

Anexo IV – Lista de Reagentes

Extracção de DNA

→ **Solução de lise** ($V_f=500\text{mL}$)

- 5 mL EDTA 0,5M
- 10mL SDS 10% (Sodium dodecyl Sulfate)
- 20mL NaCl 5M
- 50mL Tris-HCl 1M, pH 8

Perfazer o volume para 500mL com dH_2O .

→ **Etanol 70%** ($V_f= 50\text{mL}$)

- 35mL Etanol Absoluto
- 15mL dH_2O

→ **TE (Tris-EDTA)** ($V_f=500\text{mL}$)

- 5mL Tris 10mM pH=4.0
- 1mL EDTA 1mM

Perfazer com dH_2O até 500mL.

- Tris 1M pH=8: 121,1g de Tris, dissolver com 800mL de dH_2O ; ajustar o pH e completar o volume de 1000mL.
- EDTA 0,5M pH=8: 93,05g de EDTA, adicionar 400mL de dH_2O ; ajustar o pH com NaOH 10M e completar o volume de 500mL.

Citometria de Fluxo

→ **Solução anti-coagulante**

- 2mL de EDTA 0,5M;
- 10mL de PBS10x;

Perfazer até 100mL com água desionizada

→ **Solução de Lise de eritrócitos (ACK)** ($V_f=1\text{L}$)

- 8,29g NH_4Cl 0,15M ($M_w=53,4\text{g/mol}$)
- 2,00g KHCO_3 10mM ($M_w=100,12\text{g/mol}$)
- 0,074g Na_2EDTA (Tritriplex III) 0,1mM ($M_w=372,24\text{g/mol}$)

Dissolver em 800mL de dH_2O , ajustar o pH para 7,2 com HCl 1N e perfazer o volume para 1L. Filtrar com filtro com 0,22mm de poro.

→ **Tampão Fosfato Salino 10x(PBS)** ($V_f=1L$)

- 80g NaCl
- 2g KCl
- 14.4g Na_2HPO_4
- 2.4g KH_2PO_4
- pH é ~ 6.8, mas quando diluído para 1x, deve mudar para 7.4.

→ **Tampão de FACS (em PBS 1x)** ($V_f=1L$)

- 30g BSA (3% BSA)
 - 1mL NaN_3 10% (0,01% NaN_3 - Azida de sódio)
- Perfazer com PBS1x até 1L.

→ **Solução de Fixação (em PBS 1x):**

- 4% formaldeído;
- 0,01% NaN_3 .

PCR

→ **TAE 50x**

- 242g Tris-Base
 - 57,1mL de Ácido Acético Glacial
 - 100mL de EDTA 0,5M, pH 8
- Perfazer o volume até 1L com dH_2O .