


ПРИЛОЖЕНИЕ 6.

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
БОТАНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМ. В.Л. КОМАРОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

УТВЕРЖДАЮ
Директор БИН РАН,




Д.В. Гельтман
29" августа 2017 г.

**Стандартная операционная процедура по контролю чистоты
(аутентичности) культур базидиомицетов коллекции БИН РАН**

(Разработано Н.В. Псурцевой)

Санкт-Петербург 2017

6. Контроль чистоты (аутентичности) культур базидиомицетов коллекции LE-BIN состоит из ряда последовательных процедур и учитывает требования следующих стандартных операционных процедур:

- Стандартная операционная процедура по введению (депонированию) штаммов в фонд коллекции культур базидиомицетов БИН РАН (Приложение 1);
- Стандартная операционная процедура по приготовлению питательных сред и стерильной посуды (Приложение 2);
- Стандартная операционная процедура по поддержанию фонда коллекции культур базидиомицетов БИН РАН (Приложение 3);
- Стандартная операционная процедура по пересеву культур базидиомицетов коллекции БИН РАН (Приложение 4);
- Стандартная операционная процедура по контролю жизнеспособности культур базидиомицетов коллекции БИН РАН (Приложение 5);
- Стандартная операционная процедура по выделению чистых культур базидиомицетов из природных экосистем (Приложение 9);
- Стандартная операционная процедура по получению морфологических характеристик культур базидиомицетов коллекции БИН РАН (Приложение 11);
- Стандартная операционная процедура по получению физиологических характеристик культур базидиомицетов коллекции БИН РАН (Приложение 12);
- Стандартная операционная процедура по биохимической характеристике культур базидиомицетов коллекции БИН РАН (Приложение 13);
- Стандартная операционная процедура по получению генеративной стадии культур базидиомицетов коллекции БИН РАН (Приложение 14);
- Стандартная операционная процедура по верификации/ характеристике культур базидиомицетов методом секвенирования последовательностей ITS1-5S-ITS2 участка nrDNA (Приложение 15).

6.1. Контроль аутентичности культур осуществляется после выделения базидиомицетов в чистую культуру, хранения культур в коллекции методом суб-культуры, дисковым методом под дистиллированной водой и методом криоконсервации.

6.2. Культура извлекается из коллекции и высевается на чашку Петри как описано в соответствующих СОПах (Приложения 3, 4, 5).

6.3. Выросшую в чашке Петри колонию рассеивают на 2 чашки Петри, из которых одна чашка послужит материалом для контроля аутентичности, а с другой, в случае подтверждения аутентичности, будет проведен посев для возвращения культуры в коллекционный фонд.

6.4. В процессе всех пересевов культуры контролируют на присутствие в чашке Петри посторонней микрофлоры.

6.5. Контроль аутентичности культуры проводят перечисленными ниже методами на основании соответствующих СОПов.

6.5.1. Характеристика макроморфологических признаков (Приложение 11).

6.5.2. Характеристика микроморфологических признаков (Приложение 11).

6.5.3. Характеристика физиологических параметров роста культуры (Приложение 12)

6.5.4. Биохимическая характеристика культуры (оценка биологической активности) (Приложение 13).

6.5.5. Возможность получения и характеристика генеративной стадии (Приложение 14).

6.5.6. Верификация культуры молекулярно-генетическими методами (Приложение 15).

6.6. В случае подтверждения аутентичности из оставшейся чашки Петри мицелий отсеивается на 2 биологические пробирки со свежим сусло-агаром (либо дисками на 2 микропробирки с дистиллированной водой, либо на чашку Петри с 5% агаром для криоконсервации для возвращения в коллекцию на хранение соответствующим методом.

6.7. Штамм с подтвержденной аутентичностью при необходимости используют для исследования.

Проверка чистоты (аутентичности) коллекционных культур осуществляется с использованием следующего лабораторного оборудования: ламинарные шкафы ВЛ-12, паровой стерилизатор (автоклав) ГК-100, термостаты ТС-1/80 и хладотермостаты ТСО-1/80, низкотемпературный холодильник (New Brunswick Scientific U-410, микроскопическая техника (световой микроскоп AxioScope A1, Carl Zeiss, стереомикроскопы МБС-10 и МС-2), оборудование для выделения ДНК, амплификации и секвенирования, холодильники, центрифуги, вытяжные шкафы и т.д., оргтехника: компьютеры с необходимыми программами, сканеры, принтеры и т.д., а также расходных материалов: комплекты инструментов для работы в ламинаре, наборы микропипеток, реактивы для приготовления сред, спирт и т.д..

Зав. лабораторией биохимии грибов БИН РАН,
Куратор Коллекции LE-BIN



Н.В. Псурцева