

«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 сохранения Коллекции клеточных культур для биотехнологических и биомедицинских исследований - Уникальной научной установки

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.

Коллекции клеточных культур для биотехнологических и биомедицинских исследований, созданная на базе 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 (ИБР РАН), содержит обширный перечень уникальных клеточных линий человека и животных, полученных из различных тканей. Эти линии представлены как тканеспецифическими линиями, так и плюрипотентными клеточными, а также линиями, содержащими авторские модификации.

Коллекционный фонд уникален по ряду причин:

- в коллекции представлены базовые образцы клеточных линий различных тканей как человека, так и животных, что способствует организации и проведению сравнительно-гистологических исследований;
- содержит уникальные образцы клеточных линий, полученных от доноров с различной патологией;
- коллекция укомплектована значительным числом первичных культур;
- эмбриональные стволовые клетки человека и животных;
- также набор коллекционных линий позволяет исследовать механизмы и возможности индукции плюрипотентности;
- в коллекции ряд клеточных линий трансфицированы и трансгенны различными факторами, что позволяет их использовать в актуальных на современном этапе направлениях исследований молекулярно-генетических механизмов реализации цито- и

гистоспецифичности, клеточного и тканевого иммунитета, других базовых процессов клеточной биологии.

В целом Коллекции клеточных культур для биотехнологических и биомедицинских исследований, созданная на базе 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 позволяет успешно реализовывать ряд актуальных направлений исследований клеточной биологии и биомедицины, а также развивать методы биотехнологии и клеточной инженерии.

Содержание, сохранение и поддержание такого экспериментального уровня **Коллекции клеточных культур для биотехнологических и биомедицинских исследований** возможно при условии ее функционирования в форме сообщества объектов научной инфраструктуры в виде **Уникальной научной установки (УНУ ККК)**.

Нормативная база и структура регламента Коллекции клеточных культур в форме Уникальной научной установки.

В соответствии с Федеральным законом «О биомедицинских клеточных продуктах», ФЗ - 180, подписанном Президентом Российской Федерации В.В. Путиным 23.06.2016 г., в Российской Федерации формируется обращение биомедицинских клеточных продуктов, что требует инфраструктурного обеспечения исследований и разработок, направленных на внедрение в клиническую практику биомедицинских клеточных продуктов, содержащих в своем составе клеточные линии человека. Одновременно повышаются и требования к исследовательской деятельности в разных областях клеточной биологии и эмбриологии, биомедицины и биоинженерии, которые должны соответствовать международным стандартам.

Регламент Коллекции клеточных культур для биотехнологических и биомедицинских исследований ИБР РАН разработан с учетом всех основных нормативных актов согласно ФЗ-180.

Важнейшим организационным принципом, обеспечивающим поддержание, сохранение и соблюдение нормативных условий содержания Коллекции клеточных культур является применение технологического цикла, что оптимально обеспечивает функционирование коллекционного фонда в форме Уникальной научной установки.

Таким образом, Регламент Коллекции клеточных культур для биотехнологических и биомедицинских исследований ИБР РАН учитывает специфику функционирования УНУ согласно Постановлению Правительства Российской Федерации от 17 мая 2016 г. № 429 «О требованиях к центрам коллективного пользования научным оборудованием и уникальным научным установкам, которые созданы и (или) функционирование которых обеспечивается с привлечением бюджетных средств, и правилах их функционирования».

В целом Коллекция клеточных культур для биотехнологических и биомедицинских исследований ИБР РАН в форме Уникальной научной установки (УНУ ККК) представлена комплексом объектов научной инфраструктуры, позволяющим проведение научных исследований в области клеточной биологии, биомедицине и клеточной инженерии на современном методическом уровне, что позволит достигать значимых научных результатов мирового уровня. В связи с тем, что в настоящее время активно происходит организационно-правовой процесс создания коллекций и банков клеточного материала и биоматериалов в целом, формирования на базе ИБР РАН данного коллекционного комплекса как Уникальной научной установки является наиболее приемлемой и оптимальной формой.

В связи с тем, что основными задачами Коллекции клеточных линий человека и животных являются идентификация, сохранение и распространение полностью идентифицированных и охарактеризованных клеточных линий, свободных от контаминации, а также пополнение Коллекции новыми линиями, необходимо, чтобы Коллекция отвечала следующим требованиям (критериям), которые формируются в стандартные операционные процедуры (СОП).

Действующий Регламент содержит основные СОП, обеспечивающие весь технологический цикл содержания и развития Коллекции клеточных культур в форме Уникальной научной установки.

1) СОП «Идентификация и характеристика клеточных линий человека и животных»

Линии клеток в Коллекции должны быть идентифицированы, охарактеризованы с помощью современных методов, должна быть показана их микробиологическая чистота. Процедуры идентификации и проверки микробиологической чистоты должны проводиться периодически, не реже 1 раза в год.

2) СОП «Система инвентаризации и документооборота для содержания Коллекции»

2.1.) В Коллекции разрабатывается и оптимизируется (в связи с расширением коллекционного фонда) система документооборота.

Для каждой линии клеток, находящейся в Коллекции, формируется мастер файл, в котором отражается вся информация, касающаяся данной линии и манипуляций с ней, начиная с момента попадания в Коллекцию, а также удобная и практичная система маркировки, исключая потерю и перепутывание материала.

2.2.) Хранилища, в которых содержится Коллекция, помещения, в которых ведется работа по получению и культивированию линий, используемые материалы, оборудование и процедуры согласованы с разработанной системой требований по контролю качества и безопасности в соответствии с российскими и международными регламентами, стандартизованы и унифицированы.

2.3.) Каждая линия представлена Паспортом с информацией об истории создания клеточной линии, ее идентификации и характеристиках, микробиологической чистоте,

условиях культивирования (см. Паспорт клеточной линии), копия которого выдается получателю (заказчику) данной линии. Паспорта и характеристики клеточных линий формируют Электронный каталог Коллекции клеточных культур для биотехнологических и биомедицинских исследований ИБР РАН, который размещается на сайте организации, официальном сайте Министерства образования и науки РФ <http://ckp-rf.ru>, для возможного доступа материалов Коллекции исследователям и потенциальным заказчикам посредством сети интернет.

3) СОП выдачи образцов Коллекции и нормативной документации по характеристикам, содержанию и использованию образцов заказчиком

3.1.) Используется разработанная процедура передачи клеточных линий пользователям вместе с методической информацией, достаточной для начала культивирования данных линий в лабораториях заказчика, а также с подписанием в отдельных случаях Соглашения о передаче материалов.

3.2.) Процедура передачи образцов клеточного материала Коллекции учитывает 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.

4) СОП по созданию новых линий, модификации имеющихся линий, обеспечению достаточного количества клеточного материала образцов линий и приобретению новых клеточных линий в России и за рубежом

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

5) СОП соблюдения нормативных актов по использованию и содержанию клеточного и гистологического донорского биоматериала

Соблюдение этических норм и требований к донорству биологическому материалу в соответствии с ФЗ 180 «О биомедицинских клеточных продуктах», разработка действующей системы по защите прав интеллектуальной собственности авторов клеточных линий.

В основе Регламента установлена **концепция двухуровневой структуры банка клеток**, в которой существует Мастер (главный) банк клеток, МБК – охарактеризованный банк родительских (исходных) клеток, используемый для создания рабочего банка клеток (РБК), как оптимальный практичный подход, обеспечивающий непрерывное воспроизведение клеточного субстрата одного уровня пассажа для постоянного использования или распространения на протяжении длительного времени. Обычно из исходного клона или из предшествующего банка

клеток сначала создают МБК. Линии, впервые попадающие в банк клеток, подвергаются карантину для исключения распространения любых контаминирующих агентов, которые они могут содержать. Для создания РБК используют одну или более ампулу с клетками из МБК. РБК, как правило, используют непосредственно для получения клеток для исследований или для передачи заказчикам. По мере необходимости из МБК создаются дополнительные РБК. Свежеприготовленный РБК должен быть соответствующим образом квалифицирован путем установления его характеристик и тестирования. Значимо, чтобы охарактеризованный МБК должен обеспечивать постоянство получения линий для РБК, а РБК – для дистрибуции.

К технологическому циклу содержания и сохранения Коллекции относится необходимость **организации дополнительного дублирующего хранилища материала в другом помещении**, условия хранения линий, в котором будут идентичны основному. В целях блокировки полной потери коллекционного материала, запас замороженных клеточных линий одного наименования не рекомендован к хранению только в одном месте.

Регламент формирует методические рекомендации по эксплуатации Коллекции, которые обязательно включают периодические процедуры проведения периодических проверок учета и параметров хранения линий и материалов для обеспечения надежного долгосрочного хранения.

Регламент Коллекции обосновывает необходимость и методику организация процесса внутреннего аудита, когда при использовании банка дополнительно и в клинических целях устанавливается необходимость проведения независимых внешних проверок материалов и процедур.

Методические основы проведения основных мероприятий, обеспечивающих корректную работу с коллекцией

Дополняют и детализируют обоснованные в Регламенте СОПы.

К процедурам, позволяющим минимизировать риски контаминации и потери клеточных линий, относятся следующие:

- помещение в карантин новых клеточных линий перед работой с ними;
- аккуратное документирование работы с каждой клеточной линией, создание мастер-файла для каждой линии;
- тщательная читаемая маркировка посуды и пробирок для культивирования и хранения линий, использование печатных этикеток и системы штрих-кодов, если возможно;
- привлечение к работе с клеточными линиями только высококвалифицированного персонала;
- контроль рабочей нагрузки персонала в целях уменьшения вероятности несчастных случаев;
- высокий уровень стерильности при работе с клетками;

- проведение уборки лабораторных помещений для уменьшения микробиологической нагрузки;
- использование отдельной емкости со средой для каждой линии;
- приготовление и использование аликвот стоковых растворов и реагентов;
- одномоментно работа с одной клеточной линией в ламинарном боксе;
- очистка ламинарного бокса после работы с каждой линией;
- обеспечение как минимум 5-тиминутного перерыва между линиями при работе в ламинарном боксе, желательна с дезинфекцией УФ-облучением или иным способом;
- обеспечение отдельного хранения зараженных и чистых клеточных линий;
- постоянное мониторингирование идентичности и контаминации клеточных линий.

Контроль соблюдения стандарта, ответственность

Контроль выполнения регламента возлагается на Руководителя Коллекции клеточных культур для биотехнологических и биомедицинских исследований – уникальной научной установки. Ответственность за выполнение стандартных операционных процедур несут сотрудники, проводящие эти мероприятия и участвующие в исследовании.

Работы по содержанию Коллекции клеточных культур в форме Уникальной научной установки (УНУ ККК), проводимые с привлечением оборудования ЦКП ИБР РАН проводятся при их согласовании с Руководителем ЦКП ИБР РАН.

Все работы, проводимые в лабораторных условиях должны вестись в соответствии с правилами пожарной безопасности и охраны труда в научно-исследовательских помещениях.

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.

СОЛАСОВАНО:

Руководитель УНУ «Коллекции клеточных культур
для биотехнологических и биомедицинских исследований»
член-корреспондент РАН

Воротеляк Е.А.

Руководитель ЦКП по биологии развития на основе
использования клеточных технологий и
оптических методов исследований ИБР РАН
д.б.н.

Куликов А.М.