



Cat. No. SGE-C-452

Anti Collagen IV α 5(IV) Chain, Human (Mono)

Clone: H52

This product can be used for immunostaining of cryostat sections and for western blotting

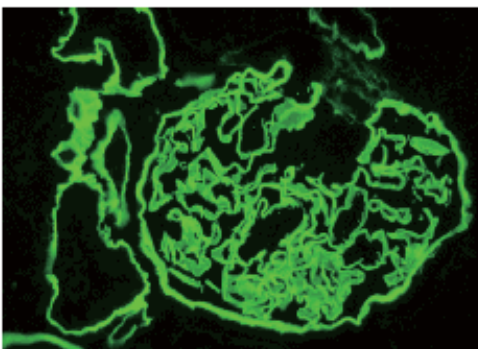
How to stain human cryostat sections with C-452 (H52)

Materials

1. Acid solution : KCl-HCl buffer, pH 1.5, Ion strength=0.1 (Mix equal volumes of 0.1 M KCl and 0.1 M HCl.)
2. Blocking solution: 10% goat serum (normal goat serum diluted with PBS)
3. First antibody: H52 monoclonal Ab is usually diluted to 1/10 - 1/100 with PBS containing 1 mg/ml of bovine serum albumin before use.
4. Secondary Ab: Affinity purified Ab to rat IgG (Cappel #55760) is usually diluted to 1/50- 1/100 with PBS containing 5% human normal serum before use.

Procedure

1. Cryostat sections: 4 mm
2. Treatment with acetone for 10 min
3. Acid-solution treatment with 0.1 M KCl- HCl (pH1.5) for 10 min
4. Washing with PBS
5. Blocking with 10% normal goat serum for 10 min
6. Washing
7. First Ab for 60 min
8. Washing
9. Secondary Ab for 30 min
10. Washing
11. Mount with Perma Fluor (Tanner #11611)



Human cryostat section stained with monoclonal antibody H52. Glomerular basement membrane (BM), part of tubular BM, and Bowman's capsular BM are stained.

Anti Collagen IV $\alpha 5(\text{IV})$ Chain, Human (Mono)

Clone: H52

- Quantity : 500 μl
- Appearance: Solution. The hybridoma cell products was diluted with culture medium containing 10 % fetal bovine serum and 0.1% NaN_3 .
- Clone name : H52 (rat IgG2b/kappa)
- Specificity of antibody :
- H52 is specific to NC1 domain of $\alpha 5(\text{IV})$ (Reference 1). Reactive with NC1 domain of $\alpha 5(\text{IV})$ of rat, rabbit, guinea pig, dog, and bovine.
- Preparation of antibody :
- Monoclonal antibodies were prepared by the rat lymph node method developed by Shigei Medical Research Institute with a synthetic peptide of type IV collagen as an immunogen
- use : Staining of human cryostat sections by indirect immunofluorescence (Acid treatment is necessary.); Western blotting (dilution x10)
- Storage : Store under -20°C , be stable for 2 years under this condition.
- Reference : 1) Sado et al. (1995) Establishment by the rat lymph node method of epitope-defined monoclonal antibodies recognizing the six different α chains of human type IV collagen. Histochem. Cell Biol. 104: 267-275.
- Producer : Shigei Medical Research Institute

Manufacturer



医療法人 創和会

Shigei Medical Research Institute



COSMO BIO CO., LTD.

TOYO EKIMAE BLDG. 2-20, TOYO 2-CHOME,
KOTO-KU. TOKYO 135-0016, JAPAN
TEL : (81)3-5632-9617
FAX : (81)3-5632-9618
e-mail : export@cosmobio.co.jp
URL : www.cosmobio.com





抗ヒト IV 型コラーゲン $\alpha 5$ 鎖抗体 (モノクローナル抗体)
Anti Collagen IV $\alpha 5$ (IV) Chain, Human (Mono)
Clone: H52

ヒト IV 型コラーゲン $\alpha 5$ 鎖に対するラットモノクローナル抗体。
凍結切片染色、ウエスタンブロットに使用可能。

【例 1】 凍結切片を用いた間接蛍光抗体法

材料

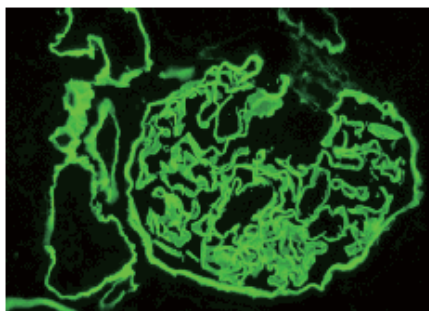
1. 酸性処理液 : KCl-HCl buffer, pH 1.5, Ion strength=0.1 (0.1 M KCl と 0.1 M HCl を等量混ぜる。)
2. ブロッキング液 : 10% ヤギ血清 (正常ヤギ血清を PBS で 10 倍に希釈)
3. 一次抗体 : H52 抗体 (C-542) を 10 から 100 倍に使用直前に希釈。
牛血清アルブミンを 1mg/ml で含む P B S で希釈する。
4. 二次抗体 : 蛍光ラベル抗ラット IgG 抗体。
5% ヒト正常血清を含む PBS で使用直前に 50 から 100 倍に希釈する。

方法

1. 凍結切片 : 4 mm
2. アセトン処理 : 10 分間
3. 酸性処理 : 10 分間
4. P B S 洗浄
5. ブロッキング : 10 分間
6. P B S 洗浄
7. 一次抗体反応 : 60 分間
8. P B S 洗浄
9. 二次抗体染色 : 30 分間
10. P B S 洗浄
11. Perma Fluor (Tanner #11611) を用いて封入

【例 2】 ウエスタンブロット法

IV 型コラーゲン NC1 画分を SDS 電気泳動後、イムノブロットメンブレンに転写し、ブロッキング処理を行う。ブロッキング処理に用いた試薬 (B S A, スキムミルク等) を含むトリス-塩酸緩衝液で本試薬を 10 倍に希釈して 37°C、1 時間振とうしながらメンブレンと反応させる。酵素標識した抗ラット I g G 抗体を反応後、化学発光等で検出する。



C-452 (H52) で染色したヒト腎臓凍結切片
糸球体基底膜、一部の尿管基底膜、
ボウマン嚢基底膜が染色される。



コスモ・バイオ株式会社
COSMO BIO Co., LTD.



一般研究用

MONOCLONAL ANTIBODIES PRODUCED BY THE RAT
LYMPH NODE METHOD

メーカー略号 : SGE

青柳抗ヒト IV 型コラーゲン $\alpha 5$ 鎖抗体 (モノクローナル抗体) Clone: H52

- 包装 : 500 μ l
- 性状 : 本試薬は、ハイブリドーマを高密度で培養した培養上清を血清 GIT 培地 (10%牛血清を含む) で希釈したもの。
保存のため 0.1%の NaN₃ を添加。
- クローン名 : H52 (ラット IgG2b/kappa)
- 特異性 : ヒト IV 型コラーゲン $\alpha 5$ 鎖の NC1 と特異的に反応。
ヒト IV 型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖、 $\alpha 2$ 鎖、 $\alpha 3$ 鎖、 $\alpha 4$ 鎖、 $\alpha 6$ 鎖とは反応しない。
エピトープはアミノ酸配列で SKPQSETL。
ラット、ウサギ、モルモット、イヌ、ウシとも反応。マウスとは反応しない。
- 免疫原 : ヒト IV 型コラーゲン $\alpha 5$ 鎖 NC1 の C 末端付近の合成ペプチドを使用。
- 用途 : 凍結切片の間接蛍光抗体染色 (酸性処理が必要。)
- 保存 : -20°C 以下で凍結保存 (2年間保存可能)
頻繁な凍結融解は抗体価の低下を引き起こすことがある。
- 文献 : 1) Sado et al. (1995) Establishment by the rat lymph node method of epitope-defined monoclonal antibodies recognizing the six different α chains of human type IV collagen. Histochem. Cell Biol. 104: 267-275.
- 製造元 : 重井医学研究所 〒701-0202 岡山市南区山田 2117



本品は、研究目的にのみご使用ください。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないでください。
本マニュアルをご精読のうえ、研究目的にのみご使用ください。



コスモ・バイオ株式会社
COSMO BIO Co., LTD.

〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル
URL : <http://www.cosmobio.co.jp/>

● 営業部 (お問い合わせ)
TEL : (03) 5632-9610 FAX : (03) 5632-9619
TEL : (03) 5632-9620