

# INTRACELL

## Kit per fissazione e permeabilizzazione cellulare

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



### CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE E MANIPOLAZIONE ADEGUATE

Conservare al buio, refrigerato tra 2 °C e 8 °C. NON CONGELARE. L'anticorpo è stabile fino alla data riportata sull'etichetta della fiala, se conservato a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C. Non usare oltre tale data.

Dopo l'apertura della fiala, il prodotto è stabile per un periodo di 90 giorni.

### SEGNII DI DETERIORAMENTO

I reagenti non devono essere utilizzati se presentano segni di deterioramento. Per ulteriori informazioni, contattare il nostro servizio tecnico [tech@immunostep.com](mailto:tech@immunostep.com)

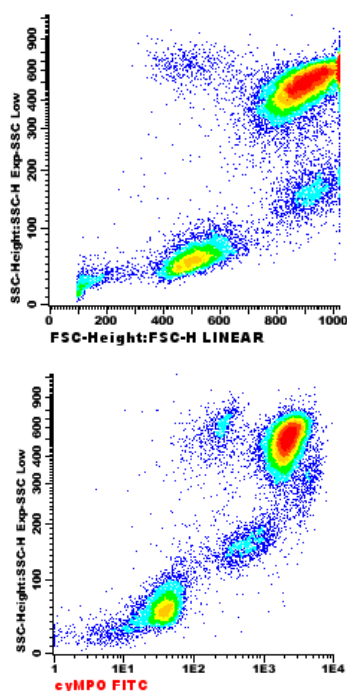
Il loro aspetto normale è quello di un liquido semitrasparente e inodore. Non devono presentare precipitati o torbidità. Non devono avere odore.

### RACCOMANDAZIONI E AVVERTENZE

- I reagenti contengono sodio azide, che in condizioni acide, si trasforma in acido idrazonico, un composto altamente tossico. I composti di azide devono essere sciolti con acqua corrente prima di essere smaltiti. Si raccomanda di farlo per evitarne il deposito nelle tubazioni, dove potrebbero verificarsi condizioni esplosive. La scheda dei dati di sicurezza (SDS) è disponibile sul sito [www.immunostep.com](http://www.immunostep.com)
- Evitare la contaminazione microbica del reagente.
- Evitare l'esposizione alla luce. Utilizzare una luce tenue durante la manipolazione, l'incubazione con le cellule e prima dell'analisi.
- Non pipettare con la bocca.
- In caso di contatto con la pelle, lavare con abbondante acqua.
- I campioni devono essere trattati come potenzialmente infettivi. Si deve disporre di procedure di manipolazione adeguate.
- Non usare dopo la data di scadenza riportata sulla fiala.
- Qualsiasi deviazione dalle procedure raccomandate potrebbe inficiare i risultati dell'analisi.
- PER DIAGNOSI IN VITRO.
- Solo per uso professionale.
- Prima di acquisire i campioni, controllare che il citometro a flusso sia calibrato e compensato.

### Protocollo di fissazione intracellulare

- Pipettare 50 µl della sospensione cellulare da analizzare (circa  $10^6$  di cellule) in ciascuna provetta (vedi materiali necessari ma non forniti).
- Per ogni campione, aggiungere il volume appropriato di anticorpo di membrana coniugato specifico e, in un'altra provetta, il controllo isotipico corrispondente. Incubare per 15 minuti al buio e a temperatura ambiente (questo passaggio è necessario solo se si vuole effettuare un'immunofluorescenza diretta con un antigene di membrana).
- Aggiungere il volume appropriato di INTRACELL, Soluzione A (reagente di fissazione), in ciascuna provetta (vedi materiali necessari ma non forniti). Miscelare accuratamente.
- Incubare per 15 minuti al buio a temperatura ambiente.
- Lavare con 2 ml di soluzione di lavoro PBS IX.
- Centrifugare per 5 minuti a 300 x g e aspirare il surnatante, lasciando circa 50 µl di liquido. Agitare con Vortex per far sì che il pellet si risospenda.
- Aggiungere il volume appropriato di INTRACELL, Soluzione B (reagente di permeabilizzazione), in ogni provetta. Aggiungere il volume corrispondente di anticorpo intracellulare coniugato specifico dell'antigene intracellulare e il controllo isotipico.
- Incubare per 15 minuti a temperatura ambiente e al buio.
- Effettuare un lavaggio con soluzione di lavoro PBS IX.
- Centrifugare per 5 minuti a 300 x g e aspirare il surnatante, lasciando circa 50 µl di liquido per risospendere il pellet.
- Risospendere il pellet cellulare in 0,5 ml di una soluzione all'1% di paraformaldeide o nel liquido per citometria e conservare a 2-8 °C. Le cellule fissate devono essere analizzate entro 24 ore.



## GARANZIA

I prodotti di Immunostep sono garantiti per quanto riguarda la quantità e il contenuto indicato sulla loro etichetta al momento della consegna al cliente. Immunostep esclude qualsiasi altra garanzia. La responsabilità di Immunostep è limitata alla sostituzione dei prodotti o al rimborso del prezzo d'acquisto.

## BIBLIOGRAFIA

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.

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.

## PRODOTTO DA



### 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)