

MANUAL DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS E ORIENTAÇÕES DE USO DO NUBIGEN

O Núcleo de Biodiversidade Genética Luiz Paulo de Souza Pinto (NuBiGen) é um laboratório multiusuário e por isso todos devem seguir as mesmas regras em prol de um bem comum. Os recursos são escassos, precisamos que os materiais sejam utilizados da melhor forma e os equipamentos tenha a maior vida útil possível.

A falta de informação pode levar a uma má utilização de materiais e equipamentos, por isso, procure se informar ao máximo sobre as atividades que irá desenvolver no laboratório. Não tenha restrição em perguntar algo que não saiba. Ao ignorar uma dúvida, você pode prejudicar a si, aos outros usuários e ao laboratório. Existem pessoas que são responsáveis pelo funcionamento de um laboratório e sempre ajudarão caso tenha alguma dúvida. No núcleo é a Juliana.

Seja organizado com o seu material, não deixe nada espalhado pelas bancadas e guarde o que foi utilizado. Não tenha pressa no que está fazendo, as chances de dar errado são grandes, desperdiçando tempo e material.

Antes de começar qualquer protocolo, verifique se todo o material necessário está disponível e preparado.

Não utilize material de outra pessoa sem permissão.

Verifique sempre se a geladeira/freezer que você abriu, também fechou. Um freezer/geladeira aberto durante a noite pode estragar amostras e reagentes, causando um prejuízo inestimável.

Todos os equipamentos do NuBiGen são muito caros e devem ser manuseados com o máximo de cuidado possível. Há equipamentos que não podem ser desligados, por isso, muito cuidado ao mexer em tomadas. Existem voltagens específicas para o funcionamento de cada um e estão destacadas nos próprios aparelhos (**amarelo - 110V**, **vermelho - 220V**), portanto, antes de usar, certifique-se de que está ligando na tomada certa. Na dúvida, não ligue. Caso contrário, o aparelho pode queimar e todos ficarão sem o equipamento, inclusive você.

As balanças, assim como alguns outros equipamentos de um laboratório, não devem ser movidos!! Além disso, devem ser limpos após o uso.

Tenha senso coletivo. Se encontrar algo indevido, acerte.

Agendamento/Registro de atividade

Após cadastro do usuário do núcleo, será concedido acesso a uma planilha/agenda do laboratório. Informar o período e a análise pretendida. A prioridade de uso será para quem estiver na agenda.

Os agendamentos/registro de atividades contendo nome, laboratório, data, número de amostras e tipo de atividade passam a ser obrigatórios.

- 1) Centrífuga – também especificar o tipo de extração
- 2) Capela – quantidade de tubos preparados

Horário de trabalho

Só é permitido o uso do laboratório em horário comercial. É vedado o uso aos finais de semana.

Computadores pessoais

Não são permitidos nas salas 301 e 302.

Visitantes

O Nubigen deve ser utilizado somente por usuários previamente autorizados que receberam treinamento destas normas e assinaram que estão cientes.

Micropipetas

Os usuários devem utilizar as micropipetas específicas de cada laboratório.

Novos usuários devem agendar um treinamento de pipetagem com Juliana. O laboratório só poderá ser utilizado após este treinamento. Há um manual impresso disponível para consulta em caso de dúvida posterior.

Caixas de Ponteiras/ Frascos de tubos

Cada grupo de trabalho terá seus estoques de ponteiras devidamente identificado.

Quando acabarem, colocar a rack no nicho correspondente a cada laboratório.
Não deixar racks vazias ocupando espaço em cima da bancada.

Ao finalizar o seu trabalho, programe-se para encher as racks vazias de ponteiras e frascos de tubos. O material que estiver pronto até quinta-feira, será autoclavado na sexta-feira.

Sempre começar a encher as racks menos contaminadas para as mais contaminadas. Na ordem: capela, pré-PCR e por último pós-PCR. Limpar a bancada com hipoclorito e álcool e jogar a luva fora (contaminada com material de pós-PCR).

Material danificado

Em caso de equipamentos quebrados ou com mal funcionamento deve-se avisar imediatamente para Juliana.

Sala 304 – Coleção de Tecidos e DNA

A chave para acessar os freezers de tecido e DNA encontra-se na pré-PCR, ao lado dos nichos de caixas de ponteiras.

Sala 302 - Laboratório de Extração de DNA (Pré-PCR):

É TERMINANTEMENTE PROIBIDO entrar nessa sala com qualquer material ou amostras que contenham DNA amplificado (ou seja, qualquer produto pós-PCR). Não só amostras, mas também acessórios como racks, canetas, caderno, luvas usadas na sala de pós-PCR etc. Tudo que for para a sala de pós-PCR corre o risco de estar contaminado com DNA.

Qualquer rack que passe a porta da sala de pré-pcr só voltará após lavagem com hipoclorito (mesmo procedimento do item: lavagem de vidraria, abaixo).

Caso precise utilizar a estufa/banho seco sempre conferir a temperatura.

Capela

Os materiais que estão dentro da capela (ponteiras, tubos e micropipetas) são de uso comum. Quando uma caixa de ponteira acabar, substituir por uma que pertence ao seu laboratório.

NUNCA deve entrar DNA na capela, mesmo indiretamente, por exemplo: se você utilizou as luvas antes, deve trocá-las para mexer na capela.

O que está dentro da capela, não deve sair!

PCR

Para levar o material da sala de pré-PCR para os termocicladores na pós-PCR em rack, utilizar o nicho de troca da sala 302. Pegar uma rack na sala 301 e fazer a troca.

Soluções

As soluções podem ser preparadas por qualquer usuário treinado para o preparo. Poderá ser solicitado o preparo pela Juliana, caso solicitado com no mínimo 1 semana de antecedência, no formulário na sala de pré-PCR.

Lavagem/Autoclavagem de vidraria:

- Não deixe o material acumular ou ficar muito tempo sujo.
- Lavar toda vidraria que for utilizada com sabão neutro.
- Se precisar descontaminar, deixar de molho em hipoclorito 10% por no mínimo 2h.
- Enxaguar bem em água corrente.
- Deixar com água destilada por no mínimo 2h.
- Colocar para secar na estufa grande de secagem de vidraria (ao lado da autoclave).
- Provetas devem secar naturalmente, não colocar na estufa.

Armários

- LGA, Lamab e LGEM possuem um armário para armazenamento do material individual (estoques, reagentes, etc...). O material coletivo (material de escritório, vidraria, etc...) será armazenado em armário próprio. Nenhum material de outro laboratório ou "comum" deve ser utilizado sem autorização prévia.

Nanodrop

Na primeira utilização, o usuário deverá ser orientado com as instruções de uso. Após utilização, anotar dados solicitados no caderno.

Sala 301 – Pós-PCR

Estoque material - O armário sobre a pia é destinado para estoque de material de pós-PCR.

Máquinas de PCR

O registro no quadro é obrigatório. Os horários devem ser respeitados à risca. Caso um usuário agendado não vá utilizar o horário reservado, o desagendamento é obrigatório, com a maior antecedência possível. Se o usuário estiver atrasado, o uso da máquina será liberado.

Somente uma máquina deve ser agendada com antecedência, mesmo em dias diferentes. Caso já tenha colocado suas amostras na máquina, um novo agendamento poderá ser realizado.

Para aumentar a vida útil das máquinas:

* Proibido deixar ligada de um dia para o outro (*overnight*)

* Ao criar um novo programa na máquina, alterar o último estágio de 4°C para 10°C.

As máquinas devem ser desligadas (botão liga/desliga, não somente na tela) após o uso.

Sequenciamento

ABI 3500 – O Sequenciador é ligado 1x ao mês durante 15 dias. Todos serão informados no grupo sobre as datas e prazos disponíveis.

Gel de agarose

Todo agente intercalante é potencialmente mutagênico, por isso devem ser utilizadas luvas em todos os procedimentos relacionados ao gel.

As luvas utilizadas para mexer na parte de gel não devem ser usadas em outras áreas, inclusive sistema de foto, computador para envio da foto, geladeira etc

Quando acabarem as ponteiros da rack que fica na bancada de gel, encher a rack da bancada com ponteiros do pacote que fica na primeira gaveta do armário sob a pia. Somente duas racks de uso comum ficarão no suporte.

As cubas suportam a temperatura máxima de 55°C. Por isso, quando fizer o gel, ele deve esfriar um pouco, até ficar morno, para ser colocado na caminha (gel tray). Cuidado com o manuseio dos pentes. Muitos já estão sem alguns dentes.

O gel usado pode ser guardado em um erlenmeyer de cada laboratório, para serem reutilizados. Os géis serão novamente derretidos e preparado novo gel.

Quando terminar de utilizar uma cuba, guardar o TBE dentro do frasco com tampa. Anotar o uso e a 1º data de uso. Não esqueça de tirar a fita crepe com as anotações antigas do frasco e colocar um novo com nova data e marcar uma utilização. Passar água dentro da cuba e na tampa, para remover o excesso de TBE.

Não deixar a cuba secando com a tampa aberta de cabeça para baixo. Isso força a tampa, podendo quebrar.

Limpar todo o material utilizado durante a preparação do gel, bancadas, balança, micro-ondas etc. Cuidado para não cair gel na pia.

Fotodocumentação do gel

Sempre a bandeja para colocar o gel no sistema de foto. Utilizar a canetinha para mexer na tela. O TBE das luvas e do gel danifica o equipamento.

As fotos do pen drive devem ser descarregadas no iMac ao lado do sistema. Apagar a foto do pen drive após o uso.

Não esqueça de utilizar a luz UV do transiluminador o menor tempo possível. Desligue imediatamente após o uso e também todo o sistema.

Caso necessite utilizar o transiluminador antigo, limpar após o uso. O TBE danifica o equipamento.

Sala 306 – Bioinformática

Computadores

Macs - devem ser utilizados prioritariamente para análises filogenéticas e para atividades relacionadas à pesquisa. O computador MacPro possui licença para o software Geneios R9.

O PC possui uma máquina virtual onde há licença para utilizar o software Gene Mapper.

Protocolo de Segurança Laboratorial e de Gerenciamento de Resíduos do Nubigen

Ver documento correspondente.

Dúvidas/Sugestões

Qualquer dúvida ou sugestões sobre assuntos do núcleo podem ser tratadas com Juliana, pessoalmente ou por e-mail (justino.julianaf@gmail.com).

Site: nubigen.ufes.br