit diesen Systemen kovalent konjugierter Reagenzien werden oft bessere Ergebnisse erzielt als mit Avidin-Biotin-Komplexen (ABC-Methode): durch höhere Stabilität der Reagenzien, weniger Hintergrundfärbung und höhere Sensitivität. Dies wurde unabhängig gezeigt von Shi et al. (J. Histochem. Cytochem. 1988, 36, 317) und Milde et al. (J. Histochem. Cytochem. 1989, 37, 1609). Die erhöhte Sensitivität wird dadurch erzielt, dass die Reagenzien leichter ins Gewebe eindringen und sich gegenseitig weniger sterisch behindern, da alle Komponenten ein Molekulargewicht von weniger als 200 kD haben, welches somit erheblich kleiner als das von Avidin-Biotin-Komplexen ist.

Ein Nachweissystem aus Peroxidase markiertem Streptavidin und biotinyliertem Sekundärantikörper ist außerdem sensitiver als eine Signalverstärkung mit PAP-Komplexen. Fluoreszenz- und Enzym-Konjugate von Streptavidin werden in der Immunhistochemie, Enzym-Immunoassays (EIA), Durchflusszytometrie, in situ Hybridisierung und beim Immunoblotting eingesetzt.

Anstelle von FITC-Streptavidin wird DTAF-Streptavidin angeboten, weil DTAF, ein Farbstoff mit ähnlichen spektralen Fluoreszenz-Eigenschaften wie FITC, konjugiert an Streptavidin, nach der Bindung eines Biotin-Konjugats etwa um das Dreifache leuchtintensiver als FITC-konjugiertes Streptavidin ist. Die meisten Streptavidin-Konjugate sind in Puffer gefriergetrocknet und enthalten Konservierungsmittel und Stabilisatoren.

DTAF ist konjugiert an Streptavidin nach der Bindung eines Biotin-Konjugats etwa um das Dreifache leuchtintensiver als FITC-konjugiertes Streptavidin, wobei die Anregung und Emmission mit FITC identisch ist.

Endogenes Biotin, das in verschiedenen Zellen oder Geweben vorhanden ist, kann eine Hintergrundfärbung mit Streptavidin-Konjugaten verursachen. Es wird normalerweise im Cytoplasma beobachtet und stellt vor allem bei Gefrierschnitten ein Problem dar, seltener bei Paraffinschnitten. Vor der Färbung sollte endogenes Biotin daher durch nacheinander folgende Inkubationen von Avidin und nicht reaktivem D-Biotin blockiert werden (Wood und Warnke, J. Histochem. Cytochem. 1981, 29, 1196-204). Endogenes Biotin tritt z.B. auf in: Lebergewebe, Nierentubuli, Pankreas, Schilddrüsenepithel, Leydigischen Zwischenzellen, lymphatischem Gewebe (parakortikale Histiozyten), Gehirn, Mamma, Fettgewebe.

Streptavidin-Konjugat	ELISA	Western Blot	Histo-/Zytochemie	Durchflusszytometrie
Cy2 und andere Fluorophore			2-5 µg/ml	2-5 µg/ml
Cy3 und Cy5			0,5-2 µg/ml	0,5-2 µg/ml
Phycoerythrin			1:50 – 1:200	1:50 – 1:200
Peroxidase (HRPO)	1-2 µg/ml	0,01-0,1 µg/ml	1-2 µg/ml	
Alkalische Phosphatase	1-2 µg/ml	0,01-0,1 µg/ml	1-2 µg/ml	

Streptavidin

Konjugation	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
unkonj. ABF	1,0 mg	75,00	016-000-084
unkonj. ABF	5,0 mg	264,00	016-000-113
unkonj. ABF	10 mg	454,00	016-000-114
DTAF	1,0 mg	129,00	016-010-084
TRITC	1,0 mg	129,00	016-020-084
HRPO	1,0 mg	142,00	016-030-084
Alk. Phos.	1,0 mg	227,00	016-050-084
Texas Red	1,0 mg	170,00	016-070-084

Konjugation	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
RPE	1,0 ml	198,00	016-110-084
APC	0,5 ml	198,00	016-130-084
AMCA	1,0 mg	170,00	016-150-084
Cy3	1,0 mg	189,00	016-160-084
Cy5	1,0 mg	189,00	016-170-084
Cy2	1,0 mg	189,00	016-220-084
Rhod. Red-X	1,0 mg	129,00	016-290-084

Biotinylierte Sekundärantikörper zur Verwendung mit Streptavidin-Konjugaten siehe Kapitel 5.2

7.4 IgG-Agarosen für Festphasenimmunadsorption

Hochgereinigte (ChromPure) Proteine aus dem Serum nicht immunisierter Spezies werden an Bromcyan-aktivierte 4%-ige Agarose-Gele gekoppelt. Mit ChromPure Protein Agarosen können affinitätsgereinigte Antikörper hergestellt oder kreuzreagierende Antikörper entfernt werden. Auch andere Anwendungen sind möglich, so kann z.B. mit humanem IgG beschichtete Agarose zur Charakterisierung von Rheumafaktoren, zur Aktivierung von

Komplement C1 oder zur Reinigung von rekombinanten Protein A-Fusionsproteinen eingesetzt werden. Die Proteine werden in einer Konzentration von 1mg/ml Gel gekoppelt. Die Produkte werden mit Konservierungsmitteln in Phosphatpuffer geliefert.

IgG-Agarosen für Festphasenimmunadsorption

Produkt	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
ChromPure Kaninchen IgG-Agarose	5,0 ml	133,00	011-000-052
ChromPure Maus IgG-Agarose	5,0 ml	170,00	015-000-052
ChromPure Ziege IgG-Agarose	5,0 ml	114,00	005-000-052

7.5 Reaktive Farbstoffe und Label

Die neuen **Oyster®-Fluoreszenzfarbstoffe** erlauben Ihnen, Fluoreszenz-Konjugate von Antikörpern und Proteinen selbst herzustellen. Die Reaktiven NHS-ester der aktivierten Farbstoffe reagieren dabei mit Amingruppen zu einer stabilen Amidbindung.

Bei den Farbstoffen wird dabei zwischen mono- und bifunktionellen Farbstoffen unterschieden. **Monofunktionelle Farbstoffe** besitzen eine funktionelle Gruppe, meist ein NHS-Ester, **bifunktionelle Farbstoffe** (Oyster® 645) sind mit zwei reaktiven Gruppen ausgestattet.

Der Vorteil von monofunktionellen Farbstoffen ist dabei, dass diese zu einem definierten Produkt reagieren. Im Gegensatz dazu haben bifunktionelle Farbstoffe eine etwas höhere Kopplungseffizienz was bei der Kopplung an Nukleotide oder aminoallyl-modifizierte cDNA vorteilhaft sein kann.



Da Proteine und Nukleotide strukturell sehr verschieden sind, und sich daher in ihren Kopplungs- und Quencheigenschaften unterscheiden, werden die Oyster®-Farbstoffe teilweise in optimierten Versionen für Protein oder DNA-Kopplung angeboten.

Die für Proteinkopplung optimierten Farbstoffe haben einen längeren Linker zur Reduzierung von Quencheffekten und die Fluoreszenzfarbstoffe für DNA-Anwendungen wurden hinsichtlich ihrer Kopplungseigenschaften und Ladung optimiert.

Oyster® 500

Funktionalität:	Monofunktionell
Anregung*:	500 nm
Emission*:	527 nm
Ähnliche Farbstoffe:	FITC, Cy2, Alexa Fluor 488
Linker:	hydrophiler 30 A Linker

Menge	PreisEUR	Katalog-Nummer
1 mg	144,00	OY-500-1-N-1x1
5 mg	639,00	OY-500-1-N-1x5
Probe (für 1,5mg)*	29,00	OY-500-1-N-1xV

Oyster® 550 DNA

Funktionalität:	Monofunktionell
Anregung*:	551 nm
Emission*:	570 nm
Ähnliche Farbstoffe:	TRITC, Cy3, Alexa Fluor 555
Linker:	C6 Linker

Menge	PreisEUR	Katalog-Nummer
1 mg	173,00	OY-550-D1N-1x1
5 mg	767,00	OY-550-D1N-1x5
Probe (für 1,5mg)*	35,00	OY-550-D1N-1xV

Oyster® 550 Protein

Funktionalität:	Monofunktionell
Anregung*:	551 nm
Emission*:	570 nm
Ähnliche Farbstoffe:	FITC, Cy2, Alexa Fluor 488
Linker:	hydrophiler 30 A Linker

Menge	PreisEUR	Katalog-Nummer
1 mg	173,00	OY-550-P1N-1x1
5 mg	767,00	OY-550-P1N-1x5
Probe (für 1,5mg)*	35,00	OY-550-P1N-1xV

*Die Lieferung ist erst ab einer Mindestbestellmenge von 3 Proben kostenfrei. Proben verschiedener Farbstoffe können dabei beliebig kombiniert werden

Oyster® 556

Funktionalität:	Monofunktionell
Anregung*:	556 nm
Emission*:	570 nm
Ähnliche Farbstoffe:	TRITC, Cy3, Alexa Fluor 555
Linker:	C6 Linker

Menge	PreisEUR	Katalog-Nummer
1 mg	144,00	OY-556-1-N-1x1
5 mg	639,00	OY-556-1-N-1x5
Probe (für 1,5mg)*	29,00	OY-556-1-N-1xV

Oyster® 650 Protein

Funktionalität:	Monofunktionell
Anregung*:	651 nm
Emission*:	670 nm
Ähnliche Farbstoffe:	Cy5, Alexa Fluor 647
Linker:	C6 Linker

Menge	PreisEUR	Katalog-Nummer
1 mg	173,00	OY-650-P1N-1x1
5 mg	767,00	OY-650-P1N-1x5
Probe (für 1,5mg)*	35,00	OY-650-P1N-1xV

Oyster® 645

Funktionalität:	Bifunktionell
Anregung*:	645 nm
Emission*:	666 nm
Ähnliche Farbstoffe:	Cy5, Alexa Fluor 647
Linker:	C6 Linker

Menge	PreisEUR	Katalog-Nummer
1 mg	144,00	OY-645-2-N-1x1
5 mg	639,00	OY-645-2-N-1x5
Probe (für 1,5mg)*	29,00	OY-645-2-N-1xV

Oyster® 656 DNA

Funktionalität:	Monofunktionell
Anregung*:	651 nm
Emission*:	670 nm
Ähnliche Farbstoffe:	Cy5, Alexa Fluor 647
Linker:	C6 Linker

Menge	PreisEUR	Katalog-Nummer
1 mg	144,00	OY-656-D1N-1x1
5 mg	639,00	OY-656-D1N-1x5
Probe (für 1,5mg)*	29,00	OY-656-D1N-1xV

Oyster® 650 DNA

Funktionalität:	Monofunktionell
Anregung*:	651 nm
Emission*:	670 nm
Ähnliche Farbstoffe:	Cy5, Alexa Fluor 647
Linker:	C6 Linker

Menge	PreisEUR	Katalog-Nummer
1 mg	173,00	OY-650-D1N-1x1
5 mg	767,00	OY-650-D1N-1x5
Probe (für 1,5mg)*	35,00	OY-650-D1N-1xV

7.6 Blockierungsreagenzien

7.6.1 Normalseren und Serum-Gammaglobuline

Normalseren sind lipidextrahiert, gegen Phosphatpuffer dialysiert und gefriergetrocknet. Der Phosphatpuffer enthält Natriumazid.

Der Zusatz von 4 - 5% Normalserum zum Versuchspuffer wird in einem separaten Blockierungsschritt empfohlen!

Dies verhindert unspezifische Bindungen zwischen den im Versuch eingesetzten Antikörpern und konservierten Sequenzen und/oder Fc-Rezeptoren der untersuchten Gewebe oder Zellen, und der Hintergrund wird reduziert.

Die besten Ergebnisse liefert die Verwendung von Normalserum aus derselben Spezies wie der konjugierte Zweitantikörper in **jeweils** einem separaten Blockierungsschritt **vor** der Zugabe des Primärantikörpers und **danach**.

Serumzusatz zum Antikörper-Verdünnungspuffer ist nicht

empfehlenswert, da es aufgrund von Wechselwirkungen des Nachweisantikörpers mit Serumantikörpern zur Bildung von Antikörper-Komplexen oder -Aggregaten kommen kann. Als Protein-Zusatz für den Antikörper-Verdünnungspuffer empfehlen wir 1% Rinderserumalbumin (z.B. Katalog-Nr. 001-000-162).

Gammaglobuline werden aus lipidextrahiertem Serum nicht immunisierter Spezies durch Salzfractionierung, Ionenaustausch- und Gelchromatographie weiter aufgereinigt. Gammaglobuline sind eine günstige Quelle für IgG mit nur geringen Spuren von weiteren Immunglobulinen oder anderen Serumproteinen. Gammaglobuline werden als sterile Lösungen in Phosphatpuffer ohne Konservierungsmittel oder Stabilisatoren geliefert.

Serum / Gammaglobulin	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
Esel Normalserum	2,0 ml	19,00	017-000-001
Esel Normalserum	10 ml	56,00	017-000-121
Esel Gammaglobulin	10 mg	47,00	017-000-002
Hamster, syrisch Normalserum	2,0 ml	28,00	007-000-001
Hamster, syrisch Normalserum	5,0 ml	56,00	007-000-120
Hamster, syrisch Gammaglobulin	10 mg	85,00	007-000-002
Huhn Normalserum	2,0 ml	19,00	003-000-001
Huhn Normalserum	5,0 ml	38,00	003-000-120
Huhn Gammaglobulin	10 mg	56,00	003-000-002
Human Normalserum	2,0 ml	19,00	009-000-001
Human Normalserum	10 ml	56,00	009-000-121
Human Gammaglobulin	10 mg	47,00	009-000-002
Hund Normalserum	2,0 ml	19,00	004-000-001
Hund Normalserum	5,0 ml	38,00	004-000-120
Hund Gammaglobulin	10 mg	47,00	004-000-002
Kaninchen Normalserum	2,0 ml	19,00	011-000-001
Kaninchen Normalserum	5,0 ml	38,00	011-000-120
Kaninchen Gammaglobulin	10 mg	47,00	011-000-002
Katze Normalserum	2,0 ml	28,00	002-000-001
Katze Normalserum	5,0 ml	56,00	002-000-120
Katze Gammaglobulin	10 mg	56,00	002-000-002
Maus Normalserum	2,0 ml	28,00	015-000-001
Maus Normalserum	5,0 ml	56,00	015-000-120
Maus Gammaglobulin	10 mg	85,00	015-000-002

Serum / Gammaglobulin	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
Meerschweinchen Normalserum	2,0 ml	28,00	006-000-001
Meerschweinchen Normalserum	5,0 ml	56,00	006-000-120
Meerschweinchen Gammaglobulin	10 mg	66,00	006-000-002
Pferd Normalserum	2,0 ml	19,00	008-000-001
Pferd Normalserum	10 ml	56,00	008-000-121
Pferd Gammaglobulin	10 mg	47,00	008-000-002
Ratte Normalserum	2,0 ml	19,00	012-000-001
Ratte Normalserum	5,0 ml	38,00	012-000-120
Ratte Gammaglobulin	10 mg	66,00	012-000-002
Rind Normalserum	2,0 ml	19,00	001-000-001
Rind Normalserum	10 ml	56,00	001-000-121
Rind Gammaglobulin	10 mg	47,00	001-000-002
Schaf Normalserum	2,0 ml	19,00	013-000-001
Schaf Normalserum	10 ml	56,00	013-000-121
Schaf Gammaglobulin	10 mg	47,00	013-000-002
Schwein Normalserum	2,0 ml	19,00	014-000-001
Schwein Normalserum	10 ml	56,00	014-000-121
Schwein Gammaglobulin	10 mg	47,00	014-000-002
Ziege Normalserum	2,0 ml	19,00	005-000-001
Ziege Normalserum	10 ml	56,00	005-000-121
Ziege Gammaglobulin	10 mg	47,00	005-000-002

7.6.2 IgG- und Protease-freies BSA (Rinderserumalbumin)

Rinderserumalbumin (Bovine Serum Albumin, BSA) wird häufig als Trägerprotein eingesetzt, um Antikörper zu verdünnen oder als allgemeines Protein-Blockierungsreagenz in Immunoassay- und Immundetektionsprotokollen.

Oft enthalten kommerzielle Präparationen von Rinderserumalbumin (sogar solches mit sehr hohen Reinheitsgraden) IgG, welches als Antigen von kreuzreagierenden Antikörpern erkannt werden kann. Dies ist speziell bei anti-Pferd, anti-Rind, anti-Schaf und anti-Ziege IgG der Fall, kann aber auch bei anderen mit Rinder-IgG kreuzreagierenden Antikörpern auftreten.

Als Folge dieser Interaktionen können ein Verlust der gewünschten Antikörperaktivität, eine Verminderung der Stabilität der Bindung und/oder eine erhöhte Hintergrundfärbung auftreten. Die Hintergrundfärbung kann durch „klebrige“, lösliche Immunkomplexe oder durch kontaminierendes Rinder-IgG, das unspezifisch haftet und seinerseits wieder kreuzreagierende Antikörper-Konjugate bindet, entstehen. Selbst geringe Mengen an kontaminierendem IgG können zu diesem Problem führen, da in vielen Protokollen hohe BSA-Konzentrationen verwendet werden. Das hier angebotene BSA ist frei von Proteasen und IgG und umgeht die angesprochenen Probleme.

Produkt	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
Rinderserumalbumin (BSA), IgG-frei, Protease-frei	10 g	94,00	001-000-161
Rinderserumalbumin (BSA), IgG-frei, Protease-frei	50 g	283,00	001-000-162

7.6.3 NOVADetect Protein- und Rodent-Block

NOVADetect Protein- und Rodent-Block sind Einzelkomponenten der NOVADetect StreptAB Färbekits. Es sind gebrauchsfertige Lösungen zur Reduktion unspezifischer Hintergrundfärbung des Probenmaterials durch Antikörper bzw. zur Blockierung endogener Immunglobuline in Maus-Geweben.

NOVADetect Protein-Block ist ein speziell entwickeltes Reagenz zur Anwendung in immunologischen Nachweismethoden, um die unspezifische Hintergrundfärbung von Antikörpern und gleichzeitig die Handhabung von Tierseren im Labor zu reduzieren. Die Spezies-Abstimmung auf den sekundären Antikörper wird durch das Fehlen von Normalserum im Produkt überflüssig. Es hat sich

gezeigt, dass NOVADetect Protein-Block bei immunhistochemischen Verfahren, ELISA sowie Blot- und In-situ-Techniken wirksam ist und keine Mischung oder Verdünnung erforderlich macht.

NOVADetect Rodent-Block ist eine fertige Lösung zur Blockierung endogener Maus-Immunglobuline in Maus-Geweben.

Alternativ lassen sich zur Blockade endogener Maus-Immunglobuline unkonjugierte anti-Maus Fab-Fragmente verwenden.

Mehr zum Einsatz von Fab-Fragmenten zur Blockierung von gewebeeigenen Immunglobulinen siehe Kapitel 5.5.

Produkt	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
NOVADetect Rodent-Block	15 ml	76,00	DLN-13339
NOVADetect Rodent-Block	60 ml	213,00	DLN-13340
NOVADetect Rodent-Block	125 ml	391,00	DLN-13341

Produkt	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
NOVADetect Protein-Block	60 ml	59,00	DLN-13323
NOVADetect Protein-Block	125 ml	77,00	DLN-13322

7.6.4 NOVADetect Peroxidase-Block

NOVADetect Peroxidase-Block ist eine Wasserstoffperoxid-Lösung zur Blockierung von Peroxidaseaktivität in Zellen und Geweben. Die Zusammensetzung der Lösung wurde eigens zur Anwendung mit immunhistochemischen Verfahren optimiert. Sie eignet sich zur Verringerung der endogenen Peroxidaseaktivität, die zu einer unspezifischen Hintergrundfärbung bei Enzymmarkierungen führen kann. Die Peroxidaseaktivität roter Blutkörperchen kann

jedoch nicht vollständig unterdrückt werden. Die Blockierung mit NOVADetect Peroxidase-Block kann angewandt werden, nachdem die Schnitte entparaffiniert und rehydriert wurden. Die Anwendung muss vor der Inkubation des primären Antikörpers erfolgen.

Produkt	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
NOVADetect Peroxidase-Block	60 ml	59,00	DLN-13320
NOVADetect Peroxidase-Block	125 ml	77,00	DLN-13321

7.7 Substrate, Gegenfärbemittel und Eindeckmedien

7.7.1 Chromogen-Substrate für Alkalische Phosphatase und Peroxidase

Farbstoffe für die Immunhistochemie

Enzym	Meerrettichperoxidase (HRPO)		Alkalische Phosphatase		
	DAB	AEC	BCIP/NBT	Fast Red	Neufuchsin
Chromogen-substrat					
Farbprodukt	braun	rotbraun	dunkelblau-violett	rot (intensiv rot)	rosarot (fuchsinrot)
in organischen Lösungsmitteln	unlöslich	löslich	unlöslich	löslich	teilweise löslich (in Alkohol unlöslich)
Gegenfärbung	Mayers Hämatoxylin Metylgrün Kernechtrot	Mayers Hämatoxylin Metylgrün Methylenblau	Methylgrün Kernechtrot	Mayers oder Gills Hämatoxylin Methylenblau	Mayers Hämatoxylin Methylgrün Methylenblau

- Methylgrün ist in wässrigen Eindeckmitteln löslich
- Mayers und Gills Hämatoxylin sind nichtalkoholische Gegenfärbemittel

Chromogen-Substrate für Alkalische Phosphatase und Peroxidase

Produkt	Inhalt	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
NOVADetect AEC-Substrat Kit	1.) AEC-Chromogen, 2.) AEC-Substrat	60 ml	69,00	DLN-13313
		125 ml	92,00	DLN-13314
NOVADetect AEC-Substrat	gebrauchsfertiges AEC-Chromogen-Substrat	60 ml	152,00	DLN-15909
		125 ml	258,00	DLN-15910
NOVADetect DAB-Substrat Kit	1.) DAB-Chromogen, 2.) DAB-Substrat	60 ml	71,00	DLN-13315
		125 ml	97,00	DLN-13316
NOVADetect BCIP/NBT-Substrat	gebrauchsfertiges BCIP/NBT-Chromogen-Substrat	60 ml	104,00	DLN-13310
		125 ml	171,00	DLN-13317
NOVADetect FastRed-Substrat Kit	1.) FastRed-Tabletten, 2.) Naphthol-Puffer	60 ml	110,00	DLN-13311
		125 ml	158,00	DLN-13312
NOVADetect Neufuchsin-Substrat Kit	1.) Neufuchsin-Chromogen, 2.) Aktivator, 3.) Puffer	60 ml	127,00	DLN-13318
		125 ml	185,00	DLN-13319

7.7.2 Reagenzien zur Gegenfärbung

Produkt	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
Hämatoxylin	125 ml	22,00	DLN-15900
Methylgrün	125 ml	34,00	DLN-15902
Kernechtrot	125 ml	28,00	DLN-15904

7.7.3 NOVAMount IHC-Eindeckmedium

Die Zusammensetzung von NOVAMount eignet sich zum permanenten Eindecken von Gewebeschnitten und Zellpräparationen, die immunhistochemisch mit Chromogenen gefärbt wurden und Endprodukte erzeugen, die in Alkohol löslich oder nicht löslich sind. NOVAMount kann mit Chromogenen, wie beispielsweise Fast-Red oder AEC verwendet werden, die ein wässriges Eindeckmittel erfordern, oder mit solchen, wie beispielsweise DAB, die dieses nicht erfordern. Es ist kein Erhitzen

vor dem Gebrauch erforderlich. Das Produkt trocknet nach dem Auftragen und bildet eine stabile, ebene Schicht mit hoher optischer Klarheit über der Probe. Es ist daher optimal für den Gebrauch ohne Deckgläser geeignet. Um sich Schnitte bei stärkeren Vergrößerungen anzusehen, kann ein Deckglas auf das getrocknete NOVAMount gelegt werden. NOVAMount eignet sich nicht als Eindeckmittel für Fluoreszenzfärbungen.

Produkt	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
NOVAMount	125 ml	68,00	DLN-15906

7.7.4 Fluoreszenz-Eindeckmedium

Schnelles Ausbleichen von fluoreszenzmarkierten Zell- und Gewebeproben erschwert immer wieder eine qualitative und quantitative Beurteilung der Markierung.

Dianova ImmunoSelect® Antifading Mounting Medium wurde speziell für den Gebrauch in der Fluoreszenzmikroskopie entwickelt. Es vereint die Bewahrung einer starken Anfangsfluoreszenz mit einer drastischen Reduktion des Ausbleichens der Proben während der Untersuchung im Fluoreszenzmikroskop.

Darüber hinaus zeigt ImmunoSelect® Antifading Mounting Medium im Vergleich zu manchen anderen Fluoreszenzeindeckmedien keine Autofluoreszenz bei allen üblichen Wellenlängen.

ImmunoSelect® Antifading Mounting Medium

- starke Reduktion des Ausbleichens
- kein Hintergrund durch Eigenfluoreszenz
- Wasser-basiert
- visköse Flüssigkeit
- langsam über Wochen aushärtend

Produkt	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
ImmunoSelect® Antifading Mounting Medium	15 ml	38,00	AKS-38447
ImmunoSelect® Antifading Mounting Medium DAPI	15 ml	48,00	AKS-38448
ImmunoSelect® Antifading Mounting Medium PI	15 ml	48,00	AKS-38449

7.8 Adhäsionsobjektträger

dianova ImmunoSelect® Adhäsionsobjektträger wurden konzipiert für mikroskopische Anwendungen, bei denen wertvolles und nur in geringen Mengen verfügbares Zellmaterial wirkungsvoll immobilisiert werden soll. Dadurch sind auch bei intensiven Denaturierungsprozessen und Waschprozeduren Untersuchungen schon mit wenigen hundert Zellen möglich. Durch die außerordentlich schnelle Bindung des Zellmaterials an die Glasoberfläche ersparen Sie sich zudem langwierige Zentrifugations- oder Trocknungsprozeduren bei Ausbeuten von >95%.

Die neuartige, adhäsive Beschichtung der ImmunoSelect Adhäsionsobjektträger vereint unterschiedliche Bindungsprinzipien mit natürlichen Oberflächenstrukturen von Zellen und Geweben und verankert diese dadurch dauerhaft auf der Glasoberfläche. Die Zellen verlieren dabei weder ihre Antigenität noch ihre Funktionalität. Nach bisherigen Erkenntnissen erfolgt bei heterogenem Zellmaterial keine präferentielle Bindung oder Ablösung einzelner Zelltypen.

Unter anderem geeignet für folgende Zellen und Gewebe:

- alle Blutzellen wie Lymphozyten, Monozyten, Granulozyten, Thrombozyten und Erythrozyten
- Zellen aus Knochenmark, Ergüssen, Flüssigkeit, bronchoalveolärer Lavage und Zellsuspensionen von Lymphknoten und Tumoren
- Zelllinien
- Künstliche Gewebe
- Gewebeschnitte und Präparationen

- **Blitzschnelles Anhaften von Zellen und Gewebeschnitten mit hohen Ausbeuten >95%**
- **neuartige Alternative zu Polylysin und anderen Adhäsionsverfahren**
- **keine Cytospins oder Ausstriche notwendig, Zellen einfach auftropfen und absinken lassen**
- **Zelladhäsion resistent gegen Hitze, Färbung und Denaturierung**
- **Kein Zellverlust selbst bei harschen zytologischen Färbetechniken**
- **Überragender Erhalt der Zell- und Gewebemorphologie**

Anwendung der Adhäsionsobjektträger:

- Immunfluoreszenz- oder vergleichbare Methoden
- Immunenzymatische Tests (Peroxidase, Alkalische Phosphatase)
- Histologische Färbetechniken wie z. B. Pappenheim
- Intrazelluläre Antigennachweise
- Molekularbiologische Tests, z.B. FISH oder Nachweis spezifischer DNA-Modifikationen.

Die Adhäsionsobjektträger sind für folgende Fluoreszenzfarbstoffe getestet:

- Fluoresceinderivate, z.B. FITC
- Rhodaminderivate, z.B. TRITC, Texas Red
- Cy2, Cy3 und Cy5
- Phycobilliproteine, z.B. PE
- DAPI
- Hoechst 33358 und 3334

Produkt	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
ImmunoSelect® Adhäsionsobjektträger	50 Stück	69,90	AKS-28841
ImmunoSelect® Adhäsionsobjektträger	100 Stück	99,80	AKS-28842
ImmunoSelect® Adhäsionsobjektträger	5 Stück	Muster auf Anfrage	AKS-28855

Literatur

Mol Pharmacol. 2006 Jul;70(1):23-9. Epub 2006 Mar 28
 Stem Cells. 2006 Mar;24(3):722-30. Epub 2005 Sep 29

7.9 Immunhistochemie Kits

7.9.1 NOVADetect Labeled Polymer Kits

NOVADetect LP (Labeled Polymer) steht für die modernste Technologie in der Polymermarkierung. Es hat sich gezeigt, dass das Polymernachweissystem von NOVADetect eine erhöhte Sensitivität und einen vereinfachten Nachweis liefert. Das Polymersystem besteht aus kleinen Polymeruntereinheiten, um die molekularen Beeinträchtigungen, die mit großen Polymeren häufig vorkommen, zu minimieren und dadurch die Markierung des Zielproteins zu verstärken. Verminderte sterische Konflikte bei der Polymerbindung führen zu einer konsistenteren Färbung und besserer Signalverstärkung (Shan-Rong Shi et al., Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 1999, 7, 201-208). Schließlich gibt dies dem Anwender eine höhere Sensitivität und Antikörperwirksamkeit (K. Petrosyan et al., J. Histotechnology. 2002, 25, 247-250). Mit NOVADetect LP wird weniger Antikörper verbraucht und werden bessere Signal-zu-Rauschen-Verhältnisse erzielt. Da NOVADetect LP außerdem biotinfrei ist, fällt die bei traditionellen Biotin-Nachweissystemen mögliche Hintergrundfärbung weg.

Testprinzip

Das NOVADetect Nachweissystem weist einen spezifischen Maus-IgG- oder Kaninchen-IgG Antikörper nach, der an ein Antigen in den Gewebeschnitten gebunden ist. Der spezifische Antikörper wird durch einen universellen sekundären Antikörper lokalisiert, der an ein enzymmarkiertes Polymer konjugiert ist, das Maus- und Kaninchen-Immunglobuline erkennt. Der Polymerkomplex wird dann mit einem geeigneten Substrat/Chromogen dargestellt.

Inhalt:

Menge	Komponente
1	Wasserstoffperoxidblock (nur in HRPO-Kits enthalten)
1	Protein-Block
1	Primärer Antikörperverstärker: anti-Maus IgG (H+L) + anti-Kaninchen IgG (H+L) HRPO- oder Alkalische Phosphatase -konjugiertes Polymer
1	Chromogen-Substrat (DAB, AEC oder Fast Red)

NOVADetect Polymer Marker Kits

Für Primärantikörper aus Maus und Kaninchen

Produkt	Substrat	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
NOVADetect HRPO/AEC LP Kit	AEC	< 300 Test	208,00	DLN-15921
NOVADetect HRPO/DAB LP Kit	DAB	< 300 Test	208,00	DLN-15922
NOVADetect Alk.Phos./Fast Red LP Kit	FastRed	< 300 Test	208,00	DLN-15918

7.9.2 NOVADetect StreptAB Kits (AEC, DAB, BCIP/NBT, Fast Red)

NOVADetect StreptAB-Systeme sind ein sensitives Standard-nachweissystem für die Darstellung von Antigenen in routinemäßig fixierten Gefrier- und Paraffinschnitten sowie Zytopräparaten. Die Kitreagenzien bilden ein Streptavidin-Biotin-markiertes immunenzymatisches Antigennachweissystem. Diese Technik beinhaltet die sequentielle Inkubation von Proben mit einem unkonjugierten primären Antikörper, der spezifisch für das Zielantigen ist, einem biotinylierten sekundären Antikörper, der mit dem primären Antikörper reagiert, dem enzymmarkierten Streptavidin und dem Chromogen-Substrat. Die Kits sind gebrauchsfertig, es müssen keine zusätzlichen Lösungen angesetzt werden, und die Inkubationszeiten sind wesentlich kürzer als bei ABC-Nachweismethoden.

Für alle Kits bietet dianova eine große Auswahl speziell für die Histologie optimierter Primärantikörper (Kapitel 2.1) und Negativkontrollen (Kapitel 6.1) an. Darüber hinaus lässt sich jedes StreptAB-System durch individuelle Auswahl eines

Sekundärantikörpers des Herstellers Jackson ImmunoResearch (Kapitel 5.2) auf spezielle Erfordernisse des Anwenders, wie besondere Gewebe, Zellen oder Markierungen mit Primärantikörpern, die nicht aus Maus oder Kaninchen stammen, anpassen. Alle Kit-Bestandteile sind auf Wunsch einzeln erhältlich.

Testprinzip

Das NOVADetect StreptAB Nachweissystem weist einen spezifischen Antikörper nach, der an ein Antigen in den Gewebeschnitten gebunden ist. Der spezifische Antikörper wird durch einen Biotin-konjugierten sekundären Antikörper lokalisiert. Auf diesen Schritt folgt die Hinzugabe eines Streptavidin-Enzym-Konjugats, welches das kovalent gekoppelte Biotin am sekundären Antikörper bindet. Der spezifische Antikörper, der sekundäre Antikörper und der Streptavidin-Enzym-Komplex wird dann mit einem geeigneten Substrat/Chromogen dargestellt.

Standard Kits für Primärantikörper aus Maus und/oder Kaninchen

Inhalt:

1. Peroxidase-Block (nur in HRPO-Kits enthalten)
2. Protein-Block
3. Rodent-Block
4. Ziege anti-Maus IgG (biotinyliert)
5. enzymkonjugiertes Streptavidin
6. Chromogen-Substrat.

Die <1200 und <2500 Test Kits werden ohne Peroxidase-Block und Chromogen-Substrat geliefert, beide Reagenzien sind jedoch als Einzelbestandteile erhältlich.

Für Primärantikörper aus Maus

Produkt	Konjugat	Substrat	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
NOVADetect HRPO/AEC Standard StreptAB	Strept. HRPO	AEC	< 300 Test	167,00	DLN-13145
NOVADetect HRPO/DAB Standard StreptAB	Strept. HRPO	DAB	< 300 Test	167,00	DLN-13146
NOVADetect HRPO Standard StreptAB	Strept. HRPO	nicht enthalten	< 1200 Test	254,00	DLN-13161
NOVADetect HRPO Standard StreptAB	Strept. HRPO	nicht enthalten	< 2500 Test	343,00	DLN-13162
NOVADetect Alk.Phos./BCIP/NBT Standard StreptAB	Strept. Alk.Phos.	BCIP/NBT	< 300 Test	174,00	DLN-13147
NOVADetect Alk.Phos./FastRed Standard StreptAB	Strept. Alk.Phos.	FastRed	< 300 Test	174,00	DLN-13148
NOVADetect Alk.Phos Standard StreptAB	Strept. Alk.Phos.	nicht enthalten	< 1200 Test	283,00	DLN-13163
NOVADetect Alk.Phos Standard StreptAB	Strept. Alk.Phos.	nicht enthalten	< 2500 Test	382,00	DLN-13164

* MinX mit Serumproteinen von Human, Kaninchen, Rind, Pferd, Schwein

Für Primärantikörper aus Kaninchen

Produkt	Konjugat	Substrat	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
NOVADetect HRPO/AEC Standard StreptAB	Strept. HRPO	AEC	< 300 Test	167,00	DLN-13149
NOVADetect HRPO/DAB Standard StreptAB	Strept. HRPO	DAB	< 300 Test	167,00	DLN-13150
NOVADetect HRPO Standard StreptAB	Strept. HRPO	nicht enthalten	< 1200 Test	254,00	DLN-13165
NOVADetect HRPO Standard StreptAB	Strept. HRPO	nicht enthalten	< 2500 Test	343,00	DLN-13166
NOVADetect Alk.Phos./BCIP/NBT Standard StreptAB	Strept. Alk.Phos.	BCIP/NBT	< 300 Test	174,00	DLN-13151
NOVADetect Alk.Phos./FastRed Standard StreptAB	Strept. Alk.Phos.	FastRed	< 300 Test	174,00	DLN-13152
NOVADetect Alk.Phos. Standard StreptAB	Strept. Alk.Phos.	nicht enthalten	< 1200 Test	283,00	DLN-13167
NOVADetect Alk.Phos. Standard StreptAB	Strept. Alk.Phos.	nicht enthalten	< 2500 Test	382,00	DLN-13168

* MinX mit Serumproteinen von Human, Maus, Ratte

Für Primärantikörper aus Maus und Kaninchen

Produkt	Konjugat	Substrat	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
NOVADetect HRPO/AEC Standard StreptAB	Strept. HRPO	AEC	< 300 Test	187,00	DLN-13153
NOVADetect HRPO/DAB Standard StreptAB	Strept. HRPO	DAB	< 300 Test	187,00	DLN-13154
NOVADetect HRPO Standard StreptAB	Strept. HRPO	nicht enthalten	< 1200 Test	270,00	DLN-13169
NOVADetect HRPO Standard StreptAB	Strept. HRPO	nicht enthalten	< 2500 Test	363,00	DLN-13170
NOVADetect Alk.Phos./BCIP/NBT Standard StreptAB	Strept. Alk.Phos.	BCIP/NBT	< 300 Test	192,00	DLN-13155
NOVADetect Alk.Phos./FastRed Standard StreptAB	Strept. Alk.Phos.	FastRed	< 300 Test	192,00	DLN-13156
NOVADetect Alk.Phos. Standard StreptAB	Strept. Alk.Phos.	nicht enthalten	< 1200 Test	299,00	DLN-13171
NOVADetect Alk.Phos. Standard StreptAB	Strept. Alk.Phos.	nicht enthalten	< 2500 Test	399,00	DLN-13172

* MinX mit Serumproteinen von Human

7.9.3 NOVADetect StreptAB Kits (AEC, DAB, BCIP/NBT, Fast Red)

Maus-auf-Maus Kits für Primärantikörper aus Maus auf Mausgewebe

NOVADetect StreptAB Maus-auf-Maus Kits sind zum Nachweis von Primärantikörpern aus der Maus-auf-Maus-Gewebe geeignet. Die Kits sind genauso aufgebaut wie die NOVADetect StreptAB Standard Kits, beinhalten jedoch einen passenden Blockierungsschritt, durch den Kreuzreaktionen des Nachweissystems mit Maus-Gewebe reduziert werden. Denn mit normalen Färbemethoden werden häufig Immunglobuline des Gewebes mit angefärbt, wenn Maus-Primärantikörper auf Mausgeweben nachgewiesen werden sollen. Durch diesen zusätzlichen Blockierungsschritt können falsch positive Ergebnisse verhindert und eine Hintergrundfärbung erheblich reduziert werden (siehe auch Fab-Fragmente Kapitel 5).

Inhalt:

1. Peroxidase-Block (nur in HRPO-Kits enthalten)
2. Protein-Block
3. Rodent-Block
4. Ziege anti-Maus IgG (biotinyliert)
5. enzymkonjugiertes Streptavidin
6. Chromogen-Substrat.

Die <1200 und <2500 Test Kits werden ohne Peroxidase-Block und Chromogen-Substrat geliefert, beide Reagenzien sind jedoch als Einzelbestandteile erhältlich.

Für Primärantikörper aus Maus auf murinem Gewebe

Produkt	Konjugat	Substrat	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
NOVADetect HRPO/AEC Maus/Maus StreptAB	Strept. HRPO	AEC	< 300 Test	203,00	DLN-13157
NOVADetect HRPO/DAB Maus/Maus StreptAB	Strept. HRPO	DAB	< 300 Test	203,00	DLN-13158
NOVADetect HRPO Maus/Maus StreptAB	Strept. HRPO	nicht enthalten	< 1200 Test	385,00	DLN-13173
NOVADetect HRPO Maus/Maus StreptAB	Strept. HRPO	nicht enthalten	< 2500 Test	586,00	DLN-13174
NOVADetect Alk.Phos./BCIP/NBT Maus/Maus StreptAB	Strept. Alk.Phos.	BCIP/NBT	< 300 Test	208,00	DLN-13159
NOVADetect Alk.Phos./FastRed Maus/Maus StreptAB	Strept. Alk.Phos.	FastRed	< 300 Test	208,00	DLN-13160
NOVADetect Alk.Phos. Maus/Maus StreptAB	Strept. Alk.Phos.	nicht enthalten	< 1200 Test	430,00	DLN-13175
NOVADetect Alk.Phos. Maus/Maus StreptAB	Strept. Alk.Phos.	nicht enthalten	< 2500 Test	656,00	DLN-13176

alle Kits beinhalten als zusätzliches Reagenz NOVADetect Rodent-Block zur Blockierung reaktiver Maus-Immunglobuline in Maus-Gewebe

7 Detektionssysteme & Zubehör

7.9.4 Quick Kits für Primärantikörper aus Maus und Kaninchen

NOVADetect StreptAB Quick Kits sind für schnelle immunhistochemische Färbungen optimierte Standard Kits. Die Färbemethode folgt dem Protokoll des Standard Kits, zeichnet sich jedoch aufgrund der Verwendung besonders sensitiver, ausgewogener Reagenzien und hoch reaktiven Enzym-Konjugats durch kürzere Inkubationszeiten aus. Die Inkubationsschritte mit Protein-Block, Biotin- und Streptavidin-Konjugat sind im Gegensatz zu den Standard Kits von 10 auf jeweils 5 Minuten reduziert. Die Kits wurden optimiert, um bei dringenden Arbeiten schnelle und saubere Ergebnisse zu liefern.

Inhalt:

1. Peroxidase-Block (nur in HRPO-Kits enthalten)
2. Protein-Block
3. Rodent-Block
4. Ziege anti-Maus IgG (biotinyliert)
5. enzymkonjugiertes Streptavidin
6. Chromogen-Substrat.

Die <1200 und <2500 Test Kits werden ohne Peroxidase-Block und Chromogen-Substrat geliefert, beide Reagenzien sind jedoch als Einzelbestandteile erhältlich.

Für Primärantikörper aus Maus und Kaninchen

Produkt	Konjugat	Substrat	Menge	Preis/EUR	Katalog-Nr.
NOVADetect HRPO/AEC Quick StreptAB	Strept. HRPO	AEC	< 300 Test	222,00	DLN-15914
NOVADetect HRPO/DAB Quick StreptAB	Strept. HRPO	DAB	< 300 Test	222,00	DLN-15915
NOVADetect HRPO Quick StreptAB	Strept. HRPO	nicht enthalten	< 1200 Test	324,00	DLN-15916
NOVADetect HRPO Quick StreptAB	Strept. HRPO	nicht enthalten	< 2500 Test	448,00	DLN-15917
NOVADetect Alk.Phos./FastRed Quick StreptAB	Strept. Alk.Phos.	FastRed	< 300 Test	225,00	DLN-15911
NOVADetect Alk.Phos. Quick StreptAB	Strept. Alk.Phos.	nicht enthalten	< 1200 Test	366,00	DLN-15912
NOVADetect Alk.Phos. Quick StreptAB	Strept. Alk.Phos.	nicht enthalten	< 2500 Test	497,00	DLN-15913

* MinX mit Serumproteinen von Human