

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

Федерального государственного
бюджетного научного учреждения

Института биологии развития

им. Н.К. Кольцова РАН

А.В. Васильев

« 15 » марта 2017 г.

Регламент

содержания и доступа к Коллекции кокцинеллид (божьих коровок) ЦКП по биологии развития на основе использования клеточных технологий и оптических методов исследований при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Общие положения.

В связи с тем, что основными задачами Коллекции кокцинеллид являются создание и поддержание лабораторных линий *Harmonia axyridis*, происходящих из различных популяций нативного и инвазивного ареала этого вида, инфицированных разными видами репродуктивных эндосимбионтов, а также пополнение энтомологической части коллекции массовыми сборами из природных популяций как *H. axyridis*, так и других полиморфных видов кокцинеллид, для использования в фундаментальных и прикладных научных исследованиях, необходимо, чтобы Коллекция отвечала следующим требованиям (критериям):

1) Линии *H. axyridis* в Коллекции должны быть охарактеризованы с помощью классических методов систематики, современных молекулярно-генетических и цитогенетических методов.

2) В Коллекции имеется система документирования (для каждой линии *H. axyridis* находящейся в Коллекции, имеется набор характеристик, отражающий всю информацию, по каждой линии и манипуляций с ней, начиная с момента попадания в Коллекцию), а также система маркировки, исключающая потерю и перепутывание материала.

3) Помещения, в которых содержится Коллекция и ведется работа по поддержанию линий, используемые материалы, оборудование и процедуры должны отвечать разработанной системе требований по контролю условий труда в соответствии с российскими и международными нормативами. Основные нормативные документы: 1. Трудовой кодекс Российской Федерации. Принят 30 2001 г. 197-ФЗ (с изменениями и дополнениями). 2. Федеральный закон от 27.12.2002 г. № 184 – ФЗ «О техническом регулировании». 3. ГОСТ Р 12.0.001-2013 Система стандартов безопасности труда. Основные положения. 4. Постановление

Правительства Российской Федерации от 27 декабря 2010 г. № 1160. Положение о разработке, утверждении и изменении нормативных правовых актов, содержащих государственные нормативные требования охраны труда. 5. Постановление Минтруда России от 17 декабря 2002 г. № 80. Об утверждении Методических рекомендаций по разработке государственных нормативных требований охраны труда.

В том числе, помещения для ведения коллекционной работы должны быть оборудованы системой поддержания постоянной температуры, вытяжками, микроскопическим оборудованием.

4) В перспективе каждая линия будет иметь паспорт с информацией об истории ее создания, условиях культивирования, морфологических и генетических особенностях, копия которого должна выдаваться получателям данной линии, а также должен существовать электронный каталог имеющихся в Коллекции линий с их паспортами, доступный в сети интернет.

5) Поддержание линий *H.axyridis* осуществляется путем постановок регулярных (2-3 раз в год) скрещиваний и получения не менее 25-30 потомков от них. Для кормления размножающихся коровок и выкармливания личинок используется обыкновенная злаковая тля, выращиваемая в лаборатории на пшеничных газонах. Взрослые жуки (имаго) вне периода размножения содержатся на искусственном корме, разработанном в нашей лаборатории. В течении 3-4 зимних месяцев жуки обеспечиваются необходимой для их жизненного цикла зимней диапаузой.

6) Постоянная работа над пополнением Коллекции ведется посредством отлова божьих коровок в природных популяциях, получения в ходе экспериментальной работы новых линий и обмена с коллегами.

7) Энтомологическая часть коллекции пополняется за счет новых сборов из природных популяций кокциnellид и погибших жуков *H.axyridis* из живой части коллекции.

8) Доступ к Коллекции *H.axyridis* для сотрудников ИБР РАН осуществляется через предварительную запись в журнал заказов. Для сотрудников других учреждений доступ к осуществляется по предварительной договоренности и с разрешения Руководителя Коллекции.

9) Передача живых линий *H.axyridis* пользователям осуществляется вместе с информацией, достаточной для культивирования данных линий в их лабораториях, а также с подписанием в отдельных случаях Соглашения о передаче материалов.

Для заказчиков линий Коллекции Регламент содержит Перечень актуальных услуг, оказываемых заинтересованным пользователям с учетом нагрузки, Используемые методики и Перечень основного технологического оборудования (Приложение А).

Контроль соблюдения стандарта, ответственность

Все работы, проводимые в условиях лаборатории должны вестись в соответствии с правилами пожарной безопасности и охраны труда. Процедуры молекулярно-генетического анализа, требующие стерильности, проводят в ламинарных боксах. Оборудование, используемое при проведении молекулярно-генетической диагностики линий, 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 регламента возлагается на Руководителя коллекции. Ответственность за выполнение данной процедуры несут все сотрудники, участвующие в исследовании.

Приложение А – услуги, оборудование, методики.

Перечень актуальных услуг, оказываемых заинтересованным пользователям с учетом нагрузки.

1. Обеспечение заинтересованных учебных и научных организаций линиями *H.axyridis* с заданными характеристиками (происхождение, генотип и т.п.).
2. Проведение заказных исследований с использованием коллекционных линий в совместных работах с представителями внешних организаций.
3. Проведение учебно-практических занятий со школьниками и студентами по ведению лабораторной культуры *H.axyridis* и постановке с ней генетических экспериментов.

Перечень основного технологического оборудования.

1. Бинокулярные лупы и микроскопы (Lomo 9, Lomo 10, Micromed MC-2 Zoom, Carl Zeiss 'Jenalumar').
2. Суховоздушные термостаты с охлаждением и поддержанием фотопериода.
3. Шкафы сушильные стерилизационные сухожарочные.
4. Источники УФ.
5. Весы.
6. Сплит-системы.
7. Холодильники.
8. Суточный таймер 16A Electraline 59500.
9. Очиститель воздуха.
10. Ламинары и ПЦР-боксы.
11. Амплификаторы (Терцик, VeritiFast Applied Biosystem)
12. Секвенатор DNA analyser 3500

Используемые методики.

1. Разработанные нами методы поддержания коллекционных линий *H.axyridis*, классические методы отбора по полу и фенотипическим признакам, постановки скрещиваний.
2. Методы выделения ДНК, амплификации и секвенирования при проверке генотипа коллекционных линий.
3. Методы микроскопирования и оценки количественных и цитогенетических признаков *H.axyridis* коллекционных линий.

Руководитель Коллекции

к.б.н.

Блехман А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ им. Н.К. Кольцова РАН
 Лаборатория эволюционной генетики развития

**Стандартные операционные процедуры (СОП) содержания и развития
 «Коллекции кокцинелл» Объединенной коллекции лабораторных
 животных для фундаментальных, прикладных и природоохранных
 исследований ИБР РАН**

Составил	Согласовал	Утвердил
<p>Н.с. лаборатории эволюции генома и механизмов видообразования.</p> <p>Блехман А.В.</p>  <hr/> <p>«15» марта 2017г</p>	<p>Зав. Лабораторией эволюции генома и механизмов видообразования</p> <p>Галимов Я.Р.</p>  <hr/> <p>«15» марта 2017г</p>	<p>Директор ИБР РАН</p> <p>Васильев А.В.</p>   <hr/> <p>«15» марта 2017г</p>

Цель

Обеспечение оптимальных условий содержания и разведения лабораторной культуры *H.axyridis*.

Печень СОП

Содержание лабораторной культуры *H.axyridis* с учетом природного жизненного цикла

Пищевой режим *H.axyridis* на разных этапах жизненного цикла

Линейное и внутривидовое разведение линий лабораторной культуры *H.axyridis*

ПЦР – полимеразная цепная реакция.

Секвенирование

Цитологический анализ наличия эндосимбионтов, кариотипа линейных особей обоих полов

Содержание СОПов представлено в Регламенте Коллекции.

Длительное содержание данного вида в научных лабораториях не описано.

Одной из ведущих задач по поддержанию живой части данной Коллекция стало введение в постоянную лабораторную культуру нового модельного вида - *H.axyridis*.

Разработанные руководителем Коллекции методы длительного содержания, и состав искусственного корма как результаты интеллектуальной собственности готовятся к патентованию.

Ответственность

Поддержание Коллекции обеспечивают руководитель и лаборант.

Пересмотр СОП

Может осуществляться периодически в связи с совершенствованием методов содержания и разведения лабораторной культуры, молекулярно-генетического и цитологического анализа.