

Anti-human CD14 Nanobeads

Catalog PH014

For processing 1×10^8 cells (PH014S)
For processing 5×10^8 cells (PH014M)
For processing 1×10^9 cells (PH014L)

#Version 26.01



Immuno-X™

Eynos LifeScience co., Ltd
Make Research Easier

产品简介

人 CD14 是一种分子量约为 55 kDa 的糖基磷脂酰肌醇 (GPI) 锚定糖蛋白，主要高表达于单核细胞和巨噬细胞表面，在中性粒细胞上也有较低水平表达。作为固有免疫中关键的模式识别受体，它能特异性结合革兰氏阴性菌的脂多糖 (LPS)，并与 TLR4 等受体协同形成信号复合物，从而启动免疫应答。该蛋白还可被分泌或酶切形成可溶性 CD14 (sCD14)，存在于血清中，是诊断脓毒症等感染性疾病的重要生物标志物。

本产品采用 anti-human CD14 抗体直接偶联纳米磁珠，可与样本中 CD14 阳性细胞特异性结合。在**有柱分选**的磁场中，CD14+细胞会被吸附在分选柱中，其他细胞随重力流出，从而实现 CD14+细胞分选或者去除。分选得到的细胞可直接应用于流式细胞检测、DNA/RNA 提取及后续细胞功能实验等下游研究。

- 纯度最高可达 97%
- 阳选和去除的高效平衡

试剂盒组分

产品名称	存储条件	缓冲液成分	功能
Anti-human CD14 Nanobeads	4°C 保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	特异性识别并结合 CD14 + 细胞，后续通过有柱磁分选获得高纯度 CD14 + 细胞

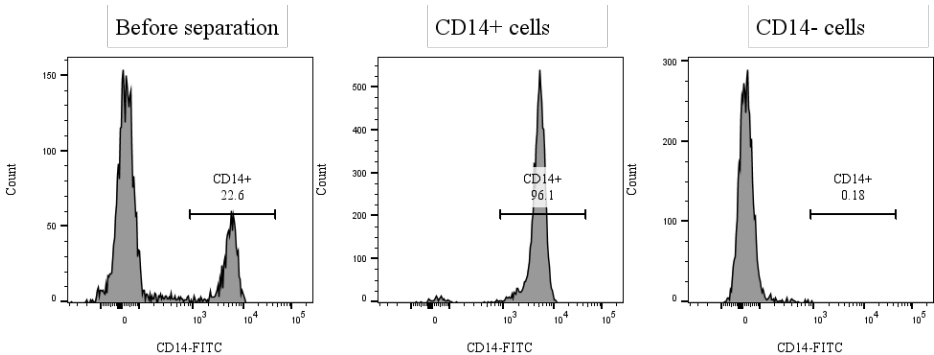
BSA - bovine serum albumin; PBS - phosphate-buffered saline

运输条件：4°C 运输

设备和试剂要求

- 缓冲液：FACS Buffer (1 x PBS+0.02% EDTA+2% FBS)
- 耗材：70 μ m 无菌尼龙滤网；无菌离心管
- 仪器：离心机，磁力架

数据展示



如图：采用 anti-human CD14 nanobeads 产品([#PH014](#))分离 PBMC 中的 CD14⁺ 细胞。分选前后的细胞用 FITC anti-human CD14 抗体（克隆号 63D3）标记后进行流式细胞仪分析。（A）分选前 PBMC 中 CD14⁺细胞比例约为 22.6%。（B）分选后 CD14⁺细胞纯度高达 96.1%。（C）流穿剩余 PBMC 中 CD14⁺细胞比例约为 0.18%。



有柱磁珠分选操作步骤

步骤	操作说明	简易操作方法
1	从外周血通过淋巴细胞分离液密度梯度离心，分离 PBMC 后，需进行细胞计数。 Note: 推荐细胞采用 AO/PI 染色后进行计数；PBMC 可以采用 400 g 离心 5 min	制备样本
2	采用适量 FACS buffer 重悬细胞，制备 PBMC 单细胞悬液至指定浓度。 Note: 如细胞总数为 1×10^7 cells，则细胞重悬至 100 μ L 体积，后续试剂加 10 μ L 即可	1×10^8 cells/mL
3	加入 anti-human CD14 Nanobeads 至样品中，并轻轻混匀 Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀 2-3 下	100 μ L/mL
4	磁珠和细胞在 4°C 孵育 10min	4°C 孵育 10 min
5	加入 5 倍体积 FACS Buffer 到细胞中，400×g 离心 5 分钟后，去除上清	洗涤细胞
6	将细胞重悬于缓冲液中 Note: 若细胞总数小于 1×10^8 ，则采用 500 μ L FACS buffer； 若细胞总数大于 1×10^8 ，需按比例放大缓冲液体积	重悬细胞
7	将分选柱放入对应磁力分选器磁场中，用 FACS Buffer 润洗分选柱 Note: S 分选柱加入 0.5 mL；L 分选柱加入 3 mL	润洗分选柱
8	将细胞悬液加入至分选柱中，非目的细胞（CD14-细胞）随重力流出，CD14+保留在分选柱中 Note: 收集步骤 8-9 的流穿液即可获得 CD14 去除的细胞	上样
9	加入 FACS Buffer 洗涤柱子 3 次 Note: 待柱内液体完全流空后再加下一次；S 分选柱加入 0.5 mL；L 分选柱加入 3 mL	洗涤
10	向柱内加入 FACS Buffer，从磁极上取下分选柱，用配套柱塞快速、用力推压，洗脱磁性标记的阳性细胞 Note: S 分选柱加入 1 mL；L 分选柱加入 5 mL；如需更高纯度，换用新柱重复分选 1 次	收集目的细胞

温馨提示

- 采用 FACS Buffer 而不是 PBS 进行操作，能够提高细胞得率
- 确保 FACS Buffer 渗透压稳定，免疫细胞较为敏感
- 确保每一步无菌操作，谨防污染
- 推荐流式染色抗体克隆号为 63D3，其他克隆号抗体也可以染色，可能存在轻微的占位效应

磁珠使用剂量表(PBMC 浓度为 1×10^8 cells/mL)

细胞总量	细胞孵育体积	Anti-human CD14 Nanobeads	细胞重悬体积	分选柱类型
1×10^7 cells	100 μ L	10 μ L	500 μ L	Ms 分选柱
2×10^7 cells	200 μ L	20 μ L	500 μ L	Ms 分选柱
5×10^7 cells	500 μ L	50 μ L	500 μ L	Ms 分选柱
1×10^8 cells	1 mL	100 μ L	500 μ L	Ls 分选柱
2×10^8 cells	2 mL	200 μ L	1 mL	Ls 分选柱
5×10^8 cells	5 mL	500 μ L	3 mL	Ls 分选柱
1×10^9 cells	10 mL	1 mL	10 mL	Xs 分选柱
2×10^9 cells	20 mL	2 mL	20 mL	Xs 分选柱