



INCT Fungos do Brasil

POP 2: Checklist de recepção e de amostras

Manual para o Comitê Gestor

Objetivo:

Estabelecer o procedimento padrão para os avaliadores do Comitê e Pontos Focais na recepção, conferência e validação das amostras de DNA recebidas dos pesquisadores da rede, garantindo que estejam aptas para envio à *facility* de sequenciamento nos EUA.

1. Recepção física e conferência de documentação

Ao receber um lote de amostras de um laboratório da rede, o responsável pelo Ponto Focal deve iniciar imediatamente a conferência.

Passo 1: Verificação da Integridade do Pacote

- O pacote chegou congelado (presença de gelo seco/gelo reciclável ainda congelado)?
- Os tubos ou placas estão intactos, sem rachaduras ou vazamentos?

Passo 2: Conferência Documental

- A "Planilha 1: Envio de Amostras de DNA" foi enviada digitalmente?
- O número de amostras físicas bate exatamente com o número listado na planilha?
- A identificação nos tubos corresponde exatamente aos códigos na planilha?

2. Checklist de qualidade do DNA (Validação Técnica)

O Comitê deve analisar os dados fornecidos pelo usuário na planilha para cada amostra. Se a amostra não cumprir qualquer um dos critérios abaixo, ela deve ser sinalizada como **"REJEITADA"** ou **"PENDENTE DE NOVA EXTRAÇÃO"**.

Critério de Avaliação	Parâmetro Aceitável	Ação em caso de não conformidade
Método de Extração Informado?	Sim	Solicitar informação ao pesquisador.
Tampão de Suspensão	Água ou tampão EDTA-free	Rejeitar. Solicitar nova extração (não é possível apenas precipitar e ressuspender com segurança sem perda de qualidade).
Volume total	20 µL a 50 µL	Se < 20 µL, avaliar se a massa total atende. Se > 50 µL, solicitar concentração (se possível) ou nova extração.
Quantidade total de DNA	≥ 500 ng	Rejeitar. A facility exige este mínimo para PCR-free.
Método de Quantificação	Qubit (ou similar fluorométrico)	Se quantificado apenas por NanoDrop, o Ponto Focal/Hub deve requantificar via Qubit.
Razão 260/280	1.6 a 2.0	Rejeitar. Solicitar nova purificação ou extração.
Razão 260/230	≥ 1.8	Rejeitar. Risco alto de inibidores. Solicitar limpeza (cleanup).
Integridade do DNA em gel	DNA integro em gel 0.8%	Rejeitar amostras severamente degradadas.

3. Consolidação em Placas de 96 Poços

Após a validação, as amostras aprovadas devem ser transferidas para placas de PCR de 96 poços para o envio internacional.

- 1. Mapeamento:** Preencha o mapa da placa (A1 a H12) associando o código original da amostra à sua nova posição.

2. **Pipetagem:** Assegure-se de que a amostra esteja homogeneizada antes de pipetar para a placa.
3. **Vedação:** Utilize selos de alumínio (*foil seals*) para selar a placa firmemente.
4. **Proteção:** Coloque uma tampa de plástico rígido sobre o selo de alumínio ou proteja com papel toalha fixado com elásticos.
5. **Lotes:** Agrupe as amostras em múltiplos de 50 a 96 por placa. Placas com menos de 50 amostras não são otimizadas para o fluxo robótico da *facility*.

4. Preparação para Envio Internacional

- Exportar a planilha final consolidada com o mapa da placa.
- Garantir que a licença (SisGen) para exportação de material genético estejam vigentes e informada na planilha de solicitação.
- Acondicionar as placas em caixas de isopor com gelo seco suficiente para o trânsito internacional.
- Endereçar para: **Facility** - [Instruções de Endereçamento em breve].
-



inct
institutos nacionais
de ciência e tecnologia



CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico
60 ANOS

Ministério da
**Ciência, Tecnologia
e Inovação**

