

УТВЕРЖДАЮ

21 декабря _____ 2023 г.



МП
ДИРЕКТОР ИИЭ РАН ЧЛ. КОРР. РАН

Н.С. ЧЕРНЕЦОВ

РЕГЛАМЕНТ ХРАНЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОЛЛЕКЦИИ "КОЛЛЕКЦИЯ КУЛЬТУР ГЕТЕРОТРОФНЫХ ПРОТИСТОВ" УФК ИИЭ РАН

1. Общие положения

- 1.1. Настоящий регламент содержит основные требования к приему, формированию, учету, использованию и хранению материалов научной коллекции "Коллекция культур гетеротрофных протистов" (далее, Коллекция культур) УФК ИИЭ РАН.
- 1.2. Настоящий регламент обязателен для соблюдения сотрудниками профильных лабораторий и подразделений коллекционных лабораторий ИИЭ РАН, использующих материалы Коллекции культур в своей научной работе, а также осуществляющих ее пополнение.
- 1.3. К работе с материалами Коллекции культур допускаются также сотрудники других научных учреждений России и зарубежных стран (далее, сторонние специалисты). Доступ сторонних специалистов осуществляется на основании официального письменного обращения к научному куратору Коллекции культур УФК ИИЭ РАН (форму обращения и договора см. Приложение 1). Во время работы с материалами Коллекции культур и при последующем использовании данных, полученных на основании их изучения, сторонний специалист обязан соблюдать настоящий регламент в соответствующей части.
- 1.4. Лица, нарушившие пункты настоящего регламента могут быть отстранены от работы с материалами Коллекции по письменному уведомлению научного куратора коллекции.
- 1.5. Использование материалов Коллекции культур и последующее использование данных, полученных на основании их изучения, предусматривает обязательную ссылку на них во всех публикуемых работах, где отражены результаты

исследований, с обязательным указанием номеров инвентарного каталога. Рекомендуемый вариант ссылки на русском языке: "В исследовании использованы материалы Коллекции культур УФК ЗИН РАН"; на английском языке: "The study used the Culture Collection of the Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences (St. Petersburg, Russia)".

2. Первичная документация

- 2.1. Научная ценность коллекционных материалов определяется полнотой сопроводительной информации, представленной при поступлении экземпляра в коллекционное хранилище. Обязательным условием включения материалов в Коллекцию культур УФК ЗИН РАН является наличие точной информации о местонахождении и биотопе, из которых был изолирован штамм, и/или информации о коллекции, из которой штамм был получен, и регистрационного номера в этой коллекции. Кроме того, аналогичная информация должна быть доступна для штаммов, из которых были получены депонируемые в коллекции производные материалы (блоки с фиксированными и заключенными клетками, пробы тотальной ДНК и постоянные препараты). Для штаммов обязательна информация об условиях культивирования (название и состав среды, оптимальная частота пересевов и другие данные, которые могут иметь значение для успешного поддержания культуры). Для всех материалов обязательны сведения, являются ли они типовыми для тех видов, к которым они относятся.
- 2.2. Поступивший коллекционный материал получает статус "депонированного материала" после внесения данных о нем в Журнал поступления образцов. Запись должна содержать информацию о виде поступившей единицы хранения, о местонахождении и типе биотопа, из которого был выделен штамм, об условиях культивирования (в случае, если депонируется культура) и типовом статусе материала.
- 2.3. При внесении данных о депонированном материале в Инвентарный каталог и присвоения ему номера/номеров каталога, материал получает статус "каталогизированного материала" (далее, единица хранения; см. Приложение 2). Запись должна содержать уникальный номер каталога Коллекции культур вида "ZIN.<год поступления>.порядковый номер" (например, ZIN.2023.001), номер Журнала поступлений и другую дополнительную информацию.

- 2.4. Данные Журнала поступлений и Инвентарного каталога могут быть продублированы в электронной версии этих документов, хранящихся локально или на сервере ЗИН РАН.
- 2.5. Каждая единица хранения должна быть четко маркирована для предотвращения потери информации. Маркировка должна содержать, как минимум, номер каталога и, в случае, если видом единицы хранения является культура, дату последнего пересева и аббревиатуру, обозначающую вид культуральной среды. На конверты с блоками смолы и постоянные препараты наносятся этикетки с дополнительной информацией, содержащей название вида, краткий протокол фиксации и/или окрашивания и дату приготовления.

3. Условия хранения коллекционного материала

- 3.1. Материалы коллекции должны храниться в специальных коллекционных помещениях, закрепленных за Коллекцией культур. Оборудование для хранения материалов коллекции определяется в соответствии с видом единиц хранения: климакамеры и холодильные витрины с регулируемой температурой (+14 ... +18°C) для пересеваемых культур, ультранизкотемпературные морозильники (-80°C) и сосуды Дьюара с жидким азотом для криохранения замороженных культур, низкотемпературные морозильники (-25°C) для проб тотальной ДНК, и коллекционные шкафы с ящиками и полками для хранения при комнатной температуре заключенного материала и постоянных препаратов.
- 3.2. Для обеспечения хранения и пополнения электронных версий документов (Журнала поступлений и Инвентарного каталога), а также ведения бумажной документации коллекционные хранилища и/или вспомогательные помещения коллекции комплектуется персональным компьютером и офисной техникой (МФУ) с доступом к Интернет-сети и серверу ЗИН РАН. Также для хранения документации отводится место внутри вспомогательного помещения коллекции.
- 3.3. Доступ к материалам коллекции и документации ограничивается кругом лиц, непосредственно обслуживающих коллекцию и определяемых научным куратором коллекции.
- 3.4. Сотрудники ЗИН РАН, назначенные научным куратором коллекции, осуществляют постановку материалов на хранение (п. 4), выдачу материала для исследований (п. 5) и мониторинг состояния коллекции.

4. Использование коллекционного материала

- 4.1. Материалы Коллекции культур УФК ЗИН РАН предназначены только для использования в научных целях и не подлежат коммерческому использованию.
- 4.2. Информация о составе коллекции, номерах Инвентарного каталога, а также данных о ваучерном экземпляре предоставляется по запросу по электронной почте (обращение к научному куратору), через публикацию данных на Веб-портале ЗИН РАН и/или с помощью иных способов открытого опубликования.
- 4.3. Порядок оказания услуг по предоставлению материалов Коллекции культур УФК ЗИН РАН изложен в Приложении 1. Согласно порядку, доступ к использованию материалов коллекции для отечественных и зарубежных специалистов осуществляется через процедуру оформления пакета документов, включающих официальное обращение и соглашение о предоставлении материалов Коллекции культур УФК ЗИН РАН для реализации конкретного научного проекта (Приложение 1).
- 4.4. Решение о предоставлении материалов коллекции принимает научный куратор коллекции.
- 4.5. Все операции с материалами коллекций, включающие изъятие единицы хранения из хранилища, отделение пробы, проверку состояния перед постановкой, постановку на хранение и контроль состояния во время хранения осуществляет авторизованный персонал коллекции. Последующие работы с образцами после их выдачи могут осуществляться сторонним специалистом или сотрудником ЗИН РАН в коллекционных или вспомогательных помещениях по договоренности с научным куратором коллекции. В случае выдачи живых культур, их материал отсеивается для выдачи в отдельную подходящую тару с обязательным сохранением исходной культуры, явившейся источником материала для отсева, в коллекции. Направление таких отсеянных культур пользователям может осуществляться посредством служб почтовой (курьерской) доставки, а работа с ними – вне помещений коллекции имеющимися в распоряжении специалиста средствами.
- 4.6. Все операции с материалами коллекций, связанные с их использованием сторонними специалистами или сотрудниками ЗИН РАН, фиксируются в Журнале учета работы сторонних специалистов.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Порядок оказания услуг по предоставлению материалов коллекции "Коллекция культур гетеротрофных протистов" УФК ЗИН РАН

1. Использование материалов Коллекции культур сотрудниками ЗИН РАН

предполагает упрощенный порядок получения материалов, включающий письменное обращение исследователя к научному куратору коллекции с изложением научной задачи, сроков проведения исследования, планируемым публикациям и данных по требуемым образцам. Запрос оформляется по образцу, приведенному в Приложении Д действующего «Положения об УФК ЗИН РАН». После получения разрешения научного куратора, материал предоставляется исследователю.

2. Использование материалов Коллекции культур сторонними специалистами

предполагает двухэтапное оформление документации. Вначале оформляется запрос (Приложение Д действующего «Положения об УФК ЗИН РАН»). После принятия положительного решения по запросу для выдачи требуемых образцов (или их части) оформляется двухстороннее соглашение между ЗИН РАН и сторонним специалистом или сторонней организацией, от лица которой выступает исследователь. Пример соглашения приведен в Приложении Д действующего «Положения об УФК ЗИН РАН». После получения разрешения научного куратора, материал предоставляется исследователю.

ПРИЛОЖЕНИЕ 2. Стандартные операционные процедуры Коллекции культур гетеротрофных протистов по направлениям "Камеральная обработка и постановка на хранение Коллекции культур" и "Выделение ДНК"

1. СОП № ЗИН-2023-03 "Камеральная обработка, постановка на хранение и поддержание материалов Коллекции культур"

Специфика камеральной обработки Коллекции культур заключается в необходимости соблюдения правил для избежание контаминации поддерживаемых культур чужеродными эукариотными организмами. В связи с этим при работе с культурами требуется использование стерильных инструментов и материалов, пространственное и временное разделение работ, проводимых с разными культурами, во избежание кросс-контаминации и создание стерильной атмосферы в рабочей зоне за счет использования ламинарного бокса (бокса биологической безопасности). При камеральной обработке предполагается использование набора протоколов, направленных на обеспечение приготовления и стерилизации культуральных сред, поддержания культур в живом состоянии (пересева) и выделение тотальной ДНК из культур для создания дополнительных единиц хранения в виде проб тотальной ДНК. Отдельный протокол подразумевает постановку на хранение. Каждый протокол завершается внесением отметки в Инвентарный каталог (и/или его электронную версию) информации о формировании новых единиц хранения (при выделении ДНК или приеме нового штамма) и пересеве культуры.

Протокол № ЗИН-2023-03-а1: Приготовление и стерилизация культуральных сред с использованием автоклавирования

Оборудование и его загруженность (мин, на 60 едх): автоклав (60 мин); весы электронные II класса точности (10 мин); мешалка магнитная с якорем (15 мин); маркер перманентный (0,5 мин).

Материалы из расчета на 60 едх: банка стеклянная автоклавируемая с резьбовой крышкой 500 мл (2 шт.); вода дистиллированная (до 900 мл); сухие компоненты среды (в зависимости от состава); маркер перманентный (0,001 шт.);

Количество сотрудников и общие трудовозатраты (мин): 1 старший хранитель (20 мин) / или сопоставимое время м.н.с., н.с., с.н.с.

Протокол № ЗИН-2023-2023-03-а2: Приготовление и стерилизация культуральных сред с использованием стерилизации фильтрацией

Оборудование и его загруженность (мин, на 60 едх): автоклав (60 мин); весы электронные II класса точности (10 мин); мешалка магнитная с якорем (15 мин); ламинар (бокс биологической безопасности) (30 мин); насос вакуумный (30 мин); автоклавируемая фильтрующая насадка (Nalgene™ Reusable Bottle Top Filter, кат. № DS0320-2545) или аналог (90 мин); маркер перманентный (0,5 мин).

Материалы из расчета на 60 едх: банка стеклянная автоклавируемая с резьбовой крышкой до 1000 мл (1 шт.); вода дистиллированная (до 900 мл); сухие компоненты среды (в зависимости от состава); фильтры мембранные нитроцеллюлозные, диаметр пор 0,2 мкм (1 шт.); маркер перманентный (0,001 шт.);

Количество сотрудников и общие трудовозатраты (мин): 1 старший хранитель (60 мин) / или сопоставимое время м.н.с., н.с., с.н.с.

Протокол № ЗИН-2023-03-а3: Пересев живых культур

Оборудование и его загруженность (мин, на 1 едх): ламинар (бокс биологической безопасности) (20 мин); стереомикроскоп/микроскоп инвертированный (5 мин); маркер перманентный (0,5 мин).

Материалы из расчета на 1 едх: флакон культуральный пластиковый, стерильный, от 25 см² (1 шт.); готовая стерильная среда (15 мл); маркер перманентный (0,001 шт.);

Количество сотрудников и общие трудовозатраты (мин): 1 старший хранитель (15 мин) / или сопоставимое время м.н.с., н.с., с.н.с.

2. СОП № ЗИН-2023-04 "Выделение ДНК из материалов Коллекции культур"

При выделении ДНК из материала живых культур необходимо обеспечить эффективный лизис клеток с одновременным блокированием действия внутриклеточных нуклеаз для предотвращения разрушения высокомолекулярной ДНК. Это достигается использованием многокомпонентного лизирующего буфера, содержащего в своем составе поверхностно-активные вещества для разрушения клеточных мембран и денатурирующие агенты для разрушения белков. На следующем этапе необходимо обеспечить эффективное осаждение ДНК из лизата для ее очистки. Для этого используют изопропиловый и этиловый спирты, создающие в растворе условия, способствующие выпадению молекул ДНК в осадок. Растворение ДНК осуществляют в воде или слабощелочном Tris-буфере, что обеспечивает получение препарата, пригодного для дальнейших манипуляций, в частности, ПЦР. На всех этапах необходимо принимать меры предосторожности для недопущения кросс-контаминации между образцами ДНК, полученными из разных культур, а также загрязнения препарата собственной или другой посторонней ДНК. В связи с этим при выделении ДНК требуется использование стерильных инструментов и материалов, использование средств индивидуальной защиты (перчаток) и создание стерильной атмосферы в рабочей зоне за счет использования ламинарного бокса (бокса биологической безопасности). Желательно также выделение отдельной рабочей зоны и отдельного оборудования, предназначенного только для выделения тотальной ДНК из культур.

Протокол № ЗИН-2023-04-а1: Выделение тотальной ДНК из живых культур

Оборудование и его загруженность (мин, на 1 едх): ламинар (бокс биологической безопасности) (20 мин); стереомикроскоп/микроскоп инвертированный (5 мин); термостат твердотельный (25 мин); вортекс (1 мин); центрифуга настольная с ротором для пробирок 1,5-2 мл (20 мин); морозильник (-25°C) (3-15 часов); пипетки автоматические переменного объема (100-1000 мкл и 20-200 мкл) (30 мин); компьютер, подсоединенный к сети ЗИН (5 мин); маркер перманентный (0,5 мин).

Материалы из расчета на 1 едх: гуанидина тиоцианатный буфер (гуанидин тиоцианат 4М, Tris-HCl, pH 7,6 0,05М, Na ЭДТА 0,01М, натрия лауроилсаркозинат 2%, β-меркаптоэтанол 1%) (500 мкл); спирт изопропиловый 100% (molecular grade) (500 мкл); спирт этиловый 70% (molecular grade) (1 мл); вода деионизированная, стерильная, свободная от нуклеаз или раствор Tris-HCl 10мМ, pH 8,5 (50 мкл); пробирки пластиковые типа «Эппендорф», 1,5 мл, свободные от нуклеаз (1шт.); шпатель (скребок) для культур клеток, пластиковый, стерильный (1 шт.); перчатки латексные (нитриловые), одноразовые (2 пары); маркер перманентный (0,001 шт.).

Количество сотрудников и общие трудовозатраты (мин): 1 м.н.с., н.с., с.н.с. (1 час).