Zenon Human IgG Labeling Kit

ひとこと

届いた製品はすぐに下記の条件下で保存してください:

- 2～6˚C
- 遮光条件下

吸収/蛍光波長:表 1 参照

はじめに

Zenon™ Human IgG Labeling Kit は、抗体コンジュゲート調製用の迅速かつ汎用的で信頼性のある方法を提供します。しかも、スタートサンプルはごく少量（µg 以下）からでも可能です。Zenon テクノロジーを用いて調製した抗体コンジュゲートは、フローサイトメトリー、イメージング、ハイスループットなど、直接標識した一次抗体を利用するすべてのアプリケーションにおいて、細胞染色に用いることができます。以前は、複数のヒト由来抗体を同一の染色プロトコールに使用するといったアプリケーションは時間がかかり、実用的ではありませんでしたが、このようなアプリケーションも本テクノロジーにより簡略化できます。

Zenon Human IgG Labeling Kit は、ヒト IgG 抗体を標識するためのキットで、当社の Alexa Fluor®色素シリーズをはじめ、R-phycoerythrin、 Allophycocyanin、および Horseradish peroxidase やビオチンなど、豊富な高品質蛍光色素を取りそろえています（表 1）。当社ではさらに、2 種類の Zenon Tricolor Human IgG Labeling Kit も提供しており、いずれも 3 種類の Zenon Human IgG 標識試薬をお選びいただけます。

Zenon 標識テクノロジーでは、インタクトな IgG 一次抗体の Fc 部位に選択的なフルオロフォア、ビオチン、または酵素を標識した Fab フラグメントを用いて標識複合体を生成します（図 1）。標識 Fab フラグメントは、製造過程においてアフィニティ精製され、一次抗体の Fc 部位に対する高い親和性および選択性が確保されています。Zenon 標識法は免疫選択性を利用していますので、複合体生成前に、抗体から血清アルブミンのような外因性タンパク質やアミン含有バッファーを取り除く必要はありません。他の種由来の抗体との交差反応性は低く抑えられています。

表 1. Molecular Probes の Zenon Human IgG Labeling Kit

標識	Abs/Em*	カタログ番号
Alexa Fluor色素		
Alexa Fluor 350	346/442	Z-25400
Alexa Fluor 488	495/519	Z-25402
Alexa Fluor 555	555/565	Z-25405
Alexa Fluor 594	590/617	Z-25407
Alexa Fluor 647	650/668	Z-25408
その他の色素、ビオチンおよび酵素		
Biotin-XX	NA	Z-25452
R-phycoerythrin	496, 546, 565†/578	Z-25455
Allophycocyanin	650/660	Z-25451
Horseradish peroxidase	NA	Z-25454
Tricolor Labeling Kit		
Alexa Fluor 488, 555, 647 (Kit #1)	上記参照	Z-25460
Alexa Fluor 350, 488, 594 (Kit #2)	上記参照	Z-25470

*およその吸収および発光の極大（nm 単位）。†複数の吸収ピークが存在します。NA = 該当なし。

Fab フラグメント・抗体複合体は 5 分以内に形成でき、混合反応液中のほぼすべての一次抗体が標識されます。Zenon テクノロジーにより形成された複合体は、直接標識した一次抗体と同等の蛍光強度または酵素活性を示します。さらに、標識 Fab フラグメントと一次抗体のモル比を変えるなど、添加する Zenon 標識試薬の量を変更することで、抗体の標識の程度（すなわちプローブの蛍光強度または酵素活性）を調節することが可能です。

本製品についてのご意見、ご質問に関しましては、当社テクニカルサポート部門までご連絡ください。

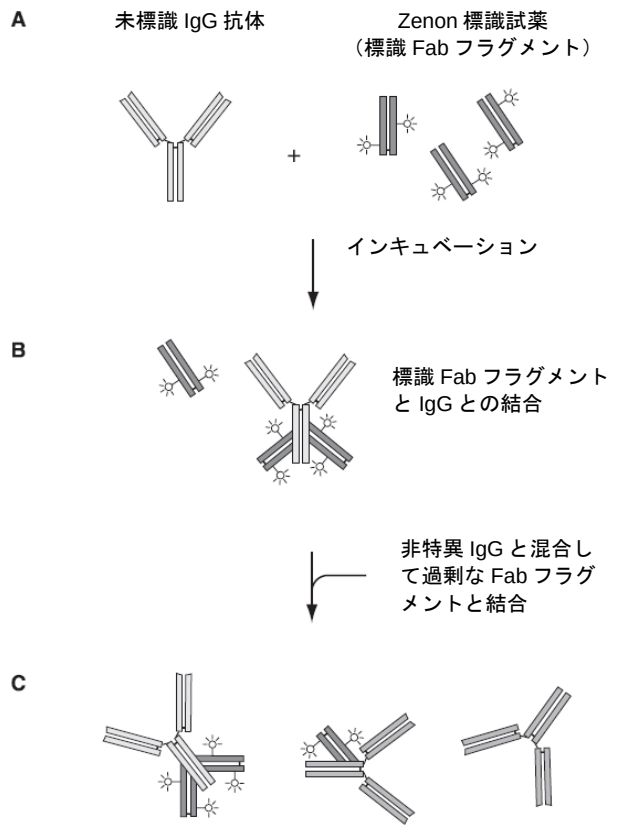

図 1. Zenon 標識の模式図。未標識 IgG をフルオロフォア標識した Fab フラグメントを含む Zenon 標識試薬とインキュベートします（A）。標識 Fab フラグメントは、IgG 抗体の Fc 部位と結合し（B）、過剰の Fab フラグメントは非特異的 IgG を添加して中和します（C）。非特異的 IgG を添加することにより、同一タイプの一次抗体が複数存在する実験において交差標識を防ぐことができます。標識に用いる Fab フラグメントはフルオロフォアに結合しているものだけではなく、酵素やビオチンと結合しているものもあります。

試薬

Zenon Human IgG Labeling Kit は、キットの種類によって 50、25、または 10 反応分の標識に必要な量の試薬が含まれています（下記の*内容物*をご覧ください）。アフィニティ精製したインタクトなヒト IgG 抗体 1 µg を、Fab と抗体のモル比が 3 : 1 の条件で標識するのに必要な Zenon 標識試薬の量を標識反応 1 回分とします（注 A）。

内容物

低分子量色素またはビオチンによる標識用 Zenon Human IgG Labeling Kit：

- **Zenon ヒト IgG 標識試薬**（Component A）、250 µL
- **Zenon ブロッキング試薬（ヒト IgG）**（Component B）、250 µL

50 反応分の標識に必要な量の試薬が含まれています。

R-phycoerythrin、*Allophycocyanin*、*または Horseradish peroxidase による標識用 Zenon Human IgG Labeling Kit*：

- **Zenon®ヒト IgG 標識試薬**（Component A）、125 µL
- **Zenon®ブロッキング試薬（ヒト IgG）**（Component B）、125 µL

25 反応分の標識に必要な量の試薬が含まれています。

Zenon Tricolor Human IgG Labeling Kit #1：

- **Zenon Alexa Fluor 488 ヒト IgG 標識試薬**（Component A）、50 µL
- **Zenon Alexa Fluor 555 ヒト IgG 標識試薬**（Component B）、50 µL
- **Zenon Alexa Fluor 647 ヒト IgG 標識試薬**（Component C）、50 µL
- **Zenon ブロッキング試薬（ヒト IgG）**（Component D）、150 µL

3 種類の標識試薬は、それぞれ 10 反応分の標識に必要な量が含まれています。

Zenon Tricolor Human IgG Labeling Kit #2：

- **Zenon Alexa Fluor 350 ヒト IgG 標識試薬**（Component A）、50 µL
- **Zenon Alexa Fluor 488 ヒト IgG 標識試薬**（Component B）、50 µL
- **Zenon Alexa Fluor 594 ヒト IgG 標識試薬**（Component C）、50 µL
- **Zenon ブロッキング試薬（ヒト IgG）**（Component D）、150 µL

3 種類の標識試薬は、それぞれ 10 反応分の標識に必要な量が含まれています。

Zenon ヒト IgG 標識試薬は、ヤギ Fab フラグメントで、ヒト IgG 抗体の Fc 部位に選択性を示します。低分子量色素またはビオチンとコンジュゲートした標識試薬は、5 mM のアジ化ナトリウムを含む pH 7.5 の 0.1 M リン酸ナトリウム、0.1 M 塩化ナトリウム溶液中に、Fab フラグメントを 200 µg/mL の濃度で含む試薬として提供されています。R-phycoerythrin または Allophycocyanin とコンジュゲートした Zenon ヒト IgG 標識試薬は、5 mM のアジ化ナトリウムを含む pH 6.8 の 0.1 M リン酸ナトリウム、0.1 M 塩化ナトリウム溶液中に、Fab フラグメントを 200 µg/mL の濃度で含む試薬として提供されています。Horseradish

peroxidase とコンジュゲートした Zenon ヒト IgG 標識試薬は、0.02%のチメロサールを含む pH 6.8 の 0.1 M リン酸ナトリウム、0.1 M 塩化ナトリウム溶液中に、Fab フラグメントを 200 µg/mL の濃度で含む試薬として提供されています。Zenon ブロッキング試薬（ヒト IgG）は、5 mM のアジ化ナトリウムを含む pH 7.2 のリン酸緩衝食塩水中、5 mg/mL の濃度の試薬として提供されています。

保存および取り扱い

Zenon Human IgG Labeling Kit は、お手元に届き次第、いずれも 2～6˚C で保存し、蛍光物質を含む試薬は遮光条件下で保存してください。長期間保存する場合、低分子量フルオロフォアまたはビオチンを含む Zenon ヒト IgG 標識試薬および Zenon ブロッキング試薬は、単回使用量に分注し、-20˚C 以下で冷凍保存が可能です。R-phycoerythrin、 Allophycocyanin、および Horseradish peroxidase を含む Zenon ヒト IgG 標識試薬は、決して冷凍しないでください。

Zenon 複合体の形成

以下に示すプロトコールは、抗体 1 µg を Zenon ヒト IgG 標識試薬で標識する場合のプロトコールで、Fab と抗体のモル比は 3 : 1 となります（注 A）。このモル比は、実験開始濃度として推奨されているもので、大半のアプリケーションにおいて、十分な標識を行うことができる必要最小限のモル比となっています。ただし、実験によっては、モル比を高くしないと十分なシグナルが得られない場合もあります（注 B）。使用する抗体量が多いか少ない場合は、本プロトコールに示す試薬量を必要に応じてスケールアップまたはスケールダウンすることが可能です。Zenon ヒト IgG 標識反応では、抗体試料に含まれる可能性のあるウシ血清アルブミン（BSA）や他の安定化タンパク質を除去する必要はありません。血清中に含まれる抗体も直接標識することができ、標識前後の抗体精製は必要ありません。

1.1 リン酸緩衝食塩水（PBS）などの適切なバッファーを用いて抗体 1 µg を調製してください。容量は、20 µL 以下であれば問題ありません。濃度が不明の抗体を使用する場合には、注 C を参照してください。アフィニティ精製されていない抗体試料を使用する場合は、注 D を参照してください。

1.2 抗体溶液に Zenon ヒト IgG 標識試薬（Component A）5 µL を加えてください（Zenon Tricolor Kit を使用する場合には Component A、Component B、または Component C から必要な標識試薬を選択してください）。

1.3 混合溶液を室温で 5 分間インキュベートしてください。

1.4 Zenon ブロッキング試薬（Component B、または Zenon Tricolor Kit を使用する場合には Component D）5 µL を混合反応物に加えてください。単一標識抗体のみを用いるアプリケーションに関しては、注 E を参照してください。

1.5 溶液を室温で 5 分間インキュベートしてください。

上記の操作により使用準備の整った複合体は、約 30 分以内に試料と反応させてください。これよりも長期間の保存が必要な場合は、注 F を参照してください。

一般的アプリケーション情報

コンジュゲートの使用：Zenon テクノロジーによって標識されたヒト IgG 抗体は、直接標識した抗体を利用できるすべてのアプリケーションに適していると考えられます。Zenon 試薬で標識した複数のヒト IgG 抗体は、一つの実験において、連続的に使用することも単一の染色混合液にして使用することも可能です。

コンジュゲートの安定性：コンジュゲートが形成され、過剰な Fab フラグメントをブロッキング試薬で除去したら、標識複合体は約 30 分以内に使用してください。

使用濃度：直接標識した一次抗体を主に使用するアプリケーションでは、Zenon テクノロジーを用いて標識した抗体は通常、直接標識した一次抗体と同等かそれより高い濃度（1.5～3 倍）で使用することが可能です。

シグナルがほとんど検出されない：適切なコントロールで一次抗体の標的への結合が確認されているにもかかわらず、Zenon テクノロジーを用いて標識した抗体でシグナルが検出されない場合、Zenon 標識試薬を追加して Fab と抗体のモル比を増加させるか、一次抗体の最終濃度を増加させることでシグナルが増加する可能性があります。多くの場合、3 : 1 のモル比が適切ですが、モル比は 6 : 1 まで増加させることが可能です。6 : 1 以上にモル比を増加させてもシグナル強度の顕著な増加にはつながりません。

標識損失または移動：標識 Fab フラグメントは一次抗体と共有結合しているわけではないため、時間経過に伴って標識 Fab フラグメントが多少失われる可能性があります。複数のヒト IgG 一次抗体を用いるアプリケーションにおいては、Fab フラグメントが一

つの一次抗体から他の一次抗体へ徐々に移動することもあります。ホルムアルデヒドを用いた染色後の固定化ステップを追加して Fab の解離を減らす必要があります（下記の*染色アプリケーション*をご覧ください）。

染色アプリケーション

以下に示すプロトコールは、Molecular Probes 社において、Zenon ヒト IgG 標識試薬で標識した一次抗体を用いて、細胞および組織を染色するために開発されました。実験によっては、本プロトコールをそのまま適用できない可能性もありますので、これらのプロトコールをお客様のニーズに合わせて変更されることをお勧めします。

免疫細胞化学

本プロトコールは、ウシ肺動脈上皮細胞（BPAE）、ホエジカ細胞、およびメイディン・ダービー・イヌ腎臓細胞（MDCK）など多くの細胞株の染色に成功しています。十分な量の標的が存在する一次抗体の場合には、Zenon 標識試薬（Fab）と抗体のモル比が 3 : 1 となる条件で Zenon 標識複合体を形成させるのが適切です。標的の量が少ない場合には、モル比を 6 : 1 とすることを推奨しています。

2.1 適切な培地を用いて細胞を培養してください。顕微鏡観察用の接着性細胞株は、スライドガラスまたはカバーガラス上で直接培養することが可能です。ただし、染色操作中は、スライドガラスまたはカバーガラスが乾燥しないようにしてください。

2.2 細胞試料を、4%のホルムアルデヒドを含む PBS 溶液中、室温で 15 分間固定してください。または、試料を 5% CO_2 雰囲気下、37˚C で 15 分間インキュベートして固定することも可能です。後者の固定法のほうが、細胞骨格形態をよりよい状態で保存できることが確認されています。

2.3 細胞試料を 1 回以上 PBS で洗浄してください。

2.4 試料を、0.1%の Triton X-100 を含む PBS 溶液中、室温で 5 分間インキュベートし、細胞の透過処理を行ってください。その後、界面活性剤溶液を除去します。

2.5 細胞試料を、10%の正常ヤギ血清（NGS）を含む PBS 溶液中で 30 分間処理し、細胞試料中の非特異的結合部位をブロックします。

2.6 Zenon 標識複合体（上記 *Zenon 複合体の形成*に従って調製したもの）を、10%の NGS を含む PBS を用いて、必要な使用濃度に希釈し、細胞試料を浸漬するのに十分な容量を添加してください。数種類の Zenon 標識複合体を用いて染色を行う場合、すべての複合体を合わせて単一の染色溶液とすることが可能ですので、1 種類ずつ連続的に染色を行う必要はありません。一次抗体の濃度がすでに二次的検出試薬用に最適化されている場合には、一次抗体の濃度を 1.5～3 倍高くして Zenon 標識法に用いてください。もしくは、各実験に適切な濃度を、経験的に決定することが必要です。

2.7 試料を室温で 30～60 分間インキュベートしてください。フルオロフォアを用いた Zenon 標識試薬は、インキュベーション中に遮光する必要があります。染色が完了したら、細胞試料を PBS で 1 回以上洗浄してください。

2.8 4%のホルムアルデヒドを含む PBS 溶液中で細胞試料の 2 回目の固定を室温で 15 分間行ってください。固定が完了したら、細胞試料を 1 回以上 PBS で洗浄してください。Zenon Fab フラグメントは、一次抗体に共有結合しているわけではないため、この 2 回目の固定を行わないと、時間と共に解離します。特に多色アプリケーションでは他の一次抗体に移動することさえあります。この工程は、単一の一次抗体を用いる実験においてはオプションですが、通常 2 回目の固定を行うことでシグナル強度が増強されます。

2.9 必要に応じて、核酸染色剤（Hoechst 33342、DAPI または SYTOX® Green 染色剤等）または他の標識試薬（フルオロフォア標識ファロイジン等）で細胞試料を対比染色してください。各染色工程の後には必ず PBS で洗浄を行ってください。

2.10 必要であれば、細胞をスライドガラスまたはカバーガラスにのせるか、あるいはフローチューブ内に入れてください。細胞を顕微鏡観察する際には、アンチフェード封入剤にて封入してください。適切な方法で、試料の分析または観察を行ってください。

免疫組織化学

本プロトコールは、経心腔的灌流によって 4%のホルムアルデヒド溶液で固定した組織から 10～12 µm の凍結切片用を作成するためのプロトコールです。*グルタルアルデヒドを含む固定化剤は使用しないでください。*グルタルアルデヒドを使用すると試料の自己蛍光が増強され、タンパク質の過剰な架橋が生じるため、抗体の接近が妨げられることや、抗原が変性することがあります。可能であれば、薄い切片を使用することにより、抗体を組織中に完全かつ迅速に浸透させてください。Zenon 標識複合体は、パラフィンに埋め込まれた切片については、試験および

最適化を行っていません。存在量の少ない抗原の一部は、Zenon 標識テクノロジーでは、従来の二次的な検出法を用いた場合ほど容易に検出できません。Zenon 法は、組織試料中での存在量が極めて少ない標的分子には推奨されません。

実験試料の標識と並行して、ネガティブコントロール試料を、一次抗体を使用しない点を除いて上記と同一のプロトコールを用いて調製し、非特異的標識の評価を行う必要があります。従来の二次的検出法で標識されたポジティブコントロール試料を予備実験に使用することで、Zenon 標識法を使用した際に見られる染色パターンの特異性を確認することができます。

3.1 凍結組織切片を含むスライドガラスを室温で解凍してください（通常 15～30 分かかります）。必要に応じて、組織切片のまわりを PAP ペンで四角く囲んでください。

3.2 組織片を PBS 中に入れ、室温で 15 分間再水和させてください。本プロトコールの残りの工程において、組織切片が乾燥しないようにしてください。

3.3 組織切片を、0.2%の Triton X-100 を含む PBS 中、室温で 20 分間透過処理してください。

3.4 0.2%の BSA および 5%の熱失活済み正常ヤギ血清を含む PBT 中、室温で 30 分間処理し、非特異的結合部位をブロックしてください。血清の代わりに 1%BSA 溶液を使用することも可能です。インキュベーションが完了したら、ブロッキングバッファーを除去してください。

3.5 Zenon 標識複合体（上記 *Zenon 複合体の形成*に従って調製したもの）を、PBT を用いて適切な使用濃度に希釈してください。水平染色皿に 100～250 µL の使用溶液を添加し、切片を浸漬させてください。初期実験においては、さまざまな一次抗体濃度、および Zenon 標識試薬（Fab）と抗体のモル比を検討してください。組織染色には、6：1 のモル比を実験開始濃度として推奨しています。一般に Zenon 標識法では、標準的な二次的検出法より高濃度の一次抗体が必要となります。染色用バッファーに界面活性剤を添加して抗体の浸透性を高めることが重要です。上述のように、PBT 緩衝液には 0.2%の Triton X-100 が含まれていますが、抗原が界面活性剤抽出の影響を受けやすくなる可能性と組織浸透性との均衡がとれるように、界面活性剤の種類および濃度（通常 0.1～0.5%）を最適化しなければならない場合もあります。

3.6 組織切片を染色溶液と共に加湿容器内、室温で 1～2 時間インキュベートしてください。フルオロフォアを用いた Zenon 標識試薬は、インキュベーション中に遮光する必要があります。数種類の Zenon 標識複合体を用いて染色を行う場合、すべての複合体を合わせて単一の染色溶液とすることが可能ですので、1 種類ずつ連続的に染色を行う必要はありません。*長時間のインキュベーションは、行わないでください。*インキュベーション時間が長くなると、Zenon Fab フラグメントが一次抗体から解離して、S/N 比が低下し、多色染色アプリケーションにおいて一次抗体の交差反応が起こる可能性があります。

3.7 染色溶液を除去し、組織切片を PBST 中、室温で 10～15 分間洗浄してください。洗浄をさらに 2 回繰り返してください。洗浄は、縦型 Coplin 染色ビン内で行ってください。

3.8 染色した組織切片を PBS 中、室温で 5 分間洗浄してください。同じ操作を繰り返してください。

3.9 4%のホルムアルデヒドを含む PBS 溶液中、室温で 15 分間組織片の 2 回目の固定を行ってください。固定が完了したら、組織切片を 1 回以上 PBS で洗浄してください。Zenon Fab フラグメントは、一次抗体に共有結合しているわけではないため、この 2 回目の固定を行わないと、時間と共に解離します。特に多色アプリケーションでは、他の一次抗体に移動することさえあります。

3.10 必要に応じて、核酸染色剤（Hoechst 33342、DAPI または SYTOX Green 染色剤等）または他の標識試薬（フルオロフォア標識ファロイジン等）で組織切片を対比染色してください。各染色工程の後には必ず PBS で洗浄を行ってください。

3.11 組織切片をアンチフェード封入剤にて封入し、適切なフィルターを用いて蛍光を観察してください。

フローサイトメトリー

以下に示すプロトコールは、抹消血単核細胞の染色用に開発されたものですが、他のタイプの細胞または全血試料にも容易に応用できます。十分な量の標的が存在する一次抗体の場合には、Zenon 標識試薬（Fab）と抗体のモル比が 3：1 となる条件で Zenon 標識複合体を形成させるのが適切です。標的が少量の場合にはモル比を増加させる必要があります。Zenon テクノロジーによって標識した抗体を用いる場合には Fc ブロッキングの工程が不要であることに注目してください。

4.1 細胞懸濁液または血液試料を任意の方法で調製してください。

4.2 培養細胞（1 × 10^6細胞/mL）100 µL または全血試料 100 µL をフローサイトメトリーチューブに添加してください。

4.3 （オプション）細胞試料を、4%のホルムアルデヒドを含む PBS 溶液中、室温で 15 分間固定してください。細胞試料を PBS で洗浄し遠心分離操作によって細胞をペレット化し、上清を廃棄してください。細胞を残りのバッファーに再懸濁してください。**注意**：本工程および以降の工程は、細胞内マーカーを検出する場合にのみ必要です。細胞表面に対する抗体と細胞内マーカーに対する抗体を一つの実験で同時に用いる場合には、先に細胞表面マーカーの染色を行ってから、本工程および 4.4〜4.7 の工程に従って細胞内マーカーの染色を行ってください。

4.4 （オプション）細胞試料を、0.1%の Triton X-100 を含む PBS 中、室温で 5 分間インキュベートし、細胞の透過処理を行ってください。細胞試料を PBS で洗浄し、遠心分離操作によって細胞をペレット化し、上清を廃棄してください。細胞を残りのバッファーに再懸濁してください。

4.5 一次抗体 1 µg を、上記の *Zenon 複合体の形成*に従って標識してください。

4.6 Zenon 標識混合溶液（ステップ 4.5 で調製したもの）の全量を試料チューブに添加してください。**注意**：全血試料を用いる場合、赤血球の溶解を行うのは、細胞染色の前と後のどちらでも構いません（ステップ 4.6〜4.7）。

4.7 試料を室温で 30 分間インキュベートしてください。フルオロフォアを用いた Zenon 標識試薬は、インキュベーション中に遮光する必要があります。インキュベーションが完了したら、細胞を一度 PBS で洗浄した後、遠心分離操作によって細胞をペレット化し、上清を廃棄してください。細胞を残りのバッファーに再懸濁してください。イメージングアプリケーションに必要な染色後の固定化は、フローサイトメトリーにおいては必要ありません。

4.8 適切な装置パラメータを用いて、試料の分析を行ってください。

注

[A] 標識プロトコールにおいて Zenon ヒト IgG 標識試薬の使用量を決定する際、Fab と抗体の比は重要な因子です。すべての Zenon Human IgG Labeling Kit に付属の Zenon 標識試薬は、*Fab フラグメントの質量に基づき*、200 µg/mL の濃度で提供されます。Fab フラグメントの分子量は約 50 kDa、一方インタクトな IgG の分子量は約 150 kDa です。したがって、すべての Zenon 標識試薬において、その 5 µL をヒト IgG 抗体 1 µg と混合すると Fab と抗体のモル比は、3 : 1 となります。

[B] 標識する抗体の量または Fab と抗体のモル比を調節する際には、常に同量の Zenon 標識試薬と Zenon ブロッキング試薬を使用することが重要です。例えば、Zenon 標識試薬の使用量を 10 µL に増加した場合は、Zenon ブロッキング試薬の使用量も 10 µL に増加させてください。抗体 1 µg あたり Zenon 標識試薬 10 µL を添加すること（モル比は 6 : 1 となります）により、しばしば測定シグナルが約 50%の増加することに注目してください。モル比をこれ以上増加させても、シグナル強度の増加幅は減少していきます。

[C] ヒト IgG の濃度が特定されていない場合は、各メーカー等に問い合わせ、少なくとも IgG のおよその含有量に関する情報を入手してください。問い合わせても濃度が分からない場合には、Zenon 標識試薬による滴定を行って最適な標識条件を決定する必要があります。

[D] 各メーカーから入手できるモノクローナル抗体は、通常、アフィニティ精製された画分、IgG 画分、または血清中成分として提供されています。アフィニティ精製されていない一次抗体でも、Zenon ヒト IgG 標識試薬で標識することが可能で、非特異的 IgG や血清タンパク質を除去する必要はありません。ステップ 1.2 において Zenon 標識試薬の適切な添加量を、標識する試料中の IgG 総量を用いて決定することが必要です。IgG 1 µg あたり Zenon ヒト IgG 標識試薬 5 µL を使用してください。非特異的 IgG も特異的 IgG と同時に標識されますが、標識された非特異的 IgG は、試料を染色しても検出可能なほどではなく、染色工程において洗い流されます。

[E] ヒトの細胞または組織を使用せず、また単一標識の抗体のみが必要なアプリケーションの場合、標識プロトコールのステップ 1.4 および 1.5（ブロッキング試薬の添加）を省略できます。複合体化していない Zenon 標識試薬のシグナル強度は低く、バックグラウンドのシグナル強度を増加させることはありません。

[F] 標識複合体を長期間保存する場合、標識手順をステップ 1.3 で中断してください。この段階であれば、2 mM のアジ化ナトリウムを保存剤として用いることで、複合体を 4°C で数週間保存することができます。保存しておいたコンジュゲートを使用する際には、プロトコールのステップ 1.4 および 1.5 を完了してからコンジュゲートを実験試料に添加してください。

製品リスト　現在の価格は、当社ウェブサイトまたはカスタマーサービス部門から入手いただけます。

Cat #	Product Name	Unit Size
Z-25400	Zenon™ Alexa Fluor® 350 Human IgG Labeling Kit *50 labelings*	1 kit
Z-25402	Zenon™ Alexa Fluor® 488 Human IgG Labeling Kit *50 labelings*	1 kit
Z-25405	Zenon™ Alexa Fluor® 555 Human IgG Labeling Kit *50 labelings*	1 kit
Z-25407	Zenon™ Alexa Fluor® 594 Human IgG Labeling Kit *50 labelings*	1 kit
Z-25408	Zenon™ Alexa Fluor® 647 Human IgG Labeling Kit *50 labelings*	1 kit
Z-25451	Zenon™ Allophycocyanin Human IgG Labeling Kit *25 labelings*	1 kit
Z-25452	Zenon™ Biotin-XX Human IgG Labeling Kit *50 labelings*	1 kit
Z-25454	Zenon™ Horseradish Peroxidase Human IgG Labeling Kit *25 labelings*	1 kit
Z-25455	Zenon™ R-Phycoerythrin Human IgG Labeling Kit *25 labelings*	1 kit
Z-25460	Zenon™ Tricolor Human IgG Labeling Kit #1 *for green, orange and deep red fluorescence imaging* *3 x 10 labelings*	1 kit
Z-25470	Zenon™ Tricolor Human IgG Labeling Kit #2 *for blue, green and red fluorescence imaging* *3 x 10 labelings*	1 kit

Contact Information

Further information on Molecular Probes' products, including product bibliographies, is available from your local distributor or directly from Molecular Probes. Customers in Europe, Africa and the Middle East should contact our office in Leiden, the Netherlands. All others should contact our Technical Assistance Department in Eugene, Oregon.

Please visit our Web site — **www.probes.com** — for the most up-to-date information.

Molecular Probes, Inc.
29851 Willow Creek Road, Eugene, OR 97402
Phone: (541) 465-8300 • Fax: (541) 344-6504

Customer Service: 6:00 am to 4:30 pm (Pacific Time)
Phone: (541) 465-8338 • Fax: (541) 344-6504 • order@probes.com

Toll-Free Ordering for USA and Canada:
Order Phone: (800) 438-2209 • Order Fax: (800) 438-0228

Technical Assistance: 8:00 am to 4:00 pm (Pacific Time)
Phone: (541) 465-8353 • Fax: (541) 465-4593 • tech@probes.com

Molecular Probes Europe BV
PoortGebouw, Rijnsburgerweg 10
2333 AA Leiden, The Netherlands
Phone: +31-71-5233378 • Fax: +31-71-5233419

Customer Service: 9:00 to 16:30 (Central European Time)
Phone: +31-71-5236850 • Fax: +31-71-5233419
eurorder@probes.nl

Technical Assistance: 9:00 to 16:30 (Central European Time)
Phone: +31-71-5233431 • Fax: +31-71-5241883
eurotech@probes.nl

Molecular Probes' products are high-quality reagents and materials intended for research purposes only. These products must be used by, or directly under the supervision of, a technically qualified individual experienced in handling potentially hazardous chemicals. Please read the Material Safety Data Sheet provided for each product; other regulatory considerations may apply.

Several of Molecular Probes' products and product applications are covered by U.S. and foreign patents and patents pending. Our products are not available for resale or other commercial uses without a specific agreement from Molecular Probes, Inc. We welcome inquiries about licensing the use of our dyes, trademarks or technologies. Please submit inquiries by e-mail to busdev@probes.com. All names containing the designation ® are registered with the U.S. Patent and Trademark Office.

Copyright 2003, Molecular Probes, Inc. All rights reserved. This information is subject to change without notice.