

# INTRACELL

## Kit de montagem para permeabilização citometria de fluxo

Referência	Test
INTRA-50T	50 test
INTRA-100T	100 test
INTRA-200T	200 test
INTRA-500T	500 test



### CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E MANUSEAMENTO ADEQUADOS.

Guardar ao abrigo da luz, em local refrigerado entre 2 e 8 °C. NÃO CONGELAR. O anticorpo é estável até à data indicada na etiqueta do frasco se armazenado entre 2 e 8 °C. Não usar depois desta data.

Depois de abrir o frasco, o produto mantém-se estável durante um período de 90 dias.

### EVIDÊNCIAS DE DETERIORAÇÃO.

Os reagentes não devem ser utilizados se for encontrada alguma evidência de deterioração. Para mais informação, contacte o nosso serviço técnico [tech@immunostep.com](mailto:tech@immunostep.com)

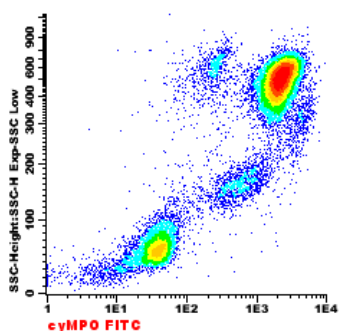
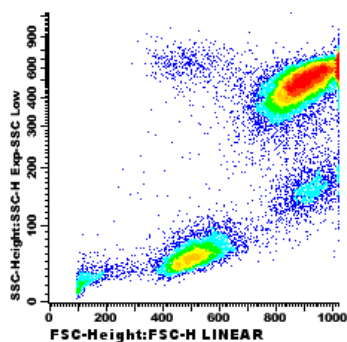
O aspeto normal é o de um líquido semitransparente e inodoro. Não deve haver precipitados nem apresentar-se turbidez. Não deve apresentar odor.

### RECOMENDAÇÕES E ADVERTÊNCIAS.

- Os reagentes contêm azida de sódio. Em condições ácidas, transforma-se em ácido hidrazoico, um composto extremamente tóxico. Os compostos de azida devem ser dissolvidos com água corrente antes de serem eliminados. Recomendam-se estas condições para evitar depósitos nas tubagens, onde se poderiam desenvolver condições explosivas. A ficha com os dados de segurança (FDS) encontra-se disponível no website [www.immunostep.com](http://www.immunostep.com)
- Evitar a contaminação microbiana do reagente.
- Evitar a exposição à luz. Usar luz ténue durante o manuseamento, a incubação com células e antes da análise.
- Não pipetar com a boca.
- No caso de contacto com a pele, lavar abundantemente com água.
- As amostras devem ser tratadas da mesma forma das que poderiam transmitir infeções. É preciso dispor dos métodos apropriados para o seu manuseamento.
- Não usar após o prazo de validade indicado no frasco.
- Eventuais desvios dos procedimentos recomendados podem vir a invalidar os resultados das análises.
- PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.
- Apenas para uso profissional.
- Antes de adquirir as amostras é necessário verificar que o citómetro de fluxo está calibrado e compensado.

### Protocolo de fixação intracelular

- Pipetar 50 µl da suspensão celular a analisar (aproximadamente 10<sup>6</sup> células) em cada tubo (*ver materiais necessários não fornecidos*).
- Para cada amostra, acrescentar o volume apropriado de anticorpo de membrana conjugado específico e, noutro tubo, o controlo isotípico adequado. Incubar durante 15 minutos ao abrigo da luz e a temperatura ambiente. (Esta passagem é necessária só se se pretende fazer uma imunofluorescência direta com um antigénio de membrana).
- Acrescentar o volume apropriado de INTRACELL Solução A (reagente de fixação), a cada tubo (*ver materiais necessários não fornecidos*). Misturar com cuidado.
- Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Lavar com 2 ml PBS Solução de trabalho 1X.
- Centrifugar durante 5 minutos a 300 xg, aspirar o sobrenadante deixando aproximadamente 50 µl de líquido. Agitar no Vórtex para ter a certeza que o pellet volta a suspender-se.
- Acrescentar o volume apropriado de INTRACELL Solução B (reagente de permeabilização), a cada tubo. Acrescentar o volume correspondente do anticorpo intracelular conjugado específico do antigénio intracelular e o controlo isotópico.
- Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente e ao abrigo da luz.
- Fazer uma lavagem com PBS Solução de trabalho 1X.
- Centrifugar durante 5 minutos a 300 xg, aspirar o sobrenadante deixando aproximadamente 50 µl de líquido para voltar a suspender o pellet.
- Voltar a suspender o pellet celular em 0,5 ml de uma solução de 1% de paraformaldeído ou em líquido apropriado para uso em citometria e guardar a 2-8 °C. As células fixadas devem ser analisadas dentro de 24 horas.



7. Margarita Villar, et al. Identification and Characterization of Anaplasma phagocytophilum Proteins Involved in Infection of the Tick Vector, Ixodes scapularis. PLoS One. 2015; 10(9): e0137237.
8. José Mendes, et al. L744,832 and Everolimus Induce Cytotoxic and Cytostatic Effects in Non-Hodgkin Lymphoma Cells. Pathology & Oncology Research, April 2016, Volume 22, Issue 2, pp 301-309.
9. Rocío Navarro, et al. Role of nucleotide binding oligomerization domain 1 (NOD1) in pericyte mediated vascular inflammation. J Cell Mol Med. 2016 May; 20(5): 980–986.

#### FABRICADO PELA



#### Immunostep S.L

Avda. Universidad de Coimbra, s/n  
 Cancer Research Center (CIC)  
 Campus Miguel de Unamuno  
 37007 Salamanca (Spain)  
 Tel. (+34) 923 294 827  
[www.immunostep.com](http://www.immunostep.com)

#### GARANTIA

Os produtos da Immunostep têm garantia relativamente à quantidade e ao conteúdo indicado no rótulo do produto no momento da entrega ao cliente. A Immunostep abstém-se de qualquer outra garantia. A responsabilidade da Immunostep limita-se à substituição de produtos ou ao reembolso do preço de compra.

#### REFERÊNCIAS

1. Castalta-Lopes J. et al. Efflux Pumps Modulation in Colorectal Adenocarcinoma Cell Lines: The Role of Nuclear Medicine. Journal of Cancer Therapy. Vol.2 No.3(2011), Article ID:6693.
2. Brito AF. Et al. Hepatocellular Carcinoma and Chemotherapy: The Role of p53. Chemotherapy 2012;58:381–386.
3. Alba Fernández-Sánchez, et al. DNA demethylation and histone H3K9 acetylation determine the active transcription of the NKG2D gene in human CD8+ T and NK cells. Epigenetics. 2013 Jan 1; 8(1): 66–78.
4. Nieves Ayllón, et al. Anaplasma phagocytophilum Inhibits Apoptosis and Promotes Cytoskeleton Rearrangement for Infection of Tick Cells. Infect Immun. 2013 Jul; 81(7): 2415–2425.
5. Victoria Naranjo, et al. Reciprocal Regulation of NF- $\kappa$ B (Relish) and Subolesin in the Tick Vector, Ixodes scapularis. PLoS One. 2013; 8(6): e65915.
6. Ángela Santoro, et al. Relationship between CK19 expression, deregulation of normal keratinocyte differentiation pattern and high risk-human papilloma virus infection in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. Infect Agent Cancer. 2015; 10: 46.