

**HemaLise RBC-10X**  
**Solução concentrada para Lise de**  
**glóbulos vermelhos, pH: 7.2**

**Código:**

**13-20151-01: 100 mL**

**Armazenamento: 2-8°C**

**Descrição:**

É uma formulação desenvolvida para a eficiente lise de glóbulos vermelhos em células individuais em suspensões de tecidos hematopoéticos, como baço e hemácias do sangue periférico.

HemaLise-RBC 10X contém reagentes de alta qualidade usados para lisar células vermelhas apenas para um mínimo ou nenhum efeito prejudicial sobre os linfócitos.

**Protocolos sugeridos:**

Método I: Lise de glóbulos vermelhos do baço de animais de experimentação.

1. Recolha e isole fragmentos do baço do animal de experimentação (rato, camundongo, coelho, etc.) para preparar uma suspensão de células. Utilizando os protocolos de fragmentação e separação de tecidos, previamente estabelecidos em laboratório.

2. Preparar um "pellet" com as células assim obtidas, centrifugando (350 x g) à temperatura ambiente durante 5 minutos e, com o auxílio de cuidadosa pipetagem remover o sobrenadante. Deixar só o "pellet".

3. Paralelamente, diluir 1 parte da solução concentrada HemaLise-RBC 10X com 9 partes de água deionizada de excelente qualidade (LGC, Cód.: 13-12102-05).

Portanto, obtenha uma solução 1X (pronta para uso).

4. Ressuspender o sedimento (pellet) em 3-5 mL de 1X HemaLise.

5. Incubar no gelo (ou na geladeira entre 4-8°C) por 4-5 minutos com agitação periódica.

5. Interromper a reação adicionando 10 a 20 mL de 1X PBS (LGC, Cód.: 13-30259-05).

6. Centrifugar as células (350 x g), eliminar o sobrenadante e ressuspender o sedimento em um tampão apropriado de acordo com a técnica a ser usada. Pode ser 1X PBS, pH 7,2, ou DPBS 1X, pH: 7,2.

7. Realizar a contagem de células, ajustar a densidade e prosseguir com os protocolos de teste.

Método II: Lise do Sangue Periférico hemácias humanas:

1. Diluir o tampão HemaLise-RBC 10X para a concentração de trabalho (1 parte HemaLise RBC 10X + 9 partes de água). Usar para este propósito; água deionizada de excelente qualidade (LGC, Cód.: 13-12102-05). Manter a solução pronta para uso em temperatura ambiente antes de usar.

2. Adicionar 2,0 mL de 1X HemaLise (pronto para uso) em cada tubo contendo até 100 µL de sangue.

3. Misturar os tubo em vórtex imediatamente após a adição da solução de lise. Incubar à temperatura ambiente, protegido da luz, por 10-15 minutos.

4. Centrifugar a 350 x g por 5 minutos. Remover o sobrenadante sem perturbar o "pellet" e ressuspender em buffer apropriado.

**Referências:**

1. Muirhead K., *et al.* 1986. Ann. NY Acad. Sci. 468: 113.

2. Mishell, B., *et al.* 1980. Preparação de suspensões de células do rato. Em: Selected Methods em Imunologia Celular. W.H. Freeman & Company, San Francisco, p. 23.

3. Boldin, M.P., *et al.* 2011. J Exp Med.

4. Adams RA, *et al.* 2007. J. Exp. Med. 204:571.

5. Feild-Corbett C, *et al.* 2009. Stem Cells.