ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ

«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР

«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ»

РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

(ФИЦ БИОТЕХНОЛОГИИ РАН)

|  |  |
| --- | --- |
| **УДК** 579.8 579.06  **№ госрегистрации** АААА-А17-117111450028-7  **Инв. №** | **«УТВЕРЖДАЮ»**  Директор  ФИЦ Биотехнологии РАН  д.х.н., член-корр. РАН  \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ В.О. Попов  «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017 г. |

**ОТЧЕТ**

**О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ**

По теме **«**Инвентаризация и развитие коллекции уникальных и экстремофильных микроорганизмов различных физиологических групп (UNIQEM)»

(заключительный)

Протокол заседания Ученого совета

№ 9 от «25» декабря 2017 г.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Зам. директора по научной работе, докт. биол. наук, | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Н.В. Пименов |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Научный руководитель  докт.биол. наук, в.н.с. | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | А.Л. Мулюкин |

Москва – 2017**Список исполнителей**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Руководитель темы,  д-р биол. наук, вед..н.с. | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | А.Л. Мулюкин |

Исполнители темы

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| зав.лаб., д-р биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | С.Н. Дедыш |
| и.о. зав.лаб., д-р биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Т.В. Хижняк. |
| и.о.зав.лаб., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | А.Г. Булаев |
| и.о.зав.лаб., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Д.С. Груздев |
| гл. н. с., д-р биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Т.Н. Жилина |
| и.о. гл. н. с., д-р биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Д.Ю.Сорокин |
| с. н. с., д-р биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Т.Г.Соколова |
| и.о. вед.н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | С.Н. Филиппова |
| с. н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | С.Э. Белова |
| с. н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | В.В.Кевбрин |
| с. н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | И.С.Куличевская |

Продолжение списка исполнителей

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| с. н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Т.А.Пивоварова |
| с. н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Г.Б.Слободкина |
| с. н. с., канд. техн. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Т.В. Колганова |
| с. н. с. | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | В.В.Сорокин |
| с. н. с. | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Н.А.Кострикина |
| н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Т.Л. Бабич |
| н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Ю.Ю.Берестовская |
| н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | И.А.Брянцева |
| н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | О.Н. Исаева |
| н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | И.А.Брянцева |
| н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Е.В. Менько |
| н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Т.В. .Кочеткова |
| н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | М.И.Прокофьева |

Продолжение списка исполнителей

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Д.Ш.Соколова |
| н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | М.В.Сухачева |
| н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Е.Н.Тихонова |
| и.о. н.с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Е.М.Семенова |
| н. с., | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | В.С. Меламуд |
| м. н. с., канд. биол. наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Е.Н. Фролов |
| м. н. с. | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Р.В. Баслеров |
| м. н. с. | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | К.С. Заюлина |
| м. н. с. | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Е.О. Патутина |
| инженер | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | В.А. Григорьев |
| специалист пресс-службы | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | Е.В. Соколова |
| нормоконтролер | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ подпись, дата | И.К.Дорофеева |

**Реферат**

Отчет представлен на 130 страницах, содержит 4 приложения с 21 таблицей и 5 рисунками.

УНИКАЛЬНЫЕ И ЭКСТРЕМОФИЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ, КОЛЛЕКЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ, ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ, СТАНДАРТНЫЕ ОПЕРАЦИОННЫЕ ПРОЦЕДУРЫ, ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ВЕРИФИКАЦИЯ

Объект исследования – биоресурсная Коллекция уникальных и экстремофильных микроорганизмов различных физиологических групп биотехнологического назначения (далее - коллекция UNIQEM) ФИЦ Биотехнологии РАН.

Цель работы – инвентаризация, развитие и формирование технологического паспорта биоресурсной Коллекции UNIQEM ФИЦ Биотехнологии РАН.

Разработаны технологический паспорт, включающий девять ключевых стандартных операционных процедур (СОП) и научно-техническое обоснования смет их выполнения. СОПы регламентируют: поддержание штаммов; подготовку к криоконсервации; проверку аутентичности; контроль единиц хранения; коррекцию нарушений их качества; выделение штаммов микроорганизмов из разных экосистем; микроскопирование клеточных суспензий; электронно-микроскопические исследования; идентификацию штаммов молекулярно-генетическими методами. Каждая СОП экспериментально верифицирована на 20 – 50 штаммах; результаты оформлены в виде таблиц и 30 паспортов новых изолятов микроорганизмов. Технологический паспорт и результаты верификации размещены на странице коллекции на сайте базовой организации. Опубликовано 2 статьи в двух зарубежных журналах (по списку Scopus, WoS) и направлена 1 рукопись статьи в российский журнал.

**Содержание**

1 Обозначения и сокращения 8

2 Введение 9

3 Основная часть 11

3.1 Общая информация о коллекции 11

3.2 Краткая информация о проделанной работе в рамках дополнительного

госзадания 12

3.3 Регистрация в государственных информационных системах и финансирование 13

3.4 Результаты, полученные в рамках дополнительного госзадания 14

4 Заключение 20

1. Библиографический список публикаций, полученных в результате выполнения

научно-исследовательской работы 22

Приложение А. Описания стандартных операционных процедур (СОП) 23

А.1.СОП по поддержанию штаммов микроорганизмов в живых культурах 23

А.2 СОП по подготовке культур микроорганизмов к криоконсервации 28

А.3 СОП по проверке аутентичности коллекционного фонда микроорганизмов 33

А.4 СОП по контролю качества единиц хранения 37

А.5 СОП по коррекции нарушений качества единиц хранения 40

А.6 СОП по выделению штаммов микроорганизмов из разнообразных природных

источников, в т.ч. экстремальных мест обитания 44

А.7 СОП по микроскопированию культур и клеточных суспензий (в том числе,

с применением флуоресцентных красителей) 50

А.8 СОП по электронно-микроскопическому исследованию ультратонких

срезов клеток микроорганизмов 55

А.9 СОП по идентификации штаммов микроорганизмов методом

секвенирования маркерных последовательностей 59

Приложение Б. Результаты экспериментальной верификации стандартных

операционных процедур (СОП) 65

Таблица Б.1 Верификация СОП по поддержанию штаммов микроорганизмов

в живых культурах 65

Таблица Б.2 Верификация СОП по подготовке культур микроорганизмов к

криоконсервации 69

Таблица Б.3 Верификация СОП по проверке аутентичности коллекционного

фонда микроорганизмов 75

Таблица Б.4 Верификация СОП по контролю качества единиц хранения 80

Таблица Б.5 Верификация СОП по коррекции нарушений качества

единиц хранения 84

Таблица Б.6 Верификация СОП по выделению штаммов микроорганизмов

из разнообразных природных источников, в т.ч. экстремальных мест обитания 88

Таблица Б.7 Верификация СОП по микроскопированию культур и клеточных

суспензий (в том числе, с применением флуоресцентных красителей) 96

Таблица Б.8 Верификация СОП по электронно-микроскопическому

исследованию ультратонких срезов клеток микроорганизмов 102

Таблица Б.9 Верификация СОП по идентификации штаммов микроорганизмов

методом секвенирования маркерных последовательностей 107

Приложение В. Примеры заполненных паспортов 114

Таблица В.1 Пример паспорта на новые штаммы, охарактерзованные по

разработанным СОП: Изолят из осадков гиперсоленого озера 114

Таблица В.2 Пример паспорта на новые штаммы, охарактерзованные по

разработанным СОП: Изолят бактерий из Чаплинских источников 114

Таблица В.3 Пример паспорта на новые штаммы, охарактерзованные по

разработанным СОП: Изолят бактерий из пульпы руды,

применяемой в процессе бактериального выщелачивания при золотодобыче 122

Приложение Г. Копии страниц публикаций по теме НИР и подтверждений

подачи рукописи 125

**1 Обозначения и сокращения**

СОП – стандартная операционная процедура

ЦКП — центр коллективного пользования

ФАНО — Федеральное агенство научных организаций

ФИЦ — Федеральный исследовательский центр

UNIQEM — акроним Коллекции уникальных и экстремофильных микроорганизмов различных физиологических групп биотехнологического назначения; образован от английского наименования Collection of Unique and Extremophile Microorganisms

**2 Введение**

Коллекция микроорганизмов UNIQEM была создана и функционирует на базе Института микробиологии им. С.Н. Виноградского в составе ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, где в последние десятилетия собрана и поддерживается коллекция бактерий и архей, выделенных из разнообразных экстремальных мест обитания и техногенных экосистем. В коллекции широко представлены термофильные, гипертермофильные, ацидофильные, алкалофильные и галоалкалофильные прокариоты, а также представители редких и малоизученных групп. Коллекция имеет статус ЦКП (в соответствии с приказом ФИЦ от 26.12.2016) и представлена на сайте базовой организации <http://www.fbras.ru/services/ckp/tskp-kollektsiya-uniqem>, а также на сайте «Современная исследовательская инфраструктура Российской Федерации» — [http://ckp-rf.ru/ckp/466895](http://ckp-rf.ru/ckp/466895/).

Коллекция важна для решения фундаментальных и прикладных задач, динамично развивается за счет инициативных исследований сотрудников ФИЦ, упоминается в публикациях и базах данных биоресурсных центров и имеет нормативно-правовые акты и документы локального уровня. Условием дальнейшей поддержки коллекций (и не только UNIQEM) является наличие: технологического паспорта, регламентирующего осуществление стандартных процедур, и обоснование стоимости работ по коллекционной деятельности. Следует подчеркнуть, что технологическая база оформлена в ведущих мировых биоресурсных центрах, а соответствующие документы размещены на их интернет-сайтах. Поэтому основными целями НИР в рамках выполнения дополнительного госзадания в коллекции UNIQEM были разработка технологического паспорта для поддержания, развития и характеристики штаммов микроорганизмов, научно-техническое обоснование смет ключевых работ по коллекционной деятельности и экспериментальная проверка оформленных и утвержденных технологических процедур.

В рамках поддержки и развития биоресурсных коллекций в организациях подведомственных ФАНО РФ в 2017 г., нами были запланированы следующие работы:

1.Разработать технологический паспорт, включающий девять ключевых стандартных операционных процедур (СОП) с привлечением высококвалифицированных исследователей ФИЦ Биотехнологии РАН. Предназначение СОП должно было состоять в регламентации: поддержания штаммов в виде периодически пересеваемых культур; их подготовку к криоконсервации; проверку аутентичности; контроль и коррекцию нарушений качества единиц хранения; выделение штаммов микроорганизмов из разных экосистем; микроскопирование клеточных суспензий; электронно-микроскопические исследования; идентификацию штаммов молекулярно-генетическими методами.

2. Обосновать стоимость однократного выполнения каждой СОП и накладных расходов по алгоритмам и формам, разработанным финансовыми специалистами рабочей группы биоресурсных коллекций ФАНО.

3. Провести экспериментальную верификацию каждой СОП (на 20 – 50 штаммах или образцах) не только непосредственными разработчиками, но и другими специалистами.

4. Оформить результаты верификации в виде таблиц и 30 паспортов новых изолятов микроорганизмов, выделенных согласно соответствующей СОП.

5. Пополнить информацию о коллекции, имеющуюся на сайте базовой организации, сведениями о технологическом паспорте (описания СОП и результатов их верификации) и данными о недавно выделенных микроорганизмах.

6. Оформить для опубликования в журналах по списку Scopus и Web of Science результаты работ по развитию коллекций (за счет выделения представителей новых таксонов микроорганизмов).

По формулировке темы и существу планируемых работ дополнительное госзадание, подлежащее отчету, не перекрывается с госзаданиями в ФИЦ Биотехнологии РАН, хотя результаты его выполнения могут быть полезны для стандартизации определенных этапов выполнения других НИР. Осуществление НИР в рамках данного дополнительного государственного задания позволит~~ло~~ ~~бы~~ внести вклад в обеспечение единой для биоресурсных коллекций ФАНО системы координации их деятельности.

**3 Основная часть**

**3.1 Общая информация о коллекции**

3.1.1 Название коллекции: «Коллекция уникальных и экстремофильных микроорганизмов различных физиологических групп биотехнологического назначения (UNIQEM)»

3.1.2 Регистрационный номер биоресурсной коллекции в информационной системе «Парус» ФАНО России: EAU\_104\_00\_Y4213

3.1.3 Направление ФНИ

VI. Биологические науки.

55. Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов

3.1.4 Руководитель коллекции, поддерживающий коллекцию

Мулюкин Андрей Львович, в.н.с., д.б.н.

[andlm@mail.ru](mailto:andlm@mail.ru)

(499)1351229

(901)5020605

3.1.5 Назначение коллекции

Назначение коллекциисостоит в выделении непатогенных микроорганизмов из природных и антропогенных экосистем, установлении их таксономической принадлежности и физиолого-биохимических свойств, оценке биотехнологического потенциала, сохранении и поддержании штаммов в жизнеспособном состоянии, предоставлении штаммов и информации о них для научных, образовательных и производственных организаций.

3.1.6 Регистрация коллекции в перечне ЦКП/УНУ «Современная исследовательская инфраструктура Российской Федерации»: Есть

* + 1. Наименование, реестровый номер и адрес ЦКП/УНУ на сайте [http://www.ckp-rf.ru](http://www.ckp-rf.ru/)

## ЦКП «[Коллекция уникальных и экстремофильных микроорганизмов различных физиологических групп биотехнологического назначения (UNIQEM)](http://www.ckp-rf.ru/ckp/466895/)»

Реестровый номер: 466895

Адрес на сайте «Современная исследовательская инфраструктура Российской Федерации» — [http://ckp-rf.ru/ckp/466895](http://ckp-rf.ru/ckp/466895/).

* + 1. Дата образования коллекции

26.12.2016 как ЦКП

3.1.9 Отражение коллекционной деятельности в Уставе организации: Есть

Выдержки из Устава ФИЦ Биотехнологии РАН

*П.20 Целью и предметом деятельности Центра является получение фундаментальных знаний в области биохимии, микробиологии, биоинженерии…*

*П.21.1. Центр осуществляет основные виды деятельности:*

*21.1. Проведение фундаментальных, поисковых и прикладных научных исследований по следующим направлениям:*

*- биохимия;*

*- биоразнообразие, физиология и экология микроорганизмов;*

*…*

*21.13. Осуществление деятельности, связанной с использованием лабораторных животных, растений и микроорганизмов, в том числе микроорганизмов III-IV групп патогенности…*

* + - 1. Положение о коллекции, утвержденное на Ученом совете

Выписка из протокола №6 от 26 декабря 2016 г.

3*.*1.11 Адрес WEB-сайта организации, на котором представлена информация о коллекции

http://www.fbras.ru/services/ckp/tskp-kollektsiya-uniqem

**3.2 Краткая информация о проделанной работе в рамках дополнительного госзадания**

3.2.1 Текст Отчета представлен на:

а) WEB-сайте организации: *(указать ссылку)*

б) Информационном портале БРК *(указать адрес интернет-страницы, соответствующей данной коллекции)*

3.2.2 Содержание основных результатов работы по дополнительному госзаданию в соответствии с ПФНИ ГАН

Технологический паспорт UNIQEM» содержащий:

А) описание полного набора ключевых стандартных операционных процедур (СОП UNIQEM), обеспечивающих развитие и поддержание коллекционного фонда;

Б) Научно-техническое обоснование смет стандартных операционных процедур коллекции UNIQEM.

Технологический паспорт коллекции размещен на интернет-сайте коллекции UNIQEM.

Экспериментально верифицированы СОПы UNIQEM (и на этой основе охарактеризованы штаммы из коллекции), включая:

СОП UNIQEM по поддержанию штаммов микроорганизмов в живых культурах, верифицированный на 20 штаммах;

СОП UNIQEM о подготовке культур микроорганизмов к криоконсервации, верифицированный на 30 штаммах;

СОП UNIQEM по проверке аутентичности коллекционного фонда микроорганизмов, верифицированный на 20 штаммах;

СОП UNIQEM по контролю качества единиц хранения, верифицированный на 20 штаммах;

СОП UNIQEM по коррекции нарушений качества единиц хранения, верифицированный на 20 штаммах;

СОП UNIQEM по выделению штаммов микроорганизмов из разнообразных природных источников, в т.ч. экстремальных мест обитания, верифицированный на 30 штаммах;

СОП UNIQEM по микроскопированию культур и клеточных суспензий (в том числе, с применением флуоресцентных красителей), на примере 40 штаммов;

СОП UNIQEM по электронно-микроскопическому исследованию ультратонких срезов клеток микроорганизмов, на примере не менее 40 штаммов;

СОП UNIQEM по идентификации штаммов микроорганизмов методом секвенирования маркерных последовательностей, верифицированный на 50 штаммах.

Результаты верификации СОПов записаны в электронную базу UNIQEM.

Электронный каталог коллекции UNIQEM пополнен информацией о не менее 30 штаммах микроорганизмов, охарактеризованных согласно СОП UNIQEM.

Коллекция UNIQEM зарегистрирована на электронном ресурсе Сетевого центра Коллекций микроорганизмов ФАНО России.

Направление в печать не менее двух рукописей статей в рецензируемые журналы (Scopus, WoS), подготовленных на основе материалов коллекции, одна из которых принята в печать.

Календарный план работ по выполнению дополнительного государственного задания. Отчет о проделанной работе в рамках дополнительного государственного задания с его размещением на интернет-сайте коллекции UNIQEM с указанием ссылки на номер заключенного с ФАНО России соглашения на выполнение дополнительного государственного задания.

**3.3 Регистрация в государственных информационных системах и финансирование**

3.3.1 Регистрационный номер дополнительного госзадания по БРК в информационной системе «Парус» ФАНО России

0104-2017-0001

3.3.2 Регистрационный номер дополнительного госзадания по БРК в информационной системе ЦИТИС

АААА-А17-117111450028-7

3.3.3 Отчет по дополнительному госзаданию *(указать регистрационный номер в системе Парус)* подготовлен и загружен в систему Парус *(указать дату загрузки)*

Предоставляется после подачи отчета

3.3.4 Отчет по дополнительному госзаданию *(указать регистрационный номер в системе ЦИТИС)* подготовлен и загружен в систему ЦИТИС *(указать дату загрузки с систему ЦИТИС)*

Предоставляется после подачи отчета

3.3.5 Объём финансирования (тыс. руб.), выделенного на выполнение ДГЗ из средств ФАНО России в 2017 году *(указать документ и его источник)*

4999,7 (Соглашение № 007-ГЗ/У4213/104 от 02.11.2017)

3.3.6 Объём финансирования (тыс. руб.), выделенного на приобретение крупного оборудования из средств ФАНО России в 2017 г. (свыше 500 000 руб.) *(указать документ и его источник)*

6000,0 (Соглашение № 03-02/У4213/104 от 13.09).

**3.4 Результаты, полученные в рамках дополнительного госзадания**

3.4.1. Технологический паспорт Коллекции UNIQEM» содержащий:

А) описание полного набора ключевых стандартных операционных процедур (СОП), обеспечивающих развитие и поддержание коллекционного фонда UNIQEM

Описан полный набор из девяти ключевых стандартных операционных процедур для коллекции UNIQEM:

СОП по поддержанию штаммов микроорганизмов в живых культурах;

СОП по подготовке культур микроорганизмов к криоконсервации;

СОП по проверке аутентичности коллекционного фонда микроорганизмов;

СОП по контролю качества единиц хранения;

СОП по коррекции нарушений качества единиц хранения;

СОП по выделению штаммов микроорганизмов из разнообразных природных источников, в т.ч. экстремальных мест обитания;

СОП по микроскопированию культур и клеточных суспензий (в том числе, с применением флуоресцентных красителей);

СОП по электронно-микроскопическому исследованию ультратонких срезов клеток микроорганизмов;

СОП по идентификации штаммов микроорганизмов методом секвенирования маркерных последовательностей.

Описания СОП (далее, СОПы как документы) были разработаны высококвалифицированными специалистами из разных структурных подразделений ФИЦ Биотехнологии РАН, согласованы с руководителем ЦКП «Коллекция UNIQEM» и утверждены директором ФИЦ. Описания СОП приведены в Приложении Б. Все СОПы были предоставлены в Рабочую группу биоресурсных коллекций ФАНО.

Б) Научно-техническое обоснование смет стандартных операционных процедур коллекции UNIQEM.

Научно-техническое обоснование смет СОП и накладных расходов для ЦКП «Коллекция UNIQEM» было разработано в соответствии с методическими рекомендациями и унифицированными таблицами и алгоритмами, разработанными финансовыми специалистами и предоставленными Рабочей группой биоресурсных коллекций ФАНО. Научно-техническое обоснование учитывало: частоту применения конкретной СОП для одной единицы хранения в течение 1 года; перечень и квалификацию персонала, затраты времени на ее выполнение; заработную плату; материальные и иные затраты; время и стоимость полезного использования задействованного оборудования. Суммарные затраты на однократное выполнение СОП были выведены автоматически при заполнении пунктов в таблицах. Пакет из девяти обоснований смет СОП и отдельного обоснования накладных расходов, не предусмотренных сметами СОП, был предоставлен в Рабочую группу.

3.4.2. Размещение технологического паспорта на интернет-сайте

Технологический паспорт был размещен на сайте ЦКП «Коллекция UNIQEM» <http://www.fbras.ru/services/ckp/tskp-kollektsiya-uniqem> под соответствующей вкладкой и оформлен в виде таблицы с перечнем разработанных СОП с выходом на pdf-файл документов и итоговой информацией о стоимости выполнения каждой СОП. В соответствии с решением, принятым на совещании по биоресурсным коллекциям (16-17 сентября 2017 г., Институт биологии развития РАН, Москва), полное научно-техническое обоснование смет СОП не подлежало размещению в открытом доступе.

3.4.3. Экспериментальная верифицикация СОП UNIQEM (и на этой основе характеристика штаммов из коллекции) была проведена на 20 – 50 штаммах (образцах из штаммов). В экспериментальной верификации ряда ключевых СОП приняли участие не только разработчики, но и другие специалисты структурных подразделений ФИЦ Биотехнологии РАН.

3.4.3.1. СОП по поддержанию штаммов микроорганизмов в живых культурах была верифицирована на 26 штаммах (запланировано 20). Описание СОП было практически полностью одобрено исполнителями верификации; предложения к формулировкам касались, главным образом, уточнения использования прокладок из стерильной фольги для пробок, а также применения меньшей частоты пересевов (чем обозначено в СОП). В целом, эта СОП является ключевой для работы с самыми разнообразными штаммами микроорганизмов, не предусматривает всех детали и нюансы, но оговаривает возможность разработки на ее основе частных детальных СОП для узких групп микроорганизмов.

3.4.3.2. СОП по подготовке культур микроорганизмов к криоконсервации была верифицирована на 37 штаммах (запланировано 20). Описание СОП было полностью одобрено исполнителями верификации; предложения к формулировкам касались уточнения температуры хранения и возможности использования иных приспособлений для отбора биомассы. Эта СОП регламентирует подготовку к криоконсервации, а не сам режим хранения, для которого оговариваются особые условия.

3.4.3.3. СОП по проверке аутентичности коллекционного фонда микрорганизмов была верифицирована на 23 штаммах (запланировано 20). Описание СОП было полностью одобрено исполнителями верификации; предложения касались уточнения процедур молекулярно-генетического анализа. Необходимости в этом нет, поскольку разработано описание СОП по идентификации штаммов микроорганизмов методом секвенирования маркерных последовательностей, которым следует руководствоваться в большинстве случаев. Следует иметь в виду, что могут применяться особые методы молекулярной диагностики (например, полногеномное секвенирование), которые могут быть базовыми в недалеком будущем.

3.4.3.4. СОП по контролю качества единиц хранения была верифицирована на 25 объектах (запланировано 20). Описание СОП было полностью принято исполнителями верификации; предложения к формулировкам относились к указанию числа дубликатов единиц хранения (а оно может варьировать) и некоторых уточнений особенностей роста специализированной группы микроорганизмов. В случае выявления проблем эта СОП регламентирует необходимость применения специально разработанной СОП (подраздел. 3.4.3.5).

3.4.3.5. СОП по коррекции нарушений качества единиц хранения была верифицирована на 21 объекте (запланировано 20). В протоколе верификации обозначена причина применения этой СОП по результатам работ по предыдущей СОП. Указаны способы и результаты коррекции: от чисто технических (замены емкостей) до исследовательских (подбор и использование специальных сред). Замечаний к формулировкам не возникло. Эта СОП должна применяться по мере необходимости и регулирует в ряде случаев исследовательскую, а не техническую работу, что следует учесть при планировании дальнейших исследований по коллекционной деятельности.

3.4.3.6. СОП по выделению штаммов микроорганизмов из разнообразных природных источников, в т.ч. экстремальных мест обитания прошла верификацию на 32 недавно выделенных штаммах микроорганизмов (запланировано 30). Источниками выделения штаммов были самые разнообразные природные объекты – от холодных до высокотемпературных экосистем, соленых мест обитания, антропогенных систем различной географии, генезиса и локализации. Недавно выделенные штаммы были охарактеризованы с разной степенью детализации, в том числе, в соответствии с СОПами по идентификации молекулярными методами и по микроскопии. Информация об этих штаммах оформлена в виде отдельных паспортов, которые подлежат размещению в отдельном разделе страницы ЦКП Коллекция UNIQEM, но пока не в общем каталоге паспортов. Объем фактически выполненной работы был больше (всего 42 штамма), а паспорта некоторых из них подходят для размещения в общем каталоге. Описание СОП было полностью одобрено исполнителями верификации; предложения к формулировкам касались пожелания расширить перечень источников выделения штаммов. Особенностью этой СОП является то, что она регламентирует научно-исследовательскую, а не техническую работу.

3.4.3.7. СОП по микроскопированию культур и клеточных суспензий (в том числе, с применением флуоресцентных красителей) была верифицирована на 45 образцах культур микроорганизмов или природных объектов с клетками (по плану 40). Замечаний к формулировкам не возникло. Техническое описание СОП подходит и для ранних этапов изучения природных объектов, в том числе, с целью выделения или выявления целевых микроорганизмов. Эта СОП может быть основой для разработки описания процедур, предназначенных для других НИР с привлечением световой и эпифлуоресцентной микроскопии и не относящихся прямо к коллекционной работе.

3.4.3.8. СОП по электронно-микроскопическому исследованию ультратонких срезов клеток микроорганизмов прошла верификацию на 45 образцах (по плану 40). Замечаний к формулировкам не возникло. В ходе непосредственных работ по этой СОП отмечена необходимость дополнительной перерезки срезов и, следовательно, просмотров полученных препаратов. Такую возможность следует учесть при планировании частоты применения СОП с поправочным коэффициентом 1.2 – 1.3. Эта СОП подходит и для других задач, не связанных с характеристикой штаммов коллекции.

3.4.3.9. СОП по идентификации штаммов микроорганизмов методом секвенирования маркерных последовательностей была верифицирована на 50 штаммах (по плану 50). Замечаний к формулировкам описания не возникло. В ходе работ были выявлены проблемы по идентификации штаммов (наличие нескольких ДНК-матриц), которые обозначены в п. 7 описания СОП. Важным является регламентирование порядка действий в случае выявления трудностей, которые могут возникать при непосредственной экспериментальной работе.

3.4.4. Результаты верификации в виде таблиц были размещены на сайте ЦКП «Коллекция UNIQEM» <http://www.fbras.ru/services/ckp/tskp-kollektsiya-uniqem> под вкладкой «Технологический паспорт» в соответствующем каждой СОП порядке.

3.4.5. Информация о штаммах, выделенных и охарактеризованных по СОПам, оформлена в виде паспортов. Паспорта (32 шт.) размещены на сайте ЦКП «Коллекция UNIQEM» <http://www.fbras.ru/services/ckp/tskp-kollektsiya-uniqem> под отдельным разделом «Паспорта недавно выделенных штаммов».

3.4.6. Подготовлены рукописи и опубликованы статьи:

1) [Kulichevskaya IS](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kulichevskaya%20IS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024), [Ivanova AA](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Ivanova%20AA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024), [Detkova EN](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Detkova%20EN%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024), [Rijpstra WIC](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Rijpstra%20WIC%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024), [Sinninghe Damsté JS](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Sinninghe%20Damst%C3%A9%20JS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024), [Dedysh SN](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Dedysh%20SN%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024). Tundrisphaera lichenicola gen. nov., sp. nov., a psychrotolerant representative of the family Isosphaeraceae from lichen-dominated tundra soils. [Int J Syst Evol Microbiol.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Tundrisphaera) 2017;67:3583–3589 (doi: 10.1099/ijsem.0.002172). Вышла.

2) Boltyanskaya Y., Detkova E., Pimenov N., Kevbrin V. Proteinivorax hydrogeniformans sp. nov., an anaerobic, haloalkaliphilic bacterium fermenting proteinaceous compounds with high hydrogen production. Ant van Leeuwenhoek (in press). В печати. doi: 10.1007/s10482-017-0949-9.

3) Рукопись статьи: С. Н. Филиппова, Н. А. Сургучева, Т. В. Колганова, М. Ю. Чербунина, А. В Брушков, А. Л. Мулюкин, В. Ф. Гальченко. Выделение и идентификация бактерий из образцов жильного льда ледового комплекса Мамонтовой горы (Центральная Якутия). Подготовлена и направлена в журнал Известия АН. Сер. Биол.

3.4.7. Подготовлен материал для регистрации коллекции на электронном ресурсе Сетевого центра коллекций ФАНО. Коллекция зарегистрирована на сайте http://www.biores.cytogen.ru/fb\_ras\_mic

3.4.8. К началу выполнения работ был подготовлен календарный план. Полный заключительного отчета по ГОСТ предоставлен в РК БРК и руководителю направления. Отчет о проделанной работе в рамках дополнительного государственного задания подлежит размещению на сайте ЦКП «Коллекция UNIQEM» <http://www.fbras.ru/services/ckp/tskp-kollektsiya-uniqem> в разделе «Отчеты». Сроки размещения отчета на сайте, а также регистрации в ЦИТИС и ПАРУС будут определены позднее после проверки экспертами по соответствующему направлению.

3.4.9 В соответствии с отдельным запросом из РК по БРК ФАНО России был подготовлен и предоставлен пакет предложений по проработке вопросов нормативно-правового обеспечения деятельности коллекций. В плане НИР эта работа заявлена не была.

**4** **Заключение**

В ходе проведенных НИР разработан технологический паспорт, включающий девять ключевых описаний стандартных операционных процедур (в виде документов СОП) и научно-техническое обоснование сметы стоимости их однократного выполнения (в виде табличных данных). Разработанные описания СОП важны для координации и упорядочивания деятельности коллекции уникальных и экстремофильных микроорганизмов различных физиологических групп биотехнологического назначения (далее - коллекция UNIQEM), имеющей статус Центра коллективного пользования (ЦКП).

Итоговая информация по основным статьям расходов при выполнении СОП, полученная по результатам научно-технического обоснования смет, обеспечивает планирование объема работ при дальнейшей поддержке финансирования коллекционной деятельности. Наличие технологического паспорта повышает статус коллекции микроорганизмов UNIQEM как ЦКП.

Описания ключевых СОП регламентируют как техническую, так и научно-исследовательскую деятельность и могут послужить базой для разработки частных нормативных документов и инструкций для узконаправленных работ по коллекционной деятельности и специализированных групп микроорганизмов. Разработанные СОП могут быть полезными для разработки (при необходимости) аналогичных документов для координации деятельности по другим НИР, не связанным с коллекционной работой.

В технологический паспорт вошли также описания СОП, отражающих специфику ЦКП «Коллекция UNIQEM»: выделение разнообразных штаммов прокариот (бактерий и архей) из природных источников, в том числе, экстремальных мест обитания; широкомасштабное проведение молекулярно-генетической идентификации (на базе сотрудничающего с коллекцией ЦКП «Биоинженерия»); проведение электронно-микроскопических исследований высокотехнологичными методами технологического паспорта ЦКП «Коллекция UNIQEM» или его составные части могут быть полезны для других коллекций микроорганизмов. СОПы прошли экспериментальную верификацию и показали хорошую применимость в практической работе; некоторые уточнения (в основном, непринципиального характера) могут быть учтены в будущем.

Размещение информации о технологическом паспорте на странице коллекции на сайте базовой организации ФИЦ Биотехнологии РАН <http://www.fbras.ru/services/ckp/tskp-kollektsiya-uniqem> полезно для внешних пользователей.

Пополнение электронного ресурса ЦКП «Коллекция UNIQEM» информацией о недавно выделенных штаммах микроорганизмов, а также публикация 2 статей в иностранных журналах и подготовка рукописи для отечественного журнала (со ссылками на финансирование по госзаданию) отражает высокую квалификацию персонала и динамичность развития коллекции.

Запланированные работы были полностью выполнены, а по ряду позиций – перевыполнены.Результаты проведенной НИР представляют значение для разработки нормативно-технической документации для Сетевого центра коллекций микроорганизмов ФАНО России.

**5 Библиографический список публикаций, полученных в результате выполнения научно-исследовательской работы**

По результатам работы опубликована статья со ссылкой на финансирование по теме проекта:

1 [Kulichevskaya I.S](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kulichevskaya%20IS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024)., [Ivanova A.A](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Ivanova%20AA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024)., [Detkova E.N](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Detkova%20EN%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024)., [Rijpstra W.I.C](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Rijpstra%20WIC%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024)., [Sinninghe Damsté J.S](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Sinninghe%20Damst%C3%A9%20JS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024)., [Dedysh S.N](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Dedysh%20SN%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024). Tundrisphaera lichenicola gen. nov., sp. nov., a psychrotolerant representative of the family Isosphaeraceae from lichen-dominated tundra soils // [International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Tundrisphaera) 2017. Т.67. С. 3583-3589.

По результатам работы принята (и находится в доступе) статья со ссылкой на финансирование по теме проекта:

1 Boltyanskaya Y., Detkova E., Pimenov N., Kevbrin V. *Proteinivorax hydrogeniformans* sp. nov., an anaerobic, haloalkaliphilic bacterium fermenting proteinaceous compounds with high hydrogen production. Ant van Leeuwenhoek (in press): 10.1007/s10482-017-0949-9.

По результатам работы подготовлена рукопись статьи со ссылкой на финансирование по теме проекта:

1 Филиппова С. Н., Сургучева Н. А., Колганова Т. В., Чербунина М. Ю., Брушков А. В, Мулюкин А. Л., Гальченко В. Ф. Выделение и идентификация бактерий из образцов жильного льда ледового комплекса Мамонтовой горы (Центральная Якутия) // Подготовлена и направлена в журнал Известия АН. Сер. биол.

Копии страниц публикаций и подтвержения предоставления рукописи приведены в Прилоожении Г.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

ОПИСАНИЯ СТАНДАРТНЫХ ОПЕРАЦИОННЫХ ПРОЦЕДУР (СОП)

А.1 СОП по поддержанию штаммов микроорганизмов в живых культурах

##### **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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017

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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 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-kollektsiya-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.

1. Культуры бактерий и архей выращивают до образования хорошо различимых колоний (на плотных средах, в том числе, селективных) или достижения стационарной фазы (в жидких культурах).
2. 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 N2, или N2/CO2, или CO2, или H2/CO2 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/CO2 или аргон).

1. 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.
2. Штаммы культур, нуждающиеся в определённом составе газовой фазы (метанотрофы), поддерживают в виде клеточных суспензий в герметично закрытых флаконах с объемом жидкой среды 1/5 объёма флакона с добавлением в газовую фазу метана.
3. Пробирки с культурами бактерий и архей, выросших на(в) плотных или жидких средах, хранят в холодильных установках при 4 ºС или иных, подходящих для данного штамма температуре и освещенности. В частности, культуры термофилов лучше хранить при комнатной температуре, культуры галоархей - при температурах не ниже 10оС (для предотвращения выпадения солей), культуры фототрофов - в холодильнике с освещением.
4. 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.
5. 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 ºС). Допустимо выдерживать чашки с открытой крышкой на 3 мин после разлива среды в ламинарном боксе.
6. 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.
7. Эффективность сохранения штамма, поддерживаемого периодическими пересевами, оценивают по способности к возобновлению роста после инокулирования на плотной или жидкой среде и сохранению ключевых фенотипических признаков.
8. Поддержание некоторых групп микроорганизмов может осуществляться в соответствии со специально разработанными и утвержденными Стандартными операционными процедурами.
9. Оценку качества единиц хранения проводят в соответствии со «Стандартной операционной процедурой контроля качества единиц хранения», разработанной для ЦКП «Коллекция UNIQEM».
10. В случае неудовлетворительной сохранности жизнеспособных клеток руководствуются «Стандартной операционной процедурой по коррекции нарушений качества единиц хранения», разработанной для ЦКП «Коллекция UNIQEM».

А.2 СОП по подготовке культур микроорганизмов к криоконсервации

**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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017

СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПО ПОДГОТОВКЕ КУЛЬТУР МИКРООРГАНИЗМОВ К КРИОКОНСЕРВАЦИИ 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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 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 |

Подготовку культур микроорганизмов коллекции UNIQEM к криоконсервации производят в соответствии со следующими процедурами.

1. Проверку культур микроорганизмов перед подготовкой к криоконсервации на аутентичность осуществляют согласно требованиям «Стандартной операционной процедуры по проверке аутентичности поддерживаемого фонда микроорганизмов», разработанной для ЦКП «Коллекция UNIQEM».
2. Выбор способа, условий и среды для криоконсервации осуществляют:

* для штаммов в каталоге коллекции UNIQEM – по данным в Паспортах, размещенных на сайте коллекции <http://www.fbras.ru/services/ckp/tskp-kollektsiya-uniqem>;
* для культур, предоставляемых на хранение/депонирование – по информации депозиторов, которая заносится в Паспорта;
* для новых изолятов – по данным авторов, выделивших штамм; по литературным данным или по имеющемуся опыту успешной консервации и эффективного хранения для других близкородственных микроорганизмов.

1. Выращивание культур микроорганизмов осуществляют в соответствии со «Стандартной операционной процедурой по поддержанию штамма микроорганизма в живых культурах», разработанной для ЦКП «Коллекция UNIQEM».

4. Подготовка емкостей для криоконсервации

4.1. Для криоконсервации используют стерилизованные пробирки или флаконы объемом 2 – 2.2 мл (пластиковые с крышками или пробками – для аэробов, стеклянные с металлической винтовой крышкой и резиновой прокладкой – для анаэробов) .

4.2. Стеклянные емкости с крышками (с или без добавления криопротекторной смеси) стерилизуют автоклавированием (1 атм, 30 мин); пластиковые пробирки стерилизуют таким образом при наличии гарантии производителя об устойчивости к этому режиму термообработки.

4.3. Стерилизованные пластиковые пробирки или стеклянные флаконы **(**не менее 2-3 для каждой культуры) маркируют с указанием номера культуры и даты криоконсервации (месяц, год).

5. Подготовка криопротекторов

5.1. В зависимости от конкретного микроорганизма используют: либо 10% диметилсульфоксид (ДМСО), либо 15% глицерин (для некоторых штаммов), либо смесь 10% ДМСО с 15% глицерином. Не следует использовать глицерин для автотрофных микроорганизмов. Для криоконсервации вторичных анаэробов, сверхчувствительных к окислительному стрессу, рекомендовано добавление твердого носителя.

5.2. Криопротекторные растворы (смеси) разливают в стеклянные флаконы или пластиковые пробирки и стерилизуют в автоклаве при 1 атм, 30 мин.

6. Подготовка биомассы бактерий и архей

6.1. С поверхностных культур, выращенных на плотной среде в подходящих условиях, производят смыв раствором выбранного криопротектора (5 мл с культур в чашках Петри, 2 – 5 мл с культур на плотной среде в пробирках). Смытый материал (в виде суспензий) переносят в заранее подготовленные стерильные емкости. Все манипуляции (внесение раствора криопротектора, смыв, перенос с пробирки) осуществляют с соблюдением стерильных условий.

6.2. Жидкие культуры добавляют в емкость, простерилизованную с необходимым количеством криопротектора и перемешивают.

6.3. При наличии у данного микроорганизма покоящихся форм (спор, цист и др.) следует применять условия культивирования, способствующие максимально большему их выходу в поверхностных или жидких культурах.

7. Суспензию микроорганизмов с протектором разливают в необходимом объеме (от 0.5 мл – до полного объема емкости), закрывают крышками с соблюдением стерильных условий и сразу замораживают.

8. Предварительную оценку эффективности сохранения штамма проводят по численности жизнеспособных клеток до консервации, сразу после консервации и через 1 мес хранения. Количество жизнеспособных клеток определяют посевом на чашки с плотными средами с последующим подсчётом колоний или методом предельных разведений в жидкой среде.

9. Культуры, в которых через 1 мес хранения в криоконсервированном виде численность жизнеспособность клеток составляет тот же порядок, что и до замораживания, и которые сохранили ключевые фенотипические признаки, обозначенные в Паспорте штамма, закладывают на длительное хранение.

11. Культуры штаммов, которые не выдерживают криоконсервации (1 мес хранения) после подготовки в выбранных условиях (с низкой численностью жизнеспособных клеток и/или с утраченными ключевыми признаками), поддерживают путем периодических пересевов. Для этих штаммов подбирают другие условия консервации в соответствии с рекомендациями депозитора или литературными источниками.

12. Эффективность длительного (1 год и далее) хранения штамма в криоконсервированном виде оценивают в соответствии со «Стандартной операционной процедурой контроля качества единиц хранения», разработанной для ЦКП «Коллекция UNIQEM».

13. Подготовка некоторых групп микроорганизмов к криоконсервированию может осуществляться в соответствии со специально разработанными и утвержденными Стандартными операционными процедурами.

14. В случае неудовлетворительной сохранности жизнеспособности клеток и ключевых признаков штамма в условиях криоконсервации руководствуются «Стандартной операционной процедурой по коррекции нарушений качества единиц хранения», разработанной для ЦКП «Коллекция UNIQEM».

А.3 СОП по проверке аутентичности коллекционного фонда микроорганизмов;

**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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017

СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПО ПРОВЕРКЕ АУТЕНТИЧНОСТИ КОЛЛЕКЦИОННОГО ФОНДА МИКРООРГАНИЗМОВ 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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 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 |

Проверку аутентичности штаммов (единиц хранения) коллекционного фонда микроорганизмов проводят по следующим процедурам.

1. Штамм (единица хранения) подлежит проверке на аутентичность при:

* введении в коллекционный фонд;
* подготовке к криоконсервации или хранению в лиофильно-высушенном состоянии;
* неполноте сведений о таксономической принадлежности штамма и его характеристиках;
* коррекции качества единиц хранения, особенно в случае восстановления из минимально поврежденной емкости хранения;
* длительном поддержании/хранении, особенно для культур, описанных только по фенотипическим характеристикам;
* достоверной и стабильной утрате какого-либо ключевого признака при пересевах или длительном хранении;
* варьировании колониально-морфологических признаков (возможном проявлении фенотипической вариабельности);
* при подозрении на загрязнение после оживления из глубокой заморозки.

1. Проверку на аутентичность штамма (единицы хранения) осуществляют по:

* наличию характерной морфологии колоний, выросших после засева питательной среды, оптимальной для роста данного штамма, и инкубации в подходящих условиях; наличие колоний иного типа часто, но не всегда, является признаком смешанной культуры;
* отсутствию посторонней микрофлоры (например, спор в культурах неспорообразующих бактерий и архей, грам-отрицательных палочек в суспензиях спор и т.д.), выявляемому при микроскопировании самих единиц хранения штамма и выросших из них культур.
* соответствию ключевых фенотипических признаков указанным в Паспорте штамма.

1. Проверку аутентичности на уровне рода осуществляют молекулярно-генетическими методами с анализом последовательности амплифицированного гена 16S рРНК и ее сопоставлением с задепонированной в базе данных GenBank или приведенной в Паспорте (в случае отсутствия в GenBank) последовательностью. Для проверки аутентичности используют дополнительные методы: ДНК-ДНК гибридизацию, риботипирование (рестрикционные фрагменты рРНК оперон), протеомный анализ с использованием MALDI-TOF.

1. Заключение об аутентичности делают на основании соответствия выявленных в тестах характеристик свойствам, приведенным:

* для штаммов в каталоге коллекции UNIQEM – в паспортах, размещенных на сайте коллекции <http://www.fbras.ru/services/ckp/tskp-kollektsiya-uniqem> и соответствующих публикациях;
* для культур, предоставляемых на хранение/депонирование – в документации от депозиторов, которая заносится в Паспорта;

1. В случае отсутствия аутентичности штамма, поддерживаемого пересевами или хранящегося в виде консервированных образцов, исходному штамму он подлежит изъятию из каталожного фонда коллекции UNIQEM.

А.4 СОП по контролю качества единиц хранения

**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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017

СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЕДИНИЦ ХРАНЕНИЯ 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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 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 |
| Хижняк Т.В., д.б.н., и.о. зав. лаб.  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 |

Контроль качества единиц хранения микроорганизмов в виде периодически пересеваемых живых культур или консервированных культур микроорганизмов коллекции UNIQEM осуществляют по следующим процедурам.

1. Емкости с периодически пересеваемыми или консервированными культурами микроорганизмов с повреждениями, трещинами, с неплотно закупоренными пробками, большим количеством конденсата, высохшей жидкой или плотной средой (за исключением лиофильно высушенных культур) подлежат замене на качественный образец.
2. Замену единицы хранения штамма осуществляют путем выращивания культур с использованием в качестве инокулята образцов из неповрежденных дубликатов единиц хранения.
3. Сохранение жизнеспособности штамма оценивают по способности к возобновлению роста на плотной среде - для культур на скошенной плотной среде, или по численности колониеобразующих единиц (КОЕ) или жизнеспособных клеток (по методу предельных разведений) - для жидких культур и суспензий;
4. Сохранение жизнеспособности штаммом, заложенным на длительное хранение в криоконсервированном виде, определяют с периодичностью 1 раз в год в течение 3 лет, а далее – 1 раз в течение 3 лет.
5. Сохранение ключевых фенотипических признаков проверяют путем сопоставления характеристик, указанных в Паспорте, с характеристиками, выявленными при оценке жизнеспособности единицы хранения.
6. Неизменными должны быть следующие ключевые фенотипические признаки:

* морфология колоний (в случае проявления фенотипической диссоциации с изменением свойств необходимо доказывать аутентичность);
* морфология клеток;
* физиологические характеристики (рост в определенных условиях, устойчивость, диапазоны и оптимумы роста);

А.5 СОП по коррекции нарушений качества единиц хранения

**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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017

СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПО КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ КАЧЕСТВА ЕДИНИЦ ХРАНЕНИЯ 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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 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 |
| Хижняк Т.В., д.б.н., и.о. зав. лаб.  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 |

Коррекцию нарушений качества единиц хранения в коллекции UNIQEM осуществляют по следующим процедурам.

1. Основанием выбора единиц хранения, подлежащих замене, является их несоответствие одному из нижеперечисленных требований:

* полной сохранности емкости хранения и находящегося внутри нее материала;
* удовлетворительной сохранности жизнеспособности;
* сохранности всех ключевых фенотипических признаков;

1. В случае выявления единиц хранения с нарушенной сохранностью емкости и находящегося материала осуществляют:

* выбор дубликатов единиц хранения того же штамма, у которых полностью сохранена емкость и материал;
* стерильный отбор инокулята из неповрежденных единиц хранения;
* выращивание, поддержание и подготовку культуры к хранению в соответствии с разработанными Стандартными операционными процедурами;
* восстановление не менее того же числа единиц хранения (3 – 5);

1. Коррекция нарушений эффективности сохранения жизнеспособности включает следующие процедуры.

3.1. Выявление оптимального (из имеющихся) способа дальнейшего поддержания/ хранения штамма.

3.2. В случае неудовлетворительной сохранности жизнеспособности штаммом, не зависящей от применяемого способа поддержания/хранения проводят:

* подбор индивидуальных условий для восстановления способности к росту по литературным данным, имеющемуся опыту восстановления этого или близкородственного микроорганизма, рекомендациям депозиторов и ответственных за поддержание штамма;
* общие рекомендации к восстановлению ростовой активности штамма:

– отмывка клеток от жидкой среды и ресуспендирование в новой среде перед посевом;

– пересев на разбавленные плотные и жидкие среды;

– посев в полужидкий агар;

– инкубация высушенного материала в водных растворах в присутствии добавок;

– добавление аминокислот, сахаров, антиоксидантов в отмытые клеточные суспензии и/или питательные плотные и жидкие среды;

– иные подходы, известные в зарубежной литературе как resuscitation.

* сведения о необходимости применения специальных процедур и самих процедурах восстановления ростовой активности штамма (единицы хранения) обязательно заносят в Паспорт штамма.

1. Коррекция нарушений эффективности сохранения ключевых признаков штамма (единицы хранения) включает следующие процедуры:

* проверку дубликатов единиц хранения на наличие всех ключевых признаков путем посевов на соответствующие среды;
* в случае утраты ключевого признака независимо от формы поддержания/хранения штамма – осуществляют подбор индивидуальных условий для восстановления признака, исходя из литературных данных, имеющегося опыта для этого или близкородственного микроорганизма, рекомендаций депозиторов и ответственных за поддержание штамма;
* применение специальных подходов к восстановлению ключевых признаков штамма, которые являются индивидуальными и могут включать:

– посев на специальные среды или инкубацию в условиях, способствующих проявлению этого признака;

– модификацию питательных сред (например, для повышения выхода спор);

– создание селективных условий роста и развития микробных культур;

* сведения о возможности утраты определенного признака и возможности его восстановления обязательно заносят в Паспорт штамма.

1. В случае невозможности коррекции нарушений качества штамма, утратившего жизнеспособность, он подлежит изъятию из каталожного фонда коллекции UNIQEM.
2. В случае необратимой утраты какого-либо ключевого признака, но сохранении остальных важных свойств обязательно осуществляют исключение/корректировку соответствующего описания в Паспорте штамма.

А.6 СОП по выделению штаммов микроорганизмов из разнообразных природных источников, в т.ч. экстремальных мест обитания

##### **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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017

СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПО ВЫДЕЛЕНИЮ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ РАЗНЫХ ПРИРОДНЫХ ИСТОЧНИКОВ, В Т.Ч. ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ МЕСТ ОБИТАНИЙ

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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017

**МОСКВА 2017**

Разработано

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ФИО, степень, должность | Подпись | Подразделение |
| Кочетова Т.В., к.б.н., н.с.  Фролова А.А., аспирант, м.н.с. |  | Отдел биологии экстремофилов |
| Кравченко И.К., 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 |
| Бабич Т.Л., 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. |  | Лаборатория реликтовых микробных сообществ |
| Паршина С.Н., к.б.н.. с.н.с. |  | Лаборатория микробиологии антропогенных мест обитания |

Выделение штаммов микроорганизмов (изолятов) из природных источников, в т.ч. экстремальных мест обитания, осуществляют в соответствии со следующими процедурами.

1. Источниками для выделения микроорганизмов являются образцы:

* почв;
* водных экосистем различной глубины (в том числе, гидротермальных источников и рассолов);
* грунтов;
* минеральных отложений и руд;
* торфа и растительных остатков;
* донных отложений, прибрежного и придонного ила,обрастаний, микробных матов;
* антропогенных систем очистных сооружений, нефтяных скважин, подземных газовых хранилищ, полигонов твердо-бытовых отходов;
* других экосистем.

1. Образцы отбирают с соблюдением техники асептического отбора проб в стерильные емкости с плотно привинчивающимися крышками для исключения контаминации посторонней микрофлорой. Доставка и последующее хранение отобранных образцов должны обеспечивать сохранность микроорганизмов в условиях, максимально приближенных к природным. Данная СОП не регламентирует технику стерильного отбора проб, форму их доставки и условия хранения перед выделением штаммов микроорганизмов.
2. Первая стадия выделения штаммов включает получение накопительных культур в жидких средах после их засева навесками или аликвотами природныхобразцов и/или посев суспензий образцов на агаризованные плотные среды подходящего состава. В некоторых случаях посевы осуществляют только после первичного тестирования активности специфических процессов в исходных пробах как индикатора наличия определенных физиологических групп прокариот.
3. Засеянные жидкие или плотные среды инкубируют в селективных условиях, обеспечивающих преимущественное развитие целевых микроорганизмов - при определенных температурах, рН, солености,составе газовой атмосферы, освещенности, временных сроках и т.д.
4. Подбор состава питательных сред и селективных условий культивирования для получения жидких накопительных культур и/или первичных посевов на плотных питательных средах осуществляют с учетом особенностей пищевых потребностей иприродных условий обитания целевых микроорганизмов:
5. Особенности питательных сред для:

* гетеротрофных микроорганизмов: полноценные или разбавленные жидкие и плотные питательные среды с определенным органическим субстратом и комплексом минеральных веществ, специфичными для целевой группы.
* хемогетеротрофов: синтетические среды, содержащие специфический неорганический терминальный окислитель (нитрат, сульфат, карбонат) и органический источник углерода.
* хемолитотрофных микроорганизмов: минеральные среды (без органического вещества) с добавкой неорганического донора и акцептора электронов, специфичных для целевой группы, например, СН4, Н2, NH4+, H2S, Fe(II), СО, окисленные соединения серы, Fe(III), NO3- и др.).
* фототрофных микроорганизмов: среды, аналогичные средам для гетеротрофных или литотрофных прокариот, но инкубируемые на свету различного спектра.
* олиготрофных микроорганизмов: среды с низким (менее 1 мМ) содержанием органического углерода или иного субстрата.
* метано- и метилотрофных прокариот: среды с использованием С1- соединений в качестве единственного источника углерода.
* анаэробных прокариот: наличие в составе питательных сред восстановителя/антиоксиданта (Na2S, дитионита, цистеина и др.).

1. Основные требования к солености и рН сред для выделения:

* галофильных микроорганизмов: содержание и состав солей должен соответствовать таковому исходных пробах.
* алкалофильных микроорганизмов: щелочные значения рН задают комбинацией щелочных буферов с общим содержанием солей, соответствующих местообитанию (главным образом,боратов/Ca(OH)2 для несоленых щелочных источников, либо карбонатов натрия для содовых озер).
* ацидофильных микроорганизмов: нужное значение рН задают либо увеличением содержания СО2 в газовой фазе для умеренных ацидофилов (рН 4-6), либо добавкой минеральных кислот для экстремальных ацидофилов (рН<4)

1. Рекомендуемые диапазоны температур (с допущением вариаций) для выделения:

* психрофильных микроорганизмов: 1 -10 ºС
* психротолерантных: 10-20ºС,
* мезофильных: 20 - 40ºС
* термофильных (в том числе, умеренно-термофильных): 40ºС - 80ºС
* гипертермофильных: ≥ 80ºС

1. Основные требования к составу газовой фазы для выделения:

* аэробов: наличие кислорода (5-20%) при использовании воздуха или искусственной газовой смеси;
* анаэробов: отсутствие кислорода за счет замены воздуха на N2, или N2/CO2, или CO2, или Ar, или H2/CO2 и др. (в зависимости от метаболизма анаэробных микроорганизмов);
* микроаэробов: уровень кислорода менее 2% (от 0.2 до 2%);
* метанотрофов: наличие метана в газовой фазе;
* карбоксидотрофов: наличие СО в газовой фазе;

10. Другие требования

В ряде случаев для успешного получения накопительных культур в питательные среды необходимо добавлять витамины, аминокислоты, казаминовые кислоты, дрожжевой экстракт, факторы роста, а также стерильные экстракты, полученные из природных образцов. При выделении фототрофных микроорганизмов необходимо обеспечить подходящие условия освещения.

11. Первичные накопительные культуры микроорганизмов получают, культивируя образец, отобранный из природного объекта исследования, на жидкой среде до появления достаточной численности клеток (не менее х10 увеличения по сравнению с инокулятом), а первичные посевы на плотных питательных средах – до появления различимых колоний (визуально, либо под бинокуляром).

12. Чистые культуры получают из жидких накопительных культур или отдельных колоний за счет:

* создания селективных условий для роста и развития целевых микроорганизмов. Селективные условия создают за счет: использования специфических питательных сред, добавления витаминов, антибиотиков, (более узкого) определённого диапазона концентраций питательных веществ, солености, рН, температуры инкубации, определенных режимов освещенности (интенсивности и/или спектра).
* многократных пересевов предельно разведенных суспензий (до получения конечного числа морфологически однородных клеток) или колоний;
* применения приемов ингибирования роста сопутствующей микрофлоры (прогрев, обработка антибиотиками и фагами и др.).
* применения методов физического разделения клеток (в некоторых случаях) с разным размером путем центрифугирования суспензий в градиенте плотности или фильтрованием.

13.Проверку чистоты культуры осуществляют по следующим критериям:

* морфологическим и колониальным признакам (однородности клеток и колоний);
* совокупности физиологических и биохимических признаков;
* на основании анализа последовательности генов рибосомальной РНК (16SрРНК), house-keeping генов, а также полногеномных последовательностей.
* результатам гибридизации со специфичными олигонуклеотидными зондами, меченными люминесцентными красителями (в ряде случаев);

14. Штаммы микроорганизмов, претендующих на отнесение к новой таксономической группе, описывают по совокупности необходимых для данного уровня фенотипических, хемотаксономических и молекулярно-генетических признаков.

15. Поддержание, подготовку к хранению, контроль качества хранения, коррекцию нарушений качества хранения выделенного штамма осуществляют согласно соответствующим Стандартным операционным процедурам, разработанным для ЦКП «Коллекция UNIQEM».

А.7 СОП по микроскопированию культур и клеточных суспензий (в том числе, с применением флуоресцентных красителей)

##### **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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017

СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПО МИКРОСКОПИРОВАНИЮ КУЛЬТУР И КЛЕТОЧНЫХ СУСПЕНЗИЙ (В ТОМ ЧИСЛЕ, С ПРИМЕНЕНИЕМ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ)

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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017

**МОСКВА 2017**

Разработано

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ФИО, степень, должность | Подпись | Подразделение |
| Менько Е.В. к.б.н.,.н.с. |  | Лаборатория выживаемости микроорганизмов |

Микроскопические исследования суспензий клеток микроорганизмов методами просмотров в режимах светлое поле, темное поле, фазовый контраст, эпифлуоресценция осуществляют в соответствии со следующими процедурами.

1. Подготовка препаратов:

* 1. Используют чистые, обезжиренные и высушенные предметные стекла толщиной не более 1 мм и покровные стекла толщиной не более 0.17 мм.
  2. При просмотрах препаратов с использованием объектива с маркировкой oil используют иммерсионное масло.
  3. Для исследований живых (нефиксированных) клеток на предметное стекло наносят 3-5 мкл клеточной суспензии или культуры и плотно прижимают покровным стеклом. При необходимости на поверхность покровного стекла наносят иммерсионное масло.
  4. Для исследований фиксированных клеток препарат наносят на предметное стекло, высушивают, и поверх высушенного образца наносят каплю иммерсионного масла. Препарат прижимают покровным стеклом.
  5. Для исследований препаратов на мембранных фильтрах их кусочки помещают в каплю иммерсионного масла на предметном стекле, поверх фильтра наносят масло и прижимают покровным стеклом.
  6. Обработку образцов клеток флуоресцентными красителями проводят в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя. Данная СОП не регламентирует процедуру окрашивания препаратов различными красителями и ограничивается описанием подготовки препарата с использованием популярного красителя.
     1. Пример подготовки препарата красителем Live/Dead для выявления целых и поврежденных клеток бактерий по зеленой и красной эпифлуоресценции, соответственно. Суспензию живых клеток объемом 5 мкл наносят на покровное стекло и смешивают с 5 мкл нанесенного раствора Live/Dead, который готовят и хранят согласно поставляемой инструкции. Смесь накрывают покровным стеклом и инкубируют 15 мин в темноте при 37 ºС до начала просмотра. В случае работы с галофильными микроорганизмами, для которых недопустимо разбавление суспензии раствором красителя, подготовку препарата проводят следующим образом: 5 мкл раствора Live/Dead наносят на предметное стекло в определенной точке и высушивают при комнатной температуре в темноте до полного высыхания капли. Суспензию галофильных микроорганизмов объемом наносят в эту точку, прижимают покровным стеклом и инкубируют 15 мин в темноте перед просмотром.
     2. Подготовку препаратов с прокрашиванием акридиновым оранжевым, DAPI, picoGreen и т.д. осуществляют по специально разработанным процедурам.

1. Порядок работы со световым микроскопом AxioImagerD1 с объективами для просмотров препаратов с увеличением ×40, ×63, ×100 раз.

2. 1. Включение:

2.1.1. Снять защитные колпаки на окулярах и на стекле проходящего света.

2.1.2. Включить микроскоп.

2.1.3. При просмотре в режиме эпифлуоресценции – включить блок питания люминисцентной лампы

2.2. Просмотр препарата в проходящем свете:

2.2.1. Поместить подготовленный препарат на предметный столик микроскопа под прижимными лапками напротив меток.

2.2.2. Выбрать нужный объектив и направить его на препарат, путём вращения револьвера с объективами.

2.2.3. Проверить соответствие выбранного метода микроскопии объективу и сверить маркировки объектива и режима, установленного на колесе предметного столика. Проверить наличие масла (для объективов с маркировкой "oil")

2.2.4. Открыть шторку лампы проходящего света на блоке управления микроскопа.

2.2.5. Переместить препарат под объектив с помощью направляющих ручек.

2.2.6. Сблизить стекло с препаратом и объектив до необходимого расстояния путем подъема предметного столика.

2.2.7. Настроить резкость препарата с помощью микро и макро винта смотря в окуляры

2.3. Просмотр препарата в отраженном свете (для просмотров в режиме эпифлуорсенции):

2.3.1. Включить блок питания люминисцентной лампы. Работу начинать только после окончания обратного отсчета на дисплее блока питания.

2.3.2. Поместить препарат подготовленный в соответствии с п.1.1, 1.2 или 1.3 на предметный столик микроскопа под прижимными лапками напротив меток.

2.3.3. Выбрать нужный объектив и направить его на препарат, путём вращения револьвера.

2.3.4. Проверить соответствие выбранного метода микроскопии объективу и сверить маркировки объектива и режима, установленного на колесе предметного столика. Проверить наличие масла для объективов с маркировкой "oil"

2.3.5. Выбрать фильтр для отраженного света с необходимой длиной волны.

2.3.6. Опустить защитную шторку перед объективом

2.3.7. Открыть шторку лампы отраженного света на блоке управления микроскопа.

2.3.8. Переместить под объектив препарат с помощью направляющих ручек.

2.3.9 Сблизить стекло с препаратом и объектив до необходимого расстояния путем подъема предметного столика .

2.3.10. Настроить резкость препарата смотря в окуляры с помощью микро- и макро винта

2.4. Регистрацию изображений осуществляют в цифровом виде с помощью камеры AxioCam, которые сохраняют в памяти компьютера в формате jpg и передают пользователю в виде копий.

2.5. Окончание работы с микроскопом

2.5.1. Выключить питание люминисцентной лампы.

2.5.2. Выключить питание микроскопа.

2.5.3. Опустить предметный столик и выдвинуть его на себя.

2.5.4. Вынуть препарат из-под лапок столика

2.5.5. Протереть бумажной салфеткой объектив, если использовалось масло.

2.5.6. Накрыть окуляры и стекло проходящего света защитными колпаками.

2.5.7. Накрыть микроскоп чехлом.

2.5.8. Выключить компьютер.

3. Регистрация сеанса

После окончания работ в журнал заносят дату, время сеанса, сведения о препарате, ФИО пользователя и сотрудника, проводившего сеанс микроскопии.

А.8 СОП по электронно-микроскопическому исследованию ультратонких срезов клеток микроорганизмов

##### **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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017

СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПО ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОМУ ИССЛЕДОВАНИЮ УЛЬТРАТОНКИХ СРЕЗОВ КЛЕТОК МИКРООРГАНИЗМОВ

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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017

**МОСКВА 2017**

Разработано

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ФИО, степень, должность | Подпись | Подразделение |
| Кострикина Н.А., с.н.с.  Сорокин В.В., с.н.с. |  | ЦКП «Коллекция UNIQEM» |

Электронно-микроскопические исследования ультратонких срезов клеток микроорганизмов осуществляют в соответствии со следующими процедурами

1. Подготовка образцов клеток микроорганизмов или иного биоматериала для получения ультратонких срезов:
   1. Фиксация осажденных образцов в 2-4% глутаральдегиде в 0.05 – 0.1 М какодилатном буфере в течение 30 минут - нескольких часов.
   2. Промывка осадка 0.05-0.1 M какодилатным буфером.
   3. Фиксация промытого осадка 1 - 4% водным раствором тетраокиси осмия при 4 ºС в течение нескольких часов - нескольких суток.
   4. Центрифугирование осадка, заливка в 2% агар и нарезка на небольшие блоки (1-2 мм3).
   5. Инкубация агаровых блоков в насыщенном растворе уранилацетата в 30% этиловом спирте в течение не менее 2 часов.
   6. Обезвоживание материала в серии спиртов возрастающей концентрации (от 30% до 96%), а затем - в нескольких сменах ацетона или окиси пропилена.
   7. Пропитка обезвоженного материала в смесях эпоксидных смол, составленных по прописи фирмы-производителя ("Sigma"или "Fluka").
   8. Заключение пропитанных смолой образцов в желатиновые или пластиковые капсулы со смесью смол и дальнейшая полимеризация в термостате при 37 ºС (1 сут.) и затем при 60 ºС (12 ч.).
2. Изготовление ультратонких срезов:
   1. Заточка заполимеризованных капсул под лупой.
   2. Резка заточенных капсул на ультрамикротоме LKB TYPE 8810А. Толщина срезов, пригодных для просмотра, должна составлять 400-500 ангстрем.  Стеклянные ножи, необходимые для получения срезов, получают на приборе LKB KNIFI MAKER 7800B. На ножи приклеивают воском ванночку для воды, на которую впоследствии спускают готовые срезы. Срезы с воды снимают на приготовленные медные сеточки (п. 3).
3. Приготовление сеточек для препаратов:

3.1. Нанесение формваровой или коллодиевой пленки на сеточки (диаметром 3 мм с перфорациями) и высушивание. Формвар растворяют в дихлорэтане, а коллодий - в амилацетате.

3.2. Напыление пленок на сеточках углем в вакуумной установке JEOL VACUUM EVAPORATOR JEE-4С для укрепления пленки.

3.3. Деоинизация напыленных сеточек на приборе JEOL FINE COAT ION SPUTTER JFC-1100.

 4. Окраска срезов:

4.1. Контрастирование срезов на сеточках водным раствором уранилацетата в течение 20 мин.

4.2. Промывка сеточек в дистиллированной воде.

4.3. Контрастирование срезов на сеточках в растворе азотнокислого свинца в течение 20 минут.

4.4. Промывка в дистиллированной воде и высушивание.

5. Подготовка тотальных препаратов микроорганизмов для просмотра в просвечивающем   электронном микроскопе. Осуществляют при необходимости, альтернативно или дополнительно к изучению ультратонких срезов.

5.1. Суспендирование биомассы в малом объеме водопроводной или дистиллированной воды.

5.2. Контрастирование клеток микроорганизмов водным раствором фосфорновольфрамовой кислоты или водным раствором уранилацетата.

5.3. Нанесение суспензии на приготовленные медные сеточки (п. 3) и высушивание.

5.4. Просмотр в электронном микроскопе (в соответствии с п. 6).

1. Просмотр сеток со срезами в электронном микроскопе JEM-100CX или JEM-1400  
    при напряжении 80.000 В с увеличением от 5000 до 100000. Изображения снимают на высокочувствительной фотопленке фирмы AGFA формата 6 х 9, заправленные в кассеты для фотосъемки. Отснятые фотопленки проявляют в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя и высушивают. Изображения срезов, полученные на микроскопе JEM-1400, регистрируют также с помощью камеры MORADA G2 в цифровом формате.

А.9 СОП по идентификации штаммов микроорганизмов методом секвенирования маркерных последовательностей

##### **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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017

СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПО ИДЕНТИФИКАЦИИ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ МЕТОДОМ СЕКВЕНИРОВАНИЯ МАРКЕРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

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

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017

**МОСКВА 2017**

Разработано

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ФИО, степень, должность | Подпись | Подразделение |
| Груздев Д.С., к.б.н., врио. зав. лаб.  Колганова Т.В., к.т.н., с.н.с. |  | лаб. молекулярной диагностики/ЦКП «Биоинженерия»  лаб. молекулярной диагностики/ЦКП «Биоинженерия» |

Идентификацию штаммов микроорганизмов методом секвенирования маркерных последовательностей производят в соответствии со следующими процедурами.

1. Идентификации этим методом подлежат:

* новые изоляты микроорганизмов, полученные в ходе инициативных исследований в соответствии со «Стандартной операционной процедурой по выделению штаммов микроорганизмов из разнообразных природных источников, в т.ч. экстремальных мест обитания», разработанной для ЦКП «Коллекция UNIQEM»;
* штаммы микроорганизмов, нуждающихся в уточнении таксономического положения в соответствии с пп. 1 и 3 «Стандартной операционной процедуры по проверке аутентичности коллекционного фонда микроорганизмов», разработанной для ЦКП «Коллекция UNIQEM»;
* при необходимости - штаммы, для которых применена «Стандартная операционная процедура коррекцию нарушений качества единиц хранения в коллекции UNIQEM».

1. Выращивание культур микроорганизмов, предоставляемых для идентификации, осуществляют в соответствии со «Стандартной операционной процедурой по поддержанию штамма микроорганизма в живых культурах», разработанной для ЦКП «Коллекция UNIQEM».
2. Молекулярная идентификация микроорганизмов проводится в соответствии со Стандартной операционной процедурой ЦКП-БИО ИМ01 «Идентификация микроорганизма на основе сравнительного анализа последовательностей генов рибосомной РНК», разработанной в ЦКП «Биоинженерия» ФИЦ Биотехнологии РАН.
3. ЦКП «Коллекция UNIQEM», сотрудничающие с ним структурные подразделения ФИЦ Биотехнологии РАН, а также внешние пользователи выступают в качестве заказчика услуг ЦКП «Биоинженерия».
4. Анализ образца штамма включает выполнение следующих процедур (в соответствии с вышеобозначенной Стандартной операционной процедурой ЦКП-БИО ИМ01, с небольшими модификациями):

5.1. Предоставление образца (партии образцов) выращенных культур микроорганизмов с оформлением сопроводительной таблицы, которая заносится в базу данных в ЦКП «Биоинженерия» с присвоением каждому образцу уникального номера.

5.2. Отбор части образца (аликвоты суспензии клеток микроорганизма) на выделение ДНК с помещением оставшейся части в музей (морозильник). Запись в базе данных о месте хранения биомассы.

5.3. Выделение ДНК с отбором аликвоты на анализ с помещением остатка образца выделенной ДНК в музей (морозильник). Запись в базе данных о месте хранения соответствующего образца ДНК.

5.4. Проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР) с выделенной ДНК для получения фрагментов целевого гена. Секвенирование полученных фрагментов. Занесение полученных файлов чтений (нуклеотидных последовательностей) в базу данных под присвоенным номером образца.

5.5. Сборка merge-последовательности. Занесение файла с информацией о собранной последовательности во внутреннюю базу данных.

5.6. Проведение первичного BLAST-анализа на 10 ближайших последовательностях типовых штаммов. Внесение полученных данных в базу данных.

5.7. Сборка и выравнивание 10 последовательностей ближайших типовых штаммов с последовательностью, полученной для исследуемого штамма (образца). Формирование таблицы сходства.

5.8. Подготовка файла для отчета, утверждение и направление заказчику.

5.9. По запросу заказчика – построение филогенетических деревьев.

1. Требования к образцам микробных культур, направляемых на анализ.

Образцы предоставляют в виде культур клеток, выросших на плотной питательной среде, либо осадка в пробирках типа Эппендорф (в соответствующей среде), полученного центрифугированием клеток, выращенных в жидкой среде. Допустимо предоставление биомассы в жидкой среде в пробирках Хангейта.

1. Порядок действий при выявлении проблем и несоответствий регламентируется Стандартной операционной процедурой ЦКП-БИО ИМ01, разработанной в ЦКП «Биоинженерия» ФИЦ Биотехнологии РАН и приводится ниже.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **№№** | **Описание проблемы/несоответствия** | **Перечень действий** |
| 7.1 | ДНК бактериального образца не выделяется с использованием методов Promega, MoBio или CTAB или выделена не пригодная для ПЦР ДНК-матрица. | * Отметить данный факт в электронной базе данных. * Подготовить данные эксперимента по выделению и проверке выделенного образца ДНК на ПЦР-пригодность для обсуждения. * Сообщить зав. лабораторией. |
| 7.2. | Полноразмерный ПЦР-фрагмент не амплифицируется с праймеров Univ11F – Univ 1492R. | * Отметить данный факт в электронной базе данных. * Получить перекрывающиеся ПЦР-фрагменты с использованием альтернативных праймеров по Lane. * Сменить ВСЕ реактивы для ПЦР. * Сообщить зав. лабораторией. |
| 7.3 | Обнаружены места неоднозначного чтения последовательности нуклеотидов | * Отметить данный факт в электронной базе данных, указав файл исходного чтения и позиции неоднозначного чтения. * Сообщить зав. лабораторией. * Связаться с заказчиком и обсудить необходимость применения дополнительных анализов для чтения разных копий целевых генов. |
| 7.4 | Обнаружено присутствие двух и более матриц (бинарная или монокультура) | * Отметить данный факт в электронной базе данных, указав файл(ы) исходного чтения, содержащие подтверждение наличия множественных матриц. * Прекратить дальнейший анализ данного образца. * Сформировать отчет с указанием факта загрязнения аксеничной культуры нецелевыми микроорганизмами. |
| 7.5 | Обнаружено несоответствие таксономической принадлежности изучаемого организма на высшем таксономическом уровне (грибы вместо бактерий, археи вместо эубактерий или наоборот) | * Отметить данный факт в электронной базе данных, указав файл(ы) исходного чтения, содержащие подтверждение обнаруженного факта. * Прекратить дальнейший анализ данного образца. * Сообщить зав. лабораторией. |
| 7.6 | Выявлен патогенный микроорганизм в исследуемом образце | * Немедленно прекратить все анализы с этим материалом. * Биологический материал уничтожить сжиганием. * Сообщить зав. лабораторией. * Немедленно связаться с заказчиком работ и поставить его в известность. * Провести стерилизацию приборов, инструментов и рабочих поверхностей в местах потенциальных загрязнений. |

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕРИФИКАЦИИ СТАНДАРТНЫХ ОПЕРАЦИОННЫХ ПРОЦЕДУР (СОП)

Таблица Б.1 Верификация СОП по поддержанию штаммов микроорганизмов в живых культурах

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Объект (штамм коллекции)** | **Исполнитель верификации, ФИО, должность степень** | **Степень верификации СОП,** | **Комментарии и предложения** | **Результат работы в соответствии с СОП** | **Комментарий руководителя коллекции** |
| 1 | *Ancylobacter abiegnus Z-0056 (ВКМ В-2563)* | Берестовская Ю.Ю., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено. | Верифицировано. |
| 2 | *Asticcacaulis benevestitus=DSMZ 16100, = ATCC BAA-896* | Берестовская Ю.Ю.,н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено. | Верифицировано. |
| 3 | *Proteinivorax tanatarense* Z-910T (= DSM 25977, VKM B-2763) | Кевбрин В.В., с.н.с, к.б.н. | 100% | п.2. Непонятно, зачем введены три подпункта? "штаммы в каталоге коллекции UNIQEM" это и есть "культуры, предоставленные на хранение". Также непонятно, что за "новые изоляты"?  Убрать разбиение п.2 на подпункты. | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено. | Верифицировано. Штамм могут предоставлять могут внешние пользователи, а вносить ли его в каталог решается отдельно. |
| 4 | *Streptomyces albus* , U411 | Филиппова С.Н., и.о. в.н.с., к.б.н. | 95% | п.9. При затыкивании резиновыми пробками необходимы прокладки из стерильной фольги для предотвращения контактов продуктов окисления резины с коллекционной культурой микроорганизма при хранении. | Штамм пересеян в виде культур на скошенном агаре. | Верифицировано. Полезное уточнение. |

Продолжение таблицы Б1

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 5 | *Streptomyces cinnamoneus* U814 | Филиппова С.Н., и.о. в.н.с., к.б.н. | 95% | п.9. При затыкивании резиновыми пробками необходимы прокладки из стерильной фольги для предотвращения контактов продуктов окисления резины с коллекционной культурой микроорганизма при хранении. | Штамм пересеян в виде культур на скошенном агаре. | Верифицировано.Полезное уточнение. |
| 6 | *Streptomyces virginiae* U876 | Филиппова С.Н., и.о. в.н.с., к.б.н. | 95% | п.9. При затыкивании резиновыми пробками необходимы прокладки из стерильной фольги для предотвращения контактов продуктов окисления резины с коллекционной культурой микроорганизма при хранении. | Штамм пересеян в виде культур на скошенном агаре. | Верифицировано. Полезное уточнение. |
| 7 | *Nitrososphaera gargensis* | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено. | Верифицировано. |
| 8 | *Nitrosotenius uzonensis* | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено. | Верифицировано. |
| 9 | *Nitrospira moscovensis* M-1 | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено. | Верифицировано. |
| 10 | *Sulfobacillus thermotolerans* Kr1 | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено. | Верифицировано. |
| 11 | *Sulfobacillus sibiricus* N1 | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено. | Верифицировано. |
| 12 | *Geobacillus toebii* B1024 | Бабич Т.Л., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено. | Верифицировано. |

Продолжение таблицы Б.1

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 13 | *Geobacillus thermoglucosidasius* 3Feng | Бабич Т.Л., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено. | Верифицировано. |
| 14 | *Rhodococcus jialingiae* HO-KS1 | Семёнова Е.М., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено. | Верифицировано. |
| 15 | *Methylocystis bryophila H2sT* | Белова С.Э., с.н.с., к.б.н. | 95% | п.6. Достаточно 2-кратного пересева, вместо 4-кратного. | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде и на скошенной плотной среде, проблем не выявлено. | Верифицировано. Хорошо, если достаточно меньшего числа пересевов. Но есть штаммы, которые надо пересевать намного чаще. |
| 16 | *Schlesneria paludicola* МPL7 T (=ATCC BAA-1393T, VKM B-2452T) | Куличевская И.С., с.н.с. к.б.н. | 100% | Нет | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде и на скошенном агаре, проблем не выявлено. | Верифицировано. |
| 17 | *Telmatocola sphagniphila* SP2 T (=DSM 23888T=VKM B-2710T) | Куличевская И.С., с.н.с. к.б.н. | 100% | Нет | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде и на скошенном агаре, проблем не выявлено. | Верифицировано. |
| 18 | *Bryobacter aggregatus* MPL3 T (=ATCC: BAA-1390T; DSM -18758T) | Куличевская И.С., с.н.с. к.б.н. | 100% | Нет | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде и на скошенном агаре, проблем не выявлено. | Верифицировано. |
| 19 | *Desulfurococcus amylolyticus* Z-1312T | Перевалова А.А., с.н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено. | Верифицировано. |
| 20 | *Melioribacter roseus* P3M-2T | Подосокорская О.А., с.н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено. | Верифицировано. |
| 21 | *Desulfotermobacter acidiphilus* 3408-1 | Фролов Е.Н., м.н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено | Верифицировано. |

Продолжение таблицы Б.1

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 22 | *Thermosinus carboxydivorans* Nor | Соколова Т.Г., с.н.с., д.б.н. | 100% | | Нет | | | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено. | | | Верифицировано. | | |
| 24 | *Halomonas*  Se 1 | Хижняк Т.В., и.о. зав. лаб., д.б.н. | 95% | | п.6. Достаточно 2-кратного пересева, вместо 4-кратной | | | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено. | | | Верифицировано. Хорошо, если достаточно меньшего числа пересевов в год. Но есть штаммы, которые надо пересевать намного чаще. | | |
| 25 | *Halomonas*  Se 4 | *Х*ижняк Т.В., и.о. зав. лаб., д.б.н. | 95% | | п.6. Достаточно 2-кратного пересева, вместо 4-кратной | | | Штамм пересеян в виде культур в жидкой среде, проблем не выявлено. | | | Верифицировано. Хорошо, если достаточно меньшего числа пересевов в год. Но есть штаммы, которые надо пересевать намного чаще. | | |
| 26 | *Rhodobaculum claviforme* B4 | Брянцева И.А., н.с., к.б.н. | 90% | | п.4. Лучше не использовать жидкую среду, растить на агаризованной. Дополнить п. 4 для фототрофов использовать агаризованные столбики (агар 1,3-1.5%) | | | Штамм пересеян в виде культуры на плотной среде | | | Верифицировано. Дополнение полезно для СОП, предназначенных для узких групп микроорганизмов. | | |
|  |  |  | |  | |  |  | |  |  | |  |  | |  | Общий комментарий. Эта СОП явялется ключевой для работы с самыми разнообразными штаммами микроорганизмов и не может предусмотреть всех деталей и нюансов. Исполнители верификации СОП вправе разрабатывать детальные СОП для узких групп прокариот. |

Таблица Б.2 Верификация СОП подготовке культур микроорганизмов к криоконсервации

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Объект (штамм коллекции)** | **Исполнитель верификации, ФИО, должность степень** | **Степень верификации СОП,** | **Комментарии**  **и предложения по уточнению СОП** | **Результат работы в соответствии с СОП** | **Комментарий руководителя коллекции** |
| 1 | *Ancylobacter abiegnus Z-0056 (ВКМ В-2563)* | Берестовская Ю.Ю., н.с.,кбн. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 75 С (2 единицы хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. |
| 2 | *Asticcacaulis benevestitus=DSMZ 16100, = ATCC BAA-896* | Берестовская Ю.Ю., н.с.,кбн. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 75 С (2 единицы хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. |
| 3 | *Caulobacter Sp.Z-0024* | Берестовская Ю.Ю., н.с.,кбн. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 75 С (2 единицы хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. |
| 4 | *Methylorosula polaris Z-022 (=DSM 22001=ВКМ В-2485)* | Берестовская Ю.Ю., н.с.,кбн. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 75 С (2 единицы хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. |

Продолжение таблицы Б.2

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 5 | *Proteinivorax tanatarense* Z-910T (= DSM 25977, VKM B-2763) | Кевбрин В.В., с.н.с, к.б.н. | 100% | п.2. Непонятно, зачем введены три подпункта? "штаммы в каталоге коллекции UNIQEM" это и есть "культуры, предоставленные на хранение". Также непонятно, что за "новые изоляты"?  Убрать разбиение п.2 на подпункты. | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 75 С (2 единицы хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. Штамм могут предоставлять могут внешние пользователи, а вносить ли его в каталог решается отдельно. Новые изоляты - недавно выделенные штаммы. |
| 6 | *Proteinivorax hydrogeniformans* Z-710T (=DSM 102085, VKM B-3042) | Кевбрин В.В., с.н.с, к.б.н. | 100% | Нет упоминания о температуре криоконсервации.  Ввести интервал возможных температур для криоконсервации | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 75 С (2 единицы хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. СОП предназначена для подготовки культур к криоконсервации при разных температурах, но не регулирует хранение штамма при разных режимах криоконсервации (при - 75 - -85 С, в жидком азоте ) |
| 7 | *Geobacillus thermoglucosidans* 3Feng | Соколова Д.Ш., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 70 С (5 единиц хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания | Верифицировано. |
| 8 | *Geobacillus subterraneus* 34T | Соколова Д.Ш., н.с., к.б.н. | 95% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 70 С (5 единиц хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания | Верифицировано. |

Продолжение таблицы Б.2

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 9 | *Geobacillus jurassicus* DS1 | Соколова Д.Ш., н.с., к.б.н. | 95% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 70 С (5 единиц хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания | Верифицировано. |
| 10 | *Acidithiobacillus caldus* MBC-1 | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения). | Верифицировано. |
| 11 | *Acidiplasma* sp. | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения). | Верифицировано. |
| 12 | *Ferroplasma acidiphilum* Y1 | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения). | Верифицировано. |
| 13 | *Leprospirillum ferriphillum* OL10-02 | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения). | Верифицировано. |
| 14 | *Nitrososphaera gargensis* | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения). | Верифицировано. |
| 15 | *Nitrosotenius uzonensis* | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения). | Верифицировано. |
| 16 | *Nitrospira moscovensis* M-1 | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения). | Верифицировано. |
| 17 | *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения). | Верифицировано. |
| 18 | *Sulfobacillus thermotolerans* Kr1 | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения) | Верифицировано. |

Продолжение таблицы Б.2

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 19 | *Sulfobacillus sibiricus* N1 | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения). | Верифицировано. |
| 20 | *Bacillus cereus* 504 BKM T | Тихонова Е.Н., к.б.н., н.с. | 90% | п.6. Забор биомассы производился стеклянными пипетками Пастера. | Штамм подготвлен для крисоконсервации под жиким азотом - 2 единицы хранения | Верифицировано. |
| 21 | *Bacillus subtilis* Isp1T | Тихонова Е.Н., к.б.н., н.с. | 90% | п.6. Забор биомассы производился стеклянными пипетками Пастера.  . | Штамм подготвлен для крисоконсервации под жиким азотом - 2 единицы хранения | Верифицировано. |
| 22 | изолят, близкий к *Bacillus pumilis,* из подледникового грунта оз. Унтерзее (Антарктида) | Тихонова Е.Н., к.б.н., н.с. | 90% | п.6. Забор биомассы производился стеклянными пипетками Пастера  Нет | Штамм подготвлен для крисоконсервации под жиким азотом - 2 единицы хранения | Верифицировано. |
| 23 | *Pseudomonas aurantiaca* ВKM 1558T | Тихонова Е.Н., к.б.н., н.с. | 90% | п.6. Забор биомассы производился стеклянными пипетками Пастера | Штамм подготвлен для крисоконсервации под жиким азотом - 2 единицы хранения | Верифицировано. |
| 24 | изолят (5), близкий к *Rhodococcus fascians*, из подледникового грунта оз. Унтерзее (Антарктида) | Тихонова Е.Н., к.б.н., н.с. | 90% | п.6. Забор биомассы производился стеклянными пипетками Пастера | Штамм подготвлен для крисоконсервации под жиким азотом - 2 единицы хранения | Верифицировано. |
| 25 | изолят (15/16), близкий к видам *Arthrobacter* *antarcticus* и *A. sulfureus,* из подледникового грунта оз. Унтерзее (Антарктида) | Тихонова Е.Н., к.б.н., н.с. | 90% | п.6. Забор биомассы производился стеклянными пипетками Пастера | Штамм подготвлен для крисоконсервации под жиким азотом - 2 единицы хранения | Верифицировано. |
| 26 | *Singulisphaera acidiphila MOB10T (=ATCC BAA-1392; VKM B-2454 ; DSM 18658T)* | Куличевская И.С., к.б.н., с.н.с. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания | Верифицировано. |

Продолжение таблицы Б.2

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 27 | *Schlesneria paludicola* МPL7 T (=ATCC BAA-1393T, VKM B-2452T) | Куличевская И.С., к.б.н., с.н.с. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. |
| 28 | *Telmatocola sphagniphila* SP2 T (=DSM 23888T=VKM B-2710T) | Куличевская И.С., к.б.н., с.н.с. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. |
| 29 | *Paludisphaera borealis* PX4T (=DSM 28747T, VKM B-2904T) | Куличевская И.С., к.б.н., с.н.с. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. |
| 30 | *Fimbriiglobus ruber* SP5T (= = LMG 29572T = VKM B-3045T) | Куличевская И.С., к.б.н., с.н.с. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. |
| 31 | *Bryobacter aggregatus* MPL3 T (=ATCC: BAA-1390T; DSM -18758T) | Куличевская И.С., к.б.н., с.н.с. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. |
| 32 | *Paludibaculum fermentans* P105T (= DSM - 26340T; VKM-B-2878T) | Куличевская И.С., к.б.н., с.н.с. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. |

Продолжение таблицы Б.2

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 33 | *Bryocella elongata* SN10 T (=LMG 25276T; DSM 22489T) | Куличевская И.С., к.б.н., с.н.с. | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (5 единиц хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. |
| 34 | *Thioalkalimicrobium* AL3 | Куликова В.Ф., инженер | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (3 единиц хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. |
| 35 | *Thioalkalimicrobium* AL6 | Куликова В.Ф., инженер | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (3 единиц хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. |
| 36 | *Thioalkalimicrobium* AL8 | Куликова В.Ф., инженер | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (3 единиц хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. |
| 37 | *Thioalkalimicrobium* AL9 | Куликова В.Ф., инженер | 100% | Нет | Штамм подготовлен для криоконсервации при - 86 С (3 единиц хранения) и сохранил жизнеспособность после замораживания. | Верифицировано. |

Таблица Б.3 Верификация СОП по проверке аутентичности коллекционного фонда микрорганизмов

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Объект)** | **Причина проверки аутентичности** | **Исполнитель верификации** | **Степень верификации СОП** | **Комментарии**  **и предложения по уточнению СОП** | **Результат работы в соответствии с СОП** | **Комментарий руководителя коллекции** |
| 1 | *Microbacterium oxydans* JR3/2-13 | длительный срок поддержания штамма (в соответствии с п.1) | Бабич Т.Л., н.с., к.б.н. | 100% | п.3. Должна быть отражена процедура молекулярно-генетического анализа. | По результатам идентификации и изучения фенотипических признаков подтверждена принадлежность указанному виду. | Верифицировано. Для проведения идентификации разработано отдельное описание СОП |
| 2 | *Rhodococcus qingshengii* JR3/2-4 | длительный срок поддержания штамма (в соответствии с п.1) | Бабич Т.Л., н.с., к.б.н. | 100% | п.3. Должна быть отражена процедура молекулярно-генетического анализа. | По результатам идентификации и изучения фенотипических признаков подтверждена принадлежность указанному виду. | Верифицировано. Для проведения идентификации разработано отдельное описание СОП. |
| 3 | *Arthrobacter sulfureus* JR1/1-8b | длительный срок поддержания штамма (в соответствии с п.1) | Бабич Т.Л., н.с., к.б.н. | 100% | п.3. Должна быть отражена процедура молекулярно-генетического анализа. | По результатам идентификации и изучения фенотипических признаков подтверждена принадлежность указанному виду. | Верифицировано. Для проведения идентификации разработано отдельное описание СОП. |
| 4 | одна из единиц хранения *Rhodococcus erythropolis* SHC 3-16 | варьирование консистенции колоний сохранилось при работе по СОП по коррекции качества хранения. | Бабич Т.Л., н.с., к.б.н. | 100% | п.3. Должна быть отражена процедура молекулярно-генетического анализа.  Нет | Культуры из варьирующих колоний оказались идентичными друг другу по ключевым признакам и данным идентификации по гену 16S рРНК. | Верифицировано. Для проведения идентификации разработано отдельное описание СОП .. |

Продолжение таблицы Б.3

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 5 | одна из единиц хранения *Dietzia dagingensis* 263 | варьирование консистенции колоний сохранилось по СОП по коррекции качества хранения. | Бабич Т.Л., н.с., к.б.н. | 100% | п.3. Должна быть отражена процедура молекулярно-генетического анализа. | Культуры из варьирующих колоний оказались идентичными друг другу по ключевым признакам и данным идентификации по гену 16S рРНК. | Верифицировано. Для проведения идентификации разработано отдельное описание СОП |
| 6 | *Ancylobacter abiegnus Z-0056 (ВКМ В-2563)* | длительный срок поддержания штамма (в соответствии с п.1) и необходимость проверки сохранения ключевых (маркерных) признаков | Берестовская Ю.Ю., н.с., кбн. | 100% | Нет | По результатам работ по СОП подтверждена принадлежность указанному виду. | Верифицировано. |
| 7 | *Caulobacter sp.Z-0024* | длительный срок поддержания штамма (в соответствии с п.1) и необходимость проверки сохранения ключевых (маркерных) признаков | Берестовская Ю.Ю., н.с., кбн. | 100% | Нет | По результатам работ по СОП подтверждена принадлежность указанному виду. | Верифицировано. |
| 8 | *Proteinivorax tanatarense* Z-910T (= DSM 25977, VKM B-2763) | длительный срок поддержания штамма (в соответствии с п.1) и необходимость проверки сохранения ключевых (маркерных) признаков | Кевбрин В.В., с.н.с, к.б.н. | 100% | Нет | По результатам работ по СОП подтверждена принадлежность указанному виду. | Верифицировано. |
| 9 | *Methyloferula stellata AR4T* | длительный срок поддержания штамма (в соответствии с п.1) и необходимость проверки сохранения ключевых признаков | Белова С.Э., с.н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Подтверждена аутентичность данного штамма. | Верифицировано. |

Продолжение таблицы Б.3

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 10 | *Methylocapsa aurea KYGT* | длительный срок поддержания штамма (в соответствии с п.1) и необходимость проверки сохранения ключевых признаков | Белова С.Э., с.н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Подтверждена аутентичность данного штамма. | Верифицировано. |
| 11 | *Methylocystis bryophila H2sT* | длительный срок поддержания штамма (в соответствии с п.1) и необходимость проверки сохранения ключевых (маркерных) признаков | Белова С.Э., с.н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Подтверждена аутентичность данного штамма. | Верифицировано. |
| 12 | *Methylovulum psychrotolerans Sph1T* | длительный срок поддержания штамма (в соответствии с п.1) и необходимость проверки сохранения ключевых (маркерных) признаков | Белова С.Э., с.н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Подтверждена аутентичность данного штамма | Верифицировано. |
| 13 | *Singulisphaera acidiphila MOB10T (=ATCC BAA-1392; VKM B-2454 ; DSM 18658T)* | длительный срок поддержания штамма (в соответствии с п.1) и необходимость проверки сохранения ключевых (маркерных) признаков | Куличевская И.С., с.н.с. к.б.н. | 100% | Нет | Подтверждена аутентичность данного штамма. | Верифицировано. |
| 14 | *Schlesneria paludicola* МPL7 T (=ATCC BAA-1393T, VKM B-2452T) | длительный срок поддержания штамма (в соответствии с п.1) и необходимость проверки сохранения ключевых (маркерных) признаков | Куличевская И.С., с.н.с. к.б.н. | 100% | Нет | Подтверждена аутентичность данного штамма. | Верифицировано. |

Продолжение таблицы Б.3

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 15 | *Telmatocola sphagniphila* SP2 T (=DSM 23888T=VKM B-2710T) | длительный срок поддержания штамма (в соответствии с п.1) и необходимость проверки сохранения ключевых (маркерных) признаков | Куличевская И.С., с.н.с. к.б.н. | 100% | Нет | Подтверждена аутентичность данного штамма. | Верифицировано. |
| 16 | *Paludisphaera borealis* PX4T (=DSM 28747T, VKM B-2904T) | длительный срок поддержания штамма (в соответствии с п.1) и необходимость проверки сохранения ключевых (маркерных) признаков | Куличевская И.С., с.н.с. к.б.н. | 100% | Нет | Подтверждена аутентичность данного штамма. | Верифицировано. |
| 17 | *Acidithiobacillus caldus* MBC-1 | поддержание только путем многократных пересевов и важность сохранения биотехнологически ценных признаков | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Аутентичность штамма подтверждена по фенотипическим признакам. | Верифицировано. |
| 18 | *Acidiplasma* sp. | поддержание только путем многократных пересевов и важность сохранения биотехнологически ценных признаков | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Аутентичность штамма подтверждена по фенотипическим признакам. | Верифицировано. |
| 19 | *Ferroplasma acidiphilum* Y1 | поддержание только путем многократных пересевов и важность сохранения биотехнологически ценных признаков | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Аутентичность штамма подтверждена по фенотипическим признакам. | Верифицировано. |

Продолжение таблицы Б.3

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 20 | *Leprospirillum ferriphillum* OL10-02 | поддержание только путем многократных пересевов и важность сохранения биотехнологически ценных признаков | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Аутентичность штамма подтверждена по фенотипическим признакам | Верифицировано. |
| 21 | *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* | поддержание только путем многократных пересевов и важность сохранения биотехнологически ценных признаков | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Аутентичность штамма подтверждена по фенотипическим признакам | Верифицировано. |
| 22 | *Sulfobacillus thermotolerans* Kr1 | поддержание только путем многократных пересевов и важность сохранения биотехнологически ценных признаков | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Аутентичность штамма подтверждена по фенотипическим признакам | Верифицировано. |
| 23 | *Sulfobacillus sibiricus* N1 | поддержание только путем многократных пересевов и важность сохранения биотехнологически ценных признаков | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Аутентичность штамма подтверждена по фенотипическим признакам. | Верифицировано. |

Таблица Б4 Верификация СОП по контролю качества единиц хранения

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Объект** | **Исполнитель верификации** | **Степень верификации СОП** | **Комментарии**  **и предложения по уточнению СОП** | **Результат работы в соответствии с СОП** | **Комментарий руководителя коллекции** |
| 1 | *Ancylobacter abiegnus Z-0056 (ВКМ В-2563)* | Берестовская Ю.Ю.,н.с.,к.б.н. | 100% | Нет | Единицы хранения в виде пересеваемых культур проверены, все признаки сохранены. | Верифицировано. |
| 2 | *Asticcacaulis benevestitus=DSMZ 16100, = ATCC BAA-896* | Берестовская Ю.Ю.,н.с.,к.б.н. | 100% | Нет | Единицы хранения в виде пересеваемых культур проверены, все признаки сохранены. | Верифицировано. |
| 3 | *Proteinivorax tanatarense* Z-910T (= DSM 25977, VKM B-2763) | Кевбрин В.В., с.н.с, к.б.н. | 100% | п.2. Не сказано, сколько дубликатов единиц хранения должно храниться для данного штамма. Может быть, имеет смысл унифицировать количество дубликатов, или фиксированное или не менее такого-то количества. | Единицы хранения в виде пересеваемых культур проверены, все признаки сохранены. | Верифицировано. Выбор числа дубликатов зависит от примененного способа хранения и потенциальной востребованности штамма. Не менее 2 для криобанка и 3-5 для хранения при -75 - -86 С. |
| 4 | *Streptomyces* *albus* U411 | Филиппова С.Н., и.о. в.н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Сохранил ключевые признаки. | Верифицировано. |
| 5 | *Streptomyces cinnamoneus* U814 | Филиппова С.Н., и.о. в.н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Сохранил ключевые признаки. | Верифицировано. |
| 6 | *Streptomyces rutgersensis* U495 | Филиппова С.Н., и.о. в.н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Сохранил ключевые признаки. | Верифицировано. |
| 7 | *Streptomyces* sp.U835 | Филиппова С.Н., и.о. в.н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Сохранил ключевые признаки. | Верифицировано. |
| 8 | *Streptomyces* sp. U830 | Филиппова С.Н., и.о. в.н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Сохранил ключевые признаки. | Верифицировано. |

Продолжение таблицы Б.4

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 9 | *Acidithiobacillus caldus* MBC-1 | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | п.6. Штамм не выращивается на плотных средах и не образует колоний. Внести в первый подпункт "для штаммов, которые выращиваются на плотных средах - морфология колоний…" | Сохранил ключевые признаки. | Верифицировано. Нет необходимости внесений, поскольку понятно, что этот признак относится к микроорганизмам, способным развиваться на плотной среде. Для особых групп бактерий можно разрабатывать специальные СОП. |
| 10 | *Nitrospira moscovensis* M-1 | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | п.6. Штамм не выращивается на плотных средах и не образует колоний. Внести в первый подпункт "для штаммов, которые выращиваются на плотных средах - морфология колоний…" | Сохранил ключевые признаки. | Верифицировано. Нет необходимости внесений, поскольку понятно, что этот признак относится к микроорганизмам, способным развиваться на плотной среде. Для особых групп бактерий можно разрабатывать специальные СОП. |
| 11 | *Rhodococcus erythropolis* SHC 3-16 | Бабич Т.Л., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Варьирование консистенции колоний. | Верифицировано. Следует провести работу в соответствии с СОП по коррекции качества единиц хранения. |
| 12 | *Rhizobium daejeonense* SHC 3-12 | Бабич Т.Л., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Необходим пересев в селективную жидкую среду для азотфиксаторов. | Верифицировано. Следует провести работу по коррекции качества единиц хранения. |
| 13 | *Methyloferula stellata AR4T* | Белова С.Э., с.н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Единицы хранения в виде пересеваемых культур проверены, все признаки сохранены. | Верифицировано. |
| 14 | *Methylocystis bryophila H2sT* | Белова С.Э., с.н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Единицы хранения в виде пересеваемых культур проверены, все признаки сохранены. | Верифицировано. |

Продолжение таблицы Б.4

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 15 | *Schlesneria paludicola* МPL7 T (=ATCC BAA-1393T, VKM B-2452T) | Куличевская И.С., с.н.с. к.б.н. | 100% | Нет | Единицы хранения в виде пересеваемых культур проверены, все ключевые фенотипические признаки сохранены. | Верифицировано. |
| 16 | *Paludisphaera borealis* PX4T (=DSM 28747T, VKM B-2904T) | Куличевская И.С., с.н.с. к.б.н. | 100% | Нет | Единицы хранения в виде пересеваемых культур проверены, все ключевые фенотипические признаки сохранены. | Верифицировано. |
| 17 | *Acidilobus saccharovorans* 345-15 | Прокофьева М.И., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Единицы хранения в виде пересеваемых культур проверены, все признаки сохранены. | Верифицировано. |
| 18 | *Melioribacter roseus* P3M-2T | Подосокорская О.А., с.н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Единицы хранения в виде пересеваемых культур проверены, все признаки сохранены. | Верифицировано. |
| 19 | *Desulfotermobacter acidiphilus* 3408-1 | Фролов Е.Н., м.н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Единицы хранения в виде пересеваемых культур проверены, все признаки сохранены. | Верифицировано. |
| 20 | *Carboxydocella thermautotrophica* 41 | Соколова Т.Г., с.н.с., д.б.н. | 100% | Нет | Единицы хранения в виде пересеваемых культур проверены, все признаки сохранены | Верифицировано. |
| 21 | *Pyrobaculum aerophilum* 3524 | Заюлина К. С., м.н.с. | 100% | Нет | Единицы хранения в виде пересеваемых культур проверены, все признаки сохранены. | Верифицировано. |

Продолжение таблицы Б.4

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 22 | изолят метанокисляющих бактерий, штамм *Methylocystis sp.* Am1,хранящийся в жидком азоте | Тихонова Е.Н., к.б.н.,н.с. | 100% | Нет | Штамм жизнеспособен после замораживания, сохранил ключевые признаки. | Верифицировано. |
| 23 | изолят термофильных метанокисляющих бактерий, штамм *Methylococcus sp. T4, хранящийся в жидком азоте* | Тихонова Е.Н., к.б.н.,н.с. | 100% | Нет | Штамм жизнеспособен после замораживания, сохранил ключевые признаки. | Верифицировано. |
| 24 | *Thioalkalimicrobium AL3* | Сорокин Д.Ю., и.о. г.н.с., д.б.н. | 100% | п.5. Для этого штамма нет паспорта | Единицы хранения в виде пересеваемых культур проверены, все признаки сохранены. | Верифицировано. Начатая работа по составлению подробных паспортов не должна прерываться. |
| 25 | *Halomonas AGD12* | Хижняк Т.В., и.о. зав. лаб., д.б.н. | 100% | п.5. Для этого штамма нет паспорта | Использование ватных пробок неоптимально для дальнейшего хранения культуры в жидкой среде из-за образования кристаллов соли. | Верифицировано. Следует провести работу в соответствии с СОП по коррекции качества хранения. |

Таблица Б.5 Верификация СОП по коррекции нарушений качества единиц хранения

(комментариев и предложений по уточнению формулировок нет)

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Объект** | **Причина работы по СОП** | **Исполнитель верификации** | **Степень верификации СОП** | **Результат работы** | **Комментарий руководителя коллекции** |
| 1 | одна из единиц хранения *Rhodococcus erythropolis* SHC 3-16 | Выявлено варьирование консистенции колоний | Бабич Т.Л., н.с., к.б.н. | 100% | Варьирование консистенции колоний сохранилось. По-видимому, это проявление фенотипической вариабельности. Целесообразны дополнительные исследования. | Верифицировано. Целесообразно проверить принадлежность колоний с разной консистенцией одному и тому же виду в соответствии с СОП по проверке аутентичности. |
| 2 | одна из единиц хранения *Rhizobium daejeonense* SHC 3-12 | Выявлена необходимость пересева в селективную жидкую среду для азотфиксаторов. | Бабич Т.Л., н.с., к.б.н. | 100% | Штамм пересеян в селективную жидкую среду для азотфиксаторов, отмечен хороший рост. | Верифицировано. |
| 3 | одна из единиц хранения *Dietzia dagingensis* 263 | Выявлено варьирование консистенции колоний. | Бабич Т.Л., н.с., к.б.н. | 100% | Варьирование консистенции колоний сохранилось. По-видимому, это проявление фенотипической вариабельности. Целесообразны дополнительные исследования. | Верифицировано. Целесообразно проверить принадлежность колоний с разной консистенцией одному и тому же виду в соответствии с СОП5. |
| 4 | одна из единиц хранения *Kocuria erythromyxa* A-44-3 | Выявлена необходимость пересева в селективную агаризованную среду. | Бабич Т.Л., н.с., к.б.н. | 100% | Штамм пересеян в подобранную селективную агаризованную среду, отмечен хороший рост. | Верифицировано. |
| 5 | одна из единиц хранения *Rhodococcus ruber* 14Н | Выявлено повреждение емкости единицы. | Соколова Д.Ш., н.с., к.б.н. | 100% | Пересеян из неповрежденной единицы хранения | Верифицировано. |
| 6 | одна из единиц хранения *Bacillus licheniformis* S8 | Выявлено повреждение емкости единицы. | Соколова Д.Ш., н.с., к.б.н. | 100% | Пересеян из неповрежденной единицы хранения | Верифицировано. |
| 7 | одна из единиц хранения *Paenibacillus glucanolyticu*s B2/38-4 | Пластиковые емкости неоптимальны для хранения. | Бабич Т.Л., н.с., к.б.н. | 100% | Пластиковые емкости заменены на стеклянные. | Верифицировано. |

Продолжение таблицы Б.5

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 8 | одна из единиц хранения *Rhodococcus fascian*s J1-4 | Выявлено повреждение емкости единицы. | Бабич Т.Л., н.с., к.б.н. | 100% | Пересеян из неповрежденной единицы хранения | Верифицировано. |
| 9 | единица хранения в криоконсервированном виде штамма *Methylocapsa acidiphila B2T* | Выявлена а неудовлетворительная сохранность жизнеспособности при криоконсервации | Белова С.Э., с.н.с., к.б.н. | 100% | Единица хранения восстановлена за счет замены из периодически пересеваемой культуры. | Верифицировано. |
| 10 | дубликат единиц хранения штамма *Methylovulum psychrotolerans* Sph1T в виде пересеваемой культуры | Выявлена контаминация. | Белова С.Э., с.н.с., к.б.н. | 100% | Единица изъята и заменена на чистую при посевах дубликатов без контаминации. | Верифицировано. |
| 11 | дубликат единицы хранения штамма *Fimbriiglobus ruber* SP5T (= LMG 29572T = VKM B-3045T) в виде пересеваемой культуры | Выявлены лизированные клетки в культуре. | Куличевская И.С., с.н.с. к.б.н. | 100% | Подобрана среда для посевов с увеличением содержанием катионов для уменьшения лизиса. | Верифицировано. По сути, проведена дополнительная исследовательская работа. |
| 12 | *Acidithiobacillus caldus* MBC-1 | При пересеве после 2-х месяцев хранения культуры обнаружено снижение скорости роста. | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Частота пересевов была увеличена до 1 раза в месяц. | Верифицировано. |
| 13 | дубликат единиц хранения *Ferroplasma acidiphilum* Y1 | Обнаружена контаминация культуры в виде палочек. | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Проведена очистка культуры с помощью фильтрации через мембранный фильтр с диаметром пор 0.22 мкм и методом предельных разведений. После очистки культуру *F*. *acidiphilum* подвергли проверке идентичности в соответствии с СОП5. | Верифицировано. |

Продолжение таблицы Б.5

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 14 | штамм бактерий-симбионтов безпозвоночных, поддерживаемый на богатой среде | Резкое снижение численности колониеобразующих клеток. | Мулюкин А.Л., рук. ЦКП, в.н.с., д.б.н. | 100% | Подобрана синтетическая среда со сниженным содержанием источников питания и эффективная для образования особых покоящихся клеток. Культуры на этой среде лучше хранятся. | Верифицировано. |
| 15 | штамм бактерий из бытовых помещений, устойчивый к обработке чистящими средствами | Резкое снижение численности колониеобразующих клеток при хранении в культурах на полноценной синтетической среде. | Мулюкин А.Л., рук. ЦКП, в.н.с., д.б.н. | 100% | Исходная синтетическая среда модифицирована и оказалась эффективной для образования особых покоящихся клеток. Культуры на этой среде лучше хранятся. | Верифицировано. |
| 16 | *Pseudomonas aurantiaca* 1558 | Подсыхание скошенного агара | Тихонова Е.Н., к.б.н.,н.с. | 100% | Штамм пересеян на плотной среде. Штамм заложен на длительное хранение в жидком азоте | Верифицировано. |
| 17 | изолят, близкий *к Bacillus pumilis*, из подледникового грунта оз. Унтерзее (Антарктида) | Снижение выхода спор в культурах, выросших на поверхности скошенного агара на основе богатойпитательной среды | Мулюкин А.Л., рук. ЦКП, в.н.с., д.б.н. | 100% | Штамм пересеян на разбавленной среде для усиления спорообразования. пересеян на плотной среде. Штамм заложен на длительное хранение в жидком азоте. | Верифицировано. |
| 18 | изолят бактерий (12) из подледникового грунта оз. Унтерзее (Антарктида) | Выявлено ослабление роста при многократных пересевах. | Мулюкин А.Л., рук. ЦКП, в.н.с., д.б.н.,Тихонова Е.Н., к.б.н.,н.с. | 100% | Штамм пересеян на оптимальную для роста бедную среду (с 5 кратным разбавлением питательных веществ) и заложени на длительное хранение в замороженном виде. | Верифицировано. Снижение эффективности периодических пересевов (вплоть до полной утраты) - распространенный случай при работе с изолятами из экзотических мест обитания, например, вечной мерзлоты. Целесообразно применять сразу несколько способов хранения таких штаммов. |

Продолжение таблицы Б.5

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 19 | единица хранения *Halomonas* AGD12 | Использование ватных пробок неоптимально для дальнейшего хранения культуры в жидкой среде из-за образования кристаллов соли. | Хижняк Т.В., и.о. зав. лаб., д.б.н. | 100% | Применена коррекция за счет увеличения объема среды и большей герметизации (ватные пробки заменены на резиновые) | Верифицировано. |
| 20 | единица хранения *Halomonas* AGD8 | Использование ватных пробок неоптимально для дальнейшего хранения культуры в жидкой среде из-за образования кристаллов соли. | Хижняк Т.В., и.о. зав. лаб., д.б.н. | 100% | Единица хранения откорректирована за счет увеличения объема среды и большей герметизации (ватные пробки заменены на резиновые) | Верифицировано. |
| 21 | единица хранения *Halomonas* AGD2 | Ослабление возобновления роста при пересевах 2 раза в год | Хижняк Т.В., и.о. зав. лаб., д.б.н. | 100% | Рекомендовано увеличить частоту пересевов 1 раз в 2 мес. | Верифицировано. |

Таблица Б.6 Верификация СОП по выделению штаммов микроорганизмов из разнообразных природных источников, в т.ч. экстремальных мест обитания

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Краткое описание штамма** | **Исполнитель верификации** | **Степень верификации СОП** | **Комментарии**  **и предложения по уточнению СОП** | **Результат работы** |
| 1 | изолят психротолерантных актинобактерий (Р28-9) из образца мерзлых отложений древних диатомовых глин скважины бугра пучения ( глубина отбора 28 - 29 м) на территории нефтегазоконденсатного месторождения Песцовое (п-ов Ямал). | Филиппова С.Н., и.о. в.н.с., к.б.н. | 100% | п.1. Требует расширения п.1 в отношении источников выделения микроорганизмов, включив такие системы как подземные льды. Следовало бы включить различные типы ледовых систем | Выделен и описан штамм *Pseudarthrobacter* sp. Р28-9. Предоставлен паспорт. Файл Паспорт Р28-9.xlsx |
| 2 | изолят психротолерантных актинобактерий (Р28-10) из образца мерзлых отложений древних диатомовых глин скважины бугра пучения ( глубина отбора 28 - 29 м) на территории нефтегазоконденсатного месторождения Песцовое (п-ов Ямал). | Филиппова С.Н., и.о. в.н.с., к.б.н. | 100% | п.1. Требует расширения п.1 в отношении источников выделения микроорганизмов, включив такие системы как подземные льды.  Следовало бы включить различные типы ледовых систем | Выделен и описан штамм *Pseudarthrobacter* sp. Р28-10. Предоставлен паспорт |
| 3 | изолят психротолерантиных актинобактерий (Р28-11) из образца мерзлых отложений древних диатомовых глин скважины бугра пучения ( глубина отбора 28 - 29 м) на территории нефтегазоконденсатного месторождения Песцовое (п-ов Ямал). | Филиппова С.Н., и.о. в.н.с., к.б.н. | 100% | п.1. Требует расширения п.1 в отношении источников выделения микроорганизмов, включив такие системы как подземные льды.  Следовало бы включить различные типы ледовых систем | Выделен и описан штамм Pseudarthrobacter sp. Р28-11. Предоставлен паспорт. Файл Паспорт 28-11.xlsx |

Продолжение таблицы Б.6

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 4 | изолят психротолерантиных актинобактерий (Р28-12) из образца мерзлых отложений древних диатомовых глин скважины бугра пучения ( глубина отбора 28 - 29 м) на территории нефтегазоконденсатного месторождения Песцовое (п-ов Ямал). | Филиппова С.Н., и.о. в.н.с., к.б.н. | 100% | п.1. Требует расширения п.1 в отношении источников выделения микроорганизмов, включив такие системы как подземные льды.  Следовало бы включить различные типы ледовых систем | Выделен и описан штамм *Pseudarthrobacter* sp. Р28-12. Предоставлен паспорт. Файл Паспорт Р28-12.xlsx |
| 5 | изолят психротолерантиных актинобактерий (Р28-14) из образца мерзлых отложений древних диатомовых глин скважины бугра пучения ( глубина отбора 28 - 29 м) на территории нефтегазоконденсатного месторождения Песцовое (п-ов Ямал). | Филиппова С.Н., и.о. в.н.с., к.б.н. | 100% | п.1. Требует расширения п.1 в отношении источников выделения микроорганимов, включив такие системы как подземные льды.  Следовало бы включить различные типы ледовых систем | Выделен и описан штамм *Pseudarthrobacter* sp. Р28-14. Предоставлен паспорт. Файл Паспорт Р28-14.xlsx |
| 6 | изолят психротолерантиных актинобактерий (Л2-17) из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия). | Филиппова С.Н., и.о. в.н.с., к.б.н. | 100% | п.1. Требует расширения п.1 в отношении источников выделения микроорганимов, включив такие системы как подземные льды.  Следовало бы включить различные типы ледовых систем | Выделен и описан штамм *Nocardioides* sp. Л2-17 Предоставлен паспорт. Файл Паспорт Л2-17.xlsx |
| 7 | изолят бактерий (3729к) из Мечигменских источников, Чукотка | Кочеткова Т.В., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Выделен штамм, предоставлен паспорт. Файл 3729k.xlsx |

Продолжение таблицы Б.6

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 8 | изолят бактерий (3757) из Чаплинских источников (Чукотка), идентифицированный как *Thermus thermophilus* | Кочеткова Т.В., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Выделен штамм, предоставлен паспорт.Файл 3757.xlsx |
| 9 | изолят азотфиксирующих бактерий из торфяной почвы с осушенной в 1979 г. части Дубненского болотного массива в Московской области, Россия, 56°42' с. ш., 37°50' в. д. | Тихонова Е.Н., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Выделен и описан штамм В1. Предоставлен паспорт. Файл Azospirillum sp. B1.xlsx |
| 10 | изолят термофильных метанокисляющих бактерий из осадка гидротермы, расположенной в кальдере вулкана Узон, Камчатка, Россия, N 59°29.854,, E 159°59.477, | Тихонова Е.Н., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Выделен и описан штамм S21. Предоставлен паспорт. Файл Methylothermus sp.S21.xlsx |
| 11 | изолят метанотрофных бактерий из почвы с берега оз.Титикака в районе г. Пуно, Перу | Тихонова Е.Н., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Выделен и описан штамм Am1. Предоставлен паспорт. Файл Methylocystis sp. Am1.xlsx |
| 12 | изолят метанотрофных бактерий из органического осадка из садка для рыб, плавучий остров, оз.Титикака в районе г. Пуно, Перу | Тихонова Е.Н., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Выделен и описан штамм Am2. Предоставлен паспорт. Файл Methylocystis sp. Am2.xlsx |

Продолжение таблицы Б.6

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 13 | изолят метанотрофных бактерий из донного осадка ручья в 200 м от берега р. Амазонка, в районе г. Пуно, Перу | Тихонова Е.Н., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Выделен и описан штамм Am5. Предоставлен паспорт. Файл Methylocystis sp. Am5.xlsx |
| 14 | изолят метанотрофных бактерий из почвы (на глубине 2 см) в 200 м от берега р. Амазонка, в районе г. Пуно, Перу | Тихонова Е.Н., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Выделен и описан штамм Am6. Предоставлен паспорт. ФайлMethylocystis sp. Am6.xlsx |
| 15 | штамм *Gordonia amiсalis* 6-1 из нагнетаемой воды (Черемуховское нефтяное месторождение, Нурлат, Татарстан) | Соколова Д.Ш., к.б.н., н.с. | 100% | Нет | Выделен и описан штамм *Gordonia amiсalis.* Предоставлен паспорт. Файл Gordonia amiсalis 6-1.xlsx |
| 16 | изолят *Roseomonas aestuarii* JR1/69-1-13 из подземных вод из наблюдательной скважины в районе поверхностного хранилища жидких радиоактивных отходов (оз. Карачай, г. Озерск, Челябинская обл., РФ) | Бабич Т.Л., к.б.н., н.с.; Соколова Д.Ш., к.б.н., н.с. | 100% | Нет | Выделен и описан штамм *Roseomonas aestuarii* JR1/69-1-13 из подземных вод. Предоставлен паспорт. Файл Roseomonas aestuarii JR 1-69-1-13.xlsx |

Продолжение таблицы Б.6

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 17 | штамм *Shewanella xiamenensis* DCB2-1 из подземных вод из наблюдательной скважины в районе законсервированного поверхностного хранилища жидких радиоактивных отходов (г. Северск, Томской обл., РФ) | Бабич Т.Л., к.б.н., н.с. | 100% | Нет | Выделен и описан штамм *Shewanella xiamenensis* DCB2-1. Предоставлен паспорт. Файл |
| 18 | *Alicyclobacillus tolerans 41A* | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм выделен, начато изучение его свойств. Предоставлен паспорт. Файл Alicyclobacillus tolerans 41A.xlsx |
| 19 | *Sulfobacillus sp. Bestobe* | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм выделен, начато изучение его свойств. Предоставлен паспорт. Файл Alicyclobacillus tolerans 41A.xlsx |
| 20 | изолят бактерий ENR 4, выделенный в чистую культуру и являющийся спутником ранее описанного микроорганизма | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм выделен, начато изучение его свойств. Предоставлен паспорт. Файл Hydrogenophilaceae isolate 1.xlsx |

Продолжение таблицы Б.6

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 21 | изолят бактерий (под названием Gargensis), выделенный в чистую культуру и являющийся спутником ранее описанного микроорганизма | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм выделен, начато изучение его свойств. Предоставлен паспорт. Файл Hydrogenophilaceae isolate 2.xlsx |
| 22 | изолят бактерий (под названием Uzonensis), выделенный в чистую культуру и являющийся спутником умеренно-термофильного нитрификатора “Ca. *Nitrosotenuis uzonensis*” | Булаев А.Г., и.о. зав. лаб., к.б.н. | 100% | Нет | Штамм выделен, начато изучение его свойств. Предоставлен паспорт. Файл Hydrogenophilaceae isolate 3.xlsx |
| 23 | изолят бактерий из воды оз. Унтерзее (Антарктида) | Васильева Л.В., с.н.с., д.б.н. | 100% | Нет | Выделен и описывается новый штамм *Cryobacterium* sp. Предоставлен паспорт. Файл Копия Cryobacterium sp.штамм 0217.xlsx |
| 24 | изолят психротолерантных бактерий из льда скважины с глубины 28м, Мамонтова гора, Сибирь | Берестовская Ю.Ю., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Выделен и описывается новый штамм *Methylorosula* sp. Предоставлен паспорт. Файл Копия Methylorosula штамм М 0117.xlsx |

Продолжение таблицы Б.6

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 25 | изолят актинобактерий из болотных почв заполярной тундры Аляски | Берестовская Ю.Ю., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Выделен и описывается штамм родококков с потенциалом использования для биоремедиации. Предоставлен паспорт. Файл Копия Rhodococcus sp.штамм 0312.xlsx |
| 26 | изолят актинобактерий из торфяной почвы тундры России (п-ов Ямал) | Берестовская Ю.Ю., н.с., к.б.н. | 100% | Нет | Выделен и описывается штамм родококков с потенциалом использования для биоремедиации. Предоставлен паспорт. Файл Копия Rhodococcus sp.штамм 0212.xlsx |
| 27 | изолят А1 галоалкалофильных архей из гипер-соленого озера Кулунды, выделен на арабинане | Сорокин Д.Ю., и.о. г.н.с., д.б.н. | 100% | Нет | Выделен и описан штамм А1, идентификация показала родство с *Natronolimnobius baerhaense*. Предоставлен паспорт. Файл галоархея \_штаммА1.xls |
| 28 | изолят А2 галоалкалофильных архей из гипер-соленого озера Кулунды, выделен на арабинане | Сорокин Д.Ю., и.о. г.н.с., д.б.н. | 100% | Нет | Выделен и описан штамм А2, идентификация показала родство с *Natronolimnobius baerhaense*. Предоставлен паспорт. Файл галоархея \_штаммА2.xls |

Продолжение таблицы Б.6

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 29 | изолят А6 галоалкалофильных архей из гипер-соленого озера Кулунды, выделен на арабинане | Сорокин Д.Ю., и.о. г.н.с., д.б.н. | 100% | Нет | Выделен и описан штамм А6, идентификация показала родство с *Natronolimnobius baerhaense*. Предоставлен паспорт. Файл галоархея \_штаммА6.xls |
| 30 | изолят А3 галоалкалофильных архей из гипер-соленого озера Кулунды, выделен на арабинане | Сорокин Д.Ю., и.о. г.н.с., д.б.н. | 100% | Нет | Выделен и описан штамм А3, идентификация показала родство 97% с *Natrialba wudunaoensis*. Предоставлен паспорт. Файл галоархея \_штаммА3.xls |
| 31 | изолят А4 галоалкалофильных архей из гипер-соленого озера Кулунды, выделен на арабинане | Сорокин Д.Ю., и.о. г.н.с., д.б.н. | 100% | Нет | Выделен и описан штамм А3, идентификация показала родство 97% с *Natrialba wudunaoensis*. Предоставлен паспорт. Файл галоархея \_штаммА4.xls |
| 32 | изолят H8 галонатроно архей из гипер-соленого озера, выделен на маннане | Сорокин Д.Ю., и.о. г.н.с., д.б.н. | 100% | Нет | Выделен и описан штамм Н8, идентификация показала родство 94-95% с Haloterrigena/Halovivax/Halovarius. Предоставлен паспорт. Файл галоархея \_штаммА6.xls |

**Общий комментарий** руководителя коллекции: СОП верифицирована, а представленные паспорта рекомендованы к размещению в соответствующем разделе на странице ЦКП «Коллекция UNIQEM» на сайте базовой организации.

Таблица Б.7 Верификация СОП по микроскопированию культур и клеточных суспензий (в том числе, с применением флуоресцентных красителей)

Комментариев и предложений по уточнению формулировок нет.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Объект** | **ФИО заказчика** | **Исполнитель верификации СОП,** | **Степень верификации СОП** | **Результат работы в соответствии с СОП** |
| 1 | культура изолята термофилов из источников Камчатки | Перевалова А.А | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Получены оцифрованные изображения клеточных суспензий и исследована морфология клеток в соответствии с п. 2.2. |
| 2 | накопительная культура термофильных метанотрофов | Тихонова Е.Н. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проведена оценка культуры в соответствии с п. 2.2. Получены изображения препарата в соответствии с п. 2.4. |
| 3 | накопительная культура нитритокисляющих микроорганизмов для анализа методом FISH с флуоресцентно-мечеными зондами | Козяева В.В. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проверено и подтверждено наличие клеток целевого рода, меченых флуоресцентным красителем в соответствии с п. 2.3. Получены изображения препаратов в соответствии с п. 2.2 |
| 4 | накопительная культура нитритокисляющих микроорганизмов | Лебедева Е.В. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проведена оценка культуры в соответствии с п. 2.3. Получены изображения препарата в соответствии с п. 2.4. |

Продолжение таблицы Б.7

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 5 | фильтрат воды прибрежной зоны Черного моря на фильтре, окрашенного акридином оранжевым препарата, для подсчета численности клеток | Русанов И.И. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Сделана серия фото для дальнейшего подсчета клеток в препарате в соответствии с п. 2.4. |
| 6 | накопительная культуры на магнетите, препарат окрашен акридином оранжевым для подсчета численности клеток | Заварзина Д. Г. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Просмотрены препараты с различными характеристиками сред в соответствии с п. 2.3. Получены изображения в соответствии с п. 2.4. |
| 7 | чистая культура дрожжей для оценки чистоты и характера роста в различных условиях. | Уланова Р.В. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Произведена визуальная оценка культуры в соответствии с п. 2.2. Получены изображения в соответствии с п. 2.4. |
| 8 | накопительная культура аммоний-окисляющих микроорганизмов | Лебедева Е.В. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проведена оценка культуры в соответствии с п. 2.2. Получены изображения препарата в соответствии с п. 2.4. |
| 9 | Накопительная культура, КМЦ | Гаврилов С.Н. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проведена оценка культуры, в соответствии с п. 2.2. Получены изображения препарата в соответствии с п. 2.4. |
| 10 | накопительная культура метанотрофных бактерий для анализа методом FISH с флуоресцентно-мечеными зондами | Менько Е.В. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проверено и подтверждено наличие клеток целевого рода, меченых флуоресцентным красителем, в соответствии с п. 2.3. Получены изображения препаратов, в соответствии с п. 2.4. |
| 11 | биопленка на стекле, окрашенная акридином оранжевым | Мартьянов С.В. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Выявлены особенности роста биопленки на стекле, в соответствии с п. 2.3. Получены изображения в соответствии с п. 2.4. |
| 12 | чистая культура бактерий для оценки количества живых и мертвых клеток | Лойко Н.Г. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проведена оценка культуры в соответствии с п. 2.3. Получены изображения препарата в соответствии с п. 2.4. |

Продолжение таблицы Б.7

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 13 | накопительная культура анаммокс бактерий | Никитина А.А. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Сделана серия фото для дальнейшего подсчета клеток в препарате в соответствии с п. 2.4. |
| 14 | фильтрат воды из разных глубин Балтийского моря на фильтре, окрашеном акридином оранжевым | Русанов И.И. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Сделана серия фото для дальнейшего подсчета клеток в препарате в соответствии с п. 2.4. |
| 15 | накопительная культура анаэробных бактерий | Паршина С.Н. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проведена оценка культуры в соответствии с п. 2.2. Получены изображения препарата в соответствии с п. 2.4. |
| 16 | накопительная культура для анализа методом FISH с флуоресцентно-мечеными зондами | Каллистова А.Ю. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Сделана серия фото для дальнейшего подсчета клеток в препарате в соответствии с п. 2.4. |
| 17 | смыв с бактериями с поверхности личинок мух | Уланова Р.В. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Произведена визуальная оценка морфологических форм культуры в соответствии с п. 2.2. Получены изображения в соответствии с п. 2.4. |
| 18 | чистая культура Бактерий рода *Azospirillum* | Тихонова Е.Н. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Просмотрены препараты с различными характеристиками сред в соответствии с п. 2.2. Получены изображения в соответствии с п. 2.4. |
| 19 | образец активного ила для анализа методом FISH с флуоресцентно-мечеными зондами EUBmix | Менько Е.В. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Произведен подсчет клеток целевого рода, меченых флуоресцентным красителем в соответствии с п. 2.3. Получены изображения препаратов в соответствии с п. 2.4. |
| 20 | накопительная культура термофильных прокариот | Гаврилов С.Н. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Микроскопия культуры. в соответствии с п. 2.3. Получены изображения для дальнейшего анализа в соответствии с п. 2.4. |

Продолжение таблицы Б.7

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 21 | чистая культура дрожжей рода *Rhodotorula* | Уланова Р.В. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Произведена визуальная оценка морфологических форм культуры в соответствии с п. 2.2. Получены изображения в соответствии с п. 2.4. |
| 22 | зрелые биопленки, окрашенные акридином оранжевым | Журина М.В. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проведена микроскопия культуры в соответствии с п. 2.3. Сняты фото в соответствии с п. 2.4. |
| 23 | чистая культура коллекционного штамма метанотрофов | Менько Е.В. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проведена оценка чистоты культур в соответствии с п. 2.2. |
| 24 | чистая культура бактерий рода *Rhodococcus* для оценки жизнеспособности при прокрашивании красителем Live/Dead | Мулюкин А.Л. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Получены данные по соотношения живых и мертвых клеток в соответствии с п. 1.6.1 |
| 25 | чистая культура бактерий рода *Microbacterium* | Филиппова С.Н. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проведена оценка чистоты культур в соответствии с п. 2.2. |
| 26 | чистые культуры дрожжей различных родов | Мысякина И.С. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Подобран объектив для культуры в соответствии с п.2.2.2. Выявлены различные жизненные формы дрожжей, в соответствии с п. 2.2. Получены изображения в соответствии с п. 2.4. |
| 27 | чистая культура метаногенных бактерий | Гаврилов С.Н. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Подобран фильтр для отраженного света для детекции метаногенных бактерий в соответствии с п. 2.3.5. Получены изображения в соответствии с п. 2.4. |
| 28 | Почвенная суспензия, окрашенная DAPI | Менько Е.В. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Посчитаны клетки окрашенные красителем, с помощью микроскопии в соответствии с п. 2.3 |

Продолжение таблицы Б.7

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 29 | накопительная культура дрожжей, выращенных на отходах крахмало-паточного производства | Уланова Р.В. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Получены изображения накопительной культуры в соответствии с п. 2.4. |
| 30 | накопительная культура термофильных архей для анализа методом FISH с флуоресцентно-мечеными зондами | Перевалова А.А. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проведена оценка содержания окрашенных клеток в культуре в соответствии с п. 2.3. Получены изображения препарата в соответствии с п. 2.4. |
| 31 | препарат кишечника личинок мух | Уланова Р.В. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Произведена оценка морфологии клеток культуры в соответствии с п. 2.2. Получены изображения в соответствии с п. 2.4. |
| 32 | препарат фильтрата воды Баренцева моря на фильтре, о окрашеном акридином оранжевым | Русанов И.И. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Сделана серия фото для дальнейшего подсчета клеток в препарате в соответствии с п. 2.4. |
| 33 | накопительная культура нитритокисляющих микроорганизмов | Лебедева Е.В. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проведена оценка культуры в соответствии с п. 2.2. Получены изображения препаратов в соответствии с п. 2.4. |
| 34 | чистая культура *Arthrobacter agilis* в условиях голодания для оценки жизнеспособности при прокрашивании красителем Live/Dead | Мулюкин А.Л. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проведен анализ численности живых и мертвых клеток в соответствии с п. 1.6.1 методом в соответствии с п. 2.3 |
| 35 | препарат фильтрата воды Балтийского моря на мембранном фильтре для анализа методом FISH с флуоресцентно-мечеными зондами | Канапацкий Т.А. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проведена оценка содержания окрашенных клеток в культуре в соответствии с п. 2.3. Получены изображения препарата в соответствии с п. 2.4. |

Продолжение таблицы Б.7

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 36 | образец активного ила для анализа методом FISH с флуоресцентно-мечеными зондами для выявления различных родов нитрификаторов | Каллистова А.Ю. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Сделана серия фото для дальнейшего подсчета клеток в препарате в соответствии с п. 2.4. |
| 40 | накопительная культура железоредуцирующих бактерий для анализа методом FISH с флуоресцентно-мечеными зондами | Булаев А.Г. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проверено и подтверждено наличие клеток целевого рода, меченых флуоресцентным красителем в соответствии с п. 2.3. Получены изображения препаратов в соответствии с п. 2.4. |
| 41 | накопительная культура микроорганизмов в среде с различными минералами | Жилина Т.Н. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проведена оценка культуры в соответствии с п. 2.2. Получены изображения препарата в соответствии с п. 2.4. |
| 42 | накопительная культура термофильных аноксигенных нитчатых фототрофных бактерий | Гайсин В.А. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проведена оценка культуры в соответствии с п. 2.2. Получены изображения препарата в соответствии с п. 2.4. |
| 43 | препарат фильтрата воды, окрашенный акридином оранжевым | Веслополова Е.Ф. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Получены оцифрованные изображения для дальнейшего подсчета клеток в препарате в соответствии с п. 2.4. |
| 44 | препарат активного ила лабораторного реактора для выявления анаммокс-бактерий | Бочкова Е.А. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проверено и подтверждено наличие клеток целевого рода, меченых флуоресцентным красителем в соответствии с п. 2.3. Получены изображения препаратов в соответствии с п. 2.4. |
| 45 | препарат торфяных почв для FISH-анализа для выявления эубактерий и метанотрофов | Менько Е.В. | Менько Е.В., н.с., к.б.н. | 100% | Проведена микроскопия культуры в соответствии с п. 2.3. Сняты фото в соответствии с п. 2.4. |

**Общий комментарий** руководителя коллекции: Описание СОП может быть базовым для разработки СОП, предназначенных для других НИР с привлечением световой микроскопии и не относящихся к коллекционной работе.

Таблица Б.8 Верификация СОП по электронно-микроскопическому исследованию ультратонких срезов клеток микроорганизмов

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Обозначение предоставленного объекта (препарата)** | **Описание** | **Исполнитель верификации СОП** | **Степень верификации СОП** | **Комментарии и предложения по уточнению СОП** | **Результат работы в соответствии с СОП** |
| 1 | *Vibriolinea sp.* | культура изолята из озера Киран для изучения морфологии | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр. | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 2 | *Methanospirillum sp.* | культура изолята для изучения морфологии | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр. | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 3 | *Methanosarcina* sp. Pr I | тест-культура для научных исследований | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 4 | *Methanosarcina* sp. Pr II | тест-культура для научных исследований | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 5 | *Sphaerochaeta* sp. | тест-культура для научных исследований | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр. | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 6 | *Staphylococcus aureus* шт 209 Р | тест-культура для научных исследований | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр. | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 7 | *E.coli* шт. К-12 | тест-культура для научных исследований, контрольный препарат -А | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 8 | *E.coli* шт. К-12 | тест-культура для научных исследований, после стресса - Б | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |

Продолжение таблицы Б.8

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 9 | *E.coli* шт. К-12 | тест-культура для научных исследований, после стресса - В | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 10 | *E.coli* шт. К-12 | тест-культура для научных исследований, после стресса - Ж | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр. | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 11 | *E.coli* шт. К-12 | тест-культура для научных исследований, после стресса - Е | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр. | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 12 | *Chloroflexi* bacterium Um-14 | изолят из термального источника Утхеи | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр. | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 13 | *Chloroflexus aurantiacus* Ga-14 | изолят из термального источника Утхеи | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр. | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 14 | *Roseiflexus* sp. аl-14 роз. | изолят из природных мест обитания | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр. | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 15 | *Roseiflexus* sp. аl-15 желт. | изолят из природных мест обитания | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 16 | Mega Sphera Colom | неидентифицированные галоархеи (соленые озера юг РФ и Алтайский край.) | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр. | Получены электроннограммы исследованных объектов. |

Продолжение таблицы Б.8

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 17 | Super - GAO | образец культуры из биореактора | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 18 | J - isol. I | образец культуры из биореактора | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 19 | РАО -1 | неидентифицированные натроноархеи (содовые озера Алтайский край.) | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 20 | РАО - 2 | неидентифицированные натроноархеи (содовые озера Алтайский край.) | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр. | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 21 | РАО - 3 | неидентифицированные натроноархеи (содовые озера Алтайский край.) | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 22 | Mitchell | неидентифицированные натроноархеи (содовые озера Алтайский край.) | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр. | Получены электроннограммы исследованных объектов |
| 23 | Etanol OH | неидентифицированные натроноархеи (содовые озера Алтайский край.) | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов |
| 24 | *Leptospirillum ferriphilum* | тест-культура для научных исследований | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов |
| 25 | *Methanothermobacter* sp. СП 1 | тест-культура для научных исследований | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет  Нет  Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |

Продолжение таблицы Б.8

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 26 | *Ferroplasma acidiphillum* | тест-культура для научных исследований | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр.  Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 27 | *Sulfobacillus thermotolerans* | тест-культура для научных исследований | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет  Нет  Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 28 | *Alicyclobacillus tolerans* | тест-культура для научных исследований | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр.  Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 29 | *Leptospirillum ferriphillum* | тест-культура для научных исследований | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 30 | *Acidiferrobacter thiooxidans* | тест-культура для научных исследований | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 31 | *E.coli* шт. К-12 | тест-культура для научных исследований: воздействие БАВ, концентрация 1 | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов |
| 32 | *E.coli* шт. К-12 | тест-культура для научных исследований: воздействие БАВ, концентрация 2 | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр. | Получены электроннограммы исследованных объектов |
| 33 | *E.coli* шт. К-12 | тест-культура для научных исследований: воздействие БАВ, концентрация 3 | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 34 | *E.coli* шт. К-12 | тест-культура для научных исследований: воздействие БАВ концентрация 4 | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр. | Получены электроннограммы исследованных объектов. |

Продолжение таблицы Б.8

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 35 | *E.coli* шт. К-12 | тест-культура для научных исследований: воздействие БАВ концентрация 5 | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 36 | *Pogonophora* sp. | культура, выделенная из поля метановых сипов, море Лаптевых | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр. | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 40 | *Thermococcus* sp. | чистая культура из глубоководной морской гидротерма спрединговый центр Лау (Тихий Океан) | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов |
| 41 | *Mycobacterium* sp. AGS10 | накопительная культура микобактерий, выделенных из серных карт Астраханского газоконденсаторного комплекса | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов |
| 42 | *Mycobacterium* sp. AGS17 | накопительная культура микобактерий, выделенных из серных карт Астраханского газоконденсаторного комплекса | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов |
| 43 | New genus Aliibacter caloratus | культура изолята из гор. скважины, г. Томск | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Нет | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 44 | *Proteinivorax hydrogeniformans* Z-710 | штамм, выделенный из озера Танатары (Россия) | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр | Получены электроннограммы исследованных объектов. |
| 45 | 38H-str New order in *Bacteroidetes* | штамм из о. Кунашир, Камчатка | Кострикина Н.А., с.н.с. | 100% | Потребовался повтор процедур: изготовление срезов, их контрастирование и просмотр | Получены электроннограммы исследованных объектов. |

**Общий комментарий** руководителя коллекции: Возможность повтора определенных манипуляций следует предусмотреть при планировании работ.

Таблица Б.9. Верификация СОП по идентификации штаммов микроорганизмов методом секвенирования маркерных последовательностей

Работа выполнена в Лаб. молекулярной диагностики (ЦКП Биоинженерия) по заказу со стороны ЦКП "Коллекция UNIQEM".

СОП полностью верифицирована в экспериментах.

Комментариев и предложений по уточнению формулировок СОП не поступило.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Описание штамма или изолята** | **Исполнитель верификации СОП,** | **Результат работы в соответствии с СОП** |
| 1 | изолят актинобактерий (Л2-1), выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии блестящие, слегка выпуклые с ровным краем, беловатые с желтоватым оттенком. Клетки проходят характерный для немицелиальных форм актинобактерий цикл развития (кокк-палочка-кокк); отличаются характерной V-образной группировкой клеток. | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель рода *Microbacterium.* |
| 2 | изолят актинобактерий (Л2-2), выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии блестящие, слегка выпуклые с ровным краем, беловатые с желтоватым оттенком. Клетки проходят характерный для немицелиальных форм актинобактерий цикл развития (кокк-палочка-кокк); отличаются характерной V-образной группировкой клеток. | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Microbacterium.* |
| 3 | изолят спорообразующих грамположительных бактерий (Л2-3), выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии уплощенные, матовые, беловатого цвета. Клетки палочковидные, бациллярного типа. | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Bacillus*. |

Продолжение таблицы Б.9

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 4 | изолят актинобактерий (Л2-4) , выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии блестящие, слегка выпуклые с ровным краем, беловатые . Клетки проходят характерный для немицелиальных форм актинобактерий цикл развития (кокк-палочка-кокк); отличаются характерной V-образной группировкой клеток. | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Kocuria*. |
| 5 | изолят грамоположительных, неспорообразующих, подвижных коккообразных бактерий (Л2-5), выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии блестящие, выпуклые, оранжевоокрашенные. По своей морфологии представляли собой подвижные кокки, часто сдвоенные или одиночные (диаметр до 2-3 мкм) | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Planococcus.* |
| 6 | изолят спорообразующих грамположительных бактерий (Л8-5), выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии плоские, мелкие, (диаметр около 1.5 - 2 мм), полупрозрачные, с неровными краями в виде налета. Клетки - мелкие палочки, сгруппированы в цепочки по 4 - 5 клеток в одном слизеподобном чехле; на 2 - 3 сутки формируют споры. | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Carnobacterium*. |
| 7 | изолят спорообразующих грамположительных бактерий (Л8-6), выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии уплощенные, матовые, беловатого цвета. Клетки палочковидные, бациллярного типа. | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Bacillus*. |

Продолжение таблицы Б.9

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 8 | изолят спорообразующих грамположительных бактерий (Л2-8), выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии матовые, беловатого цвета, слегка выпуклые. Клетки -палочковидные, неподвижные, тонкие ( размер 2 × 0.5 мкм), сгруппированы в уепочки по 2 -3 клетки; образуют споры. | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Paenibacillus*. |
| 9 | изолят актинобактерий (Л2-9), выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии блестящие, слегка выпуклые с ровным краем, беловатые . Клетки проходят характерный для немицелиальных форм актинобактерий цикл развития (кокк-палочка-кокк); отличаются характерной V-образной группировкой клеток. | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Kocuria*. |
| 10 | изолят грамотрицательных палочковидных бактерий (Л2-10), выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии слегка выпуклые беловатые. Клетки - мелкие палочки ( 1 × 0.5 мкм) одиночные, редко сдвоенные. | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Methylobacterium*. |
| 11 | изолят грамотрицательных палочковидных бактерий (Л7-2), выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) голоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии слизистые, беловатые с палевым оттенком, неровным краем. | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Moraxella*. |
| 12 | изолят актинобактерий (Л2-15), выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии блестящие, слегка выпуклые с ровным краем, беловатые . Клетки проходят характерный для немицелиальных форм актинобактерий цикл развития (кокк-палочка-кокк); отличаются характерной V-образной группировкой клеток. | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Kocuria*. |

Продолжение таблицы Б.9

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 13 | изолят актинобактерий (Л2-16) , выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии блестящие, слегка выпуклые с ровным краем, беловатые с желтоватым оттенком. Клетки проходят характерный для немицелиальных форм актинобактерий цикл развития (кокк-палочка-кокк); отличаются характерной V-образной группировкой клеток. | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Microbacterium*. |
| 14 | изолят актинобактерий (Л2-17), выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии слегка выпуклые, беловатые, матовые. Изолят способен к формированию мицелия в виде слабого налета беловатого цвета. Клетки палочковидные, способны к ветвлению, в старых культурах формируют полиморфные клетки. | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Nocardioides*. |
| 15 | изолят актинобактерий Л2-17(1) , выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии слегка выпуклые, беловатые, матовые. Изолят способен к формированию мицелия в виде слабого налета беловатого цвета. Клетки палочковидные, способны к ветвлению, в старых культурах формируют полиморфные клетки. | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Nocardioides*. |
| 16 | изолят актинобактерий (Л2-18), выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии блестящие, слегка выпуклые с ровным краем, красновато-розоватые. Клетки проходят характерный для немицелиальных форм актинобактерий цикл развития (кокк-палочка-кокк); отличаются характерной V-образной группировкой клеток. | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Dietzia*. |

Продолжение таблицы Б.9

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 17 | изолят актинобактерий (Л2-19), выделенный из образца повторно-жильного льда (ПЖЛ) плейстоценового возраста обнажения Мамонтова гора (Центральная Якутия. Колонии блестящие, слегка выпуклые с ровным краем, красновато-розоватые. Клетки проходят характерный для немицелиальных форм актинобактерий цикл развития (кокк-палочка-кокк); отличаются характерной V-образной группировкой клеток. | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.; Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Dietzia*. |
| 18 | изолят термофилов из горячего источника Чукотки | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель вида *Methanothermobacter marburgensis.* |
| 19 | изолят термофилов из горячего источника Чукотки | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель вида *Methanothermobacter marburgensis.* |
| 20 | изолят термофилов из горячего источника Чукотки | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Микроорганизм не был идентефицирован, так как бактериальный компонент представлял собой смесь ДНК-матриц. |
| 21 | изолят термофилов из горячего источника Чукотки | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель вида  *Thermogutta terrifontis.* |
| 22 | изолят термофилов из горячего источника Чукотки | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель вида  *Thermogutta terrifontis.* |
| 23 | изолят термофилов из горячего источника Чукотки | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель вида  *Thermogutta terrifontis.* |
| 24 | изолят термофилов из горячего источника Чукотки | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Микроорганизм не был идентефицирован, так как бактериальный компонент представлял собой смесь ДНК-матриц. |
| 25 | изолят термофилов из горячего источника Чукотки | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Микроорганизм не был идентефицирован, так как бактериальный компонент представлял собой смесь ДНК-матриц. |
| 26 | изолят бактерий с высокой протеолитической активностью | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель вида *Bacillus cereus.* |

Продолжение таблицы Б.9

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 27 | изолят бактерий с высокой протеолитической активностью | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель вида *Bacillus licheniformis.* |
| 28 | изолят бактерий с высокой липолитической активностью | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель вида *Bacillus subtilis.* |
| 29 | изолят бактерий с высокой липолитической активностью | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель вида *Bacillus cereus.* |
| 30 | изолят бактерий с высокой углеводородокисляющей активностью | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель вида *Gordonia cholesterolivorans.* |
| 31 | изолят бактерий с высокой углеводородокисляющей активностью | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель вида *Gordonia cholesterolivorans.* |
| 32 | изолят бактерий с высокой углеводородокисляющей активностью | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель вида *Pseudomonas aeruginosa.* |
| 33 | изолят термофилов из горячего источника подножия вулкана Мутновский п-ва Камчатка | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель нового рода, близкого к р. *Thermoanaerobacterium* |
| 34 | изолят прокариот из гипер-соленого содового озера, натроноархея (выделена на крахмале) | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Идентифицирован как представитель рода *Natronomonas* sp. |
| 35 | протеолитический штамм гипертермофильной бактерии | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель вида *Fervidibacterium changbaicum* |
| 36 | органоторофный изолят из гидротерм Чукотки | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель вида *Litorilinea aerophila* |
| 37 | органоторофный изолят из гидротерм Чукотки | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован до уровня филума. |
| 38 | органоторофный изолят из гидротерм Чукотки | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С.,  вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.; Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель вида *Dictyoglomus thermophilus.* |
| 39 | органоторофный изолят из гидротерм Чукотки | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель вида *Dictyoglomus thermophilus.* |

Продолжение таблицы Б.9

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 40 | изолят гипертермофила из гидротерм Чили | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель вида *Thermosphaera aggregans.* |
| 41 | изолят гипертермофила из гидротерм Чили | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель рода *Thermophilum.* |
| 42 | изолят гипертермофила из гидротерм Чили | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представительрода *Pyrobaculum.* |
| 43 | гидролитический штамм термофильной бактерии из Чукотки | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель сем. *Xantomonadaceae.* |
| 44 | гидролитический штамм термофильной бактерии из Чукотки | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель сем. *Xantomonadaceae.* |
| 45 | гидролитический штамм термофильной прокаритоты из Чукотки | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят не идентифицирован, необходим повторный сиквенс гена 16S рРНК |
| 46 | хемолитоавтотрофная термофильная бактерия из Чукотки | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель вида *Thermus thermophilus.* |
| 47 | изолят термофилов из горячего источника Долины Гейзеров | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель вида *Caloramator australicus.* |
| 48 | изолят термофилов из горячего источника Долины Гейзеров | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель вида *Methanothermobacter thermautotrophicus.* |
| 49 | изолят термофилов из горячего источника Долины Гейзеров | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель вида *Thermodesulfobium acidiphilum.* |
| 50 | изолят термофилов из горячего источника Оранжевого поля кальдера Узон | Колганова Т.В., с.н.с, к.т.н.; Груздев Д.С., вр.и.о. зав.лаб., к.б.н.;  Баслеров Р.В., м.н.с., б/c | Изолят идентифицирован как представитель вида *Thermodesulfobium acidiphilum.* |

**Общий комментарий** руководителя коллекции: Существенно, что описание СОП определяет порядок действий при возникновении проблем, которые могут возникнуть в ходе молекулярно-генетического анализа.

ПРИЛОЖЕНИЕ В

ПРИМЕРЫ ЗАПОЛНЕННЫХ ПАСПОРТОВ

Таблица В.1 Пример паспорта на новые штаммы, охарактерзованные по разработанным СОП: Изолят из осадков гиперсоленого озера

|  |  |
| --- | --- |
| **Сведения о штамме** | **Информация** |
| **Тип** микроорганизмов (Бактерии, Археи, Грибы, Дрожжи, Водоросли, Вирусы) | Археи |
| **Номер штамма в коллекции** | A1 |
| **Депозитор** (организация, физическое лицо) **или коллекция, из которой получен штамм** | Сорокин ДЮ, ФИЦ Биотехнологии РАН |
| **Дата введения штамма в коллекцию** | в коллекции UNIQEM c 2017 г. |
| **Оригинальное (авторское) обозначение штамма** | A1 |
| **Группа патогенности** | нет |
| **Группа риска (Risk group)** | не патогенен |
| **Сведения о безопасности штамма (**если имеются) | не патогенен |
| **Номера штамма** в российских и зарубежных коллекциях |  |
| **Род** | *Natronolimnobius* |
| Публикации, касающиеся определения рода (с указанием библиографии, ссылки на интернет-ресурс и DOI) |  |
| **Вид** (для штаммов, идентифицированных на данном таксономическом уровне) | *baerhaense* |
| **Подвид (вариант)** (для штаммов, идентифицированных на данном таксономическом уровне) |  |
| Ссылки на публикации, касающиеся описания вида (подвида, варианта)(с указанием библиографии, ссылки на интернет-ресурс и DOI) |  |
| **Типовой штамм** | нет |
| **Синонимы** |  |
| **Название других классификационных категорий (серовар, раса и т. д.)** |  |
| **Другие известные названия штамма** |  |
| **Источник выделения** | осадки гипер-соленого содового озера |
| **Страна происхождения штамма** (на русском и английском языках) | Кулундинская степь, РФ |

Продолжение таблицы В.1

|  |  |
| --- | --- |
| **Дата выделения штамма** | 2017 |
| **Кем выделен** (ФИО лица/лиц, выделивших штамм) | Сорокин Д.Ю. |
| **Кем идентифицирован** (ФИО лица/ лиц, идентифицировавших штамм) | Сорокин Д.Ю. |
| **Условия культивирования** (среда, газовая атмосфера, рН, температура, срок выращивания и т.д.). | минеральная среда на карбонатном/хлоридном буфере, 4 М Na+, pH 9.5, арабинан в качестве субстрата; аэроб; |
| Особые требования к условиям культивирования | качалка, 37оС |
| Методы и режимы консервации и хранения |  |
| Статус штамма | для научных целей |
| **Таксономическая принадлежность** |  |
| Царство: | *Archaea* |
| Филум: | *Euryarchaeota* |
| Класс: | *Halobacteria* |
| Подкласс (если имеется): |  |
| Порядок: | *Natrialbales* |
| Подпорядок (если имеется): |  |
| Семейство: | *Natrialbaceae* |
| **Ключевые молекулярно-генетичесиие и фенотипические характеристики, определенные у штамма (в соответствии с типом микроорганизмов):** |  |

Продолжение таблицы В.1

|  |  |
| --- | --- |
| **Номера депонирования последовательностей ДНК в ГенБанке (для прокариот: 16S рРНК, «housekeeping» гены, состав ГЦ-оснований и т.д.)** |  |
| **Последовательности ДНК (при отсутствии номеров депонирования в ГенБанке)** | GGAACGTGAAATGTTCAGGCGCCAGAGGATGTGGCTGCGGCCGATTAGGTAGACGGTGGGGTAACGGCCCACCGTGCCAGTAATCGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGACGGTATCTGAGACAAGATACCGGGCCCTACGGGGCGCAGCAGGCGCGAAACCTTTACACTGCACGAGAGTGCGATAAGGGGACTCCGTGTGCGAGGGCATATAGTCCTCGCTTTTCACCACCGTAAGGTGGTGGTGGAATAAGTGCTGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCGGTAATACCGGCAGCACGAGTGATGACCGCTATTATTGGGCCTAAAGCGTCCGTAGCTGGCCAGGCAAGTCCATCGGGAAATCCGCGTGCTTAACGCGCGGGCGTCCGGTGGAAACTGGGTGGCTTGGGACCGGAAGACCAGAGGGGTACGTCTGGGGTAGGAGTGAAATCCCGTAATCCTGGACGGACCACCGGTGGCGAAAGCGCCTCTGGAAGACGGATCCGACGGTGAGGGACGAAAGCTCGGGTCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCGAGCTGTAAACGATGTCTGCTAGGTGTGCCACAGGCTACGAGCCTGTGGTGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCAGACCGCCTGGGAAGTACTTCCGCA |
| **Информация о наличии последовательности генома и номер депонирования в международных базах данных** |  |
| **Характеристика колоний** |  |
| **Морфология (размер и морфология клеток, способ размножения, наличие и особенности жизненного цикла и пр.)** | кокки |
| **Тип питания** |  |
| **Отношение к кислороду** | аэроб |
| **Диапазон температур** (оптимум) **роста** |  |
| **Диапазон** (оптимум) **рН** |  |
| **Другие особенности физиологии** |  |
| **Способ поддержания в коллекции UNIQEM** Периодические пересевы, частота |  |
| Хранение в лиофильно-высушенном состоянии | Нет |
| Хранение при -80 ºС | да |
| Хранение в жидком азоте | да |

Продолжение таблицы В.1

|  |  |
| --- | --- |
| **Дублирование в криобанке коллекции UNIQEM** | да |
| Обозначение единиц хранения | криопробирки 2 мл |
| **Дублирование в других коллекциях** |  |
| **Предоставление внутренним пользователям** | Да |
| Условия | по договоренности с пользователем, в зависимости от цели исследований |
| **Предоставление внешним пользователям** | нет |
| Условия | на договорной основе |
| **Ответственный за поддержание штамма** | Сорокин Д.Ю., ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт микробиологии РАН, Центр микробной цитологии, soroc@inmi.ru |
| **Дата заполнения/обновления** | 06.11.2017 |

Таблица В.2 Пример паспорта на новые штаммы, охарактерзованные по разработанным СОП: Изолят бактерий из Чаплинских источников

|  |  |
| --- | --- |
| **Сведения о штамме** | **Информация** |
| **Тип** микроорганизмов (Бактерии, Археи, Грибы, Дрожжи, Водоросли, Вирусы) | Бактерии |
| **Номер штамма в коллекции** | 3757 |
| **Депозитор** (организация, физическое лицо) **или коллекция, из которой получен штамм** | Лаборатория метаболизма экстремофильных прокариот ИНМИ РАН, ФИЦ ФОБ РАН |
| **Дата введения штамма в коллекцию** | 2017 |
| **Оригинальное (авторское) обозначение штамма** | 3757 |
| **Группа патогенности** | не выявлена |
| **Группа риска (Risk group)** | 1 |
| **Сведения о безопасности штамма (**если имеются) |  |
| **Номера штамма** в российских и зарубежных коллекциях |  |
| **Род** | *Thermus* |
| Публикации, касающиеся определения рода (с указанием библиографии, ссылки на интернет-ресурс и DOI) | da Costa, M.S., Nobre, M.F., and Rainey, F.A. "Genus I. Thermus Brock and Freeze 1969, 295AL emend. Nobre, Truper and da Costa 1996b, 605." In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, second edition, vol. 1 (The Archaea and the deeply branching and phototrophic Bacteria) (D.R. Boone and R.W. Castenholz, eds.), Springer-Verlag, New York (2001), Springer-Verlag, New York (2001). pp. 404-414. |
| **Вид** (для штаммов, идентифицированных на данном таксономическом уровне) | *thermophilus* |

Продолжение таблицы В.2

|  |  |
| --- | --- |
| **Подвид (вариант)** (для штаммов, идентифицированных на данном таксономическом уровне) |  |
| Ссылки на публикации, касающиеся описания вида (подвида, варианта)(с указанием библиографии, ссылки на интернет-ресурс и DOI) | Oshima, T., and Imahori, K. "Description of Thermus thermophilus (Yoshida and Oshima) comb. nov., a nonsporulating thermophilic bacterium from a Japanese thermal spa." Int. J. Syst. Bacteriol. (1974) 24:102-112. |
| **Типовой штамм** | нет |
| **Синонимы** |  |
| **Название других классификационных категорий (серовар, раса и т. д.)** |  |
| **Другие известные названия штамма** |  |
| **Источник выделения** | Чаплинские источники, Чукотка |
| **Страна происхождения штамма** (на русском и английском языках) | РФ |
| **Дата выделения штамма** | 2017 |
| **Кем выделен** (ФИО лица/лиц, выделивших штамм) | Кочеткова Т.В. |
| **Кем идентифицирован** (ФИО лица/ лиц, идентифицировавших штамм) | Кочеткова Т.В. |
| **Условия культивирования** (среда, газовая атмосфера, рН, температура, срок выращивания и т.д.). | Аэробная пресная среда (г/л): NaCl 1, MgCl2\*6H2O 0,4, CaCl2 0,09, KCl 0,5, KH2PO4 0,2, NaCl 15; витамины и микроэлементы по 1 мл/л, NH4Cl 0,5-1 mM, NaHCO3 2 mM; pH 7.0, 60С |
| Особые требования к условиям культивирования |  |
| Методы и режимы консервации и хранения | Пересевать 1 раз в 3 месяца. Хорошо хранится при комнатной и при +4С |
| Статус штамма | тест-культура, для научных целей |
| **Таксономическая принадлежность** |  |
| Царство: | *Bacteria* |

Продолжение таблицы В.2

|  |  |
| --- | --- |
| Филум: | *Deinococcus-Thermus* |
| Класс: | *Deinococci* |
| Подкласс (если имеется): |  |
| Порядок: | *Thermales* |
| Подпорядок (если имеется): |  |
| Семейство: | *Thermaceae* |
| **Ключевые молекулярно-генетичесиие и фенотипические характеристики, определенные у штамма (в соответствии с типом микроорганизмов):** |  |
| **Номера депонирования последовательностей ДНК в ГенБанке (для прокариот: 16S рРНК, «housekeeping» гены, состав ГЦ-оснований и т.д.)** |  |
| **Последовательности ДНК (при отсутствии номеров депонирования в ГенБанке)** |  |
| **Информация о наличии последовательности генома и номер депонирования в международных базах данных** |  |
| **Характеристика колоний** |  |
| **Морфология (размер и морфология клеток, способ размножения, наличие и особенности жизненного цикла и пр.)** | Палочки (3-7 мкм длиной, 0.6-0.7 мкм толщиной), одиночные |
| **Тип питания** | Автотрофный |
| **Отношение к кислороду** | Аэроб |
| **Диапазон температур** (оптимум) **роста** | опт. 60 ºС |
| **Диапазон** (оптимум) **рН** | опт. 6.5-7.0 |
| **Другие особенности физиологии** |  |
| **Другие значимые таксономические (описательные) характеристики штамма** |  |
| **Свойства штамма биотехнологического значения** |  |
| **Другие особенности штамма, важные для науки и практики** |  |

Продолжение таблицы В.2

|  |  |
| --- | --- |
| **Особенности культивирования (плотные или жидкие среды)** | жидкие среды |
| **Способ поддержания в коллекции UNIQEM** Периодические пересевы, частота | да, 1 раз в 3 месяца |
| Хранение в лиофильно-высушенном состоянии | Нет |
| Хранение при -20 ºС | Нет |
| Хранение в жидком азоте | Да |
| **Дублирование в криобанке коллекции UNIQEM** | Нет |
| Обозначение единиц хранения | флакон на 50-100 мл (газовая фаза 40-80 мл), с резиновой крышкой |
| **Дублирование в других коллекциях** | нет пока |
| **Предоставление внутренним пользователям** | Да |
| Условия | по договоренности с пользователем, в зависимости от цели исследований |
| **Предоставление внешним пользователям** | Да |
| Условия | на договорной основе |
| **Ответственный за поддержание штамма** | Кочеткова Т.В., ФИЦ Биотехнологии РАН, ИНМИ РАН, kochetkova.tatiana.v@gmail.com |
| **Дата заполнения/обновления** | 23.10.2017 |

Таблица В.3 Пример паспорта на новые штаммы, охарактерзованные по разработанным СОП: Изолят бактерий из пульпы руды , применяемой в процессе бактериального выщелачивания при золотодобыче

|  |  |
| --- | --- |
| **Сведения о штамме** | **Информация** |
| **Тип** микроорганизмов (Бактерии, Археи, Грибы, Дрожжи, Водоросли, Вирусы) | Бактерии |
| **Номер штамма в коллекции** | Bestobe-1-45 |
| **Депозитор** (организация, физическое лицо) **или коллекция, из которой получен штамм** | Институт микробиологии РАН |
| **Дата введения штамма в коллекцию** | 24.10.2017 |
| **Оригинальное (авторское) обозначение штамма** | Bestobe-1-45 |
| **Группа патогенности** | Не является патогеном |
| **Группа риска (Risk group)** |  |
| **Сведения о безопасности штамма (**если имеются) |  |
| **Номера штамма** в российских и зарубежных коллекциях |  |
| **Род** | *Sulfobacillus* |
| Публикации, касающиеся определения рода (с указанием библиографии, ссылки на интернет-ресурс и DOI) | [Головачева Р. С. и Каравайко Г. И. *Sulfobacillus -*новый род термофильных спорообразующих бактерий. Микробиология, 1978, том 47, вып. 5, стр. 815-822. Validation List no. 36. Int. J. Syst. Bacteriol., 1991, 41, 178-179. Johnson, D. B., Joulian, C., d’Hugues, P. and Hallberg, K. B. *Sulfobacillus* *benefaciens* sp. nov., an acidophilic facultative anaerobic *Firmicute* isolated from mineral bioleaching operations. Extremophiles, 2008, 12, 789-798 (дополненное описание). (http://www.bacterio.net/sulfobacillus.html)](http://www.bacterio.net/sulfobacillus.html) |
| **Вид** (для штаммов, идентифицированных на данном таксономическом уровне) | *не установлен* |
| **Подвид (вариант)** (для штаммов, идентифицированных на данном таксономическом уровне) |  |
| Ссылки на публикации, касающиеся описания вида (подвида, варианта)(с указанием библиографии, ссылки на интернет-ресурс и DOI) |  |

Продолжение таблицы В.3

|  |  |
| --- | --- |
| **Типовой штамм** | нет |
| **Синонимы** |  |
| **Название других классификационных категорий (серовар, раса и т. д.)** |  |
| **Другие известные названия штамма** |  |
| **Источник выделения** | Жидкая фаза пульпы опытно-промышленной установки в ходе бактериального выщелачивания золотосодержащего пиритно-арсенопиритного концентрата из руды месторождения Бестобе (Казахстан) |
| **Страна происхождения штамма** (на русском и английском языках) | Казахстан (Kazakhstan) |
| **Дата выделения штамма** | 09.2017 |
| **Кем выделен** (ФИО лица/лиц, выделивших штамм) | Булаев А.Г. |
| **Кем идентифицирован** (ФИО лица/ лиц, идентифицировавших штамм) | Булаев А.Г. |
| **Условия культивирования** (среда, газовая атмосфера, рН, температура, срок выращивания и т.д.). | Состав среды, г/л: (NH4)2SO4 -3; KCl - 0,1; K2HPO4 - 0,5; MgSO4×7H2O - 0,5; Ca(NO3)2 - 0,01; FeSO4×7H2O - 9,8; Na2S2O3×5H2O - 0,25; дрожжевой экстракт - 0,2. pH среды 1,7-1,8. Температура 40оС. Срок выращивания 1-2 суток. |
| Особые требования к условиям культивирования | Для роста культуры требуется интенсивная аэрация среды |
| Методы и режимы консервации и хранения |  |
| Статус штамма |  |
| **Таксономическая принадлежность** |  |
| Царство: | *Bacteria* |
| Филум: | *Firmicutes* |
| Класс: | *Clostridia* |
| Подкласс (если имеется): |  |
| Порядок: | *Clostridiales* |
| Подпорядок (если имеется): |  |
| Семейство: | - |

Продолжение таблицы В.3

|  |  |
| --- | --- |
| **Ключевые молекулярно-генетичесиие и фенотипические характеристики, определенные у штамма (в соответствии с типом микроорганизмов):** |  |
| **Номера депонирования последовательностей ДНК в ГенБанке (для прокариот: 16S рРНК, «housekeeping» гены, состав ГЦ-оснований и т.д.)** |  |
| **Последовательности ДНК (при отсутствии номеров депонирования в ГенБанке)** |  |
| **Информация о наличии последовательности генома и номер депонирования в международных базах данных** |  |
| **Характеристика колоний** |  |
| **Морфология (размер и морфология клеток, способ размножения, наличие и особенности жизненного цикла и пр.)** | Грам-положительные, неподвижные палочки (1,5 - 4,5 мкм длиной, 0,8 - 1,2 мкм толщиной): одиночные, в цепочках из 2-4 клеток |
| **Тип питания** | миксотрофный |
| **Отношение к кислороду** | аэроб |
| **Диапазон температур** (оптимум) **роста** |  |
| **Диапазон** (оптимум) **рН** |  |
| **Другие особенности физиологии** | Способен использовать в качестве источника энергии закисное железо, элементную серу, тетратионат и сульфидные минералы. |
| **Свойства штамма биотехнологического значения** | Может быть использован в технологических процессах бактериального окисления сульфидных минералов |
| **Другие особенности штамма, важные для науки и практики** |  |
| **Особенности культивирования (плотные или жидкие среды)** | Жидкие питательные среды |
| **Способ поддержания в коллекции**  Периодические пересевы, частота | Да, 1 раз в месяц |
| Хранение в лиофильно-высушенном состоянии | Нет |
| Хранение при -20 ºС | Нет |

Продолжение таблицы В.3

|  |  |
| --- | --- |
|  | Нет |
| **Дублирование в криобанке коллекции UNIQEM** | Нет |
| Обозначение единиц хранения | Колба (250 мл) с культурой, выращенной на жидкой среде |
| **Дублирование в других коллекциях** | DSMZ |
| **Предоставление внутренним пользователям** | Да |
| Условия | по договоренности с пользователем, в зависимости от цели исследований |
| **Предоставление внешним пользователям** | Да |
| Условия | на договорной основе |
| **Ответственный за поддержание штамма** | Булаев А.Г., ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт микробиологии РАН, лаборатория хемолитотрофных микроорганизмов. bulaev.inmi@yandex.ru |
| **Дата заполнения/обновления** | 24.10.2017 |

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

КОПИИ СТРАНИЦ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ НИР И ПОДТВЕРЖДЕНИЙ ПОДАЧИ РУКОПИСИ



Рисунок Г.1– Первая страница статьи [Kulichevskaya I.S](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kulichevskaya%20IS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024)., [Ivanova A.A](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Ivanova%20AA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024)., [Detkova E.N](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Detkova%20EN%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024)., [Rijpstra W.I.C](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Rijpstra%20WIC%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024)., [Sinninghe Damsté J.S](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Sinninghe%20Damst%C3%A9%20JS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024)., [Dedysh S.N](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Dedysh%20SN%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024). Tundrisphaera lichenicola gen. nov., sp. nov., a psychrotolerant representative of the family Isosphaeraceae from lichen-dominated tundra soils // [International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Tundrisphaera) 2017. Т.67. С. 3583-3589.



Рисунок Г.2 – Фрагмент страницы с разделом «Источник финансирования» с упоминанием гоззадания из статьи [Kulichevskaya I.S](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kulichevskaya%20IS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024)., [Ivanova A.A](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Ivanova%20AA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024)., [Detkova E.N](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Detkova%20EN%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024)., [Rijpstra W.I.C](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Rijpstra%20WIC%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024)., [Sinninghe Damsté J.S](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Sinninghe%20Damst%C3%A9%20JS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024)., [Dedysh S.N](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Dedysh%20SN%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28829024). Tundrisphaera lichenicola gen. nov., sp. nov., a psychrotolerant representative of the family Isosphaeraceae from lichen-dominated tundra soils // [International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Tundrisphaera) 2017. Т.67. С. 3583-3589.



Рисунок Г.3– Первая страница статьи Boltyanskaya Y., Detkova E., Pimenov N., Kevbrin V. *Proteinivorax hydrogeniformans* sp. nov., an anaerobic, haloalkaliphilic bacterium fermenting proteinaceous compounds with high hydrogen production. Ant van Leeuwenhoek (in press): 10.1007/s10482-017-0949-9.



Рисунок Г.4 – Фрагмент страницы с разделом «Благодарности» с упоминанием гоззадания из статьи Boltyanskaya Y., Detkova E., Pimenov N., Kevbrin V. *Proteinivorax hydrogeniformans* sp. nov., an anaerobic, haloalkaliphilic bacterium fermenting proteinaceous compounds with high hydrogen production. Ant van Leeuwenhoek (in press): 10.1007/s10482-017-0949-9.

.

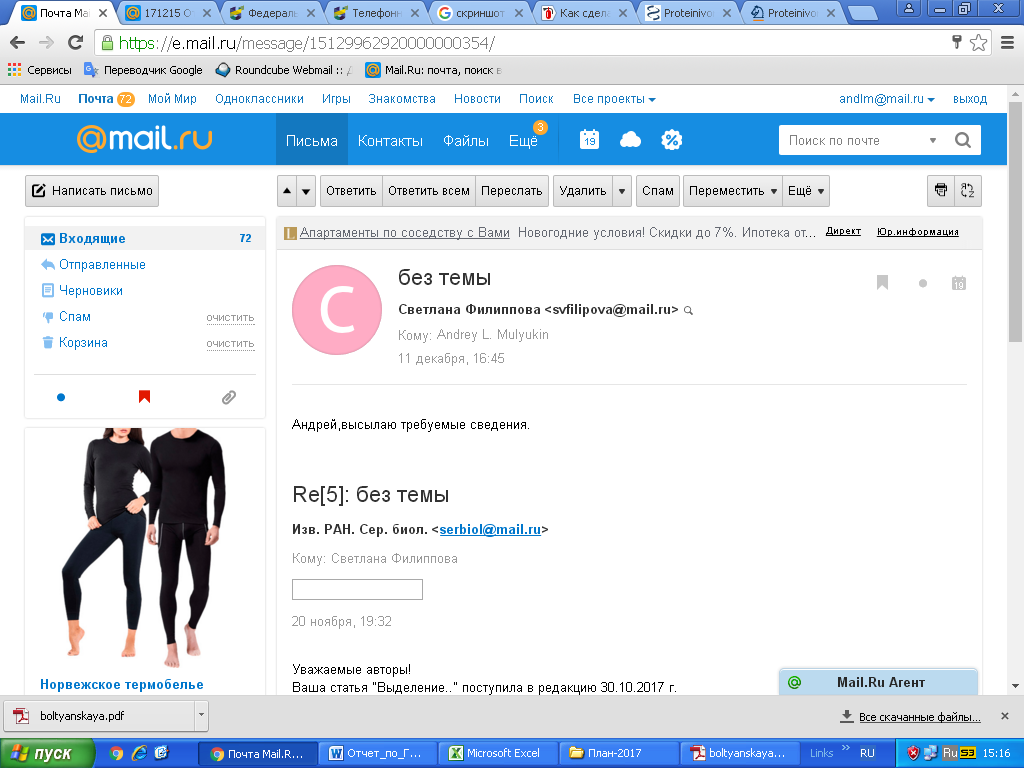


Рисунок Г.5 – Скриншот письма из редакции журнала, в который была подана рукопись статьи Рукопись статьи: С. Н. Филиппова, Н. А. Сургучева, Т. В. Колганова, М. Ю. Чербунина, А. В Брушков, А. Л. Мулюкин, В. Ф. Гальченко. Выделение и идентификация бактерий из образцов жильного льда ледового комплекса Мамонтовой горы (Центральная Якутия). Подготовлена и направлена в журнал Известия РАН.Сер. биол.