SELECT BIOPRODUCTS MINI GEL II

Manual do Utilizador



UNIDADE HORIZONTAL DE ELETROFORESE POR GEL

SBE160 SBE160-230V





Lit M00081 Rev 3; setembro 2015

Acerca deste manual

Este manual foi elaborado para auxiliar na utilização otimizada do seu Select BioProducts MiniGel II. O manual está disponível em inglês, francês, alemão, italiano, português e espanhol no nosso website, em www.selectbioproducts.com

Lit M00081 Rev 3; setembro 2015

ÍNDICE

I.	MA	NUTENÇÃO	1
II.	OP	ÇÕES E ESPECIFICAÇÕES	2
A	٨.	Componentes e acessórios	2
E	3.	Especificações	2
III.	INS	STRUÇÕES DE FUNCIONAMENTO	3
Þ	٨.	Preparação do gel de agarose e tampão de eletroforese - ADN	3
E	3.	Preparação do gel de agarose e tampão de eletroforese - ARN	5
(Э.	Moldagem do Gel	7
) .	Remoção do pente	8
E	Ξ.	Carregamento das amostras no gel	8
F	₹.	Ligações elétricas à tampa de segurança e	9
(3.	Eletroforese da amostra	10
H	┨.	Deteção e Documentação de Fragmentos Separados	11
IV.	AN	EXOS	.12
F	٨.	Tampões para Eletroforese	.12
E	3.	Propriedades Físicas dos Plásticos Eletroforéticos	13
٧.	RE	FERÊNCIAS	13
	DE	CLARAÇÃO DE CONFORMIDADE	17
	GA	RANTIA	18

I. MANUTENÇÃO

Manusear a unidade com cuidado:

<u>Não</u> expor a unidade ou os seus acessórios a temperaturas acima de 60 °C. **Não** expor a unidade a solventes orgânicos.

<u>Não</u> limpar a unidade com produtos de limpeza abrasivos, ou auxiliares de limpeza.

Na maioria dos casos, a lavagem com água desionizada será suficiente para limpar a unidade. Para sujidade maior, utilizar uma solução de limpeza suave, como detergente da loiça (não são recomendados produtos de limpeza alcalinos). Lavar manualmente e secar com um pano suave. Para remover o brometo de etídio residual, embeber, ocasionalmente, a unidade em solução de lixívia comercial a 1% durante 16 horas. Lavar bem.

POR FAVOR, NOTE: A degradação do acrílico, devido a solventes, poderá resultar em descoloração, quebras, empenamento, ou corrosão significativos da unidade de eletroforese.

<u>Não</u> aplicar nenhum dos seguintes solventes: benzeno, xileno, tolueno, clorofórmio, tetracloreto de carbono, álcoois, fenóis, cetonas ou ésteres.

<u>Não</u> expor os pentes de ABS fornecidos juntamente com esta unidade a formaldeído por períodos prolongados. Quando estiver a moldar géis que contenham formaldeído, remover os pentes imediatamente, assim que o gel endurecer, e lavar abundantemente com água desionizada.

Eliminação da contaminação por RNase

Se pretender o tratamento da unidade de modo a eliminar a contaminação por RNase, limpar a unidade com um detergente suave, conforme descrito acima, seguido de um embebimento, durante 10 minutos, numa solução de peróxido de hidrogénio a 3% e, em seguida, durante 1 hora em pirocarbonato de dietila (diethyl pyrocarbonate, DEPC) a 0,1%. Escorrer a lavagem final e deixar secar ao ar.

CUIDADO: O DEPC é um presumível cancerígeno; manusear com cuidado.

Em alternativa, embeber a unidade e acessórios em água tratada com anidrido acético 2,2mM (200 µl/litro) acabada de preparar durante, pelo menos, cinco minutos. As soluções de trabalho para ARN (tampões para eletroforese, etc.) podem, também, ser constituídas pela mesma água tratada com anidrido acético.

ADVERTÊNCIAS:

CUIDADO! Poderão ocorrer lesões, danos no equipamento, ou propriedade,

se este for utilizado de um modo não especificado pelo fabricante.

CUIDADO! Existe o risco de entalamento entre o invólucro de plástico e a

cabeça de mistura.

CUIDADO! NÃO utilizar com líquidos inflamáveis.

II. OPÇÕES E ESPECIFICAÇÕES

A. Componentes e acessórios

N.º do catálogo
SBE160

Descrição
Sistema Completo de Eletroforese Mini Gel XLII

É fornecido completo com tabuleiros de moldagem Transmissores de luz UV 1) 12,5 x 12 cm, 2) 12,5 x 6 cm, suporte de moldagem com divisor, e quatro pentes reversíveis de dentes 28/14, de 1,0 mm de espessura, cabo de alimentação e manual.

Acessórios

Acessonos		
N.º do	Descrição	
catálogo		
SBE161	(1) Tabuleiro de Moldagem Transmissor de Luz UV 12,5 x 12 cm	
SBE162	(2) Tabuleiro de Moldagem Transmissor de Luz UV 12,5 x 6 cm	
SBE163	(4) Tabuleiro de Moldagem Transmissor de Luz UV 6 x 6 cm	
SBE164	(2) Pente Reversível de dentes 14/28, de 1 mm	
SBE165	(2) Pente Reversível de dentes 5/8, de 1 mm	
SBE166	Microconjunto de moldagem - (4) Tabuleiro de Moldagem	
	Transmissor de Luz UV 6 x 6 cm, 2) Pentes Reversíveis com	
	dentes 5/8, de 1 mm, suporte de Moldagem com divisor	
SBE167	Suporte de Moldagem com divisor	
SBE168	Conjunto padrão de moldagem - (1) tabuleiro 12,5 x 12 cm, (2)	
	tabuleiros 12,5 x 6 cm, (4) pentes compatíveis multicanais de	
	dentes 14/28, suporte de moldagem com divisor	
R1000-100BP	Marcador de Peso Molecular de 100 bp	
R1000-1KB	Marcador de Peso Molecular de 1 Kb	

B. Especificações

Dimensões da unidade 24,5 x 17,0 x 6,2 cm Dimensões do gel 12,5 x 12,0 cm

Capacidade máxima de amostra: 112 amostras (4 pentes, 26

amostras em cada um)

Capacidade do tampão: 300 ml Distância entre elétrodos: 13,5 cm Tanque de eletroforese

Dimensão geral $18,3 \times 16,4 \times 5,6$ cm

Característica do material transmissor de luz UV (50% a

254 nm, 80% a 312 nm)

Volume de solução de 300 ml (inclui o tampão e os géis)

Tampa de segurança

Dimensão geral $19.7 \times 16.9 \times 3.8$ cm

Característica do material Policarbonato não transmissor de

luz UV

Fonte de alimentação

Dimensão geral $7.5 \times 17.0 \times 6.2$ cm

Peso 410 g

Voltagem de entrada AC100 - 240V, 50/60Hz

Voltagem de saída 10 a 150 volts; Pico de voltagem

constante de 150V

Amperagem de saída 10 a 400 mA

Potência máxima 45 W

Temporizador 99 horas 59 minutos, e modelo

contínuo

Interruptor de segurança Microssensor ("Hall") na fonte de

alimentação. Nenhuma saída energética sem a tampa de

segurança,

Função de memória Memória automática (últimos V e

T utilizados)

III. INSTRUÇÕES DE FUNCIONAMENTO

A. Preparação do gel de agarose e tampão de eletroforese - ADN

1. Selecionar a percentagem de gel necessária para resolver eficazmente a amostra, utilizando a Tabela 1 como referência.

Tabela 1: Concentrações de gel e intervalos de resolução

Concentração do gel de agarose	Intervalo eficiente de separação de ADN linear
(% w/V)	(Kb)
0,3%	5-60
0,6%	1-20
0,7%	0,8-10
0,9%	0,5-7
1,2%	0,4-6
1,5%	0,2-3
2,0%	0,1-2

Tabela retirada de Sambrook, J., Fritsch, E.F., & Maniatis, T. (1989) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 1, 6.8 613.

- 2. Pesar a quantidade adequada de agarose (0,3% representa 0,3 g de agarose por 100 ml de volume de gel) e colocar num frasco de 250 ml. Notar que 4 mm de gel utilizarão 100 ml de solução de agarose.
- 3. Preparar 500 ml de tampão de eletroforese de 1X TAE ou de 1X TBE (ver abaixo).

Tampões de eletroforese

Os tampões vulgarmente utilizados na eletroforese horizontal de ADN de cadeia dupla, em gel de agarose, são o Tris-Acetato-EDTA (TAE) e o Tris-Borato-EDTA (TBE). Embora as capacidades de resolução destes tampões sejam muito similares, as capacidades relativas dos tampões são, no entanto, muito diferentes, conferindo diferentes atributos de processamento, os quais são resumidos abaixo:

TAE: O tris-acetato tem sido, tradicionalmente, o tampão vulgarmente mais utilizado. No entanto, a sua capacidade tampão relativamente baixa atingirá a exaustão durante a eletroforese prolongada, tornando necessária a recirculação de tampão em processamentos que excedam 140 mA-horas. As possíveis vantagens em utilizar o tampão de TAE, em vez do tampão de TBE, incluem a resolução superior de ADN em super-cadeia e ser, aproximadamente, 10% mais rápida a migração de fragmentos de ADN linear de cadeia dupla⁽¹⁾.

TBE: A capacidade tampão significativamente maior do trisborato e o seu consumo de corrente relativamente baixo eliminam a necessidade de recirculação, exceto nos processamentos mais longos (> 300 mA-horas). Os sistemas tampão de TBE não são recomendados quando se pretende recuperar os fragmentos do gel após a eletroforese.

4. Adicionar brometo de etídio ao tampão de eletroforese diluído, para uma concentração final de 0,5 μg/ml.

NOTA:

A adição de brometo de etídio, tanto ao gel, como ao tampão de processamento, irá resultar em níveis de deteção máximos, ao fornecer níveis elevados de fluorescência da amostra, com um nível de fundo uniformemente baixo.

5. Adicionar 6,6 ml do tampão de eletroforese 1X que contém o etídio, preparado na etapa 4, por cada milímetro de espessura de gel pretendida, até um máximo de 100 ml, ao frasco que contém a agarose. Uma solução de 100 ml de gel produzirá um gel de 7,6 mm de espessura. Poderão ser produzidos géis mais finos; no entanto, deve ser tido cuidado para que os poços sejam fundos o suficiente para acomodar o volume de amostra pretendido.

N.º do catálogo	Descrição do pente	Largura do poço	Volume de amostra de 1 mm
E0167	1 mm, 14 dentes	5 mm	5 ul
E0167	1 mm, 28 dentes	2,5 mm	2,5 ul
E0168	1 mm, 5 dentes	8 mm	8 ul
E0168	1 mm, 8 dentes	4 mm	4 ul

- 6. Tomar nota do volume total de solução, de forma a que o grau de evaporação possa ser determinado e corrigido.
- 7. Aquecer a pasta de agarose no micro-ondas durante 90 segundos. Agitar o frasco para se certificar de que quaisquer grãos colados às paredes são incorporados na solução. A agarose não dissolvida aparece como pequenas "lentes" a flutuar na solução. Aquecer por mais 30 60 segundos. Voltar a examinar a solução e repetir o processo de aquecimento, até que a agarose se dissolva completamente.
- 8. Adicionar água desionizada para repor qualquer volume perdido por evaporação, durante o processo de aquecimento.

Avançar para a Secção C, Etapa 1, "Moldagem do gel", na página 12.

B. Preparação do gel de agarose e tampão de eletroforese - ARN

As moléculas de ARN são separadas por eletroforese, através da desnaturação dos géis, antes da análise por hibridação de northern. Os géis de agarose que contêm formaldeído^(1, 2, 3) são vulgarmente utilizados para a eletroforese de ARN. É apresentado abaixo um protocolo geral para a eletroforese de ARN, utilizando géis de formaldeído.

CUIDADO!

Todo o equipamento e soluções usados no protocolo que se segue deverão ser tratados com DEPC (pirocarbonato de dietila), ou anidrido acético, antes de serem utilizados para inibir a atividade da RNase (ver a Secção II, página 4 do protocolo). Recomenda-se que as soluções dedicadas sejam preparadas apenas para o trabalho com ARN, de modo a minimizar o risco de degradação das amostras, devido a atividade da RNase.

NOTA:

A coloração de amostras de ARN com brometo de etídio foi reportada como redutora de eficiência de manchamento da amostra. Assim, se as amostras tiverem de ser analisadas por hibridação de northern após a eletroforese, efetuar via(s) duplicada(s) para o manchamento, ou minimizar a exposição de amostras de ARN ao brometo de etídio, seguindo o protocolo de manchamento, pós-eletroforese, da página 12.

O seguinte protocolo produzirá 50 ml de um gel de agarose a 1,5%, que irá conter tampão 1X MOPS [3-(N-morfolino)-ácido propanossulfónico]-Acetato-EDTA (MAE) e 2,2 M de formaldeído, resultando num gel de 7,5 mm de espessura:

- 1. Pesar 0,5 g de agarose e colocá-la num recipiente de 125 ml.
- 2. Adicionar 43,5 ml de água tratada com DEPC (ou anidrido acético).
- 3. Tomar nota do volume total de solução, de forma a que o grau de evaporação possa ser determinado e corrigido.
- 4. Aquecer a pasta de agarose no micro-ondas durante 60 segundos. Agitar o frasco para se certificar de que quaisquer grãos colados às paredes são incorporados na solução. A agarose não dissolvida aparece como pequenas "lentes" a flutuar na solução. Aquecer por mais 30 60 segundos. Voltar a examinar a solução e repetir o processo de aquecimento, até que a agarose se dissolva completamente.
- 5. Adicionar água desionizada para repor qualquer volume perdido por evaporação, durante o processo de aquecimento.
- 6. Permitir que a solução arrefeça até aos 60 °C. Colocar o frasco numa hotte e adicionar 5 ml de solução tampão 10X MAE (ver Anexo A para a receita), e 1,5 ml, com 37% de formaldeído.

CUIDADO: Os vapores de formaldeído são tóxicos. A preparação do gel deverá ter lugar numa hotte e as soluções e géis que contenham formaldeído deverão ser mantidas cobertas, sempre que possível.

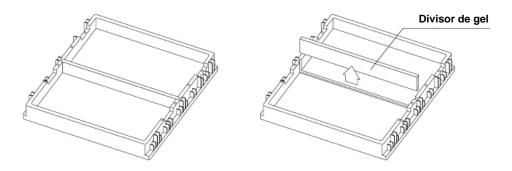
Avançar para a Secção C, Etapa 1, "Moldagem do gel", na página 12.

C. Moldagem do Gel

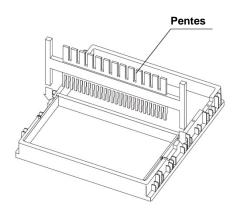
1. Colocar o suporte de moldagem do gel na bancada do laboratório.

CUIDADO! Moldar os géis de agarose que contenham formaldeído numa hotte.

 Inserir o tabuleiro de modelagem do gel no Suporte de moldagem. Se utilizar os géis de 12 x 6 cm, colocar o espaçador no centro do Suporte de moldagem, inserir os dois tabuleiros de géis horizontais de 12 x 6 cm (ver instrução 2 abaixo).



3. Quando a solução de gel tiver arrefecido a, aproximadamente, 55 °C, verter lentamente para dentro do tabuleiro de gel. Se, de modo rotineiro, forem vertidas soluções de gel a temperaturas superiores, o tabuleiro poderá ficar deformado com o tempo.



- 4. Se se formarem bolhas na superfície do gel, depois de este ser vertido, usar o pente para as rebentar, ou arrastá-las suavemente para as laterais do gel. Caso se permita que as bolhas endureçam no gel, estas poderão causar artefactos durante a eletroforese.
- 5. Inserir um ou mais pentes, colocando-os nas divisórias do suporte de moldagem. Para melhores resultados, colocar o

pente na divisória mais perto da extremidade de fixação da moldagem. Se pretender dois pentes, colocar o segundo no centro da divisória do pente.

6. Permitir que o gel endureça em repouso durante, pelo menos, 30 minutos.

D. Remoção do pente

1. Quando o gel estiver solidificado e totalmente opaco, remover cuidadosamente o pente agitando suavemente para cima. Se for difícil remover o pente, ou se estiver a ser utilizado um gel de percentagem baixa, poder-se-á sobrepor um pequeno volume de tampão de eletroforese 1X junto à área do pente, de modo a preservar a integridade dos poços. Verifique os poços, para se assegurar de que as suas bases estão intactas.

CUIDADO: A exposição prolongada dos pentes colocados nos géis que contenham formaldeído irá causar a sua degradação.

Certificar-se de que o(s) pente(s) são retirados dos géis com formaldeído assim que o endurecimento dos géis esteja completo e lavar bem antes do seu armazenamento.

Se o gel não se destina a ser utilizado imediatamente após a sua preparação, este deve ser retirado do molde e colocado num saco de plástico ou recipiente e submerso num tampão de eletroforese 1X contendo 1mM de NaN3. Armazenar a +4 °C.

E. Carregamento das amostras no gel

- Remover o tabuleiro de moldagem que contém o gel de agarose endurecido do molde, levantando as extremidades. Colocar o tabuleiro e gel na unidade de montagem principal, de forma a que as amostras estejam na mesma extremidade que o elétrodo negativo (preto).
- Preencher a unidade com o tampão de eletroforese 1X remanescente, que contém o brometo de etídio preparado anteriormente (ou tampão MAE 1x para géis de ARN), cobrindo o gel com uma espessura de 1-5 mm. Serão necessários, aproximadamente, 300 ml de tampão.

NOTA: É muito importante a utilização do mesmo lote de tampão de eletroforese, tanto para o gel, como para o tampão de processamento. Pequenas variações na composição do tampão, entre o gel e o tampão de processamento, poderão

resultar em gradientes iónicos ou de pH que podem ter um impacto significativo na mobilidade das amostras.

- 3. Fazer um pré-processamento dos géis de ARN a 100V durante cinco minutos, antes de carregar as amostras.
- 4. Carregar as amostras nos poços com uma micropipeta, ou dispositivo semelhante, tendo o cuidado de não perfurar o fundo dos poços, ou de carregar a amostra até ao topo do gel.

F. Ligações elétricas à tampa de segurança e

O Mini Gel II apenas pode ser operado com a tampa de segurança devidamente posicionada. A corrente elétrica é fornecida através dos elétrodos do tanque, até à fonte de alimentação, colocando a tampa no tanque e completando o circuito. Um conetor de gravidade simples na tampa assegura uma via de corrente completa; no entanto, também permite que a tampa seja removida da unidade, sem prejudicar as amostras carregadas.

- 1. Assegure-se de que a fonte de alimentação está desligada
- 2. Ligue as extremidades macho dos elétrodos preto (-) e vermelho (+) nos encaixes laterais da fonte de alimentação.
- 3. Após as amostras terem sido carregadas no gel, coloque a tampa sobre a unidade, de maneira a que a superfície de cobertura da tampa se alinhe com o tanque.
- 4. Pressione a tampa para baixo, para que assente perpendicularmente no tanque, sendo que a ligação se encontra na extremidade interna da tampa, onde se liga a fonte de alimentação.
- 5. Ligue a fonte de alimentação a uma tomada. Assegure-se de que é utilizada uma extensão elétrica que esteja de acordo com a voltagem regional padrão. A voltagem de entrada é detetada automaticamente pelo sistema. Não é necessário um transformador na Europa, assim como em qualquer outra região onde a voltagem padrão seja maior do que 100V.
- Configure o temporizador. Aumente ou diminua o valor com os botões Cima e Baixo. O temporizador pode ser configurado entre 1 min - 99 horas. Configure "--:--" para uma operação contínua.
- 7. Selecione a voltagem de saída necessária até 150 volts, ou 400mA.
- 8. Prima o botão iniciar/parar para iniciar o processamento.

Fazer pausa num processamento e modificar os parâmetros.

 Para fazer pausa no processamento, prima o botão Processar/Pausa uma vez. Durante o modo de pausa a intensidade da voltagem ou o tempo podem ser modificados, assinalando a função e utilizando as teclas com setas e premindo a tecla modo. Após efetuar as modificações, poderá premir novamente o botão iniciar para continuar o processamento.

2. Para parar o processamento prima o botão processar/parar durante 3 segundos. Irá aparecer "Parar" (Stop) no monitor.

CUIDADO:

Não abane ou bata na caixa de gel, uma vez colocada a tampa. O interruptor de segurança funciona através de um sensor de efeito "Hall", que assenta num íman colocado na tampa. Ao mover a caixa de gel poderá mover também a tampa e fazer com que a unidade faça pausa até que a tampa seja recolocada na posição correta.

G. Eletroforese da amostra

A voltagem máxima sugerida aplicada à eletroforese de ADN em géis de agarose, utilizando o Gel XL é de **150** volts. Num gel TBE a 1%, isto traduz-se num tempo de processamento de, aproximadamente, 1 hora. Poderão ser utilizadas voltagens mais baixas, é claro; e, regra geral, um processamento a 70 voltes levará o dobro do tempo, do que um processamento a 140V. Poderão ser utilizadas voltagens mais elevadas para diminuir o tempo de processamento; no entanto, se a unidade estiver a funcionar com voltagens mais altas do que 140V, o calor gerado durante a eletroforese poderá diminuir a resolução da amostra. Tais artefactos poderão ser evitados, processando a unidade numa sala refrigerada, ou adicionando "cubos de gelo" de tampão de eletroforese 1X, de forma a manter a unidade devidamente fresca.

CUIDADO: NÃO EXCEDER A VOLTAGEM DE FUNCIONAMENTO MÁXIMA DE 150 VOLTS.

Os parâmetros de processamento sugeridos para a eletroforese de ARN em géis de agarose que contenham formaldeído é de 60 - 80 Voltes.

CUIDADO: Os vapores de formaldeído são tóxicos. A eletroforese de ARN em géis que contenham formaldeído deve ser realizada numa hotte.

Siga a migração da amostra para o gel, utilizando o corante de carregamento como indicador. (Ver Anexo A para a receita de Tampão de Carregamento de Amostras.) Permita que as amostras migrem, até que os fragmentos se tenham separado; normalmente, até que a frente do corante azul de bromofenol tenha migrado 3/4 do caminho ao longo do gel.

NOTA:

Se o gel contiver brometo de etídio, o progresso da eletroforese poderá ser monitorizado durante o processamento, desligando a fonte de alimentação, removendo a tampa, e expondo o gel a uma luz UV de onda média. As bandas resolvidas irão aparecer como bandas laranja, contra um fundo roxo escuro.

H. Deteção e Documentação de Fragmentos Separados

- No término do processamento, desligue a fonte de alimentação e desligue a extensão elétrica. Remova a tampa e o tabuleiro de gel. Alternativamente, todo o tanque poderá ser colocado num Transiluminador
- Para corar géis de ARN que contenham formaldeído após a eletroforese, embeba o gel em 1 litro de água tratada com DEPC durante a noite, à temperatura ambiente. Transfira o gel para uma solução de 20X SSC, contendo 0,5μg/ml de brometo de etídio, corando por 5 - 10 minutos.
- 3. As amostras com brometo de etídio corado são visualizadas, expondo-as a uma luz UV de comprimento de onda médio (312nm). Porque o tabuleiro de modelagem do gel não transmite luz UV, o gel não precisa de ser removido do tabuleiro antes da visualização. Coloque o tabuleiro de modelagem do gel que contém o gel na superfície do filtro de um Transiluminador UV para uma visualização apropriada.
- 3. Os padrões de formação de bandas das amostras poderão ser documentados por autorradiografia

I. Guia para resolução de problemas

Problema	Causa	Solução
O ecrã LCD está em branco	A ficha elétrica não está ligada	Verifique as ligações da ficha elétrica em ambas as extremidades. Utilize as extensões corretas.
	O interruptor elétrico não está ligado	Experimente o interruptor elétrico
A operação para com um alarme: O ecrã mostra "CARREGAR"	O tanque de eletroforese não está ligado à fonte de alimentação, ou existe uma quebra no circuito na célula de eletroforese	Verifique as ligações à fonte de alimentação e na sua célula de eletroforese, para se assegurar de que a ligação está intacta; verifique a condição dos fios na unidade de eletroforese. Feche o circuito, voltando a ligar os cabos. Pressione PROCESSAR/PAUSA para reiniciar o processamento.

	Concentração do tampão incorreta	Substitua o tampão
A operação	A tampa foi removida	 Verifique se a tampa está colocada de
para com um	durante um	forma correta
alarme: O ecrã	processamento	 Verifique se todas as ligações estão
mostra "Tampa"		feitas corretamente
		 pressione o botão
		PROCESSAR/PAUSA para reiniciar
Outro erro		 Desligue a corrente elétrica, desligue
		a ficha elétrica da tomada, e contacte
		os Serviços Técnicos

IV. ANEXOS

A. Tampões para Eletroforese

Tampão de Tris-Acetato-EDTA (TAE):

<u>Concentração de Trabalho 1X</u>: <u>Solução em Stock 10X</u>:

Base Tris 40 mM Base Tris 48,4 g

Ácido Acético Glacial 20mM (NaOAc) 16,4 g <u>ou</u> 11,42 ml NaOAc EDTA 2,0 mM pH 8.3 7,4 g EDTA <u>ou</u> 20 ml EDTA

0,5 M (pH 8.0)

H2O para 1 litro

<u>Tampão de Tris-Borato-EDTA (TBE)</u>:

Concentração de Trabalho 1X: Solução em Stock 10X:

Base Tris 89 mM Base Tris 108 g Ácido Bórico 89 mM 55 g Ácido Bórico

EDTA 2,0mM pH 8.0 6,72 g EDTA ou 40 ml EDTA

0,5M (pH 8.0) H2O para 1 litro

Tampão de Processamento para eletroforese ARN

MOPS Acetato EDTA (MAE):

Soluções que contenham MOPS devem ser envolvidas em folha de alumínio e armazenadas à temperatura ambiente. O tampão tende a ficar amarelo com o tempo. Poderá ser utilizado tampão amarelo claro; no entanto, as soluções amarelo escuro devem ser desprezadas.

Concentração de Trabalho 1X: Solução em Stock 10X:

MOPS 20 mM (pH 7.0) 41,8 g MOPS

NaOAc 8 mM 800 ml H2O tratada com DEPC EDTA 1 mM (pH 8.0) ajustar o pH para 7 com o NAOH

e adicionar:

16,6 ml de NaOAc tratado com DEPC 3M 20,0 ml EDTA tratado com DEPC 0,5 M, pH 8, até 1,0 litro e filtrar

Soluções que contenham MOPS devem ser envolvidas em folha de alumínio e armazenadas à temperatura ambiente. O tampão tende a ficar amarelo com o tempo. Poderá ser utilizado tampão amarelo claro; no entanto, as soluções amarelo escuro devem ser eliminadas.

<u>Tampão de Carregamento de</u> <u>Amostras de ADN</u> <u>Tampão de Carregamento de</u> <u>Amostras de ARN</u>

Solução em Stock 10X:

Glicerol 50% Na3EDTA 100 mM SDS 1% Azul de bromofenol 0,1% EDTA 1 mM, pH 8.0 Azul de Bromofenol 0,25% Cianol de Xileno 0,25% Glicerol 50% pH 8.0

Solução em Stock 5X:

B. Propriedades Físicas dos Plásticos Eletroforéticos

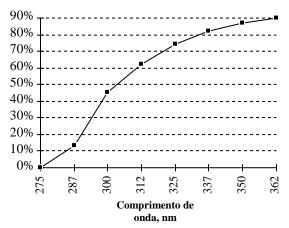


Figura A: Características de Transmissão de UV do Tabuleiro de Gel UV

O tabuleiro transmissor de UV é ideal para a monitorização da progressão da eletroforese, sem a remoção do gel do tabuleiro. A Figura A acima delineia de forma clara as especificações de absorção do tabuleiro de plástico transmissor de UV do gel. A transmissão mínima pode ser vista abaixo

V. REFERÊNCIAS

- 1. Lehrach, H., et al. 1977. *Biochemistry* **16:**4743.
- 2. Sambrook, J., Fritsch, E.F., and Maniatis, T., (1989). Molecular Cloning, A Laboratory Manual, vol 1. Cold Spring Harbor Press, New York.
- 3. Selden, R.F. (1988) Analysis of RNA by Northern Hybridization," em *Current Protocols in Molecular Biology*, F.M. Ausubel, et. al, editors, volume 1, p.4.9.1. Green Publishing Associates and Wiley-Interscience.

Apoio Técnico e Serviços de Informação:

A nossa equipa está disponível para o aconselhar relativamente a quaisquer questões que tenha sobre os nossos produtos, ou a sua aplicação específica.

Para Apoio Técnico e Informação

Por favor, contacte e seu Distribuidor Selecionado BioProducts

Símbolos e convenções

O gráfico seguinte é um glossário ilustrado dos símbolos que poderão ser utilizados neste manual, ou no produto.

A	A advertência elétrica indica a presença de um risco potencial que poderá resultar em choque elétrico.
<u>^</u>	CUIDADO Este símbolo reporta-o a instruções importantes de operação e manutenção (serviço), dentro do Manual de Instruções do produto. A falha em tomar em atenção esta informação poderá representar um risco de dano ou lesão em pessoas, ou no equipamento.
	Este símbolo identifica um terminal de Terra Protetor (TP), fornecido para ligação do condutor terra protetor (verde, ou verde/amarelo) do sistema de alimentação.
	Este símbolo indica isolamento duplo - nenhuma peça de reposição.

DESCARTAR O EQUIPAMENTO-REGULAMENTOS EUROPEUS



De acordo com a Diretiva 2012/19/EU do Parlamento Europeu e do Conselho de 4 de julho de 2012 sobre Resíduos de Equipamentos Elétricos e Eletrónicos (REEE), os Select BioProducts MiniGel II estão marcados com o caixote do lixo com uma cruz e não podem ser eliminados com resíduos domésticos.

Consequentemente, o comprador irá seguir as instruções para reutilização e reciclagem de resíduos de equipamentos eletrónicos e elétricos (REEE), fornecidas com os produtos e disponíveis na seguinte ligação:

www.corning.com/weee

A Select BioProducts garante que este produto será livre de defeitos materiais e de fabrico por um período de um (1) ano desde a data de compra. Esta garantia é válida apenas se o produto for utilizado para o seu propósito e dentro das linhas de orientação especificadas no manual de instruções fornecido.

Se este produto necessitar de algum tipo de serviço, contacte o departamento de Serviços da Select BioProducts, através do número 732-417-0700, para receber um número de autorização de devolução e instruções de envio. Os produtos recebidos sem a devida autorização serão devolvidos. Todos os itens devolvidos para serviço devem ser enviados através de um serviço de correio pré-pago, na sua embalagem original, ou outra embalagem de cartão apropriada, almofadadas de modo a prevenir danos. A Select BioProducts não será responsável por danos incorridos devido a uma embalagem inadequada. A Select BioProducts poderá eleger um serviço prestado no local para equipamentos de maior dimensão.

Esta garantia não cobre danos causados por acidente, negligência, mau uso, serviço inadequado, causas naturais, ou outras causas não relacionadas com defeitos no material ou fabrico originais. Esta garantia não cobre escovas do motor, fusíveis, lâmpadas, baterias, ou danos na pintura, ou acabamentos. Queixas por danos no transporte deverão ser submetidas à empresa transportadora.

TODAS AS GARANTIAS, INCLUINDO A GARANTIA IMPLÍCITA DE COMERCIABILIDADE E ADEQUAÇÃO PARA UM PROPÓSITO PARTICULAR SÃO LIMITADAS, COM UMA DURAÇÃO DE 12 MESES DESDE A DATA ORIGINAL DE COMPRA.

A ÚNICA OBRIGAÇÃO DA SELECT BIOPRODUCTS, AO ABRIGO DESTA GARANTIA, ESTÁ LIMITADA À REPARAÇÃO OU SUBSTITUIÇÃO, SOB DECISÃO DA SELECT BIOPRODUCTS, DE UM PRODUTO COM DEFEITO. A SELECT BIOPRODUCTS NÃO É RESPONSÁVEL POR DANOS ACIDENTAIS OU CONSEQUENCIAIS, PERDA COMERCIAL, OU QUAISQUER OUTROS DANOS RESULTANTES DA UTILIZAÇÃO DESTE PRODUTO.

Alguns estados não permitem a limitação na duração de garantias implícitas, ou a exclusão ou limitação de danos acidentais ou consequenciais. Esta garantia dá-lhe direitos legais específicos. Poderá ter outros direitos, os quais poderão variar de estado para estado.

Nenhum indivíduo poderá aceitar pela, ou em nome da Select BioProducts., qualquer outra obrigação de responsabilidade, ou estender o período desta garantia.

Por favor, registe o seu produto online, em: www.selectbioproducts.com

Garantia/Aviso Legal: A menos que especificado de forma contrário, todos os produtos destinam-se apenas a uso para investigação. Não é adequado para utilização em diagnóstico, ou procedimentos terapêuticos. A Select BioProductsl não se responsabiliza sobre o desempenho destes produtos em aplicações clínicas ou de diagnóstico.

NOTAS

