

# INTRACELL

## Kit zur Zellfixierung und Permeabilisierung

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



### ANGEMESSENE LAGER- UND HANDHABUNGSBEDINGUNGEN.

Im Dunkeln und gekühlt bei 2 bis 8 °C lagern. Nicht einfrieren. Der Antikörper ist bis zu dem auf dem Etikett der Durchstechflasche angegebenen Datum stabil, wenn er zwischen 2-8 °C gelagert wird. Nach diesem Datum sollte er nicht mehr verwendet werden.

Nachdem die Durchstechflasche einmal geöffnet ist, verbleibt das Produkt für einen Zeitraum von 90 Tagen stabil.

### OFFENSICHTLICHE ANZEICHEN EINER QUALITÄTSMINDERUNG.

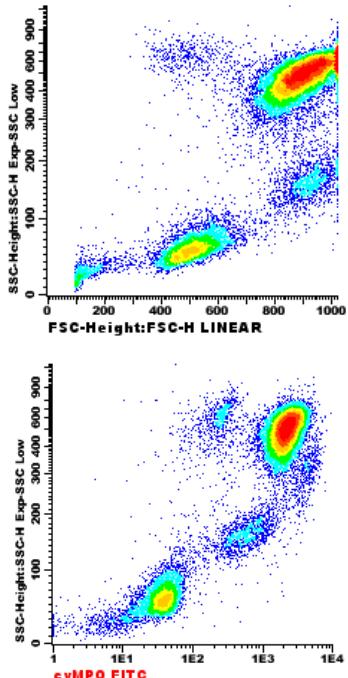
Die Reagenzen dürfen nicht benutzt werden, wenn offensichtliche Anzeichen einer Qualitätsminderung vorliegen. Für weitere Informationen setzen Sie sich bitte unter [tech@immunostep.com](mailto:tech@immunostep.com) mit unserem technischen Kundenservice in Verbindung.

### RATSSCHLÄGE UND HINWEISE.

- a) Die Reagenzen enthalten Natrium-Azide. Unter sauren Bedingungen werden diese zu Stickstoffwasserstoffsäure, eine extrem toxische Verbindung. Azidverbindungen müssen unter laufendem Wasser aufgelöst werden, bevor sie entsorgt werden. Diese Empfehlungen werden gemacht, um Ablagerungen in den Abflussrohren zu vermeiden, in denen explosive Bedingungen entstehen könnten. Das Sicherheitsdatenblatt (FDS) steht Ihnen auf unserer Website zur Verfügung [www.immunostep.com](http://www.immunostep.com)
- b) Es gilt eine mikrobielle Kontamination der Reagenzen zu vermeiden.
- c) Die Reagenzen dürfen nicht dem Licht ausgesetzt werden. Benutzen Sie während der Handhabung, der Zellinkubation und vor der Untersuchung stets schwaches Dämmerlicht.
- d) Nicht mit dem Mund pipettieren.
- e) Bei einem Kontakt mit der Haut diese mit reichlich Wasser abwaschen.
- f) Die Proben sind auf die gleiche Weise zu behandeln, wie solche, die Infektionen übertragen könnten. Die geeigneten Mittel und Methoden zu ihrer Handhabung müssen dem Benutzer dabei zur Verfügung stehen.
- g) Das Produkt nicht nach Ablauf des auf der Durchstechflasche aufgeführten Verfallsdatums benutzen.
- h) Abweichungen der empfohlenen Verfahren könnten die Ergebnisse der Analyse ungültig machen.
- i) FÜR IN-VITRO UNTERSUCHUNGEN.
- j) Nur für berufliche Zwecke.
- k) Bevor die Proben erworben werden, ist zu überprüfen, dass der Durchfluszytometer kalibriert und ausgeglichen ist.

### Protokoll über intrazelluläre Fixierung

1. 50 µl der zu untersuchenden Zellsuspension (ca.  $10^6$  Zellen) in jedes Reagenzglas pipettieren (siehe die erforderlichen aber nicht gelieferten Materialien).
2. Für jede Probe das geeignete Volumen an Membranantikörper hinzufügen. Im anderen Reagenzglas die geeignete isotypische Kontrolle. 15 Minuten lang bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren. (Dieser Schritt ist nur dann notwendig, wenn eine direkte Immunfluoreszenz mit dem Antigen der Membran durchgeführt werden soll).
3. Das geeignete Volumen an INTRACELL, Lösung A, (Fixierreagenz), in jedes Reagenzglas geben (siehe die erforderlichen aber nicht gelieferten Materialien). Vorsichtig mischen.
4. 15 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Mit 2 ml PBS Arbeitslösung 1X waschen
6. 5 Minuten lang bei 300 xg zentrifugieren, den Überstand absaugen und ca. 50 µl übrig lassen. Im Vortex-Schüttler mischen und durchschütteln, um sicherzustellen, dass das Pellet resuspendiert.
7. Jedem Reagenzglas das geeignete Volumen an INTRACELL hinzufügen, Lösung B (Permeabilisationsreagenz). Das entsprechende Volumen des spezifischen konjugierten intrazellulären Antikörpers des intrazellulären Antigens und die isotypische Kontrolle hinzufügen.
8. 15 Minuten lang bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren.
9. Mit PBS Arbeitslösung 1X waschen.
10. 5 Minuten lang bei 300 xg zentrifugieren, den Überstand absaugen und ca. 50 µl übrig lassen um das Pellet zu resuspendieren.
11. Das Zellpellet in 0,5 ml einer 1%igen Paraformaldehydlösung resuspendieren oder in einer Flüssigkeit, die sich zur Verwendung in der Zytometrie eignet und dann bei einer Temperatur zwischen 2-8 °C lagern. Die fixierten Zellen müssen innerhalb eines Zeitraums von weniger als 24 Stunden analysiert werden.



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.

#### HERGESTELLT VON



**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)

#### GARANTIE

Die Produkte von Immunostep verfügen im Moment der Übergabe an den Kunden über eine Garantie in Bezug auf die auf dem Produktetikett angegebene Menge und den Inhalt. Immunostep verzichtet auf jegliche sonstige Garantie. Die Haftung für Immunostep begrenzt sich auf den Ersatz der Produkte oder die Rückerstattung des Kaufpreises.

#### BIBLIOGRAPHY

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-κB (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.