

# 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)

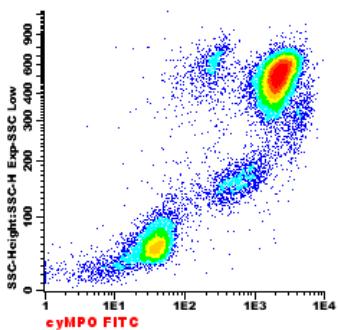
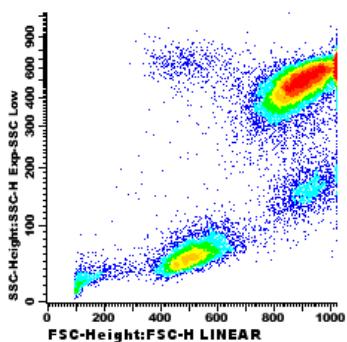
O aspeto normal é o de um líquido semitransparente e inodoro. Não deve haver precipitados nem apresentar-se turbidez. Não deve apresentar odor.

### RECOMENDAÇÕES E ADVERTÊNCIAS.

- a) 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)
- b) Evitar a contaminação microbiana do reagente.
- c) Evitar a exposição à luz. Usar luz ténue durante o manuseamento, a incubação com células e antes da análise.
- d) Não pipetar com a boca.
- e) No caso de contacto com a pele, lavar abundantemente com água.
- f) As amostras devem ser tratadas da mesma forma das que poderiam transmitir infecções. É preciso dispor dos métodos apropriados para o seu manuseamento.
- g) Não usar após o prazo de validade indicado no frasco.
- h) Eventuais desvios dos procedimentos recomendados podem vir a invalidar os resultados das análises.
- i) PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO.
- j) Apenas para uso profissional.
- k) Antes de adquirir as amostras é necessário verificar que o citómetro de fluxo está calibrado e compensado.

### Protocolo de fixação intracelular

1. Pipetar 50 µl da suspensão celular a analisar (aproximadamente  $10^6$  células) em cada tubo (ver *materiais necessários não fornecidos*).
2. 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抗ígeno de membrana).
3. Acrescentar o volume apropriado de INTRACELL Solução A (reagente de fixação), a cada tubo (ver *materiais necessários não fornecidos*). Misturar com cuidado.
4. Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
5. Lavar com 2 ml PBS Solução de trabalho IX.
6. 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.
7. Acrescentar o volume apropriado de INTRACELL, Solução B (reagente de permeabilização), a cada tubo. Acrescentar o volume correspondente do anticorpo intracelular conjugado específico do抗ígeno intracelular e o controlo isotípico.
8. Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente e ao abrigo da luz.
9. Fazer uma lavagem com PBS Solução de trabalho IX.
10. Centrifugar durante 5 minutos a 300 xg, aspirar o sobrenadante deixando aproximadamente 50 µl de líquido para voltar a suspender o pellet.
11. 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.



## 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. *Cancer Therapy*. 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.
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)