# Anti-Human Platelet GMP-140 (CD62), Monoclonal (Clone PL7-6)

Code No. M063 Size: 0.1 mg Mouse Ig
Subclass: IgG1

\* 2 years from date of receipt under proper storage conditions.

#### Source:

Monoclonal antibody was obtained by fusing the mouse myeloma cell-line P3-X63-Ag8-U1 with spleen cells of BALB/c mouse after immunization with human platelet. The monoclonal antibody was harvested from ascitic fluid.

#### **Purification:**

Antibody was purified by column chromatography, dissolved in 10 mM PBS, pH 7.4, containing 1.0% bovine serum albumin, and then lyophilized. The lyophilized antibody does not contain preservative.

Form: Lyophilized

# Reconstitution:

Dissolve the lyophilized antibody in 50  $\mu$ l of distilled water (final concentration: 2.0 mg/ml). This solution can be used as a stock solution. If dilution is necessary for your application, dilute the stock solution with the following Dilution solution just prior to use. When the entire amount of antibody is to be used over a short time period, it may be dissolved directly in 500  $\mu$ l or more of the Dilution solution.

Note (1): Be sure to store the antibody at a minimum concentration of 2.0 mg/ml. A lower antibody concentration may result in decreased stability.

Note (2): Reconstituted antibody solution should contain 0.1% sodium azide as a preservative when stored at 4°C.

Dilution solution: 10 mM PBS (pH 7.4)

1.0% BSA (0.1% NaN<sub>3</sub>) \*

\*: When stored at  $4^{\circ}$ C, 0.1% sodium azide should be added as a preservative.

# Specificity:

- This antibody reacts with human activated platelet. It does not react with resting platelet (flowcytometry method).<sup>1)</sup>
- $\cdot$  This antibody reacts with human GMP-140 (P-selectin) (Western blot analysis).  $^{1)}$
- $\boldsymbol{\cdot} \ This \, antibody \, does \, not \, affect \, platelet \, aggregation \, and \, platelet \, adhersion.$
- This PL7-6 (product) and WGA-1 (Cat. #M062) each recognize different epitopes on the molecule of GMP-140.

# Cross reactivity:

This product does not react with rabbit, rat, porcine and dog activated platelet.

# Storage: 4°C

This product does not contain preservative.

The stock solution (2.0 mg/ml) should be stored in aliquots at  $-20^{\circ}$ C for 1 year, or should be stored at  $4^{\circ}$ C for 6 months after adding 0.1% sodium azide. Avoid repeated freeze-thaw cycles. Diluted antibody should not be stored.

## Working concentration:

- 1  $\mu$  g/ml (For flowcytometric analysis)
- 5 10  $\mu$  g/ml (For Western blotting by color detection)
- 5 10  $\mu$  g/ml (For immunohistochemical staining by color detection)

# Application:

- · Detection of GMP-140 on the surface of activated platelets1)
- Detection of GMP-140 by Western blot analysis under non-reducing and non-heating condition (cannot be used under reducing condition.)<sup>1)</sup>
- · Immunohistochemical detection on frozen tissue sections
- · Other applications: flow cytometry, immunoprecipitation

#### Additional information:

Sandwich immunoassay is possible by combination of PL7-6 and WGA-1 clones. However, this product is not suitable for ELISA assay, because it contains BSA.

#### References:

Katayama M, Handa M, Ambo H, Araki Y, Hirai S, Kato I, Kawai Y, Watanabe H, and Ikeda Y. *J Immunol Methods*. (1992) **153**: 41-48.

#### Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from Takara Bio Inc.

If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 565 6973 or from our website at www.takara-bio.com. Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements.

All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

v201902Da

# Anti-Human Platelet GMP-140 (CD62), Monoclonal (Clone PL7-6)

Code No. M063 Size: 0.1 mg Mouse Ig

Subclass: IgG1

※ 適切に保存し、受取り後2年を目途にご使用ください。

## ●由来

ヒト血小板感作 BALB/c マウス脾臓細胞とマウス骨髄腫細胞 P3-X63-Ag8-U1 を融合して得たハイブリドーマを、BALB/c マウスの腹腔内で増殖させて得られた腹水。

#### ●製法

カラムクロマトグラフィーによりイムノグロブリン (IgG) として精製後、1.0% ウシ血清アルブミンを含む 10 mM PBS (pH7.4) に溶解して凍結乾燥。防腐剤を含みません。

●形状 凍結乾燥品

#### ●抗体の復元

50 μl の純水で溶解する (2.0 mg/ml となる)。

これをストック溶液とし、使用時に希釈が必要な場合は下記の希釈液を用いる。全量を使い切る場合は、500 μl 以上の希釈液で直接溶解することもできる。

- (注1)抗体濃度が低いと保存安定性が下がる可能性があるため、保存は必ず上記のストック溶液(2.0 mg/ml)で行ってください。
- (注 2) 復元した抗体溶液を 4℃で保存する場合は、防腐剤として 0.1% アジ化ナトリウムを添加してください。

● 希釈液

10 mM PBS (pH7.4) 1.0% ウシ血清アルブミン (0.1% アジ化ナトリウム)\*

\*:4℃で保存する場合は防腐剤として加えてください。

# ● 特異性

- ・ヒト活性化血小板に反応し、静止血小板には反応しない(フローサイト メトリー法)<sup>3,1)</sup>
- ・ヒト GMP-140 (P-selectin)<sup>2)</sup> に反応する (ウェスタンブロット法)。<sup>1)</sup>
- ・血小板機能に影響を与えない。
- ・PL7-6 (本製品) および WGA-1 (製品コード M062) は GMP-140 分子上 の異なるエピトープを認識する。
- **交差反応** ウサギ、ラット、ブタ、イヌの活性化血小板と反応しない。

## ●保存 4℃

本製品は防腐剤を含んでいません。復元後のストック溶液 (2.0 mg/ml) は必要に応じて分注しー 20℃保存で 1 年、もしくは防腐剤 (0.1% アジ化ナトリウム等) を加えて 4℃保存で 6 ヵ月を目途にで使用ください。凍結融解の繰り返しは避けてください。また、希釈後の保存はなるべく避けてください。

#### ● 使用抗体濃度

- ・フローサイトメトリー:1  $\mu$ g/ml
- ・ウェスタンブロッティング:5~10 μg/ml (発色法)
- ・免疫組織染色:5~10 μg/ml (発色法)

#### ●用途

- ・活性化血小板表面の GMP-140 の検出<sup>1)</sup>
- ・非還元、非加熱条件下でのウェスタンブロット法による GMP-140 の 検出<sup>1)</sup> (還元条件下では使用できない。)
- ・保存血小板の品質管理への応用3)
- ・免疫沈降による GMP-140 の検出
- 凍結切片の免疫組織染色

#### ●参考

PL7-6 と WGA-1 (製品コード M062) との組み合わせでサンドイッチイム ノアッセイが可能。ただし、本製品は BSA を含んでいるため、ELISA アッセイには使用できない。

# ●参考文献

- 1) Katayama M, Handa M, Ambo H, Araki Y, Hirai S, Kato I, Kawai Y, Watanabe H, and Ikeda Y. *J Immunol Methods.* (1992) **153**: 41-48.
- 2) 半田誠、池田康夫 臨床検査 (1992) 36:373-378.
- 3) 半田誠、片山政彦、池田康夫 日本臨床 (1992) 50: 150-155.
- 4) 荒木葉子、安保 浩伸、川野 晃一、鎌田 徹治、半田 誠、池田 康夫、山本 美保子、川合 陽子、渡辺 清明、片山 政彦

第3回血栓症セミナー:基礎と臨床報告集(1990)29-36.

### ● 注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。

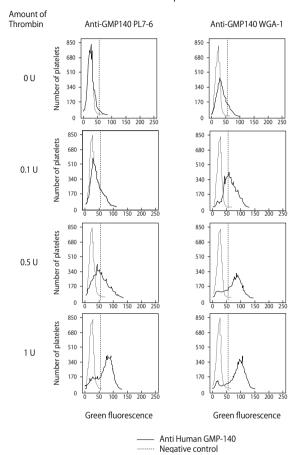
タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための 改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。

ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。 本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の 商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有 者に帰属します。

v201902Da

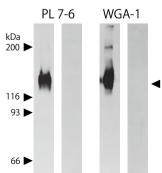
# Anti-Human Platelet GMP-140 (CD62), Monoclonal (Clone PL7-6)

[Application 1] Indirect fluorescent antibody technique and flowcytometry data of activated human platelets with thrombin



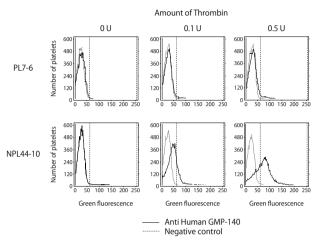
Incubated for 30 minutes at room temperature in the presence of anti-GMP-140 antibody and FITC-labeled secondary antibody. 1 - 2  $\,\mu$  g IgG against 10 $^7$  cells/ml.

[Application 2] Detection of GMP-140 of human platelet by Western blot analysis



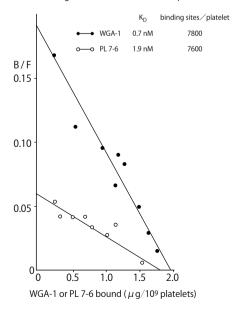
 $\mbox{GMP-}140$  was detected with PL7-6 or WGA-1 only under non-reducing condition.

[Application 3] Detection of GMP-140 appeared on the plasma mambrane of activated rabbit platelet by flowcytometric analysis



Washed platelets were prepared from fresh rabbit blood, and then stimulated by 0 to 0.5 units of thrombin. After fixation in 1% formaldehyde, they were reacted with PL7-6 or NPL44-10 monoclonal antibodies. PL7-6 did not react with GMP-140 on the plasma membrane of rabbit platelets, whereas NPL44-10 cross reacted with thrombin-stimulated platelets. About the same results were obtained by using beagle dog platelets.

[Application 4] Scatchard plot analysis of binding of 125 I-WGA-1 or PL7-6 IgG to thrombin-stimulated platelets



Both WGA-1 and PL7-6 binded to thrombin-stimulated platelets at about 8,000 sites/cell. The binding affinity of WGA-1 is stronger than that of PL7-6.