

## Normas Gerais do Serviço de Sequenciamento NGS em MiSeq

- 1. O agendamento da corrida de sequenciamento de nova geração (NGS) no MiSeq Illumina deve ser feito pelo e-mail <a href="mailto:cpdp@cpdp.com.br">cpdp@cpdp.com.br</a> (miseq@cpdp.com.br ou <a href="mailto:vagninilaura@cpdp.com.br">vagninilaura@cpdp.com.br</a>) ou pelo telefone (16) 3911-8987.
  - 1.1. O usuário deve preencher o Cadastro de Cliente e o Formulário de Requisição de Corridas NGS que serão enviados no e-mail de confirmação do agendamento.
    - 1.1.1. Ficha Cadastral: as informações cadastrais serão para uso exclusivo do CPDP.
    - 1.1.2. Formulário de Requisição de Corridas NGS: é de responsabilidade exclusiva do usuário o fornecimento de informações confiáveis para realização das corridas. É importante ressaltar que as informações contidas nesse formulário são imprescindíveis para o sucesso da corrida, como: método de preparo de amostras (bibliotecas), identificação das amostras e index utilizados para cada uma, concentração a ser injetada (pM), número de bases a ser lido (número de ciclos), etc.
- 2. O CPDP não oferece serviço de preparo de bibliotecas nem suporte para o preparo das mesmas. Para planejamento e compra dos reagentes necessários o pesquisador deve entrar em contato diretamente com a empresa Illumina.
- 3. A entrega das amostras e reagentes para corrida deve ser feita pessoalmente no CPDP em data previamente agendada na contratação do serviço. Em caso de necessidade de alteração de data da corrida, o pesquisador deverá entrar em contato com o CPDP com pelo menos 1 semana de antecedência para consultar a disponibilidade de nova data desejada.
- **4.** As bibliotecas devem ser preparadas pelo pesquisador em seu laboratório e entregues ao CPDP prontas e quantificadas juntamente com o kit de reagentes para sequenciamento no MiSeq Illumina.
  - 4.1. As bibliotecas deverão ser entregues já misturadas (quando se tratar de múltiplas amostras) e normalizadas na concentração indicada pelo usuário no formulário de requisição de serviço (para MiSeq o recomendado é 4nM) e com volume mínimo de 12uL. O pesquisador deve informar no formulário a concentração final desejada para a injeção da biblioteca no cartucho de sequenciamento. A diluição final da biblioteca e a desnaturação serão feitas pela equipe do CPDP, entretanto o pesquisador deve informar como as amostras devem ser desnaturadas, visto que esse processo pode variar de acordo com o kit utilizado no preparo da biblioteca.
  - 4.2. Os kits com reagentes para sequenciamento mudam de acordo com a forma de preparo da biblioteca (TruSeq, Nextera, etc). Atenção ao tipo de reagente necessário para a realização de seu sequenciamento. É muito importante também ter atenção às temperaturas de acondicionamento dos reagentes: aqueles que precisam ser mantidos a 4°C devem ser entregues ao CPDP em gelo picado ou gelo reciclável, os que são mantidos a -20°C devem ser entregues em gelo seco, e alguns componentes dos kits são mantidos a temperatura ambiente. No momento da entrega a equipe do CPDP fará a conferência dos reagentes para checagem da temperatura de acondicionamento e possíveis danos (trincas ou vazamentos) nos tubos.



- 4.3. O sucesso da corrida de sequenciamento depende de uma série de fatores que serão de responsabilidade do cliente, tais como: utilização adequada dos index, importância da qualidade e quantificação / concentração das bibliotecas, acondicionamento das amostras e kits de corrida, kits adequados à biblioteca preparada, correto preenchimento das informações no formulário de requisição de corridas NGS, etc. Orientamos que para correta execução do preparo da biblioteca, assim como aquisição dos kits necessários o cliente entre em contato diretamente com a empresa Illumina (e-mail Illumina).
- **5. O CPDP não dispõe de suporte de bioinformática**. Portanto, o processamento e a análise dos dados devem ser realizados pelo próprio cliente.
  - 5.1. Após o término do sequenciamento a equipe do CPDP entrará em contato para combinar a melhor data e horário para a retirada dos resultados e das amostras excedentes.
  - 5.2. A retirada, armazenamento e transporte dos resultados é de inteira responsabilidade do cliente que deverá providenciar dispositivo adequado (HD externo, pen drive, etc) para a gravação e transporte dos dados.
  - 5.3. Os dados (reads) serão entregues ao cliente no formato da corrida original ou em arquivos FASTQ para cada uma das amostras.
  - 5.4. O CPDP manterá uma cópia de segurança dos dados por um prazo máximo de 3 meses a partir da entrega dos resultados. Após esse prazo os dados serão descartados.
  - 5.5. Através do uso do software 'Sequencing Analysis Viewer', obtido gratuitamente no endereço support.illumina.com/sequencing/sequencing\_software/sequencing\_analusis\_viewer\_sav.html e dos arquivos originais da corrida entregues, cliente poderá ter acesso aos gráficos da corrida possibilitando a checagem da qualidade da mesma a partir de parâmetros como 'Error Rate' e '% Perfect Reads'

## 6. Preço da corrida e pagamentos

- 6.1. O valor da corrida no MiSeq Illumina é R\$ 1.200,00.
- 6.2. A nota fiscal e o boleto bancário serão entregues juntamente com os resultados do sequenciamento.
- 6.3. O pagamento poderá ser feito através de boleto bancário com data de vencimento para 30 dias corridos após a emissão do mesmo. Após o vencimento, encargos de 0,2% ao dia com ordens de não recebimento após 15 dias do vencimento.
- 6.4. Os dados para a nota fiscal devem ser enviados por e-mail juntamente com o formulário de requisição e cadastro do cliente. IMPORTANTE: as amostras não serão processadas caso os dados para nota fiscal não tenham sido entregues.

## 7. Anexos:

- 7.1. Ficha cadastral e dados para nota fiscal
- 7.2. Formulário de requisição de corridas NGS