

# Caderno de Anotação

## Microbioma Hospitalar

Ciências Biomédicas - FMRP/USP

### Biotecnologia III

RCB-0300 - 2020



Grupo 2



Atividade de segunda-feira:

- coleta e extração de DNA no hemecentro

Divisão dos funçoes:

- William Teshiro Sakuda: coleta
- João Raphael: Fotos
- Lídia Andrade: Anotações
- Nathalia Caligorne: Extração
- Mathews roller: Planilha

Continua na página N°:

Responsável:

Data:

Supervisor:

Data:



| Preparação  | solução       | estabilizadora |         |
|-------------|---------------|----------------|---------|
|             | sol. trabalho | sol. mãe       | volume  |
| TRIS        | (30mm)        | 1m             | 100 µl  |
| EDTA        | (10mm)        | 0,5m           | 200 µl  |
| NaCl        | (100mm)       | 5m             | 200 µl  |
| SDS         | (0,5%)        | 10%            | 500 µl  |
| Betáinase K | (0,1 mg/ml)   | 20 mg/ml       | 50 µl   |
| GSP         | 10ml          |                | 8,95 ml |

ID: GP02-090320-INHERP

local: Refeitório

Descrição: balcões do refeitório do hemocentro

→ Tubo B foi pipetado duas vezes (espírito na benzodol).

→ Tubo A e B = 1ml solução estabilizadora

→ oxeta → bordas das mesas

\* Adição de 500 µl Tubos A e B

→ Coléras do HC → tubos de 13 a 26

Continua na página N°:

Responsável:

Data:

Supervisor:

Data:



Protocolo de extração

1. Adicionar 500  $\mu$ l da solução no tubo Pauterblad
2. misturar no vortex.
3. Verificar a solução C1 (se estiver precipitada, aquecer a 60°C até dissolver).
4. Adicionar 60  $\mu$ l da sol. C1 e misturar no vortex.
5. manter o tubo Pauterblad horizontalmente (vortex na velocidade máxima por 30 min).
6. Centrifugar os tubos a 10.000 g por 30 segundos em temperatura ambiente.
7. Transferir o sobrenadante para um tubo limpo de 2 ml
8. Adicionar 250  $\mu$ l da sol. C2 e misturar por 5 seg; depois incubar por 5 minutos a 4°C.
9. Centrifugar por 1 minuto a 10000 xg.
10. TRANSFERIR todo o volume do sobrenadante
11. Adicionar 200  $\mu$ l da sol C3 e misturar. Incubar a 4°C por 5 min.
12. Centrifugar por 1 minuto a 10.000 xg
13. TRANSFERIR todo o volume do sobrenadante.
14. Adicionar 1200  $\mu$ l da solução C4 ao sobrenadante e misturar 5 segundos.
15. Colocar 675  $\mu$ l no spin filter e centrifugar a 10.000 xg por 1 min. Descartar e adicionar mais 675  $\mu$ l de sobrenadante no filtro e centrifugar a 10.000 g. Colocar o restante do sobrenadante no filtro e centrifugar.
16. Adicionar 500  $\mu$ l da sol. C5 e centrifugar por 30 segundos a 10.000 g
17. Descartar o sobrenadante
18. Centrifugar novamente por 1 minuto

Continua na página N°:

Responsável:

Data:

Supervisor:

Data:



19. Colocar o filtro em um tubo de 2ml.  
(~~antes~~ espirrar solução C5 no filtro).
20. Adicionar 50 µl da solução C6 ao centro do filtro branco.
21. Centrifugar por 30 segundos a  $10.000 \times g$ .
22. Descartar o filtro. (o DNA no tubo já está pronto).

Continua na página N°.:

Responsável:

Data:

Supervisor:

Data:



Título do projeto:

Data:

Continua da página N°:

Página N°:

COLETA

1 BOTÃO ELEVADOR

2 BOTÕES INTERNOS

3 AMBULATÓRIO CADENAS

AMB 6 - T 18

AMB 8 - T 17

4 MAÇANETA, ÁLCOOL GEL, CADEIRAS, EQUIP. T 19 e 20

\* Tubo 20 ñ foi utilizado

\* tubo 15 -> Álcool gel, mouse, tesouras, meca

\* tubo 16 -> bacia

\* TUBO 13 e 14 -> teclado, mouse, alc., Ventilador

Continua na página N°:

Responsável:

Data:

Supervisor:

Data: