

Genômica da Biodiversidade Brasileira

Manual de orientação para coleta, acondicionamento e envio de amostras biológicas para o Instituto Tecnológico Vale (ITV)

Belém / PA
Julho / 2024

Parceria entre:



SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO.....	03
2. RECOMENDAÇÕES GERAIS SOBRE AS AMOSTRAS.....	03
3. RECOMENDAÇÕES PARA O EIXO 1 – GENOMAS DE REFERÊNCIA.....	04
3.1. TIPOS DE AMOSTRAS, QUANTIDADES RECOMENDADAS E INSTRUÇÕES DE COLETA PARA GENOMAS DE REFERÊNCIA.....	05
3.1.1. Tecidos sólidos.....	05
3.1.2. Sangue não-nucleado (ex: mamíferos).....	06
3.1.3. Sangue nucleado (ex: vertebrados não-mamíferos).....	07
3.1.4. Tecido vegetal (preferencialmente folhas jovens recém-emergidas).....	07
4. RECOMENDAÇÕES PARA EIXO 2 (MITOGENOMAS/PLASTOMAS) E EIXO 3 (GENOMAS POPULACIONAIS).....	09
4.1. TIPOS DE AMOSTRAS, QUANTIDADES RECOMENDADAS E INSTRUÇÕES DE COLETA PARA MITOGENOMAS/PLASTOMAS E GENOMAS POPULACIONAIS.....	09
4.1.1. Tecidos sólidos.....	09
4.1.2. Sangue não-nucleado (ex: mamíferos).....	09
4.1.3. Sangue nucleado (ex: vertebrados não-mamíferos).....	10
4.1.4. Tecido vegetal (preferencialmente folhas).....	10
4.1.5. DNA extraído.....	10
5. INFORMAÇÕES SOBRE O ENVIO.....	10
5.1. ORIENTAÇÕES PARA O EIXO 1 (GENOMAS DE REFERÊNCIA).....	11
5.2. ORIENTAÇÕES PARA EIXO 2 (MITOGENOMAS/PLASTOMAS) E EIXO 3 (GENOMAS POPULACIONAIS).....	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	12
ANEXOS.....	13

Genômica da Biodiversidade Brasileira

1. APRESENTAÇÃO

O presente documento tem como finalidade sistematizar as orientações para **coleta, acondicionamento e envio de amostras biológicas** para o Instituto Tecnológico Vale (ITV), em Belém/PA, de modo a garantir a manutenção do material genético em condições adequadas para os posteriores procedimentos moleculares dentro dos seguintes eixos metodológicos do Acordo PD&I ICMBio-ITV Genômica da Biodiversidade Brasileira (GBB):

Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3
Genomas de referência	Mitogenomas/plastomas	Genomas populacionais

Recomendamos que o desenho amostral dos projetos, incluindo a escolha das amostras, seja feito com o auxílio do corpo técnico do GBB, que inclui analistas e pesquisadores do ICMBio e ITV, que atuarão como consultores científicos nos projetos.

Leia com atenção **todo** este manual antes de realizar qualquer procedimento. Em caso de dúvidas, entre em contato com o corpo técnico do GBB.

2. RECOMENDAÇÕES GERAIS SOBRE AS AMOSTRAS

Para os três eixos, **cada amostra** deve:

- Corresponder a um único indivíduo;
- Ser manipulada e armazenada de forma a evitar contaminação;
- Ter suas informações inseridas na aba “5. Planilha de amostras” da “Planilha de cadastro para formalização e acompanhamento de projetos no âmbito do GBB” (Anexo 1). O **envio das amostras**, bem como o **preenchimento da planilha**, devem ser comunicados por e-mail à pesquisadora Antonita Santana (antonita.silva@pq.itv.org), com cópia para Amanda Vidal (amanda.vidal@itv.org), Sibelle Vilaça (sibelle.vilaca@itv.org) e Alexandre Aleixo (alexandre.aleixo@itv.org). Informe no título do e-mail o código do projeto (ex: CPB_1_001/GBB002);
- Estar associada a uma licença de coleta SISBIO;
- Ser devidamente cadastrada no SISGEN;
- Estar vinculada a uma autorização pelo Comitê de Ética (quando necessário);
- Estar vinculada a um *voucher* em coleção científica (quando possível);
- Para identificar as amostras nas etiquetas dos tubos, utilize o **código da coleção de origem** (caso o indivíduo tenha sido tombado em uma coleção científica) ou utilize o **código de campo ou de coleta** (caso o indivíduo ainda não tenha sido tombado);

Genômica da Biodiversidade Brasileira

- Identifique todos os tubos com caneta permanente e com etiquetas criogênicas (ou papel escrito a lápis), simultaneamente, conforme ilustrado na Figura 1. Passe fita durex transparente por cima da etiqueta de modo a dar duas voltas no tubo. Esta **identificação dupla** é por segurança;



Figura 1. Foto ilustrativa de um criotubo com identificação dupla do código da amostra.

- Use, preferencialmente, tubos criogênicos com tampa de rosca para evitar vazamentos indesejados. Caso só possua tubos com tampa de encaixe, recomendamos envolver a tampa com filme de parafina (parafilm®) no momento do envio;
- Use luvas descartáveis durante todo o procedimento;
- Use o procedimento de sua preferência e adequado para a retirada de tecido/sangue do organismo de interesse;
- Caso manipule amostras de mais de um indivíduo, é imprescindível esterilizar todo o material utilizado entre um indivíduo e outro, a fim de evitar contaminação cruzada;
- Garanta um ambiente estéril para a manipulação da amostra. Use água sanitária 2%, seguida de etanol 70%, para esterilizar a superfície de trabalho e os materiais não-descartáveis;
- Caso manipule nitrogênio líquido e/ou gelo seco, use equipamentos de proteção como luvas e óculos, bem como pegador de metal para retirar o nitrogênio líquido do botijão criogênico;
- **Evite ciclos repetidos de congelamento e descongelamento** das amostras, bem como exposição a grandes variações de temperatura e ao calor. Isso pode levar à degradação do DNA/RNA.

3. RECOMENDAÇÕES PARA O EIXO 1 – GENOMAS DE REFERÊNCIA

Para a geração dos genomas de referência, além das plataformas PacBio para **sequenciamento de leituras longas** e Oxford Nanopore PromethION para **sequenciamento de leituras ultra-longas**, será aplicada a metodologia de captura de conformação cromossômica *in vivo* (Hi-C). Essa metodologia é essencial para a montagem eficiente de genomas completos, uma vez que

Genômica da Biodiversidade Brasileira

permite a análise das interações cromossômicas *in situ*, contribuindo para a obtenção de montagens em nível cromossômico. Dessa forma, é imprescindível garantir a preservação da integridade das células desde a coleta até o processamento, especialmente para a obtenção de DNA de alta qualidade (ou seja, de alto peso molecular) a partir de amostras frescas mantidas em cadeia fria.

Além disso, para identificar regiões codificantes (genes) no genoma de referência, é crucial gerar **transcriptomas**, que compreendem o conjunto completo de transcritos (moléculas de RNA) em uma célula, tecido ou organismo. Nesse contexto, é essencial coletar, idealmente, **sete** tipos diferentes de tecidos/órgãos, nessa ordem de prioridade: cérebro, gônadas, fígado, rins, olhos, músculo e coração, para uma abrangência representativa da expressão gênica.

Observações importantes:

- Dê preferência a indivíduos do **sexo heterogamético**, ou seja, aqueles cujos cromossomos sexuais são diferentes. Por exemplo, nas aves, as fêmeas são o sexo heterogamético (ZW), ao passo que os machos são os heterogaméticos nos mamíferos (XY);
- É necessário tirar uma **foto** do(s) indivíduo(s) amostrado(s) e enviá-la por e-mail juntamente com a codificação da amostra inserida na planilha. É imperativo que o espécime utilizado para o sequenciamento do genoma de referência seja depositado em uma coleção biológica e que os dados do tombamento sejam repassados para a equipe técnica do GBB;
- Para amostras obtidas de cultura celular, entre em contato com o corpo técnico do ITV para obter mais informações sobre quantidade de células, armazenamento e envio.

3.1. Tipos de amostras, quantidades recomendadas e instruções de coleta para genomas de referência

3.1.1. Tecidos sólidos – genomas de referência

a. **Quantidade recomendada:** >100 mg ou o correspondente a um grão de milho por amostra. Se possível, coletar sete tecidos/órgãos por espécie (idealmente do mesmo indivíduo) nessa ordem de prioridade: cérebro, gônadas, fígado, rins, olhos, músculo e coração. Neste caso, isso deve ser devidamente informado na etiqueta do tubo (por exemplo, “Amostra 001 - músculo”; Amostra 001 - fígado” etc.) e na planilha de amostras (Anexo 1).

b. Procedimento de coleta e armazenamento em cadeia fria:

- I. Coloque os tubos criogênicos em gelo seco para pré-resfriar e garantir que a amostra mantenha uma temperatura constante após o congelamento instantâneo;
- II. Usando o método de sua preferência, retire a amostra de tecido seguindo

Genômica da Biodiversidade Brasileira

- as quantidades mínimas recomendadas;
- III. Usando uma pinça estéril, mergulhe o pedaço de tecido no recipiente de nitrogênio líquido até que fique totalmente congelado. Coloque o pedaço no tubo criogênico pré-refrigerado;
- IV. Armazene imediatamente a -80°C até o envio ao ITV;
- V. Envie os tubos com as amostras para o ITV dentro de sacos plásticos lacrados e mergulhados em um isopor contendo quantidade suficiente de gelo seco.

c. Procedimento de coleta e armazenamento em *RNAlater*:

Este tipo de armazenamento é compatível com qualquer tipo de tecido sólido e é **indispensável** para as amostras destinadas à obtenção dos transcriptomas.

- I. Use 0,5 mL de *RNAlater* para cada 100 mg de amostra. Certifique-se de que o tecido esteja ligeiramente macerado para que a solução penetre bem o interior do pedaço inserido;
- II. Com *RNAlater*, as amostras também podem ser mantidas por algumas horas dentro de um isopor contendo gelo escama ou gelo reciclável (nessa ordem de preferência) até o armazenamento em freezer (idealmente a -80°C). Não acondicione as amostras em temperatura ambiente;
- III. Envie as amostras ao ITV em caixa de isopor contendo quantidade suficiente de gelo seco.

Observação: Caso necessite receber tubos com *RNAlater* do ITV para a realização das coletas, encaminhe solicitação via e-mail para Antonita Santana (antonita.silva@pq.itv.org) com cópia para os membros dos comitês gestores do ICMBio e do ITV com as seguintes informações: nome e endereço do responsável pelo recebimento e quantidade necessária de tubos com *RNAlater*.

3.1.2. Sangue não-nucleado (ex: mamíferos) – genomas de referência

- a. **Quantidade recomendada:** >2 mL por amostra (dividir em 2-4 tubos com 0,5 a 1 mL de sangue em cada).
- b. **Procedimento de coleta e armazenamento em tubo EDTA K2:**
 - I. Colete o sangue total com o método de sua preferência;
 - II. Adicione 0,5 a 1 mL de sangue em cada tubo de EDTA K2;
 - III. Repita o passo 2 para a quantidade de tubos que deseja enviar, seguindo as quantidades mínimas recomendadas;
 - IV. Misture a amostra invertendo o tubo de 8 a 10 vezes;
 - V. Armazene na menor temperatura possível (recomendação: -80°C)

Genômica da Biodiversidade Brasileira

imediatamente após a coleta e envie para o ITV refrigerado preferencialmente em gelo seco.

3.1.3. Sangue nucleado (ex: vertebrados não-mamíferos) – genomas de referência

- a. **Quantidade recomendada:** >200 µL por amostra (dividir em 2-4 tubos com 50 a 100 µL de sangue em cada).
- b. **Procedimento de coleta e armazenamento em etanol 95-100%:**
Use etanol específico para biologia molecular, adequado para uso na precipitação de ácidos nucleicos. Exemplos de marcas: Merck e Sigma-Aldrich.
 - I. Prepare tubos de 1,5 mL ou 2 mL no gelo contendo 1 mL de etanol 95%-100%;
 - II. Colete o sangue total com o método de sua preferência. OBS.: Não centrifugar ou separar o plasma;
 - III. Adicione 50-100 µL de sangue diretamente em cada tubo refrigerado contendo 1 mL de etanol. Inverta cada tubo gentilmente três vezes;
 - IV. Coloque os tubos na vertical sobre o gelo até o armazenamento na menor temperatura possível (recomendação: -80°C) imediatamente após a coleta;
 - V. Para o envio, embrulhe os tubos em tecido ou algodão dentro de um tubo Falcon de 50 mL. Envie para o ITV refrigerado, preferencialmente em gelo seco.

3.1.4. Tecido vegetal (preferencialmente folhas jovens recém-emergidas) – genomas de referência

- a. **Quantidade recomendada:** >2 g de tecido úmido.
- b. **Procedimento de coleta e armazenamento em tampão CTAB 2% saturado em NaCl:**
 - I. Adicione 10-12 mL (no caso de tubo Falcon de 15 mL) ou 3,5-4 mL (no caso de tubo Eppendorf de 5 mL) de tampão CTAB 2% saturado em NaCl (para preparo do tampão, ver Anexo 2);
 - II. Retire o tecido foliar e coloque dentro do tubo. Escolha folhas saudáveis (sem fungos ou parasitas) e evite a parte das nervuras;
 - III. Caso necessário, complete o tubo com CTAB 2% saturado em NaCl, de forma a garantir que toda a amostra esteja coberta pelo tampão;
 - IV. Mantenha a amostra na menor temperatura possível até o envio para o ITV refrigerado (usando gelo seco ou gelo reciclável, nessa ordem de preferência);

Genômica da Biodiversidade Brasileira

- V. O tubo Falcon deve ser identificado da mesma maneira que o tubo criogênico (Figura 1).

c. Procedimento de coleta e armazenamento em sílica gel:

- I. Separe envelopes de papel (ou filtros de café, que são mais porosos e facilitam a secagem mais rápida da planta), sílica gel e sacos plásticos com fecho *zip lock*;
- II. Para cada planta, escolha folhas saudáveis (sem fungos ou parasitas), corte em pedaços (~1x1 cm) e espalhe-as por todo o envelope (Figura 2);
- III. Feche o envelope com fita crepe, identifique o código da amostra com lápis ou caneta permanente e coloque dentro de um saco plástico com fecho *zip lock* contendo sílica gel, em uma proporção de pelo menos 10:1 de sílica gel para tecido foliar total. Certifique-se de que a sílica gel não entre em contato direto com o tecido foliar;
- IV. Você pode optar por colocar vários envelopes dentro de um mesmo saco, de preferência agrupados por espécie, população e/ou local de coleta, e cliques de arquivo podem ser usados para proteger os envelopes, se necessário;
- V. Mantenha as amostras em temperatura ambiente para que ocorra a desidratação do tecido. Fique atento(a) à mudança de cor da sílica gel, o que indica saturação e necessidade de substituição do produto;
- VI. Envie as amostras para o ITV em temperatura ambiente. Não é recomendado refrigerar material seco.



Figura 2. Foto ilustrativa de um envelope de filtro de café e de um saco com fecho *zip lock* contendo sílica gel para acondicionamento dos envelopes. Tanto os envelopes quanto os sacos devem ser devidamente identificados.

4. RECOMENDAÇÕES PARA EIXO 2 (MITOGENOMAS/PLASTOMAS) E EIXO 3 (GENOMAS POPULACIONAIS)

Para o sequenciamento das amostras do eixo 2 (mitogenomas/plastomas) e eixo 3 (genomas populacionais), será utilizada predominantemente a plataforma Illumina, baseada em **leituras curtas**, e que apresenta menores exigências com relação à integridade do DNA.

Para amostras provenientes de coleções científicas, iremos avaliar a possibilidade de sequenciamento, especialmente para o eixo 3 (genomas populacionais). Forneça detalhes sobre o método de preservação que foi utilizado para o corpo técnico do ITV e, com base nessa informação, será recomendada a melhor maneira para envio do material.

4.1. Tipos de amostras, quantidades recomendadas e instruções de coleta para mitogenomas/plastomas e genomas populacionais

4.1.1. Tecidos sólidos – mitogenomas e genomas populacionais

- a. **Quantidade recomendada:** >50 mg por amostra. Em caso de tecidos preservados em coleções biológicas, envie >100 mg.
- b. **Procedimento de coleta e armazenamento em etanol 95-100% ou em *RNAlater*:**

Coloque 50 mg de tecido em um tubo contendo 1 mL de etanol 95%-100% (etanol específico para biologia molecular) ou 0,5 mL de *RNAlater*, e mantenha na menor temperatura possível até o envio (preferencialmente, refrigerado).

4.1.2. Sangue não-nucleado (ex: mamíferos) – mitogenomas e genomas populacionais

- a. **Quantidade recomendada:** Adicione 1 mL de sangue total em cada tubo de EDTA K2.
- b. **Procedimento de coleta e armazenamento em tubo EDTA K2:**
 - I. Colete o sangue total com o método de sua preferência;
 - II. Adicione 1 mL de sangue total em cada tubo de EDTA K2;
 - III. Misture a amostra invertendo o tubo de 8 a 10 vezes;
 - IV. Mantenha na menor temperatura possível até o envio (preferencialmente, refrigerado).

Genômica da Biodiversidade Brasileira

4.1.3. Sangue nucleado (ex: vertebrados não-mamíferos) – mitogenomas e genomas populacionais

- a. **Quantidade recomendada:** Adicione 100 µL de sangue total em um tubo contendo etanol 95-100%.
- b. **Procedimento de coleta e armazenamento em etanol 95-100%:**
 - I. Prepare tubos de 1,5 mL ou 2 mL no gelo contendo 1 mL de etanol 95%-100% (etanol específico para biologia molecular);
 - II. Colete o sangue total com o método de sua preferência. OBS.: Não centrifugar ou separar o plasma;
 - III. Adicione 100 µL de sangue diretamente no tubo refrigerado contendo 1 mL de etanol 95-100%. Não misturar, ressuspender ou vortexar;
 - IV. Mantenha na menor temperatura possível até o envio (preferencialmente, refrigerado).

4.1.4. Tecido vegetal (preferencialmente folhas) – plastomas e genomas populacionais

- a. **Quantidade recomendada:** >500 mg por amostra.
- b. **Procedimento de coleta e armazenamento em tampão CTAB 2% saturado em NaCl:** Proceder conforme descrito na seção 3.1.4.
- c. **Procedimento de coleta e armazenamento em sílica gel:** Proceder conforme descrito na seção 3.1.4.

4.1.5. DNA extraído – mitogenomas/plastomas e genomas populacionais

- a. **Quantidade recomendada:** 15 ng/µL de DNA em 40 µL, no mínimo.
- b. **Procedimento de armazenamento:**
 - I. As amostras devem ser quantificadas no Qubit e, se possível, avaliadas no Nanodrop e por gel de agarose;
 - II. Envie a amostra resfriada em tampão (ex: TE pH 8 e tampão de eluição do kit de extração utilizado) ou, preferencialmente, liofilizada em temperatura ambiente.

5. LOGÍSTICA DE ENVIO DE AMOSTRAS

Observações importantes:

- As amostras poderão ser enviadas ao ITV somente após a aprovação do projeto pelos comitês gestores do ICMBio e do ITV;

Genômica da Biodiversidade Brasileira

- Adicione na planilha do projeto (aba 5 do Anexo 1) apenas as amostras que serão de fato enviadas para o ITV;
- Apesar de haver a marcação de horário com a World Courier, pode haver atrasos por parte da transportadora para a coleta das amostras. Realize o agendamento preferencialmente às segundas-feiras.

5.1. Orientações para o eixo 1 (genomas de referência)

- Para requisitar envio pela World Courier, entre em contato com Antonita Santana (antonita.silva@pq.itv.org), com cópia para Amanda Vidal (amanda.vidal@itv.org), Sibelle Vilaça (sibelle.vilaca@itv.org) e Alexandre Aleixo (alexandre.aleixo@itv.org), com o título “**Coleta de material - Projeto XXX**” (ex: CPB_1_001/GBB002). Na requisição, identificar-se, identificar o projeto e enviar a planilha da World Courier preenchida (Anexo 3);
- Além de enviar por e-mail, inclua a planilha da World Courier preenchida na seguinte pasta: <https://icmbioe5.sharepoint.com/:f:/r/sites/gt-projeitoicmbioitv/Documentos%20Compartilhados/Projetos/World%20courier?csf=1&web=1&e=H1DPwZ>
- Garanta que a equipe da World Courier ligue o termômetro no momento de colocar as amostras na caixa com gelo seco (Figura 3);
- Entregue as amostras à transportadora apenas se a caixa já estiver com gelo seco;
- Envie a declaração da World Courier preenchida e assinada (Anexo 4) impressa junto com as amostras;
- Envie a guia de remessa (Anexo 5) impressa junto com as amostras;
- Envie uma cópia impressa da licença SISBIO junto com as amostras;



Figura 3. Foto ilustrativa de um termômetro utilizado pela transportadora e que deve estar ligado no momento de colocar as amostras na caixa com gelo seco.

Genômica da Biodiversidade Brasileira

5.2. Orientações para eixo 2 (mitogenomas/plastomas) e eixo 3 (genomas populacionais)

- O envio de amostras para os eixos 2 e 3 pode ser feito livremente caso o Centro do ICMBio e/ou parceiros tenham meios e recursos disponíveis para tal, desde que sejam seguidas as premissas básicas para o acondicionamento das amostras;
- Caso necessário, a World Courier pode ser acionada para o envio de amostras sem necessidade de refrigeração. Proceder conforme descrito na seção 5.1;
- Envie a guia de remessa (Anexo 5) impressa junto com as amostras;
- Envie uma cópia impressa da licença SISBIO junto com as amostras.

Endereço para envio das amostras

A/C: Alexandre Aleixo
Projeto Genômica da Biodiversidade Brasileira (GBB)
Instituto Tecnológico Vale – Desenvolvimento Sustentável
Rua Boaventura da Silva, 955
Nazaré – Belém, PA, Brasil
CEP: 66055-090

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dahn, H. A., Mountcastle, J., Balacco, J., Winkler, S., Bista, I., Schmitt, A. D., ... & Fedrigo, O. (2022). Benchmarking ultra-high molecular weight DNA preservation methods for long-read and long-range sequencing. *GigaScience*, 11, 1-13. doi: 10.1093/gigascience/giac068
- Earth BioGenome Project (Report on Sample Collection and Processing Standards). Disponível em: <<https://www.earthbiogenome.org/sample-collection-processing-standards>>. Acesso em 11 de outubro de 2023.
- Lawniczak, M. K., Durbin, R., Flicek, P., Lindblad-Toh, K., Wei, X., Archibald, J. M., ... & Richards, S. (2022). Standards recommendations for the earth BioGenome project. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(4), e2115639118. doi: 10.1073/pnas.2115639118
- Rogstad, S. H. (1992) Saturated NaCl-CTAB solution as a means of field preservation of leaves for DNA analyses. *Taxon*, 41(4), 701-708.
- Vertebrate Genome Project (VGP) - Annotation and Alignment. Disponível em: <<https://vertebrategenomesproject.org/technology>>. Acesso em 30 de novembro de 2023.
- Vertebrate Genome Project (VGP) guidelines. Disponível em: <<https://www.vertebrategenomelab.org/resources/guidelines>>. Acesso em 11 de outubro de 2023.

Genômica da Biodiversidade Brasileira

ANEXOS

Anexo 1. Planilha de cadastro para formalização e acompanhamento de projetos no âmbito do GBB. Ver aba “5. Planilha de amostras”:

<https://icmbioe5.sharepoint.com/:x:/r/sites/gt-projetoicmbioitv/Documentos%20Compartilhados/Projetos/Arquivos%20GBB/MODELO%20PLANILHA%20DE%20PROJETOS%20GBB.xlsx?d=wddfcb195f4fb49aaa4c8ea377aa89c6e&csf=1&web=1&e=USFJO2>

Anexo 2. Preparo de CTAB 2% saturado em NaCl – 1 L (solução bastante viscosa):

Reagentes necessários
<ul style="list-style-type: none">• 360 g de NaCl (cloreto de sódio ou <u>sal de cozinha iodado de mercado - mais indicado por conta do alto custo do NaCl puro</u>);• 20 g de CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) em pó;• Água ultrapura ou destilada - completar o volume.
Forma de preparo
<ol style="list-style-type: none">1. Adicione o CTAB em um béquer de vidro contendo 700 mL de água ultrapura ou destilada, e misture com o auxílio de um agitador magnético até a completa homogeneização;2. Adicione o NaCl e misture no agitador magnético com aquecimento (~65°C);3. Cubra a boca do béquer com papel alumínio e deixe a solução misturando por cerca de 24h até a completa dissolução dos <i>pellets</i> de sal. Quando possível, mexa a solução com um bastão de vidro para auxiliar na dissolução;4. Quando a solução estiver homogênea, confira o volume e, se for preciso, complete para 1 L com água ultrapura ou destilada;5. Distribua 10-12 mL por tubo Falcon de 15 mL ou 3,5-4 mL por tubo Eppendorf de 5 mL e armazene a solução em temperatura ambiente. <p>Observações importantes:</p> <ul style="list-style-type: none">• Use luvas descartáveis durante todo o procedimento;• Logo após o preparo do tampão, preencha os tubos onde as amostras serão acondicionadas. Por se tratar de uma solução viscosa, a transferência entre recipientes é facilitada quando o tampão ainda está levemente aquecido.

Anexo 3. Modelo de planilha da World Courier a ser preenchida para requisição de envio de material:

<https://icmbioe5.sharepoint.com/:x:/r/sites/gt-projetoicmbioitv/Documentos%20Compartilhados/Projetos/World%20courier/Modelos%20da%20documenta%C3%A7%C3%A3o/MODELO%20PLANILHA%20ENVIO%20WORLD%20COURIER.xlsx?d=w115c5cd4be314bb1abd7e9588f1ad84f&csf=1&web=1&e=nJkWA>

Genômica da Biodiversidade Brasileira

Anexo 4. Modelo de declaração da World Courier a ser preenchida e assinada para o envio de material:

<https://icmbioe5.sharepoint.com/:w:/r/sites/gt-projetoicmbioitv/Documentos%20Compartilhados/Projetos/World%20courier/Modelos%20da%20documenta%C3%A7%C3%A3o/MODELO%20DECLARA%C3%87%C3%83O%20WORLD%20COURIER.docx?d=w7e84542b827845ecb8b1649cca3ebe12&csf=1&web=1&e=ZuClqH>

Anexo 5. Modelo de guia de remessa para o envio de material:

<https://icmbioe5.sharepoint.com/:w:/r/sites/gt-projetoicmbioitv/Documentos%20Compartilhados/Projetos/World%20courier/Modelos%20da%20documenta%C3%A7%C3%A3o/MODELO%20DE%20GUIA%20DE%20REMESSA%20DE%20MATERIAL.docx?d=w137e119b62a541feab9431cdb5e1a1e3&csf=1&web=1&e=loLKWl>

Parceria entre:



INSTITUTO
TECNOLÓGICO
VALE



ICMBio