

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ»
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
(ФИЦ БИОТЕХНОЛОГИИ РАН)**

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

Федерального государственного учреждения

«Федеральный исследовательский центр

«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской
академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН)




чл.-корр. РАН Попов

**СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПО ПОДДЕРЖАНИЮ ШТАММА
МИКРООРГАНИЗМА В ЖИВЫХ КУЛЬТУРАХ
в ЦКП «Коллекция уникальных и экстремофильных микроорганизмов различных
физиологических групп биотехнологического назначения (UNIQEM)»
(ЦКП «Коллекция UNIQEM»)**

«Согласовано»

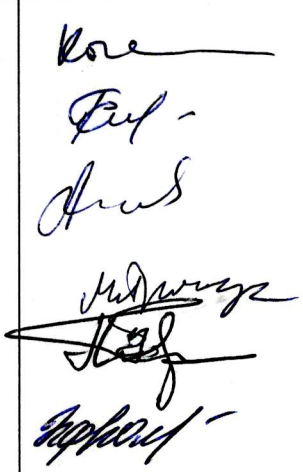



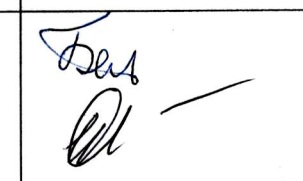

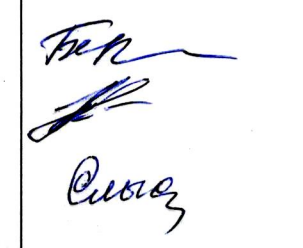

Руководитель ЦКП «Коллекция UNIQEM»

 д.б.н. А.Л. Мулюкин

«15» марта 2017

МОСКВА 2017

Разработано

ФИО, степень, должность	Подпись	Подразделение
Кочетова Т.В., к.б.н., н.с. Слободкина Г.Б., к.б.н., с.н.с. Перевалова А.А., к.б.н., с.н.с. Подосокорская О.А., к.б.н., с.н.с. Прокофьева М.И., к.б.н., н.с. Фролова А.А., аспирант, м.н.с.		Отдел биологии экстремофилов
Филиппова С.Н., к.б.н., в.н.с.		Лаборатория выживаемости микроорганизмов
Сорокин Д.Ю., д.б.н., в.н.с. Брянцева И.А., к.б.н., н.с.		Лаборатория экологии и геохимической деятельности микроорганизмов
Семенова Е.М., к.б.н., н.с.		Лаборатория нефтяной микробиологии
Белова С.Э., к.б.н., с.н.с. Куличевская И.С., к.б.н., с.н.с.		Лаборатория микробиологии болотных экосистем
Булаев А.Г., к.б.н., и.о. зав. лаб.		Лаборатория хемолитотрофных микроорганизмов
Берестовская Ю.Ю., к.б.н. н.с. Болтянская Ю.В., к.б.н., н.с. Самылина О.С., к.б.н., с.н.с.		Лаборатория реликтовых микробных сообществ
Паршина С.Н., к.б.н., с.н.с.		Лаборатория микробиологии антропогенных мест обитания

Условием регистрации штамма в каталоге коллекции UNIQEM является гарантированное сохранение им жизнеспособности и ключевых признаков за счет поддержания путем периодических пересевов и/или обеспечения эффективного хранения. В связи с наличием в коллекции труднокультивируемых микроорганизмов поддержание штамма (единицы) хранения, занесенного в каталог, осуществляется ответственным за этот штамм в структурных подразделениях (отделах, лабораториях) базовой организации – ФИЦ Биотехнологии РАН. К поддержанию и/или хранению штамма могут быть привлечены профильные специалисты из других подразделений ФИЦ Биотехнологии РАН.

1. Проверку культур штамма на аутентичность проводят в соответствии со «Стандартной операционной процедурой по проверке аутентичности коллекционного фонда микроорганизмов», разработанной для ЦКП «Коллекция UNIQEM».
2. Подбор методов и условий культивирования (тип и состав питательных сред, состав газовой атмосферы, температура, сроки инкубации и др.), производят:
 - для штаммов в каталоге коллекции UNIQEM – по данным в паспортах, размещенных на сайте коллекции <http://www.fbras.ru/services/ckp/tskp-kolleksiya-uniqem> и соответствующих публикациях;
 - для культур, предоставляемых на хранение/депонирование – по информации депозиторов, которая заносится в Паспорта;
 - для новых изолятов – по данным литературных источников или авторов, выделивших штамм.
3. Культуры бактерий и архей выращивают до образования хорошо различимых колоний (на плотных средах, в том числе, селективных) или достижения стационарной фазы (в жидких культурах).
4. Штаммы аэробных бактерий и архей, растущие в поверхностных культурах, поддерживают на скошенных плотных средах с вазелиновым маслом (фототрофы) в пробирках (3-4 мл среды в пробирке на 20 мл) с периодичностью пересевов 3-4 раза в год (или чаще при необходимости). Рекомендовано производить пересев культур методом истощающего штриха на плотной среде в чашках Петри.

5. Штаммы анаэробных микроорганизмов выращивают на средах и в условиях, обеспечивающих отсутствие кислорода: в стеклянных флаконах или пробирках Хангейта с резиновыми пробками и завинчивающимися крышками с заменой воздуха, например, на N_2 , или N_2/CO_2 , или CO_2 , или H_2/CO_2 и др. (в зависимости от метаболизма анаэробных микроорганизмов). В большинстве случаев облигатные анаэробы поддерживают в жидких культурах на средах с восстановителем (сульфид, дитионит, цистеин) в пробирках Хангейта под инертной газовой фазой (азот/ CO_2 или аргон).
6. Штаммы бактерий и архей, поддающиеся культивированию только в жидких средах, поддерживают в виде клеточных суспензий в пробирках (3-4 мл культуры в пробирке на 20 мл – для аэробов или по технике Хангейта – для анаэробов). Культивирование штамма проводят с учетом его специфики, представленной в Паспорте. Частота пересевов не менее 4 раз в год или чаще в зависимости от сохранения штаммом способности к возобновлению роста.
7. Штаммы культур, нуждающиеся в определенном составе газовой фазы (метанотрофы), поддерживают в виде клеточных суспензий в герметично закрытых флаконах с объемом жидкой среды 1/5 объема флакона с добавлением в газовую фазу метана.
8. Пробирки с культурами бактерий и архей, выросших на(в) плотных или жидких средах, хранят в холодильных установках при 4 °С или иных, подходящих для данного штамма температуре и освещенности. В частности, культуры термофилов лучше хранить при комнатной температуре, культуры галоархей - при температурах не ниже 10°С (для предотвращения выпадения солей), культуры фототрофов - в холодильнике с освещением.
9. Не допускается высыхание плотной среды с поверхностно выросшей культурой или клеточной суспензии при хранении. Для предотвращения высыхания культур аэробов на скошенной плотной среде, после выращивания под ватными пробками пробирки перезатыкают стерильными резиновыми пробками и помещают в таком виде для хранения.
10. При разливке расплавленных плотных питательных сред в пробирки или чашки Петри следует избегать образования большого количества конденсата

(рекомендуемая температура расплавленной среды перед разлитием 42 – 44 °С). Допустимо выдерживать чашки с открытой крышкой на 3 мин после разлива среды в ламинарном боксе.

11. Хранение штамма в виде культур на плотной среде в чашках Петри, особенно пластиковых, не рекомендуется. В случае такого хранения чашки запечатывают парафильмом и хранят в перевернутом виде в пластиковых пакетах.
12. Эффективность сохранения штамма, поддерживаемого периодическими пересевами, оценивают по способности к возобновлению роста после инокулирования на плотной или жидкой среде и сохранению ключевых фенотипических признаков.
13. Поддержание некоторых групп микроорганизмов может осуществляться в соответствии со специально разработанными и утвержденными Стандартными операционными процедурами.
14. Оценку качества единиц хранения проводят в соответствии со «Стандартной операционной процедурой контроля качества единиц хранения», разработанной для ЦКП «Коллекция UNIQEM».
15. В случае неудовлетворительной сохранности жизнеспособных клеток руководствуются «Стандартной операционной процедурой по коррекции нарушений качества единиц хранения», разработанной для ЦКП «Коллекция UNIQEM».