ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 72346— 2025/ ISO/TS 23511:2023

БИОТЕХНОЛОГИЯ

Общие требования и принципы аутентификации клеточной линии млекопитающих

(ISO/TS 23511:2023, Biotechnology — General requirements and considerations for cell line authentication, IDT)

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2025

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 22 октября 2025 г. № 1257-ст

4 Настоящий стандарт идентичен международному документу ISO/TS 23511:2023 «Биотехнология. Общие требования и факторы по аутентификации клеточных линий» (ISO/TS 23511:2023 «Biotechnology — General requirements and considerations for cell line authentication», IDT).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного документа для приведения в соответствие с ГОСТ Р 1.5—2012 (пункт 3.5).

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

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочного международного стандарта соответствующий ему межгосударственный стандарт, сведения о котором приведены в дополнительном приложении ДА

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 Некоторые 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, 2023
© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2025

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 Принципы аутентификации клеточных линий 3
5 Сценарии применения аутентификации клеточных линий 5
6 Подготовка образцов 6
7 Методы аутентификации клеточных линий 6
8 Выбор метода аутентификации 10
9 Контроль качества 12
10 Отчет 13
Приложение А (справочное) Методы обнаружения для аутентификации клеточных линий 15
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам 17
Библиография 18

Введение

Аутентификация клеточных линий — это важнейшая процедура контроля качества (КК), цель которой — подтвердить подлинность клеточной линии и показать, что она не контаминирована другими клеточными линиями. По оценкам специалистов значительная часть клеточных линий, хранящихся в США, Европе и Азии, неверно идентифицирована или подвергнута перекрестной контаминации, что приводит к получению потенциально недостоверных или невоспроизводимых результатов, ведущих к огромной потере времени и усилий [13]. В целях содействия надлежащему использованию клеточных линий следует стандартизировать процедуры, используемые для аутентификации клеточных линий. В настоящем стандарте изложены общие требования к аутентификации клеточных линий, основанные на действующих национальных стандартах и современных методах, с целью обеспечения и предоставления руководства для заинтересованных сторон в области биологии, биомедицины и других смежных областях.

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

БИОТЕХНОЛОГИЯ

Общие требования и принципы аутентификации клеточной линии млекопитающих

Biotechnology.
General requirements and considerations for mammalian cell line authentication

Дата введения — 2026—03—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает термины, относящиеся к аутентификации клеточных линий, в области биотехнологии. В нем изложены общие принципы, стратегии обнаружения и аналитические методы аутентификации клеточных линий. В настоящем стандарте приведены требования и основные принципы выбора метода, параметров контроля качества, анализа данных и отчетности.

Настоящий стандарт применяют для рутинного контроля клеточных линий как при культивировании, так и при хранении в области фундаментальных исследований, трансляционных исследований и производства продукции. Он также применим для валидации происхождения клеточных линий в академических и промышленных лабораториях, банках клеток и на производственных площадках. В первую очередь настоящий стандарт применим к клеткам млекопитающих, включая клетки человека.

Настоящий стандарт не распространяется на клетки неживотного происхождения (например микробные контаминанты, растительные клетки), а также на клетки в составе сложных матриц (например ткани, органы, органоиды, растения).

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использована нормативная ссылка на следующий стандарт [для датированной ссылки применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированной — последнее издание (включая все изменения)]:

ISO/IEC 17025, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories (Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий)

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 .

3.1 **банк клеток** (cell bank): Набор соответствующих контейнеров, содержимое которых имеет однородный состав, хранится в определенных условиях и где каждый контейнер представляет собой аликвоту единого пула клеток.

[ICH Q5D [14]]

3.2 **клеточная линия** (cell line): Определенная популяция клеток, которая получена в результате пассивирования первичной культуры и может поддерживаться в культуре в течение длительного

Издание официальное

периода времени с сохранением стабильности определенных исходных фенотипов и функций для использования по назначению.

Примечание 1 — Первичная культура — это культура, выращенная из клеток, тканей или органов, выделенных непосредственно из организма, и до стадии ее первого субкультурирования, размножения и получения последовательных пассажей *in vitro*.

3.3 **аутентификация клеточной линии** (cell line authentication): Процесс, с помощью которого подтверждают идентичность *клеточной линии* (см. 3.2) и демонстрируют, что она не контаминирована другими клеточными линиями.

3.4 **идентификация клеточной линии** (cell line identification): Процесс подтверждения идентичности *клеточной линии* (см. 3.2), включающий установление происхождения клеток и определение их специфических характеристик.

3.5 **микробная контаминация** (microbial contamination): Присутствие экзогенных:

a) бактерий и/или грибов;

b) вирусов; и/или

c) чужеродных *клеточных линий* (см. 3.2) того же или другого биологического вида клеточной культуре.

Примечание 1 — Некоторые клеточные линии содержат эндогенные вирусы/вирусные последовательности.

Примечание 2 — Перечисление c) широко известно как «перекрестная контаминация клеток».

3.6 **предел обнаружения** (detection limit): Наименьшее количество вещества, которое может быть обнаружено с указанной степенью достоверности.

[ИСО 14687:2019, 3.5]

3.7 **ДНК-штрихкодирование** (DNA barcoding): Таксономический метод, использующий короткий генетический маркер в ДНК организма для идентификации его принадлежности к определенному виду.

3.8 **иммунофлуоресценция** (immunofluorescence): Метод изучения распределения специфических белковых антигенов в клетках путем сочетания иммунологических методов (антиген-специфическое связывание) с методами флуоресцентного мечения.

3.9 **межвидовая перекрестная контаминация клеточных линий** (cell line inter-species cross-contamination): Контаминация клеточной культуры клетками другого биологического вида.

3.10 **внутривидовая перекрестная контаминация клеточных линий** (cell line intra-species cross-contamination): Контаминация клеточной культуры одним и тем же типом клеток (от разных особей) или разными типами клеток (от одной или разных особей), полученных от одного и того же биологического вида.

3.11 **изоферментный анализ** (isozyme analysis): Метод разделения, основанный на электрофорезе, используемый для получения характерных полос ферментативно активных полипептидов, обладающих одинаковой *специфичностью* (см. 3.19), но различной молекулярной структурой.

3.12 **анализ кариотипа** (karyotype analysis): Хромосомный анализ отдельных клеткок для выявления анеуплоидии, структурных аномалий и плоидности.

3.13 **массовое параллельное секвенирование;** MPS (massively parallel sequencing; MPS): Метод секвенирования, основанный на определении последовательности в процессе пошагового матричного синтеза множества независимых молекул ДНК одновременно.

Примечание 1 — Технология массового параллельного секвенирования может обеспечить миллионы или миллиарды коротких прочтений за один цикл.

[ИСО 20397-2:2021, 3.30]

3.14 **неверная идентификация клеточных линий** (cell line misidentification): Случаи неверной идентификации *клеточной линии* (см. 3.2) в результате неправильной маркировки.

3.15 **полимеразная цепная реакция;** ПЦР (polymerase chain reaction; PCR): Ферментативная реакция, позволяющая амплифицировать ДНК *in vitro*.

[ИСО 22174:2005, 3.4.1]

3.16 **чувствительность** (sensitivity): Отношение изменения показаний измерительной системы к соответствующему изменению значения изменяемой величины.

[ИСО/МЭК Guide 99:2007, 4.12, с изменениями — исключены предпочтительный термин «чувствительность измерительной системы» и примечания к терминологической статье. «Измеряемой» заменено на «изменяемой»]

3.17 **короткий тандемный повтор;** STR (short tandem repeat; STR): Вариабельные сегменты ДНК, состоящие из нескольких следующих друг за другом последовательностей длиной от двух до пяти пар оснований.

3.18 **однонуклеотидный полиморфизм;** SNP (single nucleotide polymorphism; SNP): Однонуклеотидная вариация в генетической последовательности, которая встречается в популяции с заметной частотой.

[ИСО 25720:2009, 4.23]

3.19 **специфичность** (specificity): Свойство метода реагировать исключительно на исследуемую характеристику или анализируемое вещество.

[ИСО 24276:2006, 3.1.4]

3.20 **валидация** (validation): Подтверждение посредством предоставления объективных свидетельств того, что требования, предназначенные для конкретного предполагаемого использования или применения, выполнены.

[ИСО 9000:2015, 3.8.13, с изменениями — исключены примечания к терминологической статье]

3.21 **секвенирование полного генома;** WGS (whole genome sequencing; WGS): Методы, позволяющие определить всю нуклеотидную последовательность ядерной ДНК эукариотических организмов.

3.22 **верификация** (verification): Подтверждение посредством предоставления объективных свидетельств того, что установленные требования были выполнены.

[ИСО 9000:2015, 3.8.12, с изменениями — исключены примечания к терминологической статье]

4 Принципы аутентификации клеточных линий

4.1 Общие положения

В процессе аутентификации клеточных линий допускается использовать различные методы испытаний, основанные на геномном анализе в сочетании с фенотипическими характеристиками. Цели геномного анализа включают:

a) подтверждение происхождения клеток;

b) изучение видового происхождения клеток, чтобы убедиться в отсутствии перекрестной контаминации клеточными линиями того же или другого биологического вида в культурах клеток;

c) идентификацию и/или подтверждение определенных характеристик, специфических для клеточной линии. Характеристики, специфические для клеточной линии, такие как генные мутации, могут выступать в качестве подтверждающего доказательства при аутентификации клеточной линии. Однако многие «специфические для клеток» характеристики связаны с конкретным типом ткани или состоянием заболевания и не являются уникальными.

4.2 Подтверждение происхождения клеток

Для подтверждения происхождения вновь созданной клеточной линии следует хранить жидкий или твердый образец ткани, из которой получена эта клеточная линия, либо жидкий или твердый образец ткани от того же донора, от которого была получена клеточная линия. Исходный профиль ДНК оригинального образца используют при аутентификации клеточной линии путем сравнения с профилями ДНК последующих пассажей. Если оригинальная ткань и/или кровь недоступны, в качестве исходного профиля допускается использовать профиль ДНК ранних пассажей. Методы профилирования на основе ДНК, предназначенные для рутинного анализа генотипа, включают:

a) анализ коротких тандемных повторов (STR) с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим анализом размера фрагментов или секвенированием по методу Сэнгера;

b) анализ однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) с помощью анализа удлинения цепи на одно основание (например, мультитаргетная одноосновная элонгация) или генотипирования SNP с помощью количественной ПЦР;

c) новейшие технологии профилирования ДНК, такие как массовое параллельное секвенирование (MPS).

В настоящее время для анализа доступны SNP базы данных, содержащие таргетные панели. Однако централизованных баз данных или общепризнанных SNP-маркеров на данный момент не существует, поэтому любое сравнение SNP должно быть проведено в рамках конкретной лаборатории либо в условиях, обеспечивающих достоверность и правильность полученных результатов. В качестве дополнительного источника информации следует предоставить данные секвенирования полного генома (WGS) новых или уже созданных клеточных линий.

4.3 Обнаружение перекрестной контаминации

4.3.1 Обнаружение межвидовой контаминации клеточных линий

4.3.1.1 Межвидовая перекрестная контаминация клеточных линий происходит, когда клеточная линия контаминирована нежелательными клетками от разных видов. Клеточные линии, полученные от разных видов, имеют различные характеристики, не все из которых подходят для аутентификации.

При аутентификации клеточных линий следует учитывать различные характеристики, в том числе:

a) генетические характеристики (например, гены CO1, CytB и ND5);

b) цитогенетические характеристики (например, хромосомный кариотип, маркерная хромосома);

c) биохимические характеристики (например, тип энзима);

d) клеточные маркеры (например, белки, липиды, гликозилирование белка, антигены гистосовместимости, тканеспецифические антигены);

e) кинетику клеток (например, различия в частоте деления клеток или времени их удвоения);

f) морфологические характеристики (например, круглая, длинная веретеновидная форма клетки).

4.3.1.2 Для выявления межвидовой контаминации клеточных линий следует использовать методы, основанные на различных принципах измерения. Для определения генетических и цитогенетических характеристик может быть использовано ДНК-штрихкодирование, ПЦР-анализ и анализ кариотипа. ДНК-штрихкодирование может быть использовано для исследования последовательностей митохондриальных генов, связанных с видоспецифичным геном CO1 (субъединица 1 цитохром с оксидазы). В ПЦР-тестах используют видоспецифичные или «вырожденные» праймеры, которые позволяют амплифицировать фрагменты ДНК для видовой идентификации и обнаружить перекрестную контаминацию при более низком ее уровне, чем при ДНК-штрихкодировании на основе секвенирования по методу Сэнгера. Анализ кариотипа позволяет напрямую выявить перекрестную контаминацию путем сравнения видоспецифичных хромосом. Морфологические характеристики, кинетика клеток, биохимические характеристики и фенотип могут быть использованы для получения подтверждающих данных о перекрестной контаминации клеток, но не подходят для аутентификации, если используются сами по себе.

4.3.2 Обнаружение внутривидовой перекрестной контаминации клеточных линий

4.3.2.1 Внутривидовая перекрестная контаминация клеточных линий происходит, когда клеточная линия контаминирована клетками одного типа (от разных особей) или разных типов (от одной или разных особей) в пределах одного биологического вида. Выявление внутривидовой перекрестной контаминации клеточных линий зависит от индивидуальных характеристик клеточных линий, которые могут включать:

a) генетические характеристики (например, STR-профилирование, SNP-профилирование);

a) генетическую последовательность (например, WGS);

b) клеточные маркеры (например, белки, липиды, гликозилирование белка, антигены гистосовместимости, тканеспецифические антигены);

c) морфологические характеристики (например, круглая, длинная веретеновидная форма клетки);

d) гистологические характеристики (например, поверхностные клеточные маркеры).

Морфологические характеристики и клеточные маркеры могут быть использованы для получения подтверждающих данных о перекрестной контаминации клеток, но сами по себе не подходят для аутентификации.

4.3.2.2 Профили STR или SNP, специфичные для последовательности, допускается использовать для различения особей одного вида. STR- или SNP-профили, основанные на технологиях секвенирования по методу Сэнгера или MPS, следует использовать для определения идентичности клеточных линий, но они также могут предоставить данные о внутривидовой перекрестной контаминации. Следует обращать особое внимание на контаминацию на ранних стадиях, которая может быть незамеченной даже при использовании этих методов.

4.4 Идентификация характеристик, специфических для клеточных линий

4.4.1 Обнаружение геномной гетерогенности клеточных линий

4.4.1.1 При длительном культивировании клеток *in vitro* клеточные линии могут приобретать дополнительные геномные изменения и превращаться во множество генетически, транскрипционно, протеотипически или фенотипически различных субклонов (например, генетическая нестабильность и гетерогенность раковых клеточных линий).

Примечание 1 — Обнаружение геномной гетерогенности клеточных линий не является методом аутентификации. Однако методы, используемые для аутентификации клеточных линий, могут быть использованы для обнаружения гетерогенности генома.

Примечание 2 — Известно, что клетки HeLa, полученные в разных лабораториях, показывают заметную вариабельность генома, экспресси мРНК в устойчивом состоянии, экспрессии белка и скорости белкового обмена при одинаковых условиях культивирования. Более того, прогрессирующая дивергенция может наблюдаться в пределах конкретной линии клеток HeLa после трех месяцев непрерывного культивирования. Процедуры манипулирования клетками *in vitro*, такие как трансфекция и редактирование генов, также могут привести к генетической гетерогенности [15].

Обнаружение геномных изменений зависит от маркеров, специфичных для клеточной линии, которые могут включать:

a) генетическую последовательность (например, секвенирование ДНК по методу Сэнгера или MPS);

b) генетические характеристики (например, STR-профилирование, SNP-профилирование);

c) транскрипцию (например, мРНК);

d) кариотип.

4.4.1.2 Методы выявления генных мутаций клеточных линий могут включать высокопроизводительное секвенирование (например, WGS) наряду с анализом кариотипа. База данных COSMIC содержит список соматических мутаций клеточных линий, обнаруженных в различных видах рака человека [16].

4.4.2 Обнаружение дифференцировки клеток

4.4.2.1 Плюрипотентные и мультипотентные стволовые клетки могут дифференцироваться спонтанно или под воздействием внешних стимулов в определенные типы клеток *in vitro*. Дифференцировка клеток в конкретной клеточной линии может быть обнаружена с помощью различных маркеров экспрессии генов, которые могут включать, но не ограничиваться этим:

a) маркеры клеточной поверхности;

b) факторы транскрипции;

c) внутриклеточные маркеры, связанные с сигнальными путями;

d) маркерные ферменты.

4.4.2.2 Для выявления экспрессии генов, специфичных для дифференцированных клеток, допускается использовать анализ методом проточной цитометрии, иммунофлуоресцентное окрашивание и иммуноферментный метод, наряду с анализами экспрессии генов, указывающими на статус дифференцировки клеток.

Примечание — Измерение клеточной дифференцировки может предоставить полезные дополнительные данные в рамках более широкого процесса идентификации клеточных линий, но не подходит для самостоятельного использования для проверки аутентификации, поскольку не основывается на методах, ориентированных на анализ генома.

5 Сценарии применения аутентификации клеточных линий

Чтобы избежать неправильной идентификации клеточных линий и перекрестной контаминации, аутентификация клеточных линий должна использоваться в следующих сценариях:

a) аутентификация и определение характеристик вновь созданных клеточных линий;

b) рутинная проверка культивируемых и хранимых клеточных линий, особенно для быстрорастущих типов клеток, клеток при длительном культивировании, клеток с необычным фенотипом и клеток после процесса селекции/сортировки;

c) валидация происхождения клеточных линий при получении из других учреждений, перед отправкой материала в другие учреждения и перед его помещением в банк;

d) валидация происхождения клеточных линий после подготовки банка клеток (т. е. мастер-банка);

e) аутентификация клеточных линий, используемых как в фундаментальных, так и в клинических исследованиях, когда в культивируемых клетках были обнаружены отклонения от нормы или после многократного пассирования.

6 Подготовка образцов

6.1 Образцы, используемые для аутентификации клеточных линий, могут включать целые клетки, дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) и рибонуклеиновую кислоту (РНК). Ошибки идентификации могут возникать из-за ошибок при маркировке или обработке образцов, а также из-за перекрестной контаминации клеток или ДНК. При работе с клетками или ДНК или их маркировке всегда следует принимать меры для снижения вероятности ошибки(ок).

6.2 Клетки, используемые для отбора образцов, должны быть полностью перемешаны и соответствовать статусу культивирования. Клетки, используемые для анализа кариотипа, должны находиться в стадии активной пролиферации, чтобы во время проведения анализа присутствовали клетки в метафазе митоза.

6.3 ДНК должна быть надлежащего качества и в достаточном количестве для последующих анализов.

Примечание — Требования могут отличаться в зависимости от используемых методов аутентификации.

6.4 Для наборов для выделения ДНК применяют техническое руководство поставщика или другие инструкции. Рекомендуется провести валидацию, чтобы определить оптимальное количество ДНК, необходимое для проведения анализа, чтобы истинные пики были четко различимы. Для получения более подробной информации о процедурах допускается использовать ИСО 20395.

7 Методы аутентификации клеточных линий

7.1 Общие положения

Каждый метод аутентификации клеточных линий имеет свои недостатки, которые могут повлиять на применимость и точность (см. приложение А). Пользователи могут выбрать один или несколько методов в зависимости от известной информации о типе клеток, сценария применения, подготовки образца или потенциальных источников контаминации.

Примечание 1 — Устаревшие методы, такие как профилирование антигена лейкоцитов человека (HLA*) с помощью ПЦР и изоферментный анализ, ранее использовались для аутентификации клеточных линий, но более не применяются из-за их ограничений по применимости, чувствительности и точности. В настоящее время для аутентификации клеточных линий наиболее широко используют методы на основе ДНК, в том числе STR-профилирование, SNP-профилирование, секвенирование HLA, ДНК-штрихкодирование и мультиплексная ПЦР. С развитием технологий современные методы, такие как WGS, начинают играть все более важную роль в области аутентификации.

Примечание 2 — Анализ кариотипа и метод оптического картирования генома позволяют выявить крупные структурные изменения хромосомы. Как правило, анализ кариотипа не позволяет установить принадлежность клетки конкретному индивиду, за исключением случаев, когда определенные клеточные линии имеют легко распознаваемые маркерные хромосомы, которые находятся, например в диплоидных и стволовых клетках.

Примечание 3 — HLA-профилирование применимо только для выявления перекрестной контаминации клеточных линий человека, полученных от разных людей. Профилирование HLA путем серотипирования или ПЦР может быть относительно информативным и в настоящее время используется только для анализа и сравнения архивных образцов и ранее полученных данных.

Примечание 4 — Клетки, полученные от разных видов, имеют различное распределение изоферментов. Изоферментный анализ может иметь относительно низкую чувствительность. Типы изоферментов, их количество и субъективная оценка могут влиять на точность и чувствительность обнаружения. Реагенты для изоферментного анализа трудно приобрести, поэтому данный метод используется редко.

* *От англ. human leukocyte antigen.*

7.2 Методы аутентификации клеточных линий на основе ДНК

7.2.1 Профилирование по коротким тандемным повторам

7.2.1.1 Применение метода

STR-профилирование широко используют для аутентификации клеточных линий путем анализа и сравнения специфических STR-локусов. STR-локусы состоят из двух-пяти нуклеотидов с разным количеством повторов в ряду. Каждый STR-локус может быть амплифицирован методом ПЦР, помечен флуорофорами с разной длиной волны и различаться по размеру и длине волны. STR-профилирование измеряет точное количество повторяющихся единиц.

7.2.1.2 Область применения

STR-профилирование включает в себя три основных этапа, в том числе амплификацию целевого STR-локуса, профилирование и интерпретацию данных. Что касается интерпретации данных, то для аутентификации клеточных линий рекомендуется использовать стандартные 10 STR-локусов; также для более высокой точности обнаружения рекомендуется использовать 16 STR-локусов (см. таблицу 1). STR-локусы должны быть выбраны таким образом, чтобы минимизировать раскрытие специфической информации о доноре. При выборе STR-локусов лаборатория должна быть осведомлена о соответствующей схеме защиты данных и персональных данных в стране (странах) использования.

Таблица 1 — Краткое описание STR-профилирования

Элементы	Методы/параметры	Применение/характеристики
STR loci	ПЦР/10 STR-локусов[a]	Стандартные локусы, рекомендованные для выявления перекрестной контаминации клеточных линий человека в целом
	ПЦР/16 STR-локусов[b]	Рекомендуется для обнаружения перекрестной контаминации с высокой точностью и чувствительностью
STR loci	ПЦР/капиллярный электрофорез	Стандартный метод профилирования для обнаружения внутривидовой перекрестной контаминации
	Секвенирование следующего поколения	Рекомендуется для высокопроизводительного анализа генотипирования STR-локусов с целью обнаружения
[a] 10 STR-локусов включают D13S317, TH01, D5S818, D16S539, DYS391, TPOX, D7S820, DS21S11, CSF1PO, vWA и Амелогенин. DYS391 находится на Y-хромосоме и используется для подтверждения мужского пола. [b] 16 STR-локусов включают D18S51, D21S11, TH01, D3S1358, FGA, TPOX, D8S1179, vWA, CSF1PO, D16S539, D7S820, D13S317, D5S818 и Амелогенин. Коммерческие наборы также включают анализы для локусов Penta E и Penta D либо для локусов D2S1338 и D19S433.		

7.2.1.3 Характеристики метода

В настоящее время STR-профилирование применяют в основном для выявления перекрестной контаминации клеточных линий человека. При наличии обширной коллекции STR-данных этот метод допускается также использовать для более широкого выявления внутривидовой перекрестной контаминации клеточных линий (с использованием видоспецифичных зондов или праймеров) и для идентификации индивидуальных доноров.

Примечание — Имеющиеся базы данных для STR-профилирования в основном предоставлены Американской коллекцией типовых культур (American Type Culture Collection, ATCC), базой данных Cellosaurus (CLASTR), Немецкой коллекцией микроорганизмов и клеточных культур (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, DSMZ), Научным институтом по лечению и уходу (Istituto Di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico, IRCSS), больничным учреждением «Поликлиника Сан-Мартино» (Ospedale Policlinico San Martino, CLIMA), Японской коллекцией биоресурсов для исследований (Japanese Collection of Research Bioresources, JCRB), Институтом физико-химических исследований (Rikagaku Kenkyusho: Institute of Physical and Chemical Research, RIKEN), Интернет-базой данных ДНК с короткими тандемными повторами (Short Tanden Repeat DNA Internet Data Base, STRBase) и базой данных «Реестр ошибочно идентифицированных клеточных линий» Международного комитета по аутентификации клеточных линий (International Cell Line Authentication Committee, ICLAC).

При передаче информации о STR-профилях исследователи должны знать о соответствующей схеме защиты данных в стране(ах) использования.

STR-профили клеточных линий верифицируют путем сравнения с другими образцами от оригинального донора и с базами данных STR-профилей клеточных линий. Для интерпретации этих сравнений следует использовать критерии соответствия, описанные в ANSI/ATCC ASN-0002 [11].

Раковые клетки содержат широкий спектр аберраций в своем геноме, с частым приобретением и потерей аллелей в различных местах генома. Клеточные линии с дефицитом репарации ошибочно спаренных оснований (MMR*) характеризуются микросателлитной нестабильностью, которая может вызывать более выраженный аллельный дрейф. Таким образом, клеточные линии могут быть неправильно классифицированы с помощью STR-профилирования. В этом случае для аутентификации следует использовать анализ увеличенного числа локусов и выбор подходящего набора критериев соответствия (примеры баз данных для выбора подходящего набора критериев: ATCC STRBase [17], CLASTR STRBase [18], DSMZ STRBase, которая включает наборы данных 2455 клеточных линий из ATCC, DSMZ, JCRB и RIKEN [19]).

ANSI/ATCC ASN-0002:2021 [11] рекомендуется в качестве эталона для STR-профилирования клеточных линий человека.

7.2.1.4 Процедура измерения

STR-профилирование способно анализировать частично деградированные и внутривидовые смешения с контаминацией 10 % и ниже, в зависимости от наборов и/или лабораторий.

STR-профилирование по своей сути ограничено в обнаружении детальных генетических изменений, поскольку оно не способно выявить крупные хромосомные структурные изменения, контаминацию клеток занесенными агентами или наличие соматических мутаций, возникших при длительном культивировании клеток *in vitro*.

7.2.2 Профилирование однонуклеотидных полиморфизмов (SNP)

7.2.2.1 SNP означает однонуклеотидную вариацию в определенной позиции в геноме индивидуума. SNP в определенном локусе сохраняются в ходе эволюции и могут быть использованы для аутентификации клеточных линий. Профилирование SNP может быть выполнено с помощью секвенирования нового поколения, ДНК-микрочипов, ПЦР и масс-спектрометрии. Платформы MPS для профилирования SNP обладают высокой производительностью и высокой точностью.

7.2.2.2 Профилирование SNP включает в себя основные этапы: разработку праймеров, амплификацию, определение и анализ данных. Совместный анализ нескольких участков можно использовать для получения видовых карт SNP различных клеточных линий, а также для обнаружения внутривидовой перекрестной контаминации клеточных линий. При использовании видоспецифичных зондов или праймеров SNP-профилирование может также применяться для выявления межвидовой контаминации клеточных линий.

7.2.2.3 SNP-профилирование имеет определенные преимущества перед STR-профилированием. SNP-профилирование можно использовать для анализа сильно деградированных фрагментов ДНК. Низкая частота мутаций делает SNP хорошими генетическими маркерами. Мультиплексирование и автоматизация SNP-профилирования также могут быть более доступными по сравнению с STR-профилированием. Однако чувствительность SNP-профилирования зависит от числа копий в интересующем локусе. SNP-профилирование не подходит для аутентификации смешанных образцов ДНК.

7.2.2.4 Для клеточных линий с микросателлитной нестабильностью профилирование SNP допускается использовать в качестве альтернативного метода аутентификации.

Примечание 1 — При большем количестве локусов SNP точность аутентификации может быть выше.

Примечание 2 — Для некоторых клеточных линий были собраны данные SNP [20].

7.2.3 ДНК-штрихкодирование

7.2.3.1 Субъединица 1 цитохром с-оксидазы (CO1), митохондриальный ген, обычно сохраняется в пределах определенного вида и проявляет полиморфизм между видами. Разработаны стандартизированные методы ДНК-штрихкодирования CO1 для видовой аутентификации клеточных линий животных. Этот метод широко используется для видовой идентификации клеточных линий путем секвенирования по методу Сэнгера определенных консервативных областей гена CO1 и анализа данных при помощи баз данных Barcode of Life Data System (BOLD) и National Center for Biotechnology Information (NCBI).

---

* *От англ. Mismatch repair.*

7.2.3.2 Основные этапы ДНК-штрихкодирования включают ПЦР-амплификацию области штрихкода, использование части ПЦР-продукта для прогона в геле, подтверждающего амплификацию, очистку оставшегося ампликона, не использованного в геле, секвенирование очищенного ПЦР-продукта по методу Сэнгера, сбор данных о последовательности на генетическом анализаторе и сравнение проанализированных данных о последовательности с эталонными последовательностями базы данных. Идентификация на уровне вида верифицируется путем сравнения последовательностей ДНК в базе данных (например, BOLD).

7.2.3.3 ДНК-штрихкодирование в основном используют для поиска клеточных линий, имеющих неправильно идентифицированный вид, для которого последовательность штрихкода доступна в качестве эталона базы данных. Поскольку анализ секвенирования по методу Сэнгера позволяет выявить только доминирующую последовательность, ДНК-штрихкодирование не подходит для идентификации смешанного образца ДНК от нескольких видов.

7.2.3.4 ANSI/ATCC ASN-0003-2015 [12] рекомендуется в качестве эталона для проверки перекрестной контаминации межвидовых клеточных линий методом ДНК-штрихкодирования CO1.

7.2.4 Мультиплексная ПЦР

7.2.4.1 Мультиплексная ПЦР является широко используемым методом в области молекулярной биологии. Она позволяет одновременно амплифицировать несколько локусов в рамках одной ПЦР-реакции за счет использования различных наборов праймеров для нескольких мишеней.

Более подробная информация приведена в ИСО 20395 и ИСО 21474-2.

7.2.4.2 Мультиплексную ПЦР допускается использовать для выявления межвидовой перекрестной контаминации часто используемых клеточных линий.

7.2.4.3 Мультиплексная ПЦР позволяет получить информацию о множестве локусов с минимальными затратами времени и средств. Однако разработка праймеров для мультиплексной ПЦР сложна. Также необходимо разработать и оптимизировать методику проведения анализа. Для самостоятельно изготовленных наборов необходимо провести валидацию на этапе разработки (или полную валидацию). Этот метод подходит для лабораторий с достаточным техническим оснащением и тех, которые регулярно проводят анализы с одним и тем же набором мишеней.

Примечание — Для получения дополнительной информации см. ИСО 20395 и ИСО 21474-2.

7.2.5 Секвенирование целого генома (WGS)

7.2.5.1 Геном клеточной линии кодирует полную генетическую информацию, отражающую видовые или индивидуальные характеристики. WGS используют для расшифровки полного геномного ландшафта индивидуума, который включает подробную информацию о генетическом полиморфизме в CO1, HLA, STR, SNP и других локусах, а также о генетическом дрейфе, спонтанных мутациях и больших хромосомных вариациях.

7.2.5.2 Порядок проведения WGS включает в себя выделение ДНК, фрагментацию ДНК, создание библиотеки, секвенирование библиотеки, вывод необработанных данных и анализ данных. WGS подходит для аутентификации клеточных линий при подтверждении происхождения клеток, обнаружении перекрестной контаминации и идентификации специфических характеристик клеточных линий. Благодаря широкому покрытию все более высокой производительности и снижению стоимости WGS признан передовым методом аутентификации клеточных линий.

7.2.5.3 Для проведения WGS, особенно для библиотек с длинными вставками, требуется высококачественная, неповрежденная и недеградированная ДНК в достаточном количестве (около 1 мкг ДНК требуется в качестве исходного материала для секвенирования).

Дополнительная информация о массовом параллельном секвенировании приведена в ИСО 20397-1 и ИСО 20397-2.

7.3 Сопутствующие методы идентификации клеточных линий

Некоторые клеточные линии содержат специфические антигены и маркеры рецепторов и секретируют особые гормоны и белки. Иммунофлуоресценция осуществляется путем мечения антитела флуорохромным маркером, и наблюдается специфическая флуоресцентная реакция при связывании антитела с соответствующим антигеном (или антителом). Таким образом, технологию иммунофлуоресценции можно использовать для определения специфических характеристик клеточных линий.

Примечание 1 — С помощью некоторых коммерчески доступных видоспецифических антител можно также определить вид клеточных линий.

Для характеристики клеток возможно также использовать поверхностные и внутриклеточные маркеры, характерные для конкретной клеточной линии (например, гематопоэтические стволовые клетки экспрессируют поверхностный маркер CD34, а цитокератин 8 является внутриклеточным маркером эпителиальных клеток).

Примечание 2 — Иммунофлуоресцентное окрашивание, изоферментный анализ и проточная цитометрия — это методы, основанные на фенотипе, которые могут предоставить вспомогательные данные, но не подходят для аутентификации.

8 Выбор метода аутентификации

8.1 Общие положения

Для целей аутентификации клеточных линий следует выбирать соответствующие методы в зависимости от происхождения клеток, их типа, целей аутентификации и опыта лаборатории.

8.2 Происхождение клеток

8.2.1 Подтверждение происхождения клеточных линий

8.2.1.1 Для вновь созданных клеточных линий следует хранить дополнительный образец ткани вместе с гистопатологическими данными, а также согласие донора или пациента и/или разрешение на этическую экспертизу для подтверждения происхождения. В тех случаях, когда исходная ткань недоступна, необходимо провести сравнение с генетическим профилем наиболее ранней возможной клеточной линии, например на основе данных исходного банка клеток, созданной публичной базы данных или у авторитетных поставщиков, предоставляющих STR-профиль при закупке клеточных линий. Для подтверждения происхождения рекомендуются методы STR-профилирования, SNP-профилирования, либо мультиплексной ПЦР, либо секвенирования ДНК, или оба метода (внутривидовые идентификационные анализы все еще недоступны для многих видов).

8.2.1.2 Клеточные линии необходимо регулярно идентифицировать как в культуре, так и в мастер-банке, при получении из других учреждений, при новом создании, после манипуляций или длительного культивирования *in vitro* (например, в экспериментах по клонированию).

8.2.2 Идентификация генных мутаций клеточных линий

Эволюция клеточных линий может происходить при длительном культивировании *in vitro* с генетической и фенотипической нестабильностью. Геномные изменения, такие как вставки, делеции, точечные мутации и некоторые хромосомные перестройки, могут быть обнаружены с помощью WGS.

WGS позволяет определить большинство мутационных показателей при условии наличия достаточной биоинформационной поддержки для запроса из баз данных геномных последовательностей.

8.2.3 Идентификация специфических свойств клеточных линий

Во время создания клеточных линий исходные клетки часто подвергаются контаминации нежелательными клеточными популяциями.

Пример — Первичная клеточная линия рака легкого часто контаминируется фибробластами легкого.

Для анализа клеточных линий рекомендуется использовать методы, основанные на экспрессии генов-репортеров и генетических маркерах, такие как проточная цитометрия и иммунофлуоресцентное окрашивание, а также методы, основанные на функциональных свойствах, таких как время удвоения, секреция цитокинов и способность к дифференцировке.

Методы, основанные на фенотипе, могут предоставить дополнительные вспомогательные данные в рамках более широкой идентификации клеточных линий, однако не подходят для целей аутентификации, которая основывается на методах, ориентированных на анализ генома.

8.3 Типы перекрестной контаминации по видовому признаку

8.3.1 Межвидовая перекрестная контаминация клеточных линий

8.3.1.1 Лаборатории клеточной биологии могут одновременно культивировать или использовать клетки, полученные от разных видов, для исследований или производства. Это может увеличить риск неверной идентификации и межвидовой контаминации клеточных линий.

8.3.1.2 Для выявления межвидовой контаминации клеточных линий рекомендуется использовать WGS, анализ ДНК-штрихкодирования, анализ кариотипа или выявление при помощи методов на основе ПЦР консервативных последовательностей генов, таких как цитохром b или субъединица 1 цитохром с оксидазы (CO1), или метод на основе PCR-RFLP (определение полиморфизма длин рестрикционных фрагментов после ПЦР), применяемый к цитохрому b.

8.3.2 Внутривидовая перекрестная контаминация клеточных линий

8.3.2.1 Лаборатории могут одновременно культивировать клеточные линии от разных особей одного вида. Клеточные линии также могут быть неверно идентифицированы и происходить от одного и того же вида, даже если об этом неизвестно. Выявление внутривидовой перекрестной контаминации клеточных линий должно проводиться регулярно для всех клеточных линий человеческого происхождения (если анализ легко доступен) и для клеточных линий грызунов, если проведение анализа возможно. Кроме того, внутривидовая идентификация штаммов должна проводиться для объектов животного происхождения, особенно для инбредных колоний мышей и крыс и моделей ксенотрансплантации.

8.3.2.2 STR-профилирование или секвенирование следующего поколения являются доступными методами для выявления внутривидовой перекрестной контаминации клеточных линий с высокой точностью.

8.4 Методы культивирования клеток

8.4.1 Аутентификация совместно культивируемых клеток

8.4.1.1 Некоторые клеточные линии необходимо культивировать совместно с фидерными клетками, полученными от разных видов.

Пример — Эмбриональные стволовые клетки человека обычно культивируют совместно с клетками эмбриональных фибробластов мыши (MEF*), что приводит к высокому риску перекрестной контаминации между этими двумя типами клеток.

8.4.1.2 Для аутентификации совместно культивируемых клеток разных видов следует использовать видоспецифичный метод ПЦР, основанный на выявлении консервативных последовательностей генов (например, митохондриального цитохрома b или CO1).

8.4.2 Аутентификация для культур клеток *ex vivo*

8.4.2.1 Модель ксенотрансплантата, полученного от пациента, (PDX**) широко используют для создания клеточных линий рака человека. При использовании животных-хозяев может возникнуть риск перекрестной контаминации. Необходимо выявлять межвидовую перекрестную контаминацию клеточных линий и специфические характеристики клеточных линий.

8.4.2.2 Для обнаружения межвидовой контаминации клеточных линий следует использовать видоспецифичные методы ПЦР, MPS или анализ ДНК-штрихкодирования. Проточная цитометрия и иммунофлуоресцентное окрашивание, а также методы на основе ПЦР и секвенирования могут использоваться для анализа характеристик клеточных линий.

8.4.3 Аутентификация для работы лаборатории

Во избежание перекрестной контаминации при длительном культивировании клеток необходимо строго соблюдать асептику.

Перекрестная контаминация клеток может произойти при одновременной работе с несколькими образцами или при совместном использовании оборудования и реагентов. В этом случае риск контаминации должен определяться в зависимости от лабораторных протоколов. Методы обнаружения должны быть выбраны в соответствии с принципами аутентификации клеточных линий.

8.5 Цель аутентификации

8.5.1 Клеточные линии необходимо повторно аутентифицировать при получении образца из внешних банков клеток или учреждений, после длительного культивирования *in vitro* или после создания банка клеток. Аутентификацию клеточных линий проводят в соответствии со стандартными процедурами, включая подтверждение происхождения клеток, выявление перекрестной контаминации и определение специфических характеристик клеточных линий.

---

* *От англ. Mouse embryonic fibroblast.*

** *От англ. Patient-derived xenograft.*

Примечание — Для целей аутентификации клеточных линий при получении образца допускается использовать официальный отчет, предоставляемый аккредитованными поставщиками, например компаниями/лабораториями, аккредитованными на проведение STR-профилирования.

8.5.2 Если необходимо определить, произошла ли контаминация конкретной клеточной линией (например, клеточной линией HeLa), следует использовать метод аутентификации на основе анализа генотипа (например, STR-профилирование). Методы, которые считаются специфичными для клеточных линий, такие как проточная цитометрия или иммунофлуоресцентное окрашивание, выявляют характеристики, специфичные для ткани или заболевания. Эти методы также могут вводить в заблуждение в случае использования в качестве единственного метода по причине изменений фенотипа в культуре.

9 Контроль качества

9.1 Обучение персонала

9.1.1 Сотрудники, отвечающие за контроль качества, например технические специалисты, должны обладать профессиональной подготовкой в области молекулярной биологии, клеточной биологии или других смежных областях исследований. Они должны пройти профессиональную подготовку и получить сертификацию в соответствующем учреждении с оценкой компетентности.

9.1.2 Технический специалист, отвечающий за контроль качества (КК), должен перед допуском к самостоятельной работе с образцами обладать навыками культивирования клеток, а также предотвращения и выявления перекрестной контаминации клеточных линий.

9.1.3 Каждый метод анализа имеет специфические требования к КК, поэтому оператор должен развивать профессиональные навыки в каждом соответствующем методе отдельно. ASN-0002 [11] и ASN-0003 [12] следует использовать для получения подробной информации о требованиях к КК для STR-профилирования и ДНК-штрихкодирования.

9.1.4 Программа обучения технического специалиста по контролю качества должна включать, как минимум, следующее:

a) культивирование клеток и другие связанные с этим асептические методы;

b) оптимизацию роста клеток;

c) характеристики культивируемых клеточных линий;

d) знания по обнаружению и предотвращению контаминации и неправильной идентификации клеток;

e) контроль лабораторной среды, поддержание безопасности, чистоты и отсутствия контаминации в лаборатории;

f) выделение нуклеиновых кислот из образцов клеток;

g) ПЦР с использованием пар праймеров и мультиплексных методов;

h) иной опыт в области молекулярной биологии;

i) использование баз данных клеточных линий и молекулярной биологии.

9.2 Приборы и оборудование

9.2.1 Приборы и оборудование должны иметь соответствующую квалификацию монтажа, квалификацию функционирования и квалификацию эксплуатации. Оператор должен следовать стандартным операционным процедурам (СОП) приборов и оборудования. СОП для современных приборов должны быть задокументированы.

9.2.2 Эксплуатационные характеристики приборов и оборудования необходимо проверять и калибровать через регулярные промежутки времени.

9.2.3 Меры по контролю рабочих помещений должны осуществляться, отслеживаться и периодически пересматриваться, а также включать контроль, но не ограничиваться этим:

a) доступа в зоны и использования зон, влияющих на лабораторную деятельность;

b) предотвращения контаминации, вмешательства или негативного влияния на лабораторную деятельность;

c) эффективного разделения зон с несовместимой лабораторной деятельностью.

9.3 Реагенты

9.3.1 Реагенты для аутентификации клеточных линий необходимо приобретать у квалифицированного поставщика, который должен предоставить отчет о проверке их качества.

9.3.2 Реагенты должны использоваться в соответствии с руководством пользователя.

9.3.3 Израсходованное количество реагента должно быть задокументировано на этикетке реагента, с указанием времени первого использования и окончательного срока годности. Реагенты с истекшим сроком годности должны быть убраны из лаборатории. Должны использоваться только непросроченные реагенты. Для реактивов, приготовленных самостоятельно, необходимо документировать ФИО сотрудника, осуществлявшего приготовление.

9.3.4 Во избежание перекрестной контаминации при транспортировании, хранении и использовании реагенты должны обрабатываться в отдельных контейнерах сертифицированным техническим персоналом.

9.4 Валидация и верификация методов

9.4.1 Общие положения

В соответствии с 9.4.2 и 9.4.3 должны использоваться валидированные методы и/или верифицированные методы.

9.4.2 Валидация

9.4.2.1 При использовании методов необходимо гарантировать их валидацию для подтверждения их пригодности для использования по назначению. Если валидация проводится лабораторией, она должна документировать и сохранять в течение определенного периода времени полученные результаты, процедуру, использованную для валидации, и заключение о том, соответствует ли метод назначению.

9.4.2.2 При внесении изменений в валидированный метод их влияние должно быть задокументировано и, при необходимости, должна быть проведена новая процедура валидации. Оценка модифицированного метода должна включать оценку точности, чувствительности, специфичности, вариабельности и предела обнаружения, и должна количественно и качественно соответствовать требованиям конкретного применения.

9.4.2.3 Валидация может включать процедуры отбора, подготовки и определения исследуемых биологических образцов, а также элементы калибровки.

ASN-0002 [11] и ASN-0003 [12] содержат подробную информацию о требованиях к валидации для STR-профилирования и ДНК-штрихкодирования.

9.4.3 Верификация

9.4.3.1 Валидированные методы, используемые без модификации, должны быть верифицированы перед использованием.

9.4.3.2 Процедура, использованная для верификации, и полученные результаты должны быть задокументированы.

10 Отчет

10.1 Составление отчета

Аутентификация клеточных линий должна включать достаточно подробную информацию, чтобы обеспечить возможность независимой оценки полученных результатов. В качестве справочного материала рекомендуется использовать ASN-0002 [11] и ASN-0003 [12], содержащие информацию по интерпретации данных для STR-профилирования и ДНК-штрихкодирования. Отчет должен включать:

a) образец (идентификатор, тип, отчет о проверке качества);
b) обозначение используемого стандарта (включая год его публикации);
c) используемый метод (если стандарт содержит несколько методов);
d) реагенты (название, источник, номер партии);
e) прибор (название, модель, настройки);
f) методы и процедуры анализа данных;
g) результат(ы), включая ссылку на пункт, объясняющий способ расчета результатов;
h) любые отклонения от процедуры;
i) любые наблюдаемые нетипичные характеристики;

j) дату проведения анализа;
k) объем аутентификации;
l) данные сотрудников, утвердивших отчет.

10.2 Оценка неопределенности измерений

Оценку неопределенности измерений, выполненных лабораториями при аутентификации клеточных линий, следует проводить в соответствии с требованиями ИСО/МЭК 17025.

Приложение А
(справочное)

Методы обнаружения для аутентификации клеточных линий

Таблица А.1 — Методы обнаружения для аутентификации клеточных линий

Метод обнаружения	Применение метода	Чувствительность	Классификация	Сильные стороны	Слабые стороны
STR-профилирование	Выявление внутривидовой перекрестной контаминации или неправильной идентификации клеточных линий, определение специфических характеристик клеточных линий (мутация генов[a])	Высокая	Современный общепризнанный метод	Способность анализировать деградированные или смешанные образцы ДНК, наличие базы данных STR и высокая производительность	Невозможно обнаружить большие изменения в структуре хромосом, ограничен только внутривидовыми сравнениями
SNP-профилирование	Выявление межвидовой[b] и внутривидовой перекрестной контаминации или неправильной идентификации клеточных линий, определение специфических характеристик клеточных линий (мутация генов[a])	Высокая	Метод на основе генома	Способен анализировать образцы ДНК, подвергшиеся сильной деградации, способен измерять генетический дрейф	Чувствительность может варьироваться в зависимости от числа копий в интересующем локусе, для поиска данных не существует общепризнанных SNP или глобальной базы данных
ДНК-штрихкодирование	Выявление межвидовой перекрестной контаминации или неправильной идентификации клеточных линий	Высокая	Современный общепризнанный метод	Доступные базы данных штрихкодов последовательностей	Невозможно проанализировать смешанные образцы ДНК разных видов
Мультиплексная ПЦР	Выявление межвидовой перекрестной контаминации или неправильной идентификации клеточных линий	Высокая	Метод на основе генома	Предоставление информации по нескольким локусам с меньшими затратами времени и средств	Применимость зависит от наличия видоспецифичных праймеров

Окончание таблицы А.1

Метод обнаружения	Применение метода	Чувствительность	Классификация	Сильные стороны	Слабые стороны
WGS	Подтверждение происхождения клеток, выявление межвидовой и внутривидовой перекрестной контаминации клеточных линий, определение специфических характеристик клеточных линий	Высокая	Метод на основе генома	Метод с высокой производительностью, позволяет получить исчерпывающую информацию о генетическом полиморфизме, таком как генетический дрейф, спонтанных мутациях и больших хромосомных вариациях	Дороговизна при низкой производительности, требуется неповрежденная и недеградированная ДНК
Анализ кариотипа	Выявление межвидовой и внутривидовой[c] перекрестной контаминации клеточных линий, выявление специфических характеристик клеточных линий (хромосомы, плоидность, низкоуровневый мозаицизм)	Низкая (при анализе ДНК), высокая (при анализе одной клетки)	Современный общепризнанный метод	Позволяет выявлять хромосомные характеристики, специфичные для конкретной клеточной линии (анеуплоидия, структурные аномалии, плоидность и низкоуровневый мозаицизм)	Требуется высокий уровень квалификации
HLA-типирование	Обнаружение перекрестной контаминации клеточных линий человека	Высокая	HLA-типирование методом серотипирования или ПЦР (устаревший метод) HLA-типирование методом MPS (метод, применяемый в настоящее время)	Применяется к человеческим клеткам с высокой чувствительностью	Относительно информативный
Изоферментный анализ	Выявление межвидовой контаминации клеточных линий	Низкая	Устаревший метод	Экономия времени	Относительно низкая чувствительность, перед анализом требуется 10 % клеток, реагенты трудно приобрести

[a] STR-генотипирование и SNP-анализ смогут обнаружить мутации только в тех участках ДНК, которые покрыты зондами или ампликонами в соответствующих анализах.

[b] Если в анализ включены другие видоспецифичные зонды или праймеры.

[c] Первые сообщения о неправильной идентификации клеточных линий на основе числа хромосом.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
ISO/IEC 17025:2017	IDT	ГОСТ ISO/IEC 17025—2019 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий»

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

- IDT — идентичный стандарт.

Библиография

[1] ISO 9000:2015 Quality management systems — Fundamentals and vocabulary

[2] ISO 14687:2019 Hydrogen fuel quality — Product specification

[3] ISO 20395 Biotechnology — Requirements for evaluating the performance of quantification methods for nucleic acid target sequences — qPCR and dPCR

[4] ISO 20397-1 Biotechnology — Massively parallel sequencing — Part 1: Nucleic acid and library preparation

[5] ISO 20397-2:2021 Biotechnology — Massively parallel sequencing — Part 2: Quality evaluation of sequencing data

[6] ISO 21474-2 In vitro diagnostic medical devices — Multiplex molecular testing for nucleic acids — Part 2: Validation and verification

[7] ISO 22174:2005 Microbiology of the food chain — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection and quantification of microorganisms — General requirements and definitions

[8] ISO 24276:2006 Foodstuffs — Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products — General requirements and definitions

[9] ISO 25720:2009 Health informatics — Genomic Sequence Variation Markup Language (GSVML)

[10] ISO/IEC Guide 99:2007 International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms (VIM)

[11] ANSI/ATCC ASN-0002-2021 Human Cell Line Authentication. Standardization of Short Tandem Repeat (STR) Profiling

[12] ANSI/ATCC ASN-0003-2015 Species-Level Identification Of Animal Cells Through Mitochondrial Cytochrome C Oxidase Subunit 1 (CO1) DNA Barcodes

[13] Lorsch J.R. et al. Fixing problems with cell lines. Science — 2014. — 346.6216. — pp. 1452—1453

[14] ICH Q5D Derivation and characterisation of cell substrates used for production of biotechnological/ biological products — Scientific guideline, // European Medicines Agency, 1998

[15] Plass C. et al. Cell line authentication: a necessity for reproducible biomedical research — EMBO J. — 2022. — 41(14):e111307. — pp. 1—9

[16] COSMIC database: gost.e-ecolog.ru

[17] ATCC STRBase: gost.e-ecolog.ru

[18] CLASTR STRBase: gost.e-ecolog.ru

[19] DSMZ STRBase. gost.e-ecolog.ru

[20] SNP database: gost.e-ecolog.ru

УДК 615.07:006.354 ОКС 07.080

Ключевые слова: биотехнология, клеточная линия, аутентификация клеточной линии, ДНК-штрих-кодирование, STR-профилирование, SNP-профилирование, мультиплексная ПЦР, анализ кариотипа

Редактор *Н.А. Аргунова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *С.И. Фирсова*
Компьютерная верстка *М.В. Малеевой*

Сдано в набор 23.10.2025. Подписано в печать 05.11.2025. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,79. Уч.-изд. л. 2,37.

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