

重组Anti-TMEM119抗体[28-3] - Microglial marker (ab209064)

种属、应用和参考稀释度

(更多信息请参考Abcam官网, 并以Abcam官网为准)

	IHC-FoFr	IHC-P	IHC-Fr
Human	✗	✗	✗
Mouse	✓✓ (1-5 µg/mL, 1/200-1/1000)	✓✓ (0.1-0.5 µg/mL, 1/2000-1/10000)	✓✓ (1-5 µg/mL, 1/200-1/1000)
Rat	✗	✗	✗

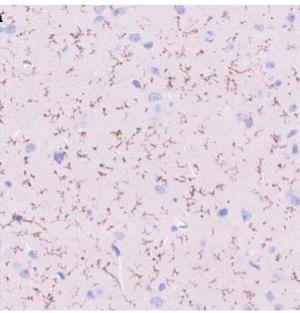
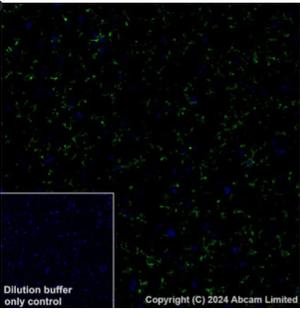
✓✓^①已验证 ✓^②预期可反应 ● 预测可反应 ✗ 不推荐

注: ①产品品质范围包括已验证和预期可反应。

免疫组织化学 (IHC) 实验指南

- TMEM119 是**大脑**小胶质细胞标志物, 在发育中的睾丸精母细胞和精子中表达, 在胚胎发育的早期和晚期成骨细胞中高度表达 (PubMed: 20025746), 随着年龄的增加大脑中 TMEM119 的表达会减少 (PubMed:31853425)。在脑、心、肺、脾、骨骼肌、卵巢、睾丸和附睾有表达 (PubMed:26207632); 主要在成骨细胞中表达, 并被甲状旁腺激素 (PTH) 快速诱导表达 (PubMed:20025746, 21239498)。TMEM119 主要定位于细胞膜、细胞质和内质网膜, 并可分泌到胞外。
- 虽然在**视网膜**中 TMEM119 有表达, 但 TMEM119 免疫反应性的特异性和敏感性取决于**小鼠年龄和视网膜小胶质细胞的位置**。视网膜小胶质细胞对 TMEM119 表现出可变的免疫反应性, 并且小胶质细胞不是唯一表达 TMEM119 的细胞, 如穆勒细胞也可检测到信号; 在病理情况下, TMEM119 可能**不能作为视网膜小胶质细胞的特异标志物** (PubMed:31853425)。
- 对于石蜡包埋的免疫组织化学 (IHC-P), 信号弱或无信号时, 可通过使用偶联 HRP Polymer 的二抗, 例如 ab214880, 来放大信号。具体 IHC-P 染色结果和实验信息见图 1A。
- 对于冷冻切片的免疫组织荧光 (IHC-Fr), 建议在封闭和抗体孵育步骤中使用高浓度的通透剂 (如封闭剂为含 10% 山羊血清 +0.2% Triton X-100+0.3M 甘氨酸 +1%BSA 的 PBS, 一抗稀释液为含 0.1% Tween-20+1%BSA 的 PBS), 这可能会增加 TMEM119 染色阳性的小胶质细胞的比例。具体 IHC-Fr 染色结果和实验信息见图 1B。

图 1. IHC-P 和 IHC-Fr 实验使用 ab209064 检测小鼠小脑组织中小胶质细胞标志物 TMEM119 的结果示意图

示意图	实验条件建议
<p>A</p> 	<p>A 图为 IHC-P 实验</p> <p>一抗: 稀释比为 1/2000, 4°C 孵育过夜。</p> <p>二抗: 山羊抗兔 IgG H&L (HRP polymer) (ab214880), 室温孵育 30 分钟。</p> <p>抗原修复: ab93684 (Tris/EDTA buffer, pH 9.0) 抗原修复液 (若为手工 IHC-P 实验, 建议使用高压热抗原修复, 110°C 修复 15-30 分钟)。</p>
<p>B</p> 	<p>B 图为 IHC-Fr 实验</p> <p>一抗: 稀释比为 1/1000, 4°C 孵育过夜。</p> <p>二抗: 山羊抗兔 IgG H&L (Alexa Fluor® 488) 预吸附二抗 (ab150081), 避光室温孵育 30 分钟。</p> <p>抗原修复: ab93684 (Tris/EDTA buffer, pH 9.0), (若为手工 IHC-Fr 实验, 建议使用高压热抗原修复, 110°C 修复 15-30 分钟)。</p> <p>封闭液: 含 10% 山羊血清 +0.2% Triton X-100+0.3M 甘氨酸 +1%BSA 的 PBS。</p> <p>一抗抗体稀释液: 使用 0.1% Tween-20+1%BSA 的 PBS。</p>

免疫组织化学 (IHC) 实验疑难解答

常见问题	原因及优化方案
无信号	<p>过度固定。样本固定时间取决于组织块大小与组织类型,但对于大多数样本,例如使用4%PFA固定,室温固定18-24小时较为合适。</p> <p>抗原修复不成功。醛类固定的组织样本,我们建议使用高压锅进行热诱导抗原修复,可以尝试110°C修复切片15分钟。</p> <p>对于IHC-Fr,切片较厚时,建议在封闭和抗体孵育步骤中使用高浓度的Triton X-100处理切片,可参考图1B实验信息。</p> <p>二抗的选择。对于IHC-P,推荐使用偶联HRP Polymer的二抗进行实验以获得更强的实验信号,可参考图1A实验信息。。</p>
高背景	<p>对于IHC-P,如后续使用HRP结合物进行检测,请使用3%过氧化氢处理切片10分钟以封闭内源性过氧化物酶。</p> <p>如使用荧光基团偶联的二抗进行实验,推荐使用封闭液为10% 二抗宿主来源的正常血清+1%BSA+0.3M (22.52 mg/mL) 甘氨酸,室温封闭1-2h,以淬灭醛基引起的自发荧光。</p>
非特异性染色	<p>建议用二抗宿主种属来源的非免疫正常血清,如山羊血清封闭非特异抗原表位,调整抗体稀释度或孵育时间以获得最佳染色效果。</p>

更多疑难解答详见
www.abcam.cn或微信
扫描下方二维码

