|  |
| --- |
| ФГБНУ ЯНЦ КМП |
| СОП №\_\_\_\_\_\_ от 03.04.2023 | Стандартная операционная процедураПОРЯДОК И ТЕХНИКА ВЗЯТИЯ АЛИКВОТ ДНК |
| Цель СОП: | Данная стандартная операционная процедура описывает порядок и техника взятия аликвот ДНК. |
| Разработчик: | Павлова Н.И.  |
| Рабочее место: | Лаборатория наследственной патологии |
| Утверждено: | Кононова С.К. |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № | Описание операции | Время выполнения на 10 образцов | Используемые материалы и приборы |
| 1 | Надеть соответствующую форму одежды (халат лабораторный, хирургический костюм, тапочки лабораторные). Провести гигиеническую антисептику рук (см. Приложение 2) и надеть перчатки, предварительно проверив их на целостность. | 5 мин | Халат лабораторный, хирургический костюм, тапочки лабораторные, нитриловые перчатки |
| 2 | Обработать поверхности (рабочий стол, пинцет, полуавтоматические пипетки) 70-ти процентным этиловым спиртом, ветошью меняя по мере необходимости. Использованные ветоши поместить в пластиковый контейнер для сбора и дезинфицирующей обработки расходных материалов, перчаток и ветоши.  |
| 3 | Взять пластиковый штатив для хранения пробирок и подойти к низкотемпературному морозильнику (номер 1). Открыть нужный отсек морозильника (*нельзя держать морозильник открытым более трех минут*) и взять необходимые пробирки с ДНК. Разместите их в штативе слева направо, начиная со второго ряда. | 20 мин | Штатив |
| 4 | Штатив с пробирками ДНК поставить на рабочий стол слева от себя и оставить их на 20 мин при комнатной температуре до полного размораживания ДНК (Не допускается ставить пробирки с кровью рядом с нагревательными приборами, под прямыми лучами солнца и при включенной UV-лампе!). |
| 5 | Содержимое каждой пробирки перемешать на вортексе в течение 20 секунд. | 5 мин |  |
| 6 | Подготовить пробирки для аликвот. Из зип пакета с помощью стерильного пинцета вынимаем пробирки эппендорф объемом 1,5 мл и расставляем их в отдельный штатив слева направо, начиная со второго ряда. | 10 мин | Пробирки типа эппендорф 1,5 мл., штатив, маркер |
| 7 | Маркируем пробирки эппендорф объемом 1,5 мл перманентным маркером с тонким стержнем. Наносим нумерацию на крышке и сбоку пробирки по порядку. |
| 8 | Берем пробирку с ДНК, смотрим в журнале проверки качества ДНК концентрацию образца в соответствии с их идентификационным номером. Рассчитываем необходимое количество ДНК для приготовления аликвоты с концентрацией 100 нг/мкл.  | 5 мин | Журнал проверки качества ДНК |
| 9 | Взять пипеточный одноканальный дозатор объемом 10 мкл, убедиться, что посадочный конус не загрязнен, установить наконечник до 10 мкл. Наконечник должен быть герметично присоединен к посадочному конусу. Аккуратно из пробирки набрать необходимое количество ДНК (рассчитанной по формуле 1) и перемесить в чистую пронумерованную пробирку объемом 1,5 мл. | 10 мин | Дозатор, наконечники, ТЕ буфер, штатив |
| 10 | Добавляем рассчитанное (по формуле 2) количество ТЕ буфера.  |
| 11 | Зарегистрировать аликвоту образца ДНК в журнале регистрации аликвот ДНК (см. Приложение 1) в соответствии с их идентификационным номером. |
| 12 | Взять штатив для микропробирок от 1,5 мл с крышкой, расставить пробирки с образцами ДНК слева направо. Поставить дату на крышке штатива и убрать в соответствующий отсек морозильника. |
| 13 | Обработать поверхности (рабочий стол, пинцет, полуавтоматические пипетки) 70-ти процентным этиловым спиртом, ветошью меняя по мере необходимости. Использованные ветоши поместить в пластиковый контейнер для сбора и дезинфицирующей обработки расходных материалов, перчаток и ветоши.  | 5 мин | Халат лабораторный, хирургический костюм, тапочки лабораторные, нитриловые перчатки |

***Основное оборудование:***

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № | Наименование | Балансодержатель | Инвентарный номер | Доля единовременной загрузки оборудования при выполнении СОП, от 0 до 1 | Время полезного использования при выполнении СОП, мин. | Годовая норма времени работы оборудования, мин. |
| 1 | Микроцентрифуга -вортекс «Микроспин» 2400 об/мин FV-2400 | ЯНЦ КМП | M000000302 |  0,002  |  0,20  |  118 560,00  |

***Вспомогательное оборудование:***

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № | Наименование | Балансодержатель | Инвентарный номер | Доля единовременной загрузки оборудования при выполнении СОП, от 0 до 1 | Время полезного использования при выполнении СОП, мин. | Годовая норма времени работы оборудования, мин. |
| 1 | Лабораторный стол  | ЯНЦ КМП  | M000000255 |  1,00  |  32,00  |  118 560,00  |
| 2 | Лабораторный стул | ЯНЦ КМП | M000000256 |  1,00  |  32,00  |  118 560,00  |

***Расходные материалы и реактивы:***

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Наименование** | **Единица измерения** | **Количество**  |
| 1 | Пробирки Эппендорф 1,5 мл; | шт | 1 |
| 2 | Наконечник 200 мкл | шт | 3 |
| 3 | Штатив для микропробирок 1,5-2,0 мл с крышкой, RP-100 для хранения проб ДНК и их аликвот | шт | 0,01 |
| 4 | Спирт (этанол) 70% | мл | 10 |
| 5 | Перчатки смотровые нитриловые  | пара | 1 |
| 6 | наконечники 10 мкл | шт | 1 |
| 7 | салфетка FIS Kim-Wipes - безворсовые салфетки (280 шт) | шт | 4 |
| 8 | Маски медицинские одноразовые  | шт | 1 |
| 9 | Халат медицинский  | шт | 0,01 |
| 10 | Шапочка медицинская одноразовая  | шт | 1 |
| 11 | Очки  | шт | 0,01 |
| 12 | Лоток медицинский Контейнеры для дезинфекции и стерилизации КДСКронт 3 л. Срок службы – 3года. | шт. | 0,01 |
| 13 | Пинцет металлический анатомический размеры 250х2,5 мм | шт | 0,01 |
| 14 | Перманентный маркер | шт | 0,01 |
| 15 | Пипетки полуавтоматические одноканальные со сменяемыми наконечниками на 1-10 мкл типа "Ленпипет", (на 100 ед.хр.) | шт. | 0,01 |
| 16 | Пипетки полуавтоматические одноканальные со сменяемыми наконечниками на 200 мкл типа "Ленпипет", шт | шт | 0,01 |