

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO



POP N. 003
ESPECTROFOTÔMETRO NANODROP

Elaboração: 05/2017
Versão: 2.0 (06/2025)

1. DESCRIÇÃO

O espectrofotômetro Thermo Scientific Nanodrop 1000 permite leituras precisas e reproduzíveis para mensuração da concentração e pureza de amostras de ácidos nucleicos até concentrações de 3700 ng/µL sem diluição, análise de proteínas purificadas (A280), mensuração de densidade de células e espectrofotometria UV-Vis em geral.

Modelo: NanoDrop 1000

Características:

- Volume de amostra: 1 a 2 µL
- Espectro de leitura: 220 – 750 nm

2. OPERAÇÃO

2.1 LIGANDO E CONFIGURANDO O EQUIPAMENTO

- Conectar o cabo de energia do computador na tomada e ligar o computador;
- Conectar o cabo de energia do NanoDrop na tomada;
- Clicar em OK para fazer o Log on no Windows;
- Abrir o programa "ND-1000 V3.7.1" (ícone na área de trabalho);
- Selecionar o tipo de quantificação desejada (Ex.: para quantificação de DNA ou RNA selecionar "Nucleic Acid", Fig. 1);

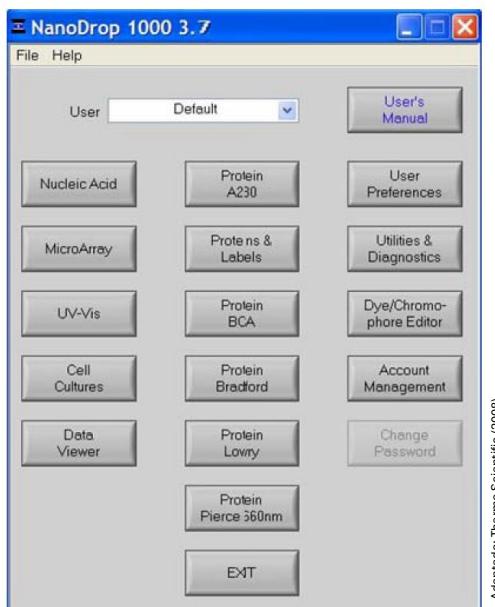


Figura 1 – Seleção do tipo de análise a ser realizada no NanoDrop

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO



POP N. 003

Elaboração: 05/2017

ESPECTROFOTÔMETRO NANODROP

Versão: 2.0 (06/2025)

- Após selecionada a quantificação respeitar as instruções de rotina que aparecem automaticamente (carregar o pedestal base com 1 μ l de água *Milli-Q* antes de clicar "OK" na mensagem inicial);
- Para carregar uma amostra, erguer o braço do amostrador completamente, pipetar a amostra no pedestal na base do amostrador cuidando para não formar bolhas, baixar o braço do amostrador até tocar no pedestal, **mas sem pressionar**;

2.2 ANÁLISE DE ÁCIDOS NUCLEICOS

- Selecionar o tipo de amostra em "Sample Type" (DNA-50 para DNA ou RNA-40 para RNA)
- Calibrar com o "branco" da reação (carregar o pedestal base com 1 μ l do "branco" e clicar em "Blank")
- Aguardar a leitura;
- Após, iniciar as leituras das amostras (identificar a amostra em "Sample ID", carregar o pedestal base com 1 μ l da amostra e clicar em "Measure"). Aguardar a leitura;

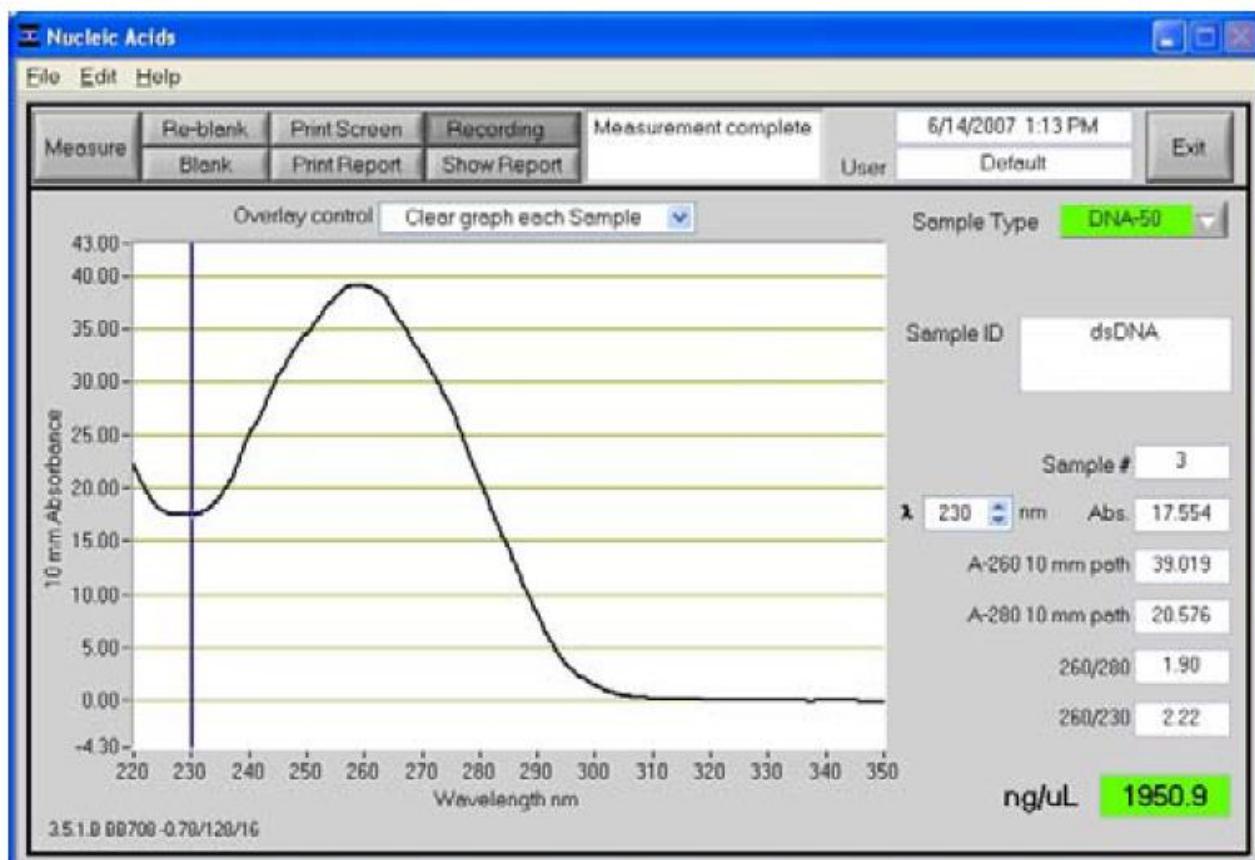


Figura 2 – Janela de análise de amostra de ácido nucleico (no exemplo, DNA)

Adaptado: Thermo Scientific (2008)

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO			
 	POP N. 003	Elaboração: 05/2017	
	ESPECTROFOTÔMETRO NANODROP	Versão: 2.0 (06/2025)	

- Os dados da leitura podem ser visualizados no canto inferior direito, com a concentração da amostra em **ng/µL** (obs.: Relação **260/280** e **260/230** são usadas para avaliar a pureza da amostra);
- Entre uma leitura e outra sempre limpar o pedestal base e o pedestal superior com o lenço macio *kimwipes*
- Pode ser útil realizar uma lavagem com água Milli-Q entre as amostras, para isso pipetar 1 µL de água e clicar em “Measure”, com isso o pedestal é limpo e é possível verificar se há algum resíduo de amostra;
- Ao final das leituras das amostras efetuar a limpeza do equipamento carregando o pedestal base com 2µL de água *Milli-Q* e clicando em “Measure”;
- Limpar o pedestal base e o pedestal superior com o lenço *kimwipes*;
- Clicar em “Show Report” para visualizar os dados da leitura tabelados;
- Para exportar os dados em arquivo no formato do programa clicar em “Show report” > “Reports” > “Save report full”;
- Para exportar os dados em formato “.txt” clicar em “Show report” > “Reports” > “Export report table only”;
- **Caso seja necessário salvar os dados utilizar sempre um *pen drive* formatado.**

2.3 DESLIGANDO O EQUIPAMENTO

- Ao finalizar fechar o programa “ND-1000 V3.7.1” clicando em “EXIT”;
- Desligar o computador e desconectar o monitor da rede elétrica;
- Manter sempre um lenço macio (*kimwipes*) limpo protegendo os pedestais de detecção;
- **Preencher e assinar a ficha de uso do equipamento.**

REFERÊNCIAS

THERMO SCIENTIFIC. **NanoDrop 1000 Spectrophotometer: User's Manual.** V3.7, 2008.

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO



POP N. 003 (ANEXO I)

Elaboração: 05/2017

ESPECTROFOTÔMETRO NANODROP

Versão: 2.0 (06/2025)

FICHA DE USO NANODROP