

УТВЕРЖДАЮ

Проектор по научной и
инновационной деятельности

А.Б. Ворожцов

«28» декабря 2021 г.

Перечень с подробным описанием всех стандартных операционных процедур,
применяемых в деятельности Биобанка СХЗМ ТГУ

СОП № 1

Стандартная операционная процедура приема проб фекалий, компоста,
кисломолочных продуктов животного происхождения, штаммов микроорганизмов,
нуклеиновых кислот в биобанк

1. Прием проб осуществляется два раза в неделю, в понедельник и среду с 10 00 до 12 00.
2. Все пробы, принимаемые на хранение в биобанк должны обязательно соответствовать следующим критериям:
 - Пробы должны быть отобраны в соответствии с разработанными стандартными операционными процедурами (СОП № 2-4).
 - Пробы должны находиться в определённых контейнерах/ёмкостях/пакетах в зависимости от требований к их упаковке: образцы фекалий сельскохозяйственных животных рекомендуется упаковывать в металлизированный дой-пак или полиэтиленовый пакет с замком типа зип-лок – для хранения при низких температурах, в пластиковую ёмкость с консервантом с завинчивающейся крышкой – для хранения образцов при положительных температурах; компост рекомендуется упаковывать в пластиковые пробирки типа «фалькон» для хранения при низких температурах, в пластиковую ёмкость с консервантом с завинчивающейся крышкой – для хранения образцов при положительных температурах; кисломолочные продукты животного происхождения рекомендуется упаковывать в пластиковые пробирки типа «фалькон»; штаммы микроорганизмов рекомендуется упаковывать в специальные криопробирки с криопротектором; нуклеиновые кислоты рекомендуется упаковывать в пластиковые микропробирки типа «эппендорф».
 - Тара для хранения проб должна быть целая, чистая и плотно закрыта.

– Пробы не должны подвергаться циклам замораживания-размораживания и транспортироваться в соответствии с разработанными стандартными операционными процедурами (СОП № 2-4).

– Пробы должны быть промаркированы (маркировка должна включать в себя уникальный номер/код, согласованный с сотрудниками биобанка или наименование образца и дату его сбора (в этом случае уникальный номер будет присвоен образцу в момент его помещения в биобанк для хранения)) и подписаны черным перманентным маркером крупно, чётко и на видном месте.

– Вместе с пробами должна поступать документация, отражающая всю необходимую ассоциированную с образцами информацию.

3. После приемки проб специалистом по биобанкированию производится оценка соответствия проб критериям, перечисленным в пункте 1 настоящего протокола. Специалист по биобанкированию оставляет за собой право в отказе приема на хранение проб, не соответствующих критериям, перечисленным в пункте 1 настоящего протокола.

4. В случае отказа специалиста по биобанкированию в приеме проб в биобанк, он обязан предоставить отказ в письменной форме в течение трех рабочих дней с указанием причины отказа в приеме биологических образцов в биобанк.

5. При соответствии биологического образца всем критериям, описанным в пункте 1 настоящего протокола, специалист по биобанкированию принимает биологические образцы на хранение в биобанк. При этом, при необходимости, и/или по договоренности с заказчиком, специалист по биобанкированию может осуществить следующие манипуляции с биологическими образцами:

– Отобрать аликвоты небольшого объема биологического образца (относится к жидким веществам и суспензиям), необходимых для процессинга и/или контроля качества хранящегося в биобанке биологического образца. Для аликвотирования проба должна быть полностью разморожена и тщательно перемешана.

– Отобрать навеску биологического образца (относится к твердым и полутвердым веществам), необходимого для процессинга и/или контроля качества хранящегося в биобанке биологического образца. Для отбора навески проба должна быть разморожена ровно до такого состояния, которого будет достаточно чтобы отобрать необходимое количество биологического образца.

6. После проведения всех необходимых манипуляций, биологические образцы направляются на хранение в биобанк.

7. При приеме биологических образцов на хранение в биобанк между биобанком и заказчиком (физическим или юридическим лицом) заключается договор о

передаче биологических образцов на хранение в биобанк. В договоре должны быть максимально полно отражены характеристики биологических образцов, направляемых на хранение в биобанк, приведена вся ассоциированная с биологическими образцами информация, условия их транспортировки, хранения, необходимость проведения дополнительных манипуляций, продолжительность хранения образца, условия возврата биологических образцов заказчику, условия и объем оплаты хранения биологических образцов, а также условия доступа к биологическим образцам иных заинтересованных лиц и ответственность сторон.

8. В холодильнике сверхнизких температур при его открывании допускается повышение температуры не более чем на 3 °С. При повышении температуры в криокамере, холодильник необходимо закрыть и дождаться стабилизации температуры в холодильнике, после чего допускается повторное открытие.

9. Все пробы, ожидающие помещения в криокамеру холодильника должны находиться в термосумках с постоянной температурой.

10. Возврат термосумок, хладоэлементов и других сопутствующих аксессуаров, необходимых для транспортировки биологических образцов осуществляется либо в день приемки образца после 12 00, либо в любой другой последующий рабочий день и только в приемные часы биобанка.

11. Продолжительность хранения биологических образцов зависит от потребностей заказчика и прописывается в договоре между физическим или юридическим лицом и биобанком на хранение биологического образца.

12. При несоблюдении условий договора заказчиком, биобанк оставляет за собой право прекращения хранения биологических образцов заказчика, нарушившего условия договора, и их утилизации.

13. Контроль качества проб осуществляется в специализированных лабораториях в соответствии с их протоколами и договоренностью с заказчиком.

14. Процессинг проб может включать в себя биохимический, физический, микробиологический, молекулярный анализ, выделение нуклеиновых кислот (ДНК, РНК), микробиологический посев.

15. Специалист по биобанкированию в обязательном порядке вносит в информационную базу всю ассоциированную с биологическим образцом информацию, присваивает каждому образцу определенный номер и закладывает образцы в криохранилище в определённое место.

16. В информационной базе должна отражаться информация о всех манипуляциях, проводимых с биологическими образцами.

17. Каждый образец соответствует одному месту хранения и для каждого места хранения присваивается уникальный номер.

СОП № 2

Стандартная операционная процедура сбора и транспортировки образцов фекалий сельскохозяйственных животных

1. Образцы фекалий сельскохозяйственных животных необходимо отбирать в месте их непосредственного выпаса или пастбища.
2. Образцы фекалий необходимо отбирать не более чем через 1-2 дня после испражнения животного.
3. Отбор образцов осуществляется с использованием одноразовых перчаток в герметичный полиэтиленовый или металлизированный дой пак с зип замком.
4. После отбора образцов в пакет, необходимо максимально выпустить из него воздух и плотно закрыть.
5. Каждый пакет с образцом должен быть промаркирован (маркировка должна включать в себя уникальный номер/код, согласованный с сотрудниками биобанка или наименование образца и дату его сбора (в этом случае уникальный номер будет присвоен образцу в момент его помещения в биобанк для хранения)), подписан перманентным маркером четко, крупно и на видном месте.
6. Пакет с образцом необходимо поместить в термосумку, для поддержания постоянной температуры в пределах от 15 до 25 °С и доставить в место постоянного или временного хранения.
7. Временное хранение образцов при температуре не выше +4 °С допускается не более двух суток.
8. Временное хранение при температуре не выше -20 °С допускается не более 7 суток.
9. Постоянное хранение осуществляется при температуре не выше -70 °С в условиях морозильной камеры или в жидком азоте.
10. В процессе отбора образцов необходимо заполнить лист-анкету с подробным описанием всей ассоциированной с образцом информации.
11. Ассоциированная с образцом информация должна содержать следующие данные: ФИО человека, осуществляющего отбор пробы, его контактные данные (номер телефона, адрес электронной почты), дату, время и место сбора образцов, температуру и относительную влажность воздуха в месте отбора проб, наличие/отсутствие осадков в момент или накануне сбора образцов, вид сельскохозяйственного животного, особенности питания и содержания сельскохозяйственных животных, цвет, консистенцию, запах и внешний вид фекалий.

СОП № 3

Стандартная операционная процедура сбора и транспортировки образцов компоста, полученного на основе органических отходов животного происхождения

1. Образцы перегноя следует отбирать непосредственно из середины перегнойной кучи.
2. Отбор образцов следует осуществлять до установления постоянного снежного покрова.
3. Отбор образцов перегноя осуществляется с использованием одноразовых перчаток и стерильного деревянного шпателя с пластиковые емкости типа «Фалькон», объемом 50 мл.
4. Пробы необходимо плотно утрамбовать в ёмкость для сбора образцов.
5. Ёмкость для сбора образцов должна быть заполнена полностью, воздушная подушка между крышкой и образцом должна быть минимальна.
6. Всего необходимо отобрать 4 ёмкости.
7. Каждый фалькон с образцом должен быть промаркирован (маркировка должна включать в себя уникальный номер/код, согласованный с сотрудниками биобанка или наименование образца и дату его сбора (в этом случае уникальный номер будет присвоен образцу в момент его помещения в биобанк для хранения)), подписан перманентным маркером четко, крупно и на видном месте.
8. После отбора проб ёмкости с образцами необходимо поместить в термосумку, для поддержания постоянной температуры в пределах от 15 до 25 °С и доставить в место постоянного или временного хранения.
9. Временное хранение образцов при температуре не выше +4 °С допускается не более двух суток.
10. Временное хранение при температуре не выше -20 °С допускается не более 7 суток.
11. Постоянное хранение осуществляется при температуре не выше -70 °С в условиях морозильной камеры или в жидком азоте.
12. В процессе отбора образцов необходимо заполнить лист-анкету с подробным описанием всей ассоциированной с образцом информации.
13. Ассоциированная с образцом информация должна содержать следующие данные: ФИО человека, осуществляющего отбор пробы, его контактные данные (номер телефона, адрес электронной почты), дату, время и место сбора образцов, температуру и относительную влажность воздуха в месте отбора проб, наличие/отсутствие осадков в момент или накануне сбора образцов, состав перегноя (вид сельскохозяйственного

животного на фекалиях которого основан перегной), особенности питания и содержания сельскохозяйственных животных на фекалиях которых основан перегной, возраст перегноя, место приобретения/получения перегноя, условия хранения перегноя, цвет, консистенцию, запах и внешний вид перегноя.

СОП № 4

Стандартная операционная процедура сбора и транспортировки образцов традиционных кисломолочных продуктов (заквасок)

1. Под традиционными кисломолочными продуктами (заквасками) подразумеваются следующие наименования продукции: ряженка, кефир, мацони, тан, айран, сметана, творог, брынза, сыр чечил, сыр сулугуни, масло. Отнесение продукта к тому или иному наименованию проводится со слов продавца либо производителя.
2. При отборе проб необходимо учитывать упаковку продуктов, в которую он был расфасован производителем или продавцом. Для твердых продуктов (сыр, творог) допустимо использование полиэтиленовых пакетов, для консистентных продуктов (сметана) – пластиковые одноразовые стаканы объемом 500 мл. Для молока и жидких продуктов – пластиковые бутылки различного объема.
3. В течение 2-3 часов после приобретения продуктов в месте их реализации образцы необходимо отобрать в стерильные пробирки с винтовой крышкой (фальконы) объемом 50 мл. Жидкие продукты необходимо тщательно перемешать перед перенесением в фальконы. Твердые продукты (сыр, творог) необходимо отобрать из различных частей общего объема продукта.
4. Каждый фалькон с образцом должен быть промаркирован (маркировка должна включать в себя уникальный номер/код, согласованный с сотрудниками биобанка или наименование образца и дату его сбора (в этом случае уникальный номер будет присвоен образцу в момент его помещения в биобанк для хранения)), подписан перманентным маркером четко, крупно и на видном месте.
5. Все отобранные кисломолочные продукты необходимо транспортировать при температуре $+4\pm 2^{\circ}\text{C}$.
6. Молоко необходимо хранить при отрицательной температуре.
7. Временное хранение кисломолочных продуктов при температуре $+4\pm 2^{\circ}\text{C}$ допускается не дольше двух суток.
8. Постоянное хранение осуществляется при температуре не выше -70°C в условиях морозильной камеры или в жидком азоте.
9. В процессе отбора образцов необходимо заполнить лист-анкету с подробным описанием всей ассоциированной с образцом информации.
10. Ассоциированная с образцом информация должна содержать следующие данные: ФИО человека, осуществляющего отбор пробы, его контактные данные (номер телефона, адрес электронной почты), наименование продукта, дату, время и место приобретения продукта, регион происхождения продукта, локация происхождения

продукта, координаты населенного пункта происхождения продукта, дата изготовления продукта, дата приобретения продукта, объем/масса приобретенного продукта, упаковка продукта при приобретении, масштабы производства, цвет, консистенция, внешний вид, вкус, запах продукта.

СОП № 5

Стандартная операционная процедура обеспечения безопасности и сохранения образцов биобанка СХМЗ ТГУ

1. В помещениях биобанка необходимо соблюдать технику противопожарной безопасности, технику безопасности на рабочем месте.
2. Каждому сотруднику не реже раза в год необходимо проходить инструктаж по технике безопасности и расписываться в журнале учета о проведения инструктажа по технике безопасности. Инструктаж проводит руководитель биобанка.
3. Все оборудование биобанка необходимо регулярно проверять на исправность.
4. В камерах холодильников необходимо регулярно проверять температурный режим.
5. В случае обнаружения неисправности или повышения температуры в криокамерах необходимо в срочном порядке сообщить об это инженеру и руководителю биобанка.
6. В биобанке необходимо предусмотреть наличие резервных источников питания на случай непредвиденного отключения электроэнергии.
7. В помещениях биобанка необходимо регулярно проверять уровень влажности и температуру. Уровень влажности не должен превышать 70%, а температура не должна превышать +25 °С.
8. В помещениях биобанка необходимо соблюдать санитарные нормы. Влажная уборка пола с дезинфицирующими средствами должна проводиться не реже 1 раза в неделю. В помещениях биобанка все сотрудники должны находиться в сменной обуви или бахилах. Влажная уборка пыли с доступных поверхностей должна проводиться не реже 1 раза в неделю. Не реже 1 раза в год необходимо проводить генеральную уборку в помещениях биобанка с обработкой дезинфицирующими средствами всех доступных поверхностей, в том числе стен.
9. В помещения биобанка, в криохранилище и к биологическим образцам могут допускаться только сотрудники биобанка.

СОП № 6

Стандартная операционная процедура распределения проб фекалий сельскохозяйственных животных, перегноя (компоста), кисломолочных заквасок, штаммов микроорганизмов, нуклеиновых кислот из биобанка СХЗМ ТГУ

1. В качестве получателя может выступать как сотрудник университета, так и представитель иной заинтересованной организации.
2. Передача образцов и ассоциированной с ними информации из биобанка должна осуществляться строго по заявлению установленной формы, бланк заявления можно получить у сотрудников биобанка или на сайте биобанка.
3. Транспортировка биологического материала должна осуществляться в термосумках (термоконтейнерах) при температуре не выше +4 °С, если не обозначено другое, а также при постоянном контроле температуры образцов.
4. При несоблюдении условий транспортировки получателем, биобанк не несет ответственность за сохранность и качество предоставляемого биологического материала.
5. Передача биологических образцов третьим лицам осуществляется только с разрешения заказчика, осуществлявшего передачу биологических образцов на хранение биобанку.
6. Заявление на выдачу биологических образцов и ассоциированных с ним данных принимается не позднее чем за 1 рабочий день до даты выдачи образца.
7. Выдача образцов осуществляется два раза в неделю во вторник и в четверг с 10 00 до 12 00.
8. Выдача образцов осуществляется согласно перечню, присвоенных образцам номеров, указанных в заявлении.
9. В холодильнике сверхнизких температур при его открывании допускается повышение температуры не более чем на 3 °С. При повышении температуры в криокамере, холодильник необходимо закрыть и дождаться стабилизации температуры в холодильнике, после чего допускается повторное открытие.
10. С каждым биологическим образцом выдается вся ассоциированная с ним информация, хранящаяся в базе данных биобанка.
11. Размораживание допускается в диапазоне температур от +4 до +25 °С.
12. Нерастроченный образец получатель имеет право вернуть на хранение в биобанк с соблюдением условий транспортировки и последующим соблюдением протокола по приему биологических образцов в биобанк, а также с соблюдением процедур по контролю качества биологических образцов.

СОП № 7

Стандартная операционная процедура мониторинга оценки качества биологических объектов, хранящихся в биобанке

1. Если договор с заказчиком предусматривал отбор аликвот/части биологических образцов на стадии приема биологического материала на хранение в биобанк, то сотрудники биобанка могут провести контроль качества биологических образцов, хранящихся в биобанке.
2. Любые манипуляции с биологическим материалом должны быть согласованы с заказчиком в письменном виде.
3. В качестве процедуры контроля качества образца можно провести выделение тотальной ДНК биологического образца с последующей оценкой ее качества (спектрофотометрически или с использованием электрофореза в агарозном геле), что даст общие представления о целесообразности дальнейшего хранения биологического образца в биобанке.
4. Если качество образца ухудшилось настолько, что становится невозможным выделить ДНК хорошего качества, то заказчику необходимо принять решение об утилизации образца.
5. Помимо выделения ДНК сотрудники биобанка могут провести другие процедуры по контролю качества образцов по желанию заказчика.
6. Результаты всех исследований должны быть занесены в информационную систему биобанка.

СОП № 8

Стандартная операционная процедура выделения ДНК из проб фекалий, компоста, кисломолочных продуктов животного происхождения

Выделение тотальной ДНК образцов фекалий и компоста может быть осуществлено коммерческими наборами DNeasy® PowerSoil® или QIAamp® Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen). Выделение тотальной ДНК образцов кисломолочных продуктов животного происхождения может быть осуществлено коммерческим набором DNeasy PowerLyzer Microbial Kit (Qiagen).

1. Протокол выделения ДНК коммерческим набором DNeasy® PowerSoil® (Qiagen):

0,25 г твердого образца поместить в специальную пробирку PowerBead Tube, встряхнуть. Добавить 60 мкл раствора С1, встряхнуть. Поместить пробирки на вортекс со специальной насадкой для более эффективного перемешивания и встряхивать 25 минут. Центрифугировать пробы 30 сек при 10000 g. Переместить супернатант в чистую пробирку объемом 2 мл. Добавить в пробирку 250 мкл раствора С2, встряхнуть 5 сек. Инкубировать 5 минут при температуре +4 °С. Центрифугировать пробы 1 мин. при 10000 g. Переместить 600 мкл супернатанта, не задевая осадок носиком пипетки, в чистую пробирку объемом 2 мл. Добавить в пробирку 200 мкл раствора С3, встряхнуть. Инкубировать 5 минут при температуре +4 °С. Центрифугировать пробы 1 мин. при 10000 g. Переместить 750 мкл супернатанта, не задевая осадок носиком пипетки, в чистую пробирку объемом 2 мл. Добавить 1200 мкл раствора С4 и нежно перемешать. Добавить 675 мкл в колонку и центрифугировать пробы 1 мин. при 10000 g. Удалить стекшую жидкость. Повторить дважды шаг 14. Добавить 500 мкл раствора С5, центрифугировать 30 сек при 10000 g. Удалить стекшую жидкость. Центрифугировать пробы 1 мин. при 10000 g. Перенести колонку в чистые пробирки, объемом 2 мл. Добавить 100 мкл раствора С6 в колонку, центрифугировать при комнатной температуре 30 сек. при 10000 g. Удалить колонку, образец ДНК готов для дальнейшего использования, при необходимости хранить при температуре не выше -20 °С. Протокол выделения ДНК коммерческим набором QIAamp® Fast DNA Stool Mini Kit:

2. Протокол выделения ДНК коммерческим набором QIAamp® Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen):

180-200 мг твердого или 200 мкл жидкого образца поместить в пробирку типа «эппендорф» на 2 мл. Добавить 1 мл InhibitEX буфера и тщательно перемешать на вортексе в течение 1 минуты. Инкубировать пробы при 95 °С в течение 5 минут. Встряхнуть 15 секунд на вортексе. Центрифугировать 1 минуту на максимальной скорости. В отдельную

пробирку на 1,5 мл добавить 15 мкл Протеинкиназы К, добавить к ней 200 мкл надосадочной жидкости образца. Добавить 200 мкл буфера AL. Тщательно перемешать. Инкубировать 10 минут при 70 °С. Добавить 200 мкл этанола, перемешать. Перенести 600 мкл этой смеси в QIAamp колонку, центрифугировать 1 минуту. Перенести колонку в новую пробирку на 2 мл, добавить в колонку 500 мкл буфера AW1, центрифугировать 1 минуту. Перенести колонку в новую пробирку на 2 мл, добавить буфер AW2, центрифугировать 3 минуты. Перенести колонку в новую пробирку на 3 мл, центрифугировать 3 минуты на максимальной скорости. Перенести колонку в новую пробирку на 1,5 мл, добавить 100 мкл буфера ATE, центрифугировать 1 минуту.

3. Протокол выделения ДНК коммерческим набором DNeasy PowerLyzer Microbial Kit (Qiagen):

1,8 мл образца поместить в пробирку на 2 мл и центрифугировать 30 секунд при 10000 g, удалить супернатант, повторно центрифугировать, удалить супернатант. Растворить осадок в 300 мкл PowerBead Solution. Перенести полученный раствор в пробирки PowerBead Tube Glass, 0,1 mm. Добавить 50 мкл раствора SL. Встряхнуть на вортексе 5-10 минут. Центрифугировать пробирки 30 секунд по 100000 g. Перенести 300-350 мкл супернатанта в новые пробирки на 2 мл. Добавить раствор IRS и перемешать 5 секунд, инкубировать 5 минут при 4 °С. Центрифугировать 1 минуту при 10000 g. Перенести 450 мкл супернатанта в новую пробирку на 2 мл. Добавить 900 мкл раствора SB и перемешивать 5 секунд. Перенести 700 мкл в MB колонку и центрифугировать 30 секунд при 10000 g. Удалить слив из пробирки и повторно центрифугировать колонку. Добавить 300 мкл раствора CB и центрифугировать 30 секунд при 10000 g. Удалить слив из пробирки и центрифугировать колонку 1 минуту при 10000 g. Осторожно перенести колонку в новую пробирку на 2 мл. Добавить 50 мкл раствора EB. Центрифугировать 30 секунд при 10000 g. Удалить колонку.

СОП № 9

Стандартная операционная процедура внесения ассоциированной с биологическими объектами информации в базу данных биобанка, ведения записей

1. Вся ассоциированная с биологическими объектами, поступающими в биобанк, информация должна быть внесена в информационную систему биобанка в процессе проведения процедур по приему образцов сотрудником биобанка.
2. Изменять/редактировать/удалять информацию в информационной системе биобанка могут только уполномоченные сотрудники биобанка.
3. Сведения о всех манипуляциях, произведенных с образцами должна быть внесена в информационную систему непосредственно после проведения манипуляций.
4. Все записи, производимые в информационной системе должны быть грамотно сформулированы, точны и понятны. Не допускается использование сокращений без расшифровки.
5. Все документы, содержащиеся в информационной системе должны иметь печатную версию, хранящуюся в биобанке, это не относится к информации, ассоциированной с биологическими образцами, содержащейся в базе данных.
6. Вся информация, содержащаяся в системе должна регулярно обновляться по мере необходимости и быть актуальной.

СОП № 10

Стандартная операционная процедура утилизации биологического материала

1. Утилизация биологического материала производится согласно санитарным правилам утилизации биологического материала и в зависимости от группы патогенности биологического материала;
2. Компост и кисломолочные закваски животного происхождения не относятся к опасным отходам, и подлежат утилизации совместно с твердыми бытовыми отходами или путем сливания в замкнутую систему канализации;
3. Навоз относится к умеренно опасным отходам и направляются в центр утилизации.