

Procedimento para utilização da plataforma de sequenciamento de DNA RPT01C - P01-002A

InformaçõesDOCUMENTO DA QUALIDADE - IAM

Primeira versão do documento.

Justificativa de Revisão

Primeira versão do documento.

Propriedades

Código:	POP.IAM.RPT01C.034	Estrutura:	RPT01C- Plataforma de Sequenciamento de DNA Capilar
Versão:	1	Tipo:	DOCX/PDF
Categoria:	POP - TÉCNICO EXPERIMENTAL	Data Versão:	21/03/2023
Verificador:	Viviane do Carmo Vasconcelos de Carvalho	Data Edição:	n/d
Aprovador:	Cássia Docena	Data Criação:	10/11/2022
Elaborador:	Viviane do Carmo Vasconcelos de Carvalho	Acessos:	3
Validade:	10/11/2024	Forma:	REPOSITÓRIO
Vigência:	10/11/2022	Status:	Disponível
Distribuidor:	Cássia Docena, Patricia dos Santos Silva, Viviane do Carmo Vasconcelos de Carvalho	Anexos:	n/d

Atributos

IAM_Outros	Classificação SIGDA: n/d
Elaboradores:	

Publicação

Ação	Responsável	Data Limite	Data Ação
Verificação	Viviane do Carmo Vasconcelos de Carvalho	24/11/2022	10/11/2022
Aprovação	Cássia Docena	24/11/2022	10/11/2022

Subscrição

Nomes: n/d

Documento(s) Vinculado(s):

Código - Documento: n/d

Requisitos 0

n/d

n/d

n/d

n/d

Lista de Distribuição

Nº	Responsável	Data Impressão	Data Distribuição
n/d	n/d	n/d	n/d
n/d	n/d	n/d	n/d
n/d	n/d	n/d	n/d
n/d	n/d	n/d	n/d

 Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz Instituto Aggeu Magalhães	POP - TÉCNICO EXPERIMENTAL	
TÍTULO: Procedimento para utilização da plataforma de sequenciamento de DNA RPT01C - P01-002A	CÓDIGO: POP.IAM.RPT01C.034	
	REVISÃO: 1	
	CLASSIFICACAO SIGDA: n/d	

PROCEDIMENTO PARA UTILIZAÇÃO DA PLATAFORMA DE SEQUENCIAMENTO DE DNA RPT 01C – P001-002A

SUMÁRIO

1. Objetivo
2. Campo de aplicação
3. Descrição dos serviços prestados pela plataforma
4. Pre-requisitos para ser um usuário da plataforma
5. Critérios de atendimento
6. Condições para solicitação dos serviços
 - 6.1. Condições de aceitação das amostras
 - 6.2. Local da entrega de materiais
 - 6.3. Entrega dos resultados
7. Sumário das revisões

1. OBJETIVO

Este POP define e estabelece regras que devem ser aplicadas para a utilização da subunidade de Sequenciamento de DNA capilar (RPT01C) da Rede de Plataformas Tecnológicas – FIOCRUZ (RPT).

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Aplica-se às análises de sequenciamento de DNA realizadas no Núcleo de Plataformas Tecnológicas da FIOCRUZ- PE.

3. DESCRIÇÃO DOS SERVIÇOS PRESTADOS PELA PLATAFORMA

A subunidade oferece os seguintes serviços:

P01-002A: Sequenciamento completo de templates de DNA purificados, incluindo reação com Big Dye Terminator v3.1 e primers universais ou específicos, precipitação, desnaturação com formamida e leitura no equipamento (eletroforese capilar);

P01-002B: Leitura (eletroforese capilar) de reações já precipitadas em tubos ou placas. Inclui desnaturação com formamida;

 Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz Instituto Aggeu Magalhães	POP - TÉCNICO EXPERIMENTAL	
TÍTULO: Procedimento para utilização da plataforma de sequenciamento de DNA RPT01C - P01-002A	CÓDIGO: POP.IAM.RPT01C.034	
	REVISÃO: 1	
	CLASSIFICACAO SIGDA: n/d	

P01-002C: Capacitação de profissionais. Assessoria para a realização de reações de sequenciamento e treinamento no equipamento (total 16h).

4. PRÉ-REQUISITOS PARA SER UM USUÁRIO DA PLATAFORMA

Só será aceito o usuário que tiver seu Grupo de Pesquisa com cadastro aprovado pelo Sistema da Rede de Plataformas Tecnológicas - FIOCRUZ (<https://plataformas.fiocruz.br>).

5. CRITÉRIOS DE ATENDIMENTO

a) O usuário deverá cadastrar o seu Grupo de Pesquisa através do Sistema da Rede de Plataformas Tecnológicas (<https://plataformas.fiocruz.br>).

b) Após a aprovação do cadastro do seu Grupo de Pesquisa pela coordenação da RPT, o coordenador do grupo deverá cadastrar os membros do grupo. Assim, tanto o coordenador do Grupo de Pesquisa quanto os seus membros já podem encaminhar as solicitações para a subunidade em questão, juntamente com o formulário “Folha de amostras de sequenciamento de DNA capilar”.

c) como regra, ao utilizar a Plataforma de Sequenciamento de DNA capilar do NPT/IAM, os usuários que publicarem trabalhos em congressos, periódicos, artigos, teses e dissertações deverão mencionar a utilização da Plataforma no item de agradecimentos em suas publicações: “Os autores agradecem à Rede de Plataformas Tecnológicas - FIOCRUZ, pelo serviço de Sequenciamento de DNA capilar do Instituto Aggeu Magalhães (FIOCRUZ-PE)” ou “*The authors thank the IAM-FIOCRUZ Core Facilities for the use of DNA sequencing services*”. Além disso, o usuário deverá comunicar ao NPT, fornecendo a referência bibliográfica completa da referida divulgação científica.

6. CONDIÇÕES PARA SOLICITAÇÃO DOS SERVIÇOS

6.1. Condições de aceitação das Amostras

a) As amostras somente serão aceitas quando acompanhadas do formulário “Folha de amostras de sequenciamento de DNA capilar” devidamente preenchido. Opcional: também a foto de gel de agarose do DNA purificado;

b) Todas as amostras e primers deverão vir em microtubos claramente identificados e acondicionados em caixas identificadas com o número da solicitação no site das plataformas, nome do usuário e data da entrega;

c) As amostras deverão ser entregues aliquotadas, diluídas na concentração adequada e em quantidade suficiente para as análises (vide Tabela1);

 Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz Instituto Aggeu Magalhães	POP - TÉCNICO EXPERIMENTAL	
TÍTULO: Procedimento para utilização da plataforma de sequenciamento de DNA RPT01C - P01-002A	CÓDIGO: POP.IAM.RPT01C.034	
	REVISÃO: 1	
	CLASSIFICACAO SIGDA: n/d	

- d)** Os produtos de PCR deverão estar com o grau de pureza (260/280) entre 1,8 e 2,0. O gel de agarose do produto purificado deverá apresentar banda única e bem evidente;
- e)** Os primers deverão estar diluídos de 3,2 a 5 pmol/μL. Será utilizado 1 μL por reação;
- f)** O DNA deverá ser diluído em água ou Tris-Cl. Não deverá ser utilizado TE (Tris-EDTA). Será utilizado **1 μL** por reação. Em casos excepcionais, vide **Nota**.

Tabela 1: Massa por reação de DNA baseada no tamanho do fragmento:

Produto de PCR	Quantidade
100-200 pb	1 a 3 ng
200-500 pb	3 a 10 ng
500-1000 pb	5 a 20 ng
1000-2000 pb	10 a 40 ng
> 2000 pb	40 a 100 ng
Vetor + Inseto	100 a 300 ng
DNA fita simples	50 a 100 ng
DNA fita dupla	200 a 500 ng
Cosmídeo, BAC	0,5 a 1,0 μg

Nota: o volume de DNA a ser usado em cada reação de sequenciamento não poderá ultrapassar 7,5 μL. O volume final da reação de sequenciamento é de 10 μL.

Obs.:

1. A Plataforma dispõe dos seguintes oligonucleotídeos sintéticos: M13 Forward e M13 Reverse, T7, T7T, 6979 e 6980. Outros oligonucleotídeos deverão ser encaminhados juntamente com as amostras.
2. As amostras consideradas inadequadas para a reação de sequenciamento serão devolvidas ao usuário que requisitou o serviço.
3. O usuário deverá entregar as amostras e primers em quantidade suficiente para as reações realizadas pela plataforma. A plataforma não se responsabiliza pelas amostras e primers após análise. Portanto, o volume a ser entregue deverá respeitar as concentrações indicadas na Tabela 1.

 Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz Instituto Aggeu Magalhães	POP - TÉCNICO EXPERIMENTAL
TÍTULO: Procedimento para utilização da plataforma de sequenciamento de DNA RPT01C - P01-002A	CÓDIGO: POP.IAM.RPT01C.034
	REVISÃO: 1
	CLASSIFICACAO SIGDA: n/d

6.2. Local da Entrega de Materiais

a) As amostras e formulário podem ser entregues **diariamente das 8:00 às 16:30h**

b) Os materiais devem ser entregues no seguinte endereço:

Instituto Aggeu Magalhães – FIOCRUZ – RECIFE

Av. Moraes Rego s/n. Cidade Universitária CEP: 50.740-465

Núcleo de Plataformas Tecnológicas (NPT-1) Tel: (81) 21012649

6.3. Entrega dos resultados

a) Os resultados obtidos serão disponibilizados através do Sistema da RPT (<https://plataformas.fiocruz.br>);

b) Não serão emitidos laudos;

c) Os usuários são responsáveis pela análise dos dados e para tanto devem possuir o programa de análise necessário para a visualização dos resultados em computador próprio. São disponibilizados dois tipos de arquivo *.ab1 e *.scf; Esses arquivos podem ser abertos em programas como Chromas, DNA Star ou SeqMan;

d) Não será permitida a análise dos resultados no computador ligado ao equipamento;

e) O prazo de entrega dos resultados é de 5 dias úteis ou dependente da demanda. As amostras serão descartadas após 5 dias úteis depois da entrega dos resultados. Caso o usuário queira retirar as amostras, deverá comparecer ao Núcleo de Plataformas Tecnológicas.

Os dados gerados através dos computadores acoplados aos equipamentos serão armazenados por dois anos e ficarão à disposição dos usuários por esse período. A plataforma NÃO se responsabiliza por backups fora desse período.

7. SUMÁRIO DAS REVISÕES

Sumário das Revisões		
Revisão	Data	Descrição
00	19/02/2020	Versão do documento para Site Plataformas
01	24/03/2022	Versão do documento para Site Interact