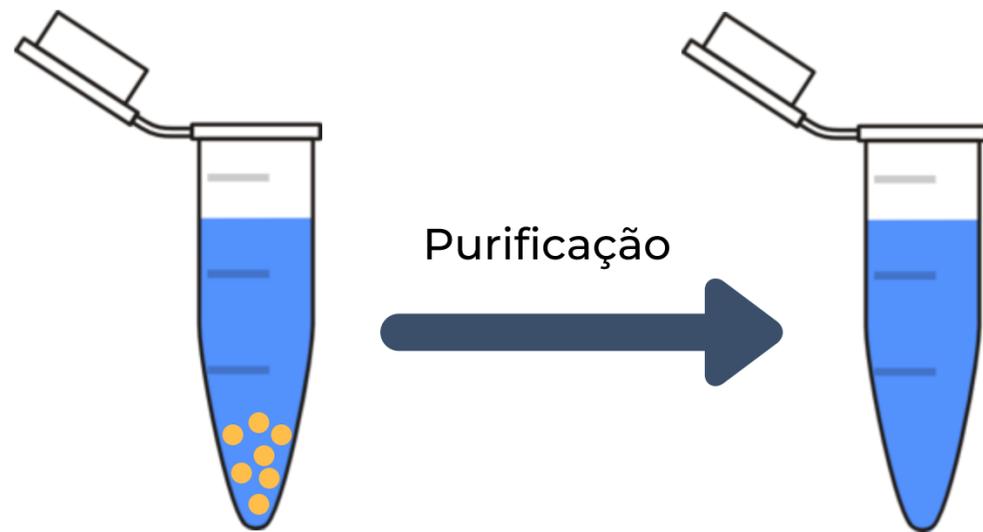


GUIA PARA O PREPARO E ENVIO DE AMOSTRAS

SUMÁRIO

Preparo das amostras	3
Quantidades e cálculos	4
Outras informações de preparo	5
Serviço adicional - Adição de <i>primer</i> universal	6
Serviço adicional - Purificação e Quantificação	7
Investimento	8
Resultados e Pagamento	9
Endereço e contatos	10

PREPARO DAS AMOSTRAS



Produto de PCR ou
DNA plasmidial



Exemplos de valores de
quantificação obtidos

Amostras	Quantificação (ng/uL)
Amostra 1	17,90
Amostra 2	20,40
Amostra 3	45,70

DICA

- A purificação (clean-up) dos produtos de PCR é uma etapa fundamental na preparação de amostras para sequenciamento. A purificação elimina enzima, *primers* e dNTPs residuais da PCR que interferem negativamente na reação do sequenciamento. Recomendamos que a purificação seja realizada com kits comerciais, mesmo havendo banda única no gel..

QUANTIDADES E CÁLCULOS

DNA-molde	Quant de DNA em 5 uL	Concentração do <i>Primer</i> (Adicionar 1 uL)
PCR até 300 pb	30 ng	5 uM
PCR 300-400 pb	40 ng	5 uM
PCR 400-500 pb	50 ng	5 uM
PCR 500-600 pb	60 ng	7,5 uM
PCR 600-700 pb	70 ng	7,5 uM
PCR 700-800 pb	80 ng	7,5 uM
PCR 800-900 pb	90ng	7,5 uM
PCR 900-1.000 pb	100 ng	7,5 uM
PCR 1.000-1.500 pb	150 ng	10 uM
PCR 1.500-2.000 pb	200 ng	10 uM

PREPARO: Em microtubos de 0,2, 0,5 ou 0,6 mL, adicionar o DNA-molde mais um dos *primers* e, se necessário, água para completar o volume final de 6 uL.

DICA: Faça uma alíquota de *primer* com concentração final desejada. Assim, bastará pipetar 1 uL durante o preparo para envio.

IMPORTANTE: deve-se adicionar somente UM *primer* por amostra. Se a amostra precisar ser sequenciada com mais de um *primer*, ela deverá ser dividida em dois tubos!

IMPORTANTE: Alguns equipamentos superestimam a quantidade de DNA molde em 3 vezes. Então considere nos enviar o dobro da quantidade obtida no equipamento.

OUTRAS INFORMAÇÃO DE PREPARO

ENVIO EM PLACA

Alternativamente, poderemos ceder, gratuitamente, microplacas ópticas de 96 poços para quantidades superiores a 50 amostras. Neste caso, basta preparar as amostras com metade da quantidade solicitada para microtubos, isto é, o volume final de amostras em cada poço da microplaca deverá ser de 3 uL. Consulte-nos para saber o modelo adequado de microplacas para envio de amostras! Veja nossos contatos na última página deste guia.



ENVIO DE AMOSTRAS SECAS

As amostras (DNA-molde + primer) podem ser secas em speed-vac ou em estufa a 60°C. Desta forma, elas poderão ser enviadas a nós sem gelo.

NOMEAÇÃO E EMBALAGEM DAS AMOSTRAS

Sugerimos nomear as amostras sequencialmente (1,2,3,... ,A,B, C.., 1F, 1R). O nome da amostras pode ser descrito no formulário, mas não é uma informação obrigatória.

IMPORTANTE: - Usar caneta de boa qualidade à prova d'água, cuja tinta não apague facilmente.

- Não envie amostras envoltas em plásticos ou parafilmes.



SERVIÇO ADICIONAL - ADIÇÃO DE PRIMER UNIVERSAL

Disponibilizamos alguns *primers* universais para adição nas suas amostras.

Basta enviar somente o DNA-molde que nós faremos a adição do *primer* solicitado.

Siga as mesmas dicas de preparo de amostras anteriormente descritas, fechando o volume final com 5 uL!



Primers disponíveis na empresa:

Primer Universal	Sequência (5'-3')
T7 Promoter	AAT ACG ACT CAC TAT AGG
T7 Terminator	GCT AGT TAT TGC TCA GCG G
T3	ATT AAC CCT CAC TAA AGG
SP6	GAT TTA GGT GAC ACT ATA G
M13 (-21) Forward	TGT AAA ACG ACG GCC AGT
M13 (-40) Forward	GTT TTC CCA GTC ACG AC
M13 Reverse	CAG GAA ACA GCT ATG ACC
ITS1	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G
ITS4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC
ITS5	GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G
16S-F27	AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG
16S-R1492	TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T



SERVIÇO ADICIONAL - PURIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

Envie suas amostras e deixe o resto do trabalho por nossa conta!

PROCEDIMENTOS

PURIFICAÇÃO



A purificação é umas das etapas mais importantes do preparo de amostras: a correta remoção de produtos inespecíficos da PCR permite a obtenção de resultados com alta qualidade.

***Processo de purificação disponível apenas para produtos de PCR contendo banda única em gel.**

QUANTIFICAÇÃO

Medir a concentração de DNA dos produtos de PCR proporciona o preparo de amostras com quantidades adequadas ao sequenciamento, resultando em dados de melhor qualidade. A quantificação por espectrofotometria proporciona também a verificação da qualidade e pureza do DNA, enquanto a quantificação por fluorimetria resulta em resultados de quantificação mais precisos.



INVESTIMENTO

Purificação de amplicons + Quantificação: R\$ 14,00

Quantificação de amplicons purificados ou plasmídeos: R\$ 7,00

COMO ENVIAR

Envie-nos seu produto de PCR ou DNA plasmidial na quantidade de 15-20 uL.

Envie alíquotas dos *primers* a serem utilizados com concentração de 5 pmol/uL (uM) ou 7,5 uM ou 10 uM dependendo do tamanho do seu fragmento (ver pág. 4 deste guia). O volume dos *primers* dependerá do número de amostras enviadas., pedimos o mínimo de 3 uL de cada *primer* por reação de sequenciamento.

IMPORTANTE!!!!

Informe no formulário:

Quais o(s) serviço(s) desejado(s).

Quais os nomes das amostras e *primers* para facilitar a identificação.

Qual a concentração dos *primers* e quais *primers* correspondem a cada amostra

Em qual volume devemos ressuspender o DNA molde e os *primers*, caso as amostras e *primers* sejam enviados secos.

Qual o tamanho do fragmento esperado no sequenciamento.



Confira abaixo os valores do sequenciamento:

TIPO DE SERVIÇO	VALOR UNITÁRIO
Amostra já marcada com o reagente BigDye	R\$ 20,50
Amostra não marcada com o reagente BigDye	R\$ 31,00
Amostra não marcada + adição de <i>primer</i> universal	R\$ 33,00
Purificação e quantificação (por DNA molde)	R\$14,00

Desconto progressivo para envio de Amostra não marcada com o reagente BigDye

QUANTIDADE DE AMOSTRAS	VALOR UNITÁRIO
De 1 a 191	R\$ 31,00
De 192 a 383	R\$ 30,40
De 384 a 767	R\$ 29,60
Mais de 768	R\$ 28,00



RESULTADOS

Os resultados serão enviados por e-mail em até 20 dias corridos após o recebimento das amostras.

PAGAMENTO

Após o envio dos resultados, entraremos em contato para solicitar ou confirmar as informações para emissão da nota fiscal. Para envio das amostras, preencha o formulário com os dados do responsável pelo pagamento. As formas de pagamento disponíveis são: boleto, depósito, transferência ou PIX.

VOCÊ SABIA?

Caso seja a sua primeira experiência com a ACTGene, realizaremos duas (2) reações de sequenciamento **GRATUITAS** antes de sequenciarmos um número maior.



ENDEREÇO E CONTATOS

Endereço para envio das amostras e formulário por correio (SEDEX recomendado):

ACTGene Análises Moleculares Ltda.
CNPJ: 10.579.265/0001-40
Rua Gustavo Valente, 69
Bairro Bela Vista
CEP 94810-250 - Alvorada, RS

Endereço para entrega das amostras e formulário pessoalmente:

Av. Bento Gonçalves, 9.500 - Bairro Agronomia
Campus do Vale - UFRGS
Centro de Biotecnologia - Prédio 43.421
Andar Inferior – Sala 106

Horário para entrega de amostras:

Segunda a sexta, das 09:30-12 h e das 13 h-16 h

 www.actgene.com.br

contato@actgene.com.br

 (51) 3044-3307 / (51) 99116-6600



**Siga-nos em nossas
redes sociais!**



ATENÇÃO!

Amostras enviadas líquidas devem ser acondicionadas em caixa de isopor com placas de gelo gel.

Envie suas amostras pelo serviço Sedex dos Correios ou transportadora.

Formulário disponível para baixar no site
ou para preenchimento on line

