



Maceração de tecido vegetal com TissueLyser LT (QIAGEN)

O equipamento é um macerador de pequenas amostras de tecido através da agitação de esferas de aço inoxidável em microtubos de 2 ml. Até 12 amostras podem ser maceradas por vez.

- Pesquisar entre 50 e 200 mg de tecido foliar. Fazer uma prévia fragmentação do tecido e colocá-lo no microtubo de 2 ml junto com duas esferas de 5 mm.
- Se necessário, resfriar os microtubos já com o tecido vegetal e as esferas no nitrogênio líquido. Quando mais rígido o tecido, maior a necessidade de resfriar a amostra.
- Programar-se o TissueLyser para realizar 50 oscilações por segundo em um tempo de 3 a 5 minutos. Tecidos mais resistentes precisam de repetição do processo. Após a maceração, retirar as esferas do microtubos e lavá-las.

Lavagem das esferas de aço inoxidável (Stainless Steel Beads, 5 mm; Cat No./ID: 69989; QIAGEN)

- Colocar as esferas em um falcon (pode ser reutilizado) de 50 ml e enxaguar com água da torneira, a fim de remover restos do material vegetal após maceração. Enxaguar no mínimo três vezes.
- Adicionar ácido clorídrico 0,4 N (HCl – 0,4 N) até cobrir as esferas que estão no falcon. Incubar por 1 min e descartar o ácido no descarte de HCl.
- Enxaguar com água da osmose reversa por no mínimo três vezes ou até a total eliminação do ácido.
- Deixar as esferas secando na estufa por 20 minutos e depois guardá-las no falcon de uso comum. Não deixar as esferas por muito tempo na estufa, pois elas podem ficar escurecidas.

HCl- 1 N → Diluir 84 ml de HCl (37%) concentrado em água osmolisada e completar para 1 litro.

HCl- 0,4 N → Diluir a partir de uma solução de 6 N, 5 N ou 1 N.