ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 72596— 2026/ ISO/TS 22859:2022

Биотехнология

БИОБАНКИНГ

Требования к мезенхимальным стромальным клеткам человека, полученным из ткани пуповины

(ISO/TS 22859:2022, IDT)

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2026

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 20 марта 2026 г. № 259-ст

4 Настоящий стандарт идентичен международному документу ISO/TS 22859:2022 «Биотехнология. Биобанкинг. Требования к мезенхимальным стромальным клеткам человека, полученным из ткани пуповины» (ISO/TS 22859:2022 «Biotechnology — Biobanking — Requirements for human mesenchymal stromal cells derived from umbilical cord tissue», IDT).

Международный документ 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», 2026

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 7
6 Отбор проб пуповины и связанных с ними данных 8
7 Транспортирование проб пуповины или МСК-ТП человека и связанных с ними данных в биобанк . . . 10
8 Получение и прослеживаемость пуповины или МСК-ТП человека и связанных с ними данных 10
9 Выделение и размножение МСК-ТП человека 10
10 Характеристика МСК-ТП человека 11
11 Контроль качества 18
12 Хранение 18
13 Размораживание 20
14 Утилизация 20
15 Распространение МСК-ТП человека. Информация для пользователей 20
16 Транспортирование МСК-ТП человека 21
Приложение А (справочное) Типовая процедура контроля качества для биобанкинга МСК-ТП человека 23
Приложение В (справочное) Примеры подходящих методов выделения и первичного культивирования МСК-ТП человека 24
Приложение С (справочное) Типичные методы характеристики МСК-ТП человека 26
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов национальным стандартам 27
Библиография 28

Введение

Мезенхимальные стромальные клетки представляют собой гетерогенную популяцию клеток, которая характеризуется множеством функциональных свойств, включая способность секретировать паракринные факторы [8], регулировать иммунные эффекторные клетки [9], [10], поддерживать примитивные фенотипы других клеточных популяций [11], [12] и поддерживать регенерацию тканей [13], [14]. Мезенхимальные стромальные клетки могут содержать субпопуляцию стволовых клеток или клеток-предшественников, которые демонстрируют самообновление и дифференцировку *in vitro*, что было четко продемонстрировано для клеток-предшественников, полученных из пуповины [15].

Мезенхимальные стромальные клетки и мезенхимальные стволовые клетки имеют одинаковое сокращение «МСК» [16]. В настоящем стандарте аббревиатура «МСК» относится к мезенхимальным стромальным клеткам.

Функциональное определение МСК эволюционировало с течением времени по мере того, как биология этих клеток становилась все более понятной. Несмотря на эти достижения, сохраняется существенная неопределенность в отношении номенклатуры, природы, идентичности, функционирования, способа выделения и работы с этими клетками в ходе исследований. МСК не могут быть полностью определены начальными минимальными критериями [17], предложенными Международным обществом клеточной и генной терапии [International Society of Cell and Gene Therapy (ISCT)], и требуют подробной характеристики с помощью матрицы функциональных анализов [16].

МСК были выделены из пуповины [15], костного мозга [18], [19] и некоторых других тканей и широко используются для неклинических исследований. МСК из разных тканей организма имеют разные свойства. В разных учреждениях используют разные методы выделения, обработки и биобанкирования этих клеток, что осложняет сопоставление данных и результатов среди этих учреждений. Таким образом, возникла потребность в стандартизации подходов к выделению, обработке, размножению и криоконсервации МСК, полученных из конкретных источников ткани.

В настоящем стандарте представлены требования к биобанкинкгу мезенхимальных стромальных клеток человека, полученных из ткани пуповины (желе Уортона) (МСК-ТП человека) для целей исследования. Настоящий стандарт применим для академических центров, общественных и частных учреждений, выполняющих услуги по биобанкингу МСК-ТП для исследований и развития (R&D) и доклинической практики, а не для клинического применения.

Настоящий стандарт посвящен клеткам МСК, которые были выделены из ткани пуповины (желе Уортона), подвергнуты манипуляциям и/или размножены при культивировании в исследовательских целях. Указанные клетки отличаются от неманипулированных клеток, непосредственно находящихся в ткани пуповины человека (желе Уортона).

ISBT 128 [20] предоставляет терминологию и аббревиатуры для всех медицинских изделий, включая клеточную терапию, и приводит сокращенное наименование «МСК(М)» для обозначения мезенхимальных стромальных клеток из желе Уортона. В настоящем стандарте признается это сокращение, но используется более широко применяемое в научных исследованиях условное обозначение мезенхимальных стромальных клеток человека, полученных из ткани пуповины (МСК-ТП человека) [21].

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Биотехнология

БИОБАНКИНГ

Требования к мезенхимальным стромальным клеткам человека, полученным из ткани пуповины

Biotechnology.
Biobanking.
Requirements for human mesenchymal stromal cells derived from umbilical cord tissue

Дата введения — 2026—09—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает требования к биобанкингу мезенхимальных стромальных клеток человека, выделенных из ткани пуповины (желе Уортона) (МСК-ТП человека), включая сбор ткани пуповины и связанных с ней данных, выделение, культивирование, характеристику, контроль качества, криоконсервацию, хранение, размораживание, утилизацию, распространение и транспортирование.

Настоящий стандарт применим ко всем организациям, выполняющим биобанкинг для МСК-ТП человека, используемых в научно-исследовательских целях.

Настоящий стандарт не распространяется на МСК-ТП человека для предполагаемого использования *in vivo* на людях, в том числе для клеточной терапии, тканевой инженерии и иного клинического или терапевтического применения.

Примечание — Международные, национальные и/или региональные регламенты/требования также могут применяться к конкретным положениям, 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 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 термины по ИСО 20387:2018, ИСО 21709:2020, а также следующие термины с соответствующими определениями.

Издание официальное

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 **подлинность** (authenticity): Истинность и правдивость.

[ИСО/ТС 22859:2022, 3.1]

3.2 **биобанк** (biobank): Юридическое лицо или часть юридического лица, осуществляющие *биобанкинг* (3.3).

[ИСО 20387:2018, 3.5]

3.3 **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 соответствующих информации и данных.

[ИСО 20387:2018, 3.6]

3.4 **биориск** (biorisk): Эффект неопределенности, характеризующийся сочетанием возможных последствий (включая изменения условий) и связанной с ними вероятности (как определено в ISO Guide 73) возникновения события, при котором биологический материал является источником потенциального вреда.

Примечание 1 — Вред может быть следствием непреднамеренного воздействия, случайного выброса или потери, кражи, неправильного использования, диверсии, несанкционированного доступа или преднамеренного несанкционированного выброса.

[ИСО 35001:2019, 3.17]

3.5 **культивирование клеток** (cell culture): Выращивание клеток, отделенных от исходной ткани путем спонтанной миграции, механического или ферментативного диспергирования для размножения в условиях *in vitro*.

[ИСО/ТС 22859:2022, 3.5]

3.6 **досье на клеточный образец** (cell master file): Полное досье всех процедур и записей, используемых для получения клеточного образца.

[ИСО/ТС 22859:2022, 3.6]

3.7 **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]

3.8 **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.

[ИСО/ТС 22859:2022, 3.8]

3.9 **колониеобразующая единица фибробластов;** КОЕ-Ф (colony forming unit fibroblast; CFU-F): Типичный анализ *in vitro* для демонстрации потенциала *самообновления* (3.22) клеток-предшественников, засеянных на чашки с низкой частотой, в результате чего образуется колония клеток, похожих на фибробласты.

Примечание 1 — Подсчет таких колоний является показательным для потенциала колониеобразования или способности к самообновлению этих клеток *in vitro*.

[ИСО/ТС 22859:2022, 3.9]

3.10 **криоконсервация** (cryopreservation): Хранение клеток и тканей в замороженном состоянии в условиях, когда их жизнеспособность сохраняется.

[ИСО 21709:2020/Amd 1:2021, 3.6]

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

[ИСО/ТС 22859:2022, 3.11]

3.12 **потенциал дифференцировки** (differentiation potential): Относящаяся к концепции способность стволовых клеток и клеток-предшественников продуцировать дочерние клетки, которые могут в дальнейшем дифференцировать в другие типы клеток.

[ИСО/ТС 22859:2022, 3.12]

3.13 **проточная цитометрия** (flow cytometry): Методологически ориентированная поддисциплина аналитической цитологии, которая измеряет количество клеток, находящихся во взвешенном состоянии в жидком носителе, по мере их прохождения, обычно по одной клетке за раз, через измерительную станцию.

Примечание 1 — Это измерение представляет преобразование изменений в выходной мощности детектора (или детекторов) за счет изменения рассеяния света, поглощения света, испускания света (флуоресценция) клеткой или изменения электрического сопротивления по мере прохождения клеток через измерительную станцию.

Примечание 2 — Проточная цитометрия позволяет провести одновременную оценку морфологических характеристик клеток (размер и внутренняя сложность) и мембранных или внутриклеточных антигенов.

[CLSI H44-A2:2004, раздел 4, с изменениями — добавлено примечание 2]

3.14 **гетерогенность (клеток)** (heterogeneity <cells>): Неоднородность состава, качества или структуры популяции клеток.

[ИСО/ТС 22859:2022, 3.14]

3.15 **гомогенность (клеток)** (homogeneity <cells>): Однородность состава, качества или структуры популяции клеток.

3.16 **мезенхимальная стромальная клетка, полученная из костного мозга человека;** МСК-КМ человека (human mesenchymal stromal cell derived from bone marrow; hBM-MSC): Гетерогенная клеточная популяция, выделенная из *костного мозга* (3.25), которая способна модулировать иммунный ответ, секретировать паракринные факторы и проходить адипогенез, остеогенез и хондрогенез *in vitro*.

Примечание 1 — Без каких-либо манипуляций выражение «адаптированные к культивации МСК» является альтернативой термину, используемому для обозначения клеток, которые отличаются от клеток, обнаруженных *in vivo*. Становится все более очевидным, что эти типы клеток обладают другими свойствами с точки зрения экспрессии генов, функциональности и фенотипа.

3.17 **активация (мезенхимальных стромальных клеток)** (licensing <mesenchymal stromal cells>): Стимулирующее действие в отношении *МСК-ТП человека* (3.16) с использованием воспалительных цитокинов для усиления иммуносупрессии.

Примечание 1 — Термин «активация» в данном случае является биологическим термином, а не нормативным или законодательным.

3.18 **пассаж;** *субкультивирование* (passage; subculture): Процесс дальнейшего культивирования клеток в новом сосуде с питательной средой для получения большей площади поверхности/объема роста клеток.

Примечание 1 — Пассаж можно осуществить, взяв аликвоту из родительского сосуда и пересеяв ее в другой сосуд.

3.19 **число пассажей** (passage number): Количество проведенных пассажей.

Примечание 1 — В настоящем стандарте под P_0 понимают исходную популяцию клеток.

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

3.20 **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 — «время удвоения популяции» и «ВУП» добавлены как предпочтительный термин. Добавлено примечание 1]

3.21 **первичная культура** (primary culture): Культура, происходящая из клеток, тканей или органов, взятых непосредственно из организма, и предшествующая стадии ее субкультурирования, размножения и получения последовательных *пассажей* (3.18) *in vitro*.

[ИСО 21709:2020, 3.16, с изменениями — удалено примечание 1]

3.22 **пролиферация** (proliferation): Увеличение числа клеток за счет клеточного деления.

3.23 **самообновление** (self-renewal): Способность *стволовых клеток* (3.24) проводить 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 привести к специализированным функционально дифференцированным клеткам, тогда как другая дочерняя клетка сохраняет характеристики родительской стволовой клетки.

3.24 **стволовая клетка** (stem cell): Неспециализированные клетки, способные к самообновлению (3.23) и имеющие потенциал *дифференцировки* (3.12), а также способные дифференцироваться в один или несколько различных типов специализированных клеток.

Примечание 1 — Большинство взрослых стволовых клеток являются мультипотентными стволовыми клетками.

3.25 **пуповина** (umbilical cord; UC): Ткань, состоящая из мягкой студенистой соединительной ткани (желе Уортона), за исключением пупочных артерий, пупочной вены и плаценты.

3.26 **жизнеспособность** (viability): Признак живого организма (например, метаболически активного, способного к воспроизводству, имеющего неповрежденную клеточную мембрану или обладающего способностью возобновлять эти функции), определенный на основе предполагаемого использования.

[ИСО 21709:2020, 3.17]

3.27 **жизнеспособные клетки** (viable cells): Клетки в пробе, обладающие признаком жизни (например, метаболически активны, способны к размножению, обладают неповрежденной клеточной мембраной или способны к возобновлению этих функций), определенным на основе предполагаемого использования.

[ИСО 20391-1:2018, 3.29]

4 Сокращения

2D1 — клон антитела к человеческому CD45;
4F2 — клон антитела к человеческому CD98;
561 — клон антитела к человеческому CD34;
581 — клон антитела к человеческому CD34;
58XB4 — клон антитела к человеческому CD104;
63D3 — клон антитела к человеческому CD14;
A20 — белок 3, индуцированный фактором некроза опухоли альфа (TNFAIP3);
ACAN — аггрекан;
AD2 — антитело к человеческому CD-73 (Ecto-5'-нуклеотидаза);
AHR — рецептор ароматических углеводородов;
ALP — щелочная фосфатаза;
ANGPT2 — ангиопоэтин 2;
AP2 — адипатит протеин-2;
α-SMA — альфа-гладкомышечный актин;
B7RP2 — белок, связанный с B7 2;
BCL-2 — B-клеточная лимфома 2;
BJ18 — клон антитела к человеческому CD44;
BM — костный мозг;
C44Mab-5 — клон антитела к человеческому CD44;
CCL2 — лиганд 2 C-C мотива хемокина;
CCL5 — лиганд 5 C-C мотива хемокина;
CCL7 — лиганд 7 C-C мотива хемокина;
CCR7 — C-C-рецептор хемокина 7;
CCR10 — C-C-рецептор хемокина 10;
CD — кластеры дифференцировки;
CD9 — кластеры дифференцировки 9;
CD13 — кластеры дифференцировки 13;
CD14 — кластеры дифференцировки 14;
CD29 — кластеры дифференцировки 29;
CD31 — кластеры дифференцировки 31;
CD34 — кластеры дифференцировки 34;

CD44 — кластеры дифференцировки 44;
CD45 — кластеры дифференцировки 45;
CD46 — кластеры дифференцировки 46;
CD55 — кластеры дифференцировки 55;
CD73 — кластеры дифференцировки 73;
CD90 — кластеры дифференцировки 90;
CD98 — кластеры дифференцировки 98;
CD104b — кластеры дифференцировки 104b;
CD105 — кластеры дифференцировки 105;
CD146 — кластеры дифференцировки 146;
CD276 — кластеры дифференцировки 276;
CEBPα — CCAAT/альфа-белок, связывающий энхансер;
CFSE — сукцинимидиловый эфир карбоксифлуоресцеина;
CFU — колониеобразующие единицы;
CIITA — трансактиватор основного комплекса гистосовместимости II класса;
CO_2 — диоксид углерода;
COL2A1 — коллаген типа 2A1;
COX-2 — циклооксигексаназа 2;
CX3CR1 — рецептор 1 хемокина CX3C;
CXCL9 — лиганд 9 C-X-C мотива хемокина;
CXCL10 — лиганд 10 C-X-C мотива хемокина;
CXCL11 — лиганд 11 C-X-C мотива хемокина;
CXCL12 — лиганд 12 C-X-C мотива хемокина;
CXCR1 — рецептор хемокина 1;
CXCR4 — рецептор хемокина 4;
CXCR6 — рецептор хемокина 6;
DCN.70 — антитела против CD276 (B7-H3);
DMEM — модифицированная среда Дульбекко;
DMEM-LG — модифицированная среда Дульбекко с низким содержанием глюкозы;
DMSO — диметилсульфоксид;
DRAP-24 — клон антитела к человеческому CD9;
FABP4 — белок, связывающий жирные кислоты 4;
FACS — флуоресцентный активирующий сортировщик клеток;
FRP-1 — frizzled-ассоциированный белок;
GAL-1 — галектин-1;
HBsAg — поверхностный антиген вируса гепатита B;
HCD14 — клон антитела к человеческому CD14;
HCsAg — поверхностный антиген вируса гепатита C;
HEL113 — ген, кодирующий белок виментин;
HI30 — клон антитела к человеческому CD45;
HI9a — клон антитела к человеческому CD9;
HLA — антиген лейкоцита человека;
HLA-Class I — человеческий лейкоцитарный антиген — класс I;
HLA-Class II — человеческий лейкоцитарный антиген — класс II;
HLA-DR — антиген лейкоцита человека DR;
HO-1 — гемоксигеназа-1;
HSP70A — белок теплового шока 1;
HSP70B — белок теплового шока 70B;
МСК-ТП — мезенхимальная стромальная клетка пуповины человека;
ICAM-1 — молекула межклеточной адгезии 1;
IFU — инструкция по применению;

IL-1 — интерлейкин-1;
IL-1RA — антагонист рецептора интерлейкина-1;
IL-6 — интерлейкин-6;
IL-8 — интерлейкин-8;
INCAM-110 — индуцируемая молекула клеточной адгезии 110;
ITGB1 — интегрин бета-1;
ITGB4 — интегрин бета-4;
L243 — клон антитела к человеческому HLA-DR;
LN3 — клон антитела к HLA-DR;
LPL — липопротеинлипаза;
MCAM — молекула адгезии клеток меланомы;
MEM — минимальная необходимая среда;
MEM-108 — минимальная необходимая среда — 108;
MIH42 — ингибирующие гормоны линьки-42;
MPR-1 — рецепторы 1 маннозо-6-фосфата;
MR106 — клон антитела к крысиному CD106;
mRNA — информационная РНК;
My10 — клон антитела к CD34;
N — число собранных клеток;
N_0 — число высеянных клеток;
O91D3 — антитела против виментина;
O92E4 — клон антитела к человеческому CD31;
P_0 — исходная популяция клеток;
P1H12 — клон антитела к CD146;
PBS — фосфатный забуференный физиологический раствор;
PDL-1 — лиганд-1 программируемой гибели клетки;
PDL-2 — лиганд-2 программируемой гибели клетки;
PDT — время удвоения популяции;
PECAM-1 — молекула адгезии эндотелиальных клеток тромбоцитов-1;
PI9 — ген широкого спектра устойчивости к блеску риса PI 9;
Poly29291 — полисульфурилдихлорид;
PPAR-γ — рецептор, активируемый пероксисомным пролифератором гамма;
PREF-1 — преадипоцитарный фактор-1;
QA17A19 — клон рекомбинантных моноклональных антител, специфичных к человеческому CD45;
QC — контроль качества (КК);
SHM-57 — антитело к человеческому CD146 (MUC18, Mel-cam);
SOX2 — HMG бокс-2, связанный с SRY;
SOX9 — HMG бокс-9, связанный с SRY;
T — конечная точка инкубации, ч;
T_0 — начальная точка инкубации, ч;
Thy-1 — тимусный антиген;
TIMP-1 — тканевой ингибитор металлопротеиназ 1;
TIMP-2 — тканевой ингибитор металлопротеиназ 2;
TLR-3 — звоноподобный рецептор 3;
TLR-4 — звоноподобный рецептор 4;
TNF — фактор некроза опухоли;
TP — бледная трепонема;
TRAIL — трансмембранный белок II типа, член семейства лигандов TNF;
TS2/16 — моноклональное антитело против человеческого CD29;
TSE — трансмиссивные губчатые энцефалопатии;

TSG-6 — белок, индуцируемый геном 6 фактора некроза опухоли;
TSP-1180 — белок 1180, чувствительный к тромбину;
UC — пуповина;
UCHL1 — убиквитин карбокси-концевая гидролаза L;
ULBP-3 — UL16, связывающий белок 3;
VCAM-1 — васкулярная молекула клеточной адгезии 1;
W16220A — клон очищенных антител к виментину;
W6/32 — клон моноклональных антител к HLA класса I;
WM15 — моноклональное антитело к CD13;
WM59 — моноклональное антитело к CD31;
WNTS — семейство Wnt.;
ВГВ — вирус гепатита В;
ВГС — вирус гепатита С;
ВИЧ — вирус иммунодефицита человека;
ВУП — время удвоения популяции;
ИДО — индоламин 2,3-диоксигеназа 1;
ИФА — иммуноферментный анализ;
ИФН-γ — интерферон гамма;
КОЕ-Ф — колониеобразующая единица фибробластов;
МСК — мезенхинальные стромальные клетки;
ОПН — остеопонтин;
ПЦР — полимеразная цепная реакция;
ТРФ-бета — трансформирующий фактор роста-β;
ФРГ — фактор роста гепатоцитов;
ФРК — фактор роста кератиноцитов;
ФРЭС — фактор роста эндотелия сосудов;
ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота;
ЭТС — эмбриональная телячья сыворотка.

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 допускается использовать ИСО/ТР 22758.

Биобанк обязан установить критерии и процедуры для выделения, культивирования, хранения, размораживания и транспортирования МСК-ТП человека.

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

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

Необходимо создать, задокументировать, внедрить, регулярно анализировать и обновлять процедуры, документы КК для сбора, выделения, распространения, хранения, транспортирования, испытания и анализа данных в соответствии с характеристиками МСК-ТП человека.

Состояние здоровья и характеристики донора, условия сбора ткани, а также методы культивирования оказывают влияние на свойства мезенхимальных стволовых клеток человека из пуповинной ткани (МСК-ТП). Поскольку этапы технологического процесса не всегда подлежат полному контролю, необходимо проводить исследование влияния данных факторов на свойства МСК-ТП человека в целях биобанкинга. Для обеспечения требуемого уровня контроля качества рекомендуется применять методологию менеджмента рисков для качества (QRM) с установлением и внедрением мер по снижению возможных негативных последствий.

Биобанк должен проводить оценку биорисков, связанных с использованием пуповинной ткани и МСК-ТП человека на объекте, а также внедрять соответствующие меры биобезопасности для защиты персонала и окружающей среды.

Подлинность и свойства МСК-ТП человека подлежат мониторингу в течение всего процесса биобанкинга, от выделения до распространения.

5.2 Персонал, помещения и оборудование

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, раздел 6, и ИСО 21709:2020, 4.3, 4.4, 4.7.

Персонал биобанка должен быть обучен надлежащим образом, в особенности размножению, характеристике, культивированию, криоконсервации, размораживанию и транспортированию МСК-ТП человека.

Операторы внешних организаций, предоставляющие услуги для МСК-ТП человека, обязаны продемонстрировать соответствующие профессиональные знания, опыт и навыки, а также регулярно проводить документированное обучение и оценку квалификации персонала.

Биобанк должен обеспечить, чтобы помещения и условия окружающей среды не оказывали негативного влияния на качество МСК-ТП человека 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) в соответствии с рассматриваемыми характеристиками МСК-ТП человека и потребностью в асептической обработке.

5.3 Реактивы, расходные материалы и другие принадлежности

Необходимо соблюдать требования ИСО 21709:2020, 4.5.

Биобанк должен разработать критерии приемлемости для материалов, включая реактивы и расходные материалы, необходимые для выделения, культивирования, хранения, размораживания и транспортирования МСК-ТП человека.

5.4 Управление информацией и данными

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

Биобанк должен управлять и поддерживать данные, связанные с МСК-ТП человека, включая, помимо прочего, следующее:

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

b) информацию о хранении и консервации;

c) данные по проверке безопасности.

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

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

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

6 Отбор проб пуповины и связанных с ними данных

6.1 Информация о доноре пуповины

Необходимо выполнить и документально подтвердить оценку риска.

Чтобы защитить персональные данные донора, биобанк должен разработать методы защиты данных донора 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 пуповины (например, справка о здоровье или пригодности донора, тип заболевания, сопутствующее заболевание, демографические данные, например возраст, пол);

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

d) отрицательный результат на гепатиты B и C, ВИЧ и сифилис, если для конкретных целей исследования не требуется положительный результат.

Примечание 1 — Возможно проведение дополнительного анализа на вирусы, при необходимости;

e) если применимо, данные 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;

f) отсутствие врожденных аномалий у новорожденных (при наличии).

Документирование информации о доноре, при необходимости, должно включать географический регион донора, в зависимости от цели исследования.

Доноры считаются непригодными для сдачи биологического материала (если иное не требуется для выполнения конкретной цели исследования) в том случае, если:

- были нездоровы на момент сдачи материала.

Примечание 2 — Периоды воздержания от донорской деятельности могут быть и/или варьироваться в зависимости от местных нормативных рекомендаций для отдельных клеточных и тканевых материалов;

- получили положительный результат по крайней мере на одно инфекционное заболевание, см. 6.1 d).

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

6.2 Процедура сбора материала

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, 7.2.

Биобанк обязан установить, внедрить, валидировать и задокументировать процедуру сбора пуповинной ткани.

Сбор пуповинной ткани следует проводить в асептических условиях, чтобы избежать загрязнения образца.

Все реактивы и материалы, используемые для сбора пуповинной ткани, должны быть стерильными.

Биобанк обязан соблюдать требования ИСО 35001 или [22] при работе с биологическим материалом, зараженным патогенами.

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

Ткань пуповины может быть собрана как после вагинальных родов, так и после кесарева сечения. При этом необходимо обеспечить, чтобы процедуры сбора не нарушали стандартные родовые практики и не создавали угрозу безопасности матери и новорожденного. Сбор пуповинной ткани должен осуществляться на дистальном участке пуповины.

Необходимое количество пуповины должно определяться с учетом предполагаемой цели биобанка или пользователя. Оба конца пуповины должны быть зажаты для предотвращения загрязнения.

Примечание 1 — Длина пуповины указана в [23].

Примечание 2 — Масса также может применяться для расчета требуемой длины пуповины.

Примечание 3 — Для проведения испытаний допускается использовать следующий биологический материал:

a) пуповинная кровь (для выявления специфических антигенов и/или антител к соответствующим антигенам);

b) культивированные МСК пуповинного происхождения [для проведения ПЦР-анализа с целью детекции экспрессии заданного гена(ов)];

c) материнская кровь (для выявления специфических антигенов и/или антител к соответствующим антигенам).

У новорожденного кровь брать не следует.

В случае вагинальных родов должна быть разработана, внедрена и задокументирована процедура минимизации бактериального и грибкового загрязнения пуповины. Такая процедура может включать промывание собранной ткани и ее содержимого раствором для промывания, например стерильным фосфатно-буферным физиологическим раствором (1 × PBS), содержащим гепарин и/или пенициллин, стрептомицин и/или амфотерицин В.

Выбор среды для сбора зависит от целей биобанка и/или потребностей пользователя.

Рекомендуемой средой для сбора пуповинной крови является стерильный фосфатно-солевой буферный раствор (1 × PBS), содержащий гепарин и/или пенициллин, стрептомицин и/или амфотерицин В.

7 Транспортирование проб пуповины или МСК-ТП человека и связанных с ними данных в биобанк

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, 7.4. Для организации транспортирования и погрузочно-разгрузочных работ, а также для учета требований к безопасности помещений применяют ИСО/ТС 20658.

При обращении с биологическим материалом, зараженным патогенами, биобанк обязан соблюдать требования ИСО 35001 или [22].

Биобанк должен определить подходящие условия для транспортирования пуповины из помещения для сбора материала в биобанк. Следует применять инструкции по транспортированию пуповины до места подготовки, а также транспортирование подготовленных МСК-ТП человека в биобанк.

Пример — Температура может быть от 2 °С до 8 °С [24].

Необходимо учитывать следующие факторы при транспортировании пуповинной ткани:

a) упаковку, материал, контейнеры и вторичную упаковку;

b) среду или растворитель;

c) продолжительность транспортирования, температуру и средства мониторинга температуры.

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

Проба подлежит транспортированию в соответствующих условиях биобезопасности.

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

8 Получение и прослеживаемость пуповины или МСК-ТП человека и связанных с ними данных

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, 7.3.1, 7.3.2, 7.5.

9 Выделение и размножение МСК-ТП человека

9.1 Процессы

Для создания линии МСК-ТП человека необходимо соблюдать требования ИСО 21709:2020, 5.1.

Биобанк обязан установить, внедрить, задокументировать, валидировать и поддерживать процедуры выделения МСК-ТП человека в первичной культуре и субкультуре в зависимости от используемого для сбора биоматериала метода.

Процедуры следует выполнять в боксе биологической безопасности или в ламинарном шкафу, используя соответствующие асептические техники.

9.2 Уникальная идентификация

Уникальную идентификацию МСК-ТП человека устанавливают согласно ИСО 20387:2018, 7.5. Она может включать уникальное имя клетки или номер пробы, номер биобанковской партии и номер пробирки биобанка. Клетки следует анонимизировать или деидентифицировать.

9.3 Анализы на возбудителей инфекции

Клетки, полученные из донорского биологического материала, следует анализировать на соответствующие передаваемые возбудители инфекции, например ВИЧ, ВГВ, ВГС и сифилис.

Аналитические данные и результаты, а также соответствующие анализы должны быть документированы и доступны для персонала биобанка и исследователей, которые обрабатывают полученные клетки.

9.4 Выделение МСК-ТП человека из проб пуповины и первичное культивирование

Для выделения МСК-ТП применяют различные методы, включая эксплантные и ферментативные методы (см. приложение В в отношении типичных методов).

Биобанк должен документировать и предоставлять информацию о конкретном участке пуповины, используемом для выделения клеток (например, периваскулярной области или желе Уортона).

Примечание — Современные методы выделения МСК-ТП из пуповины человека дают относительно небольшое количество клеток с разным пролиферативным потенциалом. Пуповина является анатомически сложной структурой, и свойства МСК могут варьироваться в зависимости от анатомической области внутри желе Уортона (см. [25], [26]).

Рекомендуется механически отделять кровеносные сосуды от желе Уортона перед проведением изоляции МСК-ТП. Ткань пуповины должна быть фрагментирована (от 1 до 3 мм) для обеспечения оптимального газообмена и доступа питательных веществ к клеткам.

Для культивирования МСК-ТП применяют различные питательные среды, такие как MEM, DMEM-LG. Биобанк обязан документировать состав или формулу используемой среды и предоставлять эту информацию получателям или пользователям МСК-ТП.

9.5 Пассирование и ограниченное размножение

В целях дальнейшего биобанкинга культура может быть дополнительно размножена после успешного создания исходной культуры; такая культура известна как «субкультура». Каждое пассирование культуры называют «субкультивированием» или «пассажем».

Культуры следует проверять на присутствие микробиологических контаминантов (включая бактерии, грибы, дрожжи, микоплазму, эндотоксины и случайные вирусные возбудители болезней) перед последующим размножением.

Пассаж клеток происходит по соответствующим протоколам после создания исходной культуры. Размножение МСК-ТП человека рекомендуется проводить до трех пассажей, чтобы обеспечить достаточную жизнеспособность материала, сохраняя биологические особенности исходной культуры, и таким образом предотвращая адаптацию, связанную с культивированием. Биобанк должен следить за размножением, наблюдая за изменениями конкретных биологических характеристик (например, КОЕ-Ф, статус отсутствия дифференцировки и иммунофенотипирование).

10 Характеристика МСК-ТП человека

10.1 Общие положения

Биобанк обязан разработать, задокументировать и внедрить процедуры для характеристики МСК-ТП человека и регистрировать связанные с ними данные так, чтобы пользователи могли определить их соответствие предполагаемому назначению.

Биобанк должен разработать матрицу анализов и набор маркеров по крайней мере на основе данного раздела.

Биобанк должен проводить постоянную характеристику МСК-ТП человека при культивировании. Такая характеристика должна включать среди прочего:

a) подтверждение подлинности;

b) морфологию клеток;

c) кинетику роста: может быть вычислена с помощью ВУП;

d) жизнеспособность;

e) способность к дифференцировке *in vitro*;

f) иммунофенотип;

g) функциональную характеристику *in vitro*;

h) отсутствие микробной контаминации.

Примерные методы для тестов характеристики МСК-ТП человека приведены в приложении С.

10.2 Жизнеспособность

Биобанк должен разработать, внедрить и задокументировать процедуру определения жизнеспособности клеток.

Контроль качества анализа жизнеспособности клеток проводят с использованием живых и мертвых клеток. Необходимо определять и документировать показатель жизнеспособности клеток.

Биобанк обязан регулярно проводить оценку количества жизнеспособных клеток при культивировании, особенно после изменения условий культивирования клеток.

Жизнеспособность необходимо оценивать после размораживания криоконсервированных образцов.

Биобанк должен установить предельное значение приемлемого процента нежизнеспособных клеток в популяции в процессе анализа.

Количество жизнеспособных МСК-ТП человека перед криоконсервацией должно составлять ≥90 %.

Непосредственно после размораживания количество жизнеспособных МСК-ТП человека должно быть ≥70 % при определении валидированным методом.

Примечание — Анализ на жизнеспособность обычно выполняют перед криоконсервацией и непосредственно после размораживания. Жизнеспособность, определенная после размораживания клеток, обычно является завышенной.

Следует выполнить автоматизированный анализ на жизнеспособность клеток.

Биобанк обязан разработать, внедрить и задокументировать процедуру оценки апоптоза клеток при культивировании.

Пример — Оценку апоптоза криоконсервированных и девитрифицированных МСК, как правило, выполняют методом проточной цитометрии (см. В.4).

10.3 Морфология

Морфологические характеристики клеток могут существенно варьироваться в зависимости от условий культивирования. В настоящее время сведения о взаимосвязи между общей морфологией и биологической функцией препаратов МСК-ПК человека ограничены. Кроме того, на различных стадиях культивирования клетки демонстрируют различную морфологию, отражающую изменения их состояния (включая нутритивный статус и профиль роста) и дифференцировки. Согласно отдельным исследованиям, продолжительное субкультивирование приводит к модификации морфологии клеток, увеличению их размеров и в конечном итоге к старению [27].

Описание морфологии клеток следует проводить с обязательным указанием условий культивирования и стадии культивирования.

Примечание 1 — При культивировании клеток в пластиковых флаконах для культивирования тканей адгезированные клетки демонстрируют различную морфологию в зависимости от стадии процесса. На начальной стадии культивирования *in vitro* идентифицируются адгезивные клетки со следующими морфологическими типами: триполярные, удлиненные веретеновидные, мелкие округлые, короткие веретеновидные, а также уплощенные и увеличенные клетки [27]. На более поздних стадиях культивирования преобладают адгезивные клетки веретенообразной формы, сходной с морфологией фибробластов. Колонии принимают преимущественно спиральные или радиальные формы расположения.

Примечание 2 — Культивирование МСК-ТП человека в определенных условиях может осуществляться без адгезии с возможностью их пролиферации. При культивировании в стандартизованных условиях указанные клетки должны проявлять адгезионные свойства.

Биобанк обязан осуществлять документирование существенных изменений морфологии клеток.

10.4 Время удвоения популяции и пассаж

10.4.1 ВУП

ВУП — это время *D*, ч, необходимое для удвоения популяции МСК-ТП человека. ВУП вычисляют, используя подсчет клеток, полученных до и после сбора для исследования, по формуле

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

где $(T - T_0)$ — время инкубации, ч;

N — число собранных клеток;

N_0 — число засеянных клеток.

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

Среднее значение ВУП для пупочного канатика человека (МСК-ТП), выделенных из пуповины человека, находится в интервале от 20 до 40 ч [28].

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

Биобанку следует определить значение ВУП для МСК-ПК человека после вторичного культивирования.

ВУП может отражать кинетику роста пупочного канатика человека (МСК-ТП) при культивировании. Биобанк может использовать значение ВУП культур пупочного канатика человека (МСК-ТП) при различных пассажах, чтобы оценить изменения кинетики роста клеток при культивировании.

Значение ВУП необходимо задокументировать.

10.4.2 Пассаж

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

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 пассаж клеток пуповины на чашки.

Документально подтвержденное значение ВУП наряду с номерами пассажей может облегчить и улучшить понимание динамики роста МСК-ТП человека и взаимосвязи между пассажами и ВУП.

10.5 Чистота популяции клеток

Биобанк обязан оценить чистоту МСК-ТП человека. Нежелательные популяции клеток, таких как кроветворные и эндотелиальные клетки (см. таблицу 1), должны присутствовать в количестве ниже определенных пределов, например ≤5 %. Иммунофенотипирование МСК-ТП человека, приведенное в 10.9, допускается использовать для оценки и верификации чистоты и идентичности. Нежелательные микробные контаминанты должны быть определены и проверены в соответствии с 10.12.

10.6 Оценка самообновления *in vitro*

Биобанк обязан разработать, внедрить и задокументировать процедуру оценки самообновления *in vitro*.

Анализ самообновления *in vitro* должен быть задокументирован, включая критерии контроля качества в соответствии с требованиями раздела 11.

Примечание — Для анализа самообновления *in vitro* может применяться метод CFU-F (см. приложение С).

10.7 Пролиферация

Биобанк должен разработать, внедрить и задокументировать анализ пролиферации клеток.

Анализ пролиферации клеток необходимо задокументировать, включая внутренние критерии КК в соответствии с разделом 11.

Примечание — Пролиферацию клеток можно оценить валидированным методом, например при помощи CFSE или MTT (см. приложение С).

10.8 Способность к дифференцировке. Мультилинейная дифференцировка *in vitro*

10.8.1 Общие положения

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Чтобы оценить мультилинейную дифференцировку МСК-ТП человека *in vitro*, биобанку следует разработать, задокументировать и внедрить процедуры и требования к конкретным анализам (МСК-ТП человека, способных подвергаться мультилинейной дифференцировке *in vitro*). Следующие анализы мультилинейной дифференцировки *in vitro* являются частью характеристики *in vitro* МСК-ТП человека, но не всегда отражают способность к дифференцировке этих клеток *in vivo*.

Мультилинейная дифференцировка *in vitro* в остеобласты, адипоциты и хондробласты в определенных условиях является полезным инструментом для характеристики МСК-ТП человека. Эта информация может быть полезна при оценке в формате количественного анализа, прошедшего валидацию и достаточно чувствительного для оценки МСК-ТП человека, выращенных в течение разных интервалов времени и в разных условиях.

Более 95 % МСК-ТП человека демонстрируют потенциал трехлинейной дифференцировки *in vitro* [29].

10.8.2 Адипогенная дифференцировка *in vitro*

МСК-ТП человека могут дифференцировать в адипобласты *in vitro* в адипогенной индукционной среде. Обычно рекомендуется адипогенная индукционная среда, содержащая дексаметазон, 3-изобутил-1-метилксантин, рекомбинантный инсулин человека и индометацин.

Должны использоваться МСК-ТП человека с конфлуэнтностью ≥80 % в третьем — пятом пассажах. Не следует использовать культуры МСК-ТП человека после пятого пассажа. Рекомендуется использовать контрольные группы без применения адипогенной дифференциальной среды.

Следует использовать окрашивание красителем Oil Red O для обнаружения адипогенной дифференцировки, особенно спустя три недели. Этот краситель окрашивает образованные нейтральные липидные вакуоли. Чтобы избежать ложных положительных результатов, необходимо строго контролировать время окрашивания и промывания.

Для дополнительного подтверждения адипогенной способности МСК-ТП человека необходимо оценить экспрессию генов, кодирующих белки, связанные со статусом адипогенной дифференцировки. Следует оценить экспрессию различных генов (аддитивные факторы), связанных с адипогенной дифференцировкой, таких как PPAR-γ [30] (рецептор, активируемый пероксисомным пролифератором гамма), CEBPα [29] (CCAAT/альфа-белок, связывающий энхансер), FABP4 [31] (белок 4, связывающий жирные кислоты) и PREF-1 [32] (преадипоцитарный фактор 1), AP2 [33] (адипатит протеин-2) и LPL [34] (липопротеиновая липаза), используя количественную реакцию ПЦР в реальном времени.

Следует рассмотреть возможность дифференцировки *in vitro* МСК-ТП человека в различных условиях, включая условия без сыворотки [35] и из различных частей желе Уортона [36].

10.8.3 Хондрогенная дифференцировка *in vitro*

МСК-ТП человека могут дифференцироваться в хондробласты *in vitro* в хондрогенной индукционной среде. Обычно рекомендуется хондрогенная индукционная среда, содержащая ТРФ-бета-3, дексаметазон, аскорбиновую кислоту, пируват натрия, инсулин, трансферрин, селеновую кислоту, альбумин из бычьей сыворотки и линолевую кислоту в глюкозе с высоким содержанием глюкозы [37].

В дополнение к двумерной дифференцировке *in vitro* также можно выполнить хондроцитовую дифференцировку с использованием 3D культур микромассы, как было описано ранее для МСК (см. [38], [39]).

Необходимо использовать культуры МСК-ТП человека с конфлуэнтностью ≥70 % в третьем — пятом пассажах. Культуры МСК-ТП человека после пятого пассажа использовать не рекомендуется. Следует включить контрольные группы без хондрогенной дифференциальной среды или условий.

Хондрогенная дифференцировка должна сопровождаться образованием многослойной, богатой матриксом морфологии и внеклеточного матрикса, который после окрашивания Толуидиновым синим или азаном по Гейденгайну (Heidenhain) демонстрирует накопление сульфатного протеогликана и коллагеновых волокон соответственно. Допускается использовать другие методы окрашивания, например Альциановым синим или Сафранином О. Как правило, данную процедуру проводят по истечении трех недель в условиях дифференцировки.

Для дополнительного подтверждения хондрогенной способности МСК-ТП человека необходимо оценить экспрессию генов, кодирующих белки, связанные со статусом хондрогенной дифференцировки. Подмножество генов, таких как SOX9 (HMG бокс-9, связанный с SRY), COL2A1 (коллаген типа 2A1)

и ACAN (аггрекан), следует оценивать, используя количественную реакцию ПЦР в реальном времени [40]—[42].

10.8.4 Остеогенная дифференцировка *in vitro*

МСК-ТП человека могут дифференцировать в остеобласты *in vitro* в остеогенной индукционной среде. Рекомендуемая остеогенная индукционная среда содержит дексаметазон, аскорбат и β-глицерофосфат.

Примечание — Плотность клеток, а также выбор определенных партий ЭТС влияют на дифференцировку остеобластов.

Следует использовать культуры МСК-ТП человека с конфлуэнтностью ≥70 % на третьем — пятом пассажах. После пятого пассажа МСК-ТП человека использовать не рекомендуется [43]. Следует включить контрольные группы без остеогенной дифференциальной среды.

Остеогенную дифференцировку подтверждают после трехнедельной индукции по отложенному кальцию, выявляемому окрашиванием. В контрольной группе (без использования остеогенной среды) не должно наблюдаться остеогенного фенотипа.

Для выявления остеогенной дифференцировки следует использовать красители ализариновый красный S или краситель фон Косса (von Kossa). Время окрашивания и промывания следует строго контролировать, чтобы избежать ложных положительных результатов [38].

Для дополнительного подтверждения остеогенной способности МСК-ТП человека необходимо оценить экспрессию генов, кодирующих белки, связанные со статусом остеогенной дифференцировкой. Эти гены, такие как ALP (щелочная фосфатаза) и ОПН (остеопонтин), следует оценивать, используя количественную реакцию ПЦР в реальном времени. Также внутриклеточное окрашивание поможет оценить экспрессию белка ОПН или другие маркеры костеобразования.

10.9 Иммунофенотипирование посредством проточной цитометрии

МСК-ТП человека следует характеризовать по экспрессии антигенов, перечисленных в таблице 1. Кроме того, можно применять маркеры, перечисленные в таблице 2. Дополнительно, при необходимости, допускается применять другие международные руководства.

Примечание 1 — МСК-ТП человека характеризуются наличием специфических клеточных маркеров и отсутствием маркеров, присущих гемопоэтическим клеткам. При этом наблюдаются расхождения в наборах маркеров поверхности клеток, предлагаемых различными исследованиями для идентификации МСК-ТП. Различия касаются как количества используемых маркеров, так и частоты и диапазона их экспрессии на различных стадиях (например, внутрипроизводственное или выпускное тестирование партии). Указанная изменчивость, вероятно, обусловлена эпигенетическими факторами, связанными с различиями в условиях культивирования (см. [29], [38] и [44]).

Таблица 1 — Антигены и клоны антител, рекомендованные для иммунофенотипирования МСК-ТП

Антиген [26], [45], [47], [48]	Клоны антител [49]—[53]	Необходимая скорость обнаружения, %
CD14-	HCD14, 63D3	≤5
CD31-	O92E4, WM59, PECAM-1	≤5
CD34-[a]	561, 581, My10	≤5
CD45-[b]	2D1, HI30, QA17A19, UCHL1	≤5
HLA-Класс II-	L243, LN3	≤5
CD13+	WM15	≥95
CD44+	BJ18, C44Mab-5	≥95
CD73+	AD2	≥95
CD90+	5E10, Thy-1	≥95
CD105+[c]	43A3	≥95

Окончание таблицы 1

Антиген [26], [45], [47], [48]	Клоны антител [49]—[53]	Необходимая скорость обнаружения, %
HLA-Class I+	W6/32	≥95
[a] CD34- предполагает, что клетки негативны по отношению к эндотелиальным антигенам. [b] CD45- предполагает, что клетки негативны по отношению к дополнительным гемопоэтическим антигенам, включая CD11b, CD14 и CD19. [c] Уровни могут варьироваться.		

Таблица 2 — Рекомендуемые дополнительные антигены и клоны антител для иммунофенотипирования МСК-ТП человека в дополнение к таблице 1

Антиген [26], [45]—[48], [54]—[59]	Клоны антител [49]—[53]	Необходимая скорость обнаружения, %
CD9+	HI9a, MPR-1, DRAP-24	≥95
CD29+	TS2/16, ITGB1	≥95
CD98+	MEM-108, 4F2, FRP-1	≥95
CD104b+	58XB4, TSP-1180, ITGB4	≥95
CD106+ (VCAM1)	MR106, VCAM-1, INCAM-110	≥95
CD146+	P1H12, MCAM, SHM-57	≥95
CD276+	DCN.70, B7RP2, MIH42	≥95
Vimentin	O91D3, W16220A, Poly29291, HEL113	≥95

Примечание 2 — Клетки подвергают обработке 0,25 % раствором трипсина-ЭДТА, затем дважды промывают буфером PBS (pH 7,4) и ресуспендируют в концентрации от 1 × 106 до 1 × 108 клеток/мл в PBS. Маркировку клеток проводят выбранными антителами в темноте при комнатной температуре в течение 30 мин. В качестве контроля используют изотип-контрольные антитела. Анализ клеток выполняют методом проточной цитометрии (FACS).

Примечание 3 — Отмечено, что проведенное фенотипирование клеток, полученных методом эксплантации и посредством ферментативной обработки, не выявило существенных различий в экспрессии антигенов клеточной поверхности [57].

Следует учитывать, что МСК-ТП могут экспрессировать HLA-DR только при определенных условиях (например, при инкубации с интерфероном-γ). В отсутствие стимуляции экспрессия HLA-DR, как правило, не наблюдается; степень ее экспрессии может варьироваться в зависимости от донора. Все условия проведения эксперимента и стимуляции клеток должны быть задокументированы.

Примечание 4 — Некоторые исследования показали, что МСК-ТП не экспрессируют маркер CD105 или экспрессия отсутствует до пятого пассажа. Снижение экспрессии CD105 на МСК-ТП может наблюдаться при ишемических условиях, преимущественно обусловленных гипоксией [58].

В С.4 приведено общее руководство по выполнению иммунофенотипирования методом проточной цитометрии.

10.10 Паракринная секреция/экспрессия (анализ секретома на основе белка)

Известно, что МСК-ТП человека секретируют/экспрессируют множество цитокинов, хемокинов и факторов роста, включая (но не ограничиваясь ими) ТРФ-бета, ИДО, COX-2, PDL-1, ФРЭС, WNTS, ФРГ, IL6, IL1RA, ФРК, CCL2, CXCL12, экзосомы, содержащие микро-РНК, липиды, митохондрии и другие каргомолекулы, где это применимо. Эти факторы могут воздействовать на местные и дистальные иммунные эффекторы, и ткани, тем самым модулируя иммунный ответ и процессы восстановления тканей [59].

Следует заранее определить, задокументировать и испытать набор соответствующих факторов в зависимости от цели исследования [59].

Примечание 1 — Анализы на основе белка, такие как ИФА или мультиплекс, могут быть использованы для измерения секретируемых факторов с помощью МСК-ТП человека.

Примечание 2 — Как показано, МСК-ТП человека требуют стимуляции для проявления своих иммуносупрессивных свойств. Это может быть осуществлено путем воздействия растворимых медиаторов аллергического воспаления, таких как ИФН-γ TNF, интерлейкин [60], или путем физического контакта с воспалительными клетками. Данный метод «активации» МСК-ТП человека имеет большое значение, и существует несколько вариантов его выполнения [61], [62].

Неактивированные МСК-ТП человека могут служить в качестве контрольных.

Уровни мРНК следует определять методами ПЦР в реальном времени или методом мультиплексной ПЦР. Дополнительно измеряют уровни белка для паракринной секреции/экспрессии с помощью ИФА или мультиплексных методов в супернатанте клеточной культуры.

10.11 Иммунорегуляция (модуляция иммунных клеток)

Известно, что МСК-ТП человека модулируют иммунные клетки. Конкретный тип иммунных клеток может варьироваться в зависимости от доклинической модели интересующего заболевания и механизма изучаемого действия. Поэтому рекомендуется использовать конкретные популяции очищенных иммунных эффекторов при совместном культивировании с МСК-ТП человека, чтобы измерить влияние МСК на эту популяцию [59].

Факторы, которые характеризуют иммуномодулирующие свойства МСК-ТП человека и которые следует учитывать в этом функциональном анализе, включают соотношение МСК-ТП человека и иммунных эффекторных клеток, условия среды, активацию МСК-ТП человека, активацию иммунных эффекторов и гетерогенность доноров иммунных эффекторов.

Матричный анализ должен применяться следующим образом [59]:

a) необходимо выполнить количественный анализ выбранных генных продуктов:

1) МСК-ТП человека должны быть активированными, а неактивированные клетки МСК следует использовать в качестве контроля,

2) необходимо выполнить количественную экспрессию в реальном времени по меньшей мере трех генов; допускается измерить следующие гены (не полный перечень) [59]: ИДО, CXCL10, CXCL9, CXCL11, CIITA, ICAM-1, CCL5, TRAIL, TLR-3, CCL7, VCAM-1, HLA-DR, ФРГ, IL-6, CCL2, PI9, CCR7, ФРЭС, PDL-1, CX3CR1, COX-2, AHR, TSG-6, ФРК, TLR-4, CXCL12, CD46, PDL-2, ТРФ-бета, CXCR6, CCR10, TIMP-2, CD55, BCL-2, ANGPT2, A20, HSP70A, IL-8, ULBP-3, HSP70B, CXCR1, GAL-1, CXCR4, HO-1, TIMP-1, IL-1PA.

Примечание — Эти гены являются примерами, анализировать полный перечень не обязательно. Пользователю следует выбрать гены из этого перечня (или других перечней из литературных источников) набор показателей, секретируемых/экспрессируемых факторов, подходящих для контекста доклинических исследований;

b) необходимо выполнить экспрессию белка выбранных секретируемых/экспрессируемых факторов [см. 10.11, a) 2)];

c) иммунорегуляцию МСК-ТП человека следует оценивать с помощью анализа их влияния на пролиферацию *in vitro* всех периферических лимфоцитов или определенных субпопуляций лимфоцитов во время совместной инкубации МСК-ТП человека с мононуклеарными клетками периферической крови (PBMC) [63], либо с очищенными подгруппами Т-клеток, моноцитов/макрофагов или других иммунных клеток.

10.12 Микробная контаминация

Необходимо разработать, валидировать, внедрить и задокументировать процедуры анализа МСК-ТП человека на микробную контаминацию для всего процесса.

На протяжении всего процесса, начиная со сбора клеток у донора и их приобретения, подготовки реактивов и оборудования для культивирования и заканчивая обслуживанием и криоконсервацией культур, важно придерживаться целостного подхода и проводить микробиологический контроль на всех критических этапах процесса. Кроме того, должны быть внедрены процедуры минимизации рисков для отдельных созданных культур. Хорошей 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, необходимо валидировать. Важно подтвердить использование соответствующих уровней чувствительности, специфичности и устойчивости в отношении анализируемых клеточных культур.

В течение всего процесса необходимо осуществлять менеджмент риска с оценкой микробной контаминации.

МСК-ТП человека, используемые для исследований, не должны содержать контаминантов. К этим контаминантам относят, среди прочего, бактерии, дрожжи, грибы и микоплазму.

a) Анализы на присутствие бактерий, дрожжей, грибов и микоплазмы необходимо проводить регулярно. Следует по мере возможности избегать использования антибиотиков. В случае использования антибиотиков их следует удалить перед отбором проб.

b) Также необходимо знать о влиянии, которое могут оказать контаминанты на биологические характеристики культивируемой клеточной популяции. Например, низкий уровень вирусной инфекции, вероятно, не окажет значительного воздействия на гибель клеток, но может заметно сказаться на биологической активности. Такой тип контаминантов может воздействовать на любые данные проводимых исследований.

Пример — Микоплазму считают обычным контаминантом клеточных культур ввиду риска контаминации из различных источников. Микоплазму бывает очень трудно удалить из клеточной культуры, поскольку маленький размер ограничивает фильтрование, при этом ее сложно обнаружить без повседневного анализа.

Риски, вызванные трансмиссивными губчатыми энцефалопатиями (TSE), следует учитывать независимо от происхождения или истории клеток. Существует ряд заболеваний TSE в мире, показывающих их способность передаваться человеку.

11 Контроль качества

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, 7.8 и ИСО 21709:2020, 5.5.

Биобанк обязан разработать, внедрить и задокументировать процедуру КК, включающую анализ биологических характеристик, связанных с функциональностью МСК-ТП человека *in vitro* в соответствии с требованиями раздела 10.

КК биологических характеристик (см. раздел 10) МСК-ТП человека должен выполняться для всех важных процедур, от выделения до размораживания. Рекомендуемая процедура КК для биобанкинга МСК-ТП приведена в приложении А.

Биобанк должен разработать, внедрить и задокументировать критерии приемлемости КК для всех биологических характеристик МСК-ТП человека, включенных в раздел 10.

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

В ходе процессов биобанкинга необходимо периодически анализировать питательные среды на присутствие *Mycoplasma* spp.

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

12 Хранение

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

Оптимизация процедуры и методов криоконсервации для минимизации повреждения клеток при замораживании и размораживании имеет решающее значение для обеспечения гарантированного присутствия жизнеспособных клеток.

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

Для криоконсервированных МСК-ТП человека необходимо документировать следующую информацию:

a) наименование клеток;

b) номер партии консервированных МСК-ТП человека;

c) дату консервации в соответствии с ИСО 8601-1;

d) условия культивирования;

e) число пассажей;

f) ФИО оператора.

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

Перед замораживанием необходимо проанализировать морфологию клеток (см. 10.3), иммунофенотип, иммуномодуляторную функциональность (см. 10.11), жизнеспособность (см. 10.2) и паракринную секрецию (см. 10.10), а результаты должны коррелировать со свойствами МСК, выделенных из пуповины. Для оценки способности к дифференцировке (см. 10.8), кинетики роста и анализа самовосстановления (см. 10.6) следует собирать репрезентативные пробы, результаты оценки могут быть использованы после криоконсервации. Результаты этих анализов следует документировать и включать в досье на клеточный образец.

Количество жизнеспособных клеток должно быть ≥80 %, при этом они не должны содержать контаминантов.

Клетки должны быть в фазе роста, отцентрифугированы и суспендированы в среде для криоконсервации. Количество клеток должно оставаться в интервале от 500 000 до 5 000 000 клеток/мл.

Для процедуры криоконсервации важны следующие факторы:

- криопробирки должны быть подходящими для криоконсервации;
- для реагентов криопротекторов применяют следующее:
  - состав криопротекторных сред с содержанием DMSO или других компонентов должен подбираться и оптимизироваться биобанками с целью максимального сохранения жизнеспособности и функциональной активности клеток. Наиболее часто для криоконсервации МСК-ТП используют среды, содержащие 5 % — 10 % (об./об.) DMSO и 90 % — 95 % (об./об.) культуральной среды или животной сыворотки (например, ЭТС). DMSO обеспечивает проникновение органических молекул в клеточные структуры. Материалы, обладающие опасными свойствами, подлежат обработке и утилизации с применением средств индивидуальной защиты и соблюдением мер безопасности,
  - время непосредственного контакта клеток с раствором DMSO перед началом замораживания должно быть минимальным. При проведении замораживания с контролируемой скоростью необходимо учитывать дополнительные требования.

Примечание 1 — Воздействие (DMSO) на клетки в высоких концентрациях либо при длительном контакте приводит к повреждению клеточных структур.

Примечание 2 — Криоконсервирование МСК-ТП человека осуществлялось с использованием как криопротекторных систем, не содержащих DMSO, так и систем без добавления. В состав таких криопротекторных сред входят различные полимеры, применяемые отдельно или в комбинации с этиленгликолем, 1,2-пропиленгликолем, трегалозой, сахарозой и/или глюкозой;

- для обеспечения эффективной криоконсервации МСК-ТП человека применяют два основных метода: охлаждение с контролируемой скоростью и витрификацию (быстрое охлаждение):
  - метод охлаждения с контролируемой скоростью позволяет достичь контролируемых и воспроизводимых условий криоконсервации МСК-ТП,
  - при использовании протокола быстрого замораживания криоконтейнеры выдерживают при температуре минус 80 °С не менее 16 ч, после чего осуществляют перевод на длительное хранение при температуре от минус 135 °С до минус 210 °С (например, в газообразном азоте или жидкой фазе азота).

Примечание 3 — Оба вышеуказанных метода могут вызывать повреждение клеток на этапах введения и удаления криопротекторных агентов (CPA), а также в процессе замораживания и последующего размораживания.

Примечание 4 — Процедура охлаждения с контролируемой скоростью обеспечивает возможность одновременного приготовления значительного количества криофлаконов. Метод криоконсервации путем витрификации характеризуется более высокой выживаемостью клеток и рассматривается как перспективная стратегия для долгосрочного хранения клеточного материала.

Для длительного хранения МСК-ТП в условиях биобанкинга (например, более 12 мес) рекомендуется использовать метод хранения в паровой фазе жидкого азота.

Замораживание с контролируемой скоростью МСК-ТП человека выполняют следующим образом:

- документируют дату и время начала процесса криоконсервации в соответствии с ИСО 8601-1;
- начинают быстрое охлаждение от комнатной температуры до минус 10 °С со скоростью от 0,5 °С/мин до 1 °С/мин;

- выдерживают при температуре минус 10 °С в течение 5 мин; этот шаг является критическим для обеспечения формирования зародыша кристалла льда;
- понижают температуру до минус 80 °С со скоростью 1 °С/мин (целевая температура);
- переносят в жидкий азот для последующего хранения.

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

13 Размораживание

В процессе размораживания замороженные клетки должны оттаивать при температуре (36,5 ± 0,5) °С или быть обработаны для культивирования с добавлением среды по каплям, введены в культуру и затем перенесены в инкубатор с соответствующей газовой атмосферой и влажностью. Для оптимизации процесса инкубатор следует настроить на соответствующую температуру культивирования, которая обычно равна (36,5 ± 0,5) °С.

Замороженные клетки следует быстро разморозить путем нагревания и переноса непосредственно в предварительно подогретую до температуры (36,5 ± 0,5) °С питательную среду, чтобы обеспечить максимальную жизнеспособность и биологическую активность МСК-ТП человека.

Для клеток, консервированных методами витрификации, этот этап может быть более критичным, поэтому следует получить консультацию специалиста.

Следующую информацию необходимо четко задокументировать, включая среди прочего:

a) номер партии, указанный на замороженных пробирках;

b) наименование клеток;

c) число пассажей;

d) состояние культуры;

e) ФИО оператора;

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

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

После размораживания необходимо проверить жизнеспособность клеток.

14 Утилизация

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

Утилизацию МСК-ТП человека необходимо осуществлять в соответствии с действующими требованиями по защите окружающей среды, биобезопасности и этики.

15 Распространение МСК-ТП человека. Информация для пользователей

Необходимо соблюдать требования ИСО 20387:2018, 7.12.

Пользователям МСК-ТП человека предоставляют инструкции по использованию (IFU) и/или стандартные операционные процедуры выделения, консервации, хранения и транспортирования МСК-ТП человека. IFU обычно содержат информацию с общими положениями, связанными с культивированием, методами и процедурами консервации.

Пользователям МСК-ТП человека должны быть предоставлены номера партий, прослеживаемые до партии или биобанка, и заявление или паспорт безопасности материала, содержащие опасности для поставляемых МСК-ТП человека.

Пользователям МСК-ТП человека должны быть предоставлены условия или гарантии, которые квалифицируют потенциал и характеристики МСК-ТП человека на основе анализов, выполненных биобанком.

Пользователям МСК-ТП человека должны быть доступны данные о характеристике и микробиологических анализов от лица, внесшего МСК-ТП человека в биобанк.

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

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

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

b) дату, согласно ИСО 8601-1, попытки выделения (для МСК-ТП человека обычно принимают дату выделения клеток из пуповины или посева на чашки *in vitro*);

c) использование свежего или замороженного источника биологического материала;

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

e) любые ограничения на использование производных клеток;

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

16 Транспортирование МСК-ТП человека

16.1 Общие положения

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

Биобанк обязан разработать, внедрить и задокументировать процедуры для транспортирования и обращения с МСК-ТП человека и связанных с ними данных.

Следует избегать непредусмотренного воздействия радиации во время транспортирования.

МСК-ТП человека 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, в том числе:

1) инструкции по получению МСК-ТП человека,

2) инструкции по размораживанию и восстановлению МСК-ТП человека,

3) инструкции по условиям вторичного хранения,

4) необходимую 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.

Каждую замороженную ампулу/пробирку или контейнер с живой культурой (первичный контейнер) помещают в предварительно стерилизованную самоклеящуюся герметичную упаковку. На упаковку наносят следующую маркировку:

- данные о пробе;
- дату производства и срока годности;
- наименование и контакты учреждения, осуществляющего биобанкинг.

16.2 МСК-ТП человека, замороженные в ампулах или криопробирках

При транспортировании на дальние расстояния МСК-ТП человека, замороженные в ампулах или криопробирках, следует перевозить помещенными в сухой лед или дьюар с жидким азотом, но не ограничиваясь ими.

Примечание 1 — Оптимальное количество сухого льда или дьюаров с жидким азотом зависит от условий транспортирования, например продолжительности.

Наружный контейнер с теплоизоляцией, например толстостенный контейнер из пенополистирола, следует использовать для перевозки ампул и/или криопробирок. При использовании наружного контейнера его необходимо продезинфицировать, наполнить соответствующим хладоносителем (например, сухим льдом), оснастить термометром-регистратором данных для температурного контроля.

Примечание 2 — Если МСК-ТП человека оттаивают медленно, их жизнеспособность будет снижаться быстро.

Ампулы/криопробирки должны быть герметично укупорены во избежание утечки.

16.3 Живые культуры МСК-ТП человека

МСК-ТП человека можно транспортировать в виде живой культуры в питательной среде в соответствующих флаконах, обычно в течение небольшого периода, т. е. ≤2 ч. В таких случаях для отправки следует использовать МСК-ТП человека на средней и последней стадии кривой роста. Температура при подготовке к отправке и отгрузке должна быть ≤37 °С и >2 °С.

Следует использовать как можно больше питательной среды (например, наполнять флакон питательной средой доверху).

Примечание 1 — Если среда касается крышки флакона, это может привести к контаминации.

Примечание 2 — Конфлуэнтные или сверхконфлуэнтные культуры быстрее истощают питательные среды и могут иметь тенденцию к отделению при транспортировании.

Приложение А
(справочное)

Типовая процедура контроля качества для биобанкинга МСК-ТП человека

Таблица А.1 — Типовая процедура контроля качества для биобанкинга МСК-ТП человека

Тест на качество	Изоляция и первичная культура	Субкультура	Криоконсервация	После размораживания
Морфология клеток	+	+	—	+
CD-маркер	+	+	—	+
Кинетика роста	—	+	—	+
Количество и жизнеспособность	—	+	+	+
Способность дифференцировки *in vitro*	—	+	—	+
Способность иммунорегуляции	—	+	—	+
Паракринная секреция	—	+	—	+
Самообновление *in vitro*	—	+	—	+
Микробное загрязнение	+	—	+	+
Обозначения: +: тест в процедуре; —: тест не в процедуре.				

Приложение В
(справочное)

Примеры подходящих методов выделения и первичного культивирования МСК-ТП человека

В.1 Общие положения

Существуют различные протоколы выделения МСК-ТП человека. Методы, изложенные в В.2—В.4, могут рассматриваться в качестве допустимых вариантов выполнения данной процедуры.

В.2 Методы эксплантации

Метод эксплантации заключается в следующем:

a) помещают пуповину на стерильную чашку и удаляют остатки пуповинной крови, промыв ее буферным раствором (например, PBS или DPBS);

b) удаляют кровеносные сосуды (две артерии и одну вену) и отделяют желе Уортона от амниотической оболочки. МСК-ТП человека можно выделить из перистилей или из всех тканей пуповины, не вырывая кровеносный сосуд. В последнем случае клетки крови следует удалить во время культивирования;

c) пуповину следует нарезать на небольшие фрагменты размером от 1 до 3 $мм^3$ и разместить полученные фрагменты на поверхность чашки или планшета для культивирования. Планшет следует засеять таким образом, чтобы заполнение поверхности составляло примерно 50 %;

d) инкубируют экспланты в течение 1—2 ч при температуре (36,5 ± 0,5) °С для обеспечения их прикрепления к поверхности пластиковой посуды перед добавлением среды для культивирования клеток. При добавлении среды для культивирования необходимо следить за тем, чтобы фрагменты не перемещались; при всплывании фрагментов воздействие механических сил может стимулировать рост клеток;

e) инкубирование осуществляют в атмосфере, содержащей 5 % CO_2, при температуре (36,5 ± 0,5) °С и добавляют каждые три—четыре дня свежую питательную среду;

f) когда будет замечен рост клеток из эксплантов, удаляют экспланты;

g) меняют культуральную среду каждые три—четыре дня на свежую среду, пока не будет достигнуто 80 % — 90 % слияния. Клетки, прикрепленные к планшету, обогащаются МСК-ТП человека и составляют первичную культуру;

h) когда культура достигает 80 % — 90 % слияния, клетки следует трипсинизировать и высеять при плотности 1000—2000 клеток/$см^2$ для дальнейшего расширения культуры. Это составляет пассаж 1, который можно заморозить либо дополнительно пересеять.

В.3 Ферментативный метод

По сравнению с методом эксплантации ферментативный метод может обеспечить более стабильные популяции клеток и более стабильное количество клеток. Эти методы широко используют в большинстве лабораторий. Однако оптимальный метод эффективного выделения МСК-ТП человека из материала пуповины остается неизвестным.

Механическое измельчение ткани пуповины следует проводить с целью увеличения площади поверхности взаимодействия с реагентами, используемыми для ферментативного переваривания, перед выполнением данного этапа.

Для ферментативного переваривания можно использовать коллагеназу, гиалуронидазу, диспазу и трипсин. Можно использовать растворы, содержащие один из ферментов или комбинацию нескольких ферментов. Каждый вид фермента имеет свои специфические характеристики.

Продолжительность ферментативной обработки имеет решающее значение, поскольку она может разрушить внеклеточный матрикс и клеточную мембрану, предотвращая прилипание клеток к субстрату культуры после изоляции [64].

Пример 1 — 1 мг/мл коллагеназы II и 300 мг/мл гиалуронидазы в PBS были добавлены к тканям на 2 ч при температуре (36,5 ± 0,5) °С, затем 0,25 мг/мл трипсина в PBS на 15 мин при температуре (36,5 ± 0,5) °С при перемешивании.

Пример 2 —Ткани были обработаны 1 мг/мл коллагеназы II в PBS в течение 3 ч при температуре (36,5 ± 0,5) °С, а затем 0,25 мг/мл трипсина в PBS в течение 15 мин при температуре (36,5 ± 0,5) °С при перемешивании.

После ферментативного расщепления переваренный материал должен быть отфильтрован для облегчения удаления любых нежелательных остатков ткани. Обычно используют размеры пор от 70 до 200 мкм. Изолированные клетки промывают PBS, а клеточный осадок ресуспендируют в культуральной среде (например, DMEM с добавлением 10 % эмбриональной бычьей сыворотки).

Первичные культуры должны перейти к стадиям, содержащим только адгезивные клетки. Не должно остаться плавающих гемопоэтических клеток.

Методология, используемая для ферментативного расщепления, должна быть подробно описана (например, объем, продолжительность, температура).

Пример 3 — Клетки культивируют в колбах для тканевых культур площадью 25 см^2 и инкубируют в культуральной среде при температуре (36,5 ± 0,5) °С влажного воздуха с 5 % CO_2, со сменой среды два раза в неделю. В этом случае культуральную среду меняют каждые три—четыре дня на свежую среду до достижения 80 % — 90 % слияния. Клетки, прикрепленные к пластине, обогащаются МСК и составляют первичную культуру. Когда культура достигает 80 % — 90 % слияния, клетки отделяют с помощью 0,25 мг/мл трипсина-ЭДТА (этилендиаминтетрауксусной кислоты), дважды промывают PBS, собирают центрифугированием и повторно высевают в количестве от 1000 до 2000 клеток на см^2 для дальнейшего расширения культуры. Это составляет пассаж 1, который может быть расширен либо заморожен.

В.4 Метод размораживания

Для размораживания пробирку следует извлечь из резервуара с LN и погрузить в водяную баню при температуре 37 °С с легким вращением.

Содержимое пробирки необходимо медленно добавить к 5 мл свежей среды, содержащей 30 % FCS, при постоянном легком перемешивании. Полученную клеточную суспензию центрифугируют с добавлением 20 мл физиологического раствора двойной концентрации при 1000 мин$^{-1}$ для эффективного удаления остатков питательной среды.

Клетки осаждают и ресуспендируют в 1 мл питательной среды, определенной биобанком. После этого следует провести подсчет живых/мертвых клеток.

Приложение С
(справочное)

Типичные методы характеристики МСК-ТП человека

С.1 Анализ жизнеспособности клеток методом проточной цитометрии

Набор для апоптоза клеток с аннексином V/пропидиум-йодидом (PI) используют в соответствии с инструкциями. МСК-ТП человека (4 × 105) дважды промывают буфером PBS (pH 7,4) и повторно суспендируют в связывающем буфере, предоставленном в наборе. После этого 5 мкл аннексина V и 5 мкл PI смешивают с клетками. Через 15 мин инкубации при комнатной температуре в темноте смеси анализируют с помощью проточной цитометрии.

С.2 Измерение пролиферации клеток путем включения CFSE

Измерение выполняют следующим образом:

a) суспендируют МСК-ТП человека (1 × 106 клеток/мл) в 1000 мкл 0,1 % альбумина PBS1X;

b) используют протокол окрашивания с CFSE для пролиферации клеток, следуя рекомендациям изготовителя и внутрилабораторным проверкам;

c) анализируют методом проточной цитометрии (лазер 488 нм, детектор FL1 для флуоресцеинизотиоцианата). Регулируют компенсацию в соответствии с прибором и условиями внутреннего контроля качества.

Для оценки пролиферации клеток путем включения CFSE следует использовать клетки, лишенные сыворотки, в качестве отрицательного контроля для анализа пролиферации.

С.3 Измерение пролиферации клеток 3-[4,5-диметилтиазол-2- у]-2,5-дифенилтетразолийбромид (МТТ)

Измерение выполняют следующим образом:

a) суспендируют МСК-ТП (1 × 103 клеток/мл) в 96-луночных планшетах с 100 мкл рабочего раствора МТТ (5 мг/мл в культуральной среде без сыворотки);

b) используют протокол МТТ, следуя рекомендациям изготовителя и внутрилабораторным проверкам;

c) измерение проводят методом спектрометрии при длине волны 490 нм.

С.4 Иммунофенотипирование методом проточной цитометрии

С.4.1 Выполняют настройку и калибровку в соответствии с типом имеющегося цитометра следующим образом:

a) используют стратегию компенсации в соответствии с количеством флуорофоров, которые необходимо обнаружить;

b) экспрессия антигенов, связанных с МСК-ТП человека, должна быть определена в соответствии с рекомендациями, приведенными в 10.9, и соответствующими международными рекомендациями (см. например, [63]);

c) подготавливают буфер для цитометрии (PBS10X, 2 мМ ЭДТА, 0,5 % ЭТС);

d) добавляют суспензию МСК-ТП человека в соответствии со стандартизованными значениями биобанка. Следует использовать суспензию МСК от 1 × 105 до 5 × 105 клеток/мл;

e) объем каждого добавляемого антитела должен быть установлен биобанком. В таблице 1 приведены клоны антител, рекомендуемые для фенотипирования МСК-ТП человека. В таблице 2 — дополнительные клоны антител.

С.4.2 Удаляют культуральную среду из МСК-ТП человека центрифугированием.

С.4.3 Добавляют концентрацию антител, определенную биобанком, и выполняют лабораторно подтвержденный протокол для проточной цитометрии.

С.5 Анализ CFU-F

Анализ выполняют следующим образом:

a) культуру МСК-ТП человека разводят до достижения уровня слияния 70 % — 80 %, после чего клетки отделяют с использованием раствора трипсина-ЭДТА;

b) для обеспечения разделения клеток допускается обжечь стеклянную пипетку Пастера с целью получения суженного наконечника. Клеточную суспензию последовательно проводят через суженный наконечник пипетки несколько раз;

c) подсчитывают количество клеток с помощью гемоцитометра;

d) разбавляют клетки в ССМ и высевают по 100 клеток на 100 миллиметров чашки для культивирования тканей или по 10 клеток на лунку в 6-луночный планшет;

e) инкубируют в течение 10—14 сут при температуре 37 °С в увлажненном инкубаторе при содержании 5 % CO_2;

f) промывают чашки PBS и окрашивают 0,5 %-ным раствором кристаллического фиолетового в течение 5—10 мин при комнатной температуре;

e) тщательно промывают водой и подсчитывают видимые колонии диаметром более 5 мм.

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 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. Для 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 20391-1:2018 Biotechnology — Cell counting — Part 1: General guidance on cell counting methods (Биотехнология. Подсчет клеток. Часть 1. Общее руководство по методам подсчета клеток)

[2] ISO/TS 20658 Medical laboratories — Requirements for collection, transport, receipt, and handling of samples (Лаборатории медицинские. Требования к отбору, транспортировке, получению и обработке образцов)

[3] ISO 21709:2020/Amd 1:2021 Biotechnology — Biobanking — Process and quality requirements for establishment, maintenance and characterization of mammalian cell lines — Amendment 1 (Биотехнология. Биобанкинг. Требования к процессу и качеству для создания, поддержания и характеристики клеточных линий млекопитающих. Изменение 1)

[4] ISO/TR 22758 Biotechnology — Biobanking — Implementation guide for ISO 20387 (Биотехнология. Биобанкинг. Руководство по внедрению ISO 20387)

[5] ISO 35001:2019 Biorisk management for laboratories and other related organisations (Менеджмент биорисков для лабораторий и других родственных организаций)

[6] ISO Guide 73 Rick management — Vocabulary (Менеджмент рисков. Словарь)

[7] CLSI H44-A2:2004 Methods for Reticulocyte Counting (Automated Blood Cell Counters, Flow Cytometry, and Supravital Dyes); Approved Guideline—Second Edition (Методология: Руководство по утверждению автоматических счетчиков клеток крови, проточной цитометрии и подсчета ретикулоцитов с использованием красителей Supravital); второе издание)

[8] Mo, M. et al. Mesenchymal stem cell subpopulations: phenotype, property and therapeutic potential. Cell Mol. Life Sci. 2016, 73(17), p. 3311—21

[9] Gharibi, T. et al., Immunomodulatory characteristics of mesenchymal stem cells and their role in the treatment of multiple sclerosis. Cell Immunol. 2015, 293(2), p. 113—121

[10] Sangiorgi, B. and R.A. Panepucci, Modulation of Immunoregulatory Properties of Mesenchymal Stromal Cells by Toll-Like Receptors: Potential Applications on GVHD. Stem Cells Int. 2016, p. 9434250

[11] Rohban R. and T.R. Pieber, Mesenchymal Stem and Progenitor Cells in Regeneration: Tissue Specificity and Regenerative Potential. Stem Cells Int. 2017, p. 5173732

[12] Uccelli A., L. Moretta and V. Pistoia, Mesenchymal stem cells in health and disease. Nat. Rev. Immunol. 2008, 8(9), p. 726—736

[13] Rodriguez-Pardo V.M. and J.P. Vernot, Mesenchymal stem cells promote a primitive phenotype CD34+c-kit+ in human cord blood-derived hematopoietic stem cells during ex vivo expansion. Cell Mol. Biol. Lett. 2013, 18(1), p. 11—33

[14] Xi, J. et al., Mesenchymal stem cells in tissue repairing and regeneration: Progress and future. Burns Trauma. 2013, 1(1), p. 13—20

[15] Sarugaser, R. et al., Human mesenchymal stem cells self-renew and differentiate according to a deterministic hierarchy. PLoS One. 2009, 4(8), p. e6498

[16] Viswanathan, S. et al., Mesenchymal stem versus stromal cells: International Society for Cell & Gene Therapy (ISCT(R)) Mesenchymal Stromal Cell committee position statement on nomenclature. Cytotherapy. 2019, 21(10), p. 1019—1024

[17] Dominici, M. et al., Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 2006, 8(4), p. 315—317

[18] Caplan A.I., Mesenchymal stem cells. J. Orthop. Res. 1991, 9(5), p. 641—650

[19] Sacchetti B. et al. Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment. Cell. 2007, 131(2), p. 324—336

[20] ICCBBA. ISBT 128 Standard Technical Specification. In. PO Box 11309, San Bernardino, CA 92423 1309 USA: ICCBBA, 2009

[21] Viswanathan S. et al. Consensus International Council for Commonality in Blood Banking Automation-International Society for Cell & Gene Therapy statement on standard nomenclature abbreviations for the tissue of origin of mesenchymal stromal cells. Cytotherapy. Dec 2021, 23(12), p. 1060—1063. gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

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

[23] Cooper K. and C. Viswanathan, Establishment of a mesenchymal stem cell bank. Stem Cells Int. 2011, p. 905621

[24] Mlynek J., I. Imrich and E. Mlyneková, The effect of temperature during transportation to the quality of pork. Journal of Microbiology Biotechnology & Food Sciences. 2015, 4(Special issue 3), p. 122—124

[25] Davies J.E., J.T. Walker and A. Keating, Concise Review: Wharton's Jelly: The Rich, but Enigmatic, Source of Mesenchymal Stromal Cells. Stem Cells Transl. Med. 2017, 6(7), p. 1620—1630

[26] Amati E. et al., High-throughput immunophenotypic characterization of bone marrow- and cord blood-derived mesenchymal stromal cells reveals common and differentially expressed markers: identification of angiotensin-converting enzyme (CD143) as a marker differentially expressed between adult and perinatal tissue sources. Stem Cell Res. Ther. 2018, 9(1), p. 10

[27] Balint R., S.M. Richardson and S.H. Cartmell, Low-density subculture: a technical note on the importance of avoiding cell-to-cell contact during mesenchymal stromal cell expansion. J. Tissue Eng. Regen. Med. 2015, 9(10), p. 1200—1203

[28] Subbarayan R, Girija D M, Mukherjee J et al. Comparision of Gingival and Umbilical Cord Stem Cells Based on Its Modulus and Neuronal Differentiation. Journal of Cellular Biochemistry. 2017, 118(8)

[29] Wang T., R. Yan, X. Xu, H. Yu et al. Effects of leukemia inhibitory factor receptor on the adipogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells. Mol. Med. Rep. Jun 2019, 19(6), p. 4719—4726

[30] Zhuang H., X. Zhang, C. Zhu, X. Tang, et al. Molecular Mechanisms of PPAR-γ Governing MSC Osteogenic and Adipogenic Differentiation. Curr. Stem Cell Res. Ther. 2016, 11(3), p. 255—264

[31] Mitterberger M.C., S. Lechner, M. Mattesich, A. Kaiser, et al. DLK1(PREF1) is a negative regulator of adipogenesis in CD105(+)/CD90(+)/CD34(+)/CD31(-)/FABP4(-) adipose-derived stromal cells from subcutaneous abdominal fat pats of adult women. Stem Cell Res, Jul 2012. 9(1), p. 35—48

[32] Li, K., Y. Wu, H. Yang, P. Hong et al. H19/miR-30a/C8orf4 axis modulates the adipogenic differentiation process in human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. J. Cell. Physiol. Nov 2019, 234(11), p. 20925—20934

[33] JUREK, S., M. A. SANDHU, S. TRAPPE, M. C. BERMUDEZ-PENA, et al. Optimizing adipogenic transdifferentiation of bovine mesenchymal stem cells: a prominent role of ascorbic acid in FABP4 induction. Adipocyte. Dec 2020, 9(1), p. 35—50

[34] Hu X., J. Tang, X. Hu, P. Bao et al. MiR-27b Impairs Adipocyte Differentiation of Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells by Targeting LPL. Cell Physiol. Biochem. 2018, 47(2), p. 545—555

[35] Ma J., J. Wu, L. Han, X. Jiang et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells derived from amniotic membrane, umbilical cord, and chorionic plate under serum-free condition. Stem Cell Research & Therapy. 2019, 10(1)

[36] Bharti D., S.B. Shivakumar, J.K. Park, I. Ullah et al. Comparative analysis of human Wharton's jelly mesenchymal stem cells derived from different parts of the same umbilical cord. Cell & Tissue Research. 2017, 372(1), p. 1—15

[37] Ng, F. et al., PDGF, TGF-beta, and FGF signaling is important for differentiation and growth of mesenchymal stem cells (MSCs): transcriptional profiling can identify markers and signaling pathways important in differentiation of MSCs into adipogenic, chondrogenic, and osteogenic lineages. Blood. 2008, 112(2), p. 295—30

[38] Pittenger M.F., Mackay, A.M., Beck, S.C., Jaiswal, R.K., Douglas, R., Mosca, J.D. et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science. 1999, 284(5411), pp. 143—7

[39] Johnstone B., Hering, T.M., Caplan, A.I., Goldberg, V.M., Yoo, J.U. In vitro chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells. Exp Cell Res. 1998, 238(1), pp. 265—72

[40] Oikonomopoulos, A., van Deen, W.K., Manansala, A.R., Lacey, P.N., Tomakili, T.A., Ziman, A. et al. Optimization of human mesenchymal stem cell manufacturing: the effects of animal/xeno-free media. Sci. Rep. 2015, 5, 16570

[41] Perez-Ilzarbe M., Diez-Campelo, M., Aranda, P., Tabera, S., Lopez, T., del Canizo, C. et al. Comparison of ex vivo expansion culture conditions of mesenchymal stem cells for human cell therapy. Transfusion. 2009, 49(9), pp. 1901—10

[42] Azouna N.B., F. Jenhani and Z. Regaya et al. Phenotypical and functional characteristics of mesenchymal stem cells from bone marrow: comparison of culture using different media supplemented with human platelet lysate or fetal bovine serum. Stem Cell Research & Therapy. 2012, 3(1), p. 6—6

[43] Vemuri M.C., I. G. Chase and M.S. Rao. Mesenchymal stem cell assays and applications. Methods Mol. Biol. 2011, 698, p. 3—8

[44] Lu L.L. et al., Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis-supportive function and other potentials. Haematologica. 2006, 91(8), p. 1017—1026

[45] Han Z.C. et al., New insights into the heterogeneity and functional diversity of human mesenchymal stem cells. Biomed. Mater. Eng. 2017, 28(s1), p. S29—S45

[46] Arufe, M.C. et al., Analysis of the chondrogenic potential and secretome of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord stroma. Stem Cells Dev. 2011, 20(7), p. 11991—212

[47] Kouroupis D. et al., The assessment of CD146-based cell sorting and telomere length analysis for establishing the identity of mesenchymal stem cells in human umbilical cord. F1000Res. 2014, 3, p. 126

[48] Corsello T. et al., Wharton's Jelly Mesenchymal Stromal Cells from Human Umbilical Cord: a Close-up on Immunomodulatory Molecules Featured In Situ and In Vitro. Stem Cell Rev Rep, 2019. 15(6), p. 900—918

[49] Vernot J.P. et al., Phenotypic and Functional Alterations of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells in an In Vitro Leukemia-Induced Microenvironment. Int. J. Mol. Sci. 2017, 18(2)

[50] Li, C.Y. et al., Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue under xeno-free conditions for cell therapy. Stem Cell Res. Ther. 2015, 6, p. 55

[51] Lv F.J. et al., Concise review: the surface markers and identity of human mesenchymal stem cells. Stem Cells. 2014, 32(6), p. 1408—1419

[52] Khan R.S. and P.N. Newsome, A Comparison of Phenotypic and Functional Properties of Mesenchymal Stromal Cells and Multipotent Adult Progenitor Cells. Front Immunol. 2019, 10, p. 1952

[53] Wagner W. et al., Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood. Exp. Hematol. 2005, 33(11), p. 1402—1416

[54] Holley R.J. et al., Comparative quantification of the surfaceome of human multipotent mesenchymal progenitor cells. Stem Cell Reports. 2015, 4(3), p. 473—488

[55] Shlush E. et al., In vitro generation of Sertoli-like and haploid spermatid-like cells from human umbilical cord perivascular cells. Stem Cell Res. Ther. 2017, 8(1), p. 37

[56] Shi Q. et al., Differentiation of human umbilical cord Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells into endometrial cells. Stem Cell Res. Ther. 2017, 8(1), p. 246

[57] Hua J. et al., Comparison of different methods for the isolation of mesenchymal stem cells from umbilical cord matrix: proliferation and multilineage differentiation as compared to mesenchymal stem cells from umbilical cord blood and bone marrow. Cell Biol. Int. 2013

[58] Arutyunyan I. et al., Umbilical Cord as Prospective Source for Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy. Stem Cells Int. 2016, p. 6901286

[59] Galipeau J. et al., International Society for Cellular Therapy perspective on immune functional assays for mesenchymal stromal cells as potency release criterion for advanced phase clinical trials. Cytotherapy. 2016, 18(2), p. 151—159

[60] Krampera M. et al., Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells. Stem Cells. 2006, 24(2), p. 386—398

[61] Noronha N.C. et al., Priming approaches to improve the efficacy of mesenchymal stromal cell-based therapies. Stem Cell Res. Ther. 2019, 10(1), p. 131

[62] Menard C. et al., Clinical-grade mesenchymal stromal cells produced under various good manufacturing practice processes differ in their immunomodulatory properties: standardization of immune quality controls. Stem Cells Dev. 2013, 22(12), p. 1789—1801

[63] Krampera M. et al., Immunological characterization of multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy (ISCT) working proposal. Cytotherapy. 2013, 15(9), p. 1054—1061

[64] Wang H.S. et al., Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord. Stem Cells. 2004, 22(7), p. 1330—1337

[65] Beeravolu N. et al. Isolation and Characterization of Mesenchymal Stromal Cells from Human Umbilical Cord and Fetal Placenta. J. Vis. Exp. 2017, 122

[66] Le Blanc K. and D. Mougiakakos, Multipotent mesenchymal stromal cells and the innate immune system. Nat. Rev. Immunol. 2012, 12(5), p. 383—396

УДК 615.07:006.354 ОКС 07.080

Ключевые слова: биотехнология, биобанкинг, мезенхимальные стромальные клетки человека, пуповина, МСК-ТП человека

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

Сдано в набор 23.03.2026. Подписано в печать 07.04.2026. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л.4,18. Уч.-изд. л. 3,55.

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