ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р ИСО 24603— 2024

Биотехнология

БИОБАНКИНГ

Требования к плюрипотентным стволовым клеткам человека и мыши

(ISO 24603:2022, IDT)

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2024

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным государственным бюджетным учреждением «Российский институт стандартизации» (ФГБУ «Институт стандартизации») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 326 «Биотехнологии»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 3 мая 2024 г. № 580-ст

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ИСО 24603:2022 «Биотехнология. Биобанкинг. Требования к плюрипотентным стволовым клеткам человека и мыши» (ISO 24603:2022 «Biotechnology — Biobanking — Requirements for human and mouse pluripotent stem cells», IDT).

Международный стандарт разработан Техническим комитетом ИСО/ТК 276 «Биотехнология» Международной организации по стандартизации (ИСО).

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им национальные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 Некоторое элементы настоящего стандарта могут являться объектами патентных прав

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© ISO, 2022
© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2024

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 1
4 Сокращения 4
5 Общие требования 4
6 Сбор исходных биологических материалов и связанных с ним данных 6
7 Транспортирование исходного биологического материала или ПСК и связанных с ними данных в биобанк 7
8 Получение и прослеживаемость исходного биологического материала или ПСК и связанных с ними данных 8
9 Создание клеточных линий 8
10 Характеристика 8
11 Контроль качества 12
12 Анализ 13
13 Менеджмент клеточных линий 13
14 Консервация клеточных линий 13
15 Хранение 13
16 Размораживание 13
17 Утилизация 14
18 Распространение 14
Приложение А (справочное) Сравнение активности 17
Приложение В (справочное) Примеры методов выделения и культивирования ПСК 18
Приложение С (справочное) Процедура контроля качества для биобанкинга ПСК человека и мышей 21
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов национальным стандартам 22
Библиография 23

Введение

Плюрипотентные (недифференцированные) стволовые клетки (ПСК), включая эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) и индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПСК), широко изучают в научных исследованиях с целью улучшения понимания болезней и биологии развития, создания органоидов для лекарственного скрининга и применения в терапии на клеточной основе. За последние несколько лет были созданы тысячи линий ПСК в лабораториях по всему миру. Линии ПСК имеют уникальные характеристики и свойства за счет своей способности как к самообновлению, так и к дифференцировке во множество типов клеток. В то же время, фенотип стволовых клеток может быть изменен с помощью квазиоптимального культивирования клеток, продолжительного пассирования или изменения условий культивирования. Очевидно, что последствиями использования клеток, испытавших неблагоприятные воздействия, были бы потеря времени и ресурсов, а также возникновение более серьезных последствий — получение ошибочных данных в литературе, которые могут ввести в заблуждение и приостановить научный прогресс в этой области. Таким образом, ПСК мышей используют для создания фундаментального понимания нами биологии ПСК, а полученные открытия переносят в исследования ПСК человека для продвижения развития новых анализов *in vitro* на основе клеток человека и потенциальных регенеративных лекарственных средств. ПСК мышей и человека стали наиболее широко исследуемыми видами в этой области, и наиболее значимые научные достижения сделаны с использованием ПСК именно этих двух видов. Несомненно, линии ПСК могут быть созданы и из других видов, например, крыс, свиней, собак, коров, приматов и т. д., и ПСК приматов, в частности, дали понимание биологии этих клеток, которое может быть более актуальным для биологии стволовых клеток человека, чем данные ПСК мышей. В то же время, ПСК от этих видов гораздо реже используют в научно-исследовательских лабораториях, чем ПСК мышей и человека, поэтому они не будут описаны в настоящем стандарте, хотя большая часть настоящего стандарта будет иметь к ним отношение.

ПСК человека, полученные в исследовательских условиях, дадут ключ к развитию клеточной терапии, обеспечив, таким образом, соответствующую подготовку и документацию клеточных линий, используемых в этой динамично развивающейся области, а также наличие у них установленной идентичности и характеристик, которые имеют большое значение в обеспечении воспроизводимости исследований на базе ПСК. Настоящий стандарт ставит целью удовлетворение текущего спроса на стандартизованные методы биобанков ПСК и основывается на международном консенсусе, согласованном ресурсными центрами ПСК [9]. Настоящий стандарт устанавливает требования к разработке, поддержанию, описанию, хранению и распространению ПСК мышей и человека, предоставляя общее руководство как для биобанка, так и для фундаментальных исследований ПСК.

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Биотехнология

БИОБАНКИНГ

Требования к плюрипотентным стволовым клеткам человека и мыши

Biotechnology. Biobanking.
Requirements for human and mouse pluripotent stem cells

Дата введения — 2025—03—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает требования к биобанкингу плюрипотентных стволовых клеток мышей и человека (ПСК), включая сбор исходного биологического материала и связанных с ним данных, выделение, культивирование, описание, контроль качества (КК), поддержание, консервацию, хранение, размораживание, утилизацию, распространение и транспортирование.

Настоящий стандарт применим ко всем организациям, выполняющим биобанкинг для ПСК мышей и человека, используемых в научно-исследовательских целях.

Настоящий стандарт распространяется на клеточные линии, которые предполагается использовать *in vivo* на людях, в клинических или терапевтических целях.

Примечание — Международные, национальные и/или региональные регламенты/требования также могут быть применены к конкретным аспектам, рассматриваемым в настоящем стандарте.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты [для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированных — последнее издание (включая все изменения)]:

ISO 8601-1, Date and time — Representations for information interchange — Part 1: Basic rules (Дата и время. Представление для обмена информацией. Часть 1. Основные правила)

ISO 20387:2018, Biotechnology — Biobanking — General requirements for biobanking (Биотехнология. Биобанкинг. Общие требования)

ISO/TS 20388:2021, Biotechnology — Biobanking — Requirements for animal biological material (Биотехнология. Биобанкинг. Требования к биологическому материалу животного происхождения)

ISO 21709:2020, Biotechnology — Biobanking — Process and quality requirements for establishment, maintenance and characterization of mammalian cell lines (Биотехнология. Биобанкинг. Требования к организации, обслуживанию, определению характеристик и контролю качества клеточных линий млекопитающих)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями.

Терминологические базы данных ИСО и МЭК доступны по следующим адресам:

- платформа онлайн-просмотра ИСО по адресу: gost.e-ecolog.ru ;
- Электропедия МЭК по адресу: gost.e-ecolog.ru .

Издание официальное

3.1 **биобанк** (biobank): Юридическое лицо или часть юридического лица, осуществляющие *биобанкинг* (3.2).

[ИСО 20387:2018, 3.5]

3.2 **биобанкинг** (biobanking): Процесс приобретения и хранения биологического материала, включая конкретные действия или все действия, связанные со сбором, подготовкой, консервацией, испытанием, анализом и передачей определенного биологического материала, а также соответствующей информации и данных.

[ИСО 20387:2018, 3.6]

3.3 **досье на образец клеточной линии** (cell line master file): Полное досье всех процедур и записей, используемых для создания и поддержания клеточной линии.

3.4 **морфология клетки** (cell morphology): Форма и структура клетки.

Примечание 1 — Морфология может быть представлена одним параметром или комбинацией двух или более параметров.

[ИСО 21709:2020, 3.3]

3.5 **чистота клеточной популяции** (cell population purity): Процент клеток определенного типа в популяции, обладающих одинаковыми специфическими биологическими характеристиками, такими как маркеры клеточной поверхности, генетические полиморфизмы и биологическая активность.

[ISO/TS 22859:2022, 3.8]

3.6 **криоконсервация** (cryopreservation): Процесс поддержания клеток при сверхнизкой температуре в неактивном состоянии так, чтобы впоследствии их можно было оживить.

[ИСО 21709:2020/Amd 1:2021, 3.6]

3.7 **дифференцировка** (differentiation): Процесс приведения клеток в определенное состояние или направление развития.

[ISO/TS 22859:2022, 3.11]

3.8 **дифференцирующий потенциал** (differentiation potential): Способность, выражающая концепцию, что стволовые клетки и клетки-предшественники могут продуцировать дочерние клетки, которые способны в дальнейшем дифференцироваться в другие типы клеток.

[ISO/TS 22859:2022, 3.12]

3.9 **эмбриональные стволовые клетки;** ЭСК (embryonic stem cell; ESC): *Плюрипотентная стволовая клетка* (3.21), полученная из внутренней клеточной массы бластоцисты, т. е. на ранней стадии предимплантационного эмбриона.

3.10 **аналитический этический комитет** (ethic review committee): Орган, отвечающий за оценку и рассмотрение этических проблем, связанных с исследованием.

3.11 **размножение** (expansion): Процесс культивирования клеток, в ходе которого число клеток возрастает *in vitro*.

3.12 **питающая клетка** (feeder cell): Митотически инактивированная клетка, используемая для поддержания роста *плюрипотентных стволовых клеток* (3.21).

3.13 **генетическая целостность** (genetic integrity): Геном клеток, который не изменился.

3.14 **генетическое состояние** (genetic state): Фенотип генетического профиля индивидуального организма, включающий, среди прочего, *кариотип* (3.18), целостность, мутацию и нокин экзогенной последовательности.

3.15 **собирание** (harvest): Процесс получения клеток из среды культивирования клеток.

3.16 **проверка идентичности** (identity verification): Часть процесса проверки подлинности клеточной линии, в которой генетически подтверждено происхождение клеток.

[ИСО 21709:2020, 3.10]

3.17 **индуцированная плюрипотентная стволовая клетка;** иПСК (induced pluripotent stem cell; iPSC): *Плюрипотентная стволовая клетка* (3.21), образующаяся из соматических клеток при искусственном репрограммировании путем введения генов/белков или путем химической/лекарственной обработки.

3.18 **кариотип** (karyotype): Характеристики хромосом клетки, включающие их количество, тип, форму, структуру и т. д.

3.19 **пассаж, субкультивирование** (passage, subculture): Процесс дальнейшего культивирования клеток в сосуде для культивации, чтобы получить бóльшую площадь поверхности/объем для выращивания клеток.

Примечание 1 — Пассирование может быть выполнено путем собирания аликвоты из исходного сосуда и повторного посева в другой сосуд.

[ISO/TS 22859:2022, 3.18]

3.20 **число пассажей** (passage number): Количество проведенных субкультиваций.

Примечание 1 — Для настоящего стандарта под P_0 понимают исходную популяцию клеток.

[ИСО 21709:2020, 3.13, с изменениями — добавлено примечание 1]

3.21 **плюрипотентная стволовая клетка;** ПСК (pluripotent stem cell; PSC): *Стволовая клетка* (3.26), которая может дифференцировать в любые типы клеток организма и способна к безграничному самовосстановлению *in vitro*.

Примечание 1 — ПСК включают в себя *эмбриональные стволовые клетки* (ЭСК) (3.9) (в том числе клетки ЭСК, полученные в результате оплодотворения, *стволовые клетки, полученные переносом ядра соматических клеток* (3.25), и т. д.) и *индуцированные плюрипотентные стволовые клетки* (иПСК) (3.17).

Примечание 2 — ЭСК-подобные клетки также могут быть выделены партеногенетическим делением ооцитов или других источников гаплоидных клеток, и эти клетки обладают многими характеристиками клеток ЭСК. В то же время, определенные свойства этих типов плюрипотентных клеток могут потребовать конкретных подходов к определению характеристик.

3.22 **время удвоения популяции;** ВУП; *время удвоения* (population doubling time; PDT; doubling time): Время, необходимое для удвоения количества культивируемых клеток.

Примечание 1 — Время измеряют в часах.

[ИСО 21709:2020, 3.8, с изменениями — добавлены слова «время удвоения популяции» и «ВУП». Добавлено примечание 1]

3.23 **самообновление** (self-renewal): Способность *стволовых клеток* (3.26) производить деление симметрично, образуя две идентичные дочерние стволовые клетки.

Примечание 1 — Взрослые стволовые клетки также могут делиться асимметрично и образовывать одну дочернюю клетку, которая может необратимо перейти к дифференцированной клеточной линии и, в конечном счете, к специализированным функциональным дифференцированным клеткам, тогда как другая дочерняя клетка сохранит характеристики родительской стволовой клетки.

[ISO/TS 22859:2022, 3.23]

3.24 **выделение** (separation): Процесс получения клеток-мишеней из биологических проб.

3.25 **стволовые клетки, полученные переносом ядра соматических клеток** (somatic cell nuclear-transferred stem cell): *Эмбриональные стволовые клетки* (3.9), полученные при переносе ядра донорской клетки *in vitro* в безъядерный ооцит.

3.26 **стволовая клетка** (stem cell): Неспециализированные клетки, способные к *самообновлению* (3.23) и обладающие *дифференцирующим потенциалом* (3.8), которые могут дифференцировать в один или несколько типов специализированных клеток.

Примечание 1 — В зависимости от активности стволовые клетки можно разделить на: *тотипотентные стволовые клетки* (3.29), *плюрипотентные стволовые клетки* (3.21), мультипотентные, олигопотентные и унипотентные стволовые клетки (см. приложение А).

[ISO/TS 22859:2022, 3.24, с изменениями — заменено примечание 1]

3.27 **маркер стволовой клетки** (stem cell marker): Белок или ген, специфически экспрессирующийся в *стволовых клетках* (3.26) и обычно используемый для выделения и идентификации стволовых клеток.

Примечание 1 — Маркеры стволовых клеток варьируются в зависимости от типа стволовой клетки.

3.28 **тератома** (teratoma): Опухоль, содержащая репрезентативные дифференцированные ткани и клетки из трех зародышевых слоев.

3.29 **тотипотентная стволовая клетка** (totipotent stem cell): *Стволовая клетка* (3.26), которая может дифференцировать в целый новый организм, включающий эмбриональные и экстраэмбриональные клетки.

3.30 **жизнеспособность** (viability): Признак живого организма (например, метаболическая активность, способность к воспроизводству, наличие неповрежденной клеточной мембраны или способность возобновлять эти функции).

[ИСО 21709:2020, 3.17, с изменениями — удалена фраза «как определено на основе предполагаемого использования»]

4 Сокращения

EMRO — надзор за исследованиями эмбрионов;
HLA — антиген лейкоцита человека;
IFU — инструкции по применению;
KLF4 — фактор типа Круппеля 4;
KSR — нокаутный заменитель сыворотки;
MTA — соглашение о передаче материалов;
OCT4 — фактор транскрипции октамера 4;
OriP — источник репликации;
SOX2 — SRY (определяющая пол область Y) — бокс 2;
SSEA3 — стадиеспецифический эмбриональный антиген 3;
SSEA4 — стадийно-специфический эмбриональный антиген 4;
SSEA1 — стадийно-специфический эмбриональный антиген 1;
STR — короткий тандемный повтор;
SV40LT — большой Т-антиген вируса обезьяны 40;
БТ — бледная трепонема;
ВГВ — вирус гепатита В;
ВГС — вирус гепатита С;
ВИЧ — вирус иммунодефицита человека;
иПСК — индуцированная плюрипотентная стволовая клетка;
КК — контроль качества;
МКПК — мононуклеарная клетка периферической крови;
мЛИФ — лейкемия-ингибирующий фактор мышей;
ОФРФ — основной фактор роста фибробластов;
ПСК — плюрипотентная стволовая клетка;
чЦМВ — цитомегаловирус человека;
ЭСК — эмбриональная стволовая клетка.

5 Общие требования

5.1 Общие положения

Биобанк должен соблюдать требования ИСО 20387 и ИСО 21709 в дополнение к настоящему стандарту. В качестве дополнительной ссылки для внедрения ИСО 20387 можно использовать ISO/TR 22758. Для ПСК мышей необходимо соблюдать требования ISO/TS 20388.

Биобанк должен установить критерии и процедуры для выделения, культивирования, размножения, хранения, размораживания и транспортирования ПСК.

Необходимо создать, документально оформить, внедрить, регулярно анализировать и обновлять процедуру анализа данных.

Биобанк должен использовать валидированные и/или верифицированные методы и процедуры для деятельности, относящейся к ПСК в соответствии с ИСО 20387:2018, 7.9.2 и 7.9.3 на всех стадиях жизненного цикла биологического материала (как приведено в ИСО 20387:2018, 3.29).

Необходимо создать, документально оформить, внедрить, регулярно анализировать и обновлять процедуры, документы КК для сбора, выделения, распространения, хранения, транспортирования, испытаний и анализа данных в соответствии с характеристиками ПСК.

5.2 Нормативные и этические требования

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, 4.1.6, 4.3, 7.2.3.4, 7.3.2.4, A.7 a), и ИСО 21709:2020, 4.2. В отношении ПСК мышей — ISO/TS 20388:2021, 4.2.

Биобанк должен собрать необходимую информацию по этическим требованиям, внедрить и регулярно обновлять ее, при необходимости.

Важно понимание, что в некоторых странах может быть неприемлемо использование клеточных линий ПСК в научных исследованиях и/или разработках, поэтому отправка клеток в сотрудничающие организации может потребовать учета этих особенностей. Биобанк должен разработать, задокументировать и внедрить политику закупок и поставок ПСК.

Планирование экспериментов с использованием или выделением ПСК человека следует согласовывать в специализированном аналитическом этическом комитете, обладающим особым опытом в отношении типа и предполагаемого использования линий ПСК биобанками.

Биобанк должен разработать процесс верификации и документирования происхождения клеточной линии, чтобы обеспечить доказательства соблюдения этических норм и нормативных требований.

Биобанк должен обладать информацией о том, что донорство эмбрионов/тканей человека было компенсировано, и эмбрион человека был создан специально для исследований, поскольку это может быть незаконно в некоторых странах.

При получении новых плюрипотентных клеточных линий из эмбрионов человека процесс этического анализа должен основываться на соответствующих экспертных анализах по этике.

Пример — Процесс надзора за исследованиями эмбрионов человека (EMRO) (ISSCR guidelines 2016, Chapter 2.1) [10].

Этические требования, касающиеся распространения, приведены в 18.1.

5.3 Персонал, помещения и оборудование

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, раздел 6, и ИСО 21709:2020, 4.3, 4.4, 4.7. В отношении ПСК мышей — ISO/TS 20388:2021, 4.3.

Персонал биобанка должен быть обучен надлежащим образом, в особенности получению, характеристике, культивированию, криоконсервации, размораживанию и транспортированию ПСК.

Операторы внешних организаций, обслуживающие ПСК, должны продемонстрировать соответствующие профессиональные знания, опыт и навыки.

Биобанк должен обеспечить, чтобы помещения и условия окружающей среды не оказывали негативного влияния на качество ПСК или не аннулировали результаты анализов.

Следует разработать процедуры менеджмента оборудования, включая эксплуатацию оборудования и план технического обслуживания.

Биобанк должен контролировать рабочее оборудование и условия (например, температуру, влажность, чистоту) согласно рассматриваемым характеристикам ПСК, и при необходимости проводить асептическую обработку.

5.4 Реактивы, расходные материалы и другие принадлежности

Необходимо соблюдать требования ИСО 21709:2020, 4.5. В отношении ПСК мышей — ISO/TS 20388:2021, 5.1.3.

Биобанк должен разработать критерии приемлемости для материалов, включая реактивы и расходные материалы, необходимые для выделения, культивирования, размножения, консервации, хранения, размораживания и транспортирования ПСК.

Если для культивирования ПСК используют сыворотку крови животных, то явный источник потенциально высокого риска присутствия вирусной или губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота, с которыми нельзя справиться путем оценки риска исходного биологического материала и деконтаминацией (например, облучение против определенных вирусов), должен отсутствовать.

В случае культивирования клеточных линий человека в питательной среде в присутствии компонентов крови (например, тромбоцитарный лизат, сыворотка, альбумин, трансферрин и различные цитокины) документируют источник, номер партии и отчет о верификации качества; а также, если возможно, проводят оценку риска после обмена информацией с производителем о рисках микробной контаминации и других потенциальных угроз, таких как токсичные контаминанты. При наличии подтвержденных источников указанных компонентов крови используют эти источники, за исключением случаев их непригодности по техническим или логистическим причинам.

5.5 Управление информацией и данными

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, 7.8.3 и 7.10.

Биобанк должен управлять и поддерживать данные, связанные с линиями ПСК и включающие, помимо прочего, следующее:

a) техническую информацию: методы, используемые при получении клеток/линий, условия культивирования, данные о пассировании, включая число пассажей, характеристику и данные микробиологических анализов;

b) информацию о хранении и консервации;

c) данные о проверке безопасности;

d) методы проверки идентичности клеток, например, посредством анализа короткого тандемного повтора (STR) и/или HLA-типирования или равноценными валидированными методами.

Необходимо обеспечить определенные сроки и безопасность хранения данных, а также целостность хранимых данных.

Необходимо установить минимальный срок хранения записей для ПСК человека. Специальные требования к условиям и срокам хранения можно применять в будущих задачах. Персональные данные каждого человека-донора необходимо хранить в защищенном месте и управлять в соответствии с ИСО 20387:2018, 4.3.

Для обеспечения возможности просмотра данных и записей для конкретного применения необходимо хранить досье на образец клеточной линии.

6 Сбор исходных биологических материалов и связанных с ними данных

6.1 Сведения о человеке-доноре и требования к биологическому материалу

Должна быть выполнена и документально подтверждена оценка риска.

Чтобы защитить персональные данные донора, биобанк должен разработать методы защиты данных в соответствии с ИСО 20387:2018, 4.3.

Необходимо документировать информацию о доноре. При возможности необходимо подготовить документацию до отбора проб. Документация должна включать, помимо прочего:

a) идентификатор донора, который может иметь вид кода [например, псевдонимизированный (снабженный псевдонимом), анонимизированный (обезличенный)];

b) информацию о состоянии здоровья донора (например, медицинская карта, справка о здоровье или пригодности донора, тип заболевания, сопутствующее заболевание, демографические данные, например, возраст, пол).

Примечание 1 — В зависимости от ситуации можно также включить группу крови ABO и классификационные данные совместимости HLA донора;

c) информацию о медицинском и специальном лечении до сбора материала (например, дата, сроки лечения, принимаемые медикаменты, заключение медицинского специалиста);

d) если целесообразно, информацию об информированном добровольном согласии, данном донором (например, копия подписанного информированного добровольного согласия с отредактированными данными имени донора); см. ИСО 20387:2018, 7.2.3.4.

При необходимости документирование информации о доноре должно включать географический регион донора в зависимости от цели исследования.

Для создания плановых линий иПСК документирование сведений о доноре должно включать, помимо прочего:

- пол;
- возраст;
- тип ткани или клеток.

В ходе процесса сбора клеток человека необходимо принять меры по защите здоровья и безопасности донора и персонала биобанка.

6.2 Сведения о мышах-донорах и требования к биологическому материалу

Биобанк должен разработать, задокументировать и внедрить критерии включения и исключения, основанные на цели исследования.

В документированную информацию о мышах-донорах непосредственно до сбора необходимо включать a) и b), а также, помимо прочего, следует включать c) и d) из следующего перечня:

a) штамм и генотип;

b) демографические данные (т. е. возраст, пол и т. д.);

c) информацию о состоянии здоровья мышей (например, состояние здоровья или пригодность донора, тип заболевания, сопутствующее заболевание);

d) информацию о медицинском лечении и специальном лечении до сбора биоматериала (например, дата, сроки лечения, используемые медикаменты, заключение медицинского специалиста, стресс, диета).

Идентификатор мыши, который может быть в виде кода (например, согласно [11]), следует документировать дополнительно, при наличии. Для планового выделения линии иПСК документируемые сведения о доноре должны дополнительно включать среди прочего:

- пол;
- возраст;
- типы тканей или клеток;
- стратегии перепрограммирования, включая факторы перепрограммирования и систему доставки генов.

Требования, касающиеся благополучия животных, при содержании мышей-доноров должны соответствовать ИСО 10993-2:2006.

Если ПСК мышей выделены из определенного штамма или генетически модифицированной мыши, созданными другой лабораторией, компанией или организацией, для выделенных ПСК необходимо заключить соглашение с законным обладателем мыши-донора.

Если мышь-донор является генетически модифицированной, ее использование не обязательно противоречит правам первоначального владельца.

Для ПСК мышей скрининг любого известного вещества, инфицирующего колонии, должен быть задокументирован.

6.3 Процедура сбора материала

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, 7.2.

Биобанк должен разработать, внедрить, валидировать и документировать процедуру сбора для каждого соответствующего исходного биологического материала.

Примечание — Для каждой отбираемой ткани существуют конкретные требования и установившаяся практика по сбору материала. Учет новых разработок может улучшить качество собираемых клеток.

Все реактивы и материалы, используемые для сбора биологического материала, должны быть стерильными.

Биобанк должен соблюдать требования ИСО 35001 или [12] при работе с биологическим материалом, зараженным патогенами.

Риск микробиологической контаминации (бактериальной, грибковой, вирусной, паразитарной) следует снизить, акцентируя внимание на тех веществах, которые вероятнее всего могут стать контаминантами, исходя из географии, когорты доноров и извлекаемой ткани.

7 Транспортирование исходного биологического материала или ПСК и связанных с ними данных в биобанк

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, 7.4, ISO/TS 20658 применяют для организации транспортирования и погрузочно-разгрузочных работ, а также для учета требований безопасности помещений. В отношении ПСК мышей необходимо соблюдать требования ISO/TS 20388:2021.

При обращении с биологическим материалом, зараженным патогенами, биобанк должен соблюдать требования ИСО 35001 или [12].

Биобанк должен определить подходящие условия для транспортирования исходного биологического материала из помещения для сбора материала в биобанк. Следует применять инструкции по транспортированию исходного биологического материала до места подготовки, а также подготовленных ПСК — в биобанк.

Необходимо учитывать следующие факторы при транспортировании:

a) упаковку, материал, контейнеры и вторичную упаковку;

b) среду или растворитель;

c) продолжительность транспортирования и температуру.

Среда и условия хранения исходного биологического материала должны быть установлены, внедрены, документированы и валидированы для обеспечения поддержания жизнеспособности и других ключевых параметров.

Проба подлежит транспортированию в соответствующих условиях биобезопасности.

Необходимо установить, внедрить и документировать процедуру для критических контрольных точек.

8 Получение и прослеживаемость исходного биологического материала или ПСК и связанных с ними данных

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, 7.3.1, 7.3.2 и 7.5. В отношении ПСК мышей — ISO/TS 20388:2021, раздел 7.

9 Создание клеточных линий

9.1 Процессы

Для создания линии ПСК человека необходимо соблюдать требования ИСО 21709:2020, 5.1. Примеры подходящих методов создания и культивирования линий ПСК приведены в приложении В.

Биобанк должен установить, внедрить, документировать, валидировать и поддерживать процедуры выделения и первичного культивирования соответствующих клеточных линий.

Процессы следует выполнять в биобезопасном боксе или в вытяжном шкафу с ламинарным потоком, используя соответствующие асептические техники.

Для создания линии иПСК должны быть тщательно задокументированы стратегии перепрограммирования, включая факторы перепрограммирования и систему доставки генов.

Каждую выращенную культуру называют «субкультура» или «пассаж».

9.2 Уникальная идентификация

Уникальную идентификацию линий ПСК устанавливают согласно ИСО 20387:2018, 7.5. Она может включать уникальное имя клеточной линии (например, уникальное имя, присвоенное при регистрации в базе данных[13] hPSCreg®[1)] для ПСК человека, или номер пробы, номер биобанковской партии и номер пробирки в биобанке. Клеточные линии следует анонимизировать или деидентифицировать.

9.3 Анализы на возбудителей инфекции

Биологический материал человека-донора или клеточные линии, полученные из донорского биологического материала, следует анализировать на соответствующие передаваемые возбудители инфекции, например, ВИЧ, ВГВ, ВГС, ТЛВЧ, чЦМВ и БТ. Поставщик должен представить отчет о состоянии донорских мышей, включая информацию о результатах конкретных анализов на специфический патоген.

Аналитические данные и результаты, а также соответствующие анализы должны быть документированы и доступны для персонала биобанка и исследователей, которые работают с биологическим материалом и созданными клеточными линиями.

10 Характеристика

10.1 Общие положения

Биобанк должен разработать, задокументировать и внедрить процедуры для характеристики ПСК и вносить соответствующие данные так, чтобы пользователи могли определить их соответствие предполагаемому назначению.

[1)] hPSCreg® является примером подходящей продукции, имеющейся в продаже. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает поддержку данного продукта со стороны ИСО.

Биологические характеристики линий ПСК должны быть установлены биобанком в соответствии с современной надлежащей научной практикой и международным консенсусом (например, по [14]). Характеристики должны включать, помимо прочего, следующее:

a) морфологию клетки. Клетки растут в двумерных условиях и обычно демонстрируют рост в виде колоний с четко обозначенными границами, высоким соотношением ядро-цитоплазма и однородной структурой. В пределах клона контакт между клетками остается плотным;

b) идентификацию клетки. Клеточные линии имеют уникальный донорский генетический профиль, и этот профиль может быть использован для исключения перекрестной контаминации другими клетками и подтверждения происхождения донора. Требования к подтверждению подлинности клеточной линии приведены в ISO/TS 23511. При необходимости, следует использовать исходные биологические материалы для создания линий ПСК или ПСК на ранней стадии пассирования, чтобы создать начальный профиль STR в качестве ориентира для последующего профилирования STR, например, чтобы проверить на перекрестную контаминацию или идентичность клетки;

c) генетическую целостность. Анализ кариотипа хромосом: для клеток, взятых от здоровых доноров, результаты обычно следующие: ПСК человека: 46, XX или 46, XY; ПСК мышей: 40, XX или 40, XY.

В биобанках, хранящих линии ПСК, могут быть получены кариологические варианты, в таких случаях биобанку или пользователям биобанка следует оценить потенциальное воздействие на характеристики клеточных линий;

d) жизнеспособность клеток. Можно использовать целый ряд анализов на жизнеспособность, и каждый из них будет измерять различные аспекты клеточной биологии. Такие анализы включают метаболическую деятельность клеток [функция эстеразы, метод с использованием тиазолил-синего, основанного на определении янтарной дегидрогеназы (МТТ также известный как 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2H-тетразолий бромид), маркеры апоптоза, окислительно-восстановительный потенциал клетки, мембранный потенциал, скорость пролиферации (содержание ДНК), функция митохондрий и целостность мембраны].

Примечание 1 — Жизнеспособность клеток приведена в ИСО 23033:2021, 7.5;

e) маркеры стволовых клеток. ПСК экспрессируют клеточные маркеры, включая в том числе самообновляющиеся маркеры (например, OCT4, SOX2, NANOG в ПСК как мышей, так и человека) и канонические маркеры, показатели плюрипотентности (например, ПСК человека: TRA-1-81, TRA-1-60, SSEA3, SSEA4; ПСК мышей: SSEA1). Уровень экспрессии этих маркеров может меняться в разных условиях культивирования. Заявленные маркеры должны присутствовать в большинстве клеток и проявляться, например, в ходе иммунофлуоресцентного анализа и/или анализа экспрессии генов. Оператор должен установить предельные значения, соответствующие поставленной цели;

f) анализ плюрипотентности. Выполняют ряд анализов для выявления плюрипотентности ПСК (см. таблицу 1):

1) дифференцировка *in vitro*: индукция эмбриоидных телец или направленная дифференцировка до типов клеток, характерных для каждого зародышевого слоя.

Примечание 2 — Некоторые клеточные линии, не прошедшие анализы, могут оставаться полезными, например, для исследований, чтобы понять дефект, и для подготовки конкретного типа дифференцированных клеток;

2) образование тератомы: оценка спонтанного образования дифференцированных тканей из трех слоев эмбриона после введения ПСК мышам с ослабленным иммунитетом.

Примечание 3 — Некоторые клетки с неполным потенциалом плюрипотентности могут образовать массы, внешне напоминающие тератомы, но лишенные терминальной дифференцировки в три зародышевых слоя, что может привести к неправильной интерпретации.

Примечание 4 — Анализ на тератому в настоящее время широко используется и считается золотым стандартом функционального анализа для оценки потенциала развития ПСК человека. Ввиду этических и законодательных ограничений запрещено проводить другие анализы плюрипотентности ПСК человека *in vivo* (такие как образование химер и тетраплоидная комплементация).

Примечание 5 — Тератомы не образуются из одиночных клеток, анализ на тератому оценивает потенциал развития на уровне популяции;

3) образование химер для клеточных линий мышей: оценка того, могут ли клетки возобновить развитие при введении в эмбрионы хозяина на стадиях морулы или бластоцисты.

Примечание 6 — Ксеногенез человека выходит за рамки настоящего стандарта.

Примечание 7 — ПСК высокого качества могут поддерживать нормальное развитие и генерировать высокосортные химеры с обширной колонизацией всех эмбриональных тканей, включая зародышевую линию, тогда как менее потентные ПСК производят меньше химер или пониженную эмбриональную жизнеспособность;

4) передача по зародышевой линии: оценка возможности анализируемых ПСК генерировать функциональные гаметы путем скрещивания химер для получения потомства от всех доноров ПСК.

Примечание 8 — Эта операция запрещена при оценке плюрипотентности ПСК человека, см. [10];

5) тетраплоидная комплементация: оценка возможности анализируемых ПСК направлять развитие целого организма путем введения донорских ПСК в тетраплоидные (4n) бластоцисты хозяина, которые можно генерировать путем электрофузии бластомеров на двухклеточной стадии. Бластоцисты 4n не могут поддерживать нормальное эмбриональное развитие после середины беременности, в то время как тетраплоидные экстраэмбриональные ткани развиваются нормально и поддерживают донорские клетки. Любой полученный эмбрион практически целиком получен из донорских ПСК. Возможность выполнения таких анализов может быть ограничена в определенных странах, поэтому при невозможности проведения данного анализа допускается использование альтернативных валидированных анализов *in vitro*.

Примечание 9 — Тетраплоидная комплементация запрещена при оценке плюрипотентности ПСК человека, см. [10];

g) в случае перепрограммированных иПСК, продолжающаяся экспрессия факторов перепрограммирования из используемых векторов перепрограммирования может повлиять на способность линии иПСК к правильной и эффективной дифференцировке. Устранение эктопической экспрессии факторов перепрограммирования должно быть подтверждено и задокументировано.

Таблица 1 — Анализ плюрипотентности

	Дифференцировка *in vitro*	Образование тератомы	Образование химер	Трансмиссия зародышевой линии	Комплементация тетраплоида
Функциональная строгость	+	++	+++	++++	+++++

10.2 Время удвоения популяции и субкультивирование/пассирование

10.2.1 ВУП

ВУП — это время, ч, необходимое для удвоения популяции ПСК. Значение ВУП вычисляют подсчетом клеток, полученных до и после собирания клеток для исследования по формуле

$$D = \frac{(T - T_0) \cdot \log 2}{\log N - \log N_0}, \quad (1)$$

где D — значение ВУП;

$(T - T_0)$ — время инкубации, ч;

N — подсчитанное число собранных клеток;

N_0 — подсчитанное число засеянных клеток.

Примечание 1 — Формула (1) применима в линейном диапазоне размножения клеток.

Среднее значение ВУП ПСК мышей обычно попадает в интервал от 11 до 20 ч (см. [15]—[18]). Среднее значение ВУП ПСК человека попадает в интервал от 16 до 48 ч (см. [16], [19]—[21]).

Примечание 2 — В зависимости от условий культивирования, пассирования культуры, плотности клеток и характеристик донора (например, возраст донора) значение ВУП может варьироваться.

Биобанку следует определить значение ВУП ПСК после вторичного культивирования.

ВУП может отражать кинетику роста ПСК при культивировании. Биобанк может использовать значение ВУП для культур ПСК при различном пассировании, чтобы оценить изменения кинетики роста клеток при культивировании.

Значение ВУП необходимо документировать.

10.2.2 Пассаж

P_0, номер(а) пассажа(ей) с указанием плотности при посеве и конечной плотности клеток, а также площадь поверхности емкости для культивирования необходимо задокументировать. Когда ПСК покроют емкость для культивирования приблизительно на 70 %—80 %, клетки можно пассировать.

Лаборатории часто нумеруют пассажи. В то же время, номер пассажа коррелирует с площадью поверхности/объемом емкости для культивирования и способом определения первоначального P_0. Рекомендуется, чтобы биобанк определил P_0 как первоначальный посев клеток на чашки.

Документально подтвержденное значение ВУП наряду с номерами пассажей может облегчить и улучшить понимание динамики роста ПСК и взаимосвязи между пассажами и ВУП.

10.3 Стабильность культуры

Биобанку необходимо установить, внедрить и задокументировать индикаторы стабильности ПСК в соответствии с назначением, включая, помимо прочего, следующее:

a) плотность/концентрацию;
b) чистоту популяции клеток;
c) коэффициент выживаемости;
d) генетическое состояние/целостность.

Пример — Определенные кариотипированием, массивами однонуклеотидных полиморфизмов, секвенированием всего генома и т. д.;

e) биологическую активность ПСК.

Некоторая степень изменчивости линий ПСК ожидаема, однако прогрессивные или необратимые изменения, такие как изменения в генетической последовательности, изменения хромосом, скорости роста или морфологии, должны быть задокументированы и оценены, чтобы изучить любое потенциальное вредное воздействие на плюрипотентные свойства ПСК или другие эффекты, которые могут ухудшить качество дифференцированных клеток.

Существуют серьезные разногласия в части наиболее приемлемого испытания на генетическую стабильность. Биобанк должен принять решение о признаках стабильности, которые необходимо отслеживать и поддерживать осведомленность о них на основе консенсуса в последних исследованиях в отношении наиболее приемлемых методов для использования.

10.4 Функциональность

10.4.1 Общие положения

Необходимо разработать показатели функциональности ПСК в соответствии с предполагаемым применением клеток, которые будут включать, в том числе потенциал дифференцировки, структуру и физиологическую функцию дифференцированных клеток, экспрессию специфичных генов и белков, а также секрецию специфических клеточных факторов ПСК и т. д.

Для ПСК человека особенно важно обратить внимание на такие испытания, поскольку они представляют основу для критических анализов, которые нужно определить, чтобы достичь соответствия намеченной цели исследования, и которые могут включать биомаркеры дополнительно к тем, что используют при стандартном контроле качества и характеристики клеток, предназначенных для исследований.

10.4.2 Дифференцировка *in vitro*

Исходные клетки, оборудование, система культивирования и рабочие процедуры, используемые при дифференцировке клеток, должны быть задокументированы.

Определение характеристик дифференцированных клеток, полученных во время дифференцировки ПСК, не следует ограничивать конкретными морфологическими особенностями. Также следует установить функциональную идентификацию, например, экспрессию важнейших системных маркеров. Выбор таких системных маркеров требует внимательного рассмотрения и валидации.

Исследования, включая развитие бластоцист человека *in vitro* с использованием ПСК, не должны превышать 14 дней, если иное не указано в соответствующем соглашении о передаче материалов (см. 18.1). Биобанк должен быть осведомлен о том, определена ли законом или регламентом соответствующего региона(ов) или стран(ы) продолжительность исследований по развитию бластоцист человека *in vitro* с использованием ПСК.

10.5 Микробная контаминация

Необходимо разработать, валидировать, внедрить и документировать в ходе всего процесса процедуры анализа ПСК на микробную контаминацию.

На протяжении всего процесса, начиная с приобретения и сбора клеток у донора, подготовки реактивов и оборудования для культивирования, и заканчивая обслуживанием и криоконсервацией культур, важно придерживаться целостного подхода и проводить микробиологический анализ на всех критических этапах процесса. Кроме того, необходимо подготовить процедуры сведения к минимуму рисков для других созданных культур. Надлежащей практикой является поддержание процедур КК для первичных тканей или клеток, заново вносимых в биобанк. Такие культуры следует держать в специально отведенной зоне и использовать для них отдельное оборудование до тех пор, пока не будет получено достаточных данных для обоснования их перемещения.

Методы, используемые для микробиологических исследований, подлежат валидации. Важно подтвердить использование соответствующих уровней чувствительности, специфичности и устойчивости в отношении анализируемых клеточных культур.

На протяжении всего процесса необходимо осуществлять менеджмент риска с оценкой микробной контаминации.

11 Контроль качества

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, 7.8 и ИСО 21709:2020, 5.5. В отношении ПСК мышей — ISO/TS 20388:2021, 8.5.

Биобанк должен разработать, внедрить и документировать процедуру КК, которая должна включать анализ биологических характеристик, связанных с функциональностью *in vitro* ПСК в соответствии с разделом 10.

КК биологических характеристик (см. раздел 10) ПСК должен выполняться для всех необходимых процедур, от выделения до размораживания. Пример процедуры КК для биобанкинга ПСК приведен в приложении С.

Биобанк должен разработать, внедрить и задокументировать критерии приемлемости КК для всех биологических характеристик ПСК, включенных в раздел 10.

Биобанк должен разработать, внедрить и задокументировать критерии приемлемости КК для всех важных контрольных точек, например, питательных сред, реактивов, оборудования.

КК необходимо разрабатывать с учетом риск-ориентированного подхода, связанного с безопасностью лаборатории.

Биобанк должен установить индикаторы безопасности ПСК в соответствии с применением, связанные с микробиологическим риском и риском получения клеток.

Необходимо выполнить микробиологические исследования, включающие, среди прочего, проверку стерильности (на бактерии, грибы), анализ микоплазмы и эндотоксинов:

a) по требованию пользователя/биобанка ПСК человека необходимо проверить на соответствующие грибы, бактерии, возбудители инфекций (например, ВИЧ, ВГВ, ВГС, ТЛВЧ, чЦМВ, БТ) и микоплазму методами, валидированными для клеточных культур. Оценка рисков в отношении доноров и реактивов для культивирования клеток может также выявить необходимость в дополнительном анализе на микроорганизмы. ПСК должны быть отрицательными на грибы, бактерии и микоплазму;

b) ПСК мышей следует анализировать на отсутствие грибов, бактерий и микоплазму, при этом они не должны проявлять явных признаков вирусного цитопатического эффекта. Оценка рисков, связанных с донорскими животными и реактивами для культивирования клеток может также выявить необходимость в дополнительном анализе на микроорганизмы. Группы мышей, использованных для получения ПСК, следует подвергнуть микробиологическому скринингу согласно установившейся практике содержания (лабораторных) животных.

Испытание на опасность происхождения клеток, в том числе испытание на патогенные внутренние и внешние факторы, аномальный иммунологический ответ, онкогенность и генетическую стабильность, необходимо проводить в зависимости от предполагаемого конечного использования клеток в будущем.

12 Анализ

Необходимо разработать, внедрить и задокументировать соответствующие процедуры анализа, чтобы обеспечить точность и надежность процессов анализа и полученных результатов.

В отношении испытательного оборудования и соответствующих помещений/сред см. 5.3.

13 Менеджмент клеточных линий

Биобанк должен поддерживать главную и рабочую систему биобанкинга ПСК [22] для обеспечения стабильных поставок клеточных линий пользователям в течение продолжительного периода [9].

14 Консервация клеточных линий

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, 7.6.

Документация должна быть составлена для каждой партии консервированных клеток.

В процессе размножения клеток вероятность перекрестной контаминации и обмена между клеточными линиями должна быть сведена к минимуму с помощью применения соответствующей документации и контроля процедур, а также проведения соответствующего анализа для выявления неаутентичных клеточных линий и случаев перекрестной контаминации клеточных линий во время процедур биобанкинга клеток. Такой анализ должен облегчить сравнение клеточных линий, хранящихся в одном и том же биобанке, и получение отпечатка ДНК каждой клеточной линии с ДНК исходного донора.

В процессе размножения ПСК должны быть задокументированы генерация культуры (путем регистрации количества клеток и их жизнеспособности при собирании выращенных и посеве новых культур), наименование клеточной линии, дата операции, условия культивирования, ФИО оператора, а также любые отклонения от протокола и корректирующие действия.

15 Хранение

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, 7.5, 7.7, раздел А.6 и ИСО 21709:2020, 5.3.4.

Оптимизация процедуры криоконсервации и методов минимизации повреждения клеток при замораживании и оттаивании является критической для надежного обеспечения присутствия жизнеспособных клеток.

Примечание — Контроль скорости замораживания с использованием подходящего криопротектора и поддержание стабильной температуры хранения может свести к минимуму негативное влияние на жизнеспособность клеток.

Для криоконсервированных ПСК необходимо задокументировать следующую информацию:

a) наименование клеток;
b) номер партии законсервированных ПСК;
c) дату консервации в соответствии с ИСО 8601-1;
d) условия культивирования;
e) количество пассажей;
f) ФИО оператора.

Каждая хранящаяся пробирка из одной и той же партии культивируемых клеток должна иметь уникальный идентификационный справочный номер (т. е. номер биобанка или номер партии), прослеживаемый на протяжении процессов сбора, выделения и размножения в соответствии с ИСО 20387:2018, 7.5.

Биобанк должен вести записи процесса криоконсервации, включая плотность, жизнеспособность клеток и контроль температуры.

16 Размораживание

В процессе размораживания клеток замороженные клетки должны быть разморожены при температуре (37 ± 0,5) °С, обработаны для культивирования, введены в культуру и затем перенесены в инкубатор с соответствующей газовой атмосферой и влажностью. Для оптимизации процесса в инкубаторе следует устанавливать соответствующую температуру культивирования, которая обычно составляет (37 ± 0,5) °С.

Замороженные клетки следует быстро размораживать при помощи тепла и переноса непосредственно в предварительно подогретую до температуры (37 ± 0,5) °С питательную среду, чтобы обеспечить максимальную жизнеспособность и биологическую активность ПСК.

Следует документировать следующую информацию, но не ограничиваться ею:

a) номер партии, указанный на замороженных пробирках;

b) наименование клеток;

c) число пассажей;

d) состояние культуры;

e) ФИО оператора;

f) дату проведения операции размораживания в соответствии с ИСО 8601-1;

g) время размораживания в соответствии с ИСО 8601-1 с момента времени, когда замороженные клетки извлекают из жидкого азота, до момента, когда клетки вводят в культуру;

h) дату в соответствии с ИСО 8601-1, при которой культура достигает достаточной плотности колоний для пассирования.

После размораживания необходимо проверить жизнеспособность клеток.

17 Утилизация

Для контроля утилизации отходов соблюдают требования ИСО 20387:2018, 4.1.8, 7.1.1, 7.5.3, 8.4.2, раздел А.7 и ИСО 21709:2020, 5.3.6.

Утилизацию ПСК [например, эмбриональных клеток, первичных (зародышевых) клеток, клеток костного мозга, крови] осуществляют в соответствии с действующими требованиями по защите окружающей среды, биобезопасности и этики.

18 Распространение

18.1 Общие положения

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, 7.3.3 и ИСО 21709:2020, 5.4. В отношении ПСК мышей — ISO/TS 20388:2021, 10.1.

Депозиторы клеток должны представить документированные доказательства, подтверждающие их соответствие национальным законодательным и этическим требованиям, связанным с закупкой тканей и получением клеточных линий.

Если организация или физическое лицо планирует применить ПСК, им необходимо подать заявку и получить одобрение от организации, которая хранит ПСК, в соответствии с ее официальными документированными процедурами.

Получение клеток из биобанка возможно только для утвержденных с этической точки зрения проектов. Биобанк оценивает такую возможность самостоятельно либо с привлечением группы этической экспертизы.

Соглашение о передаче материалов (MTA) или документ, устанавливающий эквивалентные правила и условия, должен быть подписан получателем клеток и храниться в биобанке. Требования MTA должны предотвращать распространение материалов в неэтичных целях и запрещать их распространение третьей стороной или внесение изменений в научно-исследовательский проект без предварительного согласования с биобанком. Биобанку следует учесть включение в MTA разделов, запрещающих репродуктивное клонирование с использованием ПСК человека.

Обычное соглашение MTA необязательно должно быть использовано всеми биобанками. В то же время, организации, имеющие дело с биологическими ресурсами, идентифицировали ключевые общие элементы, которые следует включить (например, [23]), существуют также другие национальные примеры для рассмотрения в качестве шаблонов [например, Национальный институт онкологии США (National Cancer Institute), см. также ссылки на национальные биобанки на сайте Международного форума по стволовым клеткам [International Stem Cell Forum (ISCF)], чтобы получить соглашения MTA от поставщиков линий стволовых клеток].

В соглашении MTA следует прописать права и обязанности биобанка и получателя, включая требования в отношении передачи третьей стороне.

Биобанк должен предоставлять доступ к руководству по культивированию, предпочтительно онлайн, включая критические стандартные операционные процедуры. Выдачу клеток пользователям сле-

дует сопровождать консультацией и обучением. Пользователи должны либо иметь свидетельство о прохождении обучения, либо обучение должно быть предоставлено как часть поставки клеточного материала. Минимальные инструкции для пользователей должны содержать протоколы размораживания криоконсервированных клеток.

Необходимо разработать, внедрить и задокументировать процедуру подачи жалобы в соответствии с ИСО 20387:2018, 7.13. Биобанк должен иметь политику замены культур, которые пользователь не смог размножить. Все жалобы следует рассматривать, чтобы оценить результативность предпринятых корректирующих действий и изыскать возможности улучшения обслуживания.

18.2 Информация для пользователей

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, 7.12.

Пользователям биобанка следует предоставить инструкции по использованию (IFU) и/или стандартные рабочие процедуры выделения, размножения, консервации, хранения и транспортирования ПСК. Инструкции IFU обычно включают информацию по общим положениям культивирования, методам консервации, и о том, какие процедуры квалифицированы и разрешены в отношении этих клеток (например, «исследования только *in vitro*», «не использовать для получения гамет», «не использовать для непродуктивного клонирования»).

Пользователям ПСК должны быть предоставлены номера партий, прослеживаемые до партии или биобанка, и заявление или паспорт безопасности материалов, содержащие опасности для поставляемых ПСК.

Пользователям ПСК должны быть предоставлены условия или гарантии, которые квалифицируют активность и характеристики клеток на основе анализов, выполненных биобанком.

Характеристика и данные микробиологических анализов от лица, внесшего клеточную линию в биобанк, должны быть доступны пользователям.

Биобанк должен разработать документированную политику по качеству и поиску источников сырья, которые могут воздействовать на качество клеточных препаратов, с учетом национальных или международных ограничений, например, фетальная бычья сыворотка, трипсин, факторы роста.

Биобанк должен обеспечить наличие сведений для облегчения эффективного выбора подходящих клеточных линий. Эти сведения должны включать, среди прочего:

a) дату сбора и консервации ткани в соответствии с ИСО 8601-1, при необходимости;

b) дату, в соответствии с ИСО 8601-1, попытки выделения (для ЭСК человека обычно принимают дату выделения массы внутренних клеток или посева на чашки *in vitro*);

c) были использованы свежие или замороженные эмбрионы;

d) информацию, касающуюся информированного добровольного согласия, полученного от донора-человека, на использование исходной ткани для исследования (при необходимости);

e) соответствующую информацию, касающуюся необходимого подтверждения благополучия животного(ых) (при необходимости);

f) любые ограничения на использование производной клеточной линии;

g) данные и их интерпретацию, полученные в результате характеристики и КК.

18.3 Транспортирование

18.3.1 Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, 7.4 и ИСО 21709:2020, 5.4.4.

В соответствии с требованиями к использованию ПСК необходимо выбрать соответствующий вид и условия транспортирования для обеспечения поддержания биологических характеристик, безопасности, стабильности и жизнеспособности ПСК.

Биобанк должен разработать, внедрить и задокументировать процедуры для транспортирования и обращения с ПСК и связанными с ними данными.

Следует избегать не предусмотренного воздействия радиации в ходе перевозки.

ПСК допускается транспортировать в виде замороженных ампул/пробирок или в виде живых культур; в любом из вариантов следует:

a) сообщить получателю дату предполагаемой отправки клеток;

b) предоставить письменные инструкции о следующем:

1) инструкции по получению ПСК,

2) инструкции по размораживанию и восстановлению ПСК,

3) инструкции по условиям вторичного хранения,

4) требуемую среду или сыворотку,

5) любые специальные дополнения,

6) режим пассирования;

c) прикрепить технический паспорт клеток и копию инструкций к внешней стороне упаковки, чтобы получатель знал, что делать, прежде чем открывать ее.

Каждая замороженная ампула/пробирка или контейнер с живой культурой (первичный контейнер) должны быть помещены в предварительно стерилизованную герметичную упаковку с самоклеящейся этикеткой. На упаковке должна быть следующая маркировка:

- данные о пробе;
- дата производства и окончания срока службы;
- наименование и контакты юридического или физического лица, осуществляющего биобанкинг.

18.3.2 Транспорт ПСК должен быть проверен биобанком на соответствие требованиям и принят заявителем(ями) на получение клеток. Проверка должна включать, но не ограничиваться проверкой:

a) контейнера, в который помещают клетки;

b) маршрутов транспортирования;

c) условий транспортирования и максимальной продолжительности отправки;

d) оборудования и методов транспортирования;

e) рисков транспортирования;

f) мер по охране.

18.3.3 Биобанк должен установить и контролировать условия транспортирования, такие как:

a) диапазон температур;

b) вибрация в случае транспортирования живых ПСК;

c) предотвращение контаминации;

d) валидация характеристик транспортировочного оборудования (например, криоконтейнер для перевозки, пробирки с пробой);

e) соответствующая упаковка;

f) направленное размещение образца;

g) допустимое облучение;

h) влажность при транспортировании живых ПСК.

Примечание — Допускается проводить верификацию посредством онлайн-мониторинга или контроля процесса транспортирования.

18.3.4 Транспортирование ПСК необходимо задокументировать, включая, среди прочего:

a) режим и условия транспортирования ПСК;

b) маршрут транспортирования;

c) данные транспортной компании и ее контактные данные;

d) сведения о получателе (т. е. личность, адрес и другая информация).

18.3.5 При необходимости следует организовать проверку упаковок при перевозке и, если это возможно, добавление новых криогенных сред (например, твердый диоксид углерода, жидкий азот) для поддержания температуры отгрузки.

18.3.6 Используя современные методы культивирования ПСК, биобанкам следует избегать отгрузку растущих культур. Объединение нескольких пайет или пробирок одного и того же замороженного материала может потребоваться получателю для успешного размораживания культуры. Однако, биобанки должны стремиться обеспечить достаточное количество жизнеспособных клеток в одном контейнере, чтобы соответствующим образом обученный персонал мог разморозить репрезентативную культуру.

Приложение А
(справочное)

Сравнение активности

Таблица А.1

	Тотипотентный	Плюрипотентный	Мультипотентный	Олигопотентный	Унипотентный
Активность	+++++	++++	+++	++	+
Терминология	Тоти = целый	Плюри = много	Мульти = несколько	Олиго = немного	Уни = один
Типы клеток, в которые способны генерировать	Дифференцируют в любой тип клеток, так же как экстраэмбриональные клетки (плацента)	Дифференцируют в клетки любого из трех зародышевых слоев (но не плацента)	Дифференцируют в ограниченное число типов клеток в конкретной линии	Дифференцируют в некоторые типы клеток	Дифференцируют только в один тип клеток
Примеры	Зигота	Эмбриональные стволовые клетки, индуцирующие плюрипотентные клетки	Гемопоэтические стволовые клетки, нейральные стволовые клетки, мезенхимальные стволовые клетки	Миелоидные стволовые клетки	Миобласт

Приложение В
(справочное)

Примеры методов выделения и культивирования ПСК

В.1 Общие положения

Существуют различные методы выделения и пассирования ПСК человека и мыши. Подходы, приведенные в В.2, могут быть рассмотрены в качестве вариантов.

В.2 Процесс

В.2.1 Выделение ЭСК человека

Информация о подходах к выделению ЭСК человека приведена в [24] и [25].

В.2.2 Выделение иПСК

В.2.2.1 Метод эписомного перепрограммирования

В качестве примера использовано получение иПСК «без кормильщиков» (feeder-free) из фибробластов крайней плоти новорожденного человека.

a) Эписомальные векторы. В настоящее время существуют различные версии эписомальных векторов. Тип эписомальных векторов, повседневно использующийся в получении иПСК человека, основан на элементах OriP/EBNA1 вируса Эпштейна-Барра.

b) Факторы перепрограммирования. Можно использовать множество различных комбинаций факторов перепрограммирования, например, человеческий OCT4, SOX2, NANOG, LIN28, L-MYC, KLF4 и SV40LT. Эти гены клонируют в соответствующих экспрессионных кассетах в эписомальных векторах.

c) Культивирование фибробластов крайней плоти новорожденного человека в соответствующей среде, например, DMEM, с добавлением 10 %-ной термоинактивированной бычьей сыворотки, 0,1 мМ неосновных аминокислот, 1 мМ GlutaMAX, 0,1 мМ β-меркаптоэтанола и 4 нг/мл ОФРФ. Трансфицируют эписомальные векторы перепрограммирования в фибробласты крайней плоти химическим путем или с помощью электропорации. Для повышения эффективности транфекции можно выполнить нуклеофекцию.

d) Транфектированные фибробласты при низкой плотности засевают в чашки со средой для культивирования фибробластов. Поверхность может быть предварительно покрыта такой матрицей, как Matrigel, Vitronectin или Laminin 511-E8. Здесь большое значение имеет посев на чашки материала при низкой плотности клеток, например, на три чашки диаметром 10 см можно рассеять около $1,0 \times 10^6$ нуклеофектированных фибробластов.

e) Культивируют трансфицированные фибробласты в среде для перепрограммирования. Чтобы повысить эффективность эписомального перепрограммирования без питания, перепрограммируемое культивирование можно разделить на два этапа. На первом этапе (например, с 1 по 13 день для фибробластов крайней плоти новорожденного) среда для культивирования фибробластов без сыворотки (например, базальная среда N2B27) дополняется небольшими молекулами (например, A-83-01, PD0325901, CHIR99021, HA-100), можно использовать факторы роста (например, LIF, ОФРФ). На второй стадии (например, с 13 по 25 день) можно использовать соответствующую питательную среду для ЭСК человека без питания.

f) Собирают колонии иПСК человека. На 21—25 день после трансфекции под микроскопом легко можно увидеть компактные колонии иПСК человека. Под микроскопом используют пипетки с наконечниками, 20 мкл, чтобы вручную собрать и перенести каждую колонию иПСК в отдельную лунку планшета на 48 лунок, предварительно покрытых матрицей, например Matrigel, Vitronectin или LMN511-E8 в подходящей питательной среде без питания для ЭСК человека.

g) Инкубируют в инкубаторе с концентрацией CO_2 5 % при температуре (36,5 ± 0,5) °С и меняют среду каждый день.

h) Разделяют и размножают колонии иПСК человека, если они вырастают большими.

В.2.2.2 Метод вируса Сендай

В качестве примера перепрограммируют мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК).

День — 4. Засевают МКПК:

- за четыре дня до трансдукции извлекают пробирку(и) МКПК из среды хранения в жидком азоте. Оттаивают пробирку в размораживающем устройстве или на водяной бане при температуре (36,5 ± 0,5) °С. Когда в пробирке останется только маленький кристалл льда, извлекают ее из устройства/водяной бани. Опрыскивают наружную сторону пробирки 70 %-ным изопропанолом или этиловым спиртом (этанолом), прежде чем поместить ее в шкаф для культивирования;

- осторожно, с соблюдением правил асептики переносят МКПК в коническую пробирку вместимостью 15 мл. Медленно (по капле) добавляют от 5 до 10 мл предварительно подогретой готовой питательной среды для МКПК

(Complete StemPro™[1])-34 среда, содержащая 2 мМ L-глютамина, 100 нг/мл SCF, 100 нг/мл FLT-3, 20 нг/мл IL-3 и 20 нг/мл IL-6) в суспензию клеток. Извлекают аликвотное количество клеток, чтобы подсчитать клетки и определить их жизнеспособность;

- центрифугируют клеточную суспензию со скоростью 200*g* в течение 10 мин, надосадочную жидкость извлекают и снова суспендируют клетки в МКПК-среде готового состава до получения $5 \cdot 10^5$ клеток/мл. Добавляют 1 мл на лунку в средней части 24-луночного планшета, чтобы предотвратить избыточное испарение среды при инкубации. Инкубируют клетки в инкубаторе при температуре (36,5 ± 0,5) °С в увлажненной атмосфере, содержащей 5 % CO_2.

От дня -3 до дня -1. Наблюдают за клетками и добавляют свежую среду:

- ежедневно питают клетки, осторожно удаляя 0,5 мл среды из каждой лунки и заменяя на 0,5 мл свежей готовой среды МКПК, стараясь не потревожить клетки. Если в 0,5 мл удаленной из лунок среды присутствуют клетки, то центрифугируют клеточную суспензию со скоростью 200*g* в течение10 мин, надосадочную жидкость удаляют и снова суспендируют клетки в 0,5 мл среды МКПК, прежде чем вернуть их в лунки.

День 0. Подсчитывают клетки и выполняют трансдукцию:

- подсчитывают клетки подходящим методом и вычисляют объем каждого вируса, необходимого для достижения целевого значения MOI, используя подсчет живых клеток и информацию о титре CoA (сначала выполняют трансдукцию с MOI 5, 5 и 3 (т. е. KOS MOI = 5, hL-Myc MOI = 5, hKlf4 MOI = 3);
- для каждой трансдукции пипеткой отбирают от $2,5 \cdot 10^5$ до $5 \cdot 10^5$ клеток в круглодонную пробирку;
- извлекают пробирки, содержащие перепрограммированный вирус Сендая, из хранилища с температурой ≤ –70 °С. Размораживают каждую пробирку по очереди, сначала погружая дно пробирки в водяную баню при температуре (36,5 ± 0,5) °С на 10—20 с, а затем извлекают пробирку из водяной бани и дают оттаять при комнатной температуре. После оттаивания быстро центрифугируют пробирку и сразу помещают на лед;
- добавляют вычисленные объемы каждого перепрограммированного вируса Сендая к 1 мл среды МКПК, предварительно нагретой до (36,5 ± 0,5) °С. Обеспечивают тщательное перемешивание раствора пипеткой, взбивая смесь пипеткой вверх и вниз. Следующий этап завершают в течение 5 мин;
- добавляют смесь перепрограммированного вируса, приготовленного по В.2.2.2, шаг 8), в круглодонную пробирку, содержащую смесь МКПК, приготовленную по В.2.2.2, шаг f). Общий полученный объем должен составлять от 1 до 1,5 мл. Плотно закупоривают и оборачивают пленкой пробирку. Центрифугируют клетки и вирус при 1000*g* в течение 30 мин при комнатной температуре. По завершении центрифугирования добавляют дополнительно 1 мл среды МКПК в пробирку, снова суспендируют клетки и переносят их в одну лунку планшета на 12 лунок (теперь общий объем должен составлять от 2 до 2,5 мл). Инкубируют планшет в течение ночи при температуре (36,5 ± 0,5) °С в инкубаторе в увлажненной атмосфере 5 %-ного CO_2.

День 1. Заменяют среду и культивируют клетки:

- на следующий день забирают среду и клетки из планшета и переносят в пробирку для центрифугирования вместимостью 15 мл. Осторожно споласкивают лунку порцией среды, равной 1 мл, чтобы обеспечить максимальное собирание клеток;
- удаляют вирусы Сендая центрифугированием клеточной суспензии при 200*g* в течение 10 мин, удаляют надосадочную жидкость и вновь суспендируют клетки в 0,5 мл готовой среды для МКПК на лунку на планшете на 24 лунки;
- культивируют клетки при температуре (36,5 ± 0,5) °С в увлажненной атмосфере 5 %-ного CO_2 в течение двух дней. В течение этого времени замены среды не требуется.

День 3. Засевают клетки на покрытые матрицей Laminin 521 лунки для культивирования:

- покрывают достаточное количество чашек для культивирования тканей (например, 6-луночные, 60-мм, 100-мм) матрицей Laminin 521;
- подсчитывают клетки подходящим методом и засеивают 6-луночные покрытые Laminin 521 планшеты для культивирования в количестве, равном от $1 \cdot 10^4$ до $1 \cdot 10^5$ живых клеток на лунку, в 2 мл среды МКПК без цитокинов. Инкубируют клетки при температуре (36,5 ± 0,5) °С в увлажненной атмосфере 5 %-ного CO_2.

От дня 4 до дня 6. Заменяют отработанную среду:

- через день аккуратно удаляют 1 мл (половину) отработанной среды из клеток и заменяют ее 1 мл свежей среды МКПК без цитокинов и не тревожа клетки.

День 7. Начинают перенос клеток на коммерческую готовую среду чПСК:

- удаляют 1 мл (половину) среды МКПК без цитокинов из клеток и заменяют ее на 1 мл коммерческой готовой среды чПСК, чтобы начать адаптацию клеток к новой питательной среде.

От дня 8 до дня 28. Питают и отслеживают клетки:

- 24 ч спустя (день 8) заменяют полный объем среды на среду Essential 8™[2]) и заменяют отработанную среду каждый последующий день;

---

[1]) Complete StemPro™ является торговой маркой Thermo Fisher Scientific. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает поддержку данного продукта со стороны ИСО.

[2]) Essential 8 является торговой маркой Thermo Fisher Scientific. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает поддержку данного продукта со стороны ИСО.

- начиная с дня 8, наблюдают лунки через день под микроскопом на появление скоплений клеток, показательное для перепрограммированных клеток. Ко дню 15—21 после трансдукции колонии должны вырасти до размера, подходящего для переноса;

- когда колонии готовы к переносу, выполняют окрашивание живых клеток, используя Tra1-60 или Tra1-81 для выделения перепрограммированных колоний, при необходимости. Вручную собирают колонии и переносят их на 6- или 12-луночные планшеты для культивирования, подготовленные при помощи покрытия LN521, для размножения.

B.2.3 Выделение клеток ЭСК мышей

Подходящий метод для получения ЭСК мышей приведен в [26]. Информация для дополнительной стадии трипсинизации, которую необходимо провести до выращивания клеток на чашках диаметром 60 мм для промежуточного слияния перед замораживанием, приведена в [27].

B.2.4 Выделение иПСК мышей

Информация для получения иПСК мышей приведена в [28] и [29].

B.2.5 Пример для выращивания ПСК мышей

Ниже приведены примеры трех сред, используемых для ЭСК мышей, которые имеют разные характеристики:

a) содержащие сыворотку (15 % FBS).

Пример 1 — Среда DMEM — это базальная питательная среда (с высоким содержанием глюкозы), содержащая 15 % FBS, 1 % пенициллина/стрептомицина (100×), 55 мМ β-меркаптоэтанола и 1000 Ед/мл мЛИФ;

b) без сыворотки с заменителем нокаутной сыворотки (20 % KSR).

Пример 2 — Базальная питательная среда DMEM/F12, содержащая 20 % KSR, 1 % пенициллина/стрептомицина (100×), 55 мМ β-меркаптоэтанола, 1 % GlutaMAX (100×), 1 % заменимой аминокислоты (NEAA, 100×) и 1 000 Ед/мл мЛИФ;

c) без сыворотки 2i (Chir99021, PD0325901).

Пример 3 — Нейробазальная питательная среда и DMEM/F12, смешанные в соотношении 1:1, содержащие 1 % N-2 добавку, 0,5 % B-27 добавку, 20 нг/мл BSA, 10 мкг/мл инсулина, GlutaMAX, 1 % пенициллина/стептомицина (100×), 55 мМ β-меркаптоэтанола, 1 мкМ PD0325901 (MEK-ингибитор), 3 мкМ CHIR99021 (GSK3b-ингибитор) и 1000 Ед/мл мЛИФ.

Характеристики должны быть описаны подробно.

B.2.6 Примеры подготовки питающих клеток из эмбрионов мышей

Подходящие методы для подготовки питающих клеток из эмбрионов мышей приведены в [28] и [29].

Приложение С
(справочное)

Процедура контроля качества для биобанкинга ПСК человека и мышей

Таблица С.1 — Пример процедуры контроля качества согласно положениям настоящего стандарта

Проверка качества	Выделение и первичное культивирование	Субкультивирование (пассирование)	До криоконсервации	После оттаивания
Морфология клетки	+	+	+	+
Идентификация клетки	–	+	+	+
Генетическая целостность	–	+	+	+
ВУП	–	+	+	+
Жизнеспособность	–	+	+	+
Маркеры стволовых клеток	–	+	+	+
Анализ плюрипотентности	–	+	+	+
Микробная контаминация	+	+	+	+
+ — анализ включен в процедуру; – — анализ не включен в процедуру.				

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов национальным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего национального стандарта
ISO 8601-1	—	*
ISO 20387:2018	IDT	ГОСТ Р ИСО 20387—2021 «Биотехнология. Биобанкинг. Общие требования»
ISO/TS 20388:2021	—	*
ISO 21709:2020	IDT	ГОСТ Р ИСО 21709—2024 «Биотехнология. Биобанкинг. Требования к процессу и качеству для создания, поддержания и характеристики клеточных линий млекопитающих»

* Соответствующий национальный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта.

Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов:

- IDT — идентичные стандарты.

Библиография

[1] ISO 10993-2:2006, Biological evaluation of medical devices — Part 2: Animal welfare requirements

[2] ISO/TS 20658, Medical laboratories — Requirements for collection, transport, receipt, and handling of samples

[3] ISO 21709:2020/Amd 1:2021, Biotechnology — Biobanking — Process and quality requirements for establishment, maintenance and characterization of mammalian cell lines — AMENDMENT 1

[4] ISO/TR 22758, Biotechnology — Biobanking — Implementation guide for ISO 20387

[5] ISO/TS 22859:2022, Biotechnology — Biobanking — General requirements for human mesenchymal stromal cells derived from umbilical cord tissue

[6] ISO 23033:2021, Biotechnology — Analytical methods — General requirements and considerations for the testing and characterization of cellular therapeutic products

[7] ISO/TS 23511[1)], Biotechnology — General requirements and considerations for cell line authentication

[8] ISO 35001, Biorisk management for laboratories and other related organisations

[9] ISCBI. Consensus Guidance for Banking and Supply of Human Embryonic Stem Cell Lines for Research Purposes. International Stem Cell Banking Initiative (ISCBI), 2009

[10] ISSCR. Guidelines for stem cell science and clinical translation. International Society for Stem Cell Research (ISSCR), 2021

[11] Mouse Genome Informatics, gost.e-ecolog.ru

[12] WHO. Laboratory biosafety manual. World Health Organization

[13] Human Pluripotent Stem Cell Registry. (hPSCreg®) database, gost.e-ecolog.ru

[14] Alejandro D. Angeles. Hallmarks of pluripotency. Nature. 2015, 525, pp. 469—478

[15] Vahideh Assadollah. Effect of embryo cryopreservation on derivation efficiency, pluripotency, and differentiation capacity of mouse embryonic stem cells. J. Cell Physiol. 2019, 234(12), pp. 21962—21972

[16] Hindley, C. The cell cycle and pluripotency. Biochem. J. 2013, 451(2), pp. 135—143

[17] Stead, E. Pluripotent cell division cycles are driven by ectopic Cdk2, cyclin A/E and E2F activities. (2002) Oncogene

[18] Takahashi, K. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. Cell, 2006

[19] Amit, M. Clonally derived human embryonic stem cell lines maintain pluripotency and proliferative potential for prolonged periods of culture. Dev. Biol. 2000, 227(2), pp. 271—278

[20] Cowan, C.A. Derivation of embryonic stem-cell lines from human blastocysts. N. Engl. J. Med. 2004, 350(13), pp. 1353—1356

[21] Ghule, P.N. Reprogramming the pluripotent cell cycle: restoration of an abbreviated G1 phase in human induced pluripotent stem (iPS) cells. J. Cell Physiol. 2011, 226(5), pp. 1149—1156

[22] Coecke et al. Guidance on good cell culture practice. a report of the second ECVAM task force on good cell culture practice. Altern. Lab. Anim. 2005, 33(3), pp. 261—87

[23] European Culture Collections' Organisation (ECCO), gost.e-ecolog.ru -mta -and -mda/

[24] Dusko Ilic. Derivation of hESC from intact blastocysts. Current Protocols in Stem Cell Biology. 2007, 1A.2.1—1A.2.18

[25] Phelan, M.C. Techniques for mammalian cell tissue culture. Curr. Protoc. Mol. Biol. 2006, 74, A.3F.1—A.3F.8

[26] Vítězslav Bryja. Derivation of mouse embryonic stem cells. Nature Protocols. 2006, 1, pp. 2082—2087

[27] Nagy, A. Manipulating the Mouse Embryo. A Laboratory Manual. Edition 3. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2003

[28] Keisuke Okita Generation of mouse-induced pluripotent stem cells with plasmid vectors. Nature Protocols. 2010, 5, pp. 418—428

[29] Anna E. Michalska. Isolation and Propagation of Mouse Embryonic Fibroblasts and Preparation of Mouse Embryonic Feeder Layer Cells. Current Protocols in Stem Cell Biology. 2010, 1C.3.1—1C.3.17

[1)] На стадии подготовки. Стадия на момент публикации: ISO/DTS 23511.2:2022.

УДК 615.07:006.354 ОКС 07.080

Ключевые слова: биотехнология, биобанкинг, плюрипотентные стволовые клетки человека и мыши, ПСК

Редактор *Е.Ю. Митрофанова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.В. Бучная*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 07.05.2024. Подписано в печать 14.05.2024. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 3,26. Уч.-изд. л. 2,60.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «Институт стандартизации»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru