

FlowCyto™ Rat anti-Mouse CD14 -FITC

货号:

AM0114525	25 µg
AM0114505	50 µg
AM0114510	100 µg
AM0114550	500 µg

【产品介绍】

CD14 是一种分子量为 55 kDa 的 GPI 锚定糖蛋白，在成熟单核细胞、巨噬细胞和中性粒细胞表面持续表达。作为多功能脂多糖受体，CD14 既能以分泌形式也可通过酶切 GPI 锚定形式释放至血清。在急性期血清蛋白——脂多糖结合蛋白 (LBP) 的催化作用下，CD14 可与脂多糖分子结合。可溶性 sCD14 能精准区分脂多糖间的细微结构差异，并通过重组脂蛋白颗粒有效中和血清中外源性脂多糖。

种属反应:	小鼠	偶联物:	FITC
宿主/亚型:	大鼠/IgG2a, kappa	分类:	单抗
浓度	0.5 mg/mL	克隆	Sa2-8
储存条件:	4°C, 避光, 切勿冷冻!		

【应用】

实验应用	建议稀释比
流式 (Flow)	1 µg/test

【流式实验步骤】

1. 制备单细胞悬液。

2. [可选]阻断 Fc 受体介导的非特异性结合:

小鼠细胞: 染色前, 每 100 µL 细胞标本加入 0.5-1 µg 抗小鼠 CD16/CD32 纯化抗体 (# AM1016110), 在 2-25°C 温度下预先孵育细胞 10-20 分钟。

3. 每管或每孔加入 50 µL 细胞悬液(10⁵-10⁸细胞)。

4. 将每种抗体按照推荐使用量混合于流式染色液 (#222057) 中, 使细胞染色液的终体积达到 100 µL(例如, 50 µL 细胞加入 50 µL 抗体混合液), 轻轻涡旋以混合均匀。

注: 纯化裸抗或生物素标记的一抗直接至第 8 步。

A. 荧光直标抗体检测

5. 2-8°C 或冰上避光孵育 20-30 分钟。

6. 加入流式细胞染色液洗涤细胞。每支流式管加入 2 mL, 或微量孔板的每个微孔加入 200 µL。室温 400-600xg 离心 5 分钟。弃上清。

7. 重复第 6 步。

注: 如果所有抗体为荧光直标, 则直接至第 14 步。

B. 纯化或生物素化抗体检测

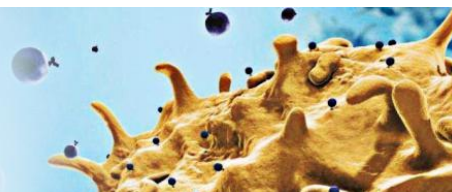
8. 在 2-8°C 或冰上孵育 60 分钟。

9. 加入流式细胞染色液洗涤细胞。每支流式管加入 2 mL, 或微量孔板的每个微孔加入 200 µL。室温 400-600xg 离心 5 分钟, 弃上清。

10. 重复第 9 步。

11. 使用 100 µL 流式细胞染色液稀释适量的荧光二抗, 重悬细胞。2-8°C 或冰上避光孵育 20-30 分钟。

12. 加入流式细胞染色液洗涤细胞。每管加入 2 mL, 或微量孔板的每个微孔加入 200 µL。



13 室温 400-600xg 离心 5 分钟，弃上清。

14. [可选]依照相应的细胞活性染料，如 7-AAD (#225693) 或 FVD 染料，对细胞染色以区分死活细胞。

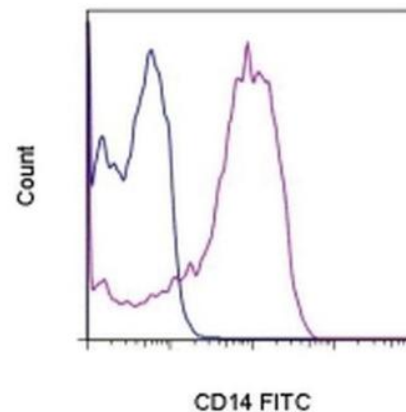
15. [可选]对于分析之前贮藏的样本，可以 100 μ L 流式细胞染色液中重悬细胞，加入 100 μ L IC 固定液或 2 mL 一步法固定/裂解液。

注：细胞可以在 2-8 $^{\circ}$ C 避光保存 12 小时，固定后的细胞可以在 2-8 $^{\circ}$ C 避光保存 3 天。

16. 用适量的流式细胞染色液重悬细胞（如使用 300 μ L 染色液重悬细胞）。

17. 使用流式细胞仪检测分析样本。

【检测数据】



使用 0.5 μ g 大鼠 IgG2a K 同型对照 FITC (蓝色直方图) 与 0.5 μ g 抗小鼠 CD14 FITC (紫色直方图) 对小鼠硫基乙酸盐诱导的腹腔渗出细胞进行染色分析，以存活细胞群体作为检测对象。