



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301 或 800-8283301
 订货 e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

BeyoIHC™ CD146 Rabbit Monoclonal Antibody

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|--------|-------------------------------------------|------|
| AG8184 | BeyoIHC™ CD146 Rabbit Monoclonal Antibody | 50µl |

产品简介:

| 来源 | 用途 | 交叉反应性 | 理论分子量 | 实际分子量 |
|--------|-----|-------|-------|-------|
| Rabbit | IHC | Human | 72kDa | - |

IHC-P, Immunohistochemistry-paraffin; IHC-Fr, Immunohistochemistry-frozen; IF, Immunofluorescence; ICC, Immunocytochemistry; WB, Western blot; FC, Flow Cytometry.

- 建议抗体使用时的稀释比例如下(实际使用时需根据抗原水平的高低作适当调整):

| IHC-P | IHC-Fr | IF/ICC | WB | FC |
|-------------|----------------------|--------|-----|-----|
| 1:100-1:200 | N/D (not determined) | N/D | N/D | N/D |

- BeyoIHC™系列抗体是经过测试适用于免疫组织化学(Immunohistochemistry, IHC)的高品质抗体, 也称病理抗体, 很大一部分为重组兔单克隆抗体(Recombinant Rabbit Monoclonal Antibody), 通过先进的兔单克隆抗体技术平台研发并生产, 无需获取动物的脾脏, 仅需分离抗原特异性B细胞并通过基因工程方法克隆抗体基因, 然后在哺乳动物细胞中重组表达并最终纯化获得[1-2]。
- **BeyoIHC™抗体灵敏度更高, 背景更低, 染色更清晰, 定位更精准。** BeyoIHC™系列抗体通过反复的筛选和测试, 确保灵敏度高、背景低、染色效果好[3]。
- **BeyoIHC™抗体特异性更强, 染色结果更为准确。** BeyoIHC™系列抗体大部分都是精心筛选的高效价单克隆抗体, 是由单个B细胞淋巴瘤表达, 只针对一个抗原表位发生特定的免疫反应, 应用于免疫组化时特异性更强, 染色结果更为准确[3]。
- **BeyoIHC™抗体一致性更好, 批次间差异更小, 结果重复性更好。** BeyoIHC™系列抗体很大一部分是重组抗体, 具有确定的抗体序列, 使用不含任何动物源性物质培养液的哺乳细胞表达体系, 生产的可重复性、一致性高, 批次间差异小, 可避免杂交瘤细胞制备过程中的基因丢失、基因突变和细胞株漂移等问题, 所制备的重组抗体的重复性更好[3]。
- BeyoIHC™系列抗体主要用于福尔马林固定石蜡包埋(Formalin fixed paraffin embedded, FFPE)样品的免疫组织化学染色(Immunohistochemistry-paraffin or Immunohistochemistry paraffin-embedded, IHC-P)。对于冰冻切片免疫组织化学(Immunohistochemistry frozen sections, IHC-Fr)、细胞免疫荧光(Immunofluorescence, IF)或免疫细胞化学(Immunocytochemistry, ICC)未经测试(Not determined)。同时, BeyoIHC™系列抗体可识别人的相应蛋白, 对于小鼠等其它种属很大一部分未经测试。对于未经测试的应用及种属样品, 理论上有可能可以检测的, 但须用户自行测试。
- BeyoIHC™系列抗体配套提供了免疫染色一抗稀释液, 可以用于IHC检测或其它适当用途时的一抗稀释。为进一步提高信噪比, 推荐使用QuickBlock™免疫染色一抗稀释液(P0262)、SignalUp™免疫染色一抗稀释液(P0277)用于IHC检测。

- 抗体详细信息如下:

| About this Antibody | |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Name | BeyoIHC™ CD146 Rabbit Monoclonal Antibody |
| Category | Recombinant Rabbit Monoclonal Antibody (mAb); Primary antibody; IHC抗体 |
| Isotype | IgG |
| Clone number | BA1124 |
| Purification method | Protein A affinity purification |
| Positive samples | - |
| Cellular location | Membrane |
| Customer validation | - |
| Epitope retrieval | Heat induced epitope retrieval with Tris-EDTA buffer (pH 9.0). |
| About the Immunogen | |
| Immunogen | Full length rprotein (purified) corresponding to Human Human CD146. |
| Sequence | - |
| Gene ID | 4162 |

| | |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Swiss Prot | P43121 |
| Synonyms | CD146; HEMCAM; METCAM; MUC18; MelCAM; MCAM |
| Category | Stem Cell & Lineage Markers; Notch Signaling |
| Background | Melanoma cell adhesion molecule (MCAM, MUC18, CD146) is an immunoglobulin superfamily member originally described as a cell surface adhesion protein and marker of the progression and metastasis of melanoma. Expression of MCAM protein is seen in vascular endothelial cells, activated T lymphocytes, smooth muscle, and bone marrow stromal cells. Research studies demonstrate increased MCAM expression in endothelial cells from angiogenesis-related disorders, including inflammatory bowel disease, Crohn's disease, rheumatoid arthritis, tumors, and chronic renal failure. MCAM-expressing human mesenchymal stromal cells (hMSC) in the hematopoietic microenvironment are responsible for maintaining the self-renewal of hematopoietic stem and progenitor cells (HSPC) through direct contact between hMSC and HSPC. Related studies suggest that activation of the Notch signaling pathway may also, in part, play a role in HSPC maintenance. Additional research indicates that MCAM may play a role in multiple sclerosis, an autoimmune inflammatory disease that affects central nervous system neurons. Endothelial MCAM within the blood-brain barrier act as adhesion receptors that permit lymphocytes to transigrate across the barrier and produce the inflammatory lesions that characterize the disorder. |

包装清单:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|--------|-------------------------------------------|------|
| AG8184 | BeyoIHC™ CD146 Rabbit Monoclonal Antibody | 50μl |
| AZ060 | 免疫染色一抗稀释液 | 10ml |
| — | 说明书 | 1份 |

保存条件:

-20°C保存，一年有效。免疫染色一抗稀释液也可以4°C保存，长期不使用推荐-20°C保存，但冻融可能会导致出现轻微的浑浊和少量不溶物。

注意事项:

- 如果本抗体用于免疫组化(IHC)等实验，请注意回收使用过的稀释抗体。回收的抗体通常可以重复使用1-5次。稀释后的抗体，包括已经使用过的稀释抗体，请4°C保存。
- 回收后重复使用的抗体，使用方法同新鲜稀释的抗体。如果在重复使用过程中发现抗体出现轻微混浊现象，可以10,000×g离心1-3分钟，取上清用于后续检测。如果回收的抗体出现明显的絮状物或长霉长菌等情况，则可以考虑废弃该抗体。
- 提供的免疫染色一抗稀释液也可以用于Western blot (WB)等适当用途。如果希望获得最佳的检测效果，推荐使用Western一抗稀释液(P0023)。
- 抗原修复过程中应防止缓冲液过度蒸发，切勿干片。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

请根据抗体的实际用途选择相应的使用方法。相关步骤仅供参考，实际可尝试使用实验室习惯方法或根据实验目的进行条件的优化。

1. 免疫染色:

a. 石蜡切片样品的准备(Sample preparation)

- (a) 脱蜡: 将切片放入二甲苯中脱蜡5分钟，更换成新鲜的二甲苯再脱蜡5分钟，无水乙醇5分钟，更换成新鲜无水乙醇5分钟，95%乙醇5分钟，80%乙醇1分钟，70%乙醇1分钟，蒸馏水洗1-5分钟。
- (b) 抗原修复: 一般使用加热抗原修复(Heat-induced epitope retrieval, HIER)的方法进行抗原修复。根据不同的抗原和抗体，可以选择抗体详细信息表格中建议的抗原修复液，或碧云天Tris-EDTA抗原修复液(50X, pH9.0) (P0084)、EDTA抗原修复液(50X) (P0085)、柠檬酸钠抗原修复液(50X) (P0081)及其它抗原修复液(P0083/P0086/P0088)中。直接取适量抗原修复液于适当容器(例如染色缸等)中，抗原修复液以没过切片为宜，加热至沸腾后将放有切片的染色架浸入修复液中，持续加热15分钟后关火。或者在微波炉内进行抗原修复，抗原修复液以没过切片为宜，中火10分钟至沸腾，停火10分钟保温再转中低火7分钟。自然冷却至室温后，取出切片置于免疫染色洗涤液(P0106)或PBS (C0221A)中洗涤3次，每次5分钟。切片稍甩干后用免疫组化笔在组织周围画圈。

b. 封闭(Blocking)

首先加入内源性过氧化物酶封闭液(P0100A)，室温封闭5-10分钟后，吸尽内源性过氧化物酶封闭液，蒸馏水冲洗，PBS清洗5分钟，共清洗两次。加入免疫染色封闭液(P0102)或QuickBlock™免疫染色封闭液(P0260)，室温封闭30分钟。如果背景较高，可以4°C封闭过夜。

注1: 从封闭开始所有的步骤, 一定要注意样品的保湿, 避免样品的干燥, 否则极易产生较高的背景。

注2: 在整个免疫染色过程中推荐使用碧云天的BeyoShaker™数字式翘板摇床(E6673), 侧向摆动速度比较缓慢, 而且也容易让溶液覆盖样品。如果样品比较容易脱落, 也可以把所有的步骤放置在桌面上静止进行, 即封闭、抗体孵育、洗涤等步骤均不需摇动, 但静止操作时宜适当延长作用时间或次数。

c. 一抗孵育(Primary antibody incubation)

- (a) 参考一抗的说明书, 按照适当比例用提供的免疫染色一抗稀释液或QuickBlock™免疫染色一抗稀释液(P0262)稀释一抗。
- (b) 用微型台式真空泵(E0110/E0113)等吸尽封闭液, 立即加入稀释好的一抗, 室温在摇床上缓慢摇动孵育0.5-1小时, 如果一抗孵育1小时效果不佳可4°C孵育过夜。
- (c) 回收一抗。加入免疫染色洗涤液, 在摇床上缓慢摇动洗涤5分钟。吸尽洗涤液后, 再加入洗涤液, 洗涤5分钟。共洗涤3次。如果结果背景较高可以适当延长洗涤时间并增加洗涤次数。

d. 二抗孵育(Secondary antibody incubation)

- (a) 参考二抗的说明书, 用免疫染色(非荧光)二抗稀释液(P0110)或QuickBlock™免疫组化染色二抗稀释液(P0267)稀释辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗, 如辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(H+L) (A0208), 辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠IgG(H+L) (A0216)等。也可根据具体实验情况使用生物素(Biotin)或碱性磷酸酯酶(AP)标记的二抗, 以上二抗可向碧云天订购。
- (b) 吸尽洗涤液, 立即加入稀释好的二抗, 室温避光孵育0.5-1小时, 若短时间二抗孵育效果不佳, 可适当延长二抗孵育时间。
- (c) 回收二抗。加入免疫染色洗涤液, 在摇床上缓慢摇动洗涤5分钟。吸尽洗涤液后, 再加入洗涤液, 洗涤5分钟。共洗涤3次。如果结果背景较高, 可以适当延长洗涤时间并增加洗涤次数。

e. 蛋白检测(Detection of proteins)

使用DAB法显色, 如DAB辣根过氧化物酶显色试剂盒(P0202/P0203), 按照说明配制DAB染色工作液, 加入适量DAB染色液, 确保能够充分覆盖样品样本, 避光室温显色3-30分钟, 根据实际情况在显微镜下观察显色状态调整样本染色时间。也可根据具体实验情况选择辣根过氧化物酶标记Streptavidin (A0303/A0305)、碱性磷酸酯酶标记Streptavidin (A0312)、BCIP/NBT碱性磷酸酯酶显色试剂盒(C3206)、SABC-HRP Kit (P0603/P0612/P0614)或SABC-AP Kit (P0606/P0625/P0628)等进行检测。如有需要复染, 可使用苏木素染色液(C0107)孵育3-5分钟, 后续进行分化、冲洗返蓝。

f. 镜检拍照(Microscopic examination and photography)

依次将切片放入95%乙醇浸泡脱水30秒, 更换新鲜95%乙醇浸泡脱水30秒, 无水乙醇浸泡脱水1分钟, 更换新鲜无水乙醇浸泡脱水1分钟, 二甲苯中透明5分钟, 更换新鲜二甲苯透明5分钟, 共透明三次。使用中性树胶封片, 室温风干后, 光学显微镜下拍照。

- 2. 其它实验操作请自行参考适当的protocol进行。
- 3. 本抗体相关应用的代表性图片请参考下图。

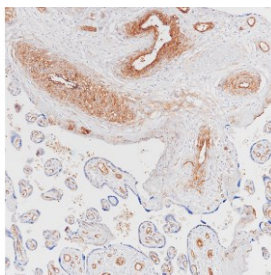


图1. Immunohistochemistry of paraffin-embedded human chordoma using CD146 antibody at dilution of 1:200 (200x lens).

参考文献:

- 1. Weber J, Peng H, Rader C. Exp Mol Med. 2017. 49(3):e305.
- 2. Seeber S, Ros F, Thorey I, Tiefenthaler G, Kaluza K, et al. PLoS One. 2014. 9(2):e86184.
- 3. Zhang Z, Liu H, Guan Q, Wang L, Yuan H. Front Immunol. 2017. 8:494.

相关产品:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|-------|------------------------|-------|
| A0208 | 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(H+L) | 1ml |
| A0216 | 辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠IgG(H+L) | 1ml |
| A0239 | 碱性磷酸酯酶标记山羊抗兔IgG(H+L) | 0.5ml |
| A0258 | 碱性磷酸酯酶标记山羊抗小鼠IgG(H+L) | 0.5ml |
| A0277 | 生物素标记山羊抗兔IgG(H+L) | 1ml |

| | | |
|--------|---------------------------------------------|-----------|
| A0279 | 生物素高效标记山羊抗兔IgG(H+L) | 0.5ml |
| A0286 | 生物素标记山羊抗小鼠IgG(H+L) | 1ml |
| A0288 | 生物素高效标记山羊抗小鼠IgG(H+L) | 0.5ml |
| A0305 | 辣根过氧化物酶标记Streptavidin | 0.2/1/5ml |
| A0308 | Biotin标记辣根过氧化物酶 | 0.2ml |
| A0312 | 碱性磷酸酯酶标记Streptavidin | 0.2ml |
| C3206 | BCIP/NBT碱性磷酸酯酶显色试剂盒 | 共100ml |
| P0081 | 柠檬酸钠抗原修复液(50X) | 100ml |
| P0083 | 改进型柠檬酸钠抗原修复液(50X) | 100ml |
| P0084 | Tris-EDTA抗原修复液(50X, pH9.0) | 100ml |
| P0085 | EDTA抗原修复液(50X) | 100ml |
| P0086 | 柠檬酸钠-EDTA抗原修复液(40X) | 125ml |
| P0088 | 通用型强力抗原修复液(10X) | 100ml |
| P0096 | 免疫染色通透液(Triton X-100) | 100/500ml |
| P0098 | 免疫染色固定液 | 100/500ml |
| P0099 | 4%多聚甲醛固定液 | 100/500ml |
| P0100A | 内源性过氧化物酶封闭液 | 100ml |
| P0100B | 内源性过氧化物酶强力封闭液 | 100ml |
| P0100C | 内源性碱性磷酸酶封闭液(20X) | 6ml |
| P0101 | 生物素检测封闭试剂盒 | 200次 |
| P0102 | 免疫染色封闭液 | 100ml |
| P0103 | 免疫染色一抗稀释液 | 100ml |
| P0106 | 免疫染色洗涤液 | 250ml |
| P0202 | DAB辣根过氧化物酶显色试剂盒 | 共20ml |
| P0260 | QuickBlock™免疫染色封闭液 | 100ml |
| P0262 | QuickBlock™免疫染色一抗稀释液 | 100ml |
| P0267 | QuickBlock™免疫组化染色二抗稀释液 | 100ml |
| P0276 | SignalUp™免疫染色检测增敏剂 | 100/500ml |
| P0277 | SignalUp™免疫染色一抗稀释液 | 100/500ml |
| P0278 | SignalUp™免疫染色二抗稀释液 | 100/500ml |
| P0603 | SABC-HRP Kit (IHC, ICC, Blotting & ELISA) | 1000次 |
| P0606 | SABC-AP Kit (IHC, ICC, Blotting&ELISA) | 1000次 |
| P0612 | SABC-HRP Kit with Anti-Mouse IgG (IHC&ICC) | 500次 |
| P0615 | SABC-HRP Kit with Anti-Rabbit IgG (IHC&ICC) | 500次 |
| P0625 | SABC-AP Kit with Anti-Mouse IgG (IHC&ICC) | 500次 |
| P0628 | SABC-AP Kit with Anti-Rabbit IgG (IHC&ICC) | 500次 |
| FPP06B | Liquid Blocker Super PAP Pen (免疫组化笔, 蓝色) | 1个/袋 |
| FPP06R | Liquid Blocker Super PAP Pen (免疫组化笔, 红色) | 1个/袋 |

Version 2022.12.13