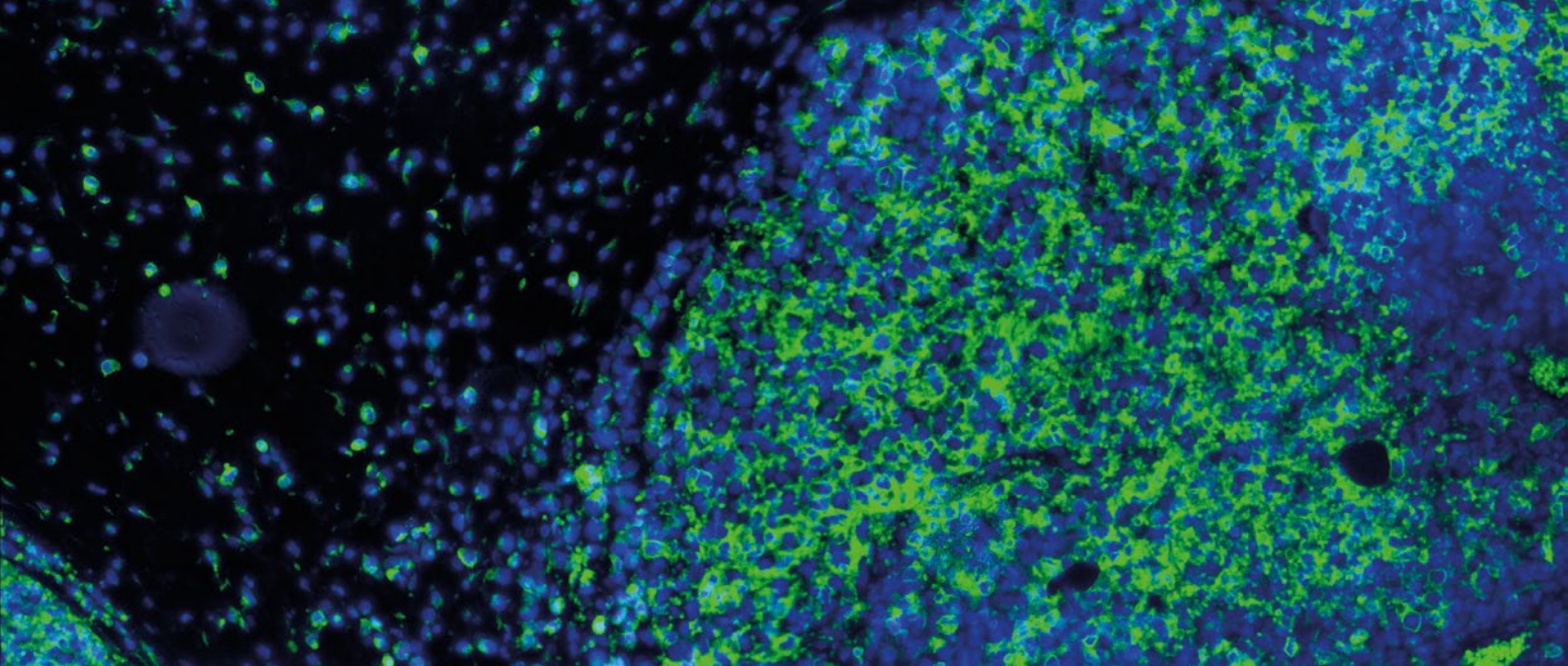


EuroClone[®]
A C A D E M Y

GUIDA AL MONDO
SPATIAL
IMMUNODETECTION





INTRODUZIONE

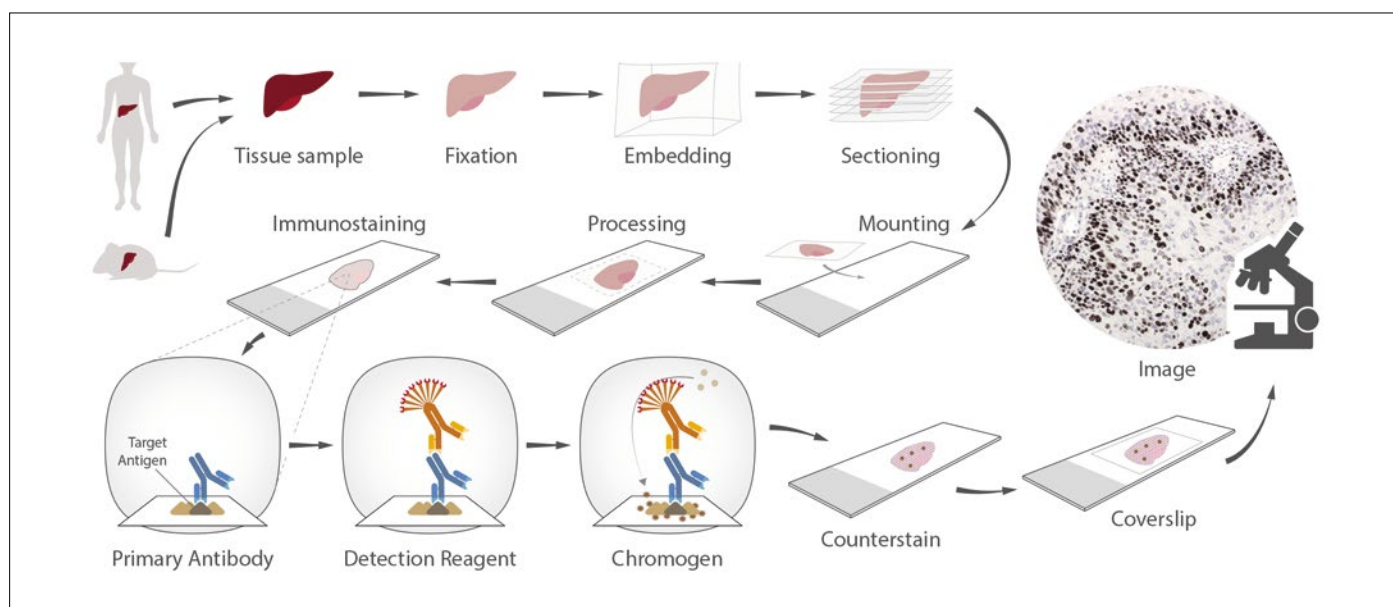
Le tecniche di immunodetection spaziale come immunoistochimica, immunocitochimica e immunofluorescenza consentono la localizzazione e la visualizzazione di target specifici in cellule e tessuti fornendo informazioni circa il livello di espressione o lo stato di attivazione delle stesse.

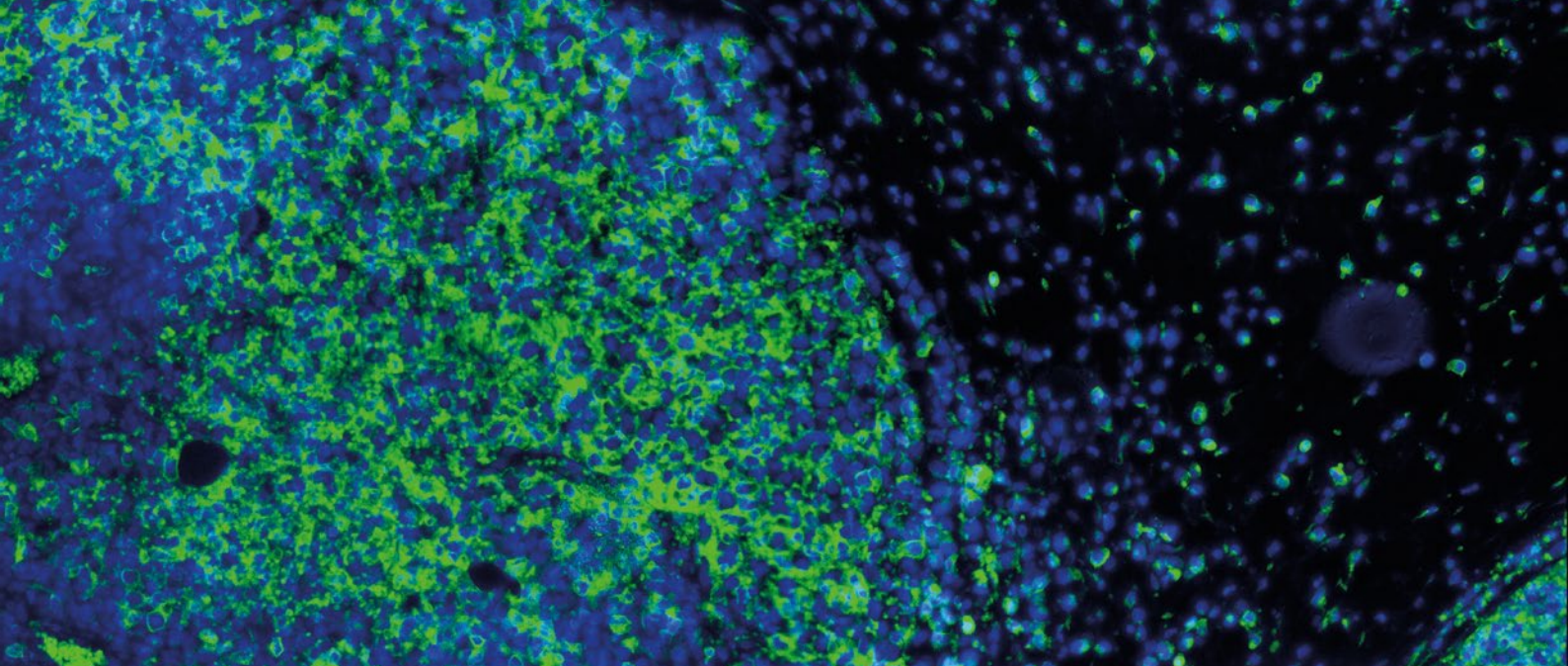
La molecola di interesse viene rilevata utilizzando principalmente due metodi distinti:

- Diretto: la proteina è riconosciuta da un anticorpo primario direttamente coniugato a un report che ne consente la visualizzazione mediante fluorescenza o cromogenia.

- Indiretto: l'anticorpo primario che riconosce il target è a sua volta riconosciuto da un anticorpo secondario coniugato con un fluoroforo, un enzima o una molecola reporter che consente l'amplificazione del segnale e una rilevazione più efficace.

Grazie alla possibilità di fare colorazioni multiplex le tecniche di immunodetection spaziale possono essere utilizzate per studi di co-localizzazione, variazione della sublocalizzazione cellulare ed extra cellulare e identificazione di diverse popolazioni cellulari nel medesimo contesto tissutale.





LINKS

LINK PER APPROFONDIRE:

- [Detect with Confidence– Enzo's Immunohistochemistry Solutions](#)

01.

FISSAZIONE DEI CAMPIONI

02.

SMASCHERAMENTO
DELL'ANTIGENE E
PERMEABILIZZAZIONE

03.

BLOCKING

04.

ANTICORPO PRIMARIO

05.

RILEVAMENTO

06.

COLORAZIONE

07.

MULTIPLEX IHC E IF

08.

CONTROCOLORAZIONE,
MONTAGGIO ED ACCESSORI

09.

CONTROLLI

10.

COLORANTI CELLULARI
E KIT PER IF

+

SPATIAL BIOLOGY

01. FISSAZIONE DEI CAMPIONI

Lo scopo della fissazione del campione di interesse è quello di preservarne la morfologia, inibire processi autolitici e necrotici e rendere accessibili agli anticorpi primari le molecole di interesse.

A seconda della diversa tipologia del campione di partenza, sono applicabili diversi protocolli di fissazione:

- I tessuti vengono generalmente disidratati, fissati con composti aldeidici e inclusi in paraffina oppure congelati in azoto liquido.
- Le cellule vengono generalmente fissate mediante l'utilizzo di formaldeide o alcoli come il metanolo.

Dopo alcuni metodi di fissazione (come la fissazione in paraffina), si rendono necessari alcuni passaggi per rendere accessibile il target di interesse all'anticorpo primario:

- deparaffinizzazione
- decrosslinking

SUGGERIMENTO: la scelta del fissativo è molto importante per la corretta riuscita dell'esperimento; alcuni fissativi possono alterare determinate morfologie tissutali e cellulari e denaturare le proteine target, rendendole eventualmente più accessibili agli anticorpi ma anche alterandone la corretta localizzazione. E' quindi importante allestire il proprio protocollo tenendo conto delle condizioni ottimali necessarie all'anticorpo primario per la corretta rilevazione del target.

LINK PER APPROFONDIRE:



[Formaldehyde vs. Alcohol Fixation for Immunofluorescence \(IF\)](#)

PRODOTTI CHIAVE

Descrizione	Prodotto	Codice
Tamponi per fissazione	4% Formaldehyde, Methanol-Free 100 ml	BK47746S
	16% Formaldehyde, Methanol-Free 50 ml	BK12606S

02. SMASCHERAMENTO DELL'ANTIGENE E PERMEABILIZZAZIONE

Nei tessuti, a seguito del processo di fissazione, l'antigene può risultare mascherato e questo impedisce all'anticorpo primario di riconoscere il proprio epitopo. Per evitare colorazioni deboli o falsi negativi, è necessario trattare le sezioni di tessuto per rimuovere i legami ed esporre l'antigene.

Sia su campioni tissutali che cellulari, invece, in

seguito a fissazione con formaldeide, potrebbe rendersi necessario uno step di permeabilizzazione.

SUGGERIMENTO: trattamenti enzimatici aggressivi potrebbero alterare la morfologia del tessuto o l'integrità dell'antigene; meglio provare prima tecniche di smascheramento più gentili, come il riscaldamento con soluzioni alcaline, e ricorrere al trattamento proteolitico solo se indicato dal produttore dell'anticorpo primario.

LINK PER APPROFONDIRE:



[Choosing your fixation embedding and antigen retrieval method for successful IHC - Enzo Life Sciences](#)



[How to perform antigen retrieval in IHC](#)

PRODOTTI CHIAVE

Descrizione	Prodotto	Codice
Soluzioni per lo smascheramento dei siti immunoreattivi mediante trattamento termico	IHC antigen retrieval reagent 10X (citrate, pH 7.0) 500 ml #ADI-950-271-0500	EN9502710500
	IHC antigen retrieval reagent 10X (citrate, pH 8.0) 500 ml #ADI-950-272-0500	EN9502720500
	SignalStain® Citrate Unmasking Solution (10X) 25 ml / 125 ml	BK14746P/ BK14746S
	IHC antigen retrieval reagent 10X (EDTA, pH 8.0) 500 ml #ADI-950-273-0500	EN9502730500
	SignalStain® EDTA Unmasking Solution (10X) 25 ml / 125 ml	BK14747P/ BK14747S
	Antigen Retrieval Reagent, pH 6 (10X) 100 ml #ENZ-ACC112	ENACC112
	Antigen Retrieval Reagent, pH 9 (10X) 100 ml #ENZ-ACC113	ENACC113
Trattamento enzimatico proteolitico per decrosslinking	IHC enzyme antigen retrieval reagent 15 ml #ADI-950-280-0015	EN9502800015

03. BLOCKING

Le perossidasi, le fosfatasi alcaline e la biotina, possono essere naturalmente espresse in molti tessuti e portare all'osservazione di falsi positivi quando si usano metodi di colorazione basati su HRP o AP. I recettori Fc possono rappresentare siti di binding non specifici per l'anticorpo primario generando un elevato background.

SUGGERIMENTO: qualsiasi tessuto può esprimere contenuti indesiderati. Per garantire la specificità del segnale ed evitare errori di interpretazione, è raccomandabile bloccare qualsiasi enzima endogeno o sito di binding non specifico trattando le sezioni con apposite soluzioni di blocking e utilizzare opportuni controlli negativi.

PRODOTTI CHIAVE

Descrizione	Prodotto	Codice
Soluzione di blocking universale per enzimi endogeni (metodi HRP e AP)	IHC tissue primer (blocking reagent) 100 ml #ADI-950-234-0100	EN9502340100
Buffer pronto all'uso utilizzabile in IHC e ISH per la riduzione del background	Antibody Blocker/Diluent 100 ml #ENZ-ACC108	EN9502351000
	Animal-Free Blocking Solution (5X) 25 ml / 250 ml	BK15019S/ BK15019L
Buffer per blocking in IF	Immunofluorescence Blocking Buffer 50 ml	BK12411S
	Image-iT® FX Signal Enhancer 10 ml	BK11932S
Sieri Animali per Blocking e agenti bloccanti	Normal Goat Serum 10 ml	BK5425S
	Normal Bovine Serum 2 ml	JI001000001
	Normal Goat Serum 2 ml	JI005000001
	Bovine Serum Albumin (IgG-Free, Protease-Free) 10 g	JI001000161
Miscela di immunoglobuline (IgG) di rabbit, mouse e goat	IHC universal negative control reagent 25 ml x 1	EN9502310025
Blocca il segnale non specifico e riduce il background	IHC/ISH Peroxidase Block 100 ml #ENZ-ACC107-0100	ENACC1070100

04. ANTICORPO PRIMARIO

I campioni sono spesso preziosi e gli anticorpi primari hanno un ruolo centrale nel successo di un esperimento di immunodetection. L'anticorpo selezionato deve riconoscere il target e la specie di interesse ma anche avere formulazione, purezza e clonalità adeguata. Inoltre, una combinazione intelligente delle specie host o delle classi delle immunoglobuline apre il campo alla realizzazione di analisi in multiplex.

SUGGERIMENTO: La qualità dell'anticorpo primario è determinante per avere una colorazione ottimale. Un reagente aspecifico, poco sensibile o non validato per l'applicazione di interesse può generare dati ambigui e quindi risultati non interpretabili. Usare anticorpi ricombinanti rigorosamente validati in-house dal produttore consente di ottenere risultati affidabili e riproducibili senza spreco di campioni preziosi.

LINK PER APPROFONDIRE:



- [A Guide to CST Antibody Validation Tool box](#)
- [Antibodies for IHC \(enzolifesciences.com\)](#)
- [Recombinant Antibodies \(enzolifesciences.com\)](#)



[How Does Antibody Diluent Affect Staining in Immunohistochemistry \(IHC\)?](#)

PRODOTTI CHIAVE

ANTICORPI PRIMARI

Cell Signaling Technology: ampia gamma di anticorpi ricombinanti, sviluppati in house e validati per IF e IHC. Per ognuno di questi anticorpi è disponibile il protocollo di colorazione già ottimizzato.

Accedi a:

- [anticorpi validati per IF](#)
- [anticorpi validati per IHC](#)
- [anticorpi validati per IHC per colorazione con Autostainer](#)

Enzo Life Sciences: oltre 1000 anticorpi validati per IHC/ICC e oltre 300 per IF. Il programma [worry-free antibody trial](#) consente di valutare gli anticorpi primari senza rischi in applicazioni o specie non ancora validate.

Accedi a:

- [anticorpi validati per IF](#)
- [anticorpi validati per ICC](#)
- [anticorpi validati per IHC](#)

[Axxora market place:](#) decine di migliaia di anticorpi di diversi brand disponibili tramite Euroclone.



TAMPONI PER IBRIDAZIONE

Descrizione	Prodotto	Codice
Soluzioni per la diluizione dell'anticorpo in IHC	SignalStain® Antibody Diluent 25 ml	BK8112S
	SignalStain® Antibody Diluent 100 ml	BK8112L
Soluzione per la diluizione dell'anticorpo primario o del campione negativo in IHC	IHC Diluent (Primary Ab) 250 ml #ADI-950-244-0250	EN9502440250
Soluzione per la diluizione dell'anticorpo in IF	Immunofluorescence Antibody Dilution Buffer 100 ml	BK12378S
Ogni tablet genera 100 ml di soluzione PBS 10mM (1X)	IHC PBS tablets 100 ea #ADI-950-240-0100	EN9502400100
Washing Buffer per rimuovere l'eccesso di reagenti durante l'immunostaining	IHC Wash Buffer (10X) 100 ea #ADI-950-235-1000	EN9502351000
Kit completo con reagenti per colorazione in IF	Immunofluorescence Application Solutions Kit 1 kit	BK12727S

05. RILEVAMENTO

I metodi di rilevamento nell'immunodetection sono molteplici. I sistemi indiretti sono più comunemente utilizzati rispetto a quelli diretti e, amplificando il segnale, conferiscono una migliore sensibilità alla tecnica per proteine con livelli di espressione medio-bassi.

Gli anticorpi secondari sono spesso coniugati con diverse molecole reporter: enzimi, oligonucleotidi, fluorofori, nanopolimeri etc. e consentono il rilevamento colorimetrico, fluorescente o chemiluminescente degli anticorpi primari.

Tra tutti, il metodo basato su nanopolimeri migliora

la specificità dei risultati e velocizza i protocolli di colorazione.

Rispetto ai sistemi di amplificazione che si avvalgono di anticorpi secondari biotinilati, i polimeri coniugati con enzimi garantiscono maggiore sensibilità e evitano i problemi di aspecificità eventualmente generati da un blocking non ottimale della biotina endogena.

SUGGERIMENTO: Grazie alla maggiore sensibilità e densità di segnale, i sistemi di detection basati su nanopolimeri offrono l'ulteriore vantaggio di ridurre la quantità anticorpo primario impiegata.

LINK PER APPROFONDIRE:



- [Using Mouse-on-Mouse IHC Kits In Various Sample Types - Enzo Life Sciences](#)
- [Compatibility of POLYVIEW IHC Detection Reagents and HIGHDEF IHC Chromogens with Automated IHC Slide Stainers - Enzo Life Sciences](#)
- [Characterization of Immune Cell Infiltrates in Human Cardiac Allograft Vasculopathy Using MULTIVIEW IHC Kit - Enzo Life Sciences](#)
- [Tumor Phenotyping and Immune Cell Regulation using Multiplex IHC](#)

PRODOTTI CHIAVE

PRODOTTI PER RILEVAMENTO CROMOGENICO

Descrizione	Prodotto	Codice
Reagenti di rilevamento a nanopolimeri per applicazioni IHC e ISH, pronti all'uso, compatibili con metodi manuali o piattaforme automatizzate	POLYVIEW PLUS HRP (anti-rabbit) reagent 150 tests x 1 #ENZ-ACC103-0150	ENACC1030150
	SignalStain® Boost IHC Detection Reagent (HRP, Rabbit) 1 ml/15 ml	BK8114P/BK8114S
	POLYVIEW PLUS HRP (anti-mouse) reagent 150 tests x 1 #ENZ-ACC104-0150	ENACC1040150
	SignalStain® Boost IHC Detection Reagent (HRP, Mouse) 1 ml/15 ml	BK8125P/ BK8125S
	SignalStain® Boost IHC Detection Reagent (HRP, Goat) 15 ml	BK63707S
	SignalStain® Boost IHC Detection Reagent (HRP, Rat) 15 ml	BK72838S
	POLYVIEW PLUS AP (anti-rabbit) reagent 150 tests x 1 #ENZ-ACC110-0150	ENACC1100150
	SignalStain® Boost IHC Detection Reagent (AP, Rabbit) 15 ml	BK18653S
	POLYVIEW PLUS AP (anti-mouse) reagent 150 tests x 1 #ENZ-ACC114-0150	ENACC1140150
	SignalStain(R) Boost IHC Detection Reagent (AP, Goat) 15 ml	BK26927S
	SignalStain(R) Boost IHC Detection Reagent (AP, Rat) 15 ml	BK15764S
Reagente di rilevamento a nanopolimeri per campioni murini usando anticorpi primari prodotti in topo	POLYVIEW (mouse on mouse-HRP) IHC kit 100 tests x 1 #ADI-950-114-0100	EN9501140100
Si usa con POLYVIEW® PLUS (anti-Rabbit) per visualizzare target di topo	Rabbit anti-Mouse Linker (Ready-to-use) 6 ml x 1 #ENZ-ACC116-6000	ENACC1166000
Kit di colorazione completo utilizzabile in IHC e ISH; contiene reagente di rilevamento a nanopolimeri e cromogeno DAB	POLYVIEW® PLUS HRP-DAB (Anti-Rabbit) Kit 150 tests x 1 #ENZ-KIT159	ENKIT159
	POLYVIEW® PLUS HRP-DAB (Anti-Mouse) Kit 150 tests x 1 #ENZ-KIT160	ENKIT160
Reagente di rilevamento a nanopolimeri per uso con streptavidina in applicazioni IHC e ISH.	SAVIEW PLUS HRP reagent 150 tests x 1 #ENZ-ACC102-0150	ENACC1020150
	SAVIEW PLUS AP Reagent 150 tests x 1 #ENZ-ACC111-0150	ENACC1110150
Anticorpi secondari biotinilati	Biotin-SP-AffiniPure Goat Anti-Human IgG, Fcy Fragment Specific (min X Bov,Hrs,Ms Sr Prot) 1 ml	J1109065098
	Biotin-SP-AffiniPure Goat Anti-Rat IgG (H+L) 2 ml	J112065003
	Biotin-SP-AffiniPure Goat Anti-Mouse IgG (H+L) 2 ml	J115065003
	Biotin-SP-AffiniPure Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) 2 ml	J111065003
Kit di colorazione completo per multiplexing	MULTIVIEW® PLUS (mouse-HRP/rabbit-AP) IHC Kit (Brown/Green) 150 tests x 1 #ENZ-KIT181-0150	ENKIT181
	MULTIVIEW® (mouse-HRP/rabbit-AP) IHC Kit 100 tests #ADI-950-100-0001	EN9501000001

PRODOTTI CORRELATI

- [Tabella interattiva di Jackson sui vari secondari](#)

PRODOTTI PER RILEVAMENTO IN FLUORESCENZA

Descrizione	Prodotto	Codice
Anticorpi secondari coniugati con fluorofori	Anti-rabbit IgG (H+L), F(ab')2 Fragment (Alexa Fluor® 594 Conjugate) 250 µl	BK8889S
	Anti-rabbit IgG (H+L), F(ab')2 Fragment (Alexa Fluor® 488 Conjugate) 250 µl	BK4412S
	Anti-rabbit IgG (H+L), F(ab')2 Fragment (Alexa Fluor® 555 Conjugate) 250 µl	BK4413S
	Anti-rabbit IgG (H+L), F(ab')2 Fragment (Alexa Fluor® 647 Conjugate) 250 µl	BK4414S
	Anti-mouse IgG (H+L), F(ab')2 Fragment (Alexa Fluor(R) 594 Conjugate) 250 µl	BK8890S
	Anti-mouse IgG (H+L), F(ab')2 Fragment (Alexa Fluor(R) 488 Conjugate) 250 µl	BK4408S
	Anti-mouse IgG (H+L), F(ab')2 Fragment (Alexa Fluor(R) 555 Conjugate) 250 µl	BK4409S
	Anti-mouse IgG (H+L), F(ab')2 Fragment (Alexa Fluor® 647 Conjugate) 250 µl	BK4410S
	Anti-rat IgG (H+L), (Alexa Fluor® 488 Conjugate) 250 µl	BK4416S
	Anti-rat IgG (H+L), (Alexa Fluor® 555 Conjugate) 250 µl	BK4417S
	Anti-rat IgG (H+L), (Alexa Fluor(R) 647 Conjugate) 250 µl	BK4418S
	Alexa Fluor® 488-AffiniPure Donkey Anti-Rabbit IgG (H+L) (min X Bov,Ck,Gt,GP,Sy Hms,Hrs,Hu,Ms,Rat,Shp Sr Prot) 0,5 mg	JI711545152
	Alexa Fluor® 488-AffiniPure Donkey Anti-Rat IgG (H+L) (min X Bov,Ck,Gt,GP,Sy Hms,Hrs,Hu,Ms,Rb,Shp Sr Prot) 0,5 mg	JI712545153
	Alexa Fluor® 488-AffiniPure Donkey Anti-Mouse IgG (H+L) (min X Bov,Ck,Gt,GP,Sy Hms,Hrs,Hu,Rb,Shp Sr Prot) 0,5 mg	JI715545150
	Alexa Fluor® 488-AffiniPure Fab Fragment Goat Anti-Human IgG (H+L) 0,75 mg	JI109547003
	Alexa Fluor® 647-AffiniPure Donkey Anti-Rabbit IgG (H+L) (min X Bov,Ck,Gt,GP,Sy Hms,Hrs,Hu,Ms,Rat,Shp Sr Prot) 0,5 mg	JI711605152
	Alexa Fluor® 647-AffiniPure Donkey Anti-Mouse IgG (H+L) (min X Bov,Ck,Gt,GP,Sy Hms,Hrs,Hu,Rb,Shp Sr Prot) 0,5 mg	JI715605150
	Alexa Fluor® 647-AffiniPure Donkey Anti-Goat IgG (H+L) (min X Ck,GP,Sy Hms,Hrs,Hu,Ms,Rb,Rat Sr Prot) 0,5 mg	JI705605147
	Alexa Fluor® 647-AffiniPure Goat Anti-Human IgG (H+L) 1,5 mg	JI109605003

06. COLORAZIONE

L'obiettivo di un esperimento di immunodetection è la localizzazione dell'antigene target nella cellula o nel tessuto di interesse. L'antigene viene visualizzato tramite l'enzima reporter (HRP o AP) che, legato al reagente di rilevamento, catalizza una reazione cromogenica. L'ampia e versatile disponibilità di cromogeni consente di disegnare il proprio esperimento con grande flessibilità. Nella scelta del cromogeno vanno considerati molti aspetti,

tutti ugualmente importanti: colore e intensità dello staining, compatibilità con il sistema di detection, controcolorazione e mounting medium.

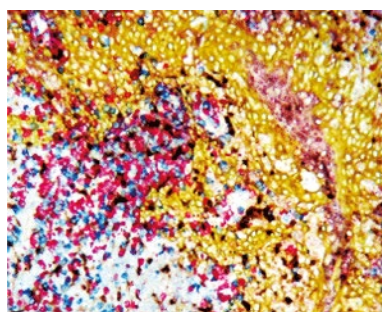
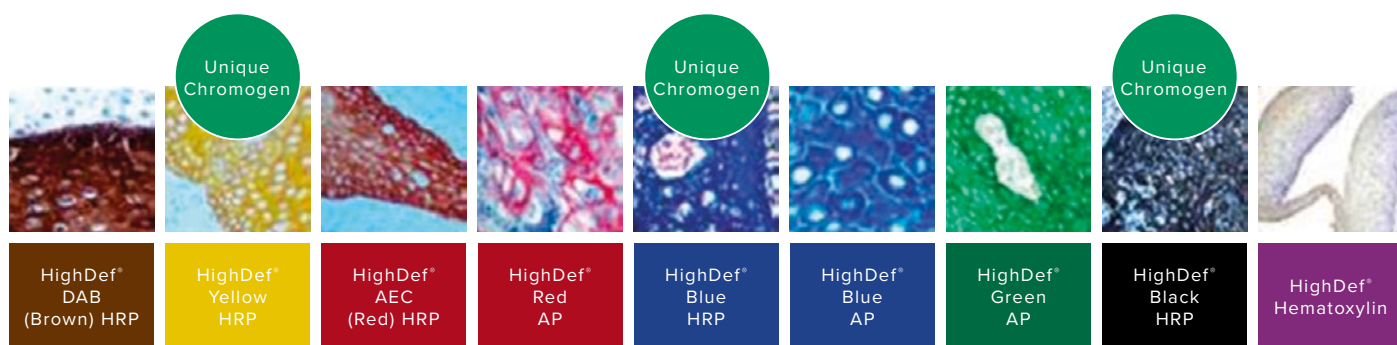
SUGGERIMENTO: Quando si effettua una colorazione in multiplex, la sequenza di colorazione è cruciale per ottenere un risultato chiaramente interpretabile e deve essere ottimizzata accuratamente. Una buona regola per iniziare è partire dal target più abbondante.

LINK PER APPROFONDIRE:



- [IHC Counterstains for Enzyme-Chromogen and Fluorescent Immunostaining](#)

- [What are the Common Reporter Enzymes used in IHC?](#)



Sezione FFPE di tonsilla umana colorata con anticorpo CD68 (topo) pre-diluito e marcato con HIGHDEF® IHC chromogen substrate (DAB, HC) (marrone), anticorpo lambda light-chain (coniglio) pre-diluito e marcato con HIGHDEF® blue IHC chromogen (AP) (blu), anticorpo kappa light-chain (coniglio) pre-diluito e marcato con HIGHDEF® red IHC chromogen (AP, plus) (rosso), citocheratina ad alto peso molecolare marcata con HIGHDEF® yellow IHC chromogen (HRP) (giallo) e controstaining nucleare methyl green.

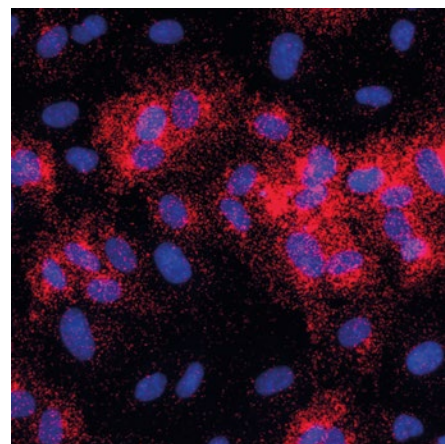
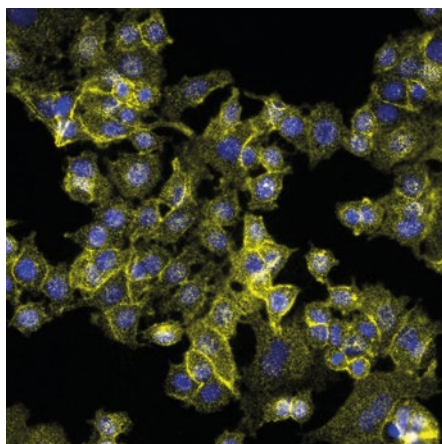
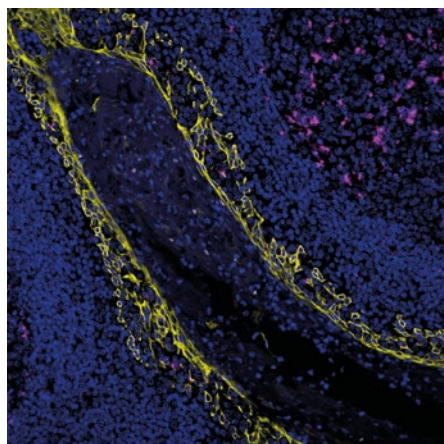
PRODOTTI CHIAVE

Descrizione	Prodotto	Codice
Cromogeni ad alta definizione per protocolli manuali o automatizzati; compatibili con enzima reporter AP	HIGHDEF red IHC chromogen (AP, plus) 30 ml #ADI-950-141-0030	EN9501400030
	HIGHDEF blue IHC chromogen (AP) 30 ml #ADI-950-150-0030	EN9501500030
	HIGHDEF Green AP Chromogen/Substrate 30 ml #ENZ-ACC130-0030	ENACC1300030
	SignalStain® Vibrant Red Alkaline Phosphatase Substrate 1 Kit	BK76713S
Cromogeni ad alta definizione per protocolli manuali o automatizzati; compatibili con enzima reporter HRP	HIGHDEF yellow IHC chromogen (HRP) 30 ml #ADI-950-170-0030	EN9501700030
	HIGHDEF black IHC chromogen (HRP) 30 ml #ADI-950-171-0030	EN9501710030
	HIGHDEF® Red IHC Chromogen (HRP) 30 ml #ADI-950-210-0030	EN9502100030
	SignalStain® Vivid Purple Peroxidase Substrate 1 Kit	BK96632S
Classica colorazione marrone, compatibile con enzima reporter HRP	HIGHDEF DAB Chromogen/Substrate Set 200 ml #ENZ-ACC105-0200	ENACC1050200
	SignalStain® DAB Substrate Kit (120 slide)	BK8059P
	SignalStain® DAB Substrate Kit (1200 slide)	BK8059S
Reagente per aumentare l'intensità del segnale generato dalla colorazione con DAB	HIGHDEF IHC enhancer (DAB, plus) 15 ml #ADI-950-182-0015	EN9501820015

PROXIMITY LIGATION ASSAYS

Spesso uno degli obiettivi che si desiderano ottenere mediante esperimenti di spatial immunodetection è il rilevamento e quindi la visualizzazione di un'eventuale interazione tra due proteine di interesse. I saggi di legame di prossimità sono una tecnica che permette, con un workflow del tutto simile e implementabile rispetto alla classica immunofluorescenza o immunohistochimica, di visualizzare le interazioni tra proteine in modo semplice e preciso, riducendo al minimo il rumore di fondo e i falsi positivi. La grande sensibilità e specificità di questi saggi

è data dall'utilizzo di speciali anticorpi secondari coniugati con delle code oligonucleotidiche: solo l'ibridazione degli oligonucleotidi appartenenti a due diversi secondari, legati agli anticorpi primari di interesse, permette un'amplificazione e la generazione di un segnale facilmente rilevabile tramite microscopia a fluorescenza o in campo chiaro. La distanza massima possibile affinché si abbia l'ibridazione è di soli 40nm, garantendo così che il segnale osservato sia presente solo in caso di un'effettiva interazione tra le due proteine.



PRODOTTI CHIAVE

Descrizione	Prodotto	Reattività anticorpo secondario	Codice
Kit di rilevamento di prossimità in fluorescenza utilizzabile su cellule fissate	NaveniFlex Cell MR RED / NaveniFlex Cell MR Atto746N	Mouse, Rabbit	NAVNCMR100Red / NAVNCMR100Atto
	NaveniFlex Cell GR RED / NaveniFlex Cell GR Atto746N	Goat, Rabbit	NAVNCGR100Red / NAVNCGR100Atto
	NaveniFlex Cell GM RED / NaveniFlex Cell GM Atto746N	Goat, Mouse	NAVNCGM100Red / NAVNCGM100Atto
Kit di rilevamento di prossimità in fluorescenza utilizzabile su tessuti	NaveniFlex Tissue MR RED / NaveniFlex Tissue MR Atto746N	Mouse, Rabbit	NAVNTMR100Red / NAVNTMR100Atto
	NaveniFlex Tissue GR RED / NaveniFlex Tissue GR Atto746N	Goat, Rabbit	NAVNTGR100Red / NAVNTGR100Atto
	NaveniFlex Tissue GM RED / NaveniFlex Tissue GM Atto746N	Goat, Mouse	NAVNTGM100Red / NAVNTGM100Atto
Kit di rilevamento di prossimità in campo chiaro utilizzabile su tessuti	NaveniBright HRP / NaveniBrightAP	Mouse, Rabbit	NAVNBMRHRP100 / NAVNBMRAP100
Kit di rilevamento in fluorescenza delle singole proteine e della loro interazione	Naveni Triflex Cell MR	Mouse, Rabbit	NAVTF100MR

07. MULTIPLEX IHC E IF

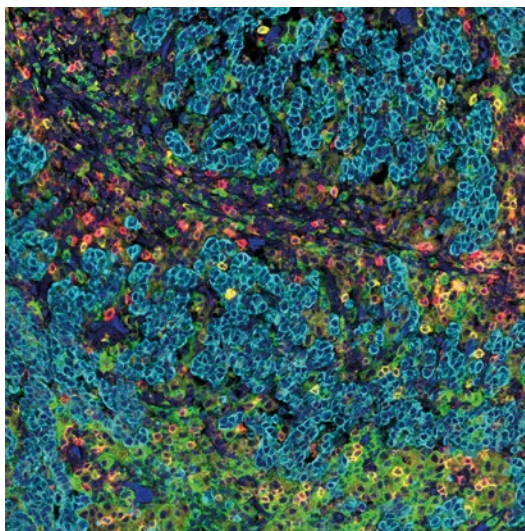
Uno dei modi più semplici per effettuare colorazioni multiplex consiste nell'utilizzare anticorpi primari derivati da varie specie ospiti e isotipi (IgG di coniglio, IgG1 di topo, IgG2a di ratto, ecc.) e utilizzare poi anticorpi secondari accoppiati a fluorofori specifici per l'anticorpo primario ospite utilizzato. Un altro metodo consiste nel coniugare direttamente un anticorpo primario con uno specifico fluoroforo o enzima. Ci sono alternativamente protocolli

che prevedono cicli sequenziali di marcatura con anticorpi primari (anche della stessa specie), secondari e fluorocromi coniugati a Tiramide (TSA). Infine, la coniugazione di anticorpi con oligoDNA e successiva amplificazione del segnale consente la colorazione simultanea di un numero di marcatori ben oltre le 3-4 proteine colorate con i metodi più tradizionali.

LINK PER APPROFONDIRE:



- [5 Tips to Start Your Multiplex IHC Optimization](#)
- [Multiplex IHC Optimization: Antibody Pairing & Titration](#)
- [Multiplex IHC with TSA: Optimization of Antibody Order](#)
- [SignalStar mIHC: la nuova rivoluzionaria tecnologia per fare colorazione multiplex](#)



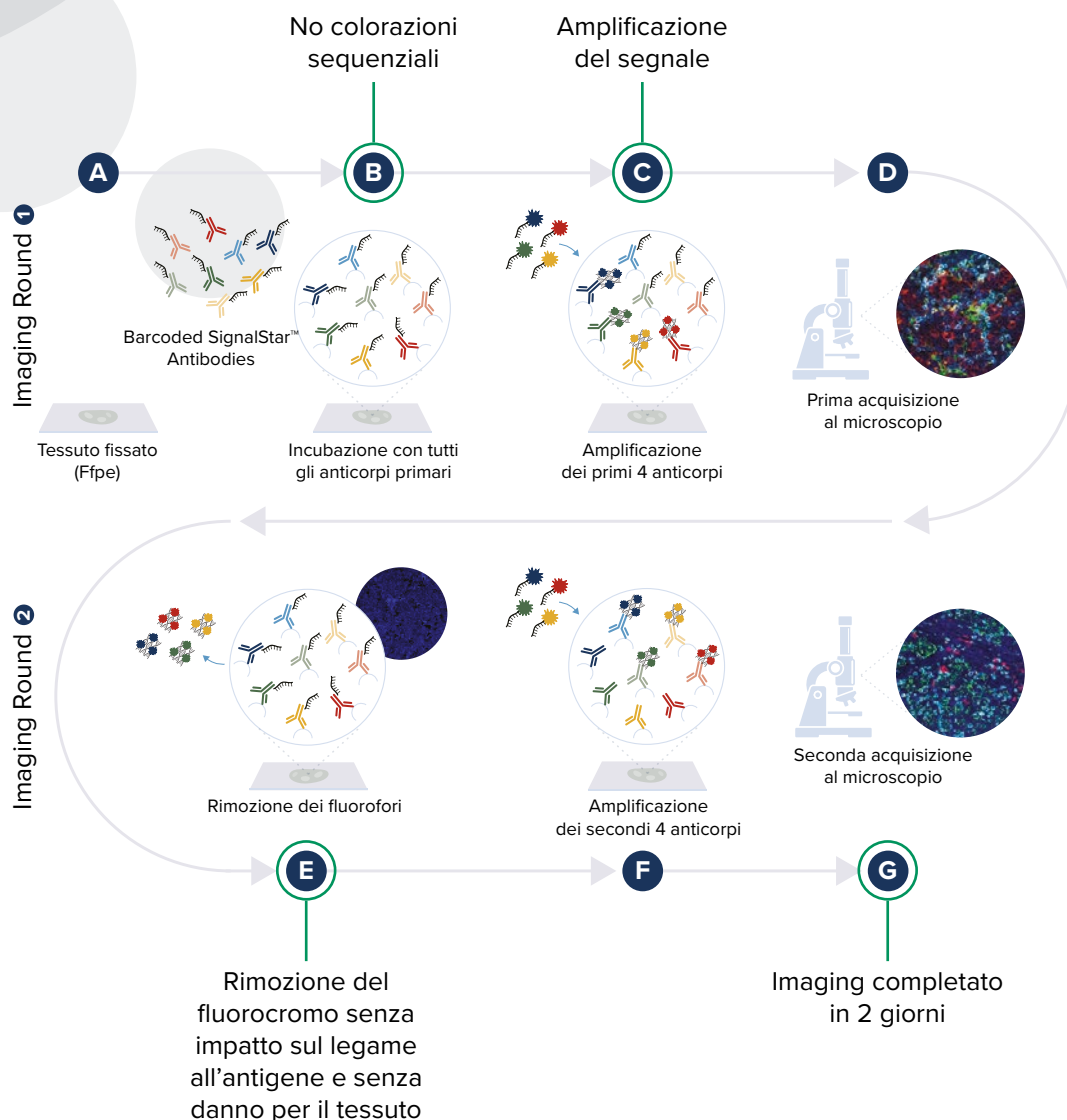
SignalStar™ multiplex immunohistochemical analysis of paraffin-embedded human gastric adenocarcinoma using ICOS (D1K2T) & CO-0027-647 SignalStar Oligo-Antibody Pair #24147 (red), CD16 (D1N9L) & CO-0031-488 SignalStar Oligo-Antibody Pair #29967 (green), Phospho-SLP-76 (Ser376) (E3G9U) & CO-0018-594 SignalStar Oligo-Antibody Pair #53299 (yellow), Pan-Keratin (C11) & CO-0003-750 SignalStar Oligo-Antibody Pair #97227 (cyan), and ProLong Gold Antifade Reagent with DAPI #8961 (blue). All fluorophores have been assigned a pseudocolor, as indicated.

PRODOTTI CHIAVE

SIGNALSTAR™ MULTIPLEX IHC

Innovativa tecnologia sviluppata da Cell Signaling Technology che consente di rilevare fino a 8 target proteici su tessuto paraffinato (FFPE) utilizzando anticorpi primari coniugati a oligonucleotidi e successiva

amplificazione con oligonucleotidi complementari coniugati a fluorocromi. Crea il tuo pannello velocemente con il [configuratore online](#).



ANTICORPI CARRIER-FREE PER PIATTAFORME MULTIPLEX

CST ha una gamma sempre più ampia di anticorpi validati per IHC disponibili in tampone azide e BSA free che possono essere utilizzati su piattaforme multiplex che richiedono coniugazione con oligonucleotidi, metalli pesanti o fluorofori.

[Anticorpi Carrier Free](#)

Contattaci (tsa@euroclone.it) per richiedere altri anticorpi o per avvalerti dei **service di coniugazione** di CST.

08. CONTROCOLORAZIONE, MONTAGGIO ED ACCESSORI

La controcolorazione è uno staining aggiuntivo che permette di ottenere informazioni supplementari circa la morfologia del tessuto.

SUGGERIMENTO: Nella scelta del mounting medium va considerato che alcuni cromogeni e counterstaining non sono compatibili con solventi organici; meglio orientarsi su mezzi acquosi con un alto indice di rifrazione garantito.

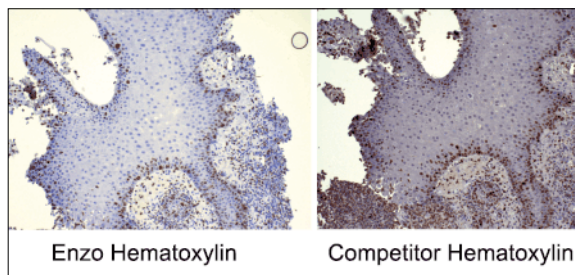
LINK PER APPROFONDIRE:



[Troubleshooting Immunofluorescence: Excess Bright Signal](#)



IHC PAP (mini) pen. Disegna una barriera idrorepellente intorno al campione e fornisce una tensione di superficie adeguata per contenere le soluzioni di incubazione durante l'esperimento di IHC. Consente di ridurre i volumi dei reagenti utilizzati e di analizzare sezioni multiple sullo stesso vetrino.



Enzo Hematoxylin

Competitor Hematoxylin

Due vetrini colorati con lo stesso procedimento (POLYVIEW® PLUS HRP-DAB Kit) e incubati con HIGHDEF Hematoxylin di Enzo Life Sciences (sinistra) o con ematossilina di altro brand (destra); HIGHDEF Hematoxylin genera uno staining più chiaro e definito, con meno background.

PRODOTTI CHIAVE

Descrizione	Prodotto	Codice
Reagente pronto all'uso con amplificatori di segnale	HIGHDEF Hematoxylin 100 ml x 1 #ENZ-ACC106-0100	ENACC1060100
	Hematoxylin 500 ml	BK14166S
Mounting medium a base acquosa per rilevamento cromogenico, garantisce la visualizzazione del campione in alta definizione	HIGHDEF IHC mount 30 ml x 1 #ADI-950-261-0030	EN9502610030
Mounting Medium per IHC	SignalStain® Mounting Medium 60 ml	BK14166S
Mounting Medium per IF	ProLongsup® /supGold Antifade Reagent with DAPI 10 ml	BK8961S
	ProLong® Gold Antifade Reagent 10 ml	BK9071S
Mounting medium a base acquosa per marcature fluorogeniche	HIGHDEF IHC fluoromount 25 ml x 1 #ADI-950-260-0025	EN9502610030
Inibisce il decadimento della fluorescenza in diverse applicazioni (IHC, IF)	Antifade mounting medium (hardset) 10 ml x 1 #ENZ-53002-M010	EN53002M010
Inibisce il decadimento della fluorescenza in diverse applicazioni (IHC, IF); include il DAPI	Antifade mounting medium with DAPI (hardset) 10 ml x 1 #ENZ-53003-M010	EN53003M010
Inibisce autofluorescenza	TrueBlack® Lipofuscin Autofluorescence Quencher 1 ml	BK92401S
Crea una barriera idrorepellente intorno al campione per contenere le soluzioni di incubazione. Punta fine.	IHC PAP (mini) pen 1 ea x 1 #ADI-950-232-0001	EN9502320001
Crea una barriera idrorepellente intorno al campione per contenere le soluzioni di incubazione. Punta normale.	IHC PAP pen 1 ea x 1 #ADI-950-233-0001	EN9502330001

09. CONTROLLI

L'uso di controlli adeguati consente di verificare la specificità della colorazione.

Cellule e tessuti che presentano espressione endogena del target di interesse rappresentano la forma più semplice di controllo positivo. Usati in parallelo con campioni simili ma che non esprimono il target, forniscono una risposta chiara ed

immediata sulla specificità del segnale rilevato.

Inserire questo tipo di controlli nel proprio flusso di lavoro è cruciale sia in fase di validazione del proprio protocollo di IHC, sia in fase di studio funzionale della proteina.

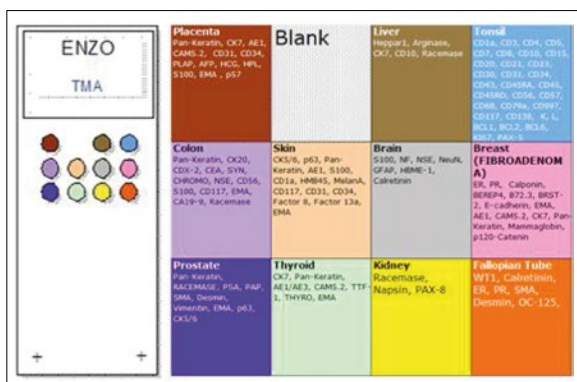
LINK PER APPROFONDIRE:



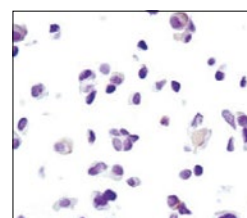
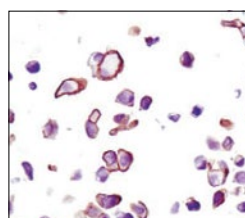
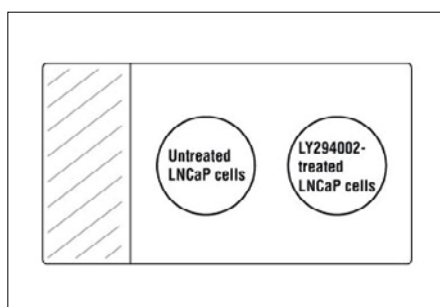
[What Controls are Necessary for Immunohistochemistry?](#)



- [IHC Tissue Controls & More](#)
- [How to Incorporate Cell Pellet Controls in IHC Experiments](#)
- [Experimental Design: Controls for Immunofluorescence \(IF\)](#)



MULTIVIEW® Universal Tissue Microarray è uno strumento utile ed economico che include sezioni FFPE di placenta, fegato, tonsille, colon, pelle, cervello, mammella, prostata, tiroide, rene e tube di falloppio. Per ogni tessuto viene fornita la reattività con oltre 130 marker certificati.



SignalSlide® Phospho-Akt (Ser473) IHC Controls - esempio di vetrino di controllo di Cell Signaling Technology: analisi immunoistochimica di cellule LNCaP PPFE, non trattate (sinistra) o trattate con LY294002 (destra); anticorpo Phospho-Akt (Ser473) (D9E) Rabbit mAb #4060.

PRODOTTI CHIAVE

Descrizione	Prodotto	Codice
Slide con 11 sezioni di diversi tessuti umani per la validazione e ottimizzazione dei protocolli di colorazione	MULTIVIEW® Universal Tissue Microarray 5/25/50 slides #ADI-950-020	ENADI950020
Vetrini di controllo con pellet di cellule fissate e incorporate in paraffina che esprimono o meno la proteina di interesse	Elenco dei vetrini a catalogo (*)	

(*) Contattaci (tso@euroclone.it) per richiedere vetrini di controllo customizzati.

10. COLORANTI CELLULARI E KIT PER IF

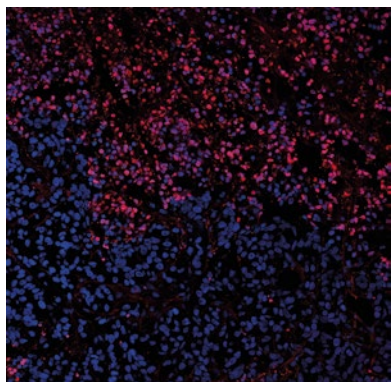
Può essere utile affiancare al proprio protocollo di immunodetection l'utilizzo di coloranti per specifici componenti cellulari oppure kit per il monitoraggio di specifici processi cellulari. In questo modo

è possibile avere una panoramica più chiara del contesto ambientale, tissutale, cellulare e subcellulare, in cui l'esperimento viene condotto.

LINK PER APPROFONDIRE:



- [Lista prodotti Cell Signaling Technology: coloranti per organelli cellulari](#)
- [Lista prodotti Enzo Life Sciences: Dyes, Stains, Fluorescent Probes](#)
- [Lista prodotti Cell Signaling Technology: kit per la rilevazione di cellule apoptotiche e cellule vitali](#)



Analisi confocale di uno xenotrapianto con cellule HT-29 incluse in paraffina mediante l'utilizzo del TUNEL Assay Kit (Fluorescenza, 640 nm) (rosso) e colorante DAPI BK4083S (blu).

PRODOTTI CHIAVE

Descrizione	Prodotto	Codice
kit TUNEL per la detection di DNA frammentato in cellule apoptotiche. I kit sono utilizzabili in microscopia a fluorescenza e citofluorimetria, su cellule o tessuti fissati.	TUNEL Assay Kit (Fluorescence, 488 nm) 1 kit	BK25879S
	TUNEL Assay Kit (Fluorescence, 594 nm) 1 kit	BK48513S
	TUNEL Assay Kit (Fluorescence, 640 nm) 1 kit	BK64936S
Reagenti per la marcatura di specifici compartimenti cellulari; includono un dye blu per la colorazione del nucleo	ER-ID Green assay kit 1 kit	EN51025K500
	ER-ID Red assay kit (GFP-CERTIFIED) 1 kit	EN51026K500
	GOLGI ID Green assay kit 1 kit	EN51028K100
	MITO-ID Green detection kit 100 tests	EN510220100
	NUCLEAR-ID Red DNA stain 200 µl	EN52406
	NUCLEAR-ID Blue DNA stain (GFP-CERTIFIED) 200 µl	ENCHM1030200
Mounting medium anti-fading per rilevamento in fluorescenza	SEEBRIGHT Mounting Medium with DAPI 20 tests	ENGEM4200020

SPATIAL BIOLOGY

Le nuove tecnologie di spatial biology consistono nel processamento di tessuti conservati in FFPE o freschi/congelati in OCT per determinare l'espressione genica all'interno del contesto spaziale del tessuto stesso.

Queste soluzioni si basano sull'analisi del trascrittoma nella sua interezza attraverso la creazione di librerie NGS oppure focalizzano l'analisi su pannelli di centinaia di geni tramite analisi di Imaging in Situ.

10x Genomics, propone 2 differenti piattaforme per questo tipo di analisi:

VISIUM CYTASSIST

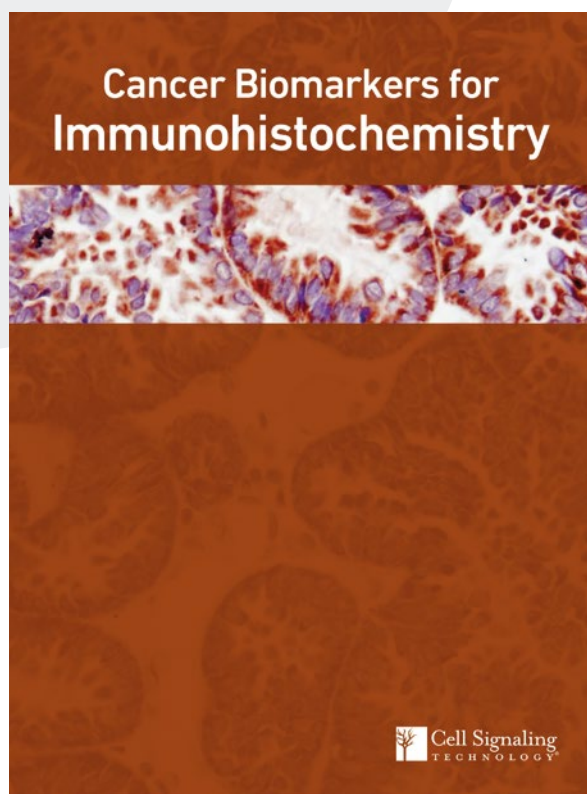
- Analisi del trascrittoma e di proteine dalla stessa sezione.
- Utilizzabile con campioni FFPE, Freschi e Congelati in OCT, Fissati in PFA e conservati in OCT, Tissue Microarray.
- Ampio pannello da almeno 18.000 geni con possibilità di aggiungere target custom Risoluzione a 55 µm.
- Possibilità di pre-screening per selezionare sezioni
- biologicamente significative.
- Compatibilità con colorazioni in emat/eos ed analisi in IF.
- Processamento di 2 sezioni di tessuto in meno di un'ora.
- Software inclusi nella fornitura.

XENIUM ANALYZER

- Analisi del trascrittoma e di proteine dalla stessa sezione.
- Utilizzabile con campioni paraffinati e/o freschi e conservati in OCT.
- Analisi di pannelli contenenti centinaia di RNA tessuto specifico e customizzabili e risoluzione a 200 nm.
- Analisi non distruttiva del tessuto e compatibile a valle con analisi di IHC, IF, emat/eos e di Spatial transcriptomics.
- Processamento di 2 vetrini contemporaneamente.
- Software inclusi nella fornitura.
- Nessun bisogno di Servizi in Cloud per lo storage/analisi dei dati.



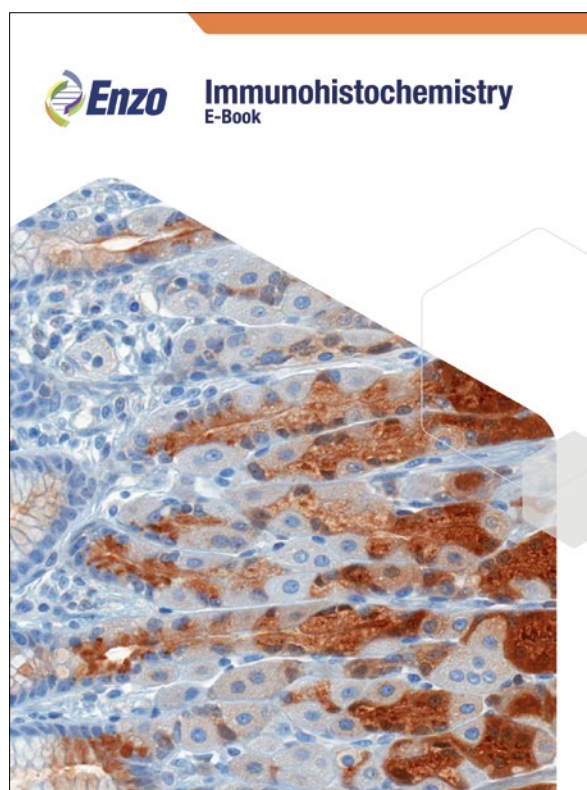
APPROFONDIMENTI



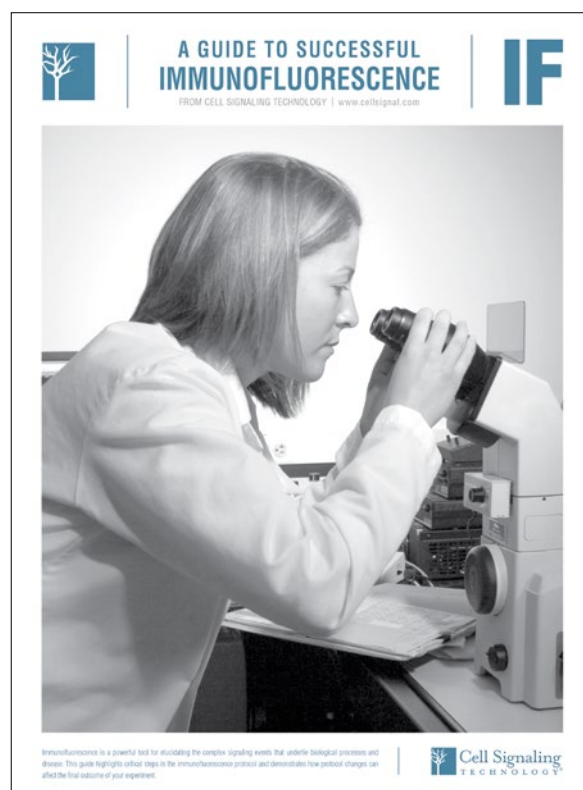
[Brochure Cancer Biomarkers](#)



[Guida Successful IHC](#)



[e-book IHC](#)



[Guida Successful IF](#)

APPROFONDIMENTI

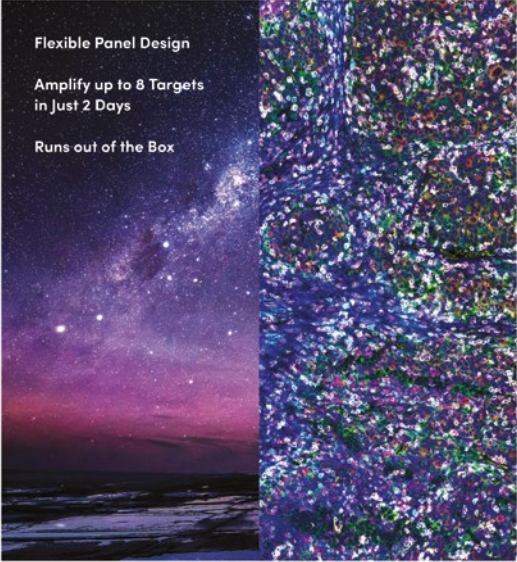


SignalStar™ Multiplex IHC for Spatial Biology

Flexible Panel Design

Amplify up to 8 Targets
in Just 2 Days

Runs out of the Box



[SignalStar Multiplex IHC](#)

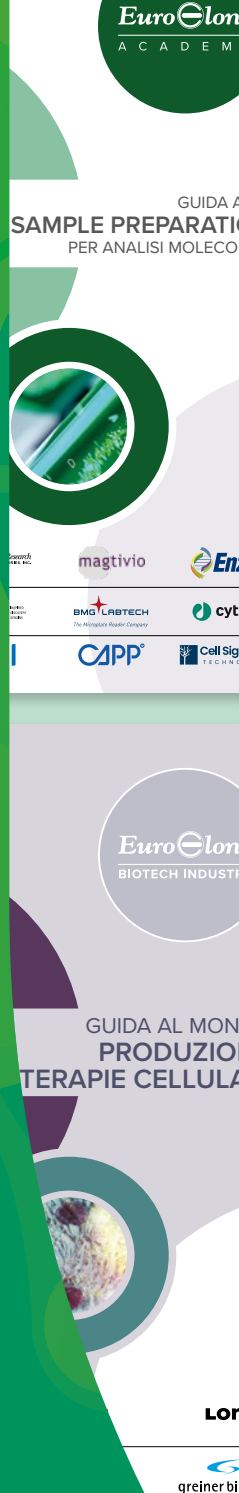
DISCOVER ALL OUR GUIDES!

Scan the QR Code below to discover all our guides:

- Esosomi
- Car-T
- Sferoidi
- Epigenetica
- Single Cell
- NGS 5.0
- Processi Cellulari
- Sample Preparation
- SARS-CoV-2
- Produzione Terapie Cellulari
- Produzione Proteine Ricombinanti
- Drug Discovery



Some of the brands mentioned in the guides are available through Euroclone only in Italy.



GUIDA AL MONDO
NGS 5.0

GUIDA AL MONDO
DRUG DISCOVERY



PROCESSI CELLULARI

GUIDA AL MONDO
PROCESSI CELLULARI

SINGLE CELL

GUIDA AL MONDO
SINGLE CELL

ORGANOIDI

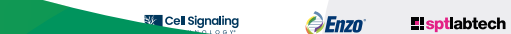


PRODUZIONE PROTEINE RICOMBINANTI

GUIDA AL MONDO
PRODUZIONE
PROTEINE RICOMBINANTI

EPIGENETICA

GUIDA AL MONDO
EPIGENETICA



Servizi

I nostri servizi sono stati sviluppati per supportare la vita quotidiana dei ricercatori e offrire soluzioni flessibili in risposta alle esigenze dei clienti.

Technical Sales Specialist

Gli specialisti di Euroclone offrono un supporto in grado di soddisfare ogni esigenza del cliente (sia per i prodotti Euroclone che per i prodotti distribuiti) offrendo così un importante supporto diretto sul territorio italiano.

- ✓ Consulenza pre e post vendita
- ✓ Installazione dello strumento
- ✓ Formazione nell'utilizzo degli strumenti
- ✓ Dimostrazioni tecniche e pratiche
- ✓ Assistenza tecnica
- ✓ Risoluzione dei problemi
- ✓ Supporto scientifico

Technical Sales Assistant

L'assistente tecnico si occupa di tutte le esigenze operative post vendita.

- ✓ Fornisce informazioni tecniche
- ✓ Gestisce le richieste in sinergia con il supporto tecnico del fornitore
- ✓ Supporto tecnico sul consumabile

Contatti: tsa@euroclone.it / 800-315911

Qualità/Regolatorio

I dispositivi medici da noi commercializzati e i dispositivi diagnostici in vitro fabbricati o distribuiti da Euroclone sono conformi ai regolamenti europei 2017/745 e 2017/746.

Euroclone rilascia i prodotti con il proprio brand in Europa e nel resto del mondo in conformità con le regolamentazioni internazionali.

Inoltre, Euroclone è un fornitore di aziende nell'area Biotech - Pharma o di altre aziende che lavorano secondo le GMP, garantendo prodotti di alta qualità e FFM.

Su richiesta Euroclone può supportare i clienti nella redazione di specifici accordi tecnici di qualità.

Certificazioni

Euroclone ha un sistema di qualità certificato secondo le norme **EN ISO 9001**, **EN ISO 13485** e **EN ISO 14001**.

Le procedure aziendali danno garanzia di conformità alle normative attualmente in vigore in ambito di progettazione, sviluppo, produzione, assistenza tecnica e commercializzazione di prodotti per la Life Science, MED e IVD, oltre che agire nel pieno rispetto dell'ambiente e della sostenibilità ecologica.



EuroClone®
serving science through innovation

Euroclone SpA Società a Socio Unico
Via Figino, 20/22 - 20016 Pero (MI)
Tel. +39 02.381951 - +39 02.38101465
info@euroclone.it - www.euroclone.it

Quality Management System Certified to ISO 9001
and ISO 13485 international standard



**PER RICHIEDERE UN PREVENTIVO
CONTATTA IL TUO AGENTE DI ZONA**

Per vedere l'intero portafoglio prodotti visita il sito
www.euroclone.it