Anti-Cuerpo CD14 (47-3D6)

	REF	Σ		[A]	
PURE	14PU	1 mg	10 µL/test	1 mg/ml	RUO
APC-750	14AC750-100T	100 test	5 µL/test	0,2 mg/ml	

1. PRODUCT DESCRIPTION

Clon: 47-3D6;
Isotipo: IgG2a;
Aplicaicón probada: citometría de flujo;
Immunogen: El anticuerpo monoclonal anti-CD14 se deriva de células CD14 purificadas nativas del pulmón humano. Enzima convertidora de angiotensina.
Reactividad de la especie: Humana;
Instrucciones de almacenamiento: store in the dark at 2-8°C. No afecta a los purificados.
Tampón de almacenamiento: solución tamponada acuosa que contiene estabilizador de proteínas y azida sódica (NaN_3) al 0,09%.
Uso recomendado: Immunostep CD14, clon 47-3D6 es un anticuerpo monoclonal destinado a la identificación y recuento de monocitos humanos mediante citometría de flujo. Este reactivo es eficaz para la tinción por inmunofluorescencia directa de tejido humano para el análisis por citometría de flujo utilizando 1 prueba para 10^6 células.
Presentación: liquido;
Fuente: Supernatante procedente de un cultivo celular in vitro de un hibridoma celular.
Purificación: Cromatografía de afinidad;

Otros nombres: Monocyte differentiation antigen CD14, Myeloid cell-specific leucine-rich glycoprotein;
Identificador del gen: 929;
Peso molecular: 55 kDa.

2. DETALLES DEL ANTÍGENO

Descripción detallada: El anticuerpo monoclonal se dirige contra el antígeno CD14, que se expresa en los monocitos y macrófagos humanos. El anticuerpo reacciona con los monocitos y macrófagos humanos; pueden producirse reacciones débiles con los neutrófilos [1-7]

3. GARANTÍA

Solo se garantiza que se ajusta a la cantidad y el contenido indicados en la etiqueta o en el etiquetado del producto en el momento de la entrega al cliente. Immunostep renuncia por la presente a otras garantías.

La única responsabilidad de Immunostep se limita a la sustitución de los productos o al reembolso del precio de compra.

4. INFORMACIÓN ADICIONAL

Solo para uso en investigación. No apto para uso diagnóstico.

No apto para reventa. Immunostep no se hace responsable de ninguna infracción que pueda derivarse del uso de este producto. Queda estrictamente prohibido cualquier uso de este producto que no sea el especificado en este documento.

A menos que Immunostep indique lo contrario por escrito, este producto está destinado exclusivamente a fines de investigación y no debe utilizarse para ningún otro fin, incluidos, entre otros, fines diagnósticos, terapéuticos o comerciales en seres humanos o animales.

Para obtener más información, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica en www.immunostep.com

5. PROTOCOLO

Protocolo de tinción de superficie celular por inmunofluorescencia directa

1. Transfiera 100 ul (10^6 células/prueba) de la muestra a un tubo de ensayo de poliestireno de 12 x 75 mm.
2. Añada el volumen recomendado indicado en el vial del anticuerpo al tubo de citómetro de 12 x 75 mm.
3. Mezclar bien e incubar en la oscuridad a temperatura ambiente a 4 °C durante 30 minutos o a temperatura ambiente (20-25 °C) durante 15 minutos.
4. Tras el periodo de incubación, añadir 1,5 ml de una solución lisante de eritrocitos y mezclar. Incubar a temperatura ambiente en la oscuridad (la sangre debe mezclarse bien con la solución lisante).
5. Centrifugar los tubos a 540 xg durante 5 minutos. Retirar el sobrenadante con una pipeta. Pasteur o con una bomba de vacío.
6. Resuspender y lavar con 3-5 ml de PBS a 540 xg durante 5 minutos.
7. Después de retirar el sobrenadante y resuspender el sedimento celular, añadir 300 µl de PBS y adquirir en el citómetro de flujo.
8. Analizar en un citómetro de flujo o almacenar a 2-8 °C en la oscuridad hasta su análisis. Las muestras pueden analizarse hasta 24 horas después de la lisis.

- **Protocolo de tinción de inmunofluorescencia indirecta de la superficie celular**

1. Transfiera 100 µl (10^6 células/prueba) de la muestra a un tubo de ensayo de poliestireno de 12 x 75 mm.
2. Añada el reactivo purificado según las recomendaciones del fabricante y mezcle suavemente con un mezclador vórtex.
3. Incubar en la oscuridad a temperatura ambiente a 4 °C durante 30 minutos o a temperatura ambiente (20-25 °C) durante 15 minutos.
4. Añadir 2 ml de PBS 0,01 mol/l (es preferible que contenga un 2 % de albúmina sérica bovina) y resuspender las células utilizando un mezclador vórtex. Centrifugar a 540 xg durante 5 minutos para eliminar el McAb que no se haya unido a su antígeno.
5. Añada un reactivo conjugado secundario con algún fluorocromo y mezcle. Incube a temperatura ambiente durante 15 minutos en la oscuridad. Es necesario que no haya luz, ya que el fluorocromo es fotoinstable.
6. Tras el periodo de incubación, añadir 1,5 ml de una solución lisante de eritrocitos y mezclar. Incubar a temperatura ambiente en la oscuridad (la sangre debe mezclarse bien con la solución lisante). Centrifugar a 540 xg durante 5 minutos. Retirar el sobrenadante con una pipeta Pasteur o con una bomba de vacío.
7. Resuspender y realizar un lavado final con 3-5 ml de PBS a 540 xg durante 5 minutos.
8. Después de retirar el sobrenadante y resuspender el sedimento celular, añadir 300 µl de PBS y adquirir los datos en el citómetro de flujo.
9. Analizar en un citómetro de flujo o almacenar a 2-8 °C en la oscuridad hasta su análisis. Las muestras pueden analizarse hasta 24 horas después de la lisis.

6, REFERENCIAS

1. Almeida J, Bueno C, Alguero MC, Sanchez ML, de Santiago M, Escribano L, et al. Comparative analysis of the morphological, cytochemical, immunophenotypical, and functional characteristics of normal human peripheral blood lineage(-)/CD16(+)/HLA-DR(+)/CD14(-/lo) cells, CD14(+) monocytes, and CD16(-) dendritic cells. Clin Immunol2001 Sep;100(3):325-38.
2. Chomarat P, Dantin C, Bennett L, Banchereau J, Palucka AK. TNF skews monocyte differentiation from macrophages to dendritic cells. J. Immunosl 2003 Sep1;17(5):2262-9.
3. Haziot A, Tsuberi BZ, Goyert SM. Neutrophil CD14: biochemical properties and role in the secretion of tumor necrosis factor-alpha in response to lipopolysaccharide. J Immunol1993 Jun 15;150(12):5556-65.
4. Knapp W. Leucocyte typing IV : white cell differentiation antigens. Oxford: Oxford University Press; 1989.
5. Li G, Kim YJ, Mantel C, Broxmeyer HE. P-selectin enhances generation of CD14+CD16+ dendritic-like cells and inhibits macrophage maturation from human peripheral blood monocytes. J Immunol2003 Jul 15;171(2):669-77.
6. Scherberich JE, Nockher WA. CD14++ monocytes, CD14+/CD16+ subset and soluble CD14 as biological markers of inflammatory systemic diseases and monitoring immunosuppressive therapy. Clin Chem Lab Med1999 Mar;37(3):209-13.
7. Schlossman SF. Leucocyte typing V : white cell differentiation antigens : proceedings of the Fifth International Workshop and Conference: held in Boston, USA, 3-7 November, 1993. Oxford: Oxford University Press; 1995.

7. EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS

	Formato
REF	Referencia del catálogo
Σ	Contiene suficiente cantidad por > prueba
	Situación regulatoria
	Cantidad por prueba
RUO	Solo para uso de investigación
[A]	Concentración
	Fabricante

8. FABRICADO POR:

Address: Avda. Universidad de Coimbra, s/n
Cancer Research Center (C.I.C)
Campus de Unamuno
37007 Salamanca (Spain)
Telf./fax: (+34) 923 294 827
E-mail: info@immunostep.com
www.immunostep.com