

AGAROSE Para Biologia Molecular LE
(Low electroendosmosis) Eletroforese de ácidos nucleicos
Código:13-15003-05 - 500 g

Instruções de Uso

1. Descrição

A agarose é um hidro coloide de galactano linear purificado isolado a partir de algas marinhas ágar-ágar ou ágar.

Estruturalmente, é um polímero linear que consiste em unidades alternadas de D-galactose e 3,6-anidro-L-galactose. Este polímero purificado é utilizado na separação por eletroforese de fragmentos de ácidos nucleicos com elevado desempenho entre 150 a 23.000 pb.

Como agente gelificante, utiliza-se agarose:

1. Para separar os ácidos nucleicos por eletroforese, porque os seus géis formam poros de tamanhos maiores do que os géis de poliacrilamida. Ao contrário da poliacrilamida, a consistência do gel é mais sólida (mas também menos elástico);
2. Demonstrar reação cruzada no IEP (Immuno eletroforese) e placas de Ouchterlony (dupla difusão) nas quais as linhas de precipitina anticorpo-antígeno são estudadas com fins de diagnóstico;
3. Para fazer placas de gel ou sobreposições para células em cultura de tecidos.
4. Para formar uma matriz de gel (ou frisada e/ou reticulado) que pode ser usado em separações cromatográficas.

2. Propriedades da agarose

Grupos aniônicos em gel de agarose são fixados à matriz e não podem se mover, mas os cátions dissociáveis podem migrar em direção ao catodo na unidade de eletroforese, dando origem à electroendosmosis (EEO) - movimento do líquido através do gel. Como o movimento eletroforético de biopolímeros é geralmente direcionado ânodo, o EEO pode interromper as separações devido à convecção interna.

3. Especificações analíticas

O teor de sulfato pode ser usado como um indicador de pureza, uma vez que o sulfato é o principal grupo iônico presente. A força do gel é a força que deve ser aplicada a um gel para causar fraturas. O ponto de gel é a temperatura à qual uma solução aquosa de agarose forma um gel à medida que esfria. Agarose soluções exibem histerese na transição líquido-gel - isto é, o ponto de gel não é o mesmo que temperatura de fusão.

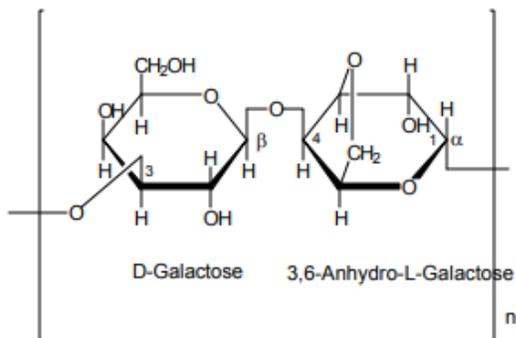
pH em solução: 6,59

pH em gel: 6,30

Temperatura de polimerização 36,9°C +/- 1,5 °C

Temperatura de fusão (*Melting Temperature*) 87,4°C. Sensibilidade (gel 1,0%): $\geq 2.500 \text{ g/cm}^2$

Sulfatos: $\leq 0,15\%$ e Livre de DNase/RNase/proteases/endonucleases



Concentrações de Agarose sugeridas para uso:

| Tamanho (pares de bases) | Concentração Final de Agarose (%) | |
|-----------------------------|-----------------------------------|---------------|
| | 1X TAE Buffer | 1X TBE Buffer |
| 500 - 25.000 | 0,75 | 0,70 |
| 300 - 20.000 | 1,00 | 0,85 |
| 200 - 12.000 | 1,25 | 1,00 |
| 150 - 6.000 | 1,5 | 1,25 |
| 100 - 3.000 | 1,75 | 1,50 |
| 50 - 2.000 | 2,00 | 1,75 |

4. Aplicações

- Indicado na separação de fragmentos acima de 1.000 pb,
- Manipulação enzimática direta de DNA,
- Separação e recuperação de fragmentos de DNA de tamanhos grandes.

5. Instruções de preparação do gel de agarose em forno de micro-ondas:

1. Utilizar um béquer de 2 a 4 vezes maior em volume do que a solução de agarose a ser preparada,
2. Pesar a quantidade de agarose em pó necessário para a preparação do gel de interesse,
3. Adicionar o tampão de eletroforese 1X ou 0.5X e misturar com auxílio de barra e agitador magnéticos dentro de um béquer
4. Retirar a barra magnética, principalmente se essa não for de teflon,
5. É recomendável deixar a agarose no tampão por 5 minutos antes de colocar para aquecer. Este procedimento diminui a tendência da agarose de provocar pequenas explosões durante o aquecimento,
6. Cobrir o béquer com folha plástica (*wrap plastic*), cuidando para fazer alguns furos para ventilação e para não explodir quando em ebulição,
7. Ferver a agarose por aproximadamente um minuto e, retirar com muito cuidado da fonte de calor utilizando luvas de proteção,
8. Deixar esfriar a solução entre 45°C a 55°C antes de colocar no suporte de acrílico,
9. Esvaziar o conteúdo dentro de um suporte de plástico com o pente e deixar polimerizar.

6. Armazenamento

Entre 10°C e 30°C.

7. Garantia da Qualidade

A **NOVA BIOTECNOLOGIA** fornece garantia do produto **AGAROSE** por ela revendidos contra defeitos de produção pelo período de validade do produto, salvo especificações em contrário a constar da proposta.

- A garantia abrange defeitos de produção.

Exceções na garantia:

- Todos os produtos com defeitos oriundos de mau uso, imperícia, conservação ou armazenagem inadequada.
- Quando não for utilizado de acordo com sua finalidade de aplicação.

8. Informações do Fabricante

NOVA BIOTECNOLOGIA LTDA

R. PASADENA, 235 - PARQUE INDUSTRIAL SAN JOSE

CEP: 06.715-864 - COTIA/SP - BRASIL

CNPJ: 24.096.423/0001-15

RESPONSÁVEL TÉCNICO

Dra. ELIZABETH CORTEZ HERRERA- CRBM 20.951/1

9. Atendimento ao Consumidor

Tel. +55 (11) 4243-2356

www.novabiotecnologia.com.br

e-mail: assessoria@novabiotecnologia.com.br

10. Referências

1. Gel Filtration Principles and Methods, 5th Ed., Pharmacia LKB Biotechnology (1991).
2. $\mu = 2 \sum C_i \times Z_i$ $2 C_i$ = molar concentration of a given ion Z_i = charge of a given ion T. G. Cooper, The Tools of Biochemistry, p. 176, John Wiley & Sons, New York (1977).
3. A. T. Andrews, Electrophoresis: Theory, Techniques, and Biochemical and Clinical Applications, 2nd Ed., p. 149, A. R. Peacock and W. F. Harrington, Eds., Oxford Science Publications, Clarendon Press, Oxford (1993).