

	<p style="text-align: center;">UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA – U.F.J.F.          INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – I.C.B.  <b>LABORATÓRIO INTEGRADO DE PESQUISA DO PROGRAMA          DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS</b>          Campus Universitário – Pórtico de São Pedro          CEP: 36036-330 – Juiz de Fora – MG          Tel: (32) 2102-6371</p>	
<p style="text-align: center;"><b>POP EQU NÚMERO</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>Espectrofotômetro Nanodrop Lite Thermo Scientific</b></p>	<p>Emissão: 09/2021          Revisão: 09/2024          Versão: 01</p>
<p><b>Palavra-Chave:</b> Espectrofotometria UV; dosagem de ácidos nucleicos e proteínas</p>		<p>Pág. 1 de 9</p>

## 1. OBJETIVO

- 1.1. Orientar e padronizar o Manuseio do Espectrofotômetro Nanodrop Lite, localizado no Laboratório Integrado de Pesquisa (LIP) do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (PPGCBio).

## 2. DEFINIÇÕES

- 2.1. Espectrometria - técnica analítica quantitativa e qualitativa, que permite a determinação da quantidade de soluto (DNA, RNA ou proteínas) em uma amostra, por meio da determinação da absorbância, e conseqüente aplicação da lei de Lambert-Beer.
- 2.2. Espectrofotômetro - equipamento utilizado para obtenção das leituras de espectrometria

## 3. RESPONSABILIDADES

- 3.1. Elaboração: Técnica/o do Laboratório Integrado de Pesquisa do PPG – CBIO;
- 3.2. Revisão Técnica/o do Laboratório Integrado de Pesquisa do PPG – CBIO;
- 3.3. Aprovação: Professor(a) Responsável pelo Laboratório Integrado de Pesquisa do PPG – CBIO;
- 3.4. Execução: Professores/Pesquisadores, Alunos de Mestrado, Doutorado e Pós Doutorado, Alunos de Iniciação Científica acompanhados, Funcionários do setor e quaisquer outros que possuam uma permissão.

## 4. DISTRIBUIÇÃO

- 4.1. Laboratório Integrado de Pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – ICB-UFJF.

<p>Elaboração:</p> <p style="text-align: center;">_____          Rogério Lauria          __/__/__</p>	<p>Revisão:</p> <p style="text-align: center;">_____          Bárbara Penido          __/__/__</p>	<p>Revisão:</p> <p style="text-align: center;">_____          __/__/__</p>	<p>Aprovação:</p> <p style="text-align: center;">_____          Jacy Gameiro          __/__/__</p>
---	--	--	--

	UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA – U.F.J.F. INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – I.C.B. <b>LABORATÓRIO INTEGRADO DE PESQUISA DO PROGRAMA          DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS</b> Campus Universitário – Pórtico de São Pedro CEP: 36036-330 – Juiz de Fora – MG Tel: (32) 2102-6371	
	<b>POP EQU NÚMERO</b>	<b>Espectrofotômetro Nanodrop Lite Thermo Scientific</b>
		Emissão: 09/2021 Revisão: 09/2024 Versão: 01
<b>Palavra-Chave:</b> Espectrofotometria UV; dosagem de ácidos nucleicos e proteínas		Pág. 2 de 9

## 5. MATERIAL NECESSÁRIO

- 5.1. Pipeta de escala final de 2 µL ou 10 µL, com as respectivas ponteiros descartáveis.
- 5.2. Solução contendo a amostra a ser quantificada.
- 5.3. Solução utilizada para ressuspender o material a ser quantificado, para medida do branco.

## 6. DESCRIÇÃO DO EQUIPAMENTO

- 6.1. A voltagem do aparelho é **110V**;
- 6.2. Os dados técnicos do equipamento são:

Volume para medições	1 a 2 µL
Comprimento de onda de leitura	260 nm (ácidos nucleicos) 280 nm (proteínas)
Límites de leitura para ácidos nucleicos	DNA fita simples (4 ng/µL a 1500 ng/µL) DNA fita dupla (2,6 ng/µL a 900 ng/µL) RNA (3,2 ng/µL a 1200 ng/µL)
Límites de leitura para proteínas	Geral (0,08 mg/mL a 30 mg/mL) BSA (0,12 mg/mL a 45 mg/mL) IgG (0,06 mg/mL a 21 mg/mL)

- 6.3. A Figura 1, a seguir, apresenta o equipamento sobre a bancada:

Elaboração:  _____ Rogério Lauria ____/____/____	Revisão:  _____ Bárbara Penido ____/____/____	Revisão:  _____ ____/____/____	Aprovação:  _____ Jacy Gameiro ____/____/____
--	---	---	---

	UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA – U.F.J.F. INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – I.C.B. <b>LABORATÓRIO INTEGRADO DE PESQUISA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS</b> Campus Universitário – Pórtico de São Pedro CEP: 36036-330 – Juiz de Fora – MG Tel: (32) 2102-6371	
	<b>POP EQU NÚMERO</b> <b>Espectrofotômetro Nanodrop Lite Thermo Scientific</b>	Emissão: 09/2021 Revisão: 09/2024 Versão: 01
<b>Palavra-Chave:</b> Espectrofotometria UV; dosagem de ácidos nucleicos e proteínas		Pág. 3 de 9

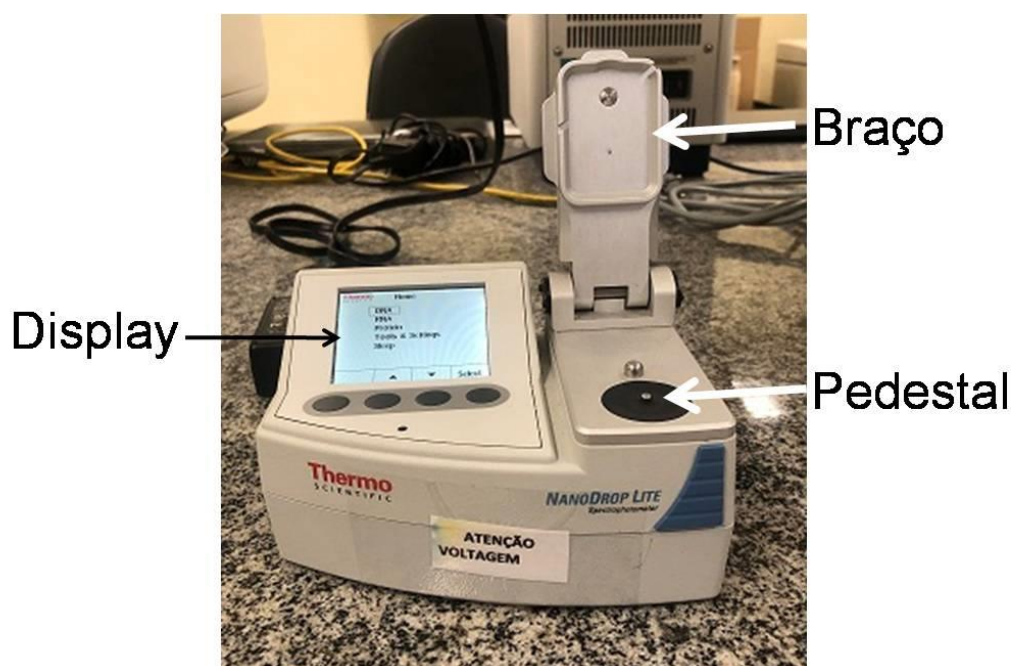


Figura 1 - Nandrop Lite, sobre a bancada.

## 7. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

7.1. O manipulador deve estar paramentado conforme POP GQU 001 – PARAMENTAÇÃO E ENTRADA/SAÍDA DO LABORATÓRIO, e ter higienizado as mãos de acordo com o POP GQU 002 – HIGIENIZAÇÃO DAS MÃOS

7.2. Ligar o aparelho na alimentação **110V** (não há nenhum botão para ligar).

7.3 Aguardar o aparecimento do menu Iniciar (Figura 2).

Elaboração:  <hr/> Rogério Lauria __/__/__	Revisão:  <hr/> Bárbara Penido __/__/__	Revisão:  <hr/> __/__/__	Aprovação:  <hr/> Jacy Gameiro __/__/__
---	--	--------------------------------	--

	<p style="text-align: center;">UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA – U.F.J.F. INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – I.C.B. <b>LABORATÓRIO INTEGRADO DE PESQUISA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS</b> Campus Universitário – Pórtico de São Pedro CEP: 36036-330 – Juiz de Fora – MG Tel: (32) 2102-6371</p>	
<p><b>POP EQU NÚMERO</b></p>	<p><b>Espectrofotômetro Nanodrop Lite Thermo Scientific</b></p>	<p>Emissão: 09/2021 Revisão: 09/2024 Versão: 01</p>
<p><b>Palavra-Chave:</b> Espectrofotometria UV; dosagem de ácidos nucleicos e proteínas</p>		<p>Pág. 4 de 9</p>

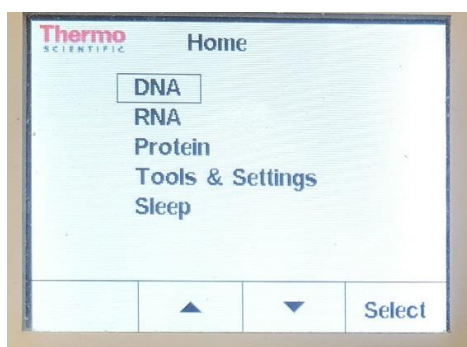


Figura 2 - Menu inicial do Nanodrop Lite.

7.3. Com auxílio das teclas ▲ e ▼, selecionar dentre uma das opções de leitura (DNA, RNA ou proteína), e pressionar Select.

#### 7.4 Para leituras de DNA:

7.4.1 Após selecionar a leitura de DNA, com auxílio das teclas ▲ e ▼, selecionar o tipo de amostra, DNA fita simples (ssDNA), ou fita dupla (dsDNA) (Figura 3) e pressionar Select.

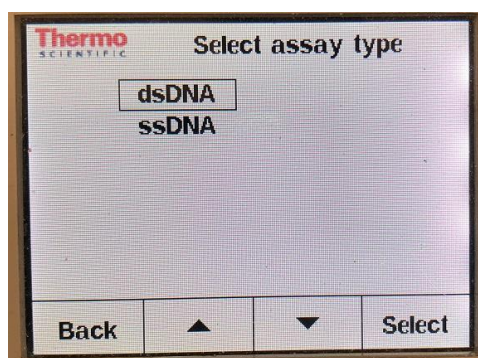


Figura 3 - Menu de seleção de amostras de DNA.

<p>Elaboração:</p> <p style="text-align: center;">_____ Rogério Lauria __/__/__</p>	<p>Revisão:</p> <p style="text-align: center;">_____ Bárbara Penido __/__/__</p>	<p>Revisão:</p> <p style="text-align: center;">_____ __/__/__</p>	<p>Aprovação:</p> <p style="text-align: center;">_____ Jacy Gameiro __/__/__</p>
---	--	---	--

	UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA – U.F.J.F. INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – I.C.B. <b>LABORATÓRIO INTEGRADO DE PESQUISA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS</b> Campus Universitário – Pórtico de São Pedro CEP: 36036-330 – Juiz de Fora – MG Tel: (32) 2102-6371	
	<b>POP EQU NÚMERO</b> <b>Espectrofotômetro Nanodrop Lite Thermo Scientific</b>	Emissão: 09/2021 Revisão: 09/2024 Versão: 01
<b>Palavra-Chave:</b> Espectrofotometria UV; dosagem de ácidos nucleicos e proteínas		Pág. 5 de 9

7.4.2 Limpar o pedestal de amostras. Para isso, levantar cuidadosamente o braço na lateral direita do equipamento (ver Figura 1).

7.4.3 Pipetar 3 µL de água ultrapura sobre o pedestal, abaixar cuidadosamente o braço e aguardar 3 minutos.

7.4.4. Retirar a água e secar o pedestal com um lenço ou papel limpo.

7.4.5. A barra de mensagem do display deve exibir **Measure blank** (Figura 4). Proceder à leitura da amostra de referência zero para absorbância (Branco). Para isso, levantar novamente o braço, para ter acesso ao pedestal.

7.4.6. Pipetar de 1 a 2 µL de sua amostra de branco sobre o pedestal.

7.4.7 Abaixar cuidadosamente o braço. Selecionar a opção **Blank** (Figura 4).

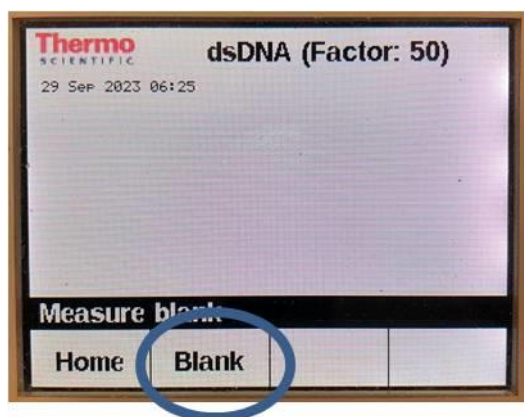


Figura 4 - Seleção de leitura do branco no display.

7.4.8 Levantar o braço do equipamento, remover a amostra do pedestal, com um papel ou lenço, e realizar a segunda leitura do branco (a barra de mensagem do display exibirá **Confirm Blank Measure**), pressionando **Blank** novamente.

Elaboração:  <hr/> Rogério Lauria __/__/__	Revisão:  <hr/> Bárbara Penido __/__/__	Revisão:  <hr/> __/__/__	Aprovação:  <hr/> Jacy Gameiro __/__/__
---	--	--------------------------------	--

	UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA – U.F.J.F. INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – I.C.B. <b>LABORATÓRIO INTEGRADO DE PESQUISA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS</b> Campus Universitário – Pórtico de São Pedro CEP: 36036-330 – Juiz de Fora – MG Tel: (32) 2102-6371	
	<b>POP EQU NÚMERO</b> <b>Espectrofotômetro Nanodrop Lite Thermo Scientific</b>	Emissão: 09/2021 Revisão: 09/2024 Versão: 01
<b>Palavra-Chave:</b> Espectrofotometria UV; dosagem de ácidos nucleicos e proteínas		Pág. 6 de 9

7.4.9 Caso a medição do branco tenha sido bem sucedida, a barra de mensagem do display exibirá **Measure sample**). Limpar novamente o pedestal com o papel ou lenço, pipetar a amostra e selecionar **Measure** (Figura 5).

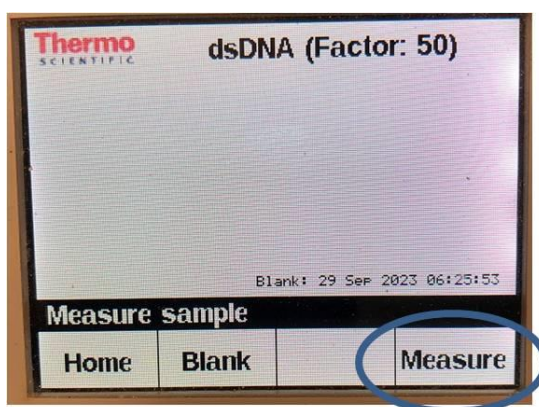


Figura 5 - Seleção de leitura de amostra de DNA dupla fita.

7.4.10 Após a leitura, as seguintes informações serão exibidas na tela:

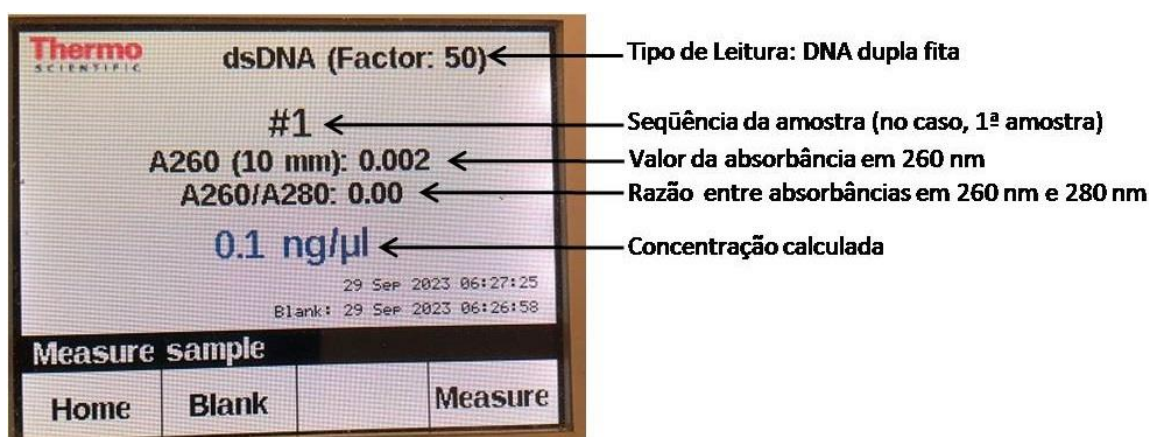


Figura 6 - Tela de resultados de leitura de amostra de DNA dupla fita.

Elaboração:  _____ Rogério Lauria ____/____/____	Revisão:  _____ Bárbara Penido ____/____/____	Revisão:  _____ ____/____/____	Aprovação:  _____ Jacy Gameiro ____/____/____
--	---	---	---

	UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA – U.F.J.F. INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – I.C.B. <b>LABORATÓRIO INTEGRADO DE PESQUISA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS</b> Campus Universitário – Pórtico de São Pedro CEP: 36036-330 – Juiz de Fora – MG Tel: (32) 2102-6371	
	<b>POP EQU NÚMERO</b> <b>Espectrofotômetro Nanodrop Lite Thermo Scientific</b>	Emissão: 09/2021 Revisão: 09/2024 Versão: 01
<b>Palavra-Chave:</b> Espectrofotometria UV; dosagem de ácidos nucleicos e proteínas		Pág. 7 de 9

7.4.11 Para realizar uma nova leitura, levantar o braço do equipamento, limpar o pedestal, pipetar 1 a 2 µL de amostra e selecionar **Measure** (Figura 5).

### 7.5 Para leituras de RNA:

7.5.1 Após selecionar leitura de RNA (Figura 2), seguir as etapas 7.4.2. a 7.4.8., descritas previamente.

7.5.2 Após a medição do branco, limpar o pedestal e pipetar 1 a 2 µL de sua amostra de RNA, e selecionar **Measure**.

7.5.3 As seguintes informações serão exibidas na tela:

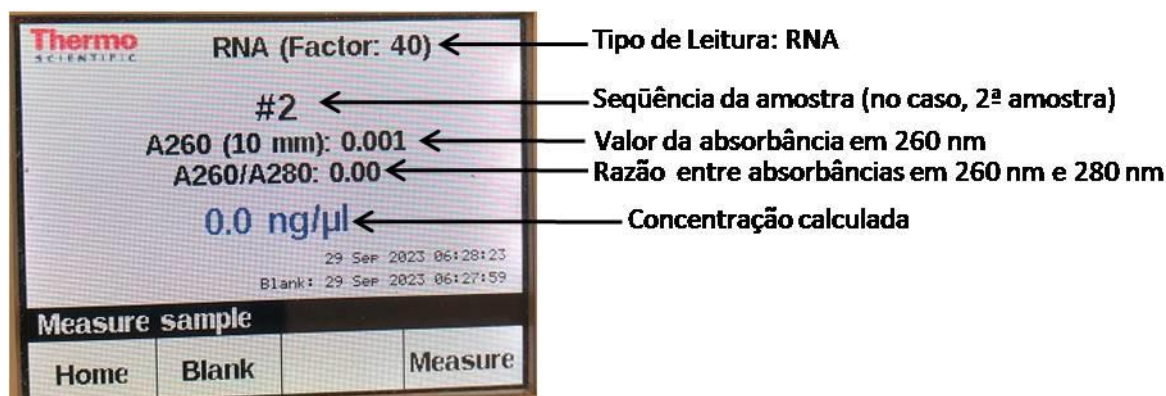


Figura 7 - Tela de resultados de leitura de amostra de DNA dupla fita.

7.5.4 Para realizar uma nova leitura, levantar o braço do equipamento, limpar o pedestal, pipetar 1 a 2 µL de amostra e selecionar **Measure**.

Elaboração:  _____ Rogério Lauria ____/____/____	Revisão:  _____ Bárbara Penido ____/____/____	Revisão:  _____ ____/____/____	Aprovação:  _____ Jacy Gameiro ____/____/____
--	---	---	---

	UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA – U.F.J.F. INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – I.C.B. <b>LABORATÓRIO INTEGRADO DE PESQUISA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS</b> Campus Universitário – Pórtico de São Pedro CEP: 36036-330 – Juiz de Fora – MG Tel: (32) 2102-6371	
	<b>POP EQU NÚMERO</b> <b>Espectrofotômetro Nanodrop Lite Thermo Scientific</b>	Emissão: 09/2021 Revisão: 09/2024 Versão: 01
<b>Palavra-Chave:</b> Espectrofotometria UV; dosagem de ácidos nucleicos e proteínas		Pág. 8 de 9

## 7.6 Para leituras de proteínas:

7.6.1 Após selecionar leitura de proteínas (Figura 2), será exibida a seguinte imagem:

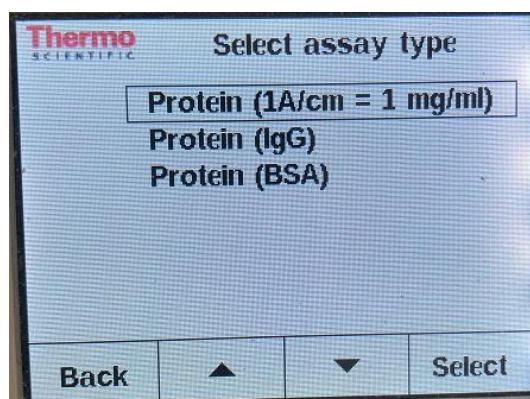


Figura 8 - Tela de opções para leitura de proteínas.

7.6.2. Com o auxílio das teclas ▲ e ▼, selecionar o material a ser lido. O equipamento já possui pré-ajustes para leitura de imunoglobulina G (IgG) e albumina sérica bovina (BSA). Para outros tipos de proteínas, selecionar a opção Protein (1A/cm = 1mg/mL).

7.6.3 Realizar as etapas de limpeza do pedestal e medida do branco (ítems 7.4.2. a 7.4.8.), descritas previamente.

7.6.4. Após a medição do branco, limpar o pedestal e pipetar 1 a 2 µL de sua amostra de proteína, e selecionar **Measure**.

7.6.5 As seguintes informações serão exibidas na tela:

Elaboração:  _____ Rogério Lauria ____/____/____	Revisão:  _____ Bárbara Penido ____/____/____	Revisão:  _____ ____/____/____	Aprovação:  _____ Jacy Gameiro ____/____/____
--	---	---	---



	UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA – U.F.J.F. INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – I.C.B. <b>LABORATÓRIO INTEGRADO DE PESQUISA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS</b> Campus Universitário – Pórtico de São Pedro CEP: 36036-330 – Juiz de Fora – MG Tel: (32) 2102-6371	
	<b>POP EQU NÚMERO</b> <b>Espectrofotômetro Nanodrop Lite Thermo Scientific</b>	Emissão: 09/2021 Revisão: 09/2024 Versão: 01
<b>Palavra-Chave:</b> Espectrofotometria UV; dosagem de ácidos nucleicos e proteínas		Pág. 9 de 9



Figura 8 - Tela de resultados de leitura de amostra de proteína.

7.6.6 Para realizar uma nova leitura, levantar o braço do equipamento, limpar o pedestal, pipetar 1 a 2  $\mu\text{L}$  de amostra e selecionar **Measure**.

7.7 Após realizar todas as leituras, pipetar 1 a 2  $\mu\text{L}$  de água ultrapura no pedestal, e abaixar o braço.

7.8 Após 3 minutos, levantar o braço do equipamento, e secar a base inferior e superior do pedestal com um papel ou lenço limpo.

7.9 Abaixar o pedestal, e desligar o equipamento da tomada.

## 8. REFERÊNCIAS

- NanoDrop Lite User Guide 269275200 Revision A January 2012

Elaboração:  _____ Rogério Lauria ____/____/____	Revisão:  _____ Bárbara Penido ____/____/____	Revisão:  _____ ____/____/____	Aprovação:  _____ Jacy Gameiro ____/____/____
--	---	---	---