



PEPAB

Plataforma de Expressão, Purificação
e Análise de Biomoléculas

UTILIZAÇÃO DO EQUIPAMENTO NANODROP ONE (THERMO SCIENTIFIC)

Atualizado em 16 de abril de 2021

1. Sobre a localização dos aparelhos:

A Plataforma de Expressão, Purificação e Análise de Biomoléculas (PEPAB) do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) conta com um aparelho Nanodrop One (Thermo Scientific).

O equipamento está localizado na sala G0-032 (subsolo do bloco G), no Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFRJ, situado na Ilha do Fundão.

2. Sobre o aparelho Nanodrop One:

O NanodropOne é um espectrofotômetro com capacidade de leitura e quantificação de diversas amostras (190-850 nm) e realização de diferentes análises, tais como:

- quantificação e determinação da pureza de ácidos nucleicos (260 nm);
- quantificação de peptídeos (205 nm) e proteínas purificadas (280 nm);
- ensaios colorimétricos de proteínas (BCA 562 nm, Bradford 595 nm, Modified Lowry 650 nm, Pierce 660 660 nm);
- acompanhamento da densidade óptica de amostras.

Os limites de detecção do equipamento, a depender de cada tipo de amostra, podem ser vistos a seguir.

2.1 Limites de detecção para as metodologias padrão

Amostra	Limite de detecção inferior	Limite de detecção superior	Reprodutibilidade
dsDNA	2,0 ng/μL	27.500 ng/μL	±2,0 ng/μL para concentrações de amostras entre 2,0 e 100 ng/μL ±2% para amostras >100 ng/μL
ssDNA	1,3 ng/μL	18.150 ng/μL	±2,0 ng/μL para concentrações de amostras entre 2,0 e 100 ng/μL ±2% para amostras >100 ng/μL
RNA	1,6 ng/μL	22.000 ng/μL	±2,0 ng/μL para concentrações de amostras entre 2,0 e 100 ng/μL ±2% para amostras >100 ng/μL
DNA Microarray (ssDNA)	1,3 ng/μL	495 ng/μL	±2,0 ng/μL para concentrações de amostras entre 2,0 e 100 ng/μL ±2% para amostras >100 ng/μL
Purified BSA by Protein A280	0,06 mg/mL	825 mg/mL	±0,10 mg/mL (para amostras entre 0,10–10 mg/mL); ±2% para amostras >10 mg/mL
IgG by Protein A280	0,03 mg/mL	402 mg/mL	
Purified BSA by Proteins & Labels	0,06 mg/mL	19 mg/mL	±0.10 mg/mL for 0.10–10 mg/mL samples
Protein Lowry	0,2 mg/mL	4,0 mg/mL	2% em toda a faixa de detecção
Protein BCA	0,2 mg/mL (20:1 reagent/sample volume) 0.01 mg/mL (1:1 reagent/sample volume)	8,0 mg/mL	2% em toda a faixa de detecção
Protein Bradford	100 μg/mL (50:1 reagente/ volume amostra)	8000 μg/mL	±25 μg/mL para amostras 100–500 μg/mL / ±5% para amostras 500–8000 μg/mL
	15 μg/mL (1:1 reagente/ volume amostra)	100 μg/μL	±4 μg/mL para amostras 15–50 μg/mL / ±5% para amostras 50–125 μg/mL
Protein Pierce 660	50 μg/mL (15:1 reagente/ volume amostra)	2000 μg/mL	±3 μg/mL para amostras 50–125 μg/mL / ±2% para amostras > 125 μg/mL
	25 μg/mL (7.5:1 reagente/ volume amostra)	1000 μg/mL	±3 μg/mL para amostras 25–125 μg/mL ±2% para amostras >125 μg/mL

2.2 Limites de detecção para fluoróforos pré-definidos

Amostra	Limite de detecção inferior	Limite de detecção superior	Reprodutibilidade
Cy3, Cy3.5, Alexa Fluor 555, Alexa Fluor 660	0,2 pmol/μL	100 pmol/μL	±0,20 pmol/μL para concentrações de amostra entre 0,20 and 4,0 pmol/μL; ±2% para amostras >4,0 pmol/μL
Cy5, Cy5.5, Alexa Fluor 647	0,12 pmol/μL	60 pmol/μL	±0,12 pmol/μL para concentrações de amostra entre 0,12 and 2,4 pmol/μL; ±2% para amostras >2,4 pmol/μL
Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 594	0,4 pmol/μL	215 pmol/μL	±0,40 pmol/μL para concentrações de amostra entre 0,40 and 8,0 pmol/μL; ±2% para amostras >8,0 pmol/μL
Alexa Fluor 546	0,3 pmol/μL	145 pmol/μL	±0,30 pmol/μL para concentrações de amostra entre 0,30 and 6,0 pmol/μL; ±2% para amostras >6,0 pmol/μL

3. Sobre o agendamento:

Para agendar o uso do Nanodrop One, o usuário deve inicialmente solicitar o cadastro enviando mensagem eletrônica para pepab@biof.ufrj.br. O agendamento para utilização do equipamento será feito online, através do booked (<https://agendacmdfa.biof.ufrj.br>). Cada usuário é responsável pelo agendamento de seus experimentos.

O Nanodrop One situado na PEPAB é multiusuário e deve atender o maior número possível de usuários. Assim, contamos com o uso consciente do aparelho, que deve ser reservado apenas pelo período de tempo necessário para a realização das análises.

4. Sobre o uso do aparelho:

Após o cadastramento, o usuário terá acesso à ferramenta de agendamento online booked (<https://agendacmdfa.biof.ufrj.br>). Todo uso do Nanodrop One deve ser registrado previamente no booked.

O treinamento para uso do equipamento, se necessário, deve ser acordado previamente com a Carolina Goulart, técnica da PEPAB, por meio do e-mail pepab@biof.ufrj.br.

5. Sobre a extração dos resultados:

A fim de evitar danos ao aparelho, solicitamos que não sejam utilizados pendrives para salvar os dados dos experimentos. Em experimentos complexos, caso seja extremamente necessário, o usuário deve usar um pendrive formatado e livre de vírus para extrair os dados do aparelho.

Para análises mais simples, os resultados devem ser anotados ou, alternativamente, fotografados ao final do experimento com a câmera do smartphone do usuário.

A PEPAB não se responsabiliza pelos dados mantidos no aparelho.

6. Sobre o custo para utilização dos aparelhos:

De forma a arcar com os custos de operação do equipamento (manutenções e visitas técnicas para eventual conserto, por exemplo), o custo de uma hora de utilização será de R\$ 2,00, com tempo mínimo de utilização de 15 minutos (cobrança a partir de 3 de maio de 2021).

Esse valor poderá ser pago através de depósito do valor devido diretamente na conta da Unidade, que é gerenciada por uma fundação de apoio a pesquisa. Após o pagamento, será emitida uma nota fiscal de serviços eletrônica. Informações detalhadas acerca do pagamento por essa via serão fornecidos pela empresa de apoio, na época da cobrança.

7. Sobre dúvidas e demandas específicas:

Caso ainda restem dúvidas ou outras questões particulares, a equipe técnica e gestora da PEPAB está à disposição para esclarecimentos por meio dos seguintes canais de atendimento:

e-mail: pepab@biof.ufrj.br

WhatsApp: (21)99981-0217 (este número não recebe ligações)

A equipe técnica e gestora da PEPAB é composta por:

Docentes:

Norton Heise (Coordenador)

Ana Carolina Oliveira

Eleonora Kurtenbach

Gilberto Weissmüller

Rodrigo Soares Fortunato

Ronaldo da Silva Mohana Borges

Técnica:

Carolina Lage Goulart (Biomédica)