# 人 CD14⁺细胞分选试剂盒

ImunoSep™ Human CD14⁺ Cell Positive Selection Kit

**货　　号：** 711402　　10 次
711405　　50 次
711410　　100 次
711420　　200 次

**储　　存：** 2-8°C。避免冷冻。

**有 效 期：** 详见试剂瓶。

**注意事项：** 为保证分选的细胞不被污染，请在生物安全柜中执行所有细胞分选步骤。

## 产品介绍

人 CD14⁺细胞分选试剂盒用于阳性分选正常人外周血单个核细胞中的 CD14⁺细胞**(该试剂盒也可用于去除 CD14⁺细胞)**，其利用生物素化抗体标记 CD14⁺细胞，再用 Anti-Biotin 超顺磁纳米微珠结合被标记的 CD14⁺细胞；当细胞悬液置于磁场中时，被磁珠结合的 CD14⁺细胞滞留在磁场中，CD14⁻细胞悬浮在细胞悬液中游离，从而将人 CD14⁺细胞分选出来。

### 成　分

1. **ImunoSep™ 人 CD14⁺细胞分选试剂 A**：20 μL/次。

2. **ImunoSep™ 人 CD14⁺细胞分选试剂 B**：30 μL/次。

使用剂量：在 100 μL 体系中，分别使用分选试剂 A（20 μL/次）和分选试剂 B（30 μL/次）标记 $1\times10^7$ 细胞。如果细胞数量不足 $1\times10^7$ 细胞，使用试剂量请按照一次分选所使用的试剂量标记细胞，进行细胞分选。

### 相关产品

Anti-Human CD4-FITC (#AH010410, PBM)
Anti-Human CD14-APC (#AH031410, PBM)

## 实验步骤

以下实验方法是用于阳性细胞分选试剂盒分选目的细胞的一般实验步骤。利用分选试剂 A 标记目的细胞，再用分选试剂 B 结合被标记的目的细胞。当细胞悬液置于磁场中时，目的细胞滞留在磁场中，而非目的细胞悬浮在溶液中保持游离，并可通过倾倒去除。

### 需要另外准备的试剂和耗材

1) ImunoSep™ Buffer (500 mL) #604050。
2) 分选磁极 #602005。
3) 流式管（12×75 mm, 5 mL) #352058。
4) 离心管（15 mL)。

### 警　告

分选磁极可产生强磁场。远离心脏起搏器、信用卡、磁性 ID 卡、手表、电脑显示器和硬盘等电子设备，以防止损坏这些仪器设备。

### A. 细胞准备

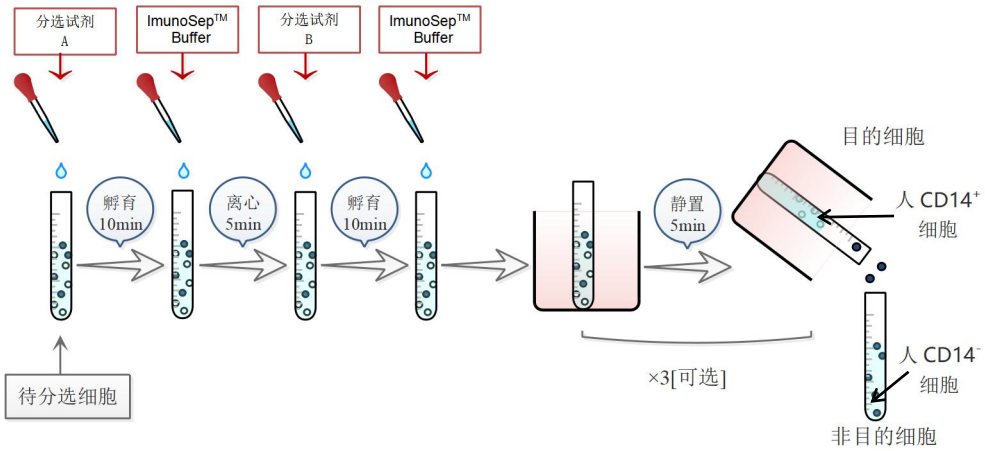
1. 有关正常人外周血单个核细胞的制备，建议彻底清洗单个核细胞，去除血小板，以获得最佳细胞分选效果。
2. 建议使用 ImunoSep™ Buffer（含 EDTA)。



金准生物医药科技（天津）有限公司
电话：022-84356585
网址：http://www.pbmedicals.com
Email：support@pbmedicals.com

**B. 细胞分离**

实验流程：



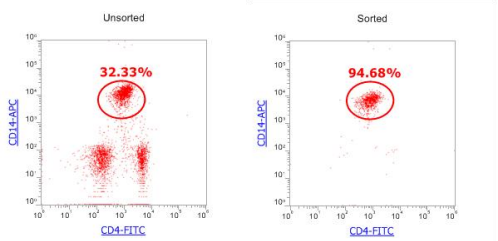

1. 用适当体积的 ImunoSep™ Buffer 重悬细胞，调整细胞浓度至 $1\times10^8$/ mL（每 100 μL 细胞悬液中含 $1\times10^7$ 细胞），制备单细胞悬液。

   **注意：细胞必须是单细胞悬液。如有必要，进行涡旋振荡或用移液管移除团块，然后再继续细胞分选。**
2. 在 12×75 mm，5 mL 流式管中放置所需数量的细胞，但不超过 $2\times10^8$ 细胞。
3. 每 100 μL 细胞悬液添加 20 μL 分选试剂 A。通过涡旋仪混匀或利用 1 mL Tip 吹打 5 次混匀。在室温下孵育 10 分钟。
4. 加入 ImunoSep™ Buffer 至 4 mL，洗涤细胞，然后在室温下以 300×g 离心 5 分钟。
5. 弃去上清液，用 ImunoSep™ Buffer 重悬细胞至其初始体积。
6. 每 100 μL 细胞添加 30 μL 分选试剂 B，利用 1 mL Tip 吹打 5 次或涡旋仪震荡混匀。在室温下孵育 10 分钟。

   **注意：分选试剂 B 在添加到细胞悬液前，必须用 1 mL Tip 混合均匀，以确保最佳性能。**
7. 添加 ImunoSep™ Buffer 至 2.5 mL。用 1 mL Tip 吹打 3 次混合均匀，请勿涡旋混匀。
8. 将盛有细胞悬液的 5 mL 流式管插入磁极中，使流式管底部通过磁极底部孔道，直至接触到工作台面。在室温条件下静置 5 分钟。
9. 保持流式管在磁极中，将磁极和流式管一同拿起，将上清液中未结合的细胞倒入无菌离心管中。流式管倒置时长不可超过 2 秒，随即将其恢复到直立位置。然后进行步骤 10。如果需要去除 CD14⁺细胞，快速将上清液倒入新的 12×75 mm，5 mL 流式管中，然后进行第 12 步。

   **注意：请勿晃动或摇动磁极中倒置的流式管，以免降低分选细胞的纯度。**
10. 从磁极中取出含有结合 CD14⁺细胞的流式管，再重复步骤 7 至 9，共进行 3 次分离。
11. 从磁极中取出含有 CD14⁺细胞的流式管，再向其中加入 1 mL ImunoSep™ Buffer。通过吸取 ImunoSep™ Buffer 来清洗管壁上的 CD14⁺细胞。分选所得的 CD14⁺细胞可供下游实验使用。
12. 如果要去除 CD14⁺细胞，完成步骤 9 之后 CD14⁻细胞就位于新的流式管中。

## 分选细胞流式检测报告




人 CD14⁺细胞分选试剂盒分离正常人外周血单个核细胞中的 CD14⁺细胞后，利用 Anti-Human CD4-FITC 和 Anti-Human CD14-APC 标记细胞，对分选前（左）或分选后（右）的细胞进行流式分析。



金准生物医药科技（天津）有限公司
电话：022-84356585
网址：http://www.pbmedicals.com
Email：support@pbmedicals.com