

Стандартная операционная процедура «Поддержание единиц хранения»

Составлено: А.Г. Мензоров, к.б.н., в.н.с.

Содержание и назначение: Определяет протокол поддержания единиц хранения

Местонахождение: ИЦиГ СО РАН

Пересмотр через: 1 год

Основными задачами «Коллекции плюрипотентных культур клеток человека и млекопитающих общебиологического и биомедицинского направления» (Коллекции) являются идентификация, сохранение и распространение идентифицированных и охарактеризованных клеточных линий, свободных от контаминации, а также пополнение Коллекции новыми линиями, необходимо, чтобы Коллекция отвечала следующим требованиям [1]:

1 Линии клеток человека и животных в Коллекции должны быть идентифицированы, охарактеризованы с помощью современных методов, должна быть показана их микробиологическая чистота. Процедуры идентификации и проверки микробиологической чистоты должны быть валидированы и проводиться периодически. Указанные процедуры описаны в Проекте унифицированного протокола для идентификации и характеристики клеточных линий человека и животных.

2 В Коллекции должна иметься система документирования (для каждой линии клеток человека и животных, находящейся в Коллекции, должен иметься мастер файл, в котором отражается вся информация, касающаяся данной линии и манипуляций с ней, начиная с момента донорства биоматериала или иных путей попадания в Коллекцию), а также удобная и практичная система маркировки, исключая потерю и кросс – контаминацию биоматериала.

3 Хранилища, в которых содержится Коллекция, помещения, в которых ведется работа по получению и культивированию линий клеток человека и животных, используемые материалы, оборудование и процедуры должны отвечать разработанной системе требований по контролю качества и безопасности в соответствии с российскими и международными регламентами, должны быть стандартизованы и унифицированы.

4 Каждая линия клеток человека и животных должна иметь паспорт с информацией об истории создания клеточной линии человека и животных, ее идентификации и характеристиках, микробиологической чистоте, характере генетической модификации линии клеток человека и животных, условиях культивирования, копия которого должна

выдаваться получателям данной линии, а также должен существовать электронный каталог имеющихся в Коллекции клеточных линий с их паспортами, доступный в сети интернет.

5 Должны соблюдаться этические нормы и требования к донорству биологического материала в соответствии с ФЗ 180 «О биомедицинских клеточных продуктах», а также должна быть разработана система по защите прав интеллектуальной собственности авторов клеточных линий.

6 В соответствии с утвержденной процедурой необходимо вести постоянную работу над пополнением Коллекции посредством приобретения (из внешних источников) и получения новых линий клеток человека и животных, а также по разработке и усовершенствованию методов культивирования и хранения, идентификации, определения контаминации в соответствии с российскими и международными стандартами и требованиями.

В дополнение к вышеизложенным требованиям предлагается следующий порядок депонирования линий клеток:

Этап 1 – основной сток

Полученную линию клеток следует размножить и заморозить 3–5 ампул основного стока культуры клеток. На этом этапе необходимо проверить культуру на контаминацию бактериями, грибами и микоплазмой, а также подтвердить видовую принадлежность с помощью анализа кариотипа и специфических маркеров ДНК.

Этап 2 – рабочий сток

На втором этапе размораживается одна ампула основного стока, клетки размножаются и криоконсервируются 10–100 ампул. В конце этого этапа также необходимо провести проверку культуры клеток.

Этап 3 – пользовательский сток

На третьем этапе размораживается одна ампула рабочего стока и снова после размножения замораживаются 10–100 ампул с оценкой культуры. Эти ампулы предоставляются заказчикам культур клеток.

Такой протокол депонирования дает возможность получить большое количество материала стандартного качества. При этом число пассажей культуры до получения пользовательского стока минимально. Это позволяет минимизировать риск контаминации и сохранить свойства линий клеток.

Фактически поддержание Коллекции заключается в обеспечении хранения клеточного материала для того, чтобы при необходимости выполнять различные работы в соответствии с СОПами.

Стандартная операционная процедура (СОП) «Поддержание единиц хранения» разработана в качестве стандарта для обеспечения качественного процесса поддержания единиц хранения ЦКП «Коллекция плюрипотентных культур клеток человека и млекопитающих общебиологического и биомедицинского направления» (Коллекции) ИЦиГ СО РАН.

Цель разработки стандартной операционной процедуры состоит в унификации протокола поддержания единиц хранения Коллекции.

Разработанная СОП рекомендована для использования в подразделениях, работающих с культурами клеток человека и животных.

В ходе работы мы руководствовались: правилами лабораторной практики (Приложение к Приказу Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708н) и ГОСТ Р 53434-2009. Принципы надлежащей лабораторной практики. М.: Стандартиформ. 2010. 12 с.

Все работы, проводимые в условиях лаборатории, должны вестись в соответствии с правилами пожарной безопасности и охраны труда. Процедуры, требующие стерильности, проводят в ламинарных боксах, классом безопасности не ниже II. При работе обеспечиваются условия, предотвращающие заражение персонала инфекционными агентами из первичного биоматериала.

Все оборудование проходит процедуру калибровки сотрудниками лаборатории с периодичностью и с использованием методов, как это указано производителем. Все расходные материалы и реактивы должны иметь соответствующие сертификаты качества и храниться соответственно спецификации.

Контроль выполнения пунктов протокола возлагается на Руководителя работ. Ответственность за выполнение данной процедуры несут все сотрудники, участвующие в исследовании.

Оборудование и материалы

Перечень необходимого оборудования и расходных материалов

Лабораторное оборудование (приведены возможные варианты производителей и марок оборудования)

- Криоконтейнер (Thermo Fisher Scientific, 5100-0001).
- Компьютер.
- Расходные материалы и реактивы.
- Жидкий азот.

Поддержание единиц хранения

- Ежедневная заливка жидкого азота в криохранилище.
- Обновление информации в электронном каталоге Коллекции.

При подготовке СОП «Поддержание единиц хранения» использованы следующие литературные источники:

- 1 Мензоров А.Г., Серов О.Л. Зачем нужны коллекции линий клеток // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016. 20(6). 945–948.