

плазмиды и другие носители генетической информации. Нужно депонировать также образцы спермы, ооциты, зиготы животных и человека. Это расширит деятельность Коллекции в плане проведения работ по сохранению генетических материалов, биобезопасности и бионезависимости страны.

Коллекция должна стать центрами методической подготовки и переподготовки специалистов по работе с культурами клеток, клеточной и генетической инженерии.

Важно сохранить деятельность Коллекции, как некоммерческой организации, пользующейся достаточным приоритет-

ным государственным финансированием.

Необходимо выполнить решение Международной научной конференции «Сохранение генетических ресурсов» о создании Межрегионального криобиотехнологического центра генофондных материалов на базе Коллекции культур клеток и криобанка ВИЭВ, как некоммерческого партнерства. Целесообразно также создать научное общество «Сохранение генетических ресурсов».

Все это позволит решить многие проблемы биобезопасности страны и сохранения генофонда породных и сортовых ресурсов.

Литература

1. Российская Коллекция культур клеток. Каталог Омск, 1999, на русском и английском языках.
2. Материалы Международной конференции «Сохранение генетических ресурсов» С.-Петербург, 19-22 октября 2004 г. Ж. Цитология 2004, том 46, №9
3. Специализированная коллекция перевиваемых соматических клеточных культур сельскохозяйственных и промысловых животных (РККК(П)), (СХЖ РАСХН). Каталог 2-е издание (дополненное и уточненное) М. 2006, 115 стр., на русском и английском языках.
4. Каталог Коллекции клеточных культур ВНИИВ и М. Покров, 2000, 78 стр.

УДК. 576.7:57086.13:57083

**А.А. Цуцаева, В.И. Грищенко, Б.Т. Стегний, А.Е. Аваньяна,
О.С. Прокопюк, Е.В. Бровко, С.С. Черноусова, Н.И. Калиберда,
Л.М. Балыбердина, Л.В. Сокол, Л.Г. Чернышенко, Е.С. Онасенко,
Л.В. Степанюк**

*(Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины,
Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины
УААН)*

КРИОБАНКИ. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ БИООБЪЕКТОВ В МЕДИЦИНЕ, ВЕТЕРИНАРИИ И НА ЭТАПАХ БИОТЕХНОЛОГИИ

В настоящее время безальтернативным способом долгосрочного хранения биопрепаратов является криоконсервирование с последующим хранением в низкотемпературных банках в жидком азоте (-196° С) или в парах азота (-100° С).

Низкотемпературные банки, классифицируются по их целевому назначению: костного мозга, крови и ее компонентов, тканей человека и животных, клеточных культур и гибридом, низших и высших грибов, микроорганизмов, половые продукты человека и животных, вирусов, меристем растений, одноклеточных водорослей. Банк или система банков организуется по следующей схеме.

Низкотемпературные банки микроорганизмов. Цель – сохранение в течение неограниченного промежутка времени коллекционных культур, высокопродуктивных штаммов микроорганизмов, используемых на этапах биотехнологии, референтных штаммов микроорганизмов, штаммов, используемых в генной инженерии и для решения задач молекулярной биологии. Перед криоконсервированием и после него определяются свойства и продуктивная активность микроорганизмов, если таковая присутствует. При необходимости разрабатывается эффективный способ криоконсервирования, либо используется известный оптимальный для данного вида

способ. Низкотемпературные банки микроорганизмов являются самостоятельной единицей либо составной частью коллекции культур.

Низкотемпературные банки разных линий перевиваемых клеточных культур. Цель – сохранение в течение неограниченного промежутка времени различных линий клеточных культур, используемых для решения научных задач, на этапах технологии продукции вирусных препаратов, на этапах диагностики вирусных инфекций и идентификации вирусов, сохранение референт-линий клеточных культур. Криоконсервирование осуществляется по известным методам, либо подрабатываются эффективные новые методы криоконсервирования. Низкотемпературные банки перевиваемых линий клеток используются в медицине и ветеринарии, на этапах диагностики вирусных инфекций и решения научных задач, на этапах производства вирусных вакцинных препаратов, диагностикумов и т.д.

Низкотемпературные банки гибридом. Цель – сохранение в течение неограниченного промежутка времени гибридом без изменения их продуктивности. Необходима разработка оптимальных способов криоконсервирования применительно к конкретным. До и после криоконсервирования перед закладкой в низкотемпературный банк производится определение продуктивной активности гибридом с обязательным оформлением паспорта. Возможно криоконсервирование исходных линий клеток, используемых для гибридизации и иммунных лимфоцитов.

Низкотемпературные банки крови и ее компонентов. Цель – сохранение в течение неограниченного промежутка времени крови и ее компонентов, включая кордовую кровь и ее ядерные компоненты. До и после криоконсервирования определяется количество ядерных клеток и сохранных клеток, клеточный состав крови взрослого человека, кордовой крови и их компонентов, определяется количество стволовых кроветворных и кроветворных клеток, клеточный спектр, количество клеток CD₃₄, КОЕк, популяции и субпопуляции лимфоцитов, определяется ABO, Rh-принадлежность в случае трансплантации аллогенных клеток определяется HLA DRDQ-принадлежность. Определяется стерильность, включая аэробы, анаэробы, грибы, сифилис, ВИЧ, гепатит В и С, вирусные контаминации. Для ядерных компонентов крови используются уже

существующие методы криоконсервирования, либо разрабатываются новые эффективные способы криоконсервирования. После криоконсервирования все образцы помещаются в карантинные хранилища. После окончания тестирования и получения всех негативных результатов криоконсервированные образцы переносятся в основное хранилище и оставляются на длительное хранение. При каждом образце криоконсервируются два сателлита, которые сохраняются не менее 1,5 лет после выдачи препарата из хранилища.

Низкотемпературные банки крови и ее компонентов организуются на станциях переливания крови в гематологических лечебных учреждениях и используются в комплексной терапии и для трансплантации в медицине.

Низкотемпературный банк костного мозга. В низкотемпературный банк закладываются образцы аллогенного, донорского, трупного и аутологичного костного мозга. Костный мозг подготавливается к криоконсервированию в соответствии с утвержденными методическими рекомендациями. В зависимости от целей его последующего использования типифицируется по антигенам гистосовместимости HLA и ABO Rh. До криоконсервирования сыворотка донорской крови, суспензия клеток нативного костного мозга исследуется на стерильность (аэробная, анаэробная инфекция, грибы, вирусная контаминация), сифилис, гепатит В и С, HIV, CMV и др. Образцы криоконсервируются, помещаются во временное хранилище, после завершения лабораторных исследований при их отрицательных результатах образцы переносятся в постоянное хранилище. Образцы костного мозга используются как коротко и долгоживущие трансплантаты в терапии иммуно- и гемодифицитных состояний у человека и животных.

Низкотемпературный банк тканей человека и животных. Ткани изымаются из органов плода и взрослых индивидуумов, используются кожа, роговица, кости, хрящи, мышцы и др. Ткани плода используются в терапии патологических состояний у животных, ткани из органов людей получают в процессе операционных вмешательств от трупов, а также переживающие ткани на этапах культивирования. Для всех видов тканей разрабатываются индивидуальные эффективные методы криоконсервирования, либо совершенствуются существующие. Ткани криоконсервируются и помещаются во временное храни-

лице. Если возможно взятие сыворотки от доноров тканей, то лабораторные исследования проводятся с сывороткой и обязательно тканью. Определяется стерильность, вирусная контаминация, контаминация различными патогенными и условно патогенными агентами; перечень необходимых лабораторных исследований утверждается службами Минздрава. После отрицательных анализов ткани переносятся из временного хранилища в постоянное. Криоконсервированные фрагменты тканей используются в комплексной терапии патологических состояний человека, животных, птиц.

Низкотемпературные банки половых продуктов человека и животных, рыб, птиц и др. Организуются по разработанной схеме с целью обеспечения половыми продуктами всех этапов искусственного осеменения *in vitro* и *in vivo*. Целью банков половых продуктов является лечение бесплодия у людей, повышение частоты беременности и упрощения процедуры осеменения у животных, сохранения половых продуктов исчезающих и редких видов животных, создания запасов половых продуктов высокопродуктивных пород сельскохозяйственных животных. После криоконсервирования в биологических объ-

ектах возникают нелетальные репарируемые криоповреждения, которые проявляются в виде обратимой ингибиции процессов пролиферации и дифференцировки клеток, фрагментации многоклеточных микроорганизмов, стимуляции или ингибиции ферментативной и антибиотикопродуцирующей активности и др. Причиной указанных изменений являются обратимые ингибиции процессов биосинтеза НК и белка, продукции криостресспротеинов и ингибиция процессов биоэнергетики. Процессы репарации на ранних этапах обеспечиваются энергетически преимущественно процессами анаэробного гликолиза. После криоконсервирования обратимо ингибируются процессы продукции интерферона в перевиваемых клетках культур тканей. Этим обусловлено стимуляция процессов продукции вирусов в криоконсервированных клетках культур тканей в течение 2-3 пассажей. Во всех случаях необходимо знать характер нелетальных криоповреждений в криоконсервированных клетках и тканях, а также скорость их восстановления с целью последующего их эффективного использования в медицине, пищевой и антибиотико-продуцирующей промышленности, ветеринарии и сельском хозяйстве.

SUMMARY

It was described the main goals and structures low temperature banks organization.

Литература

1. Querol S., Gabarro M., Amat L. et al. The placental blood program of the Barcelona Cord Blood Bank//Bone Marrow Transplant. 1998. Vol.22. Suppl. 1. p.3-5
2. Richter E., Eichler H., Raske D. et al. 5% Me₂SO₄ is sufficient to preserve stem cells derived from cord blood// Bone Marrow Transplant. 1998. Vol.22. Suppl. 1. PS. 16

В.И. Ананьев, М.С. Манохина

(ФГУ «Межведомственная иктиологическая комиссия», БИНИИ СПГУ)

К ВОПРОСУ О СОЗДАНИИ НАЦИОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ГЕНОФОНДНЫХ КОЛЛЕКЦИЙ РЫБ И ДРУГИХ ГИДРОБИОНТОВ РОССИИ ДЛЯ АКВАКУЛЬТУРЫ И СОХРАНЕНИЯ РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ ВИДОВ: ПРАВОВЫЕ И НОРМАТИВНО-МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Одной из важнейших задач агропромышленного комплекса страны является увеличение производства рыбопродукции за счет ускоренного развития аквакультуры. Непременное условие его — сохране-

ние и рациональное использование генетических ресурсов гидробионтов, в том числе для искусственного воспроизводства таких ценных видов как осетровые и лососевые рыбы. Не менее значимой задачей яв-