

UTILIZAÇÃO DO EQUIPAMENTO DE PCR EM TEMPO REAL QuantStudio 3 – UNIDADE MULTIDISCIPLINAR DE GENÔMICA

ÚLTIMA ATUALIZAÇÃO: 06 DE AGOSTO DE 2019

1. Cadastro:

a) O usuário deverá realizar o cadastro para utilização através do preenchimento do formulário disponível em: <https://goo.gl/nCnLCL>. Após esse cadastro, o usuário receberá um arquivo PDF com as instruções de utilização do equipamento. Lembramos que a primeira utilização, que incluirá o recebimento das instruções presencialmente, deverá ser agendada através de contato com o e-mail sequenciamento@biof.ufrj.br. Após a primeira utilização, o usuário receberá também acesso à plataforma de agendamento *on-line* (Agenda do Google).

b) O equipamento está localizado na Unidade Multidisciplinar de Genômica Darcy Fontoura de Almeida, localizada no Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Bloco G, 1º Pavimento, sala G1-043 (Telefone: 3638- 6531).

2. Agendamento:

a) O agendamento para utilização do equipamento será feito online, através da **Agenda do Google**. Lembramos que o equipamento é multiusuário e o desejável é atender o maior número de usuários possível. Assim, não será permitida a utilização da máquina por um único usuário por grandes períodos de tempo consecutivos em épocas de alta demanda de utilização. Casos especiais deverão ser avaliados com nossa equipe gestora.

b) Caso o usuário desista de utilizar o equipamento, solicitamos que o cancelamento seja feito com pelo menos uma hora de antecedência para que outros usuários possam utilizar a máquina (passível de punição com impossibilidade de agendamento por 01 semana em caso de falta e manutenção do agendamento).

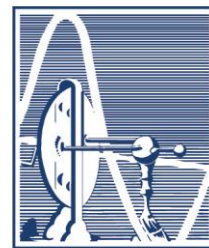
3. Utilização:

a) O usuário deverá preencher o livro de registro de utilização do equipamento no ato do uso. As informações solicitadas são imprescindíveis: Data da utilização, Unidade/ Instituto, Nome, E-mail, Nome do laboratório, Telefone de contato, Hora de início, Hora do término. Ainda existe um campo para observações, caso existam.

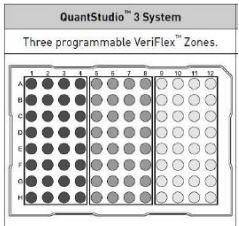
b) Durante a primeira utilização do equipamento, a equipe técnica responsável acompanhará o usuário para sanar possíveis dúvidas e auxiliar na programação dos experimentos. Abaixo as especificações do aparelho e dos insumos utilizados:



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Centro de Ciências da Saúde
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho



REALIZAÇÃO DE SEQUENCIAMENTO DE DNA NA UNIDADE
MULTIDISCIPLINAR DE GENÔMICA DO IBCCF

Informações do equipamento - QuantStudio3	
Bloco	96 poços
Cores	04 cores (azul, verde, amarelo, laranja)
Volume do bloco	0.1 mL
Volume da placa compatível	10 – 30 µl
Rampa de ciclagem	Standard ou Fast
Zonas veriflex (gradiente)	 O sistema QuantStudio 3 possui três zonas programáveis que permitem a execução de diferentes programações de temperatura numa mesma corrida. Ao contrário dos equipamentos que possuem tecnologia gradiente padrão (que fornecem uma curva de temperatura sigmoideal através as colunas), neste equipamento é possível ter temperaturas precisas dentro de cada zona.

Consumíveis plásticos recomendados pela fabricante

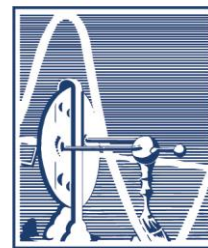
Consumível		Cont.	Nº cat.	Link
Tubos e tampas de tubos	MicroAmp™ Optical 8-Cap Strips	300 strips	4323032	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4323032?SID=srch-hj-4323032
	MicroAmp™ Fast 8-Tube Strip, 0.1 mL	125 strips	4358293	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4358293?SID=srch-hj-4358293
	MicroAmp™ Fast Reaction Tube with Cap, 0.1 mL	1000 tubos	4358297	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4358297?SID=srch-hj-4358297
Placa	MicroAmp™ Fast Optical 96-Well Reaction Plate, 0.1 mL	10 placas	4346907	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4346907?SID=srch-hj-4346907
Adesivos	MicroAmp™ Optical Adhesive Film Kit	1 kit	4313663	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4313663?SID=srch-hj-4313663
	MicroAmp™ Optical Adhesive Film	100 films	4311971	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4360954?SID=srch-srp-4360954
		25 films	4360954	

Atenção às especificações da placa e tubos recomendados (0.1 mL). O bloco é único para cada equipamento, assim placas e tubos 0.2 mL são incompatíveis. Não existe a necessidade de comprar a placa com barcode pois não temos o leitor acoplado ao equipamento.

Espectro de leitura e fluoróforos recomendados pela fabricante

Canal	Cor	Comprimento de leitura do filtro (nm)		Fluoróforos pré-calibrados no equipamento	Exemplos de outros fluoróforos (necessitam de aquisição de placa calibradora)
		Excitação	Emissão		
x1-m1	Azul	470 ± 15	520 ± 15	FAM™ e SYBR® Green	SYT09
x2-m2	Verde	520 ± 10	558 ± 10	VIC®	HEX™, TET™ e JOE™
x3-m3	Amarelo	550 ± 10	587 ± 10	ABY®, NED™ e TAMRA™	Cy®3
x4-m4	Laranja	580 ± 10	623 ± 14	JUN® e ROX™	Texas Red®

Atenção: O aparelho é calibrado sempre com os fluoróforos FAM™, VIC™, ROX™, SYBR™ dyes. Caso seja necessário realizar a leitura com outro fluoróforo compatível com o equipamento, é necessário nos contactar para que façamos a calibração e a previsão de custos adicionais.



**REALIZAÇÃO DE SEQUENCIAMENTO DE DNA NA UNIDADE
MULTIDISCIPLINAR DE GENÔMICA DO IBCCF**

Reagentes para reação recomendados pela fabricante

	Mix	Cont.	Nº catálogo	Link
SYBR	PowerUp™ SYBR® Green Master Mix	1mL	A25741	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A25741?SID=srch-hj-A25741
		5mL	A25742	
	Power SYBR® Green RNA-to-CT 1-Step Kit	2mL	4391178	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4391178?SID=srch-hj-4391178
		10mL	4389986	
TaqMan	TaqMan® Fast Advanced Master Mix	1mL	4444556	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4444556?SID=srch-hj-4444556
		5mL	4444557	
	TaqMan® Multiplex Master Mix	1mL	4461881	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4461881?SID=srch-hj-4461881
		5mL	4461882	
	TaqPath™ qPCR Master Mix, CG	5mL	A15297	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A15297?SID=srch-hj-A15297
	TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix	1mL	4444432	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4444432?SID=srch-hj-4444432
		5mL	4444434	
	TaqPath™ 1-Step RT-qPCR Master Mix, CG	5mL	A15299	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A15299?SID=srch-hj-A15299
		10mL	A15300	
	TaqPath 1-Step Multiplex Master Mix	0,5mL	A28525	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A28525?SID=srch-hj-A28525
		5mL	A28526	

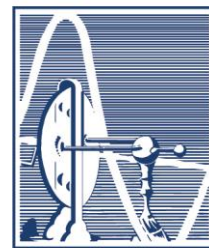
Reagentes para reação validados por usuários

	Mix	Cont.	Nº catálogo	Link
ABM	BrightGreen 2X qPCR MasterMix-ROX	500 reactions (20 µl)	MasterMix-R 4 x 1.25 ml	https://www.abmgood.com/qPCR-Protocol-Analysis-MasterMix-R.html
EvaGreen	5x HOT FIREPol® EvaGreen® qPCR Mix Plus (ROX)	1 mL	08-24-00001	https://www.sbd.ee/EN/products/realtime_pcr_mixes/evagreen_qpcr_mix_plus_rox
		8 mL	08-24-00008	
		20 mL	08-24-00020	

4. Obtenção dos resultados

a) Os resultados ficarão salvos no computador (acoplado ao equipamento) e deverá ser retirado utilizando *pendrive*, que deve ser formatado a cada nova utilização.

b) Os resultados ficarão armazenados no computador por apenas 03 meses após a corrida, assim, recomendamos fortemente que os dados sejam salvos imediatamente após cada corrida.



**REALIZAÇÃO DE SEQUENCIAMENTO DE DNA NA UNIDADE
MULTIDISCIPLINAR DE GENÔMICA DO IBCCF**

5. Custo para utilização

a) De forma a manter os custos de operação do equipamento (calibração, manutenções, visitas técnicas para eventual conserto e manutenção do ar condicionado da sala) o custo de uma hora de utilização será de R\$ 10,00 (tempo mínimo de utilização de 30 minutos). Esse valor poderá ser pago através de depósito do valor devido diretamente na conta da Unidade, que é gerenciada por uma fundação de apoio a pesquisa. Após o pagamento, será emitida uma nota fiscal de serviços eletrônica. Informações detalhadas acerca do pagamento por essa via serão fornecidos pela empresa de apoio, na época da cobrança.

Dúvidas:

Polyana Silva Pereira – Biomédica – polyanapereira@biof.ufrj.br

Responsáveis:

Ana Beatriz F. Pacheco – Profa. Associada
biafp@biof.ufrj.br

Polyana Silva Pereira – Biomédica
polyanapereira@biof.ufrj.br

Equipe gestora:

Ana Beatriz F. Pacheco – Profa. Associada
biafp@biof.ufrj.br

Juliana Goncalves – Biomédica
jupgoncalves2@gmail.com

Flavia Bloise – Professora Adjunta
flaviabloise@gmail.com

Polyana Silva Pereira – Biomédica
polyanapereira@biof.ufrj.br

Livia Barbosa – Tecnólogo – liviacbarbosa2@gmail.com