|  |  |
| --- | --- |
| ФГБНУ ЯНЦ КМП | |
| СОП №\_\_\_\_\_\_ от 03.04.2023 | Стандартная операционная процедура  Подготовка образцов для длительного хранения |
| Цель СОП: | Данная стандартная операционная процедура описывает правила подготовки образцов для длительного хранения |
| Разработчик: | Павлова Н.И. |
| Рабочее место: | Лаборатория наследственной патологии |
| Утверждено: | Кононова С.К. |

**Правила подготовки образцов для длительного хранения**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № | 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 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 штатив с вакуумными пробирками с кровью пациентов (от каждого пациента по 2 пробирки). Зафиксировать в журнале проб. | 10 мин | Штатив, журнал, парафильм |
| 4 | Каждую пробирку маркируем соответствующим шифром. |
| 5 | Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала, поэтому образцы крови с пробиркой для длительного хранения обертываем парафильмом, ставим в штатив и убираем в низкотемпературный морозильник ( –86 °С ) на длительное хранение. |
| 6 | Подготовить пробирки для аликвот. Из зип пакета с помощью стерильного пинцета вынимаем пробирки эппендорф объемом 1,5 мл и три пробирки объемом 2 мл. Расставляем их в отдельный штатив слева направо, начиная со второго ряда. | 5 мин | Пробирки типа эппендорф 1,5 и 2 мл, штатив |
| 7 | Маркируем соответствующим шифром подготовленные микропробирки перманентным маркером с тонким стержнем. Наносим нумерацию на крышке и сбоку пробирки по порядку. |
| 8 | Пробирку с кровью пациента необходимо разморозить (в случае если кровь заморожена). | До 30 мин |  |
| 9 | После разморозки крови, необходимо осторожным переворачиванием перемешать содержимое пробирки. |
| 10 | Взять дозатор объемом 1000 мкл одеть наконечник с фильтром объемом 1000 мкл. Аккуратно из пробирки набрать 1000 мкл крови и перемесить в пробирку объемом 1,5 мл, на дальнейшее высушивание. | 10 мин | Дозатор, наконечники 1000 мкл, пробирки типа эппендорф 1,5 и 2 мл, штатив |
| 11 | В первую пробирку объемом 2 мл с помощью дозатора налить 2 мл крови на дальнейшее хранение. |
| 12 | В две оставшиеся пробирки объемом 2 мл с помощью дозатора налить 1 мл крови для дальнейшей процедуры выделения ДНК. Одна пробирка с ДНК предназначена для длительного хранения, вторая для проведения генетических анализов. |
| 13 | Пробирку с кровью объемом 2 мл, предназначенную для длительного хранения, необходимо обернуть парафильмом. | 15 мин | Парафильм, штатив |
| 14 | Подготовленные пробирки с кровью для длительного хранения и для высушивания, помещают в соответствующие промаркированные штативы для микропробирок. |
| 15 | Штативы с микропробирками и пробирку с остатками крови помещают в холодильную камеру при температуре не выше минус 70°С. |
| 16 | Зарегистрировать пробирки в электронной базе данных БРК. | 10 мин |  |
| 17 | Из двух оставшихся микропробирок с кровью выделяют ДНК с помощью СОП «Выделение ДНК из замороженной цельной крови фенол-хлороформным методом» либо СОП «Выделение геномной ДНК из цельной крови с помощью набора фирмы Еxcell Вiotech». | | |
| 18 | Качество выделенной ДНК измеряют с помощью СОП «Контроль качества ДНК с помощью спектрофотометра» затем ДНК аликвотируют с помощью СОП «Приготовление аликвот проб ДНК». | | |
| 19 | Пробирку с выделенной, проверенной на качество и проаликвоченной ДНК оборачивают парафильмом и помещают в соответствующие промаркированные штативы для микропробирок. Первый штатив для микропробирок предназначен для длительного хранения ДНК, второй штатив для ДНК, предназначенной для генетических исследований и третий штатив для аликвот проб ДНК. | | |
| 20 | Штативы для микропробирок с образцами ДНК помещают в холодильную камеру при температуре не выше минус 70°С. | | |
| 21 | Штатив для микропробирок с аликвотами проб ДНК помещают в холодильную камеру при температуре не выше минус 20°С. | | |
| 22 | 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 минут | Халат лабораторный, хирургический костюм, тапочки лабораторные, нитриловые перчатки |

***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 | 3,00 | 118 560,00 |
| 2 | Лабораторный стул | ЯНЦ КМП | M000000256 | 1,00 | 3,00 | 118 560,00 |

***Расходные материалы и реактивы:***

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Наименование** | **Единица измерения** | **Количество** |
| 1 | Пробирки Эппендорф 1,5 мл; | шт | 5 |
| 2 | Наконечник 1000 мкл | шт | 5 |
| 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 | Cалфетка FIS Kim-Wipes - безворсовые салфетки (280 шт) | шт | 4 |
| 7 | Маски медицинские одноразовые | шт | 1 |
| 8 | Халат медицинский | шт | 0,01 |
| 9 | Шапочка медицинская одноразовая | шт | 1 |
| 10 | Очки | шт | 0,01 |
| 11 | Лоток медицинский, контейнеры для дезинфекции и стерилизации КДС Кронт 3 л | шт | 0,01 |
| 12 | Пинцет металлический анатомический размеры 250х2,5 мм | шт | 0,01 |
| 13 | Перманентный маркер толщина линии 1 мм. | шт | 0,01 |
| 14 | Пипетки полуавтоматические одноканальные со сменяемыми наконечниками на 200-1000 мкл типа "Ленпипет", (на 100 ед.хр.) | шт. | 0,01 |