

上海生物样本库
最佳实践规范及标准操作流程
文件汇编
(第二版)

2010年5月

上海生物样本库 质量管理体系文件					
文件名称	组织样本 OCT 包埋及冰冻切片制作操作 规程			编号	SOP-SC-005-01
批准人		批准日期		实施日期	

组织样本 OCT 包埋及冰冻切片制作操作规程

1. 目的

规范组织样本的采集后使用 OCT 复合物进行包埋和制作冰冻组织切片的操作。

2. 适用范围

适用于组织样本采集后进行 OCT 包埋和制作冰冻组织切片的活动。

3. 定义和术语

3.1 组织样本

组织样本是指由捐赠者提供的，专业人员采集的组织，包括肿瘤、病变组织和其它对照组织（包含近癌组织、癌旁组织、正常组织等）。

3.2 OCT（最佳切割温度）包埋

使用 OCT 包埋剂对组织样本进行包埋。OCT 包埋剂是一种聚乙二醇和聚乙烯醇的水溶性混合物，其用途是在冰冻切片时支撑组织，以增加组织的连续性，减少皱折及碎裂。

4. 职责

4.1 样本管理员

对切割的组织块进行 OCT 包埋和制作冰冻组织切片。

5. 设备和器材

5.1 个人防护装备

手套、口罩、实验防护服、护目镜及其它相关防护装备。

5.2 容器与器材

无菌冻存管、OCT 包埋模具、液氮容器、载玻片。

5.3 操作台

专用取材台、冰冻切片机。

5.4 试剂

OCT 复合物、液氮。

6. 主要流程

6.1 样本要求

6.1.1 组织样本采集的过程参见《组织样本采集操作规程》中的具体流程。

6.1.2 进行 OCT 包埋的组织样本大小约 $0.5 \times 0.5 \times 0.5 \text{cm}$ 。

6.1.3 应尽量在组织切除后的 30 分钟内快速冰冻 OCT 包埋组织和制作冰冻组织切片。

6.1.4 进行 OCT 包埋的组织样本在处理前不能使用福尔马林处理，也不能在组织样本中加入血清。

6.2 组织块 OCT 包埋

6.2.1 准备好干净灭菌的包埋盒。

6.2.2 在包埋盒中滴入数滴 OCT 复合物，覆盖包埋盒的底部。

6.2.3 将需要处理的组织样本放入包埋盒中，根据形状调整组织的位置。

6.2.4 加入更多的 OCT 复合物覆盖组织样本。

6.2.5 避免在 OCT 复合物中产生气泡，去除任何产生在组织样本周围的气泡。

6.2.6 OCT 包埋的组织块可进行快速冰冻保存或制作冰冻组织切片。

6.3 OCT 包埋组织块的快速冰冻

6.3.1 OCT 包埋组织块的快速冰冻方法参见《组织样本快速冰冻操作规程》中的液氮法。

6.3.2 将快速冰冻的 OCT 包埋组织块放入冻存管中并贴上标签，转运储存在 -80°C 冰箱中，储存的过程和要求参见《样本储存控制程序》和《组织样本储存操作规程》。

6.4 冰冻组织切片制作

6.4.1 选择好的冰冻切片机是保证切片质量的关键，建议使用恒冷箱冰冻切片机避免外界温度对切片的影响。冰冻切片机的操作按厂商有关说明书操作。

6.4.2 将组织块固定在切片机的支承器上，调节冰冻温度调节器，在冷冻台上冰冻组织块，冰冻的温度不宜过低时间不宜过长，防止组织破碎。冰冻的温度可根据组织的类别进行调解。如果发现冰冻过度时，可将冰冻的组织连同支承器取出来，在室温停留片刻，再行切片，或者用大拇指按压组织块，以此来软化组织，再行切片。

6.4.3 调整切片机刀片到适当的位置和角度，试切出完整连续的切片以确定最适合的条件。

6.4.4 正式切片前应先对将组织块修平并暴露出需要的切面。

6.4.5 修块后调节切片厚度至需要的厚度进行快速连续切片。

6.4.6 将防卷板调校至适当的位置。切出的切片能在第一时间顺利地通过刀防卷板间的通道，平整地躺在持刀器的铁板上。

6.4.7 掀起防卷板，将冰冻组织切片附贴在载玻片上，应置放于一端 2/3 处的中央，留出另一端 1/3 位置贴标签。

6.4.8 将冰冻组织切片干燥后放入冰冻切片盒中，外用样品袋包扎严实，防止水汽进入，转运储存在-20℃冰箱中，储存的过程和要求参见《样本储存控制程序》和《组织样本储存操作规程》。

7. 相关文件

《组织样本采集操作规程》 SOP-SC-002-01

《样本储存控制程序》 SOP-SC-014-01

《组织样本储存操作规程》 SOP-SC-015-01

8. 参考标准与文献

Biorepository Protocols, Australian Biospecimen Network, 2007

Common Minimal Technical Standards and Protocols, WHO

2008 Best Practices for Repositories • Collection, Storage, Retrieval and Distribution of Biological Materials for Research, ISBER, 2008

Best Practices for Biospecimen Resources, National Cancer Institute, 2007

临床技术操作规范·病理学分册, 中华医学会, 2008