

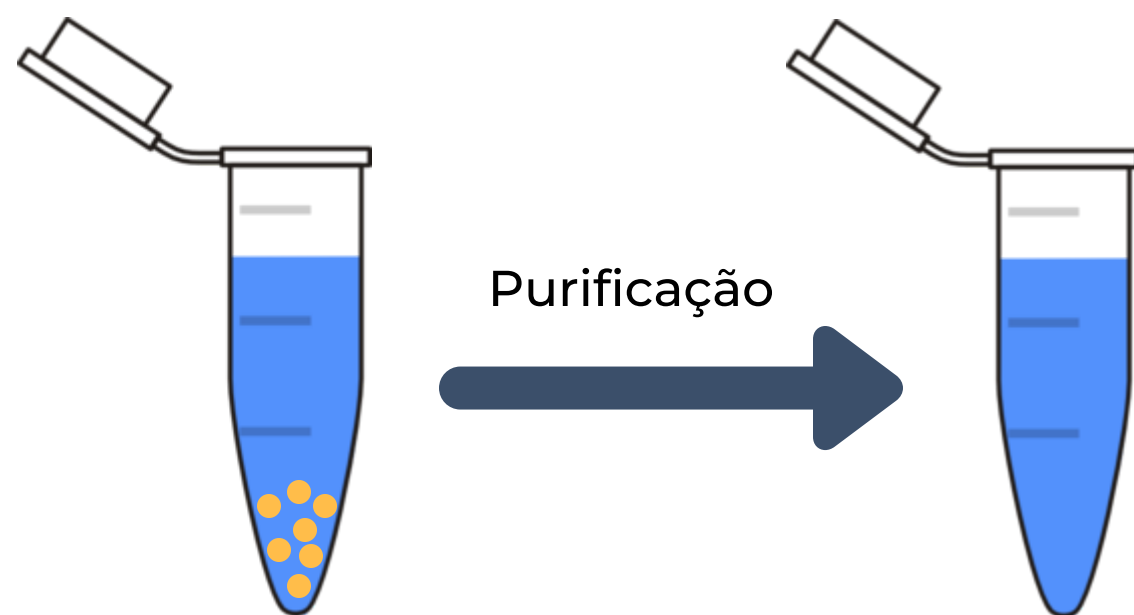
# GUIA PARA O PREPARO E ENVIO DE AMOSTRAS

---

# SUMÁRIO

Purificação e quantificação .....	3
Quantidades e cálculos .....	4
Envio em placa .....	5
Adição de <i>primer</i> universal .....	6
Investimento .....	7
Endereço e contatos .....	9

# PURIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO



Produto de PCR ou  
DNA plasmidial



Exemplos de valores de  
quantificação obtidos

Amostras	Quantificação (ng/uL)
Amostra 1	17,90
Amostra 2	20,40
Amostra 3	45,70

## DICAS

- A purificação é etapa fundamental para garantir a qualidade das suas amostras, pois remove produtos inespecíficos da PCR e impurezas gerais. Recomendamos que a purificação seja realizada com kits comerciais, mesmo havendo banda única no gel.

# QUANTIDADES E CÁLCULOS

Quantidades de DNA e *primer* necessárias:

**DICA:** Faça uma alíquota de *primer* com concentração final de 5 pmol/uL (uM). Assim, bastará pipetar 1 uL durante o preparo para envio.

Amostra/Quantidade	Quantidade de DNA-molde (ng)	Quantidade de <i>primer</i> (pmol)
Produto de PCR	30 a 60	4,5
Plasmídeo	100 a 250	4,5

Com base nos valores de quantificação obtidos, suponhamos que as amostras sejam produtos de PCR. Portanto, precisará ser adicionado entre 30 e 60 ng de DNA.

**IMPORTANTE:** deve-se adicionar somente UM *primer* por amostra. Se a amostra precisar ser sequenciada com mais de um *primer*, ela deverá ser dividida em dois tubos!

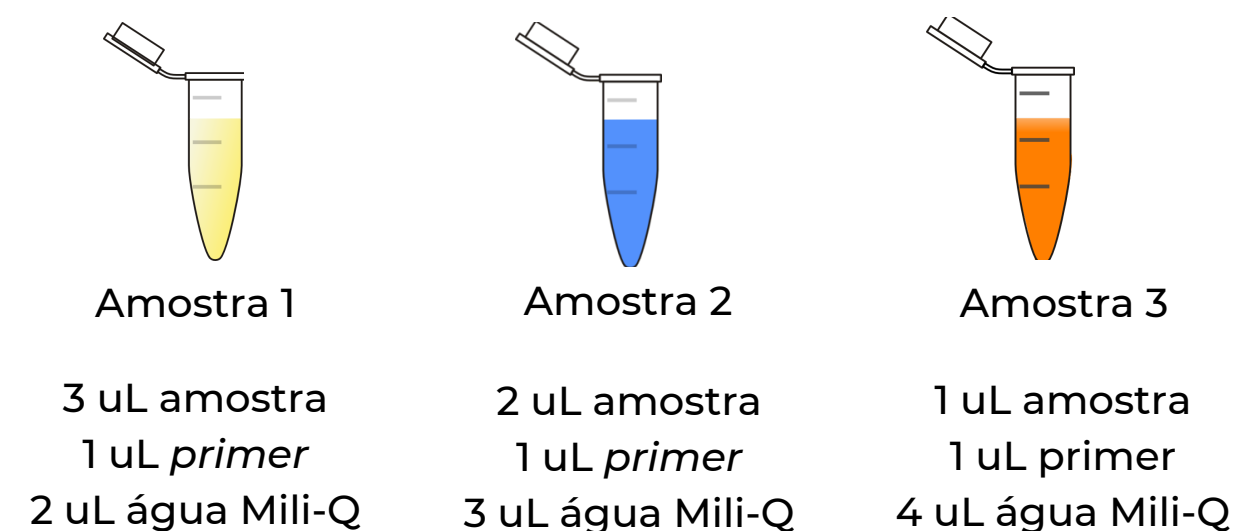
Veja como é feito o cálculo:

Amostras	Quantificação (ng/uL)
Amostra 1	17,90
Amostra 2	20,40
Amostra 3	45,70

$\rightarrow \times 3 \text{ uL} = 53,7 \text{ ng}$   
 $\rightarrow \times 2 \text{ uL} = 40,8 \text{ ng}$   
 $\rightarrow \times 1 \text{ uL} = 45,7 \text{ ng}$

Quantidade de DNA que estará sendo adicionada

Volume de amostra a ser pipetado



## ENVIO EM PLACA

Alternativamente, poderemos ceder, gratuitamente, microplacas ópticas de 96 poços para quantidades superiores a 50 amostras. Neste caso, basta preparar com as quantidades descritas na tabela abaixo.

**LEMBRE-SE:** Somente UM ÚNICO *primer* deve ser adicionado por reação/poço da placa!

Amostra/Quantidade	Quantidade de DNA-molde (ng)	Quantidade de <i>primer</i> (pmol)
Produto de PCR	15 a 30	2,5
Plasmídeo	50 a 125	2,5

Consulte conosco o modelo adequado de microplacas para envio de amostras!

Veja nossos contatos na última página deste guia.



# ADIÇÃO DE PRIMER UNIVERSAL

Disponibilizamos alguns *primers* universais para adição nas suas amostras.

Basta enviar somente o DNA-molde que nós faremos a adição do *primer* solicitado.

Siga as mesmas dicas de preparo de amostras anteriormente descritas, fechando o volume final com 5 uL!



*Primers* disponíveis na empresa:

<b>Primer Universal</b>	<b>Sequência (5'-3')</b>
T7 Promoter	AAT ACG ACT CAC TAT AGG
T7 Terminator	GCT AGT TAT TGC TCA GCG G
T3	ATT AAC CCT CAC TAA AGG
SP6	GAT TTA GGT GAC ACT ATA G
M13 (-21) Forward	TGT AAA ACG ACG GCC AGT
M13 (-40) Forward	GTT TTC CCA GTC ACG AC
M13 Reverse	CAG GAA ACA GCT ATG ACC

# INVESTIMENTO

Confira abaixo os valores do sequenciamento:

TIPO DE AMOSTRA	VALOR UNITÁRIO
Amostra já marcada com o reagente BigDye	R\$ 19,30
Amostra não marcada com o reagente BigDye	R\$ 28,00
Amostra não marcada + adição de primer universal	R\$ 31,00

QUANTIDADE DE AMOSTRAS	VALOR UNITÁRIO
De 1 a 191	R\$ 28,00
De 192 a 383	R\$ 27,60
De 384 a 767	R\$ 26,90
Mais de 768	R\$ 25,50



## VOCÊ SABIA?

Caso seja a sua primeira experiência com a ACTGene, poderemos realizar duas (2) reações de sequenciamento **GRATUITAS** antes de sequenciarmos um número maior.





## ENDEREÇO E CONTATOS

Endereço para envio das amostras e formulário por correio (SEDEX recomendado):

ACTGene Análises Moleculares Ltda.  
Rua Gustavo Valente, 69  
Bairro Bela Vista  
CEP 94810-250 - Alvorada, RS

Endereço para entrega das amostras e formulário pessoalmente:


Av. Bento Gonçalves, 9.500 - Bairro Agronomia  
Campus do Vale - UFRGS  
Centro de Biotecnologia - Prédio 43.421  
Andar Inferior – Sala 106

Horário para entrega de amostras:

Segunda a sexta, das 09:30-12 h e das 13 h-16 h

 [www.actgene.com.br](http://www.actgene.com.br)

 [contato@actgene.com.br](mailto:contato@actgene.com.br)

 (51) 3044-3307 / (51) 99116-6600



**Siga-nos em nossas  
redes sociais!**



## ATENÇÃO!

Amostras enviadas líquidas devem ser acondicionadas em caixa de isopor com placas de gelo gel.

As amostras podem ser secas em *speed-vac* ou estufa para o envio.