Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Aggeu Magalhães
Av. Prof. Moraes Rego, s/n ,Campus da UFPE / Cidade Universitária
50670-420 – Recife – PE – BRASIL
Telefone: (81) 21012500

TÍTULO	PROCEDIMENTO PARA A UTILIZAÇÃO DA PLATAFORMA DE SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO - RPT01C-NGS	**CÓDIGO** POP-RPT01CNG-001
PALAVRA-CHAVE Sequenciamento de DNA de Nova Geração Illumina		**REVISÃO** 00

SUMÁRIO

1. OBJETIVO....1
2. CAMPO DE APLICAÇÃO....1
3. PRÉ-REQUISITOS PARA SER UM USUÁRIO DA PLATAFORMA....1
4. CRITÉRIOS DE ATENDIMENTO....2
5. DESCRIÇÃO DOS SERVIÇOS PRESTADOS PELA PLATAFORMA....2
5.1 Preparo de Bibliotecas Genômicas para sequenciamento de genomas de novo e re-sequenciamento 2
5.2 Montagem e análise 2
6. CONDIÇÕES PARA SOLICITAÇÃO DOS SERVIÇOS 3
6.1 Condições de aceitação das Amostras 3
6.2 Local da Entrega de Materiais....3
6.3 Agradecimentos em artigos, publicações e Dissertações de Mestrado e Teses de doutorado 3
6.4 Entrega dos resultados 3
7. RESPONSABILIDADES....4
8. REFERÊNCIAS BILIOGRÁFICAS....4
9. SUMÁRIO DAS REVISÕES....4

1. OBJETIVO

Este Procedimento Operacional Padrão padroniza, define e estabelece regras aplicadas na utilização da Subunidade de Sequenciamento de DNA de Nova Geração (RPT-01C-NG) do Instituto Aggeu Magalhães da Rede de Plataformas Tecnológicas da FIOCRUZ.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

A subunidade oferece suporte ao desenvolvimento de projetos de pesquisa que se utilizam da tecnologia de sequenciamento de nova geração na plataforma Illumina MiSeq e Illumina NextSeq2000 e se aplicam ao sequenciamento *de novo* de genomas, re-sequenciamento, sequenciamento de genes alvos, sequenciamento de amplicons e sequenciamento de transcriptoma.

3. PRÉ-REQUISITOS PARA SER UM USUÁRIO DA PLATAFORMA

a) O Usuário deverá cadastrar o seu Grupo de Pesquisa através do Sistema da Rede de Plataformas Tecnológicas (RPT) em http://plataformas.cdts.fiocruz.br;
b) Após a aprovação do Grupo de Pesquisa pela Coordenação da RPT, o usuário agora Coordenador do Grupo, deverá cadastrar os seus colaboradores e/ou alunos. Todas as solicitações dos Coordenadores de Grupo precisam ser aprovadas pelo Coordenador da Plataforma do IAM para, a partir daí, serem solicitadas pelo Sistema da RPT aos responsáveis pela subunidade de sequenciamento de Nova Geração;

4. CRITÉRIOS DE ATENDIMENTO

O Usuário deverá ter seu cadastro aprovado pelo Sistema da Rede de Plataformas Tecnológicas (http://plataformas.cdts.fiocruz.br)
A plataforma atenderá prioritariamente:
a) Projetos Institucionais do IAM
b) Projetos da FIOCRUZ
c) Projetos de Instituições parceiras
Os recursos tanto para o preparo das bibliotecas como para a utilização da Plataforma Illumina serão obrigatoriamente custeados pelo Usuário.

5. DESCRIÇÃO DOS SERVIÇOS PRESTADOS PELA PLATAFORMA

A subunidade oferece suporte ao desenvolvimento de projetos de pesquisa que se utilizam da tecnologia de sequenciamento de DNA de Nova Geração na Plataforma Illumina MiSeq e NextSeq2000, oferecendo os seguintes serviços:

a) Preparo de Bibliotecas genômicas para sequenciamento;
b) Sequenciamento de genomas *de novo* e re-sequenciamento;
c) Assessoria para o preparo de bibliotecas genômicas, disponibilizando POPs para o desenvolvimento das técnicas;
d) Assessoria na leitura, análise e alinhamento de sequências mediante aprovação prévia do projeto pelo Coordenador da Plataforma.

5.1 Preparo de Bibliotecas Genômicas para sequenciamento de genomas *de novo* e re-sequenciamento

5.1.1 Construção das Bibliotecas

A construção das bibliotecas dar-se-á a partir da escolha da estratégia de sequenciamento e aquisição dos kits de preparação da biblioteca. A definição da estratégia de sequenciamento deverá ser aprovada pela Coordenação da Plataforma após consultoria científica. As bibliotecas serão preparadas no Núcleo de Plataformas Tecnológicas do IAM por técnicos especializados podendo estar presentes, na ocasião da construção das mesmas, dois membros do Grupo de Pesquisa solicitante.

5.1.2 Aplicação no equipamento

É de responsabilidade do usuário a aquisição do cartucho e célula (*flow cell*) para o sequenciamento. Na definição da melhor estratégia de sequenciamento a escolha do cartucho também deverá ser abordada. Somente o técnico especializado poderá operar o equipamento.

5.2 Montagem e análise

É de responsabilidade do Usuário a análise dos dados gerados. Projetos em colaboração com membros da Plataforma ou da Instituição serão avaliados previamente pelo Coordenador da Plataforma.

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Aggeu Magalhães
Av. Prof. Moraes Rego, s/n ,Campus da UFPE / Cidade Universitária
50670-420 – Recife – PE – BRASIL
Telefone: (81) 21012500

6. CONDIÇÕES PARA SOLICITAÇÃO DOS SERVIÇOS

6.1 Condições de aceitação das Amostras

a) O Usuário deverá entregar as amostras de DNA ou RNA purificadas previamente;
b) As amostras devem estar acondicionadas em tampão apropriado, congeladas e enviadas em gelo seco;
c) As amostras deverão ser quantificadas através de espectrofotometria para verificação da relação 260/280 e 260/230 nm bem como através de método fluorimétrico, utilizando-se o Qubit. O kit para quantificação deverá ser fornecido pelo Usuário.
d) A integridade das amostras deverá ser analisada através de gel de agarose (anexar a foto do gel);
e) no caso da preparação inicial já ter sido realizada no laboratório de origem: essas amostras devem ser enviadas congeladas, contendo informações de qualidade relativas à preparação (variam de acordo com a aplicação e devem ser solicitadas previamente à equipe responsável pela plataforma);
f) Independente do tipo de amostra enviada, serão feitas verificações de qualidade apropriadas e caso as amostras não apresentem condições de serem preparadas, as mesmas serão processadas de acordo com a opção do usuário (devolução ou descarte).

6.2 Local da Entrega de Materiais

a) As amostras podem ser entregues diariamente das 9:00 às 17:00h.
b) Os materiais devem ser entregues no seguinte endereço:
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – FIOCRUZ – RECIFE
Av. Moraes Rego s/n. Cidade Universitária CEP: 50740-465
Núcleo de Plataformas Tecnológicas (NPT1)
Tel: (81) 21012649

6.3 Agradecimentos em artigos, publicações e Dissertações de Mestrado e Teses de doutorado

Os usuários deverão, ao final da conclusão do projeto, mencionar em “Agradecimentos” a utilização da Plataforma.

The authors thank the Core Facility Program from FIOCRUZ- IAM for the use of the Next Generation Sequencer.

6.4 Entrega dos resultados

a) Os resultados obtidos estarão disponíveis através do Base Space da Illumina (www.plataformas.cdts.fiocruz.br);

b) O prazo de liberação dos resultados para os usuários dependerá do número e do tipo de bibliotecas a serem construídas bem como a ordem de entrega do material.

c) Os resultados serão disponibilizados em arquivos em formato FASTQ; caso o usuário não possua Base Space, trazer pen drive verificado com antivírus.

d) As amostras serão descartadas após 5 dias úteis após a entrega dos resultados. Caso o usuário queira retirar as amostras, deverá comparecer no Núcleo de Plataformas Tecnológicas.

7. RESPONSABILIDADES

É de responsabilidade do técnico devidamente treinado a construção das bibliotecas e operação do equipamento.

8. REFERÊNCIAS BILIOGRÁFICAS

Manuais dos kits fornecidos pelo fabricante (em www.illumina.com).

9. SUMÁRIO DAS REVISÕES

Sumário das Revisões		
Revisão	Data	Descrição ou itens revisados
00	26/03/2026	revisão

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Aggeu Magalhães
Av. Prof. Moraes Rego, s/n ,Campus da UFPE / Cidade Universitária
50670-420 – Recife – PE – BRASIL
Telefone: (81) 21012500

10. ANEXOS

10.1 Anexo 1: Folha de amostras

Solicitante:	**e-mail:**	**Número da solicitação no sistema RPT (ID):**
Telefone:	**Departamento:**	**Unidade:**
Substância Teste: **( ) DNA** **( ) RNA**	**Data de entrega:**	**Quantidade de amostras:**

Amostra	Organismo	Concentração QuBit (ng/ul)	260/280 nm	260/230 nm	Sequenciamento