

Possíveis problemas em eletroferogramas

Profª Desirrê Petters-Vandresen

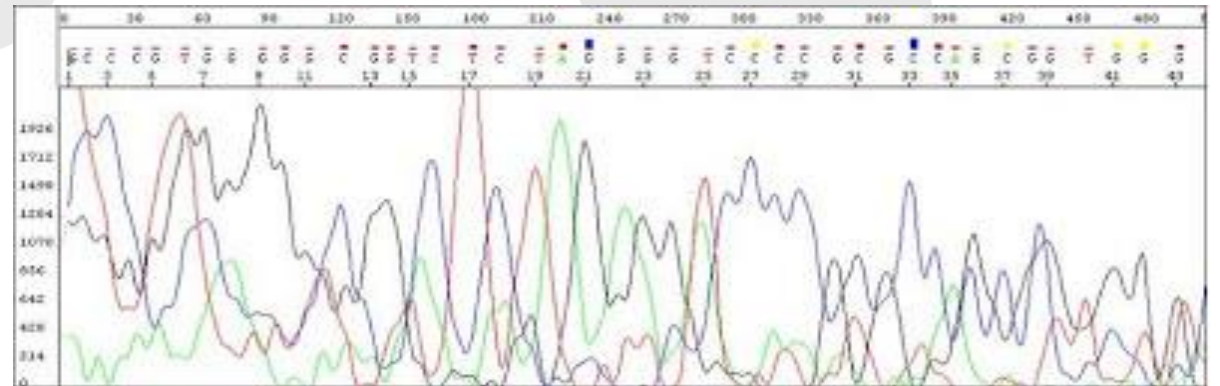
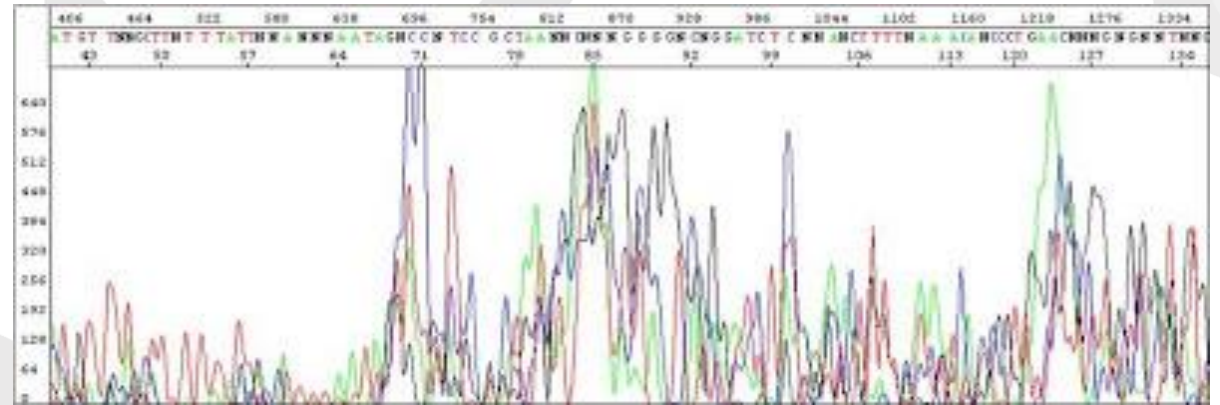
07/03/2023

Por que os eletroferogramas merecem uma atenção especial?

- Informações sobre a corrida: desenvolvimento de estratégias para contornar os problemas e melhorar os resultados
- Num cenário ideal:
 - Produto de PCR bem purificado, sem amplificações inespecíficas
 - Quantidade de “DNA molde” adequada à reação de sequenciamento
 - Processo de purificação sem perda do material

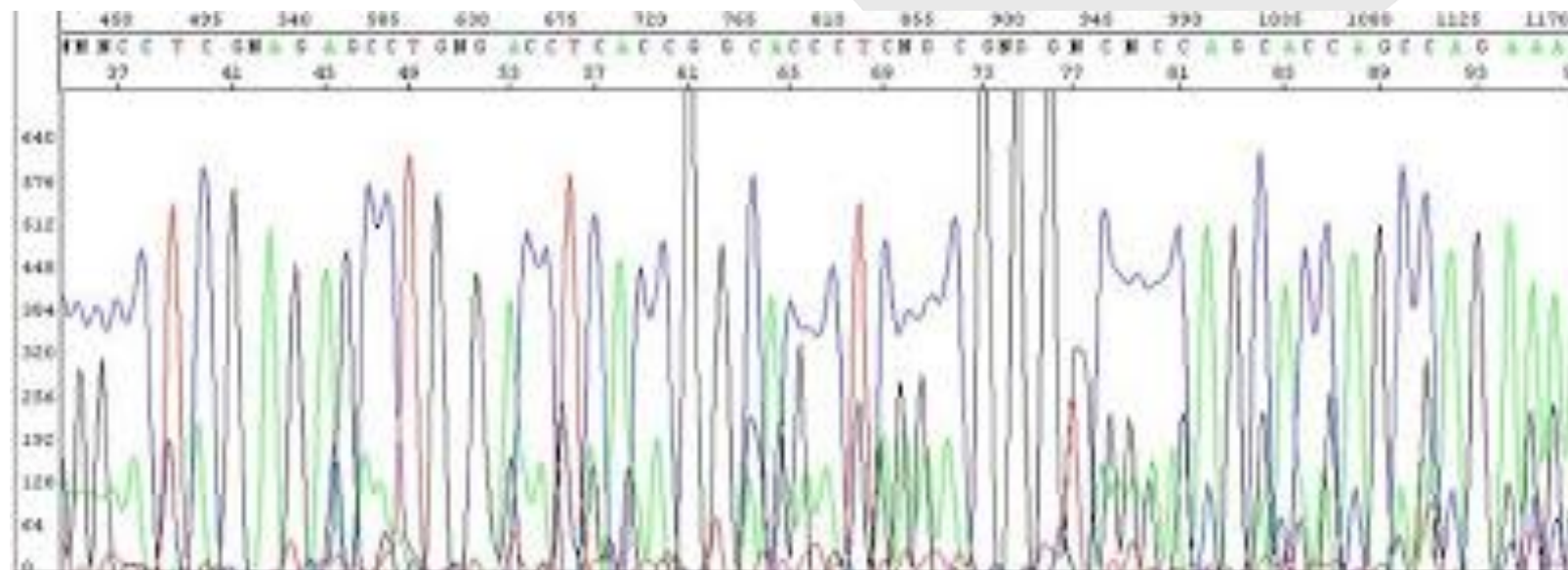
Sinal muito baixo

- Sinal baixo se confunde com o background e impede a determinação da sequência



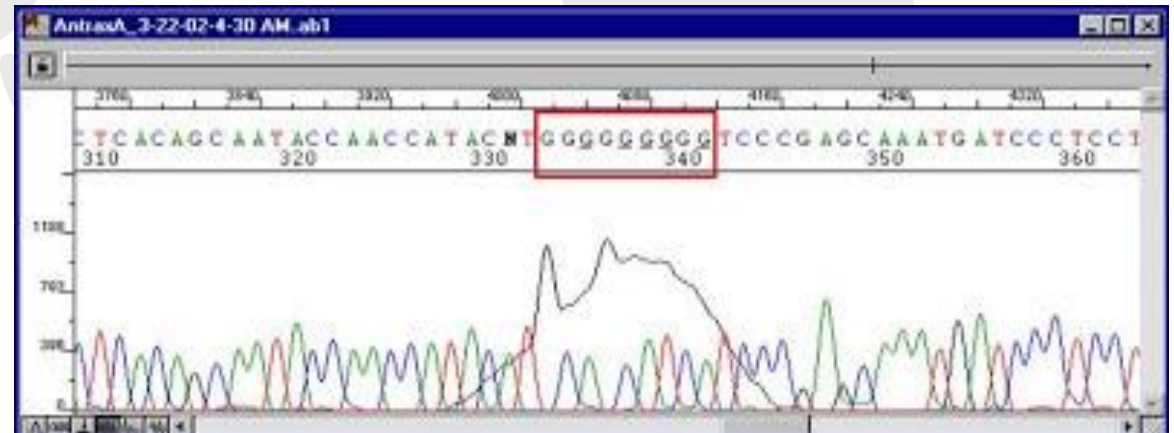
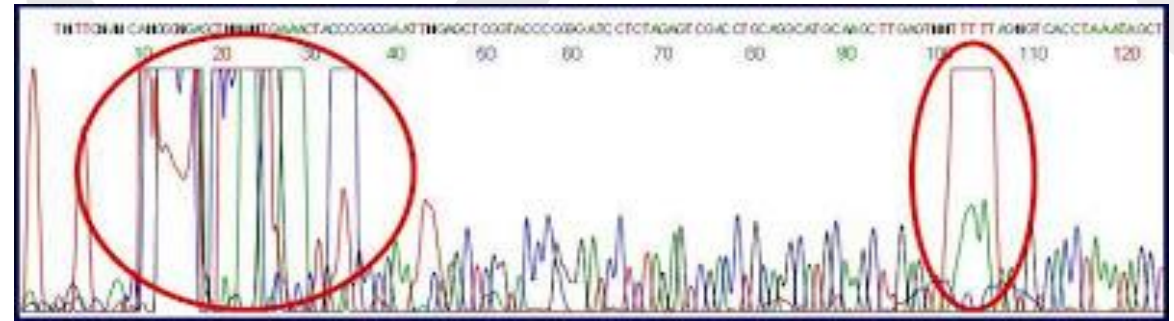
Sinal muito alto

- Prejudica a análise espectral e gera excesso de ruído (falsos picos)



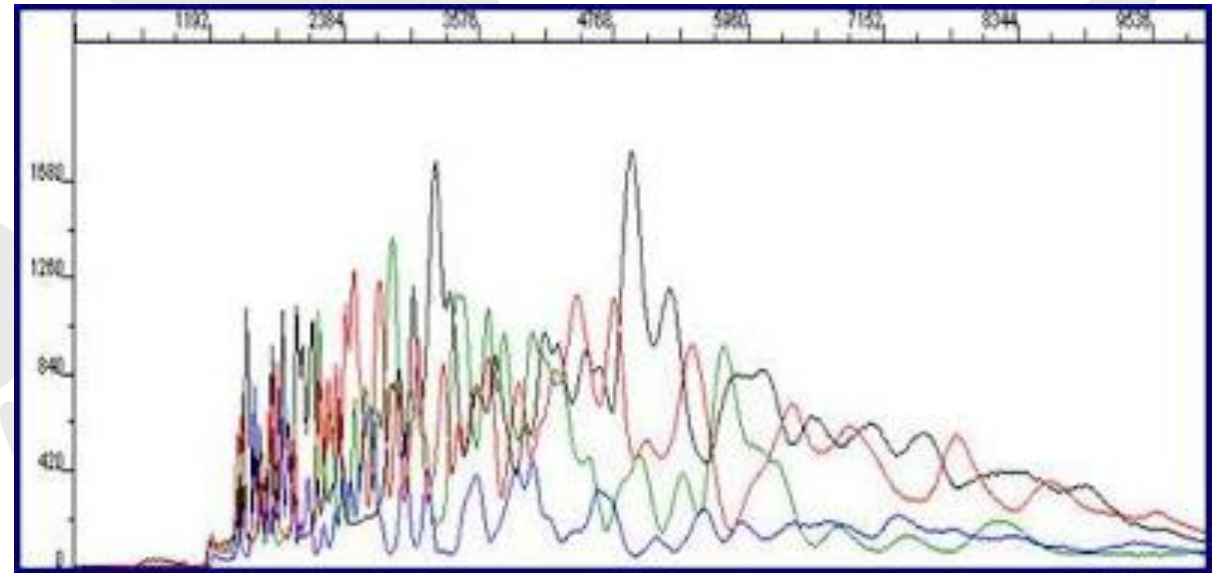
Contaminação por etanol

- Problemas de purificação do material e permanência de etanol geram “manchas” ao longo da sequência e erros na determinação das bases



Sujeira no capilar

- Picos inicialmente agudos, depois gradualmente alargados e arrastados quando o capilar está entupido
- Causas comuns: proteínas e outros resíduos da extração de DNA



Degradação de formamida

- Formamida degradada impede a captura adequada da fluorescência e a migração correta dos fragmentos no capilar

