

NOTE GENERALI PER L'OUTPUT DEI RISULTATI

L' output dei dati può variare di circa il 10-15% sulla base del materiale di partenza e secondo le specifiche Illumina. Il coverage/numero di reads/output indicati nell'offerta è da intendersi come output grezzi del sequenziamento NGS.

Per ogni progetto di sequenziamento NGS verranno consegnati sempre i dati pre-filtrati dalla BioFab.

NOTE PER LA CONSERVAZIONE DEI DATI

I dati grezzi (FASTQ) ed i dati elaborati sono disponibili per 10 giorni sui nostri server; verranno cancellati dopo 1 mese dalla consegna dei risultati: qualora si richieda di conservare i dati oltre questo periodo, va comunicato anticipatamente a info@biofabresearch.it: verranno applicati dei costi aggiuntivi.

NOTE PER LA VALIDAZIONE DEI CAMPIONI E DELLE LIBRERIE PER WHOLE GENOME SEQUENCING

Il campione di DNA consegnato deve essere accompagnato dall'immagine di una corsa su gel di agarosio e relativa quantifica con spettrofotometro: vanno indicati i rapporti 260/280 e 260/230.

I campioni che presentano profili di degradazione (gel di agarosio) o con valori al di sotto di quelli richiesti (260/280>1.80; 260/230>2.00), non possono essere accettati per la preparazione delle librerie

La libreria generata con kit NEXTERA XT verrà validata tramite Agilent 2100 Bioanalyzer Chip HS DNA. Se i campioni consegnati e/o la libreria non risulteranno idonei il cliente verrà contattato per accordarsi su come procedere.

Per il primo step di quantifica non verrà addebitato alcun costo, nel caso in cui si decida di procedere e le librerie non risultino idonee, verranno addebitati i soli costi di preparazione delle stesse.

NOTE PER LA VALIDAZIONE DEI CAMPIONI E DELLE LIBRERIE PER METAGENOMIC SEQUENCING

Il campione di DNA consegnato deve essere accompagnato dall'immagine di una corsa su gel di agarosio e relativa quantifica con spettrofotometro: vanno indicati i rapporti 260/280 e 260/230.

I campioni che presentano profili di degradazione (gel di agarosio) o con valori al di sotto di quelli richiesti (260/280>1.80; 260/230>2.00), non possono essere accettati per la preparazione delle librerie

La libreria viene generata mediante 2 passaggi di amplificazione: una prima amplificazione con primer specifici (protocollo Illumina 16S, overhang + V3-V4) e la seconda con aggiunta di INDEX Nextera XT.

La libreria verrà valuta su gel di Agarosio e se i campioni consegnati o la stessa la libreria non risultano idonei il cliente verrà contattato per accordarsi su come e se procedere.

Per il primo step di quantifica non verrà addebitato alcun costo, nel caso in cui si decida di procedere e le librerie non risultino idonee, verranno addebitati i soli costi di preparazione delle stesse.

NOTE PER LA VALIDAZIONE E CORSA DI AMPLICONI

Il campione di DNA consegnato verrà valutato mediante quantificazione al Qubit e corsa su gel di Agarosio (fornita dal cliente).

Gli ampliconi devono contenere le sequenze specifiche (overhang) per il protocollo Illumina 16S. Agli ampliconi verranno aggiunti tramite PCR gli INDEX Illumina del kit Nextera XT.

La libreria verrà valuta su gel di Agarosio e se i campioni consegnati o la stessa la libreria non risultano idonei il cliente verrà contattato per accordarsi su come e se procedere.

Per il primo step di quantifica verrà addebitato il costo di 3,00€/campione, nel caso in cui si decida di procedere e le librerie non risultino idonee, verranno addebitati anche i costi di preparazione delle stesse.

NOTE PER LA VALIDAZIONE E CORSA DI LIBRERIE SINGOLE

Le librerie consegnate verranno valutate mediante quantificazione al Qubit e corsa su gel di Agarosio (fornita dal cliente). I protocolli applicati per la realizzazione delle librerie (disegno e sintesi dei primers, accoppiamento degli index, amplificazione, purificazione, etc.) sono a discrezione e responsabilità del cliente. Alla consegna dei campioni è richiesto il foglio di lavoro compilato con Illumina Experiment Manager.

Per il primo step di quantifica verrà addebitato il costo di 3,00€/campione.

NOTE PER LA VALIDAZIONE E CORSA DI POOL LIBRARY

Il pool consegnato verrà valutato mediante quantificazione al Qubit e corsa su gel di Agarosio delle singole librerie, fornita dal cliente. I protocolli applicati per la realizzazione delle librerie (disegno e sintesi dei primers, accoppiamento degli index, amplificazione, purificazione, etc.) sono a discrezione e responsabilità del cliente. Alla consegna dei campioni è richiesto il foglio di lavoro (formato CSV) compilato con Illumina Experiment Manager.

NOTE PER L'ANALISI BIOINFORMATICA

I tools utilizzati fanno parte di pipeline interne integrate con database pubblici.

Formati di uso comune per l'invio dei file

FASTQ: https://en.wikipedia.org/wiki/FASTQ_format

FASTA: https://en.wikipedia.org/wiki/FASTA_format

SAM/BAM: <https://samtools.github.io/hts-specs/SAMv1.pdf>

GTF/GFF: <http://mblab.wustl.edu/GTF22.html>

VCF: <http://www.1000genomes.org/wiki/Analysis/Variant%20Call%20Format/vcf-variant-callformat-version-40>

BED: <https://genome.ucsc.edu/FAQ/FAQformat.html>

BIOM: <http://biom-format.org/>

Nell'eventualità in cui dati forniti dal cliente non dovessero rispettare gli standard necessari all'analisi, la Bio-Fab si riserva di non procedere, annullando la commessa senza addebitare alcuna spesa.