

**НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ТЕРАПИИ И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ  
МЕДИЦИНЫ - ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО  
НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ИНСТИТУТ  
ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ  
НАУК» (НИИТПМ – ФИЛИАЛ ИЦИГ СО РАН)**

## **Технологический паспорт коллекции**

**«Коллекция биоматериала (ДНК, сыворотка крови) популяции г. Новосибирска в возрасте 14-70 лет и биоматериала (ДНК, сыворотка крови, гомогенаты атеросклеротических бляшек) мужчин с коронарным атеросклерозом, с сопряженными базами данных, содержащими антропологическую, клиническую, клинико-функциональную информации, результаты генетических и биохимических исследований»**

**Новосибирск - 2017**

# 1. Общая информация:

- Название коллекции - «Коллекция биоматериала (ДНК, сыворотка крови) популяции г. Новосибирска в возрасте 14-70 лет и биоматериала (ДНК, сыворотка крови, гомогенаты атеросклеротических бляшек) мужчин с коронарным атеросклерозом, с сопряженными базами данных, содержащими антропологическую, клиническую, клинико-функциональную информации, результаты генетических и биохимических исследований»
- Держатель коллекции - Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины - филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН)
- Цели и задачи - Выборка ДНК и сыворотки крови популяции мужчины и женщины, жители г. Новосибирска создана, поддерживается и пополняется с целью изучения молекулярно-биологических, организменных и популяционных закономерностей формирования хронических неинфекционных заболеваний и их особенностей у населения Сибири, разработки научных основ их профилактики, диагностики и лечения. Выборка ДНК, сыворотки крови и гомогенатов атеросклеротических бляшек мужчин с коронарным атеросклерозом создана, поддерживается и пополняется с целью изучения качественных и количественных особенностей содержания белков, липидов и свободных нуклеиновых кислот в сыворотке крови и в атеросклеротических бляшках коронарных артерий у больных коронарным атеросклерозом для разработки новых подходов к оценке риска острых коронарных событий и прогноза течения заболевания.
- Объем коллекции - 7700 образцов ДНК популяции (мужчины и женщины, жители г. Новосибирска в возрасте 14-17 лет, 25-70 лет), ДНК 200 мужчин с коронарным атеросклерозом;

**8900 образцов** Сыворотка крови популяции (мужчины и женщины, жители г. Новосибирска в возрасте 14-17 лет, 25-70 лет), Сыворотка крови мужчин с коронарным атеросклерозом;

**400 образцов** Гомогенаты атеросклеротических бляшек коронарных артерий мужчин с коронарным атеросклерозом.

**АДРЕС:**

Юр.адрес: 630090, Россия, г. Новосибирск,

Пр-т Академика Лаврентьева, 10

Факт. адрес: 630089, Россия, г.Новосибирск,

ул. Бориса Богаткова, 175/1

<http://www.iimed.ru>

**РУКОВОДИТЕЛЬ:**

Воевода Михаил Иванович Академик РАН

**КОНТАКТНОЕ ЛИЦО:**

Рагино Юлия Игоревна член-корр. РАН

тел. (383) 267-47-43

e-mail: [ragino@mail.ru](mailto:ragino@mail.ru)

- Перечень ключевых СОПов:
  - **СОП по получению образцов биологического материала (сыворотки крови / ДНК крови, гомогенатов атеросклеротических бляшек) для исследований;**
  - **СОП по криоархивированию и хранению биологических материалов человека (сыворотка крови, ДНК крови, гомогенатов атеросклеротических бляшек);**
  - **СОП по контролю температуры в холодильниках и морозильных камерах;**
  - **СОП по контролю качества и поддержке единиц хранения биологических материалов;**
  - **СОП по экстракции ДНК из крови;**
  - **СОП по идентификации и характеристике биологического материала человека.**
  
- Инфраструктура:
  - **Процедурный кабинет**
  - **Биохимическая лаборатория**

- Моечная
- Ламинарный бокс
- Комната для хранения
- Генетическая лаборатория

## **2. Полная информация:**

- 1. СОП по получению образцов биологического материала (сыворотки крови / ДНК крови, гомогенатов атеросклеротических бляшек) для исследований;
- 2. СОП по криоархивированию и хранению биологических материалов человека (сыворотка крови, ДНК крови, гомогенатов атеросклеротических бляшек);
- 3. СОП по контролю температуры в холодильниках и морозильных камерах;
- 4. СОП по контролю качества и поддержке единиц хранения биологических материалов;
- 5. СОП по экстракции ДНК из крови;
- 6. СОП по идентификации и характеристике биологического материала человека.

# СТАНДАРТНЫЕ ОПЕРАЦИОННЫЕ ПРОЦЕДУРЫ (СОП) для поддержания и развития Коллекции биоматериалов человека в «НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН»

## СОП 1. ПОЛУЧЕНИЕ ОБРАЗЦОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА (сыворотки крови / ДНК крови, гомогенаты атеросклеротических бляшек) ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 1. Сыворотка крови / ДНК крови

#### 1.1 Требования к предварительной подготовке пациентов для обследования

Взятие образца крови у пациента необходимо производить натощак, в утренние часы, не ранее 12 часов после последнего приема пищи. Забор крови проводится из локтевой вены. *Утренний приём лекарств должен проводиться только после взятия крови!*

#### 1.2 Используемое оборудование и способы его применения

Для осуществления прокола вены используются наборы комплектующих для взятия крови в пробирки с плотно прилегающей пробкой и вакуумом внутри (вакутейнеры).

#### 1.3 Маркировка образцов биологического материала

Данные о пациенте вносятся в рабочий журнал. Пробирки с кровью подписывают в присутствии пациента (до или после взятия крови) маркером по стеклу/пластику или ручкой на бумажной этикетке пробирки.

#### 1.4 Доставка образцов биологического материала в лабораторию для исследования

Доставку образцов с биологическим материалом из процедурных кабинетов в лабораторию производят процедурные медсестры; при этом пробирки должны быть укупорены пластиковыми крышками и размещены в штативе в транспортном контейнере отдельно от направлений на исследование.

#### 1.5 Регистрация образцов биологического материала

Поступивший в лабораторию биологический материал в тот же день в соответствии с видом и категорией исследования регистрируют в рабочих журналах лаборатории. Научные сотрудники отвечают за своевременность, соответствие и полноту сведений, вносимых в регистрационные журналы лабораторных исследований.

#### 1.6 Подготовка образцов сыворотки крови к криоархивированию и хранению

В лаборатории образцы крови подвергают предварительной обработке. Пробирки с венозной кровью, в которых сформирован кровяной сгусток, сразу подвергают центрифугированию в настольной лабораторной центрифуге в течение 10 минут при скорости вращения ротора 3000 оборотов в минуту.

Венозную кровь без сгустка сначала отстаивают при комнатной температуре (20°C) в течение 30 минут до полного образования сгустка.

### 2. Гомогенаты атеросклеротических бляшек.

*Гомогенаты ткани используют в научных исследованиях. Целью гомогенизации является разрушение тканевой структуры клеточных стенок и/или мембран. Выбор метода разрушения клеточной структуры и среды суспендирования зависит от ткани, а также от целей исследования.*

2.1 Интраоперационно под визуальным контролем хирурга проводится забор материала эндартериоэктомии из коронарных артерий. Биоматериал помещается в пробирку Эппендорф, подписывается маркером и помещается в холодильник при температуре - 20С.

2.2. Ткань для гомогенизации (послеоперационный материал) доставляют в лабораторию специально упакованной с соответствующей маркировкой в термосумках.

2.3. Все процедуры, связанные с гомогенизацией, проводят на холоде.

Гомогенизация проводится с использованием фосфатно-солевого буфера и NaCl 0,9 % и автоматического гомогенизатора. Приготовленный гомогенат аликвотируют в криопробирки или пробирки Эппендорф с помощью пипеточного дозатора.

## **СОП 2. КРИОАРХИВИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ЧЕЛОВЕКА (СЫВОРОТКА КРОВИ, ДНК КРОВИ, ГОМОГЕНАТЫ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК)**

2.1. После центрифугирования образцов крови научный сотрудник производит фасовку сыворотки крови и маркировку вторичных лабораторных криопробирок или пробирок Эппендорф, используемых для хранения сыворотки крови. С помощью пипеточного дозатора, индивидуальными сменными наконечниками сыворотку крови из первичных пробирок переносят во вторичные пластиковые криопробирки с цветным вкладышем (емкостью 1,5 или 1,8 мл) или пробирки Эппендорф (емкостью 0,6 или 1,5 мл).

2.2. Приготовленный гомогенат аликвотируют в пробирки Эппендорф с помощью пипеточного дозатора и индивидуальных одноразовых наконечников.

2.3. На каждую пробирку приклеивают этикетку со штрих-кодом. Штрих-код формируют заранее, в него входит индивидуальный номер биологического образца (ID) и тип образца (S или G).

2.4. Для исследований ДНК крови служит сгусток крови. На каждый вакутейнер приклеивают этикетку со штрих-кодом, содержащим индивидуальный номер и тип образца. По мере необходимости производится выделение ДНК. Образец с ДНК помещается в отдельную пробирку, которая маркируется штрих-кодом.

2.5. Пробирки с образцами биологического материала должны быть плотно укупорены, маркированы и поставлены в криобоксы с соответствующей маркировкой.

Вакутейнеры со сгустками крови должны быть промаркированы и поставлены в штативы с соответствующей маркировкой.

2.6. При необходимости хранения биологического материала в течение длительных сроков производят замораживание образцов биологического материала в бытовых морозильных камерах при температуре минус 18-20°C или в специальных низкотемпературных холодильниках при более низких температурах — минус 70-80°C (срок хранения образцов при таких температурах не лимитируется).

2.7. Все данные об образце вносятся в электронную базу данных.

## **СОП 3. КОНТРОЛЬ ТЕМПЕРАТУРЫ В ХОЛОДИЛЬНИКАХ И МОРОЗИЛЬНЫХ КАМЕРАХ**

3.1 Все холодильники и морозильные камеры должны быть пронумерованы. Температура в холодильной камере должна быть выдержана в пределах плюс 4-6°C, а в морозильной камере бытового холодильника минус 18-20°C. Контроль температуры осуществляется с помощью термометров. Ответственный за соблюдение температурного режима в холодильнике – младший научный сотрудник.

3.2 Температура в низкотемпературных морозильных камерах должна быть выдержана в пределах минус 70-80°C. Контроль температуры осуществляется при помощи

встроенного термометра (экран дисплея на холодильнике). На все низкотемпературные камеры должен быть температурный журнал, где записывают показания дисплея соответствующего низкотемпературного холодильника 2 раза в сутки. Ответственный за соблюдение температурного режима в холодильнике – младший научный сотрудник.

3.3 При срабатывании режима «ALARM» и повышении температурных значений дежурный по институту сообщает об аварийной ситуации заведующему лабораторией и инженеру.

3.4 Прибывшие сотрудники должны в короткие сроки, не допуская размораживания, перенести биологический материал из сломанного низкотемпературного холодильника в резервный.

## **СОП 4. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА И ПОДДЕРЖКА ЕДИНИЦ ХРАНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ**

4.1. При закладке на хранение биологического материала (сыворотка, гомогенаты) в течение длительных сроков в каждый криобокс вкладывают по 3 (три) пластиковых пробирки (эппендорфа) сливной сыворотки и сливной гомогенат соответственно. Пробирки со сливным материалом находятся в последних трех ячейках криобокса.

4.2. При хранения биологического материала длительное время осуществляется контроль качества биологического материала. Один раз в полгода сотрудники лаборатории выполняют на сливном материале иммуноферментный анализ (ИФА), определение С-реактивного протеина.

4.3. Данные анализа заносят в журнал «Контроль качества биологического материала».

4.4. Перед закладкой на хранение образцов ДНК производится измерение концентрации и оценка качества (чистоты) по соотношению белок/ДНК каждого образца и эта информация заносится в базу данных. При выдаче аликвоты образца ДНК рассчитывается её объём исходя из необходимого для исследования количества ДНК и её концентрации. Реакционная способность ДНК проверяется путём постановки пробной ПЦР перед началом исследования. Для оценки степени фрагментации ДНК будет использоваться электрофорез в полиакриламидном или агарозном гелях.

## **СОП 5. ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ КРОВИ**

5.1. К образцу крови добавляют 5-6 объемов буфера А (10 мМ трис-НСl, рН = 7,5; 10 мМ NaCl; 3 мМ MgCl<sub>2</sub>), перемешивают переворачиванием. Осадки, полученные центрифугированием при 2500 g, дважды промывают буфером А и ресуспендируют в 0,5 мл буфера В (10 мМ ЭДТА; 100 мМ NaCl; 50 мМ трис-НСl, рН = 8,5). После добавления SDS до 0,5 % и протеиназы К до 200 мкг/мл смесь инкубируют в течение ночи при 37 °С. Депротеинизацию проводят последовательно водонасыщенным фенолом, смесью фенол-хлороформ (1 : 1) и хлороформом. Осаждение ДНК проводят добавлением раствора NH<sub>4</sub>Ac до 2.5 М и 2.5 Vизопропанола. Осадок, полученный центрифугированием на микроцентрифуге «Eppendorf» в течение 10 минут, промывают дважды 70 % этанолом и растворяют в деионизованной воде.

5.2. Полученные образцы маркируют согласно СОП2.



## **СОП 6. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ЧЕЛОВЕКА**

6.1. Каждая пробирка промаркирована индивидуальным номером, соответствующим определенному типу биологического образца. При идентификации биологического материала человека необходимо сканером считать штрих-код с пробирки с биологическим материалом (сыворотка, гомогенат ткани, ДНК).

6.2. Определить положение идентификационного номера в базе данных.