

## INTRACELL

### Kit de fixação e permeabilização celular

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)

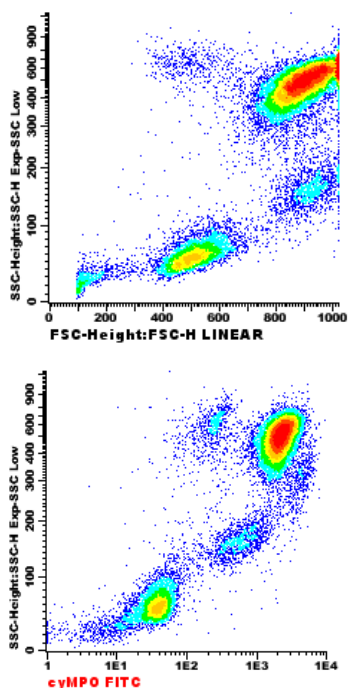
O aspeto normal é o de um líquido semitransparente e inodoro. Não deve haver precipitados nem apresentar-se turbidez. Não deve apresentar odor.

#### 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 tênue 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 antígeno 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 IX.
- 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 antígeno intracelular e o controlo isotípico.
- Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente e ao abrigo da luz.
- Fazer uma lavagem com PBS Solução de trabalho IX.
- 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.