

**POLYCLONAL ANTIBODY**

*For research use only. Not for clinical diagnosis.*

**Catalog No. LSL-LB-1503**

## Anti Type V Collagen

<b>Product type</b>	Primary antibodies
<b>Host</b>	Rabbit
<b>Source</b>	Serum
<b>Form</b>	Liquid
<b>Volume</b>	100μl
<b>Concentration</b>	
<b>Specificity</b>	This product does not contain preservatives such as NaN <sub>3</sub> . Does not cross react with bovine type I, II, III, IV, VI collagen and mouse type I, III, IV collagen.
<b>Antigen Isotype</b>	mouse intestine and fetus skin

<b>Application notes</b>	ELISA, IHC, IF
<b>Recommended use</b>	According to the ELISA assay, results are positive for dilutions up to 20,000 fold. Immunohistochemistry on Frozen or Paraffin section
<b>Recommended dilutions</b>	Immunofluorescence; More than 1/200 (recommended : 1/100~1/500)

Optimal dilutions/concentrations should be determined by the end user.

**Staining Pattern**

<b>Cross reactivity</b>	Cross react with mouse, rat, human and bovine. Cross reaction will differ between species.
<b>Storage</b>	Store below -20°C ( below -70°C for prolonged storage). After thawing, store in small aliquots in sealable vials and store below -70°C. To prevent degradation from repeated thawing, store the antiserum between 0 to 4°C after second thawing.
<b>References</b>	Stable for three years at -70°C

*For research use only. Not for clinical diagnosis.*



COSMO BIO Co., LTD.

Inspiration for Life Science

TOYO 2CHOME, KOTO-KU, TOKYO, 135-0016, JAPAN

URL: <http://www.cosmobio.co.jp>

e-mail: [export@cosmobio.co.jp](mailto:export@cosmobio.co.jp)

[Outside Japan] Phone : +81-3-5632-9617

[国内連絡先] Phone : +81-3-5632-9610

FAX : +81-3-5632-9618

FAX : +81-3-5632-9619

## Anti (mouse) Type V Collagen

## I. 内容

lot No. 754051

免 疫 動 物	ウサギ
性状・包装量	全血清・100 $\mu$ l
力 価	ELISA で20,000倍希釈まで陽性
抗 原 由 来	マウス・腸及び胎児皮膚（ペプシン抽出）
種 間 交 差	マウス・ラット・ヒト・ウシと交差*
特 徴	bov. type I・II・III・IV・VI collagen 及び mouse type I・III・IV collagen と非交差
標準希釈率	蛍光抗体法で1:200以上（1/100~1/500）

\*種によって交差性が異なります。希釈率を充分検討下さい。マウス、ラット以外との交差性は低い。

( ) 内は推薦希釈率

## II. 保存上の注意

-20℃以下（長期間の場合は-70℃以下）で凍結して下さい。  
解凍後は密栓のできる小型容器に研究の規模に応じて少量ずつ分注し、-70℃以下で保存して下さい。  
凍結融解の繰り返しによる力価の低下を避ける為、再解凍後の抗血清は0~4℃に保ち操作・保存して下さい。

## III. 安定性

-70℃で3年間安定。  
但し、NaN<sub>3</sub>等の防腐剤は入っていません。

製造元

総発売元

**LSI** 株式会社 エル・エス・エル

## 免疫組織染色に於ける切片の処理法

 **コスモ・バイオ株式会社**

LB-1102 Anti (rat)	type I Collagen	LB-2096 Anti (porcine)	Vitronectin
LB-1190 Anti (hum-bov)	type I Collagen	LB-2007 Anti (bovine)	Vitronectin
LB-1196 Anti (porcine)	type I Collagen	LB-2187 Anti (bovine)	Elastin
LB-1197 Anti (bovine)	type I Collagen	LB-2297 Anti (bovine)	Fibrillin
LB-1297 Anti (bovine)	type II Collagen	LB-9197 Anti (bovine)	S-100 Protein
LB-1387 Anti (bovine)	type III Collagen	LB-4005 Anti (mouse MAP)	Osteocalcin
LB-1393 Anti (mouse)	type III Collagen	LB-4115 Anti (mouse MAP)	Osteonectin
LB-1300 Anti (hum-bov)	type III Collagen	LB-4225 Anti (mouse MAP)	Osteopontin
LB-0445 Anti (MAP)	type IV Collagen	LB-4335 Anti (mouse MAP)	Bone Sialoprotein
LB-1403 Anti (mouse)	type IV Collagen	LB-5597 Anti (bovine)	Rhodopsin
LB-1407 Anti (bovine)	type IV Collagen	LB-5509 Anti (octopus)	Rhodopsin
LB-1581 Anti (human)	type V Collagen	LB-5555 Anti (MAP)	Rhodopsin
LB-1597 Anti (bovine)	type V Collagen	LB-6198 Anti (horse)	Na-K-ATPase
LB-1503 Anti (mouse)	type V Collagen		
LB-1697 Anti (bovine)	type VI Collagen	LB-5201 Anti (MAP)	Cry-J-1
LB-0771 Anti (hum MAP)	type VII Collagen	LB-5202 Anti (MAP)	Cry-J-2
LB-0883 Anti (mouse MAP)	type VIII Collagen		
LB-0903 Anti (mouse MAP)	type IX Collagen		
LB-0092 Anti (rat MAP)	type X Collagen		
LB-1155 Anti (mouse MAP)	type XI Collagen		
LB-1200 Anti (MAP)	type XII Collagen		
LB-1400 Anti (MAP)	type XIV Collagen		
LB-1027 Anti (bovine)	Fibronectin		
LB-1021 Anti (human)	Fibronectin		
LB-1003 Anti (mouse)	Keratin		
LB-1013 Anti (mouse)	Laminin		
LB-1074 Anti (chicken)	Myosin		
LB-1084 Anti (chicken)	Tropomyosin		

以上免疫動物はウサギ

製品に関するお問い合わせは  
コスモ・バイオ(株)まで  
お願いします。

以上のLSL社製抗血清は凍結切片及びパラフィン包埋切片などに使用できますが、実験を開始する前に次の内容を検討下さい。また、特異性の検討はELISA及びWestern blottingなどで行っています。

### I. 凍結切片の場合

1. 組織の凍結・・・試料はできるだけ新鮮なうちに適当な大きさに切り出し、液体窒素などで組織を急速に冷凍します。試料が小さい場合は凍結包埋剤に埋め込みアルミホイルで包んで凍結します。(注1)

2. 薄切切片の作成・・・クリオスタットで切片を作成し(-20℃程度)、スライドグラスにのせます。次にスライドグラスの裏側を指先で暖め切片全体をスライドグラスに良く張り付けます。その時に組織が崩れないように注意して下さい。

3. 試料の固定・・・4℃以下のアセトンまたは4℃以下のエチルアルコールで5～15分間固定します。ホルマリンの使用はできるだけ避けて下さい。次に1～2分間室温に放置しアセトンなどを蒸発除去し、PBSで洗浄します。

4. 試料の前処理・・・コラーゲンなどの細胞外マトリックスは個体の加齢と共に抗体との反応性が低下します。必要に応じてタンパク質・多糖類などの分解酵素を用いると反応性が向上する事があります。詳細はII. 2. を参照して下さい。通常の免疫染色の行程に進む前に必ず非特異的な反応を数%濃度のBSA and/or カゼインなどでブロッキングして下さい。(注2)

裏面へ続く

(注1) 組織塊を-80℃以下で保存すれば抗原性は保持されますが凍結融解、-40℃以上での保存、固定前の乾燥により抗体との反応性が低下します。また、薄切切片の状態では保存すると条件に関係なく抗原性は低下します。切片作成後は速やかに処理して下さい。

## Ⅱ. パラフィン包埋切片の場合

試料を4%パラホルムアルデヒドなどで固定し、パラフィン包埋した場合は通常の方法では良好な染色像を得られない事があります。その場合は以下のような酵素処理により結果が改善される事があります。特にコラーゲンを染色する時やMAP(multiple antigen peptide)を抗原とした抗血清を用いる時は有効です。

1. 試料の洗浄 脱パラフィンした切片をPBSで洗浄します。
2. 酵素処理 0.1%ペプシン(0.5M酢酸)、0.4%ペプシン(0.01N HCl)、1%トリプシン(PBS)又はHyaluronidase 25mg/ml PBSなどを数滴滴下し、室温にて20～60分間反応させます。(注3)
3. ブロッキング PBSで洗浄後非特異的な反応を防ぐ為に数%濃度のカゼイン、BSAでブロッキングをしてから通常の免疫染色行程に進みます。(注2)

(注2) ブロッキング剤として1～2%カゼイン、BSA and/or ゼラチンを用いますがコラーゲンを染色する時にはゼラチンは用いないで下さい。

(注3) 酵素の濃度、反応温度や時間はあくまでも目安です。反応が進みすぎると組織が崩壊します。充分注意して下さい。また、骨組織及び軟骨組織を染色する場合はヒアルロニダーゼ処理で染色性が向上します。

## Ⅲ. 免疫染色に関する一般的注意

免疫染色では使用する第一・第二抗体の力価、特異性の再確認後反応時間、反応温度の検討が必要です。特に、抗体による染色性を向上させるにはあらかじめ抗体の最適希釈率、反応温度・時間を決める予備染色を行うことをお勧めします。

LSLシリーズの抗血清の場合はすでに特異性については検討済ですが、力価は反応条件によって異なりますので性状表に記載された希釈率を中心に上下3段階の希釈率を設定し、染色性を確認のうえ第二抗体を含めた最適希釈率を決めると確実です。又、一般に高い希釈率で低温にて長時間反応を行うと良い染色像が得られます。なお、HE染色などの一般的な染色をしたコントロール切片を作成し、免疫染色像と比較検討する事も重要です。

### 参考文献

[酵素等による切片の前処理法]

- Y. Sasano *et al* (1993) BMPs induce direct bone formation in ectopic sites independent of the endochondral ossification *in vivo*. The Anatomical Record, 236, 373-380
- I. Mizoguchi *et al* (1990) An immunohistochemical study of localization of type I and type II collagens in mandibular cartilage compared with tibial growth plate. Histochemistry, 93, 593-599
- A. Horton *et al* (1983) Immunohistochemistry of types I and II collagen in undecalcified skeletal tissues. J. Histochem. Cytochem., 31, 417-425