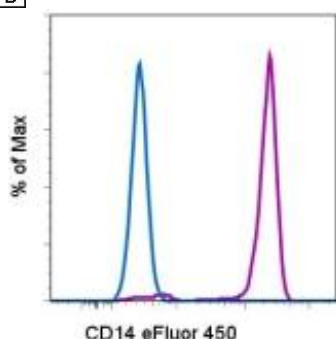


CD14 eFluor® 450

Catalog Number(s): 9048-0149-025 (25 tests), 9048-0149-120 (120 tests)



Fluoreszenzprofile von Monozyten von normalem, peripherem Humanblut, ungefärbt (blaues Histogramm) oder gefärbt mit CD14 eFluor® 450 (lila Histogramm).

Produktinformation



Inhalt: CD14 eFluor® 450

Catalog Number(s): 9048-0149-025 (25 tests), 9048-0149-120 (120 tests)

Klon: 61D3

Concentration: 5 µl (0,5 µg)/Test (Als Test ist die Menge definiert, die notwendig ist, um 1 x 10⁶ Zellen in 100 µL zu färben.)

Art/Isotyp: Maus-IgG1, kappa

HLDA-Workshop: VI

Rezeptur: Wässriger Puffer, 0,09 % Natriumazid, kann Träger/Stabilisator enthalten.



Storage Conditions: Bei 2-8°C lagern.

Nicht einfrieren.



Lichtempfindliches Material.



Vorsicht, enthält Azid



Manufacturer: eBioscience, Inc., 10255 Science Center Drive, San Diego, CA 92121, USA



Authorized Representative: Bender MedSystems GmbH, an eBioscience Company, Campus Vienna Biocenter 2, A-1030 Vienna, Austria

Bestimmungsgemäßer Gebrauch

Der fluorochrom-konjugierte, monoklonale Antikörper 61D3 reagiert mit dem menschlichen CD14-Antigen. Mit Hilfe von immunologischen Techniken kann CD14 in humanbiologischen Proben nachgewiesen werden.

Testprinzipien

Die Durchflusszytometrie stellt ein sinnvolles Werkzeug zur gleichzeitigen Messung multipler physikalischer Eigenschaften einzelner Partikel dar (wie z. B. Zellen). Die Zellen werden in einer einzelnen Reihe durch einen Laserstrahl geführt. Bei jeder durch den Laserstrahl geführten Zelle wird vom Zytometer registriert, wie die Zelle oder das Partikel das Licht des auftreffenden

Laserstrahls streut und Fluoreszenz abgibt. Mit diesem Durchflusszytometer-Analyseprotokoll kann gleichzeitig eine Analyse der Oberflächenmoleküle der einzelnen Zellen durchgeführt werden.

Beschreibung

Der monoklonale Antikörper 61D3 reagiert mit dem menschlichen CD14-Antigen, einem 53-55 kDa GPI-gebundenen Glykoprotein. CD14 wird bei Monozyten, interfollikulären Makrophagen und einigen dendritischen Zellen exprimiert. LPS- und LBP-Komplexe (LPS-Bindungsprotein) binden sich mit hoher Affinität an Monozyten über CD14 auf der Oberfläche.

Probensammlung und Lagerungsanweisungen

Entnehmen Sie eine venöse Blutprobe durch Venenpunktur in einem sterilen Blutsammelröhrchen, das mit einem geeigneten Antikoagulans versehen ist (EDTA wird empfohlen). Bewahren Sie die Proben bei Zimmertemperatur auf (18-25°C). Mischen Sie die Proben vor der Verwendung durch behutsames Rühren.

Benötigte Materialien, die nicht im Lieferumfang enthalten sind

- 12 x 75 mm-Teströhrchen
- Puffer (eBioscience Flow Cytometry Staining Buffer, Kat-Nr. 00-4222 empfohlen)
- Lyse-Puffer (eBioscience 1X RBC Lysis Buffer, Kat-Nr. 00-4333 oder eBioscience 1-step Fix/Lyse Solution (10X), Kat-Nr. 00-5333 empfohlen)
- Zur intrazellulären Färbung sind IC Fixation Buffer und Permeabilization Buffer, Kat-Nr. 88-8823 (zur Färbung von intrazellulären Zytokinen oder Zytoplasma-Proteinen) oder Foxp3 Buffer Set, Kat-Nr. 00-5523 (zur Färbung von Zellkernproteinen) zu verwenden. Auf der Website von eBioscience sind im Abschnitt „BestProtocols“ (Geeignete Protokolle) die Protokolle für das „Färben intrazellulärer Antigene für die Durchflusszytometrie“ veröffentlicht.
- Viabilitäts-Farbstoff (7-AAD Viability Staining Solution, Kat-Nr. 00-6993 oder Propidium Iodide Staining Solution, Kat-Nr. 00-6990 empfohlen)
- Automatikpipetten
- Zentrifuge
- Vortexmischer
- Eiskübel oder Kühlschrank
- Durchflusszytometer

Testprotokoll

HINWEIS: Informationen zum intrazellulären Färben sind auf der Website von eBioscience im Abschnitt „BestProtocols“ (Geeignete Protokolle) die Protokolle für das „Färben intrazellulärer Antigene für die Durchflusszytometrie“ veröffentlicht.

1. Aliquotieren Sie 100 µL der Testprobe in Röhrchen.
2. Geben Sie 5 µL des entsprechenden Antikörpers in jedes Röhrchen.
3. Inkubieren Sie die Proben für 30 - 60 Minuten bei 2 - 8°C. Alternativ können die Proben bei Zimmertemperatur abgedunkelt für 15 - 30 Minuten inkubiert werden.
4. Geben Sie 2 ml 1X RBC Lysis Buffer (mit Zimmertemperatur) in jedes Röhrchen. Behutsam

mischen. (Alternativ können die Proben mit 2 ml 1-step Fix/Lyse Solution inkubiert werden.)

5. Inkubieren Sie die Proben in einem dunklen Raum bei Zimmertemperatur für 10 Minuten. Mit dem RBC Lysis Buffer darf die Inkubationszeit 15 Minuten nicht überschreiten.
6. Zentrifugieren Sie die Proben bei 300 - 400 x g für 5 Minuten bei Zimmertemperatur, dekantieren/aspirieren und waschen Sie einmal mit 2 ml Flow Cytometry Staining Buffer.
7. Zentrifugieren Sie die Proben bei 300 - 400 x g für 5 Minuten bei Zimmertemperatur, dekantieren/aspirieren Sie den Überstand.
8. Resuspendieren Sie die gefärbten Zell-Pellets in 1 ml Flow Cytometry Staining Buffer und analysieren Sie die Proben mit einem Durchflusszytometer.

Einschränkungen

1. Lagern Sie die Fläschchen dunkel bei 2 - 8°C, um eine optimale Leistung der fluorchrom-konjugierten Antikörper zu erhalten. Nicht einfrieren.
2. Zentrifugieren Sie die Antikörper-Fläschchen vor der Verwendung, um das maximale Volumen wieder herzustellen.
3. Soweit nicht durch das Protokoll anders angegeben, müssen alle Färbungen auf Eis oder bei 2 - 8°C unter möglichst wenig Licht durchgeführt werden.

Leistungsmerkmale

Für die gleichbleibend hohe Qualität der Reagenzien wird gesorgt, indem jede Charge monoklonaler Antikörper auf Übereinstimmung mit den Eigenschaften von Standardreagenzien getestet wird. Soweit angebracht, werden charakteristische Durchflusszytometer-Daten mitgeliefert.

Verfallsanzeichen

Bei Fragen oder Anmerkungen, die die Leistung oder die Qualität des gelieferten Produkts betreffen, setzen Sie sich bitte mit dem technischen Kundendienst von eBioscience in Verbindung.

Referenzen

Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture (H3-A6), 3. Ausgabe, veröffentlicht vom National Committee for Clinical Laboratory Standards.
Kishimoto T, von dem Borne AE, et al, eds. Leucocyte Typing VI: White Cell Differentiation Antigens. Garland Publishing Inc. London. 1998.