

Центр клеточных технологий «Покровский»  
Институт цитологии Российской Академии наук

# Организация работы биобанков

Методические  
рекомендации



Санкт-Петербург  
2023

## **МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ «ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ БИОБАНКОВ»**

В методических рекомендациях рассмотрены основные организационные принципы работы биобанков, в частности, банков клеточных культур. Особое внимание уделено вопросам соответствия Правилам надлежащих практик, соблюдение которых является обязательным для банков, в которых хранится сырье для биомедицинских клеточных продуктов, и желательным для научно-исследовательских биобанков. В рекомендациях рассматриваются основные этапы процесса биобанкирования: от приемки образца до его паспортизации и криоконсервации с организационной точки зрения (организация документооборота, требования к материалам, персоналу и т.д.). Суммируется нормативно-правовая база биобанкирования.

Методические рекомендации предназначены для сотрудников биобанков, биологов, студентов и аспирантов профильных высших учебных заведений

**Составители: Н.И. Енукашвили (Институт цитологии РАН), А.В. Котова (Центр клеточных технологий «Покровский»).**

## Содержание

Введение .....	4
Биобанкирование .....	6
Нормативная документация, регулирующая организацию биобанков .....	6
Общие требования к персоналу .....	11
Общие принципы организации помещений .....	12
Общие принципы ведения документации .....	15
Общие требования по документации к материалу, получаемому из другого биобанка .....	17
Общие требования к документации по донорскому материалу..	19
Сырье для производства БМКП или клеточной культуры для биобанкирования .....	22
Поступление биоматериала в биобанк .....	25
Обработка материала.....	26
Криоконсервация .....	30
Система контроля качества.....	35
Паспортизация материала при биобанкировании .....	38
Утилизация образца.....	40
Заключение.....	41

## Введение

К одним из самых больших достижений биологии XX века можно отнести развитие технологии культивирования клеток, тканей и органов вне организма. Начало этому процессу было положено еще в XIX веке, в 1849 году, когда Carl Eduard Loebell опубликовал результаты своей работы по перфузии свиной почки артериальной кровью – это было началом создания методик по работе с изолированными органами. В 1885 г. Max von Frey и Max Gruber создали замкнутую систему для перфузии, которая в общих чертах сохраняется и доныне. Однако, технология изолированных органов не позволяет проводить длительные эксперименты и возобновлять полученный донорский материал. В 50е гг XX века George Otto Gey получил первую в мире линию «бессмертных» клеток, которые могли неограниченно долго расти и делиться в культуре. 1951 год считается годом начала развития клеточных технологий. В настоящее время мы далеко продвинулись вперед в этом направлении – созданы технологии культивирования практически любых типов клеток: от гамет до полностью дифференцированных соматических клеток, разработаны методики репрограммирования клеток, растущих в культуре. На основе этих технологий и данных фундаментальных исследований разрабатываются протоколы лечения в трансляционной медицине. Развитие как исследовательских программ, так и методов регенеративной медицины привело к появлению потребности в наличии полностью охарактеризованных (паспортизованных) клеточных культур, полученных с соблюдением принципов биоэтики в условиях постоянного контроля качества. Для клинических целей клеточные культуры должны быть получены и помещены в биобанк с соблюдением Правил надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами (Приказ Министерства здравоохранения от №512н от 8 августа 2018 года). Подобные требования сформировали запрос на появление и развитие биобанков, соответствующих данным требованиям.

Данное пособие рассматривает не только основные принципы организации биобанкирования в узком смысле этого термина (непосредственно хранение материала), но и более широкий круг

вопросов, связанных с получением материала для биобанкирования, начиная от этапа забора биоматериала в лечебно-профилактическом учреждении. Излагаемые в методическом пособии требования к биобанкированию являются обязательными при депонировании материала, предназначенного для клинических и доклинических исследований, а также для производства биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) и/или высокотехнологичных лекарственных препаратов (ВТЛП). Помимо этих требований следует также принимать во внимание нормативную базу Евразийского экономического союза, в частности, Решения №77, 78 Совета Евразийской экономической комиссии, регламентирующие правила производства и регистрации высокотехнологичных лекарственных препаратов, к которым относятся некоторые из клеточных продуктов. В случае ориентации продукции биобанка на Евразийский союз с целью приготовления сырья для производства ВТЛП необходимо соблюдения принципов всех надлежащих практик (лабораторной - GLP, производственной - GMP, хранения - GSP, дистрибуции – GDP).

Соблюдение Правил надлежащих практик при производстве продукции для клинической практики, доклинических и клинических исследований необходимо, так как в этом случае к биомедицинским клеточным продуктам и/или высокотехнологичным лекарственным препаратам применимы те же подходы, что и к фармацевтической продукции, что связано с их принципиальным отличием от обычной продукции массового потребления (Подпружников, 2015):

1. Потребитель не сам принимает решение о приобретении продукции
2. Ни врач, принимающий решение о покупке, ни покупатель не могут оценить качество приобретаемого товара
3. Врач, принимающий решение о покупке, не оплачивает продукт
4. Существует риск в различии характеристик препарата на этапе доклинических и клинических исследований и того же препарата, производимого в промышленных масштабах

5. Приемлемость серийной продукции проверяется по косвенным показателям качества, входящим в спецификацию. Однако они не всегда связаны с потребительскими свойствами препарата
6. Если продукт не подходит покупателю, он не может вернуть ни деньги, ни препарат, ни здоровье
7. Основные методы проверки качества препарата – разрушающие, поэтому невозможно применять 100% контроль с удалением бракованной продукции. Именно поэтому должны использоваться эффективные системы обеспечения качества и выборочный контроль.

Такие особенности лекарственных средств, в том числе и на клеточной основе, создают повышенную потребность к системам обеспечения и контроля качества, к организации всего цикла производства клеточносодержащих продуктов, в том числе к организации биобанкирования.

## **Биобанкирование**

Биобанки – учреждения, предназначенные для хранения биологического материала, клеток для приготовления клеточных линий, клеточных линий, предназначенных для производства биомедицинских клеточных продуктов (далее - биологические объекты), биомедицинских клеточных продуктов (Приказ Минздрава России от 20.10.2017 N 842н (ред. от 30.01.2019)), а также для проведения научных исследований, как прикладных, так и фундаментальных.

## **Нормативная документация, регулирующая организацию биобанков**

В настоящее время деятельность биобанков для научных целей регламентируется только запросами со стороны научного сообщества. Со стороны законодательства регламентируются только моменты, касающиеся охраны персональных данных донора

Однако большинство биобанков, депонирующих образцы клеточных культур, в той или иной степени сохраняют и образцы, которые потенциально могут быть использованы для создания биомедицинского клеточного продукта (БМКП) или высокотехнологичного лекарственного продукта (ВТЛП). К таким банкам предъявляется гораздо больше требований со стороны законодательства, что связано с более высокими стандартами клеточного культивирования в данном случае. Перечень регламентирующих документов для таких учреждений представлен в таблице 1. В отдельную группу документов следует выделить документы, связанные с банкированием клеток для биотехнологического производства (вакцины, сыворотки и т.д.). Для таких клеток разработаны общие фармакопейные статьи (ОФС) (Таблица 1).

Таблица 1. Документы, регламентирующие деятельность учреждений, получающих клеточные культуры для производства БМКП, а также для производства иных биотехнологических препаратов

Документ	Этапы биобанкирования, регламентируемые документом
Приказ Минздрава России от 20.10.2017 N 842н (ред. от 30.01.2019) "Об утверждении требований к организации и деятельности биобанков и правил хранения биологического материала, клеток для приготовления клеточных линий, клеточных линий, предназначенных для производства биомедицинских клеточных продуктов, биомедицинских клеточных продуктов"	Основные принципы организации биобанка, требования к персоналу и помещениям
Приказ Минздрава России от 27.03.2018 N 125н "Об утверждении порядка медицинского обследования донора биологического материала и перечня противопоказаний (абсолютных и относительных) для получения	Перечень показаний и противопоказания для донорства, перечень медицинский обследований донора

биологического материала"	
Приказ Минздрава России от 8 августа 2018 года N 512н Об утверждении Правил надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами	Устанавливает правила производства клеточных линий для БМКП
Приказ Минздрава России от 11 августа 2017 года N 517н Об утверждении формы информированного добровольного согласия донора биологического материала либо одного из родителей или иного законного представителя на безвозмездное предоставление биологического материала для производства биомедицинского клеточного продукта, в том числе в целях проведения доклинических исследований и (или) клинических исследований, и формы письменного согласия супруга (супруги) либо одного из родственников умершего лица на посмертное предоставление биологического материала для производства биомедицинского клеточного продукта, в том числе в целях проведения доклинических исследований и (или) клинических исследований	Устанавливает форму добровольного согласия донора для БМКП. Особенность формы – она заполняется как аутологичного, так и для аллогенного материала
Приказ Минздрава России от 31.01.2017 N 32н (ред. от 30.01.2019) "Об утверждении Порядка представления документов, из которых формируется регистрационное досье на биомедицинский клеточный продукт, и формы заявления о государственной регистрации»	Приказ необходимо учитывать, если в биобанке получают линию для последующего производства БМКП, т.к. он устанавливает перечень необходимых документов для досье. Часть данных (например, элементы спецификации) можно получить только на этапе биобанкирования



<p>Приказ Минздрава России от 19.01.2017 N 14н (ред. от 30.01.2019) "Об утверждении формы спецификации на биомедицинский клеточный продукт" (Зарегистрировано в Минюсте России 13.02.2017 N 45607)</p>	<p>Утверждает форму спецификации на БМКП. При депонировании клеточной линии должна учитываться необходимость последующего предоставления данных для спецификации клеточного продукта. Спецификация готовится производителем продукта, однако, он вправе запросить данные и подтверждающие документы для включения в спецификацию</p>
<p>Приказ Росздравнадзора от 19.01.2022 N 184 "Об утверждении формы оценочного листа, в соответствии с которым Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения проводится оценка соответствия соискателя лицензии или лицензиата лицензионным требованиям при осуществлении деятельности по производству биомедицинских клеточных продуктов"</p>	<p>Проверочный лист (чек-лист) для предприятий по производству БМКП. Если биобанк одной из своих целей ставит производство клеточных линий для БМКП, этот чек-лист должен учитываться при создании системы биобанкирования</p>
<p>* Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. N 78 "О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения" с учетом Решения Совета Евразийской экономической комиссии от 17 марта 2022 г. N 36 "О внесении изменений в Правила регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения"</p>	<p>Устанавливает понятие высокотехнологичного лекарственного препарата. Устанавливает требования к их регистрации, из которых вытекают некоторые принципы биобанкирования и получения клеточносодержащих продуктов</p>
<p>* Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября</p>	<p>Устанавливает ряд требований к производству,</p>

<p>2016 г. N 77 "Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза"</p>	<p>банкированию продуктов на клеточной основе, подпадающих под определение высокотехнологичного лекарственного препарата</p>
<p>* ГОСТ Р 52249-2009 НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПРАВИЛА ПРОИЗВОДСТВА И КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ Good manufacturing practice for medicinal products (GMP)</p>	<p>Устанавливает стандарты GMP</p>
<p>Приказ Минздрава России от 31.08.2016 N 646н "Об утверждении Правил надлежащей практики хранения и перевозки лекарственных препаратов для медицинского применения"</p>	<p>Регламентирует процессы, связанные с транспортировкой и хранением лекарственных препаратов</p>
<p>Федеральный закон от 27.07.2006 N 152-ФЗ (ред. от 14.07.2022) "О персональных данных"</p>	<p>Защита персональных данных донора</p>
<p>**ОФС.1.7.2.0011.15. Общая фармакопейная статья. Требования к клеточным культурам - субстратам производства биологических лекарственных препаратов" (утв. и введена в действие Приказом Минздрава России от 31.10.2018 N 749) ("Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Том II")</p>	<p>Устанавливает требования к первичным и перевиваемым (диплоидным и гетероплоидным) клеточным культурам (КК) человека и животных, применяемым в качестве субстратов производства и контроля вирусных вакцин.</p>
<p>Приказ Минпромторга России от 14.06.2013 N 916 (ред. от 18.12.2015) "Об утверждении Правил надлежащей производственной практики" (Зарегистрировано в Минюсте России 10.09.2013 N 29938). Приложение 2.</p>	<p>Технология производства биологических (в том числе иммунобиологических) фармацевтических субстанций и биологических лекарственных препаратов</p>

	(далее - "биологические фармацевтические субстанции и лекарственные препараты")
--	---

\* - данные требования распространяются на процесс производства высокотехнологичного лекарственного препарата, то есть при работе в рамках законодательства Евразийского экономического союза.

\*\* – Распространяется на клеточные культуры человека и животных, применяемым в качестве субстратов производства и контроля вирусных вакцин, иммунобиологических препаратов.

## **Общие требования к персоналу**

Согласно приказу N842 Минздрава России от 20.10.2017 (ред. От 30.01.2019) персонал субъекта обращения биомедицинского клеточного продукта должен включать работников, имеющих высшее медицинское, фармацевтическое, ветеринарное, биологическое или химическое образование, а также инженерно-технический персонал и персонал по уборке и охране помещений (зон) для хранения биологических объектов и биомедицинских клеточных продуктов.

Обязанности и ответственность работников субъекта обращения биомедицинских клеточных продуктов, в том числе ответственного лица, закрепляются в должностных инструкциях. Руководитель субъекта обращения биомедицинских клеточных продуктов утверждает план-график проведения первичной и последующих подготовок (инструктажей) персонала биобанков, контролирует его исполнение и оценивает эффективность подготовок (инструктажа) с целью их совершенствования.

При организации биобанка можно также принять во внимание требования к персоналу, изложенные в Решении №77 ЕЭК от 03.06.2016 «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза», если биобанк ориентирован на законодательство Евразийского экономического Союза. Однако следует

отметить, что эти рекомендации позволяют обеспечить высокое качество хранимых образцов. Требования к персоналу, изложенные в рекомендациях, закрепляют необходимость обучения всего персонала (складские сотрудники, сотрудники клеточного блока, лабораторные сотрудники, технический персонал, сотрудники, отвечающие за уборку и т.д.) как основам организации процесса в соответствии с Правилами надлежащих практик, так и непосредственно исполнению своих рабочих обязанностей, а также устанавливают требования к гигиене сотрудников, ношению специальной одежды и правилам посещения посторонними лицами.

## **Общие принципы организации помещений**

Главным принципом организации помещений должно быть соответствие проводимым операциям. Их расположение и конструкция должны сводить к минимуму риск ошибок и обеспечивать возможность эффективной очистки и обслуживания в целях исключения перекрестной контаминации, накопления пыли или грязи и любых неблагоприятных факторов для качества продукции (гл 3 Решения №77 ЕЭК).

Непосредственно в биобанке должны быть предусмотрены следующие зоны (или помещения):

1) приемки биологических объектов и биомедицинских клеточных продуктов;

Это помещение (или зона) должна обеспечивать поступление материала из других учреждений, и при этом предотвращать возможность проникновения бактериальной или вирусной контаминации в хранилища биобанка и производственные помещения (при наличии). В ней необходимо организовать зону доступа для курьеров из других биобанков, ЛПУ, учреждений-производителей БМКП

2) основного хранения биологических объектов и биомедицинских клеточных продуктов;

3) экспедиции;

( в этой зоне происходит подготовка, комплектация, маркировка выдаваемого образца, оформление документов).

4) хранения биологических объектов и биомедицинских клеточных продуктов, требующих специальных условий (например, в условиях криохранилища);

5) хранения выявленных фальсифицированных, недоброкачественных, контрафактных биомедицинских клеточных продуктов;

6) карантинного хранения биологических объектов и биомедицинских клеточных продуктов.

В эту зону помещаются все образцы, поступившие в биобанк до получения всех результатов исследований, выполняемых в рамках системы контроля качества

Режимы температуры, освещения и влажности должны соответствовать условиям хранения, указанным в нормативной документации поступающих на хранение материалов и обеспечивающих сохранность их свойств (часть IV, ст. 18 приказа МЗ РФ №842 от 20.10.2017).

Также должны быть предусмотрены дополнительные помещения – комнаты отдыха персонала, административные помещения, помещения для инженерно-технического персонала, помещения для уборочного инвентаря. Административно-бытовые помещения биобанков отделяются от помещений (зон) хранения. В помещениях для хранения и обработки биоматериала исключается хранение и прием пищи.

В том случае, если поступивший биоматериал нуждается в обработке перед биобанкированием, должны быть предусмотрены дополнительно:

- 1) Помещения для обработки биоматериала (в зависимости от вида сохраняемого материала)

- 2) Лаборатории контроля качества (если он не производится сторонними организациями)
- 3) Вспомогательные помещения (подготовки воды, хранения газов, серверные и т.д.)
- 4) Складские помещения для получения и хранения расходных материалов, организованные в соответствии с Good storage practice (GSP) (Таблица 1). Такие помещения должны быть:
  - достаточно вместительными для обеспечения упорядоченного (разделенного) хранения различных категорий материалов и продукции
  - - спроектированными и приспособленными для обеспечения надлежащих условий хранения
  - - чистыми, сухими, с необходимым освещением, вентиляцией, температурой и влажностью воздуха
  - - обеспеченными необходимым количеством стеллажей, шкафов, поддонов и подтоварников
  - - обеспеченными надежной защитой от хищений и случайного или злоумышленного загрязнения или заражения
  - - соответствовать действующим правилам хранения и обращения легковоспламеняющимися, токсическими и наркотическими веществами (при использовании таких в процессах обработки, криоконсервации и хранения)
  - - соответствовать требованиям безопасности, в том числе противопожарной
  - - обеспечивать защиту продукции в местах приемки и отгрузки от неблагоприятных погодных условий
  - Складские помещения должны иметь достаточную площадь и объем для упорядоченного хранения продукции в необходимом количестве, удобного и безопасного передвижения персонала, грузов, транспортных средств, а также обеспечивать простоту и легкость уборки

В помещениях для обработки биоматериала потоки входящего потенциально контаминированного материала для обработки, образцов для карантинного хранения, образцов для рекультивации, прошедших проверку и перемещенных из карантина в основное хранилища, а также лабораторных отходов должны быть разделены для исключения перекрестных контаминаций. Способ разделения, меры предотвращения контаминации определяются на основе анализа рисков.

Допуск в каждое помещение осуществляется согласно установленным уровням доступа. В помещения (зоны) для хранения биологических объектов и биомедицинских клеточных продуктов не допускаются лица, не имеющие права доступа, определенного стандартными операционными процедурами (часть IV ст 15 приказа №842 от 20.10.2017 Минздрава РФ).

## **Общие принципы ведения документации**

Документация учреждения включает в том числе документацию по хранению биологических объектов и биомедицинских клеточных продуктов в биобанках, описывающую действия, выполняемые субъектом биомедицинских клеточных продуктов. Данная документация включает в себя в том числе стандартные операционные процедуры, инструкции, договоры, отчеты (часть V приказа №842 от 20.10.2017 Минздрава РФ).

Главным принципом ведения документации (даже если процесс получения и хранения материала организован не в соответствии с требованиями ГОСТ Р 52249-2009) является обеспечение полной прослеживаемости всего процесса получения самого биоматериала и расходных материалов, необходимых для его приготовления. Именно такая прослеживаемость позволяет обеспечить должную работу системы контроля качества депонируемого биоматериала. Для обеспечения прослеживаемости необходима фиксация всех этапов получения образца, закладываемого на хранение, а также информации о расходных

материалах, условиях производства, данных по контролю качества банкируемого материала.

Прослеживаемость и минимизация человеческого фактора существенно облегчаются при использовании системы штрих-кодирования – код присваивается собственно поступившему биоматериалу и расходным материалам для его обработки/

При организации биобанка и подготовке биоматериала в соответствии с принципами GMP ведение документации осуществляется в соответствии с соответствующими нормативными документами ( Часть IV ГОСТ Р 52249-2009 и глава IV Решения №77 Совета Евразийского экономического союза). Поскольку они не требуют больших вложений и позволяют существенно улучшить систему контроля качества в биобанке, целесообразно рассмотреть возможность применения этих принципов при организации работы биобанка для научно-исследовательских целей.

Согласно принципам надлежащих практик (глава IV Решения №77 Совета Евразийского экономического союза), документация составляет неотъемлемую часть системы обеспечения качества и является ключевым элементом работы в соответствии с правилами надлежащих практик. В системе управления качеством производителя должны быть четко установлены различные виды используемой документации и носителей информации. Документация может существовать в различных формах, в том числе на бумажном, электронном или фотографическом носителе. Все документы на бумажном носителе заполняются с помощью средств, исключающих возможность удаления записи. Запрещены изменения с помощью корректирующих средств. Вносимые изменения заверяются подписью, по возможности указывается причина изменения и дата. Главной целью применяемой системы документации должно быть создание, управление, контроль и регистрация всей деятельности, которая может непосредственно или опосредовано влиять на все аспекты качества лекарственных препаратов.



Различают документы регламентирующие – инструкции (указания, требования) и регистрирующие – записи (отчеты). Необходимо применять соответствующую надлежащую практику документального оформления в зависимости от вида документа. Все требования к документации ВТЛП или БМКП (виды документации, правила оформления, сроки хранения и т.д.) описаны в соответствующих Правилах надлежащих практик (Часть IV ГОСТ Р 52249-2009 и глава IV Решения №77 Совета Евразийского экономического союза и Часть VIII Правил надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами). Эти правила должны учитываться и при организации системы биобанкирования в том случае, если хранимый биоматериал является полупродуктом при производстве препаратов для клинического применения

Согласно Правилам надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами (Часть VII) допускается ввод данных, их электронная обработка и выдача информации, используемой для документального оформления и (или) автоматического управления производственным процессом (процессами) или операцией (операциями). Однако ряд компонентов таких систем должны быть валидированы (ст. 115, 116 Часть VII Правил надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами)

## **Общие требования по документации к материалу, получаемому из другого биобанка**

Процедура приемки, заполняемые документы, требуемые документы при поступлении регламентируются внутренними Стандартными Операционными Протоколами (СОП) биобанка.

Поступающий на хранение из другого биобанка образец должен сопровождаться входными документами:

Договором, в котором стороны оговаривают условия хранения и использования материала (только хранение, коммерческое использование, использование в научных целях и т.д.)

Актом приемки-передачи между двумя организациями.

Паспорт образца, содержащий все данные, требуемые принимаемым учреждением

Данные выходного контроля службы контроля качества передающего учреждения

Протокол идентификации входящего образца – в этом образце фиксируются данные, которые можно определить, не нарушая стерильность образца

- Присвоенный ID образца
- дата и время поступления,
- наличие сопровождающей документации и ее полнота,
- сохранность упаковки
- соответствие режима транспортировки

соответствие внешнего вида, веса, числа образцов сопровождающей документации

наличие образцов для входящего контроля качества (например, контрольной криовialsы)

дата, время передачи проб в службу контроля качества

Акт приемки-передачи является документом, подтверждающим согласие принимающей стороны принять поступивший образец. Данный образец помещается в карантинное хранение до поступления данных входного контроля качества.

При несоответствии образца требованиям биобанка (отсутствие документации, контаминация бактериями или вирусами, нарушение упаковки, температурным режимом и т.д.), после согласования с передающей стороной, образец перемещается из карантина в зону хранения (или непосредственно из зоны приемки материала, если непригодность выявлена в момент приемки), помеченную «Возврат» («Брак»). Причина возврата фиксируется в соответствующих протоколах (протокол изъятия из карантина, протокол изменения локализации). По согласованию с передающей стороной образец может быть утилизирован в соответствии с правилами утилизации (см. раздел «Утилизация образца»). В этом случае документально фиксируется факт утилизации.

## **Общие требования к документации по донорскому материалу**

В этом случае процедура приемки, заполняемые документы, требуемые документы при поступлении так же регламентируются внутренними Стандартными Операционными Протоколами (СОП) биобанка.

Если поступающий донорский материал планируется для получения клеточных культур, предназначенных для производства биомедицинского клеточного продукта, то его получение возможно только от организаций, имеющих лицензию на медицинскую деятельность, на основании договора между такой организацией и производителем биомедицинских клеточных продуктов за счет указанного производителя.

Образец донорского материала, принимаемый биобанком на хранение или для получения культур клеток должен сопровождаться документами:

Договором, в котором стороны оговаривают условия хранения и использования материала (только хранение, коммерческое использование, использование в научных целях и т.д.)

Информированное согласие донора, на использование биоматериала. В согласии должно быть четко указано, какие именно разрешения дает

донор. В случае предполагаемого получения клеточной культуры, необходимо согласие донора на культивирование клеток. Желательно наличие информации о том, разрешает ли донор передачу материала третьим лицам и публикацию данных, полученных с использованием его биоматериала. В случае, если планируется последующее получение биомедицинского клеточного продукта, используется Информированное согласие, представленное в Приложении 1 Приказа Минздрава России от 11 августа 2017 года N 517н. В данном случае, согласно Федеральному закону №180 (ст.33, часть 3, пункт 1), донор предоставляет информированное добровольное согласие на безвозмездное предоставление своего биологического материала для производства биомедицинского клеточного продукта, в том числе в целях проведения доклинических исследований и (или) клинических исследований. В случае посмертного использования биоматериала для производства биомедицинского клеточного продукта, медицинская документация входящего материала должна содержать письменное согласие донора или его представителей, заверенное нотариально (Федеральный закон от 23.06.2016 N 180-ФЗ (ред. от 08.03.2022), ст.33, части 4, 5).

Если учреждение, в котором был получен биоматериал, передает персональные данные донора, необходимо согласие донора на обработку персональных данных в соответствии с Федеральным законом от 27.07.2006 N 152-ФЗ (ред. от 14.07.2022) "О персональных данных", статья 9.

Карта обследования донора. При использовании в исследовательских целях, объем информации должен соответствовать требованиям Биобанка. Для получения биомедицинского клеточного продукта список проведенных обследований и опросный лист донора определяются в Приказом Минздрава России от 27.03.2018 N 125н и соответствуют виду планируемого продукта, т.к список противопоказаний в Приказе для донорства различен для аутологичных и аллогенных клеточных продуктов.

Сопроводительная записка от учреждения, в котором осуществлялся забор материала, содержащая все данные, требуемые принимаемым учреждением. Данный документ должен содержать, как минимум, данные:

- ID биоматериала (присвоенный в месте забора, в случае деперсонализации донора) или иные данные, например, номер истории болезни или иные данные (при наличии соответствующих согласий на обработку персональных данных)
- Пол и возраст донора
- Вид биоматериала и место забора
- Клинический диагноз (основной и сопутствующие)
- Данные о специалисте проводившем забор и его подпись

Протокол идентификации входящего образца – в этом образце фиксируются данные, которые можно определить, не нарушая стерильность образца:

- Присвоенный ID образца
- дата и время поступления,
- наличие сопровождающей документации и ее полнота,
- сохранность упаковки
- соответствие режима транспортировки
- соответствие внешнего вида, веса, числа образцов сопровождающей документации
- наличие образцов для входящего контроля качества (например, контрольного образца или крови донора для входного контроля на наличие инфекций)
- дата, время передачи проб в службу контроля качества

Акт приемки-передачи является документом, подтверждающим согласие принимающей стороны принять поступивший образец. Данный образец помещается в карантинное хранение до поступления данных входного контроля качества.

При несоответствии образца требованиям биобанка (отсутствие документации, контаминация бактериями или вирусами, нарушение упаковки, температурным режимом и т.д.), после согласования с передающей стороной, образец перемещается из карантина в зону хранения (или непосредственно из зоны приемки материала, если непригодность выявлена в момент приемки), помеченную «Возврат» («Брак»). Причина возврата фиксируется в соответствующих протоколах (протокол изъятия из карантина, протокол изменения локализации). По согласованию с передающей стороной образец может быть утилизирован в соответствии с правилами утилизации (см. раздел «Утилизация образца»). В этом случае документально фиксируется факт утилизации.

## **Сырье для производства БМКП или клеточной культуры для биобанкирования**

Все поступающие реагенты и расходные материалы поступают на склад вне зависимости от срока хранения, где обрабатываются в соответствии с

Требования к регламентированы Правилами

К материалам для производства БМКП (за исключением транспортной тары) предъявляются следующие требования (Часть IX Правил надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами):

- а) отсутствие бактериальной и вирусной контаминации в материалах, включая лекарственные препараты, фармацевтические субстанции и медицинские изделия;
- б) отсутствие контаминации возбудителями трансмиссивной губчатой энцефалопатии;

- в) наличие разрешения для применения материалов к человеку (при наличии);
- г) документальное подтверждение идентичности, чистоты (включая микробиологическую), стерильности (для стерильных материалов) и содержания бактериальных эндотоксинов;
- д) отсутствие компонентов животного происхождения в материалах, которые не должны содержать такие компоненты;
- е) быть рекомбинантными или человеческого происхождения (при существовании возможности закупки таких материалов);
- ж) отсутствие антибиотиков (если их наличие не является необходимым и обосновано в технологическом регламенте производства).

Следует отметить, что эти же правила могут (и должны) быть применены при организации биобанкирования клеточных культур для научных исследований.

Соответствие перечисленным требованиям подтверждается:

1. Сопровождающей сырье документацией
2. В результате входного контроля поступивших материалов.  
Причем входному контролю подлежит каждая поступившая серия расходного материала

Все поступившие материалы в обязательном порядке маркируются этикетками с указанием наименования или кода материала, даты поступления, срока годности или сроке повторного контроля, производственном статусе (Карантин, Брак, Разрешено.). Пользователям со склада передается только продукция со статусом «Разрешено» (то есть после прохождения карантина, за время которого получают результаты входного контроля качества).

Для биологического материала допустимый срок хранения обычно меньше времени, необходимого для проведения всех процедур входного контроля. Поэтому для них сделано существенное исключение из общепринятых правил GMP лекарственных препаратов – согласно части X, ст. 204 Правил надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами «Биологические материалы, не подлежащие хранению, могут быть использованы для производства серии БМКП при нахождении в производственном статусе "Карантин" с одновременным проведением их входного контроля». Это очень важное исключение, в значительной степени отличающее производство клеточносодержащих продуктов от производства лекарственных препаратов, для которых использование в производстве сырья в статусе «Карантин» категорически запрещено. Именно поэтому предварительное обследование донора биоматериала (в соответствии с Приказом Минздрава России от 27.03.2018 N 125н) и соблюдение Надлежащей складской практики (Таблица 1) играют очень важную роль в обеспечении качества заготавливаемых клеточных культур и биоматериалов. Соблюдение этих требований снижает риск отбраковки получаемой клеточной культуры уже в процессе культивирования, что, во-первых, понижает риски более широкой контаминации производственной зоны, а во-вторых снижает расходы на культивирование.

Получаемый биологический материал для производства БМКП должен соответствовать требованиям Правил надлежащей практики (Часть IX). Однако биоматериал для получения клеточной линии для научного использования может не соответствовать этим требованиям, если это необходимо для научных целей. Например, он может быть инфицирован, может быть контаминирован микоплазмой в научных целях и т.д. В этом случае (как и в случае производства аутологических БМКП) допускается использование такого биоматериала при соблюдений соответствующих условий безопасности: 1. Работа с такими образцами проводится в специальных рабочих зонах для манипуляций с инфицированными материалами 2. Сотрудники должны быть осведомлены о контаминации материала. 3. Криоконсервированный материал хранится в отдельных



сосудах (дьюарах), предназначенных для хранения инфицированного материала.

## **Поступление биоматериала в биобанк**

Движение биоматериала для обработки предпочтительно отделить от движения прочего сырья в связи с его возможной контаминированностью. Первоначально биоматериал поступает в зону приемки биоматериала, где происходит проверка сопровождающих документов, обработка (очистка) тары, внесение данных о биоматериале в системы учета. Биологический материал должен подлежать отдельному учету. Далее биоматериал должен поступить в зону склада «Карантин». Способ маркировки тары (транспортного контейнера), в которой поступил биологический материал, включая вносимые при маркировке сведения о поступившем биологическом материале, должны определяться внутренней документацией. Факты повреждения тары (транспортного контейнера) и упаковки, другие отклонения от правил транспортировки, которые могут неблагоприятно повлиять на качество полученных материалов, должны быть зафиксированы документально и рассмотрены лицами, ответственными за получение материалов для производства БМКП или клеточной культуры, а информация о таких повреждениях тары и других отклонениях должна быть доведена до подразделений контроля качества и обеспечения качества.

В отличие от прочего сырья для производства или научно-исследовательского культивирования, биоматериал для обработки и получения первичной культуры клеток не может храниться до получения результатов всех исследований в рамках входного контроля качества. Поэтому биологические материалы, не подлежащие хранению, могут быть использованы для производства серии БМКП при нахождении в производственном статусе "Карантин" с одновременным проведением их входного контроля (ст. 204 Правил надлежащей практики по работе с БМКП).

Передача материалов для производства БМКП в технологические помещения должна осуществляться через материальные шлюзы или передаточные окна. Перемещение данных материалов (как и всего сырья) не должны пересекаться с потоками движения персонала и отходов производства. При банкировании в исследовательских целях соблюдение этих правил также позволяет снизить риски контаминации, ошибок идентификации материала и т.д.

## Обработка материала

Все процедуры обработки биоматериала и получения клеточных культур регламентируются внутренними СОП, учитывающими требования Правил надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами (Часть X):

Внутренней документацией должен быть определен порядок перемещения материалов для производства БМКП, промежуточных продуктов производства БМКП, БМКП, а также отходов производства через технологические зоны (ст. 210). Соответствующие схемы движения потоков разрабатываются еще на этапе проектирования помещения для биобанкинга и входят в проектную документацию.

В идеальной ситуации должны быть разделены работы с различными культурами клеток: первичное карантинное культивирование на ранних пассажах должно быть отделено от культивирования размороженных паспортизованных и прошедших контроль качества образцов. В производстве БМКП при производстве каждой новой серии готового продукта работа ведется только с материалами для этой серии. Допускается одновременное или последовательное проведение операций с различными биоматериалами в одном и том же помещении, если предприняты меры для исключения случайной подмены и перекрестной контаминации (ст.211). Несмотря на то, что это требование является обязательным только для производства БМКП, оно должно применяться и при культивировании в научно-исследовательских целях, т.к. перекрестная контаминация (например, микоплазмой) и случайная

подмена – частые причины артефактов при проведении исследований. Однако далеко не всегда в исследовательских биобанках есть возможность полностью разделить процессы культивирования разных образцов. В этом случае следует применять меры для снижения рисков кросс-контаминации:

- Обработка ламинара ультрафиолетом между сменами образцов (т.е. между разными культурами)
- Обработка внутреннего пространства центрифуг, шейкеров, инкубаторов, ламинаров по графику, установленному внутренними СОП.
- Использование одноразовой посуды для слива отходов (среда, раствор Версена и т.д.), сменяемой между сменами образцов. Отсутствие внутри ламинара постоянно открытой емкости для слива во время работы.
- Смена перчаток между разными культурами. Отсутствие открытых участков кожи оператора внутри ламинара – рекомендуется использование специальных браслетов, закрепляющих рукава спецодежды, нарукавников или удлиненных перчаток даже если речь идет о культивировании в исследовательских целях. При производстве ВТЛП или БМКП требования к спецодежде должны соответствовать требованиям надлежащих практик.
- Соблюдение правил ношения специальной одежды, установленный в учреждении и соответствующий классу чистоты, в котором производятся работы.
- И т.д. – в каждой организации список мер может различаться на основе анализа рисков, учитывающих особенности конкретного процесса и конкретного учреждения

Согласно ст. 218 Правил организацией должна быть проведена оценка риска перекрестной контаминации, возникающей в результате неконтролируемого распространения пыли, газов, аэрозолей, генетического материала, микроорганизмов или живых клеток от других

материалов и продуктов производства в процессе их обработки, с одежды и тела операторов. Также необходимо провести оценку рисков контаминации аутологических материалов донорскими и контаминации неинфицированных материалов донорским материалом от инфицированных пациентов.

Более детально меры технические и организационные меры по предотвращению перекрестной контаминации описаны в ст. 222, 223 Правил надлежащей практики:

Технические меры:

- а) организация выделенных производств (помещений и оборудования);
- б) организация автономных производственных площадей, имеющих отдельное технологическое оборудование и отдельные, в том числе автономные, системы вентиляции и кондиционирования воздуха, изоляцию отдельных инженерных систем, используемых в различных зонах;
- в) особенности технологического процесса, помещений и оборудования, позволяющие свести к минимуму возможность перекрестной контаминации в процессе их эксплуатации, технического обслуживания и очистки;
- г) использование закрытых систем для обработки и передачи материала и продуктов производства;
- д) использование изоляторных устройств;
- е) использование одноразовых материалов;
- ж) использование воздушных шлюзов и перепадов давлений для локализации потенциального содержащегося в воздухе контаминанта в пределах определенного помещения (рабочей зоны);

з) сведение к минимуму риска загрязнения, вызванного рециркуляцией или повторным использованием неочищенного или недостаточно очищенного воздуха;

и) использование систем автоматической очистки с валидированной результативностью.

Организационные меры:

а) выделение производства или автономных производственных площадей на основе производственных периодов (выделение с разделением во времени) с их последующей очисткой в соответствии с валидированными процедурами очистки;

б) хранение специальной защитной одежды внутри рабочих зон, в которых производятся БМКП с высоким риском перекрестной контаминации;

в) верификация очистки после производства каждого вида БМКП;

г) специальные меры по обращению с отходами производства БМКП, загрязненными промывными водами и загрязненной одеждой;

д) разработка процессов очистки для помещений и оборудования, которые не несут риска перекрестной контаминации;

е) разработку форм записей (протоколов), заполняемых при проведении очистки, для контроля соответствия выполненных процедур утвержденному руководителем организации порядку проведения очистки и маркирования оборудования и производственных зон этикетками с информацией о статусе очистки;

ж) использование общих рабочих зон очистки по принципу производственных периодов с разделением по времени;

з) надзор за соответствием действий персонала требованиям Правил.

Валидация процессов очистки производится согласно внутренним СОП учреждения

Для качественной работы всего оборудования, вовлеченного в процесс обработки, контроля качества и криоконсервации необходимо уделять внимание процессам обеспечения качества (поддержание приборов в должном состоянии, своевременная их поверка и сертификация, контроль обучения персонала и т.д.)

## **Криоконсервация**

При организации помещения для криоконсервации необходимо учитывать, что в данном случае речь идет о работе с жидким азотом, что предъявляет дополнительные требования к помещению и персоналу с точки зрения техники безопасности (Приказ Минтруда России от 27.11.2020 N 834н "Об утверждении Правил по охране труда при использовании отдельных видов химических веществ и материалов, при химической чистке, стирке, обеззараживании и дезактивации", часть XIV; ГОСТ 9293-74. Межгосударственный стандарт. Азот газообразный и жидкий. Технические условия, Глава 6). Помещения хранилища должны располагаться на первом или в цокольном этаже и быть оснащены приточно-вытяжной вентиляцией. В помещениях криохранилища обязателен контроль содержания кислорода с помощью датчиков. Концентрация кислорода не должна опускаться ниже 19%. Персонал должен пройти соответствующее обучение и инструктаж по технике безопасности.

Требования к криоконсервации и хранению культур клеток в банке описаны в Решении №77 Совета Евразийского экономического союза (для высокотехнологичных лекарственных препаратов, ВТЛП) и в «Правилах надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами», если рассматривать клеточные культуры как БМКП или сырьё для БМКП, а также в Общей фармакопейной статье "Требования к клеточным культурам - субстратам производства иммунобиологических лекарственных препаратов. ОФС.1.7.2.0011.15"

("Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. Том II") "Об утверждении Правил надлежащей производственной практики". Однако большинство этих правил направлены на предотвращение контаминации, минимизацию рисков ошибочной идентификации образца, снижение влияния человеческого фактора. Поэтому имеет смысл на них ориентироваться и при организации научно-исследовательских биобанков, в частности банков клеточных культур.

Согласно Пункту 5 подраздела В10 «Лекарственные препараты терапии соматическими клетками и лекарственные препараты тканевой инженерии» Части В Приложения 2 Решения №77 Совета Евразийского экономического союза устанавливается следующее требование к процессу криоконсервации:

Должное внимание следует уделять специфическим требованиям для всех стадий криоконсервации (например, скорости изменения температур во время замораживания и размораживания). Тип камеры хранения, способы размещения материалов и процессы извлечения должны сводить к минимуму риск перекрестной контаминации, обеспечивать качество лекарственных препаратов и способствовать их правильному извлечению. Для обеспечения безопасности работы с лекарственными препаратами, в состав которых входят позитивные серологические маркеры, а также для хранения этих лекарственных препаратов должны использоваться процедуры, принятые в форме письменного документа.»

К поддержанию банка и хранению культур клеток согласно подразделу 18.2 «Поддержание банка клеток и ведение записей» Раздела 18 «Специальное руководство по АФС, производимым путем культивирования клеток или ферментации» Части II «Основные требования к активным фармацевтическим субстанциям, используемым в качестве исходных материалов» предъявляются следующие требования:

- Доступ к банкам клеток должен быть разрешен только лицам, имеющим на это полномочия.

- Банки клеток должны храниться в условиях, специально предназначенных для обеспечения поддержания жизнеспособности клеток и предотвращения контаминации.
- Следует вести и сохранять записи использования и условий хранения флаконов из банков клеток.
- При необходимости банки клеток следует периодически проверять с целью определения их пригодности для использования.
- Более подробная информация, касающаяся поддержания банков клеток установлена соответствующими положениями законодательства государств-членов.

Основное помещение криохранилища располагается в подвальном помещении или на цокольном этаже, доступ в него должен быть авторизован. Криохранилище следует разделять на основное и карантинное хранение, которое может представлять собой отдельные сосуды Дьюара или отдельные помещения. В карантинном хранении временно находятся культуры, полное обследование которых на инфекционные агенты ещё не завершено. Также в карантин могут помещаться контаминированные образцы до принятия решения об их утилизации или для дальнейшего хранения в зависимости от цели. После завершения лабораторных исследований, посвященных контролю качества биоматериала и клеточной культуры, которая была из него получена, криопробирки с клетками следует переместить в сосуд Дьюара основного хранилища. В основном хранилище следует обеспечить условия для раздельного хранения биоматериалов, прошедших и не прошедших контроль на присутствие инфекционных агентов или антител к ним.

Удобно разделять криобанк на основной (или мастер-банк) и рабочий банк. Следует отметить, что для клеток, используемых для производства вакцин и антител, данное требование является обязательным ОФС.1.7.2.0011.15. Основной и рабочий банки представляют собой полностью обследованные замороженные образцы одной и той же



культуры, но рабочий банк – это те образцы, которые периодически размораживают для контроля качества хранения данной культуры. Часть, сохраняемая в мастер-банке, используется для пополнения рабочего банка и выполнения процедур контроля качества (например, сверка образцов одной культуры мастер-банка и рабочего по генетическим маркерам)

Решение о криоконсервации применяется на основании оценки состояния культуры (например, конфлюэнтности, внешнего вида клеток и т.д.) и производственной необходимости. Подготовка к криоконсервации клеточной культуры проводится в ламинарном боксе в асептических условиях. В случае, если культура является сырьём для биомедицинского клеточного продукта, то ламинарный бокс класса защиты А должен находиться в помещении класса чистоты В или подготовка должна проводиться в изоляторе соответствующего класса чистоты. При использовании изоляторных технологий работы допускается проводить в помещениях класс чистоты С и ниже. Процесс подготовки культуры и криоконсервации осуществляется согласно принятой в учреждении нормативной документации – СОП, соответствующих действующему законодательству. На криопробирку рекомендуется поместить следующую информацию для идентификации:

- - ID образца в виде номера и/или индивидуального штрихкода; и/или индивидуальное название культуры
- - число пассажей
- - количество клеток
- - дата криоконсервации

Маркировка должна быть устойчива к длительному хранению при низких температурах в диапазоне от – 80 до – 196°С .

Информацию об образце культуры и замораживании также необходимо внести в бумажный протокол криоконсервации для помещения его в

досье культуры и в электронном виде для возможности быстрого доступа к данной информации.

Важной информацией, которую рекомендуется отразить в протоколе, является:

- - информация о замораживаемой культуре (ID, пассаж, количество клеток и количество криоампул или криопакетов, их объем)
- - дата проведения криоконсервации
- - среда для замораживания
- - программа, по которой осуществлялся процесс замораживания в жидком азоте (при производстве БМКП или ВТЛП при программном замораживании обязательным является наличие температурного протокола замораживания, для остальных образцов наличие графика температурного режима является желательным)
- - адрес криопробирок в хранилище с указанием номера сосуда Дьюара, стойки, полки и ячейки хранения
- - ФИО оператора, осуществлявшего подготовку культуры
- - ФИО оператора, осуществлявшего процесс программного замораживания
- Подпись лица, руководящего сменой или подразделением

Культуры, которые в дальнейшем будут использованы в качестве сырья для биомедицинского клеточного продукта, следует транспортировать к программному замораживателю в дополнительной упаковке, предохраняющей от потенциальной контаминации. Криопробирки после загрузки в них криосреды, содержащей клетки, и после нанесения информации для идентификации можно запаковать в упаковку типа криотрубка «CryoFlex», запаять, поместить в контейнер для транспортировки, сохраняющий температуру +4 (содержащий хладагенты), и переместить в помещение для криоконсервации. Класс

чистоты криохранилища, где находится программный замораживатель, не регламентировано.

## Система контроля качества

При биобанкировании как для исследовательских целей, так и для производства контроль качества должен осуществляться на всех этапах процесса, так как конечный продукт не может быть оценен полностью, о его свойствах мы можем судить только по свойствам аликвоты, взятой для исследования. Более того, даже если в биобанке хранится полностью паспортизованная и исследованная культура при рекультивировании после криоконсервации в клеточной культуре возможны изменения: перестройки генетического материала, эпигенетические изменения, перестройки функциональных процессов клетки. Многие культуры клеток очень чувствительны к составу и качеству компонентов культивирования. Даже смена лота фетальной сыворотки или бессывороточной среды может вызвать изменение свойств клеток. Поэтому контроль качества и стандартизация процессов культивирования – один из важнейших этапов биобанкирования.

Контроль качества включает в себя три этапа:

- Входной контроль качества (при поступлении всех материалов для культивирования)
- Контроль качества в процессе производства (в процессе культивирования клеточных линий и подготовки БМКП или ВТЛП)
- Выходной контроль качества (перед передачей образца Заказчику или выпуском готовой серии БМКП)

При проведении испытаний должны использоваться валидированные в соответствии с Частью XII Правил надлежащей практики по работе с БМКП.

Учитывая большой объем исследований, работы с документами в биобанках ориентированных на высокие стандарты качества, целесообразно создание отделение контроля качества, в которое входят, в том, числе и лаборатории, выполняющие исследования в рамках контроля качества. Помимо отбора проб, выполнения необходимых исследований в ходе промежуточного контроля, данный отдел занимается также входным контролем всех поступающих материалов, организацией и контролем исследований, выполняемых внешними организациями, контролем за соблюдением условий помещений, подготовку к аттестации, подготовку претензий к поставщикам (некачественное сырье, истекший срок годности, нарушение сроков поставки и т.д.). Дискуссионным является вопрос о том, кто осуществляет забор проб для проведения контроля качества клеточных культур – сотрудник отдела контроля качества или сотрудник производственной зоны (или лаборатории культивирования клеток биобанка). В большинстве случаев отбор проб требует соответствующих навыков, оформление допуска для работы в производственной зоне. Поэтому при отборе проб клеточных культур допустимо выполнение этих операций сотрудниками производственной зоны (или лаборатории культивирования биобанка). Некоторые процедура контроля качества выполняются сотрудниками производственной зоны и являются элементом процедуры культивирования клеток (например, морфологический контроль методами световой микроскопии).

Список контролируемых параметров клеточной культуры определяется внутренней документацией (СОП) учреждения и его спецификацией.

Ниже приведен один вариантов набора параметров, входящих в комплекс мер по контролю качества клеточной культуры

1. Морфологический контроль (соответствие формы, характера роста колоний, скорости пролиферации параметрам данной культуры)

2. Цитогенетический анализ (отсутствие хромосомных перестроек по сравнению с входящим образцом, наличие маркерных для данной линии локусов и т.д.).
3. Генетическая идентификация биоматериала, позволяющая однозначно его идентифицировать путем сличения с информацией о генетической идентификации при входном контроле поступающего образца (например, STR-профилирование)
4. Подтверждение специфических свойств линии, которое может выполняться различными способами:
  - a. Проточная цитометрия (если речь идет о специфическом наборе поверхностных маркеров)
  - b. ПЦР (для подтверждения наличия маркерного участка или гена интереса)
  - c. Флюоресцентная гибридизация *in situ* (подтверждение локализации и/или наличия участка интереса).
  - d. qPCR (подтверждение активности специфических генов).
  - e. Специфические тесты (способность к определенным типам дифференцировки, тератомный тест, способность формировать определенные структуры на определенных подложках, отвечать на специфические стимулы и т.д.)
  - f. Иммуноферментный анализ и иммуноблоттинг для подтверждения присутствия специфических белков
5. Определение жизнеспособности и количества клеток в определенном объеме (например при поступлении, перед криоконсервацией, перед выдачей Заказчику и т.д.)
6. Тесты на контаминацию инфекционными агентами (набор различен в зависимости от конечной цели культивирования)
7. Подтверждение отсутствия бактериальной контаминации (включая контаминацию микоплазмами)
8. Генетическая идентификация образца

Ряд из этих методик (цитогенетический анализ, тест на туморогенность и онкогенность) подробно описаны в ОФС.1.7.2.0011.15. Общая

фармакопейная статья. Требования к клеточным культурам - субстратам производства биологических лекарственных препаратов" (Таблица 1). Формально эти методики предназначены для культур клеток, используемых для производства иммунобиологических препаратов. Однако, за неимением (пока что) фармакопейных статей для других категорий клеточных культур, методы из этой фармакопейной статьи могут быть взяты за основу при разработке процедур контроля качества.

Для проведения испытаний на стерильность клеточных линий для иммунобиологических препаратов и ВТЛП можно руководствоваться ОФС.1.2.4.0003.15 «Стерильность», предназначенной для испытания на стерильность различных лекарственных средств (ЛС) — препаратов для инъекций, инфузий, глазных капель, пленок, фармацевтических субстанций и вспомогательных веществ, включая биологические лекарственные препараты и их растворители, которые в соответствии с нормативной документацией или фармакопейными статьями должны быть стерильными. Для БМКП и культур для исследовательских целей специальные регламентирующие документы для испытаний на стерильность не разработаны, поэтому допустимо использовать данную фармакопейную статью.

В ГФ XIV (ОФС.1.7.2.0031.15 “Испытание на присутствие микоплазм”), Европейской Фармакопее (раздел 2.6.7.) и Фармакопее США (раздел 63) описаны методы детекции микоплазмы: микробиологический (культуральный) и цитохимический. Регулятором предложены методы детекции микоплазм, основанные на использовании полимеразной цепной реакции (ПЦР) (Чапленко и др., 2019), однако пока этот метод не является фармакопейным ни у нас, ни за рубежом.

## **Паспортизация материала при биобанкировании**

Паспорт клеточной культуры – неотъемлемая принадлежность исследованной клеточной культуры, прошедшей надлежащий контроль качества и охарактеризованной в достаточной для исследователя или производителя степени. Однако законодательно структура паспорта

клеточной культуры определена только для клеточных культур, используемых в производстве иммунобиологических препаратов. Для остальных видов клеточных культур единые стандарты еще только предстоит выработать. Согласно ОФС.1.7.2.0011.15 для клеточных культур, используемых в производстве иммунобиологических препаратов результаты, полученные при изучении и аттестации главных (мастер-) и рабочих банков клеток, оформляют в виде паспорта и передают для рассмотрения вместе с протоколами исследований и материалами по контролю и аттестации в установленном порядке. В паспорте должны быть отражены следующие показатели:

1. Наименование клеточной культуры;
2. Коллекционный шифр;
3. История получения (происхождение) клеточной культуры и создания главного и рабочего банков;
4. Запас клеток (количество сохраняемых контейнеров в банках клеток, количество клеток в емкости);
5. Номер пассажа и дата закладки клеток на хранение;
6. Условия криоконсервации, режим хранения и жизнеспособность клеток после размораживания;
7. Ростовые свойства (способ культивирования, питательная среда, посевная концентрация, метод снятия клеток, кратность посева, температура культивирования, частота пассирования);
8. Подлинность (морфология, кариологическая характеристика, молекулярно-генетические методы исследования);
9. Стерильность (отсутствие микробных агентов, в том числе микоплазм);
10. Присутствие посторонних вирусов, в том числе эндогенных;

11. Туморогенность (если применимо);
12. Онкогенность (если применимо);
13. Стабильность биологических свойств (количество рекомендованных для производства пассажей);
14. Сфера применения, чувствительность к производственному штамму вируса.

Для культур, предназначенных для научно исследовательских целей или производства БМКП этот паспорт может быть расширен. Структура и содержание паспорта для этих категорий банкируемых культур определяются внутренними банка клеточных культур. В будущем паспорт клеточной культуры, конечно, должен быть унифицирован.

### **Утилизация образца**

В процессе обработки, культивирования, криоконсервации может возникнуть необходимость утилизации образца по различным причинам (отказ владельца клеток от хранения, несоответствие образца стандартам качества, отсутствие необходимости в данном образце и т.д.).

Процесс утилизации происходит в соответствии с внутренними стандартами банка, описанными в СОП. Решение об утилизации принимает комиссия, в которую обязательно входят руководитель службы контроля качества, руководитель подразделения криогенного хранения (если образец был криоконсервирован) и/или руководитель подразделения, ведущего обработку и культивирование. При утилизации составляется акт об утилизации с обязательным указанием ID, вида и количества утилизируемого образца. Также обязательным является указание причин утилизации



## Заключение

В связи с развитием регенеративной медицины, биотехнологий и фундаментальной науки, в России возрастает потребность в создании банков клеточных культур, способных обеспечить исследователей и производителей образцами клеточных культур надлежащего качества. Постепенно создается законодательная база, однако, процесс еще далек от завершения: предстоит выработать единые межотраслевые стандарты, регламентирующие каждый этап биобанкирования. Необходимо урегулировать правовое положение коллекций клеточных культур. Одной из основных целей урегулирования правовых вопросов является создание национальной коллекции типовых клеточных культур.