



Possíveis problemas em eletroferogramas

26/10/2020

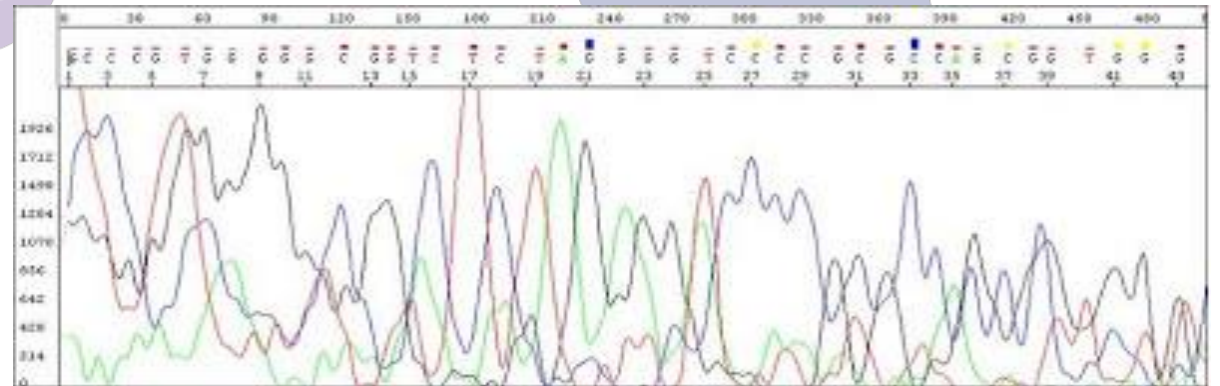
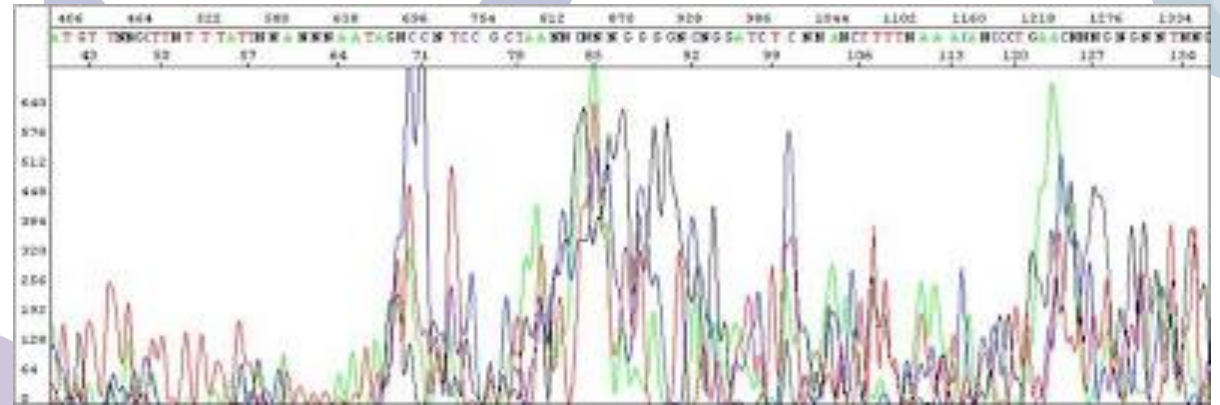
Por que os eletroferogramas merecem uma atenção especial?

A decorative background featuring a stylized, light blue, abstract figure that resembles a person with arms raised, positioned on the right side of the slide. To the left of the figure, there are four circular icons representing DNA bases: a brown circle with a white 'T', a green circle with a white 'C', a light blue circle with a white 'G', and a purple circle with a white 'A'.

- 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

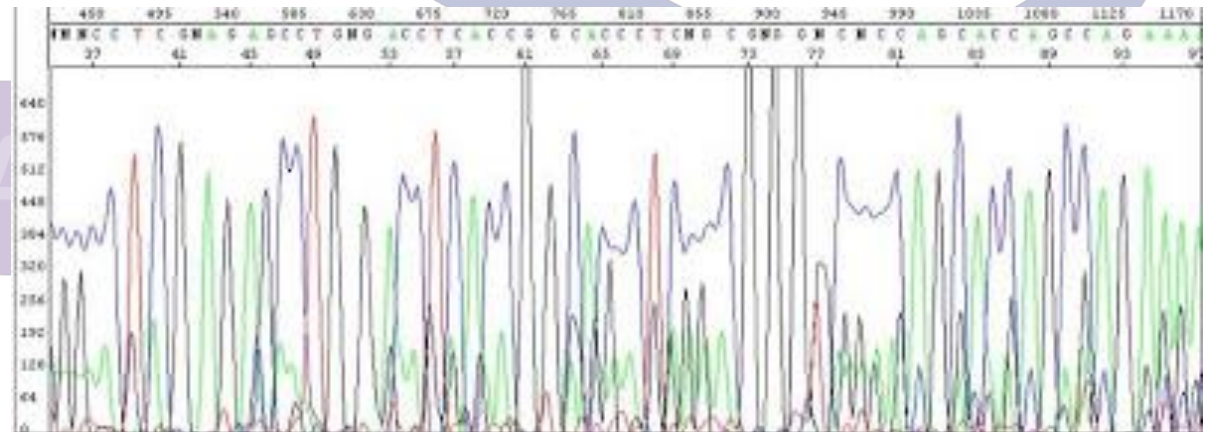
Sinal muito baixo

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



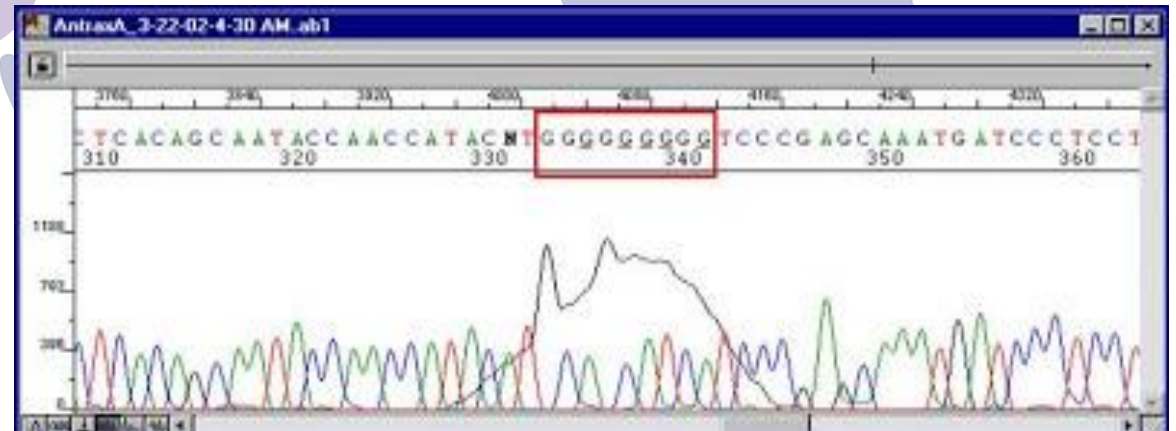
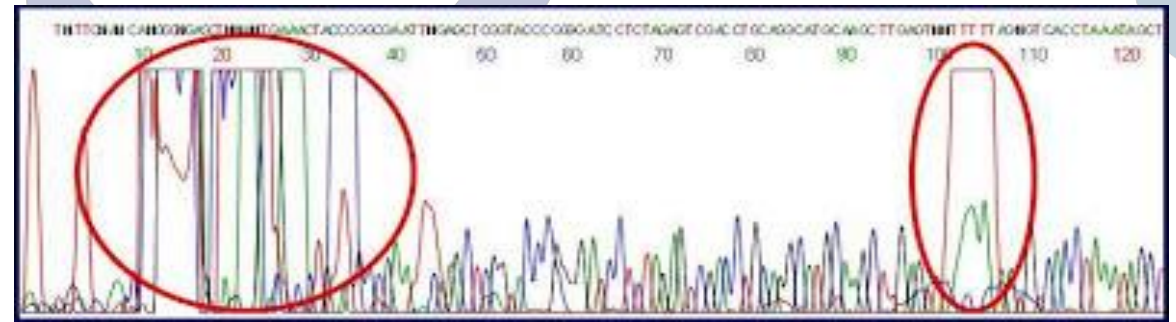
Sinal muito alto

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



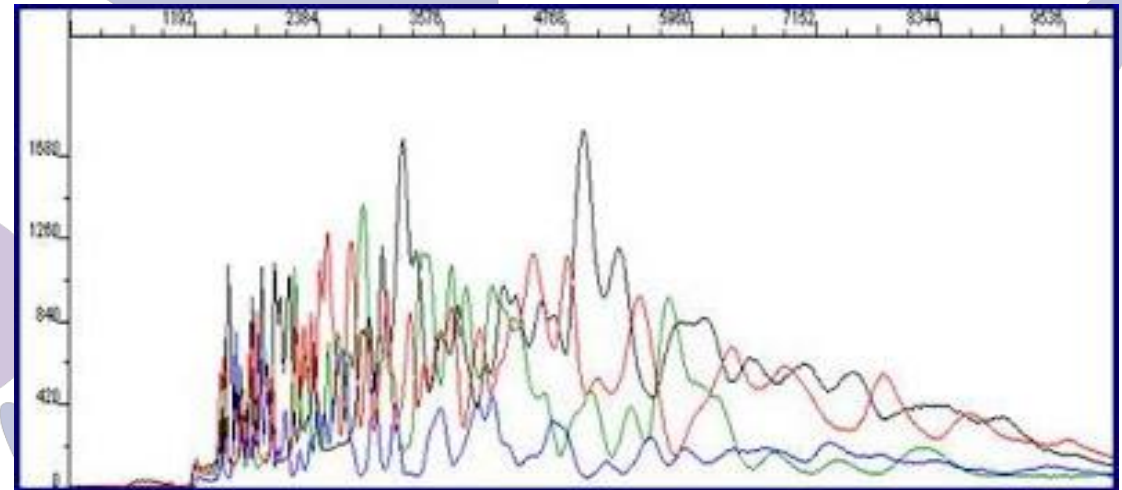
Contaminação por etanol

- 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

