ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

"ИНСТИТУТ ЭКОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ МИКРООРГАНИЗМОВ УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК" - ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ПЕРМСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ЦЕНТРА УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ("ИЭГМ УрО РАН")

УДК 579 № госрегистрации АААА-А17-117111420122-1 Инв. №	УТВЕРЖДАЮ директор «ИЭГМ УрО РАН», доктор медицинских наук, профессор, члкорр. РАН
	В.А. Демаков
	« <u>19</u> » <u>декабря</u> 2017 г.
ОТЧЕТ О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТ Программа фундаментальных государственных академий на ИНВЕНТАРИЗАЦИЯ И РАЗВИТИЕ РЕГИС КОЛЛЕКЦИИ АЛКАНОТРОФНЫХ МИКРООР И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКО (заключител Номер проекта в ИСГЗ ФА	ТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ научных исследований аук на 2013–2020 годы ОНАЛЬНОЙ ПРОФИЛИРОВАННОЙ ГАНИЗМОВ ОБЩЕБИОЛОГИЧЕСКОГО ОГО НАЗНАЧЕНИЯ
Научный руководитель доктор биологических наук, профессор, академик подпись,	дата И.Б. Ившина

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель темы,		ИГ И (
д-р биол. наук, проф., академик	подпись, дата	И.Б. Ившина (введение, раздел 1 – 4, заключение)
Исполнители темы		
вед. н. с., д-р биол. наук		М.С. Куюкина (раздел 1 – 4,заключение)
	подпись, дата	,
с. н. с., канд. биол. наук		А.В. Криворучко (раздел 2)
	подпись, дата	
н. с., канд. биол. наук		Е.В. Тарасова (раздел 4)
	подпись, дата	
н. с., канд. биол. наук		А.А. Елькин (раздел 4)
	подпись, дата	
вед. инженер		М.И. Рычкова (раздел 4)
	подпись, дата	
вед. инженер		Л.А. Алфимова (раздел 4)
	подпись, дата	
Инженер		К.М. Черемных (раздел 4)
-	подпись, дата	
Лаборант		С.В. Ерохина (раздел 4)
	подпись, дата	
Нормоконтролер —		— Е.А. Суханова
110p.nonon1ponop	подпись, дата	L.I. Cynanoba

РЕФЕРАТ

Отчет 109 с., 1 ч., 4 рис., 18 табл., 23 источника, 5 прил.

МИКРОБНЫЕ КОЛЛЕКЦИИ ОБЩЕБИОЛОГИЧЕСКОГО И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ, СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА, ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ВЕРИФИКАЦИЯ, ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ, УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИЕ БАКТЕРИИ, БИОДЕСТРУКТОРЫ

Объект исследования – биоресурсная коллекция «Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов общебиологического и биотехнологического назначения». Цель работы – поддержание и развитие биоресурсной коллекции «Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов общебиологического и биотехнологического назначения»: инвентаризация, разработка технологического паспорта. Разработан технологический паспорт «Региональной профилированной алканотрофных микроорганизмов общебиологического и биотехнологического назначения (РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН)», включающий: (а) описание ключевых стандартных операционных процедур (СОП), обеспечивающих развитие и поддержание коллекционного фонда; (б) научно-техническое обоснование смет выполнения СОП. Технологический паспорт размещен на интернет-сайте коллекции (http://iegm.ru/lab/iegmcol/passport/). Проведена экспериментальная верификация на 30 штаммах стандартных операционных процедур для поддержания единиц хранения (СОП по криоконсервации коллекционных культур, СОП по лиофилизации коллекционных культур), контроля качества единиц хранения (СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда, СОП по контролю качества поддерживаемого фонда) и СОП для коррекции нарушений качества единиц хранения поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий. Проведена экспериментальная верификация на 94 штаммах методов расширения (5 методик) и характеризации единиц хранения (7 методик). Результаты верификации СОПов и методик записаны в электронной базе данных РМКАМОБН ИЭГМ УрО РАН. Электронный каталог коллекции пополнен информацией о 410 штаммах, охарактеризованных согласно СОП РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН. Опубликованы 2 статьи в рецензируемых журналах (Scopus/WoS) и 1 глава в коллективной монографии (Elsevier, Scopus/WoS), подготовленные на основе материалов коллекции. Технологический паспорт и результаты верификации размещены на интернет-сайте РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН с указанием на номер заключенного с ФАНО России соглашения на выполнение дополнительного государственного задания. В дальнейшем планируются работы по поддержанию коллекции, расширению фонда и оказанию услуг пользователям коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН.

СОДЕРЖАНИЕ

Ооозначения и сокращения	1
Введение	9
Основная часть	
1 Общая информация о коллекции	14
2 Краткая информация о проделанной работе в рамках дополнительного	
госзадания	15
3 Регистрация в государственных информационных системах и	
финансирование	17
4 Результаты, полученные в рамках дополнительного госзадания	17
Заключение	24
Список использованных источников	26
Приложение А. Стандартные операционные процедуры, обеспечивающие	
развитие и поддержание коллекционного фонда Региональной профилированной	
коллекции алканотрофных микроорганизмов	28
А. 1 Стандартная операционная процедура по проверке качества	
(аутентичности) поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий из	
Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов	28
А. 2 Стандартная операционная процедура по лиофилизации культур	
алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции	
алканотрофных микроорганизмов	36
А. 3 Стандартная операционная процедура по криоконсервации культур	
алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции	
алканотрофных микроорганизмов	38
А. 4 Стандартная операционная процедура по контролю качества	
поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий из Региональной	
профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов	40
А. 5 Стандартная операционная процедура по коррекции нарушений	
качества поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий из	
Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов	42
Приложение Б. Результаты экспериментальной верификации стандартных	
операционных процедур (СОП)	44
Б. 1 Верификация СОП по проверке качества (аутентичности)	
поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий из Региональной	
профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов	44

Б. 2 Верификация COII по лиофилизации культур алканотрофных	
актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных	
микроорганизмов	57
Б. 3 Верификация СОП по криоконсервации культур алканотрофных	
актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных	
микроорганизмов	62
Б. 4 Верификация СОП по контролю качества поддерживаемого фонда	
алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции	
алканотрофных микроорганизмов	68
Б. 5 Верификация СОП по коррекции нарушений качества	
поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий из Региональной	
профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов	86
Приложение В. Результаты экспериментальной верификации методик	88
В. 1 Верификация методики селективного выделения	
углеводородокисляющих актинобактерий из природных образцов	88
В. 2 Верификация методики прямой ПЦР-детекции экологически	
значимых видов родококков в нефтезагрязненной почве	89
В. 3 Верификация методики иммунофлуоресцентного анализа природных	
образцов с помощью видоспецифичных поливалентных иммунных сывороток	90
В. 4 Верификация методики получения поликлональных иммунных	
сывороток против актинобактерий	91
В. 5 Верификация методики хемотаксономического анализа чистых	
культур актинобактерий	92
В. 6 Верификация методики определения адгезивной активности клеток	
актинобактерий в отношении гидрофобных субстратов	94
В. 7 Верификация методики определения термодинамических показателей	
адгезии актинобактерий к углеводородам	95
В. 8 Верификация методики определения сульфидокисляющей активности	
актинобактерий	96
В. 9 Верификация методики получения закрепленных в криогеле	
поливинилового спирта клеток актинобактерий	97
В. 10 Верификация методики спектрофотометрического определения	
жизнеспособности иммобилизованных в криогеле клеток родококков	98
В. 11 Верификация методики получения адсорбированных на	
органических носителях клеток актинобактерий	99

В.	12	Верификация	методики	определения	коэффициента	
комплексообр	разова	ния ионов металл	юв с <i>Rhodoco</i>	occus-биосурфак	гантами	100
Приложение	Д.	Сведения о к	оллекционнь	іх штаммах а	актинобактерий,	
информация	о ко	оторых добавлен	на в электр	онный каталог	Региональной	
профилирова	нной і	коллекции алкано	трофных мин	сроорганизмов		101
Приложение	Γ.	Библиографическ	кий список	публикаций,	полученных в	
результате вы	полне	ения научно-иссле	едовательско	й работы		106

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

БРЦ – биологический ресурсный центр

ДАПК – диаминопимелиновая кислота

ИЭГМ УрО РАН – Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения

Российской академии наук

 $O\Pi$ – оптическая плотность

РПКАМОБН – Региональная профилированная коллекция алканотрофных

микроорганизмов общебиологического и биотехнологического назначения

Российской академии наук

СОП – стандартная операционная процедура

УНУ – уникальная научная установка

ЦКП – центр коллективного пользования

A.-Arthrobacter

B. – Bacillus

B.-Brevibacterium

BCCM – Belgian Coordinated Collections of Microorganisms

C. – Clavibacter

C. – Corynebacterium

C. – Curtobacterium

CBMAI – Brazilian Collection of Microorganisms from the Environment and Industry

CBS – Centraalbureau voor Schimmelcultures

CCBAU - Culture Collection of Beijing Agriculture University

CECT – Coleccion Espanoda de Cultivos Tipo

CGMCC – China General Microbiological Culture Collection Center

CRBIP – Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Pasteur

D. - Dietzia

DSMZ – German Collection of Microorganisms and Cell Cultures

G.-Glutamicibacter

G. – Gordonia

JCM – Japan Collection of Microorganisms

K. – Kocuria

KCM – Korean Culture Center of Microorganisms

M. – Microbacterium

M. – Micrococcus

MAA – Material Acquisition Agreement (договор о приобретении/присоединении материала)

MAT – Mutually Agreed Terms (взаимосогласованные условия)

mBRC – Microbial domain Biological Resource Centers

OECD – Organisation for Economic Co-operation and Development

P.-Pa en arthrobacter

P. – Paeniglutamicibacter

PIC – Prior Informed Consent (предварительное обоснованное согласие)

R.-Rhodococcus

 $^{\rm T}-$ типовой штамм

T.-Terrabacter

W. – Williamsia

ВВЕДЕНИЕ

Проект направлен на решение проблемы развития и сохранения биоресурсной коллекции «Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов общебиологического и биотехнологического профиля» в рамках направления № 52 Биологическое разнообразие Программы фундаментальных научных исследований ГАН на 2013-2020 гг. Основное направление исследований в рамках указанной проблемы составит изучение особенностей биологии актинобактерий экологически значимых таксонов, поддерживаемых в Коллекции, и их потенциала для биотехнологии защиты окружающей среды и медицины. Поставленная проблема предполагает решение конкретных задач, направленных на расширение функциональных возможностей и качественное улучшение характеристик Коллекции до уровня, соответствующего мировому по масштабу, сложности и качеству проводимых научных исследований и обеспечивающего ведущую роль биоресурсных коллекций в национальной и мировой системах фундаментальных и прикладных исследований, в повышении их конкурентоспособности, обеспечение эффективного функционирования Коллекции, способствующего развитию организации – Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН. В частности, предусматривает создание Технологического паспорта «Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов общебиологического и биотехнологического назначения», размещение его на сайте Коллекции, а также экспериментальную верификацию стандартных операционных процедур (СОП) и методов характеризации поддерживаемых штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов. Для верификации оригинальных авторских методик планируется проведение междисциплинарных исследований в области экологической микробиологии, биофизики и биохимии, молекулярной генетики и биоинформатики. Биохимические и молекулярногенетические исследования нацелены на идентификацию новых потенциально-значимых генов выбранных коллекционных штаммов и анализ их экспрессии.

В настоящее время предметом широких международных инициатив [1–5] являются микроорганизмы, которые связаны с деятельностью человека и участвуют в восстановлении затронутых этой деятельностью экосистем. Микробные генетические ресурсы становятся объектом интеллектуальной собственности, ресурсной базой для развития биоиндустрии, по своей потенциальной важности, не уступающей минеральной ресурсной базе.

Один из эффективных способов изучения и сохранения микроорганизмов — поддержание их в лабораторных резервациях. Микробные коллекции как идеальные объекты изыскания новых процессов, биодеструкторов ксенобиотиков и продуцентов новых биоактивных соединений и как носители ценной биологической информации — это, по сути,

инвестиции в будущее, которые могут изменить мир. На фоне стремительного развития прикладных разделов микробиологической науки, превращающейся сейчас в развитых странах мира в высокоприбыльный сектор биоэкономики с миллиардными показателями оборотов, депозитарии микроорганизмов и коллекционное дело приобретают всё большую значимость и реальную стоимость [6–13].

Во многих государствах мира с целью создания условий для конкурентоспособного развития национальных экономик предпринимаются меры по укреплению и пополнению традиционных догеномных *ex situ* коллекций микробных культур и развитию их информационных банков. В течение последнего десятилетия на их основе идет интенсивное формирование Центров микробиологических ресурсов (Microbial domain Biological Resource Centers sensu OECD, mBRC) – современных хранилищ и провайдеров высококачественного биологического материала, экспертных знаний и соответствующего профессионального опыта [3, 14–16]. Этот переход (от термина "коллекции культур" к терминам "биологические ресурсные центры" и "микробные биобанки") отражает эволюцию депозитариев микробного материала и их возрастающую социально-экономическую роль вслед за научно-техническим прогрессом и под давлением событий, происходящих в социально-экономической, правовой и политических сферах [17].

Сегодня микробные коллекции развиваются (про- или реактивно) от провайдеров микробного материала для научного подразделения до провайдеров ресурсов для общества в целом [18]. Активно идет формирование национальных коллекционных фондов не только для обеспечения потребностей исследовательских и промышленных организаций, но и гарантии биобезопасности использования их в промышленности, для защиты прав интеллектуальной собственности на биотехнологически ценные штаммы и контроля над их распространением.

При этом предпочтение отдается развитию специализированных коллекций (коллекции при учреждениях, академические), взаимодействующим по единым правилам, отвечающим потребностям квалифицированных пользователей и предназначенным для изучения и сохранения микроорганизмов конкретных таксономических групп, выделенных из природных экосистем и обладающих потенциально ценными свойствами. Специфика таких коллекций в том, что они являются не только высокотехнологичными центрами сбора и хранения микробных культур, не только накапливают каталожную информацию о коллекционных штаммах, но и полную, всеобъемлющую информацию по их свойствам, перспективам использования, включая правовые консультации для пользователей по вопросам защиты интеллектуальной собственности на ценные штаммы, а также качественные услуги по проведению исследований и разработок в сфере наук о жизни.

Крупные сервисные коллекции широкого профиля не могут по ряду причин обеспечить все это, в принципе. Возрастание потока биотехнологически ценных культур за счет применения оригинальных методов селективного выделения микроорганизмов из природных сообществ в сочетании с современными методами идентификации, а также выявление и введение в культуру ранее неизвестных микроорганизмов, обитающих в природе, способствуют разрастанию объемов коллекционных фондов и накапливающейся о них информации, что накладывает определенные ограничения на эффективность коллекционной работы. Не случайно образование универсальных многопрофильных коллекций-гигантов во всем мире затормозилось. Массовое развитие получает сеть специализированных коллекций микробных культур.

Сегодня такие коллекции в смысле особой их позиции в обеспечении полной охарактеризованности штаммов рассматриваются как коллекции нового поколения, реформируемые в современные многофункциональные Биологические ресурсные центры (БРЦ). В соответствии с требованиями времени, БРЦ принимают на себя функции предоставления услуг не только в сфере консервации и распределения биотехнологически ценных микробных культур, сохраняемых должным образом, но и полезной научной информации по вопросам, отражающим текущую ситуацию в микробном разнообразии и перспективах его использования в различных областях биотехнологии, как то: детекция ископаемых горючих ресурсов, биодеструкция эмерджентных загрязнителей, разработка экологически безопасных и экономически обоснованных технологий защиты окружающей среды, получение новых препаратов медицинского назначения и т.д. Вопросы адаптации БРЦ к новой социально-экономической среде имеют не только фундаментальный (академический), но и экономический характер, так как в конечном итоге они связаны с биотехнологией.

Подобные официально располагающие признанные центры, современными биохранилищами, значительной исследовательской базой, развитыми информационными квалифицированными кадрами специалистов И соответствующей ресурсами, правительственной и общественной поддержкой, функционируют в ряде стран на базе крупнейших микробных коллекций, в частности Belgian Coordinated Collections of Microorganisms (BCCM), Brazilian Collection of Microorganisms from the Environment and Industry (CBMAI), China General Microbiological Culture Collection Center (CGMCC), Culture Collection of Beijing Agriculture University (CCBAU, China), the Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Pasteur (CRBIP, France), the German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ), the Japan Collection of Microorganisms (JCM), Korean Culture Center of Microorganisms (KCM), the Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS, The Netherlands),

Coleccion Espanoda de Cultivos Tipo (CECT, Spain). Организация европейского экономического сотрудничества (The Organisation for Economic Cooperation and Development, OECD) рассматривает коллекции микроорганизмов и их современные аналоги – БРЦ, объединенные в информационные сети, в качестве ключевых элементов инфраструктуры исследований в области наук о жизни и биотехнологии [3].

Одной из биотехнологически перспективных групп, ведущих трансформацию органических соединений практически всех известных классов, в том числе ксенобиотиков, являются актинобактерии рода Rhodococcus sensu stricto. Алканотрофные родококки – перспективный объект ДЛЯ промышленного использования И разработки биотехнологий [19–21]. Сегодня реально применение родококков в качестве катализаторов в высокоэффективных органическом синтезе, синтетиков белка тонком на основе углеводородных газов и биоиндикаторов углеводородных залежей. Многие представители родококков имеют значение как уникальные источники иммуномодуляторов, биополимеров, специфических ферментных систем. Решение обозначенных проблем возможно на основе обязательного получения чистых лабораторных культур и формирования реферативной коллекции. Как свидетельствует Всемирный справочник коллекций культур (World Directory of Collections of Cultures of Microorganisms) [22], коллекционные фонды родококков ограничены, а полезность их как объектов развивающейся биотехнологии обусловливает необходимость расширения таких коллекций. В ИЭГМ УрО РАН создана реально действующая наиболее полная России И за рубежом коллекция идентифицированных непатогенных культур родококков [23]. В связи с этим актуально проведение исследований с использованием генофонда Коллекции по изучению потенциала непатогенных актинобактерий с целью разработки новых биотехнологических процессов.

Цель работы — поддержание биоресурсной коллекции «Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов общебиологического и биотехнологического назначения».

Задачи:

- 1) Создать Технологический паспорт РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН, который включает: (а) описание полного набора ключевых СОПов, обеспечивающих поддержание и развитие коллекционного фонда; (б) Научно-техническое обоснование смет стандартных операционных процедур коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН.
- 2) Разместить Технологический паспорт РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН на интернетсайте коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН (http://iegm.ru/lab/iegmcol/).
- 3) Экспериментально верифицировать пять СОПа: для поддержания единиц хранения (СОП по криоконсервации коллекционных культур; СОП по лиофилизации

коллекционных культур) (на примере 30 штаммов); для контроля качества единиц хранения (СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда; СОП по контролю качества поддерживаемого фонда) (на примере 30 штаммов) и СОП для коррекции нарушений качества единиц хранения поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий (на примере 30 штаммов).

- 4) Записать результаты верификации СОПов в электронной базе РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН.
- Экспериментально верифицировать методы расширения коллекции (методику селективного выделения углеводородокисляющих актинобактерий из природных образцов; прямой ПЦР-детекции экологически методику значимых видов родококков нефтезагрязненной почве; методику иммунофлуоресцентного анализа природных образцов с помощью видоспецифичных поливалентных иммунных сывороток; методику получения поликлональных иммунных сывороток против актинобактерий; методику хемотаксономического анализа чистых культур актинобактерий) и характеризации единиц хранения (методику определения адгезивной активности клеток актинобактерий в отношении гидрофобных субстратов; методику определения термодинамических адгезии актинобактерий углеводородам; методику показателей К определения сульфидокисляющей активности актинобактерий; методику получения закрепленных в криогеле поливинилового спирта клеток актинобактерий; методику спектрофотометрического определения жизнеспособности иммобилизованных в криогеле клеток родококков; методику получения адсорбированных на органических носителях клеток актинобактерий; методику определения коэффициента комплексообразования ионов металлов с *Rhodococcus*-биосурфактантами).
- 6) Записать результаты верификации методик в электронной базе РМКАМОБН ИЭГМ УрО РАН (http://iegm.ru/lab/iegmcol/).
- 7) Пополнить Электронный каталог коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН информацией о 30 штаммах, охарактеризованных согласно СОП РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН.
- 8) Подготовить две рукописи статей в рецензируемых журналах (Scopus, WoS), на основе материалов коллекции, одна из которых должна быть принята в печать.
- 9) Подготовить Календарный план работ по выполнению дополнительного государственного задания.
- 10) Сформировать Перечень проблем по правовому обеспечению деятельности коллекции.
 - 11) Разместить Отчет о проделанной работе в рамках дополнительного

государственного задания на интернет-сайте коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН с указанием ссылки на номер заключенного с ФАНО России соглашения на выполнение дополнительного государственного задания.

Настоящий отчет является заключительным по теме «Инвентаризация и развитие коллекции Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов общебиологического и биотехнологического назначения» за 2017 год.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

- 1 Общая информация о коллекции
- 1.1 Название коллекции. Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов общебиологического и биотехнологического назначения.
- 1.2 Наименование организации ФАНО России держателя коллекции (если организация прошла реорганизацию в 2017 г., то указать старое и новое название). Старое название: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук (ИЭГМ УрО РАН).

Новое название: «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» - филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук («ИЭГМ УрО РАН»).

- 1.3 Регистрационный номер биоресурсной коллекции в информационной системе «Парус» ФАНО России. 422.
 - 1.4 Направление ФНИ. Биологические науки. 52 Биологическое разнообразие.
- 1.5 Руководитель коллекции. Ившина Ирина Борисовна, зав. лабораторией алканотрофных микроорганизмов, доктор биологических наук, профессор, академик, ivshina@iegm.ru, (342) 280 81 14, 8 912 88 68 943.
- 1.6 Назначение коллекции. Сбор, детальное изучение и гарантированное сохранение аутентичных непатогенных штаммов микроорганизмов, ведущих окисление природных и антропогенных углеводородов.
- 1.7 Регистрация коллекции в перечне ЦКП/УНУ «Современная исследовательская инфраструктура Российской Федерации». Есть.
- 1.8 Наименование, реестровый номер и адрес ЦКП/УНУ на сайте http://www.ckp-rf.ru. Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов, реестровый номер 73559, http://ckp-rf.ru/usu/73559/.
 - 1.9 Дата образования коллекции. 1988 г.
- 1.10 Отражение коллекционной деятельности в Уставе организации. Есть; формирование коллекции штаммов природных микроорганизмов.
- 1.11 Положение о коллекции, утвержденное на Ученом совете организации.
 Протокол № 8 заседания Ученого совета ИЭГМ УрО РАН от 11.12.2012.
- 1.12 Адрес WEB-сайта организации, на котором представлена информация о коллекции www.iegm.ru.
 - 2 Краткая информация о проделанной работе в рамках дополнительного госзадания
 - 2.1 Текст Отчета представлен на:

- а) WEB-сайте организации: http://www.iegm.ru/lab/iegmcol/.
- б) Информационном портале БРК: http://brk.forge.sscc.ru/kollekcii/kollekcii-mikroorganizmov/regionalnaya-profilirovannaya-kollekciya-alkanotrofnyh
- 2.2 Содержание основных результатов работы по дополнительному госзаданию в соответствии с ПФНИ ГАН

Создан Технологический паспорт «Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов общебиологического и биотехнологического назначения (РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН)», включающий описание ключевых стандартных операционных процедур, обеспечивающих развитие и поддержание коллекционного фонда. Сформированы сметы и выполнено научно-техническое обоснование для стандартных операционных процедур коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН. Технологический паспорт размещен на интернет-сайте РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН (http://iegm.ru/lab/iegmcol/passport/).

Проведена экспериментальная верификация на 30 штаммах стандартных операционных процедур для поддержания единиц хранения (СОП по криоконсервации коллекционных культур; СОП по лиофилизации коллекционных культур), контроля качества единиц хранения (СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда; СОП по контролю качества поддерживаемого фонда) и СОП для коррекции нарушений качества единиц хранения поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий. Произведена запись результатов верификации СОПов в электронной базе коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН (http://www.iegm.ru/lab/iegmcol/passport/).

Проведена (на 94 штаммах) экспериментальная верификация методов расширения коллекции (5 методик) и характеризации (7 методик) единиц хранения. Осуществлена запись результатов верификации СОПов в электронной базе коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН (http://www.iegm.ru/lab/iegmcol/passport/).

Электронный каталог коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН пополнен информацией о 410 штаммах, охарактеризованных согласно СОП РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН (http://iegmcol.ru/strains/index.html).

Опубликованы 2 статьи в рецензируемых научных журналах (Scopus/WoS) и 1 глава в коллективной монографии (изд-во Elsevier, Scopus/WoS), подготовленные на основе материалов коллекции.

Сформирован Перечень проблем по правовому обеспечению деятельности коллекции.

Отчет о проделанной работе в рамках дополнительного государственного задания размещен на интернет-сайте коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН с указанием ссылки

на номер заключенного с ФАНО России соглашения на выполнение дополнительного государственного задания: http://www.iegm.ru/lab/iegmcol/.

- 3 Регистрация в государственных информационных системах и финансирование
- 3.1 Регистрационный номер дополнительного госзадания по БРК в информационной системе «Парус» ФАНО России. 0422-2017-0061.
- 3.2 Регистрационный номер дополнительного госзадания по БРК в информационной системе ЦИТИС. AAAA-A17-117111420122-1.
- 3.3 Отчет по дополнительному госзаданию 0422-2017-0061 подготовлен и загружен в систему Парус 30.01.2018.
- 3.4 Отчет по дополнительному госзаданию AAAA-A17-117111420122-1 подготовлен и загружен в систему ЦИТИС 30.01.2018.
- 3.5 Объём финансирования (4500,2 тыс. руб.), выделенного на выполнение ДГЗ из средств ФАНО России в 2017 году (Доп. соглашение № 007-03-028/4 от 09.11.2017).
- 3.6 Объём финансирования, выделенного на приобретение крупного оборудования из средств ФАНО России в 2017 г. (790 000 руб.) (Соглашение № 007-02-1898 от 08.09.2017).
 - 4 Результаты, полученные в рамках дополнительного госзадания
- 4.1 Создан Технологический паспорт «Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов общебиологического и биотехнологического назначения (РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН)», содержащий (рисунок 1).
- А) Полный набор ключевых стандартных операционных процедур, обеспечивающих развитие и поддержание коллекционного фонда.

СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов.

СОП по лиофилизации культур алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов.

СОП по криоконсервации культур алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов.

СОП по контролю качества поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов.

СОП по коррекции нарушений качества поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов.

Описания СОП были разработаны высококвалифицированными специалистами, согласованы с руководителем ЦКП «Региональной профилированной коллекции

алканотрофных микроорганизмов общебиологического и биотехнологического назначения» и утверждены директором ФИЦ (Приложение A).

Б) Научно-техническое обоснование смет стандартных операционных процедур коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН. Расчеты проводились в соответствии с моделью и методикой оценки, разработанными ИЦиГ СО РАН в рамках выполнения дополнительного государственного задания по теме: «Разработка модели финансового управления сохранением и рациональным использованием биоресурсов в рамках функционирования биоресурсных научных коллекций» (http://www.biores.cytogen.ru/brc_finance/report). Научнотехническое обоснование учитывало: частоту применения конкретной СОП для одной единицы хранения в течение 1 года; перечень и квалификацию персонала, затраты времени на ее выполнение; заработную плату; материальные и иные затраты; время и стоимость использования задействованного оборудования. Суммарные затраты на однократное выполнение СОП были выведены автоматически при заполнении пунктов в таблицах. Пакет из пяти обоснований смет СОП и обоснования накладных расходов, не предусмотренных сметами СОП, был предоставлен в Рабочую группу. Расчеты итоговой стоимости однократного выполнения СОП в отношении одной единицы хранения представлены в таблицах 1-6. Полный набор финансовых данных представлен на портале «Биоресурсные коллекции ФАНО России»: http://www.biores.cytogen.ru/brc_finance/collections/8.



Рисунок 1 — Страница интернет-сайта РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН с размещенным технологическим паспортом.

Таблица 1 — Расчет итоговой стоимости однократного выполнения СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий

в отношении одной единицы хранения

Тип затрат	Сумма (руб.)
Оплата труда	2 495,67
Приобретение материалов	5 284,04
Иные затраты	_
Затраты на содержание оборудования	717,54
Итого:	8 497,26

Таблица 2 – Расчет итоговой стоимости однократного выполнения СОП по лиофилизации культур алканотрофных актинобактерий в отношении одной единицы хранения

Тип затрат	Сумма (руб.)
Оплата труда	1 718,39
Приобретение материалов	1 639,94
Иные затраты	
Затраты на содержание оборудования	1 014,66
Итого:	4 372,98

Таблица 3 — Расчет итоговой стоимости однократного выполнения СОП (руб.) по криоконсервации культур алканотрофных актинобактерий в отношении одной единицы хранения

Тип затрат	Сумма (руб.)
Оплата труда	1 308,06
Приобретение материалов	1 024,85
Иные затраты	-
Затраты на содержание оборудования	13 179,88
Итого:	15 512,78

Таблица 4 – Расчет итоговой стоимости однократного выполнения СОП по контролю качества поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий в отношении одной единицы хранения

Тип затрат	Сумма (руб.)
Оплата труда	278,48
Приобретение материалов	290,11
Иные затраты	
Затраты на содержание оборудования	125,00
Итого:	693,58

Таблица 5 – Расчет итоговой стоимости однократного выполнения СОП по коррекции нарушений качества единиц хранения поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий в отношении одной единицы хранения

Тип затрат	Сумма (руб.)
Оплата труда	451,65
Приобретение материалов	823,52
Иные затраты	_
Затраты на содержание оборудования	119,24
Итого:	1 394,41

Таблица 6 – Расчет величины накладных расходов (рассчитано за последние 12 мес.)

Тип затрат	Сумма (руб.)
Оплата труда	28 223,80
Приобретение материалов	717 952,00
Иные затраты	205 907,00
Затраты на содержание оборудования	1 075 746,08
Коммунальные услуги	253 932,20
Итого:	2 281 761,08

- 4.2 Технологический паспорт размещен на интернет-сайте РПКАМОБН ИЭГМ УрО PAH (http://www.iegm.ru/lab/iegmcol/passport/).
- 4.3 Проведена экспериментальная верификация на 30 штаммах (таблица 7) стандартных операционных процедур для поддержания единиц хранения (СОП по криоконсервации коллекционных культур; СОП по лиофилизации коллекционных культур), контроля качества единиц хранения (СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда; СОП по контролю качества поддерживаемого фонда) и СОП для коррекции нарушений качества единиц хранения поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий. Результаты экспериментальной верификации СОП представлены в Приложении Б.

Таблица 7 – Список коллекционных штаммов, в отношении которых проведена верификация СОПов, обеспечивающих развитие и поддержание коллекционного фонда

Род, вид	Коллекционный номер штамма
Gordonia alkanivorans	ИЭГМ 748
Gordonia rubripertincta	ИЭГМ 96, ИЭГМ 731
Gordonia terrae	ИЭГМ 136
Rhodococcus erythropolis	ИЭГМ 10, ИЭГМ 20, ИЭГМ 186, ИЭГМ 200, ИЭГМ 204, ИЭГМ 270, ИЭГМ 487, ИЭГМ 708, ИЭГМ 767
Rhodococcus fascians	ИЭГМ 34, ИЭГМ 35, ИЭГМ 40
Продолжение таблицы 7	
Род, вид	Коллекционный номер штамма
Rhodococcus opacus	ИЭГМ 56, ИЭГМ 249

Rhodococcus rhodochrous	ИЭГМ 63, ИЭГМ 66, ИЭГМ 608, ИЭГМ 647
Rhodococcus ruber	ИЭГМ 219, ИЭГМ 230, ИЭГМ 231, ИЭГМ 235, ИЭГМ 326, ИЭГМ 327, ИЭГМ 338, ИЭГМ 346

- 4.4 Произведена запись результатов верификации СОПов в электронной базе коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН (http://www.iegm.ru/lab/iegmcol/passport/).
- 4.5 Проведена (на 94 штаммах) экспериментальная верификация методов расширения коллекции (5 методик) и характеризации (7 методик) единиц хранения. Результаты экспериментальной верификации методик представлены в Приложении В.
- 4.6 Осуществлена запись результатов верификации СОПов в электронной базе коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН (http://www.iegm.ru/lab/iegmcol/passport/).
- 4.7 Электронный каталог коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН пополнен информацией о 410 штаммах, принадлежащих к 16 родам и 56 видам актинобактерий (Приложение Д), охарактеризованных согласно СОП РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН (http://iegmcol.ru/strains/index.html).
- 4.8 Опубликованы 2 статьи в рецензируемых научных журналах (Scopus/WoS) и 1 глава в коллективной монографии (изд-во Elsevier, Scopus/WoS), подготовленные на основе материалов коллекции (Приложение Γ):

Черемных К.М., Гришко В.В., Ившина И.Б. Бактериальная деградация экотоксичной дегидроабиетиновой кислоты // Катализ в промышленности. 2017. Т. 17, № 2. С. 65–72.

Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Krivoruchko A.V. Hydrocarbon-oxidizing bacteria and their potential in eco-biotechnology and bioremediation // In: Microbial Resources: From Functional Existence in Nature to Industrial Applications, editor I. Kurtböke, Elsevier. 2017. p. 121–148. ISBN 978-0-12-804765-1.

Tarasova E.V., Grishko V.V., Ivshina I.B. Cell adaptations of *Rhodococcus rhodochrous* IEGM 66 to betulin biotransformation // Process Biochemistry. 2017. V. 52. P. 1–9.

Подана Заявка 2017132811/05 (057677) от 19.09.2017 на выдачу патента на изобретение РФ "Способ биодеструкции дегидроабиетиновой кислоты с использованием штамма $Rhodococcus\ rhodochrous\$ ИЭГМ 107". Получено положительное решение по результатам формальной экспертизы.

4.9 Сформирован Перечень проблем по правовому обеспечению деятельности коллекции, который был представлен в Анкете по правовому обеспечению биоресурсных коллекций.

Вопросы статуса коллекций, нуждающиеся в правовом обеспечении. Требуется унификация (использование единой) терминологии, используемой в правовых актах (договорах, актах на передачу/приемку образцов микроорганизмов и пр.), касательно

основных понятий «коллекционный штамм», «культура», «образец/единица хранения», «дубликат».

Имеется потребность в правовом обеспечении вопросов, затрагивающих статус коллекции как подразделения научной организации; статус коллекций как ЦКП; статус коллекций как имущества научной организации; передача коллекций в ведение (в структуру, на баланс) других организаций.

Требуется детальная проработка, а также (в виду отсутствия глубоких юридических и финансовых познаний) обсуждение вопросов, затрагивающих правовой режим коллекций как объектов права собственности, права оперативного управления, других вещных прав; права базовых организаций по владению, пользованию и распоряжению коллекциями; правовой режим (порядок) формирования, учета, инвентаризации коллекций; правовой режим (порядок) оценки коллекций (определения и установления стоимости объектов коллекций); правовой режим (порядок) хранения коллекций; правовой режим (порядок) доступа к коллекциям; правовой режим (порядок) передачи коллекций пользователям; правовой режим (порядок) вывоза коллекций за границу и ввоза коллекций из-за границы; правовой режим (порядок) сохранения и развития коллекций.

В связи с этим необходимо предусмотреть возможность проведения обучающих курсов.

Есть потребность в организации Рабочей группы по обсуждению проблемы использования (пока на инициативной основе до подписания РФ Нагойского протокола регулирования доступа к генетическим ресурсам и совместного использования выгод к КБР) международных стандартов /правил ведения коллекционной работы, чтобы (1) адаптировать Договора о приобретении и выдачи штаммов (МАА) с учетом Регламента ЕС и Нагойского протокола, (2) разработать базовые взаимосогласованные условия (МАТ) и предварительное обоснованное согласие (РІС) с целью предоставления их в распоряжение действующих микробных коллекций.

MAA – Material Acquisition Agreement (договор о приобретении/присоединении материала).

MAT – Mutually Agreed Terms (взаимосогласованные условия).

PIC – Prior Informed Consent (предварительное обоснованное согласие).

Необходимо также обсуждение предложений, выработанных в ходе выполнения международного проекта MIRRI и касающихся правового регулирования деятельности по обороту генетических ресурсов и коллекций, в том числе касательно Руководящего

документа по сфере применения правил доступа и распределения прибылей (Guidance document on the scope of the ABS Regulation).

4.10 Отчет о проделанной работе в рамках дополнительного государственного задания размещен на интернет-сайте коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН с указанием ссылки на номер заключенного с ФАНО России соглашения на выполнение дополнительного государственного задания: http://www.iegm.ru/lab/iegmcol/.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований в рамках дополнительного государственного задания создан Технологический паспорт «Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов общебиологического и биотехнологического назначения (РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН)», включающий описание ключевых стандартных операционных процедур, обеспечивающих развитие и поддержание коллекционного фонда. Сформированы сметы и выполнено научно-техническое обоснование для стандартных операционных процедур коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН. Технологический паспорт размещен на интернет-сайте РПКАМОБН ИЭГМ УрО PAH (http://www.iegm.ru/lab/iegmcol/passport/).

Проведена экспериментальная верификация на 30 штаммах стандартных операционных процедур для поддержания единиц хранения (СОП по криоконсервации коллекционных культур; СОП по лиофилизации коллекционных культур), контроля качества единиц хранения (СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда; СОП по контролю качества поддерживаемого фонда) и СОП для коррекции нарушений качества единиц хранения поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий. Произведена запись результатов верификации СОПов в электронной базе коллекции РПКАМОБН ИЭГМ (http://www.iegm.ru/lab/iegmcol/passport/). Проведена (на 94 экспериментальная верификация методов расширения коллекции (5 методик) и характеризации (7 методик) единиц хранения. Осуществлена запись результатов верификации СОПов в электронной базе коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН (http://www.iegm.ru/lab/iegmcol/passport/). Электронный каталог коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН пополнен информацией о 410 штаммах, охарактеризованных согласно СОП РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН (http://iegmcol.ru/strains/index.html).

Сформирован Перечень проблем по правовому обеспечению деятельности коллекции.

Отчет о проделанной работе в рамках дополнительного государственного задания размещен на интернет-сайте коллекции РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН с указанием ссылки на номер заключенного с ФАНО России соглашения на выполнение дополнительного государственного задания: http://www.iegm.ru/lab/iegmcol/.

Полученные результаты будут способствовать решению проблемы развития и сохранения биоресурсной коллекции «Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов общебиологического и биотехнологического профиля» в рамках направления № 52 Биологическое разнообразие Программы фундаментальных научных исследований ГАН на 2013—2020 гг.

По результатам работы опубликованы 2 статьи в рецензируемых научных журналах (Scopus/WoS) и 1 глава в коллективной монографии (изд-во Elsevier, Scopus/WoS) со ссылкой на финансирование по теме проекта:

- 1 Черемных К.М., Гришко В.В., Ившина И.Б. Бактериальная деградация экотоксичной дегидроабиетиновой кислоты // Катализ в промышленности. 2017. Т. 17, № 2. С. 65–72.
- 2 Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Krivoruchko A.V. Hydrocarbon-oxidizing bacteria and their potential in eco-biotechnology and bioremediation // In: Microbial Resources: From Functional Existence in Nature to Industrial Applications, editor I. Kurtböke, Elsevier. 2017. p. 121–148. ISBN 978-0-12-804765-1.
- 3 Tarasova E.V., Grishko V.V., Ivshina I.B. Cell adaptations of *Rhodococcus rhodochrous* IEGM 66 to betulin biotransformation // Process Biochemistry. 2017. V. 52. P. 1–9.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Diversitas: an international programme of biodiversity science (Operational plan), Diversitas, Paris, France, 2006. http://unesdoc.unesco.org/images/0016/001632/163285eo.pdf
- 2 Micro-Organisms Sustainable use and Access regulation International Code of Conduct. MOSAICC, 2011. http://bccm.belspo.be/projects/mosaicc/docs/code2011.pdf; http://www.wdcm.org/workshop2014/one_one.pdf
- 3 Best Practice Guidelines for Biological Resource Centres. OECD Directorate for Science, Technology and Industry, OECD, 2007. 115 pp. http://www.oecd.org/sti/biotech/oecdbestpractice-guidelinesforbiologicalresourcecentres.htm
- 4 Cartagena Protocol on Biosafety to the Convention on Biological Diversity. Secretariat of the Convention on Biological Diversity, Montreal, CBD, 2001. 30 pp.
- 5 Nagoya Protocol on Access to Genetic Resources and the Fair and Equitable Sharing of Benefits Arising from their Utilization to the Convention on Biological Diversity. Secretariat of the Convention on Biological Diversity, Montreal, CBD, 2011. 25 pp. https://www.cbd.int/
- 6 Bull A.T. Biotechnology for environmental quality: closing the circles. Biodivers. Conserv. 1996. V. 5. P. 1–25.
- 7 Constanza R., d'Arge R., de Groot R., Farber S., Grasso M., Hannon B., Limburg K., Naeem S., O'Neill R.V., Paruelo J., Raskin R.G., Sutton P., van den Belt M. The value of the world's ecosystem services and natural capital // Nature. 1997. V. 387. P. 253–260.
- 8 Kirsop, Canhos, 1998 Kirsop B.E., Canhos V.P. The economic value of microbial genetic resources // In: Proceedings of the World Federation of Culture Collections. World Federation of Culture Collections, Campinas, Brazil, 1998. P. 6–9.
- 9 Ten Kate K. Biotechnology in fields other that healthcare and agriculture // In: ten Kate K., Laird S.A. (eds). The Commercial Use of Biodiversity. Earthscan Publications Ltd., London, U.K., 1999. P. 228–261.
- 10 Miyazaki M. Economic value of microbial resources // Microbiol. Cult. Coll. 2006. V. 22. P. 5–19.
- 11 The Bioeconomy to 2030. Designing a Policy Agenda. Main Findings and Policy Conclusions. Publishes, Paris, OECD, 2009. 18 pp.
 - 12 Smith D. Culture Collections // Adv. Appl. Microbiol. 2012. V. 79. P. 73–118.
- 13 Overmann J. Significance and future role of microbial resource centers // Syst. Appl. Microbiol. 2015. V. 38. P. 258–265.

- 14 Biological Resource Centers: Underpinning the Future of Life Sciences and Biotechnology. OECD Directorate for Science, Technology and Industry, Paris, OECD, 2001. 68 pp.
- 15 Guidance for the Operation of Biological Resource Centres (BRCs) [Biological Research Centres' is erroneously printed on the cover of this document], OECD, 2004. http://www.oecd.org/dataoecd/60/42/23547743.pdf
- 16 WFCC (2010) World Federation for Culture Collections Guidelines for establishment and operation of collections of cultures of microorganisms. 3rd edition. WFCC, 2010. http://www.wfcc.info/guidelines/
- 17 Desmeth P. Nagoya protocol applied to microbial genetic resources // In: I. Kurtböke (ed) Microbial Resources: From Functional Existence in Nature to Applications. Elsevier Academic Press, 2017. P. 205–217.
- 18 Desmeth P., Bosschaerts M. The necessary adaptation of culture collections to the new socio-economic environment at global level // In: Ivshina I.B., Kamenskikh T.N., Alfimova L.A., Kuyukina M.S. (eds) Microbial Diversity: current situation, conservation strategy and biotechnological potential: Proceedings of 3rd International Conference. Perm, Russia. 2008. P. 144–146.
- 19 Larkin M.J., Kulakov L.A., Allen C.R. Biodegradation by members of the *Rhodococcus*: biochemistry, physiology, and genetic adaptation // Adv. Appl. Microbiol. 2006. V. 59. P. 1–29.
- 20 Martínková L., Uhnáková B., Pátek M., Nešvera J., Křen V. Biodegradation potential of the genus *Rhodococcus* // Environ. Int. 2009. V. 35. P. 162–177.
- 21 Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Krivoruchko A.V. Hydrocarbon-oxidizing bacteria and their potential in eco-biotechnology and bioremediation // In: I. Kurtböke (ed.). Microbial Resources: From Functional Existence in Nature to Industrial Applications. Elsevier, 2017. P. 121–148.
- 22 World Directory of Collections of Cultures of Microorganisms. 2017. [http://www.wdcm.org/ 11.12.2017].
- 23 Ившина И.Б. Состояние и проблемы развития специализированных центров микробиологических ресурсов в России // Микробиология. 2012. Т. 81, № 5. С. 551–560.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Стандартные операционные процедуры, обеспечивающие развитие и поддержание коллекционного фонда Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов

А. 1 Стандартная операционная процедура по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов

Составитель: д.б.н. Куюкина М.С.

Согласовано: руководитель РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН,

д.б.н., профессор, академик Ившина И.Б.

Дата обновления: «12» января 2017 г.

Наименование исследования. Оценка аутентичности чистых культур алканотрофных актинобактерий (соответствия ее паспортным данным и видовым свойствам) путем реидентификации на основании морфолого-культуральных, хемотаксономических и генетических признаков.

Назначение. Экспертиза аутентичности коллекционных штаммов проводится систематически (через определенные промежутки времени в зависимости от вида микроорганизма) в процессе их длительного хранения различными методами и параллельно с проверкой жизнеспособности и чистоты культур. Основные направления организации контроля качества: (1) контроль за соблюдением требований к условиям проведения микробиологических исследований: (лабораторные помещения, воздушная температурные режимы инкубации и хранения, режимы дезинфекции и стерилизации и т.д.); (2) выполнение регламентированных процедур ведения коллекционных бактериальных культур; (3) контроль качества питательных сред; (4) систематический анализ результатов контрольных процедур в целях совершенствования СОП по качеству.

Последовательность действий по экспертизе аутентичности: лиофилизированная (криоконсервированная) культура тест-штамма – восстановление культуры – контроль качества: проверка на чистоту роста и отсутствие диссоциации, проверка основных свойств культуры, подтверждающих их подлинность, согласно Паспорту. В случае обнаружения более 25 % полиморфных колоний и/или несоответствия паспортным свойствам - культура не может быть использована в работе.

Этап 1 Восстановление лиофилизированной культуры: оттянутый конец ампулы с лиофилизированной культурой нагревают над пламенем горелки, влажным концом стерильного ватного тампона прикасаются к нагретой части, в результате чего появляются трещины. Конец ампулы накрывают трехслойной марлевой салфеткой, смоченной 70° этиловым спиртом и хорошо отжатой и обламывают пинцетом. После вскрытия ампула остается накрытой той же салфеткой в течение 1–2 мин. Затем салфетку осторожно снимают и вместе с остатками стекла погружают в дезраствор. В ампулу вносят к 0 ,3 мл питательного бульона для регидратации. Содержимое ампулы перемешивают, переносят стерильной пастеровской пипеткой или шприцем в пробирку с питательным бульоном и инкубируют при 30 °C в течение 48–72 ч. Оставшуюся бульонную культуру используют для оценки степени диссоциации тестируемого штамма. После инкубации из питательного бульона делают высев петлей на скошенный питательный агар в две пробирки. При восстановлении штамма посев осуществляется на скошенный питательный агар. Посевы инкубируют при 30 °C 48–72 ч. Одну пробирку с посевом используют для постановки тестов на соответствие полученного штамма видовым и паспортным свойствам. Второй посев на скошенном питательном агаре используют для создания запасов рабочей культуры. Культура с измененными свойствами в работу не допускается.

Восстановление криоконсервированной культуры: деконсервацию клеток осуществляют путем отогрева криопробирки на водяной бане при температуре 37 °C. Из криопробирки с суспензией клеток в растворе криопротектора отбирают аликвоту 100 мкл и производят посев в жидкую питательную среду или на соответствующую питательную среду в чашки Петри. Культивирование бактериальных клеток осуществляют при 28 °C. Посевы инкубируют при 28 °C 48–72 ч.

- 1.1 Создание запасов рабочей культуры. При удовлетворительном прохождении контрольных тестов культуру со скошенного питательного агара засевают уколом в столбик с полужидким агаром. В зависимости от интенсивности работы лаборатории посев проводят в 4–7 пробирок, из расчета по 1–2 пробирки на 1 месяц работы и в 1 пробирку для восполнения запасов рабочей культуры через три месяца на следующий квартал. Посевы инкубируют 72 ч при 30 °С. При наличии роста пробирки закрывают 48–72 ч резиновыми пробками и закладывают на хранение при температуре 4–8 °С. Одну из пробирок с культурой, предназначенной для восполнения рабочих запасов, маркируют и хранят отдельно. Запасы рабочей культуры желательно хранить в отдельном холодильнике.
- 1.2 Восполнение запасов рабочей культуры. Восполнение запасов рабочей культуры производится в конце третьего, шестого и девятого месяца с момента вскрытия ампулы (каждые 3 месяца). Для восполнения запасов рабочей культуры используется субкультура на среде хранения, полученная ранее при создании запасов или при очередном их восполнении. Из пробирки с культурой, предназначенной для восполнения запасов, производят посев в питательный бульон. Посевы инкубируют при 30 °C в течение 48–72 ч. Оставшуюся

бульонную культуру используют для оценки степени диссоциации. После инкубации из питательного бульона делают высев петлей в две пробирки со скошенным питательным агаром. Посевы инкубируют при 30 °C 48–72 ч. Один из посевов используют для постановки тестов на соответствие полученного штамма видовым, паспортным свойствам. Второй посев на скошенном питательном агаре используют для восполнения запасов рабочей культуры. При удовлетворительном прохождении контрольных тестов процедура закладки культуры на хранение осуществляется согласно п. 1.1. Восполнение запасов рабочей культуры проводят только 3 раза. По истечении года необходимо получить новую эталонную культуру из коллекции микроорганизмов.

Этап 2 Проверка культуры на чистоту: готовят суспензию культуры и высевают ее на адекватные агаризованные питательные среды, обозначенные в Каталоге Коллекции ИЭГМ (www.iegmcol), глубинным методом либо используют рассев петлей. Засеянные чашки Петри или пробирки инкубируют в оптимальных условиях, обозначенных в Каталоге Коллекции ИЭГМ (www.iegmcol), в течение 3–6 сут. Совпадение морфологии и микроскопической картины выросших колоний свидетельствует о чистоте культуры.

Этап 3 Проверка степени диссоциации культуры: из 24-часовой бульонной культуры делают 10-кратные разведения физиологическим раствором. По 0,1 мл из 5 -го и 6 -го разведений засевают на 2 чашки питательного агара, предварительно подсушенные в термостате. Шпателем посевы распределяют по поверхности агара до полного исчезновения влаги и инкубируют в термостате при температуре 30 °C в течение 48–72 ч.

Выбирают чашки, на которых выросло от 30 до 100 колоний. Проверку штамма на диссоциацию производят путем визуального просмотра изолированных колоний на чашках в прямом и косонаправленном свете через бинокулярную лупу или микроскоп на малом увеличении. В R-форме колонии бактерий более плоские, большего размера, неправильной формы с неровными краями и шероховатой, матовой поверхностью. При наличии диссоциации (по размеру, S- R-диссоциация, др.) подсчитывают количество измененных колоний и общее количество просмотренных колоний. Общее количество просмотренных бактерий не должно быть менее 30. Затем рассчитывают процент диссоциации по формуле: % диссоциации = (количество измененных колоний/общее количество просмотренных колоний) х 100 %. Если численность диссоциированных колоний превышает 25 %, то данная культура не пригодна для дальнейшего использования. В связи с выраженным полиморфизмом колоний для штаммов отдельных видов актинобактерий рода *Rhodococcus* оценка R-S диссоциации не проводится.

Этап 4 Оценка морфолого-культуральных, хемотаксономических и генетических свойств бактериальной культуры согласно паспортным данным.

- 4.1 Определение морфологии клеток проводят в окрашенных разбавленным метиленовым синим препаратах (так как большинство других методов окраски может значительно повлиять на морфологию и размеры клеток), при этом учитывают размер клеток длину и ширину с помощью окуляр-микрометра, предварительно определив цену деления по объект-микрометру, и общую морфологию клетки.
- 4.2 Окраску по Граму проводят по классическому методу, готовят стандартный мазок (тонкий), фиксируют в пламени горелки, на мазок кладут полоску фильтровальной бумаги, наносят первый краситель генциан-виолет так, чтобы бумага была полностью увлажнена и «блестела», выдерживают 5 мин. Затем снимают бумагу петлей и, не промывая мазок, наносят несколько капель раствора Люголя. Выдерживают до 1 мин, при этом препарат должен потемнеть, но не почернеть. Раствор Люголя сливают. Препарат опускают в ванночку с 96° этиловым спиртом на 45 сек. При этом каретку несколько раз приподнимают и опускают. Препарат промывают до «чистой воды». Наносят второй краситель фуксин на 2 мин. Препарат промывают и подсушивают на воздухе. Грамположительные бактерии синефиолетовая окраска (1-й краситель), грамотрицательные бактерии красно-розовая окраска (2-й краситель).
- 4.3 Для выявления соответствия видовых свойств бактериальной культуры паспортным сведениям проводится типирование культуры по физиолого-биохимическим свойствам до вида. Идентификацию рекомендуется проводить с использованием тест-систем биохимической идентификации конкретного макротаксона (Сем. Nocardiaceae, в частности), разрешенных к применению. При этом следует руководствоваться рекомендациями производителя. Правомочна постановка отдельных биохимических тестов ДЛЯ подтверждения следующих основных свойств: способность к образованию кислоты из глюкозы, фруктозы, глицерина, маннозы и неспособности продуцировать ее из сорбозы, рамнозы, целлобиозы, дульцита и рафинозы; способность усваивать соли пировиноградной, фумаровой, уксусной, пропионовой и масляной, но не щавелевой и винной кислот; рост и образование кислоты на арабинозе, галактозе, лактозе, мальтозе, сахарозе, инозите, салицине и α -метил-D-глюкозиде, а также усвоение натриевых солей α -кетоглутаровой, γ аминомасляной, лимонной, молочной, фенилуксусной и янтарной кислот; разложение тирозина и наличие уреазы.
- 4.4 Хемотаксономические признаки культуры определяют при несоответствии результатов ранее проведенных (4.1–4.3) морфолого-культуральных и физиолого-биохимических тестов паспортным сведениям.

Определение моносахаридного состава гидролизатов целых клеток проводят методом бумажной хроматографии. Для этого к 200 мг сырой биомассы добавляют 5,0 мл 2 н H₂SO₄,

запаивают в ампулу и нагревают на водяной бане в течение 4 ч. Содержимое переносят в центрифужную пробирку и нейтрализуют, приливая по каплям (около 10 мл) насыщенный раствор Ва(ОН)2 до уровня рН 7,0. Полученный раствор центрифугируют (3000 об/мин, 10 мин), надосадочную жидкость фильтруют через бумажный фильтр в фарфоровую ступку и упаривают на водяной бане (80°C) до объема 0,1 мл. Образец наносят на хроматографическую бумагу типа FN1 (7x40) ("FILTRAK", Германия) пастеровской пипеткой в три-четыре приема в одну точку после высушивания на воздухе предыдущей капли. Между опытными образцами наносят растворы "метчиков" (по 1,0 мкл каждого сахара после высушивания предыдущей капли). Бумагу с нанесенными образцами помещают в предварительно насыщенную парами растворителей хроматографическую камеру. Разделение исследуемых веществ методом восходящей хромотографии происходит в течение 6 сут. с интервалами 2, 4, 7, 12 и три раза по 24 ч. Визуализацию пятен сахаров на хроматограмме осуществляют путем опрыскивания проявителем и нагревания в течение 15 мин при 105°C в сухожаровом шкафу. Пятна сахаров с четным количеством атомов углерода (гексоз) имеют буро-коричневую, с нечетным (пентоз) – коричнево-розовую окраску на светло-желтом фоне. При идентификации сахаров измеряют и сравнивают расстояния, пройденные "метчиками" сахаров и веществами, которые предполагалось обнаружить в анализируемой смеси.

Определение изомеров диаминопимелиновой кислоты (ДАПК) проводят гидролизатах клеток коллекционных культур методом бумажной хроматографии. Для этого 10-15 капель гидролизата с помощью капилляра наносят на хроматографическую бумагу в одну точку, подсушивая бумагу на воздухе перед каждым последующим нанесением образца. Расстояние между образцами на хроматографической бумаге – 2 см. На бумагу в качестве контроля наносят 5-10 мкл гидролизата клеток типового штамма соответствующего вида актинобактерий, содержащих мезо-ДАПК, и стандартный раствор изомеров ДАПК. Бумагу с нанесенными образцами помещают в предварительно насыщенную парами растворителей хроматографическую камеру. Разделение исследуемых веществ методом восходящей хроматографии на бумаге происходит в течение 18 ч, после чего бумагу вынимают из камеры, высушивают на воздухе и опрыскивают проявляющим реактивом с последующим высушиванием на воздухе и прогреванием при 105°C в течение 15 минут. Пятна диаминокислоты имеют зеленовато-желтый цвет, на хроматограмме располагаются ниже пятен других аминокислот, имеющих пурпурно-фиолетовую окраску. Пятно мезо-ДАПК располагается ближе к линии старта, LL-ДАПК – дальше.

Определение свободных жирных кислот коллекционных культур проводят с помощью хроматомасс-спектрометрии, для этого 15–30 мг клеточных липидов,

экстрагированных из биомассы смесью хлороформ – метанол (2:1), помещают в колбу с боковым отростком. Растворитель удаляют в токе азота при 30 °C. К остатку прибавляют 5,0 мл 0,3N метанольного раствора NaOH. Смесь кипятят, после кипячения охлаждают в течение 2 ч. К реакционной смеси общих липидов добавляют 3 капли раствора фенолфталеина и 90%-ный раствор метанола с таким расчётом, чтобы раствор продуктов реакции заполнил весь объём бокового отростка колбы. В результате добавления фенолфталеина смесь окрашивается в малиновый цвет, что свидетельствует об успешном проведении щелочного гидролиза. Полученный раствор переливают в делительную воронку, и порционно (3-4 раза по 5 мл) приливают петролейный эфир для экстракции неомыляемых веществ (алкен-1-иловые эфиры глицерина, стерины, углеводороды, каротиноиды, высшие спирты и др.). Верхний слой (неомыляемые вещества) постоянно сливают в предварительно взвешенную колбу с притёртой крышкой. Водно-спиртовую фазу (нижний слой) подкисляют 6н НС1 (0,3 мл) до обесцвечивания раствора и экстрагируют свободные жирные кислоты, порционно (3-4 раза по 5 мл) приливая петролейный эфир. Верхний слой (свободные жирные кислоты) постоянно сливают в предварительно взвешенную колбу с притёртой крышкой, упаривают досуха в токе азота, сушат в вакуум-эксикаторе над NaOH. Полученный препарат свободных жирных кислот заливают свежеприготовленной смесью хлороформ – метанол (2:1) и хранят при температуре -4°C неограниченное время. Для идентификации свободные жирные кислоты переводят в метиловые эфиры с помощью кислотного гидролиза (2,5%-ный раствор хлористого водорода в метаноле) и анализируют на газовом хроматографе Agilent 6890N с квадрупольным масс-спектрометром "Agilent MSD 5973N" ("Agilent Technologies", США). Для анализа используют капиллярную колонку RTX-5MS (30 м/0,25 мм/0,25 мкм с 5-ти метровой предколонкой). Кислоты идентифицируют путем сравнения характеристик удерживания неизвестных метиловых эфиров жирных кислот бактерий с таковыми стандартных метиловых эфиров жирных кислот.

Определение свободных миколовых кислот (липида LCN-A) проводят методом тонкослойной хроматографии метанолизатов целых клеток коллекционных культур. Для этого 200 мг сухой биомассы помещают в пробирку со шлифом, добавляют 5 мл метанола, 5 мл толуола и 0,2 мл концентрированной H₂SO₄, закрывают крышкой и выдерживают в термостате при 50°C не менее 12 ч. По истечении этого времени пробирки остужают до комнатной температуры, метилмиколяты экстрагируют в 2 мл *н*-гексана. С помощью микрокапилляра 5,0 мкл образца наносят в виде отдельного пятна диаметром 10 мм на тонкослойную хроматографическую пластинку типа Silufol UV 254 (150х150 мм, "Merck", Германия) в несколько приемов в одну и ту же точку, при этом тщательно высушивая пятно на воздухе или с помощью вентилятора перед каждым последующим нанесением опытного

образца. Следует помнить: непосредственный контакт следует осуществлять со слоем сорбента так, чтобы из микрокапилляра полностью выходил весь раствор. В качестве контроля используют метилмиколяты эталонных штаммов актинобактерий известной систематической принадлежности и с известным значением R_f пятен липида LCN-A на хроматограмме. Хроматографическое разделение миколовых кислот проводят в стеклянной камере, насыщенной парами растворителей. После подъема растворителя на высоту 13,5 см пластинку удаляют из камеры и высушивают на воздухе до полного испарения растворителя. Хроматографическое разделение миколовых кислот повторяют трижды. Визуализацию пятен миколовых кислот на хроматограмме проводят после опрыскивания фосфорномолибденовой кислотой и нагревания в сушильном шкафу при 105° С до появления пятен. Пятна свободных миколовых кислот располагаются между стартовой линией и дополнительно выявляемыми на хроматограмме пятнами не идентифицированных жирных кислот. Тип свободных миколовых кислот определяют по значениям коэффициента R_f разделенных метилмиколатов:

$$R_f = X / X_1$$

где X – расстояние (см), пройденное веществом от точки старта (от исходного пятна на линии старта до середины пятна разделенного вещества); X_1 – расстояние (см), пройденное фронтом подвижной фазы за это же время: от линии старта (а не от края пластинки) до места, где находился фронт в момент окончания процесса хроматографирования.

4.5 Генотипирование коллекционных культур путем видоспецифичной полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводят при несоответствии результатов ранее проведенных (4.1-4.3) морфолого-культуральных и физиолого-биохимических тестов паспортным сведениям.

Клеточные лизаты коллекционных культур получают путем суспендирования единичной бактериальной колонии в 40 мкл 0,05М NaOH. Полученную суспензию инкубируют при 95°С в течение 15 мин, а затем замораживют — 15 мин. Цикл лизирования повторют трижды. После этого лизаты центрифугируют при 14 тыс. об/мин в течение 2 мин с использованием микроцентрифуги (MiniSpin®, Eppendorf, Германия). Для приготовления 25 мкл ПЦР-смеси используют 1 мкл полученного супернатанта. Амплификацию проводят с использованием программируемого термоциклера МЈ Міпі^{ТМ} (Віо-Rad Laboratories, США) и пар праймеров, сконструированных для экологически значимых видов актинобактерий. Реакционная смесь объемом 25 мкл имеет следующий состав (все реактивы производства «Синтол», Россия): 10 мМ ПЦР-буфер; 2,5 мМ мgCl₂ (в случае праймеров 27f и 1492r, а также Ru1 Ru2) и 1,5 мМ мgCl₂ (для праймеров Re1 и Re2); 0,2 мМ смесь четырех дезоксинуклеозидтрифосфатов (дНТФ); по 0,2 мкМ прямого и обратного праймера; 0,4 ед. Таq-ДНК полимеразы; 1 мкл ДНК, деионизировання вода. Используют температурно-

временные режимы амплификации, специализированные для каждой пары праймеров. Полученные продукты амплификации анализируют при помощи электрофореза в 1,5%-ном агарозном геле (Sigma, США) с использованием однократного ТВЕ-буфера следующего состава (10× г/л): трис, 10,8 (99,8%, Sigma, США); борная кислота для электрофореза, 5,5 (Sigma, США); ЭДТА, 4 мл 0,5М, рН 8,0 (99,4%, Sigma); дистиллированная вода, 1 л (Short Protocols in Molecular Biology, 1995). Электрофоретическое разделение проводят при напряжении 80 В, силе тока 33 мА и мощности 3 Вт в течение 30-40 мин. По окончании электрофореза гель окрашивают водным раствором бромистого этидия (0,5 мкг/мл). Окрашенный гель просматривают в ультрафиолетовом свете с использованием трансиллюминатора Gel Doc XR System (Bio-Rad Laboratories, США). Результаты ПЦР-диагностики документируют с помощью системы гель-документации Quantity One® 1-D Analysis Software (Bio-Rad).

Если культура не соответствует паспортным видовым свойствам или выявлено наличие посторонних микроорганизмов, то она не пригодна для дальнейшего использования.

А. 2 Стандартная операционная процедура по лиофилизации культур алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов

Составитель: к.б.н. Каменских Т.Н., инженер Черемных К.М.

Согласовано: руководитель РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН,

д.б.н., профессор, академик Ившина И.Б.

Дата обновления: «12» января 2017 г.

Наименование исследования. Применение метода лиофилизации коллекционных культур алканотрофных актинобактерий с учетом структурных и физиолого-биохимических особенностей их клеток.

Назначение. Лиофилизация представляет собой высушивание клеток из состояния замороженной суспензии в вакуумной камере лиофилизатора путем сублимации. Способ сохранение стабилизацию обеспечивает гарантированное жизнеспособности первоначальных свойств чистых идентифицированных детально охарактеризованных культур алканотрофных актинобактерий. Преимущество метода заключается в снижении риска генетических изменений, что приводит к сохранению стабильном состоянии исходных свойств культур, возможности длительного сохранения микроорганизмов, удобстве при транспортировке. Недостатки метода трудоемкость, требование специального оборудования, низкая технологичность, ибо лиофилизи-рованные культуры не могут быть использованы сразу после регидратации – для восстановления их функциональной активности необходимо 2-3 пассажа в богатых питательных средах.

Этап 1 Проверка коллекционных культур на аутентичность в соответствии с требованиями СОП по проверке качества поддерживаемого фонда алканотрофных тинобактерий.

Этап 2 Выращивание бактериальных культур на адекватных агаризованных питательных средах в оптимальных условиях, обозначенных в Каталоге Коллекции ИЭГМ (http://www.iegmcol).

Этап 3 Клетки, находящиеся в начале стационарной фазы роста, суспендируют с помощью микровстряхивателя в 5 мл дистиллированной воды до начальной концентрации порядка 10^8-10^9 клеток/мл.

Этап 4 Стеклянные ампулы для лекарственных средств объемом 3,0 мл марки ШПВ-3, не менее 12 для каждой культуры, закрывают ватными тампонами, стерилизуют сухим жаром при 160 °C в течение 2 ч и маркируют с указанием номера штамма и даты (месяц, год) лиофилизации.

Этап 5 В качестве криопротектора используют стерильную сахарозо-желатино-агаровую среду (сахароза — 100 г, желатин — 15 г, агар-агар — 0,1 г, вода дистиллированная — 1000,0 мл).

Этап 6 В стерильные стеклянные ампулы (не менее 12 для каждой культуры) разливают по 0,1 мл бактериальной суспензии, добавляют по 0,1 мл сахарозо-желатино-агаровой среды и вновь закрывают ватными тампонами. Процедуру проводят в стерильных условиях.

Этап 7 Один образец бактериальной суспензии (0,1 мл) используют для определения жизнеспособности культуры перед лиофилизацией. При этом бактериальную взвесь помещают на поверхность агаризованной среды, обеспечивающей оптимальный рост культуры.

Этап 8 После 15-ти минутной эквилибрации содержимое ампулы замораживают путем погружения ее в жидкий азот (минус 196 °C).

Этап 9 Замороженные ампулы поочередно присоединяют к резиновым патрубкам на колонну лиофилизатора Alpha 1-2 LD при глубине вакуума не менее 0,12 mBar и высушивают в течение 24–30 ч.

Этап 10 По окончании сушки ампулы запаивают под вакуумом с помощью газовой горелки.

А. 3 Стандартная операционная процедура по криоконсервации культур алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов

Составитель: к.б.н. Каменских Т.Н., к.б.н. Елькин А.А.

Согласовано: руководитель РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН,

д.б.н., профессор, академик Ившина И.Б.

Дата обновления: «12» января 2017 г.

Наименование исследования. Применение метода криоконсервации (при минус 86 °C) коллекционных культур алканотрофных актинобактерий с учетом изученных структурных и физиолого-биохимических особенностей их клеток.

Назначение. Криоконсервация представляет собой замораживание бактериальных суспензий при температуре минус 86 °C. Способ обеспечивает гарантированное сохранение жизнеспособности и стабилизацию первоначальных свойств чистых идентифицированных детально охарактеризованных культур алканотрофных актинобактерий. Преимуществами метода являются исключение риска генетических изменений культур при долгосрочном хранении, малая вероятность заражения культуры, сохранение в стабильном состоянии исходных свойств микроорганизмов, небольшие временные и материальные затраты, а также возможность использовать замороженные образцы в качестве прямого инокулята.

Этап 1 Проверка коллекционных культур на аутентичность в соответствии с требованиями СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий.

Этап 2 Выращивание бактериальных культур на адекватных агаризованных питательных средах в оптимальных условиях, обозначенных в Каталоге Коллекции ИЭГМ (www.iegmcol).

Этап 3 Бактериальные клетки, находящиеся в начале стационарной фазы роста, суспендируют с помощью микровстряхивателя в 10 мл дистиллированной воды до начальной концентрации порядка $10^8 – 10^9$ клеток/мл.

Этап 4 Стерильные пластиковые криопробирки с винтовой крышкой объемом 2,0 мл (Simport) не менее 2-х для каждой коллекционной культуры маркируют с указанием номера штамма и даты (месяц, год) криоконсервации.

Этап 5 В качестве криопротектора используют 20% глицерин, который разливают в пробирки (20 мл) по 10 мл и стерилизуют автоклавированием при 1 атм. в течение 20 мин.

Этап 6 В стерильные криопробирки (не менее 2-х для каждой культуры) разливают по 0,9 мл бактериальной суспензии, добавляют по 0,9 мл 20% глицерина и закрывают крышками.

Этап 7 Полученную бактериальную взвесь (0,1 мл) используют для определения жизнеспособности культуры перед криоконсервацией. При этом бактериальную взвесь помещают на поверхность агаризованной среды, обеспечивающей оптимальный рост культуры.

Этап 8 После 15-ти минутной эквилибрации заполненные криопробирки помещают в пластиковые коробки с ячейками и приступают к низкотемпературному охлаждению с помощью Морозильника сверхнизких температур (Sanyo, Япония).

Этап 9 Перед использованием замороженный образец размораживают при комнатной температуре и проверяют жизнеспособность культуры с помощью Респирометра (Columbus, США).

Помнить: необходимо приступить к низкотемпературному охлаждению как можно быстрее, ибо бактериальную суспензию в криопротекторных средах нельзя хранить при комнатной температуре длительное время.

А. 4 Стандартная операционная процедура по контролю качества поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов

Составитель: д.б.н. Куюкина М.С.

Согласовано: руководитель РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН,

д.б.н., профессор, академик Ившина И.Б.

Дата обновления: «12» января 2017 г.

Наименование исследования. Контроль качества поддерживаемого фонда Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов.

Назначение. Проверка аутентичности коллекционных культур требуется периодически в процессе их длительного хранения различными методами и проводится параллельно с проверкой жизнеспособности и чистоты культур согласно СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий.

Этап 1 Коллекционная культура, принадлежащая к определенному таксону, поддерживается ответственным сотрудником-куратором, который ведет соответствующие записи по ее хранению в специальном журнале по хранению коллекционных штаммов. Журнал по хранению коллекционного фонда ведется исключительно по порядку присвоения уникальных номеров культурам, в связи с возможными изменениями научных наименований культуры в процессе ее поддержания в коллекции.

Этап 2 Записи о хранении коллекционной культуры должны содержать: номер штамма в коллекции, авторов видового названия и год описания вида, историю движения культуры до ее поступления в Коллекцию ИЭГМ в подробном описании (лицо и организацию, откуда получен штамм, под каким номером передавался, субстрат выделения, географическое местоположение выделения штамма), методы хранения культуры.

Этап 3 Каждый метод хранения культуры должен быть описан в журнале по хранению коллекционных штаммов стандартным образом: название метода, дата закладки, число имеющихся единиц хранения по данной закладке, температура хранения, место хранения, данные о жизнеспособности сразу после закладки на хранение, данные о жизнеспособности через определенные промежутки времени в процессе хранения с указанием даты проверки, число оставшихся единиц хранения после проверки жизнеспособности или выдачи пользователю, описание изменений морфологокультуральных признаков культуры в процессе хранения, фиксация возможных изменений биологической активности культуры в процессе хранения, в случае их определения.

Периодичность проверки жизнеспособности устанавливается опытным путем в процессе хранения культуры.

Этап 4 Каждая коллекционная культура должна храниться параллельно разными методами (не менее трех) во избежание ее потери в процессе хранения.

Этап 5 Каждая коллекционная культура должна храниться в основном и дубликатном фондах параллельно во избежание ее потери в результате возможных катастроф природного или искусственного происхождения.

Этап 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности каждой коллекционной культуры должны быть отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.

Этап 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования (рекомендуемая среда и температура, особенности газовой фазы, источников углерода и др.) должна быть указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

А. 5 Стандартная операционная процедура по коррекции нарушений качества поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов

Составитель: д.б.н. Куюкина М.С.

Согласовано: руководитель РПКАМОБН ИЭГМ УрО РАН,

д.б.н., профессор, академик Ившина И.Б.

Дата обновления: «12» января 2017 г.

Наименование исследования. Применение метода коррекции нарушений качества единиц хранения коллекционных культур (образцов штаммов) для обеспечения надлежащего качества поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий.

Назначение. Метод коррекции нарушений качества единиц хранения коллекционных культур представляет собой своевременное выявление и замену некачественных единиц хранения качественными (аутентичными) культурами, отвечающими видовым и паспортным свойствам, требованиям чистоты и жизнеспособности. Метод обеспечивает надлежащее качество поддерживаемого коллекционного фонда, гарантированное сохранение жизнеспособности и стабилизацию первоначальных свойств чистых идентифицированных детально охарактеризованных культур алканотрофных актинобактерий.

Этап 1 Проверка коллекционной культуры на аутентичность в соответствии с требованиями СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий.

Этап 2 При выявлении несоответствия признаков выбранного образца коллекционной культуры видовым и паспортным свойствам, требованиям чистоты и жизнеспособности проводится повторная экспертиза идентичного образца культуры, взятого из другой ампулы или криопробирки.

Этап 3 При выявлении несоответствия признаков повторного идентичного образца коллекционной культуры видовым и паспортным свойствам, требованиям чистоты и жизнеспособности проводится экспертиза образца данной культуры, взятого из другой партии (способа) хранения.

Этап 4 При выявлении несоответствия признаков образцов культуры видовым и паспортным свойствам, требованиям чистоты и жизнеспособности производится экспертиза образца культуры из дублирующей коллекции.

Этап 5 При выявлении соответствия признаков проверяемого образца культуры видовым и паспортным свойствам, требованиям чистоты и жизнеспособности данный

образец закладывается на хранение, а образцы культуры, не прошедшие проверку снимаются с хранения и в дальнейшем не используются в работе.

Этап 6 Результаты экспертизы качества коллекционных культур и замены некачественных единиц хранения регистрируются в журнале контроля качества поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий.

Помнить: необходимо осуществлять своевременную замену некачественных единиц хранения качественными (аутентичными) культурами с обязательной регистрацией произведенной замены в журнале контроля качества поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Результаты экспериментальной верификации стандартных операционных процедур (СОП)

Б. 1 Верификация СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов

Rhodococcus erythropolis ИЭГМ 10, ИЭГМ 20, ИЭГМ 186, ИЭГМ 200, ИЭГМ 204, ИЭГМ 270, ИЭГМ 487, ИЭГМ 708, ИЭГМ 767

1 Лиофилизированные штаммы *R. erythropolis* ИЭГМ 10 (от 21.04.1997), ИЭГМ 20 (от 23.11.2006), ИЭГМ 186 (от 30.05.2004), ИЭГМ 200 (от 14.02.1991), ИЭГМ 204 (от 15.03.1991), ИЭГМ 270 (от 18.06.1998), ИЭГМ 487 (от 30.05.2004), ИЭГМ 708 (от 17.12.1999), ИЭГМ 767 (от 28.04.2003) восстановили из ампул согласно вышеописанным рекомендациям.

Криоконсервированные штаммы R. erythropolis ИЭГМ 10 (от 14.05.2013), ИЭГМ 20 (от 14.05.2013), ИЭГМ 186 (от 14.05.2013), ИЭГМ 200 (от 24.05.2013), ИЭГМ 204 (от 24.05.2013), ИЭГМ 270 (от 18.06.2013), ИЭГМ 487 (от 18.06.13), ИЭГМ 708 (от 02.10.2013), ИЭГМ 767 (от 02.10.2013) восстановили из криопробирок согласно вышеописанным рекомендациям.

- 1.1 Восстановленные штаммы *R. erythropolis* ИЭГМ 10, ИЭГМ 20, ИЭГМ 186, ИЭГМ 200, ИЭГМ 204, ИЭГМ 270, ИЭГМ 487, ИЭГМ 708, ИЭГМ 767 со скошенного питательного агара засевали уколом в столбик с полужидким агаром для создания запасов рабочей культуры. Запас рабочей культуры хранится в отдельном холодильнике.
 - 1.2 Восполнение запасов рабочей культуры производилось каждые 3 месяца.
- 2 Проверка штаммов *R. erythropolis* ИЭГМ 10, ИЭГМ 20, ИЭГМ 186, ИЭГМ 200, ИЭГМ 204, ИЭГМ 270, ИЭГМ 487, ИЭГМ 708, ИЭГМ 767 на чистоту и жизнеспособность проводилась путем приготовления суспензий и последующего рассева петлей на агаризованные питательные среды. На стандартных лабораторных средах культуры формировали колонии мягкой консистенции без воздушного мицелия с палево-телесным не диффундирующим пигментом, что соответствовало культуральным признакам вида *R. erythropolis*.
- 3 Результаты проведенной проверки диссоциации (не превышала 25%) штаммов *R. erythropolis* ИЭГМ 10, ИЭГМ 20, ИЭГМ 186, ИЭГМ 200, ИЭГМ 204, ИЭГМ 270, ИЭГМ 487, ИЭГМ 708, ИЭГМ 767 свидетельствовали о возможности дальнейшего использования данных культур в работе.

- 4 Проведена оценка морфолого-культуральных, хемотаксономических и генетических свойств бактериальной культуры согласно паспортным данным.
- 4.1 Морфологические признаки клеток штаммов ИЭГМ 10, ИЭГМ 20, ИЭГМ 186, ИЭГМ 200, ИЭГМ 204, ИЭГМ 270, ИЭГМ 487, ИЭГМ 708, ИЭГМ 767 в окрашенных разбавленным метиленовым синим препаратах: клетки палочковидные, шириной 0,6–0,9 мкм, длиной 2–5 до 7–12 мкм; характерное v-образное и палисадное расположение клеток, наличие плеоморфизма, трехстадийный морфогенетический цикл развития (кокки палочки кокки) соответствовали видовым характеристикам *R. erythropolis*.
 - 4.2 Исследованные штаммы грамположительны.
- 4.3 В результате проведенных биохимических тестов установлено, что штаммы ИЭГМ 10, ИЭГМ 20, ИЭГМ 186, ИЭГМ 200, ИЭГМ 204, ИЭГМ 270, ИЭГМ 487, ИЭГМ 708, ИЭГМ 767 ферментировали ксилозу, сахарозу, усваиваивали ксилитол, инозит и молочную кислоту, не формировали кислоту из рамнозы, мелибиозы и мелезитозы, расщепляли эскулин, проявляли уреазную активность. Выявленные физиолого-биохимические свойства соответствовали паспортным характеристикам представителей вида *R. erythropolis*.
- 4.4 Штаммы ИЭГМ 10, ИЭГМ 20, ИЭГМ 186, ИЭГМ 200, ИЭГМ 204, ИЭГМ 270, ИЭГМ 487, ИЭГМ 708, ИЭГМ 767 характеризуются IV хемотипом клеточной стенки: тип дифференцирующих сахаров A, meso-ДАПК, миколовые кислоты (обнаружен липид LCN—A). Пептидогликан вариации $Al\gamma$ (аланин глутаминовая кислота meso-ДАПК с молярным соотношением 1,99:1,32:1,0 (2:1:1) и Р II типом фосфолипидов. Состав жирных кислот штаммов ИЭГМ 10, ИЭГМ 20, ИЭГМ 186, ИЭГМ 200, ИЭГМ 204, ИЭГМ 270, ИЭГМ 487, ИЭГМ 708, ИЭГМ 767, приведенный в таблице Б. 1.1, соответствовал видовым характеристикам R. erythropolis.

Таблица Б. 1.1 – Состав жирных кислот клеток коллекционных штаммов R. erythropolis

Жирные кислоты	Процентное содержание	Жирные кислоты	Процентное содержание
C _{12:0}	0,4-0,6	<i>cy</i> C _{17:0}	2,5–3,9
C _{13:0}	0,1-0,2	10Me C _{17:0}	_
C _{14:0}	5,8-7,4	C _{17:1}	0,9–3,1
C _{15:0}	1,3–1,9	C _{18:0}	6,4–13,1
C _{16:0}	30,0–32,2	10Me C _{18:0}	10,9–17,1
10Me C _{16:0}	0,1-1,2	C _{18:1}	15,2–21,2
C _{16:1}	6,8–10,8	C _{19:1}	0,6–3,0
C _{17:0}	1,0–1,5		

Примечание – Здесь и в таблицах Б. 1.1–1.5: знак «-» - не обнаружено.

- 4.5 Генетический анализ бактериальных штаммов ИЭГМ 10, ИЭГМ 20, ИЭГМ 186, ИЭГМ 200, ИЭГМ 204, ИЭГМ 270, ИЭГМ 487, ИЭГМ 708, ИЭГМ 767, проведенный на основании реакции ПЦР с использованием видоспецифических праймеров для *R. erythropolis*:
 - (Re1) 5' CGTCTAATACCGGATATGACCTCCTATC 3'
 - (Re2) 5' GCAAGCTAGCAGTTGAGCTGCTGGT 3',

подтвердил таксономическую принадлежность штаммов к R. erythropolis ATCC 4277 (ИЭГМ $7^{\rm T}$).

Rhodococcus fascians ИЭГМ 34, ИЭГМ 35, ИЭГМ 40

1 Лиофилизированные штаммы R. fascians ИЭГМ 34 (от 28.04.1991), ИЭГМ 35 (от 30.05.2004), ИЭГМ 40 (от 28.04.1991) восстановили из ампул согласно вышеописанным рекомендациям.

Криоконсервированные штаммы R. fascians ИЭГМ 34 (от 17.04.2013), ИЭГМ 35 (от 28.01.2013), ИЭГМ 40 (от 28.01.2013) восстановили из криопробирок согласно вышеописанным рекомендациям.

- 1.1 Восстановленные штаммы *R. fascians* ИЭГМ 34, ИЭГМ 35, ИЭГМ 40 со скошенного питательного агара засевали уколом в столбик с полужидким агаром для создания запасов рабочей культуры. Запас рабочей культуры хранится в отдельном холодильнике.
 - 1.2 Восполнение запасов рабочей культуры производилось каждые 3 месяца.
- 2 Проверка штаммов *R. fascians* ИЭГМ 34, ИЭГМ 35, ИЭГМ 40 на чистоту и жизнеспособность проводилась путем приготовления суспензий и последующего рассева петлей на агаризованные питательные среды. На стандартных лабораторных средах культуры формировали колонии мягкой консистенции без воздушного мицелия с интенсивно желтым не диффундирующим пигментом, что соответствовало культуральным признакам вида *R. fascians*.
- 3 Результаты проведенной проверки диссоциации (не превышала 25%) штаммов *R. fascians* ИЭГМ 34, ИЭГМ 35, ИЭГМ 40 свидетельствовали о возможности дальнейшего использования данных культур в работе.
- 4 Проведена оценка морфолого-культуральных, хемотаксономических и генетических свойств бактериальных штаммов согласно паспортным данным.
- 4.1 Морфологические признаки клеток штаммов ИЭГМ 34, ИЭГМ 35, ИЭГМ 40 в окрашенных разбавленным метиленовым синим препаратах: клетки палочковидные, шириной 0,6–0,9 мкм, длиной 2–5 до 7–12 мкм; характерное v-образное и палисадное

расположение клеток, наличие плеоморфизма, трехстадийный морфогенетический цикл развития (кокки – палочки – кокки) соответствовали видовым характеристикам *R. fascians*.

- 4.2 Исследованные штаммы грамположительны.
- 4.3 В результате проведенных биохимических тестов установлено, что штаммы ИЭГМ 34, ИЭГМ 35, ИЭГМ 40 ферментировали трегалозу, усваивали сорбитол, не формировали кислоту из лактозы, рамнозы, галактозы, целлобиозы, не использовали арабутин, *муо*-инозитол и натриевые соли γ -аминомасляной кислоты, не расщепляли эскулин. Выявленные физиолого-биохимические свойства бактериальных культур соответствовали паспортным характеристикам вида R. fascians.
- 4.4 Штаммы ИЭГМ 34, ИЭГМ 35, ИЭГМ 40 характеризуются IV хемотипом клеточной стенки: тип дифференцирующих сахаров A, *мезо*–ДАПК, миколовые кислоты (обнаружен липид LCN–A). Пептидогликан вариации АІү (аланин глутаминовая кислота *мезо*-ДАПК с молярным соотношением 1,99: 1,32: 1,0 (2:1:1) и Р II типом фосфолипидов. Состав жирных кислот штаммов ИЭГМ 34, ИЭГМ 35, ИЭГМ 40, представленный в таблице Б. 1.2, соответствовал видовым характеристикам *R. fascians*.

Таблица Б. 1.2 – Состав жирных кислот клеток коллекционных штаммов *R. fascians*

Жирные кислоты	Процентное содержание	Жирные кислоты	Процентное содержание
C _{12:0}	0,5–1,4	<i>cy</i> C _{17:0}	_
C _{13:0}	0,2-0,3	10Me C _{17:0}	0,1-1,0
C _{14:0}	4,1–5,6	C _{17:1}	1,7–1,9
C _{15:0}	2,3–4,2	C _{18:0}	5,0–5,9
C _{16:0}	34,4–35,6	10Me C _{18:0}	6,7-8,1
10Me C _{16:0}	0,1–0,4	C _{18:1}	25,3–28,0
C _{16:1}	10,8–11,1	C _{19:1}	1,0–1,3
C _{17:0}	0,8–1,3		

Rhodococcus opacus ИЭГМ 56, ИЭГМ 249

1 Лиофилизированные штаммы *R. opacus* ИЭГМ 56 (от 26.02.1999), ИЭГМ 249 (от 25.11.2014) восстановили из ампул согласно вышеописанным рекомендациям.

Криоконсервированные штаммы *R. opacus* ИЭГМ 56 (от 29.06.2012), ИЭГМ 249 (от 29.06.2012) восстановили из криопробирок согласно вышеописанным рекомендациям.

1.1 Восстановленные штаммы *R. орасиѕ* ИЭГМ 56, ИЭГМ 249 со скошенного питательного агара засевали уколом в столбик с полужидким агаром для создания запасов рабочей культуры. Запас рабочей культуры хранится в отдельном холодильнике.Восполнение запасов рабочей культуры производилось каждые 3 месяца.

- 2 Проверка штаммов *R. орасиз* ИЭГМ 56, ИЭГМ 249 на чистоту и жизнеспособность проводилась путем приготовления суспензий и последующего рассева петлей на агаризованные питательные среды. На стандартных лабораторных средах культуры формировали колонии мягкой консистенции без воздушного мицелия с палево-телесным не диффундирующим пигментом, что соответствовало культуральным признакам вида *R. орасия*.
- 3 Результаты проведенной проверки диссоциации (не превышала 25%) штаммов *R. орасиs* ИЭГМ 56, ИЭГМ 249 свидетельствовали о возможности дальнейшего использования данных культур в работе.
- 4 Проведена оценка морфолого-культуральных, хемотаксономических и генетических свойств бактериального штамма согласно паспортным данным.
- 4.1 Морфологические признаки штаммов ИЭГМ 56, ИЭГМ 249 в окрашенных разбавленным метиленовым синим препаратах: клетки палочковидные, шириной 0,6–0,9 мкм, длиной 2–5 до 7–12 мкм; характерное v-образное и палисадное расположение клеток, наличие плеоморфизма, трехстадийный морфогенетический цикл развития (кокки палочки кокки) соответствовали видовым характеристикам *R. opacus*.
 - 4.2 Исследованные штаммы грамположительны.
- 4.3 В результате проведенных биохимических тестов установлено, что штаммы ИЭГМ 56, ИЭГМ 249 ферментировали мелибиозу, сахарозу, мелезитозу, усваивали инозит и молочную кислоту, не формировали кислоту из рамнозы, ксилозы, не использовали ксилитол, не расщепляли эскулин, не проявляли уреазной активности. Выявленные физиолого-биохимические свойства бактериальных культур соответствовали паспортным характеристикам вида *R. opacus*.
- 4.4 Штаммы ИЭГМ 56, ИЭГМ 249 характеризуются IV хемотипом клеточной стенки: тип дифференцирующих сахаров A, *мезо*–ДАПК, миколовые кислоты (обнаружен липид LCN–A). Пептидогликан вариации *Aly* (аланин глутаминовая кислота *мезо*-ДАПК с молярным соотношением 1,99:1,32:1,0 (2:1:1) и Р II типом фосфолипидов. Состав жирных кислот (таблица Б. 1.3) штаммов ИЭГМ 34, ИЭГМ 35, ИЭГМ 40, соответствовал видовым характеристикам *R. opacus*.

Таблица Б. 1.3 – Состав жирных кислот клеток коллекционных штаммов *R. opacus*

Жирные кислоты	Процентное содержание	Жирные кислоты	Процентное содержание
C _{12:0}	0,2	<i>cy</i> C _{17:0}	_
C _{13:0}	0,1	10Me C _{17:0}	0,1–3,3

Продолжение Таблицы Б. 1.3

Жирные кислоты	Процентное содержание	Жирные кислоты	Процентное содержание
C _{14:0}	2,2–2,8	C _{17:1}	5,2–5,7
C _{15:0}	3,1–4,6	C _{18:0}	4,1–8,7
C _{16:0}	28,2–29,6	10Me C _{18:0}	9,9–13,0
10Me C _{16:0}	0,1-1,7	C _{18:1}	18,9–27,7
C _{16:1}	9,4–9,7	C _{19:1}	0,1-1,0
C _{17:0}	3,6–5,2		

- 4.5 Генетический анализ бактериальных культур ИЭГМ 56, ИЭГМ 249, проведенный на основании реакции ПЦР с использованием видоспецифических праймеров для *R. opacus*:
 - (Ro1) 5' TATGACCTTCGGCTGCATGGCTGAG 3'
 - (Ro2) 5' CCGTATCGCCTGGAAGCTCGAG 3',

подтвердил таксономическую принадлежность исследованных штаммов к R. opacus ATCC 51881 (ИЭГМ 716^T).

Rhodococcus rhodochrous ИЭГМ 63, ИЭГМ 66, ИЭГМ 608, ИЭГМ 647

1. Лиофилизированные штаммы *R. rhodochrous* ИЭГМ 63 (от 30.05.2004), ИЭГМ 66 (от 18.06.1998), ИЭГМ 608 (от 18.06.1998), ИЭГМ 647 (от 18.06.1998) восстановили из ампул согласно вышеописанным рекомендациям.

Криоконсервированные штаммы R. rhodochrous ИЭГМ 63 (от 23.11.2006), ИЭГМ 66 (от 13.01.2014), ИЭГМ 608 (от 13.01.14), ИЭГМ 647 (от 13.01.2014) восстановили из криопробирок согласно вышеописанным рекомендациям.

- 1.1 Восстановленные штаммы *R. rhodochrous* ИЭГМ 63, ИЭГМ 66, ИЭГМ 608, ИЭГМ 647 со скошенного питательного агара засевали уколом в столбик с полужидким агаром для создания запасов рабочей культуры. Запас рабочей культуры хранится в отдельном холодильнике.
 - 1.2 Восполнение запасов рабочей культуры производилось каждые 3 месяца.
- 2 Проверка штаммов *R. rhodochrous* ИЭГМ 63, ИЭГМ 66, ИЭГМ 608, ИЭГМ 647 на чистоту и жизнеспособность проводилась путем приготовления суспензий и последующего рассева петлей на агаризованные питательные среды. На стандартных лабораторных средах Исследованные культуры формировали колонии мягкой консистенции без воздушного мицелия с розовато-красным не диффундирующим пигментом, что соответствовало культуральным признакам вида *R. rhodochrous*.

- 3 Результаты проведенной проверки диссоциации (не превышала 25%) штаммов *R. rhodochrous* ИЭГМ 63, ИЭГМ 66, ИЭГМ 608, ИЭГМ 647 свидетельствовали о возможности дальнейшего использования данных культур в работе.
- 4 Проведена оценка морфолого-культуральных, хемотаксономических и генетических свойств бактериальной культуры согласно паспортным данным.
- 4.1 Морфологические признаки клеток штаммов ИЭГМ 63, ИЭГМ 66, ИЭГМ 608, ИЭГМ 647 в окрашенных разбавленным метиленовым синим препаратах: клетки палочковидные, шириной 0,6–0,9 мкм, длиной 2–5 до 7–12 мкм; характерное v-образное и палисадное расположение клеток, наличие плеоморфизма, трехстадийный морфогенетический цикл развития (кокки ветвящиеся клетки кокки) соответствовали видовым характеристикам *R. rhodochrous*.
 - 4.2 Исследованные штаммы грамположительны.
- 4.3 В результате проведенных биохимических тестов установлено, что штаммы ИЭГМ 63, ИЭГМ 66, ИЭГМ 608, ИЭГМ 647 ферментировали маннозу, глюкозу, расщепляли эскулин, проявляли каталазную активность, не формировали кислоту из сахарозы, усваивали натриевые соли α -кетоглутаровой кислоты, но не γ -аминомасляной. Выявленные физиологобиохимические свойства бактериальных культур соответствовали паспортным характеристикам вида R. rhodochrous.
- 4.4 Штаммы ИЭГМ 63, ИЭГМ 66, ИЭГМ 608, ИЭГМ 647 характеризуются IV хемотипом клеточной стенки: тип дифференцирующих сахаров A, мезо–ДАПК, миколовые кислоты (обнаружен липид LCN–A). Пептидогликан вариации $Al\gamma$ (аланин глутаминовая кислота мезо-ДАПК с молярным соотношением 1,99:1,32:1,0 (2:1:1) и Р II типом фосфолипидов. Состав жирных кислот штаммов ИЭГМ 63, ИЭГМ 66, ИЭГМ 608, ИЭГМ 647, представленный в таблице Б. 1.4, соответствовал видовым характеристикам R. rhodochrous.

Таблица Б. 1.4 – Состав жирных кислот клеток коллекционных штаммов *R. rhodochrous*

Жирные кислоты	Процентное содержание	Жирные кислоты	Процентное содержание
C _{12:0}	1,6–1,8	<i>cy</i> C _{17:0}	_
C _{13:0}	0,1–0,6	10Me C _{17:0}	_
C _{14:0}	3,8–4,5	C _{17:1}	3,6–4,4
C _{15:0}	2,6–3,5	C _{18:0}	7,9–8,3
C _{16:0}	31,2–33,1	10Me C _{18:0}	6,9–7,9
10Me C _{16:0}	4,5–6,8	C _{18:1}	13,6–18,2
C _{16:1}	11,8–14,7	C _{19:1}	_

Жирные кислоты	Процентное содержание	Жирные кислоты	Процентное содержание
C _{17:0}	1,1–2,9		

- 4.5 Генетический анализ бактериальных культур ИЭГМ 63, ИЭГМ 66, ИЭГМ 608, ИЭГМ 647, проведенный на основании реакции ПЦР с использованием видоспецифических праймеров для *R. rhodochrous*:
 - (Rr1) 5' GAGGGGTGGAAAGTTTTTCGGTGCAGGATGA 3'
 - (Rr2) 5' AGCCATGCACCACCTGTCTACCGG 3',

подтвердил таксономическую принадлежность исследованных штаммов к R. rhodochrous ATCC 13808 (ИЭГМ $62^{\rm T}$).

Rhodococcus ruber ИЭГМ 219, ИЭГМ 230, ИЭГМ 231, ИЭГМ 235, ИЭГМ 326, ИЭГМ 327, ИЭГМ 338, ИЭГМ 346

1. Лиофилизированные штаммы *R. ruber* ИЭГМ 219 (от 07.12.2011), ИЭГМ 230 (от 30.05.2005), ИЭГМ 231 (от 13.09.2007), ИЭГМ 235 (от 23.05.2005), ИЭГМ 326 (от 24.05.2007), ИЭГМ 327 (от 24.06.2014), ИЭГМ 338 (от 23.05.2005), ИЭГМ 346 (от 20.05.1998) восстановили из ампул согласно вышеописанным рекомендациям.

Криоконсервированные штаммы R. ruber ИЭГМ 219 (от 02.02.2004), ИЭГМ 230 (от 23.06.2014), ИЭГМ 231 (от 02.02.2014), ИЭГМ 235 (от 15.01.2009), ИЭГМ 326 (от 15.01.09), ИЭГМ 327 (от 23.06.2014), ИЭГМ 338 (от 19.06.2014), ИЭГМ 346 (от 15.01.09) восстановили из криопробирок согласно вышеописанным рекомендациям.

- 1.1 Восстановленные штаммы *R. ruber* ИЭГМ 219, ИЭГМ 230, ИЭГМ 231, ИЭГМ 235, ИЭГМ 326, ИЭГМ 327, ИЭГМ 338, ИЭГМ 346 со скошенного питательного агара засевали уколом в столбик с полужидким агаром для создания запасов рабочей культуры. Запас рабочей культуры хранится в отдельном холодильнике.
 - 1.2 Восполнение запасов рабочей культуры производилось каждые 3 месяца.
- 2 Проверка штаммов *R. ruber* ИЭГМ 219, ИЭГМ 230, ИЭГМ 231, ИЭГМ 235, ИЭГМ 326, ИЭГМ 327, ИЭГМ 338, ИЭГМ 346 на чистоту и жизнеспособность проводилась путем приготовления суспензий и последующего рассева петлей на агаризованные питательные среды. На стандартных лабораторных средах Исследованные культуры формировали колонии мягкой консистенции без воздушного мицелия с оранжево-красным не диффундирующим пигментом, что соответствовало культуральным признакам вида *R. ruber*.
- 3 Результаты проведенной проверки диссоциации (не превышала 25%) штаммов *R. ruber* ИЭГМ 219, ИЭГМ 230, ИЭГМ 231, ИЭГМ 235, ИЭГМ 326, ИЭГМ 327, ИЭГМ 338,

ИЭГМ 346 свидетельствовали о возможности дальнейшего использования данных культур в работе.

- 4 Проведена оценка морфолого-культуральных, хемотаксономических и генетических свойств бактериальной культуры согласно паспортным данным.
- 4.1 Морфологические признаки клеток штаммов ИЭГМ 219, ИЭГМ 230, ИЭГМ 231, ИЭГМ 235, ИЭГМ 326, ИЭГМ 327, ИЭГМ 338, ИЭГМ 346 в окрашенных разбавленным метиленовым синим препаратах: клетки палочковидные, шириной 0,6–0,9 мкм, длиной 2–5 до 7–12 мкм; характерное v-образное и палисадное расположение клеток, наличие плеоморфизма, трехстадийный морфогенетический цикл развития (кокки ветвящиеся клетки кокки) соответствовали видовым характеристикам *R. ruber*.
 - 4.2 Исследованные штаммы грамположительны.
- 4.3 В результате проведенных биохимических тестов установлено, что штаммы ИЭГМ 219, ИЭГМ 230, ИЭГМ 231, ИЭГМ 235, ИЭГМ 326, ИЭГМ 327, ИЭГМ 338, ИЭГМ 346 ферментировали глюкозу, сахарозу, не формировали кислоту из маннозы, усваивали натриевые соли γ -аминомасляной кислоты, но не α -кетоглутаровой, не расщепляли эскулин, не проявляли каталазной активности. Выявленные физиолого-биохимические свойства бактериальных культур соответствовали паспортным характеристикам вида $R.\ ruber$.
- 4.4 Штаммы ИЭГМ 219, ИЭГМ 230, ИЭГМ 231, ИЭГМ 235, ИЭГМ 326, ИЭГМ 327, ИЭГМ 338, ИЭГМ 346 характеризуются IV хемотипом клеточной стенки: тип дифференцирующих сахаров A, мезо–ДАПК, миколовые кислоты (обнаружен липид LCN–A). Пептидогликан вариации $Al\gamma$ (аланин глутаминовая кислота meso-ДАПК с молярным соотношением 1,99:1,32:1,0 (2:1:1) и Р II типом фосфолипидов. Состав жирных кислот (таблице Б. 1.5) штаммов ИЭГМ 219, ИЭГМ 230, ИЭГМ 231, ИЭГМ 235, ИЭГМ 326, ИЭГМ 327, ИЭГМ 338, ИЭГМ 346 соответствовал видовым характеристикам $R.\ ruber$.

Таблица Б. 1.5 – Состав жирных кислот клеток коллекционных штаммов R. ruber

Жирные кислоты	Процентное содержание	Жирные кислоты	Процентное содержание
C _{12:0}	0,1–0,4	<i>cy</i> C _{17:0}	_
C _{13:0}	0,1-0,2	10Me C _{17:0}	_
C _{14:0}	0,8–1,5	C _{17:1}	0,3–0,5
C _{15:0}	0,3–1,0	C _{18:0}	16,4–20,1
C _{16:0}	27,0–30,0	10Me C _{18:0}	0,9–3,1
10Me C _{16:0}	_	C _{18:1}	37,5–40,2
C _{16:1}	3,8–6,7	C _{19:1}	_
C _{17:0}	1,0–1,5		

- 4.5 Генетический анализ бактериальных культур ИЭГМ 219, ИЭГМ 230, ИЭГМ 231, ИЭГМ 235, ИЭГМ 326, ИЭГМ 327, ИЭГМ 338, ИЭГМ 346, проведенный на основании реакции ПЦР с использованием видоспецифических праймеров для *R. ruber*:
 - (Rr1) 5' GTCTAATACCGGATAGGACCTCGGGA 3'
 - (Rr2) 5' TACCGTCACTTGCGCTTCGTCGGTAC 3',

подтвердил таксономическую принадлежность исследованных штаммов к R. ruber ATCC 27863 (ИЭГМ $70^{\rm T}$).

Gordonia alkanivorans ИЭГМ 748

1. Лиофилизированный штамм *G. alkanivorans* ИЭГМ 748 (от 01.10.2007) восстановили из ампул согласно вышеописанным рекомендациям.

Криоконсервированный штамм *G. alkanivorans* ИЭГМ 748 (от 22.02.2012) восстановили из криопробирок согласно вышеописанным рекомендациям.

- 1.1 Восстановленный штамм *G. alkanivorans* ИЭГМ 748 со скошенного питательного агара засевали уколом в столбик с полужидким агаром для создания запасов рабочей культуры. Запас рабочей культуры хранится в отдельном холодильнике.
 - 1.2 Восполнение запасов рабочей культуры производилось каждые 3 месяца.
- 2 Проверка штамма *G. alkanivorans* ИЭГМ 748 на чистоту и жизнеспособность проводилась путем приготовления суспензий и последующего рассева петлей на агаризованные питательные среды. На стандартных лабораторных средах культура образовывала колонии мягкой консистенции без воздушного мицелия с оранжево-красным не диффундирующим пигментом, что соответствовало культуральным признакам вида *G. alkanivorans*.
- 3 Результаты проведенной проверки диссоциации (не превышала 25 %) штамма *G. alkanivorans* ИЭГМ 748 свидетельствовали о возможности дальнейшего использования данной культуры в работе.
- 4 Проведена оценка морфолого-культуральных, хемотаксономических и генетических свойств бактериальной культуры согласно паспортным данным.
- 4.1 Морфологические признаки бактериальных клеток в окрашенных разбавленным метиленовым синим препаратах: клетки палочковидные, длиной 0,3–0,5 до 1,0–2,3 мкм; характерное v-образное и палисадное расположение клеток, наличие плеоморфизма, трехстадийный морфогенетический цикл развития (кокки палочки кокки) соответствовали видовым характеристикам *G. alkanivorans*.
 - 4.2 Штамм грамположительный.
- 4.3 В результате проведенных биохимических тестов установлено, что штамм ИЭГМ 748 ферментирует глюкозу, фруктозу, сахарозу, ксилозу, маннозу, усваивает маннит, не

образует кислоту из лактозы, арабинозы, рамнозы, трегалозы, не расщепляет эскулин, не проявляет каталазную активность. Выявленные физиолого-биохимические свойства бактериальной культуры соответствовали паспортным характеристикам вида *G. alkanivorans*.

4.4 Штамм ИЭГМ 748 характеризуется IV хемотипом клеточной стенки: тип дифференцирующих сахаров A, мезо-ДАПК, миколовые кислоты (обнаружен липид LCN–A). Пептидогликан вариации $Al\gamma$ (аланин – глутаминовая кислота – мезо-ДАПК с молярным соотношением 1,99:1,32:1,0 (2:1:1) и Р II типом фосфолипидов.

Gordonia rubripertincta ИЭГМ 96, ИЭГМ 731

1. Лиофилизированные штаммы *G. rubripertincta* ИЭГМ 96 (от 17.12.1999), ИЭГМ 731 (от 18.05.2000) восстановили из ампул согласно вышеописанным рекомендациям.

Криоконсервированные штаммы *G. rubripertincta* ИЭГМ 96 (от 01.02.2013), ИЭГМ 731 (от 24.05.2013) восстановили из криопробирок согласно вышеописанным рекомендациям.

- 1.1 Восстановленные штаммы *G. rubripertincta* ИЭГМ 96, ИЭГМ 731 со скошенного питательного агара засевали уколом в столбик с полужидким агаром для создания запасов рабочей культуры. Запас рабочей культуры хранится в отдельном холодильнике.
 - 1.2 Восполнение запасов рабочей культуры производилось каждые 3 месяца.
- 2 Проверка штаммов *G. rubripertincta* ИЭГМ 96, ИЭГМ 731 на чистоту и жизнеспособность проводилась путем приготовления суспензий и последующего рассева петлей на агаризованные питательные среды. На стандартных лабораторных средах культура образовывала колонии мягкой консистенции без воздушного мицелия с оранжево-красным не диффундирующим пигментом, что соответствовало культуральным признакам вида *G. rubripertincta*.
- 3 Результаты проведенной проверки диссоциации (не превышала 25%) штаммов *G. rubripertincta* ИЭГМ 96, ИЭГМ 731 свидетельствовали о возможности дальнейшего использования их в работе.
- 4 Проведена оценка морфолого-культуральных, хемотаксономических и генетических свойств бактериальной культуры согласно паспортным данным.
- 4.1 Морфологические признаки штаммов ИЭГМ 96, ИЭГМ 731 в окрашенных разбавленным метиленовым синим препаратах: клетки палочковидные, длиной 0,3–0,5 до 1,0–2,3 мкм; характерное v-образное и палисадное расположение клеток, наличие плеоморфизма, трехстадийный морфогенетический цикл развития (кокки палочки кокки) соответствовали видовым характеристикам *G. rubripertincta*.
 - 4.2 Штаммы грамположительны.

- 4.3 В результате проведенных биохимических тестов установлено, что штаммы ИЭГМ 96, ИЭГМ 731 ферментировали глюкозу, фруктозу, рамнозу, сахарозу, трегалозу, усваивали маннит, не образуют кислоту из лактозы, арабинозы, ксилозы, не расщепляли эскулин, не проявляли каталазной активности. Выявленные физиолого-биохимические свойства бактериальной культуры соответствовали паспортным характеристикам вида *G. rubripertincta*.
- 4.4 Штаммы ИЭГМ 96, ИЭГМ 731 характеризуется IV хемотипом клеточной стенки: тип дифференцирующих сахаров A, *мезо*-ДАПК, миколовые кислоты (обнаружен липид LCN–A). Пептидогликан вариации $Al\gamma$ (аланин глутаминовая кислота *мезо*-ДАПК с молярным соотношением 1,99:1,32:1,0 (2:1:1) и Р II типом фосфолипидов.

Gordonia terrae ИЭГМ 136

1. Лиофилизированный штамм *G. terrae* ИЭГМ 136 (от 10.07.1989) восстановили из ампул согласно вышеописанным рекомендациям.

Криоконсервированный штамм *G. terrae* ИЭГМ 136 (от 19.04.2013) восстановили из криопробирок согласно вышеописанным рекомендациям.

- 1.1 Восстановленный штамм *G. terrae* ИЭГМ 136 со скошенного питательного агара засевали уколом в столбик с полужидким агаром для создания запасов рабочей культуры. Запас рабочей культуры хранится в отдельном холодильнике.
 - 1.2 Восполнение запасов рабочей культуры производилось каждые 3 месяца.
- 2 Проверка штамма *G. terrae* ИЭГМ 136 на чистоту и жизнеспособность проводилась путем приготовления суспензий и последующего рассева петлей на агаризованные питательные среды. На стандартных лабораторных средах исследуемая культура образовывала колонии мягкой консистенции без воздушного мицелия с оранжево-красным не диффундирующим пигментом, что соответствовало культуральным признакам вида *G. terrae*.
- 3 Результаты проведенной проверки диссоциации (не превышала 25 %) штамма *G. terrae* ИЭГМ 136 свидетельствовали о возможности дальнейшего использования данных культур в работе.
- 4 Проведена оценка морфолого-культуральных, хемотаксономических и генетических свойств бактериальной культуры согласно паспортным данным.
- 4.1 Морфологические признаки бактериальных клеток штамма ИЭГМ 136 в окрашенных разбавленным метиленовым синим препаратах: клетки палочковидные длиной 0,3–0,5 до 1,0–2,3 мкм; характерное v-образное и палисадное расположение клеток, наличие плеоморфизма, трехстадийный морфогенетический цикл развития (кокки палочки кокки) соответствовали видовым характеристикам *G. terrae*.

- 4.2 Штамм грамположительный.
- 4.3 В результате проведенных биохимических тестов установлено, что штамм ИЭГМ 136 ферментировал глюкозу, фруктозу, рамнозу, сахарозу, трегалозу, усваивал маннит, не образовывал кислоту из лактозы, арабинозы, ксилозы, гидролизовал эскулин, проявлял каталазную активность. Выявленные физиолого-биохимические свойства бактериальной культуры соответствовали паспортным характеристикам вида *G. terrae*.
- 4.4 Штамм ИЭГМ 136 характеризуется IV хемотипом клеточной стенки: тип дифференцирующих сахаров A, мезо-ДАПК, миколовые кислоты (обнаружен липид LCN–A). Пептидогликан вариации $Al\gamma$ (аланин глутаминовая кислота мезо-ДАПК с молярным соотношением 1,99:1,32:1,0 (2:1:1) и Р II типом фосфолипидов.

Б. 2 Верификация СОП по лиофилизации культур алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов

Штамм *G. alkanivorans* ИЭГМ 748 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 13.02.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей Стандартной операционной процедуре.

Штамм *G. rubripertincta* ИЭГМ 96 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 13.02.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *G. rubripertincta* ИЭГМ 731 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 15.02.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *G. terrae* ИЭГМ 136 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 15.02.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 10 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 20.03.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 20 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 20.03.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 186 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 22.03.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания

и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 200 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 22.03.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 204 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 06.04.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка культуры на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 270 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 06.04.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 487 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 06.04.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 708 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 11.04.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 767 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 11.04.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. fascians* ИЭГМ 34 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 14.04.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и

высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. fascians* ИЭГМ 35 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 14.04.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. fascians* ИЭГМ 40 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 14.04.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. opacus* ИЭГМ 56 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 15.05.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. opacus* ИЭГМ 249 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 15.05.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 63 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 31.05.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 66 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 31.05.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 608 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 05.06.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания

и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 647 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 31.05.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 219 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 08.06.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 230 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 08.06.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 231 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 31.05.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 235 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 08.06.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 326 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 21.08.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 327 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 21.08.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и

высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 338 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 04.12.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 346 помещен на хранение в лиофилизированном состоянии 04.12.2017 г. Бактериальные клетки, высушенные путем глубокого замораживания и высушивания (лиофилизации) в присутствии криопротектора (сахарозо-желатиновой среды), хранятся в стеклянных запаянных ампулах. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей процедуре.

Б. 3 Верификация СОП по криоконсервации культур алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов

Штамм *G. alkanivorans* ИЭГМ 748 помещен на криохранение 06.04.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86°C. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *G. alkanivorans* ИЭГМ 748 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение пяти и более лет.

Штамм *G. rubripertincta* ИЭГМ 96 помещен на криохранение 06.04.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86°C. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *G. rubripertincta* ИЭГМ 96 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *G. rubripertincta* ИЭГМ 731 помещен на криохранение 11.04.2017 г. Бактериальная суспензия ИЭГМ 731 хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86°С. Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *G. rubripertincta* ИЭГМ 731 в присутствии криопротектора при температуре -86°С обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *G. terrae* ИЭГМ 136 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 11.04.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *G. terrae* ИЭГМ 136 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 10 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 14.04.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. erythropolis* ИЭГМ 10 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 20 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 14.04.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. erythropolis* ИЭГМ 20 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 186 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 14.04.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. erythropolis* ИЭГМ 186 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 200 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 31.05.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. erythropolis* ИЭГМ 200 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 204 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 31.05.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. erythropolis* ИЭГМ 204 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение трех и более лет.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 270 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 31.05.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. erythropolis* ИЭГМ 270 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 487 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 31.05.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. erythropolis* ИЭГМ 487 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 708 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 05.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. erythropolis* ИЭГМ 708 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм бактерии *R. erythropolis* ИЭГМ 767 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 05.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. erythropolis* ИЭГМ 767 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *R. fascians* ИЭГМ 34 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 05.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. fascians* ИЭГМ 34 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *R. fascians* ИЭГМ 35 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 08.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. fascians* ИЭГМ 35 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *R. fascians* ИЭГМ 40 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 08.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. fascians* ИЭГМ 40 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *R. opacus* ИЭГМ 56 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 08.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. opacus* ИЭГМ 56 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение пяти и более лет.

Штамм *R. opacus* ИЭГМ 249 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 13.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. opacus* ИЭГМ 249 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение пяти и более лет.

Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 63 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 13.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. rhodochrous* ИЭГМ 63 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение одиннадцати и более лет.

Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 66 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 13.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. rhodochrous* ИЭГМ 66 в присутствии криопротектора при температуре -86 °C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение трех и более лет.

Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 608 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 15.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. rhodochrous* ИЭГМ 608 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение трех и более лет.

Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 647 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 15.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. rhodochrous* ИЭГМ 647 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение трех и более лет.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 219 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 19.07.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. ruber* ИЭГМ 219 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение трех и более лет.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 230 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 19.07.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. ruber* ИЭГМ 230 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение трех и более лет.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 231 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 02.02.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. ruber* ИЭГМ 231 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение трех и более лет.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 235 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 07.02.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. ruber* ИЭГМ 235 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение трех и более лет.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 326 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 07.02.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. ruber* ИЭГМ 326 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение трех и более лет.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 327 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 07.02.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. ruber* ИЭГМ 327 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение трех и более лет.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 338 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 07.02.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. ruber* ИЭГМ 338 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение трех и более лет.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 346 помещен на криохранение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 07.02.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °C. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей СОП. Хранение бактериальных клеток *R. ruber* ИЭГМ 346 в присутствии криопротектора при температуре -86°C обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение трех и более лет.

Б. 4 Верификация СОП по контролю качества поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов

Gordonia alkanivorans Kummer et al. 1999. Номер штамма: ИЭГМ 748

- 1 Штамм *G. alkanivorans* ИЭГМ 748 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием 0-1. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из ризосферы мать-и-мачехи обыкновенной (*Tussilago farfara*), Пермь, Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *G. alkanivorans* ИЭГМ 748 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *G. alkanivorans* ИЭГМ 748 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *G. alkanivorans* ИЭГМ 748 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *G. alkanivorans* ИЭГМ 748 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *G. alkanivorans* ИЭГМ 748 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Gordonia rubripertincta (Hefferan 1904) Stackebrandt et al. 1989. Номер штамма: ИЭГМ 96

- 1 Штамм *G. rubripertincta* ИЭГМ 96 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием УКМ Ас-171. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из почвы, пропитанной нефтью, Украина. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *G. rubripertincta* ИЭГМ 96 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *G. rubripertincta* ИЭГМ 96 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм G. rubripertincta ИЭГМ 96 хранится в основном и дубликатном фондах.

6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *G. rubripertincta* ИЭГМ 96 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.

7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *G. rubripertincta* ИЭГМ 96 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Gordonia rubripertincta (Hefferan 1904) Stackebrandt et al. 1989. Номер штамма: ИЭГМ 731

- 1 Штамм *G. rubripertincta* ИЭГМ 731 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием Ве С23. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из пены аэротенка очистных сооружений химического завода, Ирвин, Шотландия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *G. rubripertincta* ИЭГМ 731 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *G. rubripertincta* ИЭГМ 731 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *G. rubripertincta* ИЭГМ 731 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *G. rubripertincta* ИЭГМ 731 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *G. rubripertincta* ИЭГМ 731 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Gordonia terrae (Tsukamura 1971) Stackebrandt et al. 1989. Номер штамма: ИЭГМ 136

- 1 Штамм *G. terrae* ИЭГМ 136 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием УКМ Ас-211. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из нефтезагрязненной почвы, Украина. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.

- 3 Методы хранения *G. terrae* ИЭГМ 136 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *G. terrae* ИЭГМ 136 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *G. terrae* ИЭГМ 136 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6. Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *G. terrae* ИЭГМ 136 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования G. terrae ИЭГМ 136 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus erythropolis (Gray and Thornton 1928) Goodfellow and Alderson 1979. Номер штамма: ИЭГМ 10

- 1 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 10 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием УКМ Ас-96. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из почвы, пропитанной нефтью, Украина. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. erythropolis* ИЭГМ 10 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 10 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм R. erythropolis ИЭГМ 10 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. erythropolis* ИЭГМ 10 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. erythropolis* ИЭГМ 10 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus erythropolis (Gray and Thornton 1928) Goodfellow and Alderson 1979. Номер штамма: ИЭГМ 20

1 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 20 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.

- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием УКМ Ас-63. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из почвы, пропитанной нефтью, Украина. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. erythropolis* ИЭГМ 20 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 20 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм R. erythropolis ИЭГМ 20 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. erythropolis* ИЭГМ 20 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. erythropolis* ИЭГМ 20 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus erythropolis (Gray and Thornton 1928) Goodfellow and Alderson 1979. Номер штамма: ИЭГМ 186

- 1 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 186 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием БК4R. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из речной воды Камского водохранилища. Пермская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения культуры *R. erythropolis* ИЭГМ 186 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 186 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 186 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. erythropolis* ИЭГМ 186 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. erythropolis* ИЭГМ 186 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus erythropolis (Gray and Thornton 1928) Goodfellow and Alderson 1979. Номер штамма: ИЭГМ 200

1 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 200 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.

- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием ОЭГМ 253-3. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из воды наблюдательной гидрогеологической скважины, р-н Чашкинского нефтепромысла, Пермская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. erythropolis* ИЭГМ 200 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 200 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм R. erythropolis ИЭГМ 200 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. erythropolis* ИЭГМ 200 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. erythropolis* ИЭГМ 200 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus erythropolis (Gray and Thornton 1928) Goodfellow and Alderson 1979. Номер штамма: ИЭГМ 204

- 1 Штамм *R. erythropolis* 204 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием ОЭГМ 22-2R. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из воды наблюдательной гидрогеологической скважины, р-н Уньвинского нефтепромысла, Пермская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. erythropolis* ИЭГМ 204 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 204 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.

- 5 Штамм R. erythropolis ИЭГМ 204 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. erythropolis* ИЭГМ 204 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. erythropolis* ИЭГМ 204 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus erythropolis (Gray and Thornton 1928) Goodfellow and Alderson 1979. Номер штамма: ИЭГМ 270

- 1 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 270 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием П8 15-1. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из почвы, пропитанной нефтью, р-н нефтепромысла, Пермская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. erythropolis* ИЭГМ 270 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 270 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 270 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6. Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. erythropolis* ИЭГМ 270 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. erythropolis* ИЭГМ 270 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus erythropolis (Gray and Thornton 1928) Goodfellow and Alderson 1979. Номер штамма: ИЭГМ 487

- 1 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 487 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием Ба-12. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из донного отложения оз. Байкал, Иркутская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.

- 3 Методы хранения *R. erythropolis* ИЭГМ 487 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 487 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 487 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. erythropolis* ИЭГМ 487 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. erythropolis* ИЭГМ 487 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus erythropolis (Gray and Thornton 1928) Goodfellow and Alderson 1979. Номер штамма: ИЭГМ 708

- 1 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 708 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием П947 Ш-3. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из битумного сланца в районе нефтедобычи, Полазна, Пермская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения культуры *R. erythropolis* ИЭГМ 708 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 708 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм R. erythropolis ИЭГМ 708 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. erythropolis* ИЭГМ 708 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. erythropolis* ИЭГМ 708 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus erythropolis (Gray and Thornton 1928) Goodfellow and Alderson 1979. Номер штамма: ИЭГМ 767

- 1 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 767 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием П-2. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из нефтешлама, Пермская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. erythropolis* ИЭГМ 767 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 767 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 767 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. erythropolis* ИЭГМ 767 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. erythropolis* ИЭГМ 767 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus fascians (Tilford 1936) Goodfellow 1984. Номер штамма: ИЭГМ 34

- 1 Штамм *R. fascians* ИЭГМ 34 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием УКМ Ас-270. Географическое местоположение выделения штамма: выделен с кожи карпа. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. fascians* ИЭГМ 34 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. fascians* ИЭГМ 34 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. fascians* ИЭГМ 34 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. fascians* ИЭГМ 34 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.

7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. fascians* ИЭГМ 34 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus fascians (Tilford 1936) Goodfellow 1984. Номер штамма: ИЭГМ 35

- 1 Штамм *R. fascians* ИЭГМ 35 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием H788-3. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из пластовой воды нефтяного месторождения, Пермская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. fascians* ИЭГМ 35 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. fascians* ИЭГМ 35 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. fascians* ИЭГМ 35 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. fascians* ИЭГМ 35 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. fascians* ИЭГМ 35 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus fascians (Tilford 1936) Goodfellow 1984. Номер штамма: ИЭГМ 40

- 1 Штамм *R. fascians* ИЭГМ 40 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием H753-2y. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из пластовой воды нефтяного месторождения, Пермская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. fascians* ИЭГМ 40 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.

- 4 Штамм *R. fascians* ИЭГМ 40 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. fascians* ИЭГМ 40 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. fascians* ИЭГМ 40 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. fascians* ИЭГМ 40 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus opacus Klatte et al. 1995. Номер штамма: ИЭГМ 56

- 1 Штамм *R. opacus* ИЭГМ 56 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием УКМ Ас-375. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из почвы лесополосы, Херсонская обл., Украина. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. opacus* ИЭГМ 56 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. opacus* ИЭГМ 56 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. opacus* ИЭГМ 56 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. opacus* ИЭГМ 56 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. opacus* ИЭГМ 56 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus opacus Klatte et al. 1995. Номер штамма: ИЭГМ 249

- 1 Штамм *R. opacus* ИЭГМ 249 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием ДСС-49. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из почвы на территории производства полиэфирного волокна лавсана, Беларусь. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.

- 3 Методы хранения культуры *R. opacus* ИЭГМ 249 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. opacus* ИЭГМ 249 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. opacus* ИЭГМ 249 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. opacus* ИЭГМ 249 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.

7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. opacus* ИЭГМ 249 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus rhodochrous (Zopf 1891) Tsukamura 1974. Номер штамма: ИЭГМ 63

- 1 Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 63 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием Ac-285. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из воды, Украина. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. rhodochrous* ИЭГМ 63 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 63 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм R. rhodochrous ИЭГМ 63 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. rhodochrous* ИЭГМ 63 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. rhodochrous* ИЭГМ 63 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus rhodochrous (Zopf 1891) Tsukamura 1974. Номер штамма: ИЭГМ 66

- 1 Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 66 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: получен под наименованием IMET 7022. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. rhodochrous* ИЭГМ 66 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 66 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 66 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. rhodochrous* ИЭГМ 66 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. rhodochrous* ИЭГМ 66 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus rhodochrous (Zopf 1891) Tsukamura 1974. Номер штамма: ИЭГМ 608

- 1 Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 608 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием БН 49. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из воды, Березники, Пермская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. rhodochrous* ИЭГМ 608 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 608 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 608 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. rhodochrous* ИЭГМ 608 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. rhodochrous* ИЭГМ 608 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus rhodochrous (Zopf 1891) Tsukamura 1974. Номер штамма: ИЭГМ 647

- 1 Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 647 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием НФ 2. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из нефтезагрязненной воды, Межевское месторождение, Пермская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. rhodochrous* ИЭГМ 647 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 647 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 647 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. rhodochrous* ИЭГМ 647 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. rhodochrous* ИЭГМ 647 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus ruber (Kruse 1896) Goodfellow and Alderson 1977. Номер штамма: ИЭГМ 219

- 1 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 219 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил к в коллекцию ИЭГМ под наименованием ОЭГМ 6Пч. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из воды в верховьях реки Илыч, Коми АССР. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения культуры *R. ruber* ИЭГМ 219 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 219 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 219 хранится в основном и дубликатном фондах.

6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. ruber* ИЭГМ 219 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.

7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. ruber* ИЭГМ 219 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus ruber (Kruse 1896) Goodfellow and Alderson 1977. Номер штамма: ИЭГМ 230

- 1 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 230 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием ОЭГМ ГПК 418. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из почвы, р-н Каменского нефтепромысла, Пермская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. ruber* ИЭГМ 230 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 230 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 230 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. ruber* ИЭГМ 230 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. ruber* ИЭГМ 230 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus ruber (Kruse 1896) Goodfellow and Alderson 1977. Номер штамма: ИЭГМ 231

- 1 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 231 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием ОЭГМ 29-1Б-1. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из родниковой воды, р-н Ольховского нефтепромысла, Пермская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.

- 3 Методы хранения *R. ruber* ИЭГМ 231 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 231 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 231 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. ruber* ИЭГМ 231 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. ruber* ИЭГМ 231 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus ruber (Kruse 1896) Goodfellow and Alderson 1977. Номер штамма: ИЭГМ 235

- 1 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 235 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием ОЭГМ 19М-1. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из снежного покрова, р-н Полазненского нефтепромысла, Пермская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. ruber* ИЭГМ 235 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 235 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 235 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. ruber* ИЭГМ 235 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. ruber* ИЭГМ 235 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus ruber (Kruse 1896) Goodfellow and Alderson 1977. Номер штамма: ИЭГМ 326

1 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 326 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.

- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием ОЭГМ Б-270. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из дерново-позолистой почвы нефтегазового месторождения, Пермская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. ruber* ИЭГМ 326 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 326 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R ruber* ИЭГМ 326 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. ruber* ИЭГМ 326 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.

7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. ruber* ИЭГМ 326 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus ruber (Kruse 1896) Goodfellow and Alderson 1977. Номер штамма: ИЭГМ 327

- 1 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 327 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием ОЭГМ Б-294. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из дерново-позолистой почвы нефтегазового месторождения, Пермская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. ruber* ИЭГМ 327 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 327 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 327 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. ruber* ИЭГМ 327 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.
- 7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. ruber* ИЭГМ 327 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus ruber (Kruse 1896) Goodfellow and Alderson 1977. Номер штамма: ИЭГМ 338

- 1 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 338 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием Ба-4. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из воды оз. Байкал, Иркутская обл., Россия. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. ruber* ИЭГМ 338 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 338 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 338 хранится в основном и дубликатном фондах.
- 6. Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. ruber* ИЭГМ 338 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.

7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. ruber* ИЭГМ 338 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Rhodococcus ruber (Kruse 1896) Goodfellow and Alderson 1977. Номер штамма: ИЭГМ 346

- 1 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 346 поддерживается в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Соответствующие записи по его хранению ведутся в коллекционном журнале.
- 2 Родословная штамма: поступил в коллекцию ИЭГМ под наименованием Хар-5. Географическое местоположение выделения штамма: выделен из сточных вод, Харбин, КНР. Способы хранения штамма: лиофилизация, криоконсервация, культивирование на плотных питательных средах.
- 3 Методы хранения *R. ruber* ИЭГМ 346 описаны в соответствующих журналах с указанием даты закладки, числа имеющихся единиц хранения по данной закладке и др.
- 4 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 346 хранится параллельно в лиофилизированном и замороженном состоянии, а также на плотных питательных средах.
 - 5 Штамм *R. ruber* ИЭГМ 346 хранится в основном и дубликатном фондах.

6 Данные о методах и сроках сохранения жизнеспособности *R. ruber* ИЭГМ 346 отражены в базе данных Коллекции ИЭГМ.

7 Информация о способах хранения и условиях культивирования *R. ruber* ИЭГМ 346 указана в Каталоге штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (http://www.iegmcol).

Б. 5 Верификация СОП по коррекции нарушений качества поддерживаемого фонда алканотрофных актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов

Проверка коллекционных штаммов *G. alkanivorans* ИЭГМ 748, *G. rubripertincta* ИЭГМ 96, ИЭГМ 731, *G. terrae* ИЭГМ 136 на аутентичность проводилась в соответствии с требованиями СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда бактерий. Образцы коллекционных штаммов *G. alkanivorans* ИЭГМ 748, *G. rubripertincta* ИЭГМ 96, ИЭГМ 731, *G. terrae* ИЭГМ 136, восстановленные из криопробирок или ампул, а также образцы культур, хранящихся в виде живой культуры на плотной питательной среде, соответствовали видовым и паспортным свойствам, требованиям чистоты и жизнеспособности бактериальных культур. Коррекция нарушений не требовалась.

Проверка коллекционных штаммов *R. erythropolis* ИЭГМ 10, ИЭГМ 20, ИЭГМ 186, ИЭГМ 200, ИЭГМ 204, ИЭГМ 270, ИЭГМ 487, ИЭГМ 708 и ИЭГМ 767 на аутентичность проводилась в соответствии с требованиями СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда бактерий. Образцы коллекционных штаммов *R. erythropolis* ИЭГМ 10, ИЭГМ 20, ИЭГМ 186, ИЭГМ 200, ИЭГМ 204, ИЭГМ 270, ИЭГМ 487, ИЭГМ 708 и ИЭГМ 767, восстановленные из криопробирок или ампул, а также образцы культур, хранящихся в виде живой культуры на плотной питательной среде, соответствовали видовым и паспортным свойствам, требованиям чистоты и жизнеспособности бактериальных культур. Коррекция нарушений не требовалась.

Проверка коллекционных штаммов *R. fascians* ИЭГМ 34, ИЭГМ 35 и ИЭГМ 40 на аутентичность проводилась в соответствии с требованиями СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда бактерий. Образцы коллекционных штаммов *R. fascians* ИЭГМ 34, ИЭГМ 35 и ИЭГМ 40, восстановленные из криопробирок или ампул, а также образцы культур, хранящихся в виде живой культуры на плотной питательной среде, соответствовали видовым и паспортным свойствам, требованиям чистоты и жизнеспособности бактериальных культур. Коррекция нарушений не требовалась.

Проверка коллекционных штаммов *R. opacus* ИЭГМ 56 и ИЭГМ 249 на аутентичность проводилась в соответствии с требованиями СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда бактерий. Образцы коллекционных штаммов *R. opacus* ИЭГМ 56 и ИЭГМ 249, восстановленные из криопробирок или ампул, а также образцы культур, хранящихся в виде живой культуры на плотной питательной среде, соответствовали видовым и паспортным свойствам, требованиям чистоты и жизнеспособности бактериальных культур. Коррекция нарушений не требовалась.

Проверка коллекционных штаммов *R. rhodochrous* ИЭГМ 63, ИЭГМ 66, ИЭГМ 608 и ИЭГМ 647 на аутентичность проводилась в соответствии с требованиями СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда бактерий. Образцы коллекционных штаммов *R. rhodochrous* ИЭГМ 63, ИЭГМ 66, ИЭГМ 608 и ИЭГМ 647, восстановленные из криопробирок или ампул, а также образцы культур, хранящихся в виде живой культуры на плотной питательной среде, соответствовали видовым и паспортным свойствам, требованиям чистоты и жизнеспособности бактериальных культур. Коррекция нарушений не требовалась.

Проверка коллекционных штаммов *R. ruber* ИЭГМ 219, ИЭГМ 230, ИЭГМ 231, ИЭГМ 235, ИЭГМ 326, ИЭГМ 327, ИЭГМ 338 и ИЭГМ 346 на аутентичность проводилась в соответствии с требованиями СОП по проверке качества (аутентичности) поддерживаемого фонда бактерий. Образцы коллекционных штаммов *R. ruber* ИЭГМ 219, ИЭГМ 230, ИЭГМ 231, ИЭГМ 235, ИЭГМ 326, ИЭГМ 327, ИЭГМ 338 и ИЭГМ 346, восстановленные из криопробирок или ампул, а также образцы культур, хранящихся в виде живой культуры на плотной питательной среде, соответствовали видовым и паспортным свойствам, требованиям чистоты и жизнеспособности бактериальных культур. Коррекция нарушений не требовалась.

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Результаты экспериментальной верификации методик

В. 1 Верификация методики селективного выделения углеводородокисляющих актинобактерий из природных образцов

В соответствии с вышеупомянутой методикой проведено селективное выделение алканотрофных актинобактерий из природных образцов и районов с высокой антропогенной нагрузкой (таблице В. 1), в результате чего генофонд Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов в отчетном периоде пополнился 27 новыми штаммами, которым присвоены соответствующие коллекционные номера.

Таблица В. 1 – Источники выделения коллекционных штаммов алканотрофных актинобактерий

№ π/π	Источник выделения, география и характеристика образцов	Коллекционный номер штамма
1.	Почва, загрязненная кадмием, зона деятельности металлургического предприятия, г. Пермь, Россия	ИЭГМ 1331, ИЭГМ 1332, ИЭГМ 1333
2.	Почва, загрязненная свинцом, зона деятельности металлургического предприятия, г. Пермь, Россия	ИЭГМ 1334, ИЭГМ 1335, ИЭГМ 1336
3.	Почва, загрязненная тяжелыми металлами, зона деятельности металлургического предприятия, г. Пермь, Россия	ИЭГМ 1337, ИЭГМ 1338
4.	Каменистый грунт с берега озера, о. Ева-Лив, арх. Земля Франца-Иосифа, Архангельская обл., Россия	ИЭГМ 1339, ИЭГМ 1340, ИЭГМ 1341
5.	Донные отложения протоков между системой небольших озер, о. Ли Смита, арх. Земля Франца-Иосифа, Архангельская обл., Россия	ИЭГМ 1342, ИЭГМ 1343, ИЭГМ 1347, ИЭГМ 1348
6.	Почва, о. Гукера, арх. Земля Франца-Иосифа, Архангельская обл., Россия	ИЭГМ 1349, ИЭГМ 1350, ИЭГМ 1351, ИЭГМ 1352, ИЭГМ 1353
7.	Торф, Пальтинское месторождение торфа, Пермский край, Россия	ИЭГМ 1354, ИЭГМ 1358, ИЭГМ 1359, ИЭГМ 1360
8.	Почва, автозаправочная станция, г. Пермь, Россия	ИЭГМ 1362
9.	Почва, автомобильная стоянка, г. Пермь, Россия	ИЭГМ 2225
10.	Почва, загрязненная нефтью, Пермский край, Россия	ИЭГМ 2226

В. 2 Верификация методики прямой ПЦР-детекции экологически значимых видов родококков в нефтезагрязненной почве

В соответствии с вышеупомянутой методикой проведена прямая ПЦР-детекция родококков экологически значимых видов (*R. erythropolis*, *R. opacus*, *R. rhodochrous*, *R. ruber*) в образцах нефтезагрязнённой почвы (таблица В. 2) с использованием видоспецифичных праймеров для *R. erythropolis*:

- (Rel) 5' CGTCTAATACCGGATATGACCTCCTATC 3'
- (Re2) 5' GCAAGCTAGCAGTTGAGCTGCTGGT 3';

для R. opacus:

- (Ro1) 5' TATGACCTTCGGCTGCATGGCTGAG 3'
- (Ro2) 5' CCGTATCGCCTGGAAGCTCGAG 3';

для R. rhodochrous:

- (Rrh1) 5' GAGGGGTGGAAAGTTTTTCGGTGCAGGATGA 3'
- (Rrh2) 5' AGCCATGCACCACCTGTCTACCGG 3';

для *R. ruber*:

- (Rru1) 5' GTCTAATACCGGATAGGACCTCGGGA 3'
- (Rru2) 5' TACCGTCACTTGCGCTTCGTCGGTAC 3'.

По результатам генетического анализа в образцах 1, 3 и 4 обнаружены представители *R. erythropolis*, в образце 2 обнаружены представители *R. ruber* и *R. rhodochrous*, в образце 5 обнаружены представители *R. opacus*.

Таблица В. 2 – Результаты прямой ПЦР-детекции родококков в образцах нефтезагрязненной почвы

№ п/п	Источник выделения, география и характеристика образцов	Положительная ПЦР реакция с праймерами
1.	Почва вблизи железнодорожного моста, г. Новосибирск, Россия	Re1- Re2
2.	Почва ризосферы крапивы двудомной вблизи газопровода, г. Пермь, Россия	Rru1- Rru2 Rrh1- Rrh2
3.	Почва, загрязненная нефтью, г. Соликамск, Пермский край, Россия	Re1- Re2
4.	Почва, загрязненная нефтью, Пермский край, Россия	Re1- Re2
5.	Почва, автозаправочная станция, г. Пермь, Россия	Ro1- Ro2

В. 3 Верификация методики иммунофлуоресцентного анализа природных образцов с помощью видоспецифичных поливалентных иммунных сывороток

В отчетном периоде выполнена индикация и видовая дифференциация родококков в составе смешанных природных популяций непрямым методом флуоресциорующих антител с использованием специфических моно- и поливалентных иммунных сывороток против видов родококков *R. erythropolis*, *R. opacus*, *R. rhodochous*, *R. ruber* (в разведениях от 1:32 до 1:128).

С помощью иммунофлуоресцентного окрашивания препаратов по непрямому методу Уэллера и Кунса установлено присутствие родококков вида R. ruber в воде, отобранной из района контурной зоны нефтяного месторождения (образец 1), представителей R. erythropolis и R. opacus в образце 2, отобранном из нефтесодержащей почвы (таблица B. 3).

Таблица В. 3 – Результаты индикации и видовой дифференциации родококков в составе смешанных природных популяций непрямым методом флуоресциорующих антител

<u>№</u> п/п	Источник выделения, география и характеристика образцов	Наличие бактерий соответствующего вида
1.	Природная вода, нефтяное месторождение, контурная зона, Пермский край, Россия	R. erythropolis 1+, R. opacus -, R. rhodochous -, R. ruber 3+
2.	Почва, загрязненная нефтью, придорожный почвенный покров, Пермский край, Россия	R. erythropolis 4+, R. opacus 3+, R. rhodochous –, R. ruber –
3.	Вода, артезианская скважина, нефтяное месторождение, законтурная зона, Пермский край, Россия	R. erythropolis –, R. opacus –, R. rhodochous –, R. ruber –

Примечание — Знак "—" — не обнаружено; "4+" — десятки флуоресцирующих клеток в поле зрения; "3+" — единицы флуоресцирующих клеток в поле зрения; "2+" — единицы флуоресцирующих клеток в нескольких полях зрения; "1+" — единицы окрашенных клеток в десятках полей зрения. Положительным результатом считается флуоресценция клеток интенсивностью не менее 3+.

В. 4 Верификация методики получения поликлональных иммунных сывороток против актинобактерий

Получены специфические поликлональные иммунные сыворотки против типовых и типичных штаммов актинобактерий Dietzia maris ИЭГМ 55^{T} , Gordonia rubripertincta ИЭГМ 95^T, Gordonia terrae ИЭГМ 143^T, Rhodococcus erythropolis ИЭГМ 7^T, Rhodococcus opacus ИЭГМ $716^{\rm T}$, Rhodococcus rhodochrous ИЭГМ $62^{\rm T}$, Rhodococcus ruber ИЭГМ $70^{\rm T}$ и Rhodococcus ruber ИЭГМ 333. Антигенами служили бактериальные культуры, находящиеся в ранней стационарной фазе роста на мясопептонном агаре. Эффективность иммунизации подопытных животных существенно зависела от физико-химической природы вводимого антигена (корпускулярный или водорастворимый), способа его введения, кратности и интервалов между иммунизациями, а также от иммуногенности конкретного штамма, обусловленной специфическим антигенным составом клетки и активностью лизосомальных ферментов фагоцитов макроорганизма. Наиболее интенсивно индуцировали антителообразование в организме подопытных животных водорастворимые антигены, эмульгированные в неполном адъюванте Фрейнда. Интактные клетки вызывали слабый иммунный ответ, что связано с затрудненной переработкой антигенной информации в макрофагальном звене клеточных реакций иммунитета, обусловленной биологическими особенностями актинобактерий (наличием в их клеточных стенках большого количества липидов, в частности). Рациональная схема получения активных антисывороток включала внутривенную аппликацию полученных вакцин, комбинацию внутривенной внутримышечной аппликаций гомогенатов дезинтегрированных клеток с адъювантом, а также увеличение интервала между иммунизациями и отдалённую ревакцинацию. Титр полученных антисывороток, определенный в реакции непрямой иммунофлуоресценции, составлял 1:128-1:512.

В. 5 Верификация методики хемотаксономического анализа чистых культур актинобактерий

В отчетном периоде проведено определение основных хемотаксономических признаков 16 коллекционных штаммов актинобактерий.

Культуры *Rhodococcus erythropolis* ИЭГМ 10, ИЭГМ 20, ИЭГМ 186 характеризуются IV хемотипом клеточной стенки: тип дифференцирующих сахаров A, *мезо*-ДАПК, миколовые кислоты (обнаружен липид LCN–A). Пептидогликан вариации $Al\gamma$ (аланин – глутаминовая кислота – *мезо*-ДАПК с молярным соотношением 1,99:1,32:1,0 (2:1:1) и Р II типом фосфолипидов. Уровень R_f метилмиколатов (липидов LCN–A) на пластинах TCX соответствует таковому у типового штамма *R. erythropolis* ИЭГМ 7^T (ATCC 427 7^T).

Культуры *Rhodococcus fascians* ИЭГМ 34, ИЭГМ 35, ИЭГМ 40 характеризуются IV хемотипом клеточной стенки: тип дифференцирующих сахаров A, *мезо*–ДАПК, миколовые кислоты (обнаружен липид LCN–A). Пептидогликан вариации $Al\gamma$ (аланин – глутаминовая кислота – *мезо*-ДАПК с молярным соотношением 1,99:1,32:1,0 (2:1:1) и Р II типом фосфолипидов. Уровень R_f метилмиколатов (липидов LCN–A) на пластинах TCX соответствует таковому у типового штамма *R. fascians* ИЭГМ 414^T (DSM 20669^T).

Культуры *Rhodococcus opacus* ИЭГМ 56, ИЭГМ 249 характеризуются IV хемотипом клеточной стенки: тип дифференцирующих сахаров A, *мезо*–ДАПК, миколовые кислоты (обнаружен липид LCN–A). Пептидогликан вариации $Al\gamma$ (аланин – глутаминовая кислота – *мезо*-ДАПК с молярным соотношением 1,99:1,32:1,0 (2:1:1) и Р II типом фосфолипидов. Уровень R_f метилмиколатов (липидов LCN–A) на пластинах TCX соответствует таковому у типового штамма *R. opacus* ИЭГМ 716^T (NCIMB 10810^T).

Культуры *Rhodococcus rhodochrous* ИЭГМ 63, ИЭГМ 66 характеризуются IV хемотипом клеточной стенки: тип дифференцирующих сахаров A, *мезо*–ДАПК, миколовые кислоты (обнаружен липид LCN–A). Пептидогликан вариации $Al\gamma$ (аланин – глутаминовая кислота – *мезо*-ДАПК с молярным соотношением 1,99:1,32:1,0 (2:1:1) и Р II типом фосфолипидов. Уровень R_f метилмиколатов (липидов LCN–A) на пластинах TCX соответствует таковому у типового штамма *R. rhodochrous* ИЭГМ 62^T (ATCC 13808^T).

Культуры *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 219, ИЭГМ 230, ИЭГМ 231, ИЭГМ 235, ИЭГМ 326, ИЭГМ 327 характеризуются IV хемотипом клеточной стенки: тип дифференцирующих сахаров A, *мезо*–ДАПК, миколовые кислоты (обнаружен липид LCN–A). Пептидогликан вариации $Al\gamma$ (аланин – глутаминовая кислота – *мезо*-ДАПК с молярным соотношением 1,99:1,32:1,0 (2:1:1) и Р II типом фосфолипидов. Уровень R_f метилмиколатов (липидов LCN–

А) на пластинах ТСХ соответствует таковому у типового штамма $\it R.~ruber~ \rm ИЭГM~70^T~(DSM~43338).$

В. 6 Верификация методики определения адгезивной активности клеток актинобактерий в отношении гидрофобных субстратов

В отчетном периоде проведено определение способности 10 коллекционных штаммов актинобактерий проявлять адгезивную активность к гидрофобной твердой поверхности (таблица В. 6). Строгой корреляции между видовой принадлежностью родококков и их адгезивными свойствами в отношении полистирола не выявлено. Большинство культур обладает невысокой (от 11,4 до 29,6 %) адгезивной активностью. Наиболее высокий (68,1 и 84,7 %) уровень адгезии выявлен в отношении *R. erythropolis* ИЭГМ 271 и *R. ruber* ИЭГМ 327, соответственно.

Таблица В. 6 – Результаты определения адгезивной активности клеток актинобактерий в отношении гидрофобной твердой поверхности

Вид (число штаммов)	Показатель адгезии к полистиролу, $A_{630\ { m HM}}$
Rhodococcus erythropolis (2)	0,13-0,440
Rhodococcus jostii (3)	0,06–0,36
Rhodococcus opacus (1)	0,17
Rhodococcus rhodochrous (2)	0,17–0,30
Rhodococcus ruber (2)	0,11–0,44

В. 7 Верификация методики определения термодинамических показателей адгезии актинобактерий к углеводородам

В отчетном периоде проведено определение термодинамических показателей адгезии клеток коллекционного штамма *R. ruber* ИЭГМ 231 к углеводородам с помощью высокоточной межфазной тензиометрии. В результате исследования термодинамических показателей клеток родококков в системе углеводород-вода выявлена прямая зависимость межфазной (г=-0,9872 при р=0,0002) и поверхностной (R=-0,9700 при р=0,00001) активности от значений оптической плотности бактериальной суспензии. При невысоких значениях оптической плотности (ОП_{600нм}=0,5−1,0) суспензии зарегистрировано снижение показателей поверхностного и межфазного натяжения на 1−3 и 3−6 мН/м, соответственно. При увеличении концентрации клеток (ОП_{600нм}≥1,5) наблюдалось резкое (на 15 мН/м) снижение значений межфазного натяжения до постоянной величины (28−29 мН/м). Расчет термодинамических показателей адгезионного процесса свидетельствовал о скачкообразном возрастании значений работы адгезии, резком снижении показателей свободной энергии адгезии и величины полной межфазной энергии, характерных для предельной сорбции клеток родококков в межфазном слое.

В. 8 Верификация методики определения сульфидокисляющей активности актинобактерий

В отчетном периоде проведено определение сульфидокисляющей активности 25 коллекционных штаммов актинобактерий, принадлежащих к роду *Gordonia*. Установлено, что исследованные культуры гордоний обладают различной способностью к биотрансформации органического сульфида – тиоанизола (таблица В. 8). Большинство культур осуществляли асимметрическое окисление сульфида с уровнем биоконверсии от 50 до 80 % и выше. В качестве продуктов биотрансформации были зарегистрированы сульфоксиды с (*R*)-конфигурацией асимметрического центра.

Таблица В. 8 – Результаты определения сульфидокисляющей активности коллекционных штаммов актинобактерий

Вид (число штаммов)	Содержание	в сумме продук [*]	Конфигурация,	
Bild (more mraining)	Сульфид	Сульфоксид	Сульфон	ee, %
Gordonia alkanivorans (1)	0,0	51,2	48,8	4,6
Gordonia amicalis (7)	0,0–74,9	20,4–92,9	2,1–39,8	66,3–80,1
Gordonia rubripertincta (10)	14,4–74,0	26,0–73,5	0,0-53,4	5,1-85,5
Gordonia terrae (7)	7,3–48,5	44,2–88,2	3,3–31,2	8,6–93,2

Культуры *G. amicalis* ИЭГМ 726, ИЭГМ 1274, ИЭГМ 1275, ИЭГМ 1266, ИЭГМ 1273, ИЭГМ 1277, ИЭГМ 1279 катализировали направленное окисление тиоанизола с уровнем конверсии от 25 до 100 % и энантиомерного избытка (*ee*) сульфоксида 66–80 %.

Культуры G. rubripertincta ИЭГМ 95, ИЭГМ 97, ИЭГМ 98, ИЭГМ 119, ИЭГМ 121, ИЭГМ 132, ИЭГМ 138, ИЭГМ 518, ИЭГМ 721, ИЭГМ 725 осуществляли превращение тиоанизола в сульфоксид с выходом от 24 до 74 % и 5–85 % ee, культуры G. terrae – с выходом от 44 до 88 % и 8,6–93,2 % ee. G. alkanivorans ИЭГМ 748 осуществлял полную биоконверсию тиоанизола с образованием рацемического сульфоксида (4,6 % ee).

Культуры *G. amicalis* ИЭГМ 726, ИЭГМ 1274, *G. terrae* ИЭГМ 130 и ИЭГМ 136, проявляющие наибольшую (более 50 %) сульфидокисляющую активность и высокий (более 70 % *ee*) уровень стереоселективности, рекомендованы в качестве эффективных катализаторов для направленной биотрансформации органических сульфидов в оптически активные сульфоксиды.

В. 9 Верификация методики получения закрепленных в криогеле поливинилового спирта клеток актинобактерий

В отчетном периоде проведена иммобилизация клеток коллекционных штаммов Gordonia terrae ИЭГМ 136, Rhodococcus opacus ИЭГМ 263, Rhodococcus rhodochrous ИЭГМ 66 и Rhodococcus ruber ИЭГМ 231 в криогеле на основе поливинилового спирта (ПВС) с целью повышения их устойчивости и функциональной активности.

Использование приема иммобилизации клеток G. terrae ИЭГМ 136 и R. rhodochrous ИЭГМ 66 в криогеле ПВС способствовало повышению (до 100 %) сульфидокисляющей активности актинобактерий и сокращению процесса биотрансформации тионизола (0,5 г/л) с 6 сут до 24 ч.

Использование крио-иммобилизованных клеток R. ruber ИЭГМ 231 способствовало повышению (до 51 %) окислительной активности в отношении n-гексадекана по сравнению с таковой у свободных клеток.

Использование консорциума крио-иммобилизованных клеток *R. opacus* ИЭГМ 263 и *R. ruber* ИЭГМ 231 для обработки нефтепромысловой сточной воды в биореакторе обеспечивало повышение степени деградации нефтяных углеводородов до 62–81 %.

В. 10 Верификация методики спектрофотометрического определения жизнеспособности иммобилизованных в криогеле клеток родококков

В отчетном периоде проведено спектрофотометрическое определение количества жизнеспособных клеток коллекционных штаммов *Rhodococcus erythropolis* ИЭГМ 275, *Rhodococcus opacus* ИЭГМ 245, *Rhodococcus opacus* ИЭГМ 249 и *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 615, иммобилизованных в криогеле на основе ПВС, непосредственно после приготовления биокатализатора, в процессе его хранения и использования.

В результате оценки жизнеспособности культур R. ruber ИЭГМ 615 и R. opacus ИЭГМ 249 после иммобилизации в криогеле на основе ПВС, установлено, что численность живых клеток составляла $(2,4\pm0,43)$ х 10^6 и $(2,04\pm0,42)$ х 10^6 , соответственно. В условиях биореактора численность живых клеток R. ruber ИЭГМ 615 и R. opacus ИЭГМ 249 через 48 ч в загрязненной углеводородами воде составляла $(2,7\pm0,16)$ х 10^6 и $(1,7\pm0,08)$ х 10^6 кл/мл.

В результате оценки жизнеспособности культур R. ruber ИЭГМ 615 и R. erythropolis ИЭГМ 275 после крио-иммобилизации, установлено, что численность живых клеток составляла $(2,4\pm0,43)$ х 10^6 и $(2,62\pm0,72)$ х 10^6 , соответственно. После внесения иммобилизованных клеток R. ruber ИЭГМ 615 и R. erythropolis ИЭГМ 275 в нефтезагрязненную почву численность живых клеток через 1 неделю инкубации снижалась до $(6,0\pm0,21)$ х 10^5 и $(4,7\pm0,36)$ х 10^5 , через 3 недели – до $(3,2\pm0,18)$ х 10^5 и $(2,8\pm0,14)$ х 10^5 , соответственно.

В результате оценки жизнеспособности культур R. ruber ИЭГМ 615 и R. opacus ИЭГМ 245 после крио-иммобилизации, установлено, что численность живых клеток составляла $(2,4\pm0,43)$ х 10^6 и $(2,52\pm0,72)$ х 10^6 , соответственно. После хранения биокатализатора при 5 °C в течение 2-х месяцев численность живых клеток R. ruber ИЭГМ 615 и R. opacus ИЭГМ 245 практически не изменялась $(2,2\pm0,42)$ х 10^6 .

В. 11 Верификация методики получения адсорбированных на органических носителях клеток актинобактерий

В отчетном периоде проведена поверхностная иммобилизация клеток коллекционного штамма *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231 на поверхности целлюлозосодержащих носителей, в частности древесных опилок. Величина адсорбции бактериальных клеток на твердом носителе составляла 46,8 %. Использование приема гидрофобизации поверхности опилок *Rhodococcus*-биосурфактантом, силиконовой эмульсией или олифой способствовало значительному повышению (до 90,8 %) адсорбционной емкости носителя.

В. 12 Верификация методики определения коэффициента комплексообразования ионов металлов с *Rhodococcus*-биосурфактантами

В отчетном периоде проведена оценка эффективности комплексообразования *Rhodococcus*-биосурфактанта, синтезируемого коллекционным штаммом *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231, с ионами никеля методом ионообменного анализа. Внесение *Rhodococcus*-биосурфактанта способствовало переходу ионов Ni²⁺ в водную фазу в результате их комплексообразования и последующей десорбции от ионообменной смолы, обладающей выраженной адсорбирующей активностью в отношении ионов металлов. Увеличение количества вносимого биосурфактанта способствовало пятикратному повышению эффективности процесса десорбции Ni²⁺. Рассчитанное молярное соотношение числа органических лигандов биосурфактанта к ионам Ni²⁺ составляло 2,28, что свидетельствовало об эффективной металлохелатирующей способности биосурфактанта.

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Сведения о коллекционных штаммах актинобактерий, информация о которых добавлена в электронный каталог Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов

Таблица Г. 1 — Перечень коллекционных штаммов актинобактерий, информация о которых добавлена в электронный каталог Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов

Род	Вид	Коллекционный номер штамма
Acinetobacter	Acinetobacter sp.	ИЭГМ 1194, ИЭГМ 2031
Arthrobacter	A. citreus	ИЭГМ 810 ^T
	A. polychromogenes	ИЭГМ 822
Bacillus	B. simplex	ИЭГМ 2032
	Bacillus sp.	ИЭГМ 2021
Brevibacterium	B. iodinum	ИЭГМ 835
	B. lineus	ИЭГМ 830, ИЭГМ 831, ИЭГМ 832, ИЭГМ 833
	Brevibacterium sp.	ИЭГМ 836, ИЭГМ 837, ИЭГМ 838, ИЭГМ 839, ИЭГМ 840, ИЭГМ 841, ИЭГМ 842, ИЭГМ 843, ИЭГМ 844, ИЭГМ 845, ИЭГМ 846, ИЭГМ 847, ИЭГМ 848, ИЭГМ 849
Clavibacter	C. michiganensis	ИЭГМ 825
Corynebacterium	C. ammoniagenes	ИЭГМ 862 ^Т
	C. glutamicum	ИЭГМ 861
	C. variable	ИЭГМ 863 ^т , ИЭГМ 824
	Corynebacterium sp.	ИЭГМ 755, ИЭГМ 771, ИЭГМ 772, ИЭГМ 773. ИЭГМ 780, ИЭГМ 781, ИЭГМ 866, ИЭГМ 867, ИЭГМ 868, ИЭГМ 869, ИЭГМ 870, ИЭГМ 871, ИЭГМ 872, ИЭГМ 873, ИЭГМ 874, ИЭГМ 875, ИЭГМ 876, ИЭГМ 877, ИЭГМ 878, ИЭГМ 879, ИЭГМ 880, ИЭГМ 881, ИЭГМ 882, ИЭГМ 883, ИЭГМ 884, ИЭГМ 885, ИЭГМ 886, ИЭГМ 888, ИЭГМ 889, ИЭГМ 890, ИЭГМ 891
Curtobacterium	C. citreum	ИЭГМ 826 ^T
Dietzia	D. maris	ИЭГМ 463, ИЭГМ 465, ИЭГМ 466, ИЭГМ 516, ИЭГМ 750, ИЭГМ 789, ИЭГМ 1172, ИЭГМ 1175, ИЭГМ 2301, ИЭГМ 2302, ИЭГМ 2306, ИЭГМ 2307, ИЭГМ 2312, ИЭГМ 2316, ИЭГМ 2322, ИЭГМ 2323, ИЭГМ 2327
	Dietzia sp.	ИЭГМ 517, ИЭГМ 1186, ИЭГМ 2254, ИЭГМ 2260, ИЭГМ 2273, ИЭГМ 2276, ИЭГМ 2277, ИЭГМ 2278, ИЭГМ 2281, ИЭГМ 2282,

Продолжение таблицы Г. 1

Род	Вид	Коллекционный номер штамма
	Dietzia sp.	ИЭГМ 2283, ИЭГМ 2284, ИЭГМ 2290, ИЭГМ 2291, ИЭГМ 2293, ИЭГМ 2294, ИЭГМ 2295, ИЭГМ 2299, ИЭГМ 2300
Glutamicibacter	G. nicotianae	ИЭГМ 813 ^T
	G. protophormiae	ИЭГМ 814
Gordonia	G. alkanivorans	ИЭГМ 748, ИЭГМ 1269
	G. amicalis	ИЭГМ 726, ИЭГМ 768, ИЭГМ 1266, ИЭГМ 1273, ИЭГМ 1274, ИЭГМ 1275, ИЭГМ 1277, ИЭГМ 1279
	G. rubripertincta	ИЭГМ 518, ИЭГМ 747, ИЭГМ 749, ИЭГМ 761, ИЭГМ 1136
	G. terrae	ИЭГМ 108, ИЭГМ 586, ИЭГМ 714, ИЭГМ 1123
	Gordonia sp.	ИЭГМ 753, ИЭГМ 2256, ИЭГМ 2257, ИЭГМ 2258, ИЭГМ 2263, ИЭГМ 2266, ИЭГМ 2267, ИЭГМ 2272, ИЭГМ 2275, ИЭГМ 2280, ИЭГМ 2287, ИЭГМ 2297, ИЭГМ 2303, ИЭГМ 2308, ИЭГМ 2309, ИЭГМ 2313, ИЭГМ 2314, ИЭГМ 2317, ИЭГМ 2318, ИЭГМ 2324, ИЭГМ 2325, ИЭГМ 2326, ИЭГМ 2328
Kocuria	K. polaris	ИЭГМ 1185
Microbacterium	M. barkeri	ИЭГМ 823 ^T
	M. trichothecenolyticum	ИЭГМ 1212
	Microbacterium sp.	ИЭГМ 2252, ИЭГМ 2255, ИЭГМ 2259, ИЭГМ 2262, ИЭГМ 2264, ИЭГМ 2269, ИЭГМ 2271, ИЭГМ 2274, ИЭГМ 2285, ИЭГМ 2298
Micrococcus	M. luteus	ИЭГМ 407, ИЭГМ 423, ИЭГМ 1026
	M. yunnanensis	ИЭГМ 860, ИЭГМ 1207
	Micrococcus sp.	ИЭГМ 448, ИЭГМ 1183, ИЭГМ 2252, ИЭГМ 2255, ИЭГМ 2259, ИЭГМ 2264, ИЭГМ 2269, ИЭГМ 2264, ИЭГМ 2269, ИЭГМ 2271, ИЭГМ 2274, ИЭГМ 2285, ИЭГМ 2298, ИЭГМ 2304, ИЭГМ 2305, ИЭГМ 2310, ИЭГМ 2311, ИЭГМ 2315, ИЭГМ 2319, ИЭГМ 2320, ИЭГМ 2321, ИЭГМ 2329, ИЭГМ 2330
Paenarthrobacter	P. ureafaciens	ИЭГМ 812 ^T
Paeniglutamicibacter	P. sulfureus	ИЭГМ 815 ^T , ИЭГМ 816
Rhodococcus	R. aetherivorans	ИЭГМ 911 ^Т , ИЭГМ 1250

Продолжение таблицы Г. 1

Род	Вид	Коллекционный номер штамма
Rhodococcus	R. cerastii	ИЭГМ 1278, ИЭГМ 1327
	R. cercidiphylli	ИЭГМ 1184
	R. corynebacterioides	ИЭГМ 1202
	R. erythropolis	ИЭГМ 210, ИЭГМ 511, ИЭГМ 588, ИЭГМ 659, ИЭГМ 660, ИЭГМ 661, ИЭГМ 662, ИЭГМ 663, ИЭГМ 680, ИЭГМ 681, ИЭГМ 692, ИЭГМ 693, ИЭГМ 695, ИЭГМ 705, ИЭГМ 712, ИЭГМ 718, ИЭГМ 752, ИЭГМ 769, ИЭГМ 770, ИЭГМ 784, ИЭГМ 785, ИЭГМ 786, ИЭГМ 787, ИЭГМ 788, ИЭГМ 1017, ИЭГМ 1018, ИЭГМ 1020, ИЭГМ 1167, ИЭГМ 1178, ИЭГМ 1179, ИЭГМ 1180, ИЭГМ 1182, ИЭГМ 1188, ИЭГМ 1189, ИЭГМ 1191, ИЭГМ 1192, ИЭГМ 1199, ИЭГМ 1204, ИЭГМ 1205, ИЭГМ 1220, ИЭГМ 1230, ИЭГМ 1232, ИЭГМ 1239, ИЭГМ 1242, ИЭГМ 1245, ИЭГМ 1246, ИЭГМ 1247, ИЭГМ 1249, ИЭГМ 1268, ИЭГМ 1321, ИЭГМ 1348, ИЭГМ 1353, ИЭГМ 2225
	R. fascians	ИЭГМ 930, ИЭГМ 1072, ИЭГМ 1158, ИЭГМ 1159, ИЭГМ 1168, ИЭГМ 1213, ИЭГМ 1216, ИЭГМ 1218, ИЭГМ 1226, ИЭГМ 1233, ИЭГМ 1235
	R. globerulus	ИЭГМ 685, ИЭГМ 1019, ИЭГМ 1203
	R. imtechensis	ИЭГМ 940 ^Т
	R. jialingiae	ИЭГМ 1095 ^Т
	R. jostii	ИЭГМ 951 ^Т , ИЭГМ 28, ИЭГМ 29, ИЭГМ 30, ИЭГМ 31, ИЭГМ 32, ИЭГМ 33, ИЭГМ 60, ИЭГМ 68, ИЭГМ 458, ИЭГМ 550, ИЭГМ 589 ИЭГМ 1170, ИЭГМ 1193
	R. koreensis	ИЭГМ 962 ^Т
	R. kroppenstedtii	ИЭГМ 981 ^Т
	R. kunmingensis	ИЭГМ 989 ^T
	R. kyotonensis	ИЭГМ 999 ^T
	R. maanshanensis	ИЭГМ 1010 ^T
	R. marinonascens	ИЭГМ 737 ^Т
	R. opacus	ИЭГМ 488, ИЭГМ 489, ИЭГМ 765, ИЭГМ 1157, ИЭГМ 2226
	R. percolatus	ИЭГМ 1031 ^T
	R. phenolicus	ИЭГМ 1042 ^Т

Продолжение таблицы Г. 1

Род	Вид	Коллекционный номер штамма
Rhodococcus	R. pyridinivorans	ИЭГМ 1055 ^Т , ИЭГМ 1142, ИЭГМ 1227
	R. qingshengii	ИЭГМ 247, ИЭГМ 267, ИЭГМ 699, ИЭГМ 1262, ИЭГМ 1270, ИЭГМ 1359
	R. rhodochrous	ИЭГМ 107, ИЭГМ 757, ИЭГМ 1137, ИЭГМ 1138, ИЭГМ 1161, ИЭГМ 1162, ИЭГМ 1360, ИЭГМ 1362, ИЭГМ 1363
	R. ruber	ИЭГМ 341, ИЭГМ 442, ИЭГМ 612, ИЭГМ 1124, ИЭГМ 1125, ИЭГМ 1130, ИЭГМ 1133, ИЭГМ 1140, ИЭГМ 1141, ИЭГМ 1173, ИЭГМ 1210, ИЭГМ 1211, ИЭГМ 1214, ИЭГМ 1215, ИЭГМ 1217, ИЭГМ 1219, ИЭГМ 1263, ИЭГМ 1352
	R. triatomae	ИЭГМ 1105 ^T
	R. tukisamuensis	ИЭГМ 970 ^Т
	R. wratislaviensis	ИЭГМ1112 ^Т , ИЭГМ 1171
	R. yunnanensis	ИЭГМ 1071 ^т , ИЭГМ 1323
	R. zopfii	ИЭГМ 673 ^Т
	Rhodococcus sp.	ИЭГМ 1143, ИЭГМ 1144, ИЭГМ 1145, ИЭГМ 1156, ИЭГМ 1160, ИЭГМ 1181, ИЭГМ 1187, ИЭГМ 1195, ИЭГМ 1197, ИЭГМ 1198, ИЭГМ 1200, ИЭГМ 1229, ИЭГМ 1236, ИЭГМ 1237, ИЭГМ 1238, ИЭГМ 1241, ИЭГМ 1243, ИЭГМ 1244, ИЭГМ 1248, ИЭГМ 1251, ИЭГМ 1252, ИЭГМ 1261, ИЭГМ 1264, ИЭГМ 1265, ИЭГМ 1271, ИЭГМ 1272, ИЭГМ 1276, ИЭГМ 1280, ИЭГМ 1281, ИЭГМ 1283, ИЭГМ 1284, ИЭГМ 1285, ИЭГМ 1286, ИЭГМ 1297, ИЭГМ 1298, ИЭГМ 1300, ИЭГМ 1302, ИЭГМ 1303, ИЭГМ 1304, ИЭГМ 1305, ИЭГМ 1306, ИЭГМ 1307, ИЭГМ 1308, ИЭГМ 1309, ИЭГМ 1311, ИЭГМ 1316, ИЭГМ 1318, ИЭГМ 1322, ИЭГМ 1324, ИЭГМ 1325, ИЭГМ 1326, ИЭГМ 1328, ИЭГМ 1329, ИЭГМ 1330, ИЭГМ 1331, ИЭГМ 1332, ИЭГМ 1333, ИЭГМ 1334, ИЭГМ 1335, ИЭГМ 1336, ИЭГМ 1337, ИЭГМ 1338, ИЭГМ 1339, ИЭГМ 1340, ИЭГМ 1341, ИЭГМ 1342, ИЭГМ 1343, ИЭГМ 1347, ИЭГМ 1349, ИЭГМ 1350, ИЭГМ 1351, ИЭГМ 1354, ИЭГМ 2250, ИЭГМ 2251, ИЭГМ 2253, ИЭГМ 2261, ИЭГМ 2265, ИЭГМ 2268, ИЭГМ 2288, ИЭГМ 2289, ИЭГМ 2292, ИЭГМ 2288, ИЭГМ 2289, ИЭГМ 2292, ИЭГМ 2286, ИЭГМ 2288, ИЭГМ 2289, ИЭГМ 2292, ИЭГМ 2296
Terrabacter	T. tumescens	ИЭГМ 818 ^T
Williamsia	W. limnetica	ИЭГМ 1358

Продолжение таблицы Г. 1

Род	Вид	Коллекционный номер штамма
	W. marianensis	ИЭГМ 1174
	W. maris	ИЭГМ 1196
Итого:		410

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Библиографический список публикаций, полученных в результате выполнения научноисследовательской работы

1 Черемных К.М., Гришко В.В., Ившина И.Б. Бактериальная деградация экотоксичной дегидроабиетиновой кислоты // Катализ в промышленности. 2017. Т. 17, № 2. С. 65-72 (рисунок Д. 1).

2 Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Krivoruchko A.V. Hydrocarbon-oxidizing bacteria and their potential in eco-biotechnology and bioremediation // Microbial Resources: From Functional Existence in Nature to Industrial Applications / Ed. I. Kurtböke. Elsevier, 2017. P. 121–148. http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-804765-1.00006-0 (рисунок Д. 2).

3 Tarasova E.V., Grishko V.V., Ivshina I.B. Cell adaptations of *Rhodococcus rhodochrous* IEGM 66 to betulin biotransformation // Process Biochemistry. 2017. V. 52. P. 1–9. DOI 10.1016/j.procbio.2016.10.003 (рисунок Д. 3).



вестна мвироорганизми результать филосомущи-

перия, способные везплыливать в важетае неплиялись ятлярия и окружи альфатическое, некоаремить-чески и полизреватические условородна (16—25). Известно, ото система первиниято завативна арома-тических утисискорское активативгерой совержит питокром РАЗТ-пиваними ферменты, которые предположения могу участность в осколнии ДАК [20—27]. В пастопно время подобная ферментина светеми (Р45)-порядным могооссительной замежны силтам (РМС-парасивам мого сригая на) опасатам да басагравару вънга. ДАК Российского сфокторько (ВКМЕ-4 в ботранного дейского 228X [11, 79]. Немище изполнава содитер рости, отгустиве верхасивих изполнава содитер рости, отгустиве верхасивих изполнава содите, лебеньеть месбольтенной кактеми и сотпервые моговически содитерности в содитерности и солистического переводительного петем образования принцененности и солистического петем образования поличентиров процессы бозоватерительного изполнавания деятельного изполнавания деятельного изполнавания поличенного процессы бозовательного изполнавания поличенного изполнавания в поличения в поличенного изполнавания в поличенного изполнавания в поличенного и по

Материалы и методы

В работа использовати IT игинного Ротда жагы ко Региональной профилированией волисками алкаусоднализмов ізадушине ИЭСМ, вовор во Всемирной форгации видинский культур ЖА.

www.ingmool.ru: proceponalt nowep VH9' www.skp.et

чили води (таба. 1).
Миниментуро подпалятирую концикту
(МПК) ДАК и отношения дистана определал Минипальности поддаляться конта втрации (МПК) ДАК в отвещених инстана спределать выправостойся серибных дерупных делегаться с вепальнование 96-муника протратных системного с вывысованиям 96-муникания занам бересового дам-нысть ДА, В дучем поитвета месяции по 100 выс
высованизмного функова (МПК), 10 иг ДАК распрораса, загального переменяющих в переменяют
раса, загального переменяющих в переменяют
раса, загального переменяющих в переменяющих
раса, загального переменяющих объемитеры,
загарентных разведены. В переменяющих
дак в саном раст соглаван от 6/024 до 50 гд. Дам
вотпрода визвания на уроская МПК вестомумового
раствереных визведеных, готовым доберативаразменяют вызостя в напросенном диницион воспроменяються
дажениям повосо в напросенном диницион воспроменных
расменяють повосо в напросенном диницион воспроменных
расменяють повосо в напросенном диницион воспразведения изыкод в анајот влико двидоон кон-негоризаци. К колученой секси добивала на 10 мкг. ориловии предварительно варакомной в ММП крат-туры до комечный воздатирацию 5105 кд/жр. План-шеги впорбировали и печных 3 сут при 28 °C.

турк до сооргания и нежимо 1 сут при 3 т. С.

В серим занатив на 5 биккерудовани перевалитеодне кулистварующей разменты руссоция и в колбак Эрилимейкра выкетныкостию 139 мг. при объява
винеральный реши 100 мг. в уславия постоянного
перевосизначите менятичностию 139 мг. при объява
поремосизначите менятичности и направлению среду формация в менятичности и постоянного
при оседуалите осогова 400° КУО, — 1.0 КуНО, —
1.0 КуНО, — 1.0 КоСт. — 1.0 КуО, — 1.0 КуНО, —
1.0 КуНО, — 1.0 КоСт. — 1.0 МуО, —
1.0 КуНО, — 1.0 КоСт. — 1.0 МуО, —
1.0 КуНО, —
1.0 КуНО, — 1.0 КоСт. — 1.0 МуО, —
1.0 КуНО, польтования ДАК в вичестве сапиственняю с пинь угукрада, в токого в условиях добовлитиях ДАК после преперагительного кельтинерования листияй в правутетния 0.1 об % в-гом алеканы в 0.1 о'т прожа вого экспласта в почотие 2 ску. В коместве повтосля

564	Tong unane e conteque
was and	REFINAL RECEIVE ALL RECEIVES AND MELL METHOD ALL REFERENCE MENTION AND METHOD THE
Distato ments	WERN THE HOUM 28G HOUR 28G HOURS 28 HOURS 28 S HOUR 28 S HOUR 28 S HOUR 28 S

Катальна в промышления сти, т. 17, № 2, 2012



Рисунок Д. 1 — Черемных К.М., Гришко В.В., Ившина И.Б. Бактериальная деградация экотоксичной дегидроабиетиновой кислоты // Катализ в промышленности. 2017. Т. 17, № 2. С. 65–72. DOI: 10.18412/1816-0387-2017-2-153-160 — первая страница, страница с указанием на то, что использовались штаммы из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов, и страница с разделом «Благодарности» с указанием источника финансирования.

Microbial Resources

From Functional Existence in Nature to Applications

Edited by

lpek Kurtböke

GeneCology Baseach Center and Faculty of Science, Health, Education and Engineering, University of the Israeline Cests, Nanoccipation DC, QED 4538, Australia





130 Alicobial Resources



Translations: propose (A. C. P.) A operation (E), a volume (E), and whendowne (E), (D) SUM N × 100,000, (E) BUM N

s-butane-cultivated Rhodoroccus (Fig. 6.3C and F). Obviously, the excess cell wall growth, increasing its surface, is related to formation of a kind of a depot

well growth, increasing its surface, in related to formation of a kind of a depot for the cells to be completely alkate-naturated that provides function of the hy-drughobic substrate autoria. These functional adaptations of functioneds grown in the growness of melbanes (C₂-C₂, C₃) disappeared in ultration structures of the matrims functional relations of the matrix of the matrix of the matrix. The exert cellular stage in 19C spitake is a metabolic process associated with the transmentionary HC susapport involving carrier proteins localized in membrane structures. In bostonia, passive and active HC transport eystems have been found (1, et al., 2015). There are intressing that indicating that HC attituation occurs by preserve transport at high e-relatedeases (C₂g) con-centration in the medium, whereas all lower 30C concentrations this specific system switches to energy-dependent numbers (10 at al., 2013). Therefore,

Hydrocarbon-Oxidizing Bacteria and Their Potential in Eco-Biotechnology and Bioremediation

Irena B. Ivshina, Maria S. Kuyukina and Anastasiya V. Krivoruchko

INTRODUCTION

The current ecological situation is extremely challenging, resulting from the detrinental environmental impacts of the large-scale development of natural resources, especially oil and gas, Despite the push into the generation of alternative energy sources and development of oil-replacement technilogies, the energy supplier rule of "fossil energy," namely sections by directions, will continue to be significant for the next few decades. Oil pollution, however, inevitably results from oil exploration, secape, transport, and processing and the socialestal oil spills are the most dangerous mass for the environment and characterized by shock leads in his-crusses and their large-term detablization (Cameron, 2012; Dustri et al., 2015). These events demonstrate the growing threat of socculary soil and water pollution streaming from lateral and senioral statistical signation of petrolizate hydrocarbons in sed neal water profiles, we well so the resultant current global evolutional environment. the natural environment.

Indigenous microorganisms able to degrade petroleum hydrocarbons con-urbate significantly toward the natural attentation processes of oil-centamina-ed ecosystems (Van listlem and Fundotf, 2007; Van Berlinn et al., 2009; Wenned et al., 2007). This properly alone confributions and their servival under emmenmental conditions detrimental for other microorganisms. Thus the rationale of studying this biogeochemically important group of microorganisms is obvious by virtue of their features (e.g., appropriate enzyme systems for hydrocarbon

too-Bonchedop and Surrenothing Chapter | 6 129

genomes, representatives of a vast and estimatively explored class. Actimibacteria, productions in oil-occluminated biotopes and able not only in service but actively function under fourth confidence. The solvention of adequate trainive, reheat, exchanged by anotheric graining that the training fluther generates offered of biotedication and biotechnical services but actively function under the resolvent of the production of the confidence o moreou, representatives of a yest and extensively explored class Actine

This work has been partly supported by the extended national task on hieroscore collections housed at the institutes of FASO Russia, the Rossian Scientific Franchisms (Popler no. 14-14-0044) and by the fingested Program of the Unal Branch of the Rossian Academy of Sciences (Project no. 15-12-4-10).

Рисунок Д. 2 – Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Krivoruchko A.V. Hydrocarbon-oxidizing bacteria and their potential in eco-biotechnology and bioremediation // Microbial Resources: From Functional Existence in Nature to Industrial Applications / Ed. I. Kurtböke. Elsevier, 2017. P. 121-148. http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-804765-1.00006-0 - первая страница книги, первая страница главы, страница с указанием на то, что использовались штаммы из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов, страница с разделом «Благодарности» с указанием источника финансирования.



Process Biochemistry



biotransformation

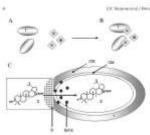


Рисунок Д. 3 – Tarasova E.V., Grishko V.V., Ivshina I.B. Cell adaptations of Rhodococcus rhodochrous IEGM 66 to betulin biotransformation // **Process** Biochemistry. 2017. V. 52. P. DOI 10.1016/j.procbio.2016.10.003 первая страница, страница с указанием на то, что использовались штаммы из Региональной профилированной алканотрофных коллекции микроорганизмов, и страница с разделом «Благодарности» с указанием источника финансирования.