

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
Института биологии развития
им. Н.К. Кольцова РАН


А.В. Васильев
« 15 » марта 2017 г.

Регламент

содержания и доступа к Коллекции линий дрозофил
ЦКП по биологии развития на основе использования клеточных технологий и
оптических методов исследований при
Федеральном государственном бюджетном учреждении науки
Институте биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Общие положения.

В связи с тем, что основными задачами Коллекции линий дрозофил являются идентификация, поддержание и распространение линий дрозофил группы *virilis* и группы *melanogaster*, для использования в фундаментальных и прикладных научных исследованиях, а также пополнение Коллекции новыми линиями, необходимо, чтобы Коллекция отвечала следующим требованиям (критериям):

1) Линии дрозофил в Коллекции должны быть охарактеризованы с помощью классических методов систематики и современных молекулярно-генетических методов. Процедуры идентификации и проверки соответствия декларируемой видовой принадлежности и соответствия указанному генотипу должны проводиться периодически, не реже 1 раза в год, в соответствии с СОПами (см. Стандартные Операционные Процедуры при работе с коллекцией дрозофил – Приложение Б).

2) В Коллекции имеется система документирования (для каждой линии дрозофил, находящейся в Коллекции, имеется набор характеристик, отражающий всю информацию, по каждой линии и манипуляций с ней, начиная с момента попадания в Коллекцию), а также система маркировки, исключая потерю и перепутывание материала.

3) Помещения, в которых содержится Коллекция и ведется работа по поддержанию линий, используемые материалы, оборудование и процедуры должны отвечать разработанной системе требований по контролю условий труда в соответствии с российскими и международными нормативами. Основные нормативные документы: 1. Трудовой кодекс Российской Федерации. Принят 30 2001 г. 197-ФЗ (с изменениями и дополнениями). 2.

Федеральный закон от 27.12.2002 г. № 184 – ФЗ «О техническом регулировании». 3. ГОСТ Р 12.0.001-2013 Система стандартов безопасности труда. Основные положения. 4. Постановление Правительства Российской Федерации от 27 декабря 2010 г. № 1160. Положение о разработке, утверждении и изменении нормативных правовых актов, содержащих государственные нормативные требования охраны труда. 5. Постановление Минтруда России от 17 декабря 2002 г. № 80. Об утверждении Методических рекомендаций по разработке государственных нормативных требований охраны труда.

В том числе, помещения для ведения коллекционной работы должны быть оборудованы системой поддержания постоянной температурой (25°C), вытяжками, микроскопическим оборудованием.

4) В перспективе каждая линия будет иметь паспорт с информацией об истории ее создания, молекулярных маркерах, условиях культивирования, копия которого должна выдаваться получателям данной линии, а также должен существовать электронный каталог имеющихся в Коллекции линий с их паспортами, доступный в сети интернет.

5) Поддержание линий дрозофил осуществляется путем регулярных пересевов на новую кормовую среду, каждые 2-3 недели, на основе визуального контроля состояния и численности очередного поколения. Используется стандартная кормовая среда на основе агар-агара, манки, сахара, дрожжей и изюма.

6) Доступ к Коллекции дрозофил для сотрудников ИБР РАН осуществляется через предварительную запись в журнал заказов. Ответственный за коллекцию сотрудник формирует заказы во время очередного посева коллекционных линий. Для сотрудников других учреждений доступ к Коллекции дрозофил осуществляется по предварительной договоренности и с разрешения Руководителя Коллекции.

7) Процедура передачи линий дрозофил пользователям вместе с информацией, достаточной для культивирования данных линий в их лабораториях, а также с подписанием в отдельных случаях Соглашения о передаче материалов.

8) Постоянная работа над пополнением Коллекции ведется посредством приобретения (из международных фондов и коллекционных фондов зарубежных лабораторий) и получения (в ходе экспериментальной работы и экспедиционных сборов) новых линий дрозофил.

Основные мероприятия, обеспечивающие корректную работу с коллекцией.

Сохранение коллекции обеспечено многократным дублированием линий в составе пересеваемого «пучка» пробирок, независимым пересевом культур из каждой пробирки и регулярной проверкой соответствия морфологических и генетических характеристик указанному генотипу линии. В перспективе планируется организация криохранилища линий дрозофил на стадии имаго.

Для заказчиков линий Коллекции Регламент содержит Перечень актуальных услуг, оказываемых заинтересованным пользователям с учетом нагрузки, Используемые методики и Перечень основного технологического оборудования (Приложение А).

Контроль соблюдения стандарта, ответственность

Все работы, проводимые в условиях лаборатории должны вестись в соответствии с правилами пожарной безопасности и охраны труда. Процедуры молекулярно-генетического анализа, требующие стерильности, проводят в ламинарных боксах. При работе обеспечиваются условия, предотвращающие воздействие на персонал аллергенными веществами (диэтиловый эфир, микрочастицами ваты, испарениями кондиционированной личинками дрозофил кормовой среды).

Оборудование, используемое при проведении молекулярно-генетической диагностики линий, проходит процедуру калибровки сотрудниками лаборатории с периодичностью и с использованием методов, как это указано производителем. Все расходные материалы и реактивы должны иметь соответствующие сертификаты качества и храниться соответственно спецификации.

Контроль выполнения регламента возлагается на Руководителя коллекции. Ответственность за выполнение данной процедуры несут все сотрудники, участвующие в исследовании.

Приложение А.

Перечень актуальных услуг, оказываемых заинтересованным пользователям с учетом нагрузки.

1. Обеспечение заинтересованных учебных и научных организаций линиями дрозофил с заданными характеристиками (происхождение, генотип и т.п.).
2. Проведение заказных исследований с использованием коллекционных линий в совместных работах с представителями внешних организаций.
3. Проведение учебно-практических мероприятий со школьниками и студентами по ведению линий и постановке генетических экспериментов с дрозофилой.
4. Предоставление по предварительной договоренности отработанных имаго после пересева коллекционных фондов в качестве корма для лабораторных животных (рыбы, амфибии, рептилии).

Перечень основного технологического оборудования.

1. Бинокулярные лупы и микроскопы (Lomo 9, Lomo 10, Micromed MC-2 Zoom, Carl Zeiss 'Jenalumar').
2. Суховоздушные термостаты с охлаждением и поддержанием фотопериода.
3. Шкафы сушильные стерилизационные сухожарочные.
4. Пароварка.
5. Источники УФ.
6. Блендер.
7. Весы.
8. Сплит-системы.
9. Холодильники.
10. Суточный таймер 16A Electraline 59500.
11. Очиститель воздуха.
12. Ламинары и ПЦР-боксы.
13. Амплификаторы (Терцик, VeritiFast Applied Biosystem)
14. Секвенатор DNA analyser 3500
15. Чипридер и чипрайтер Perkin Elmer

Используемые методики.

1. Классические методы поддержания коллекционных линий дрозофил, отбора по полу и фенотипическим признакам, постановки скрещиваний при ведении линий с отбором и синтезе новых линий с генетическими маркерами и трансгенными конструкциями.
2. Методы выделения ДНК, амплификации и секвенирования при проверке генотипа коллекционных линий.
3. Методы микроскопирования и оценки количественных и цитогенетических признаков дрозофил коллекционных линий.

Руководитель Коллекции

д.б.н.



Куликов А.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ им. Н.К. Кольцова РАН
 Лаборатория эволюционной генетики развития

Стандартные операционные процедуры (СОП) содержания и развития
«Коллекция дрозофил»

**Объединенная коллекция лабораторных животных для фундаментальных,
 прикладных и природоохранных исследований**

Составил	Согласовал	Утвердил
С.н.с. лаборатории эволюционной генетики развития Лазебный О.Е. 	Зав. Лабораторией эволюционной генетики развития Куликов А.М. 	Директор ИБР РАН Васильев А.В. 
«15» марта 2017г	«15» марта 2017г	 «15» марта 2017г

Москва, 2017

1. СОП № 1 кд “Содержание и контроль состояния коллекционных линий дрозофил”
2. СОП № 2 кд “Регулярная проверка соответствия видоспецифичности всех коллекционных линий дрозофил указанной в каталоге коллекции за исключением отдельных видов-близнецов”
3. СОП № 3 кд “Полная углубленная проверка соответствия видоспецифичности всех коллекционных линий дрозофил указанной в каталоге коллекции”
4. СОП № 4 кд “Молекулярно-генетическая диагностика коллекционных линий дрозофил группы *virilis*”
5. СОП № 5 кд “Пополнение коллекционных фондов линиями из природы и полученными по обмену с другими коллекционными фондами”
6. СОП № 6 кд “Приготовление кормовой среды для коллекции дрозофил”
7. СОП № 7 кд “Обработка отработанной посуды и подготовка к дальнейшему использованию”

СОП № 1 кд (№1 коллекция дрозофил) “Содержание и контроль состояния коллекционных линий дрозофил”

Применение

Процедура применима к организации процесса поддержания коллекционных линий дрозофил, включающего контроль состояния единиц хранения и пересев линий на свежую кормовую среду.

Цель

Стандартизация процесса поддержания коллекционных линий дрозофил.

Определения

Линия – коллекционная культура дрозофил определенного вида с указанным генотипом и/или фенотипом.

Изосамочья линия – линия, полученная от одной самки.

Единица хранения – индивидуальная линия дрозофил коллекции.

«Пучок» - несколько стаканов с культурой дрозофил одной линии, развитие в которых находится на разных стадиях.

Кормовая среда – изготавливаемая по стандартной методике пищевая смесь для содержания дрозофил.

Пересевание культуры – перенос имаго дрозофил на новую кормовую среду.

Список литературы

Fly Pushing: The Theory and Practice of Drosophila Genetics Ralph J Greenspan. Cold Spring Harbor Laboratory. 2004. 191 pp., ISBN : 087969711

Медведев И.Н. Практическая генетика. М.: Наука, 1968, 297 с.

Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975, 580 с.

Ответственность

Старший лаборант, осуществляющий работу с коллекционными фондами

Научный сотрудник, старший научный сотрудник, зоолаборант

Последовательность действий

1.1. **Подготовка свежей кормовой среды.** Готовые стаканы с кормовой средой для дрозофил хранятся в холодильнике при $t - 4^{\circ}$. Перед проведением СОП стаканы с кормовой средой необходимо выдержать при комнатной температуре в течение 20 мин.

1.2. **Подготовка рабочего места.** Для работы с коллекционными линиями дозофил на рабочем месте необходимо иметь:

- Резиновый коврик размером 10x15 см
- Маркер перманентный спирторастворимый для нанесения маркировки на стаканы
- Стерильная фильтровальная бумага
- Емкость с раствором детергента для отбросов имаго.
- Морилка, заправленная диэтиловым эфиром
- Набор препаровальных игл
- Перо или кисть для работы с наркотизированными мухами.
- Биноклярная лупа
- Ящик для сбора отработанных стаканов.

1.3. Пучок, с которым ведется работа, вынимается из ящика для хранения и устанавливается перед исполнителем.

1.4. Визуально оценивается состояние культуры.

- По цвету и состоянию поверхности корма определяется вероятность бактериального, грибкового или клещевого заражения культуры. В случае необходимости оценка проводится при помощи биноклярной лупы. В случае выявления заражения культура отставляется в карантин.

- Оценивается однородность культуры по внешним фенотипическим признакам (видимые мутации, видовая принадлежность). В случае необходимости используется биноклярная лупа. В случае подозрения на засор культуры пучок отставляется для проверки куратором коллекции.

- Оценивается необходимость пересевания на свежую кормовую среду. Пересеванию подвергаются:

а) стаканы, в которых идет вылупление молодых имаго из куколок;

б) стаканы, в которых находятся родительские особи и уже началось развитие. Наличие яиц и появление личинок оценивается визуально. В случае необходимости используется биноклярная лупа;

в) стаканы, в которых находятся родительские особи, развитие не началось, но состояние корма не является удовлетворительным;

Пересеванию подвергается, как правило, 1/3 – 1/4 пучка.

1.5. **Пересевание культуры.** На стакане для пересадки указывается маркировка: идентификационный номер культуры и дата пересева.

- Ватная пробка из стакана со свежей кормовой средой извлекается непосредственно перед пересеванием.

- Имаго стряхиваются со стенок стакана посредством постукивания дном стакана о резиновый коврик.

- Имаго пересыпаются в стакан со свежей кормовой средой.

- Лишние имаго замариваются эфиром и утилизируются в емкости с детергентом.

- В заключение необходимо проверить плотность прилегания ватной пробки к стенкам стакана во избежание возможной контаминации культуры.

- В случаях разжижения кормовой среды в связи с активным развитием в стакан добавляется кусочек стерильной фильтровальной бумаги.

- Пучок перевязывается банковской резинкой и устанавливается в ящик для хранения

1.5. Хранение коллекции дрозофил осуществляется в термостатируемом кондиционируемом помещении, а также в термостатируемых шкафах при температуре 25° С

и 20-часовом световом режиме для линий дрозофил группы *virilis*, и световом режиме 12x12 для всех остальных видов.

1.6. В журнале для заказов необходимо оставить заявку на приготовление кормовой среды для следующего пересевания.

Периодичность

Процедура (СОП №1) осуществляется 1-2 раза в неделю.

Пересмотр СОП

Пересмотр СОП осуществляется 1 раз в год, в связи с изменением количества единиц хранения и новыми требованиями к содержанию.

СОП № 2 кд (№2 коллекция дрозофил)

“Регулярная проверка соответствия видоспецифичности всех коллекционных линий дрозофил указанной в каталоге коллекции за исключением отдельных видов-близнецов”

Применение

Процедура применима к содержанию коллекционных линий дрозофил и соблюдению своевременной проверки соответствия декларируемым стандартам коллекционных линий.

Цель

Контроль за соблюдением соответствия реальной и прописанной в каталоге видоспецифичности коллекционных линий дрозофил и наличия соответствующих мутаций путем визуального изучения внешних морфологических признаков имаго без изготовления препаратов.

Определения

Линия – коллекционная культура дрозофил определенного вида с указанным генотипом и/или фенотипом.

Список литературы

Горностаев Н.Г. Определительная таблица мух-дрозофилид (Diptera, Drosophilidae) Европейской России и сопредельных стран// Энтомологическое обозрение. Т.80. № 4. С.908-915.

Ответственность

Старший научный сотрудник, проводящий регулярную проверку соответствия коллекционных линий декларируемым признакам; руководитель коллекции.

Порядок действий

- 2.1. Взять пробирку с дрозофилами из линии, открыть ватную пробку и пересыпать мух в морилку с эфиром
- 2.2. Подержать мух в морилке в течение 10 -15 сек и высыпать их на предметный столик бинокулярной лупы
- 2.3. Провести определение дрозофил по внешним морфологическим признакам. Для

поворота мух под нужным углом зрения используется пинцет (5 мин)

Периодичность

Регулярная проверка проводится один раз в два месяца.

Пересмотр СОП

Пересмотр СОП осуществляется 1 раз в год, в связи с совершенствованием методов контроля признаков и пополнением коллекции линиями с новыми требованиями к содержанию.

СОП №3 кд (№3 коллекция дрозофил) “Полная углубленная проверка соответствия видоспецифичности всех коллекционных линий дрозофил указанной в каталоге коллекции”

Применение

Процедура применима к содержанию коллекционных линий дрозофил и соблюдению своевременной проверки соответствия декларируемым стандартам коллекционных линий.

Цель

Контроль специалистом в области систематики и таксономии дрозофилид за соблюдением соответствия реальной и прописанной в каталоге видоспецифичности коллекционных линий дрозофил путем углубленного анализа систематических признаков дрозофил с использованием временных препаратов половых органов самцов.

Определения

Линия – коллекционная культура дрозофил определенного вида с указанным генотипом и/или фенотипом.

Список литературы

Горностаев Н.Г. Определительная таблица мух-дрозофилид (Diptera, Drosophilidae) Европейской России и сопредельных стран// Энтомологическое обозрение. 2001. Т.80. № 4. С.908-915.

Горностаев Н.Г., Куликов А.М. и Митрофанов В.Г. Морфологическая диагностика самцов видовой группы *Drosophila virilis* s. l. (Diptera, Drosophilidae)// Энтомологическое обозрение. 1998. Т.77. № 3. С.700-703.

Ответственность

Старший научный сотрудник, проводящий полную углубленную проверку соответствия коллекционных линий декларируемым признакам; руководитель коллекции.

Порядок действий

3.1. Взять пробирку с дрозофилами из линии, открыть ватную пробку и пересыпать мух в морилку с эфиром

3.2. Подержать мух в морилке в течение 10-15 сек и высыпать их на предметный столик бинокулярной лупы. Выбрать экземпляр самца дрозофилы из изучаемой пробирки и поместить его на предметное стекло под бинокулярной лупой в каплю воды

- 3.3. Тонкими препаровальными иглами отсечь кончик брюшка самца
- 3.4. Выделить тонкими препаровальными иглами гениталии самца, а затем для проведения видовой диагностики выделить эдеагус
- 3.5. Перенести его с помощью препаровальных игл на другое предметное стекло, поместить в каплю глицерина и накрыть покровным стеклом, по краям которого нанести тонкий слой пластилина. Убедиться, что эдеагус на препарате расположен в правильном ракурсе для просмотра, латерально
- 3.6. На максимальном увеличении бинокулярной лупы и в разных режимах освещения (проходящем и отраженном) провести определение дрозофилы

Периодичность

Полная углубленная проверка проводится один раз в шесть месяцев.

Пересмотр СОП

Пересмотр СОП осуществляется 1 раз в год, в связи с совершенствованием методов контроля признаков и пополнением коллекции линиями с новыми требованиями к содержанию.

СОП № 4 кд (№4 коллекция дрозофил)

“Молекулярно-генетическая диагностика коллекционных линий дрозофил группы *virilis*”

Применение

Процедура применима к организации контроля соответствия коллекционных линий заявленной видовой принадлежности.

Цель

Проверка коллекционных линий на возможную контаминацию путем анализа последовательности фрагмента мт-гена *coxI*.

Определения

ПЦР – полимеразная цепная реакция.

Секвенирование – определение последовательности ДНК маркерного локуса с целью идентификации видовой принадлежности образца.

Список литературы

Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R., 1994, DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates //Mol Mar Biol Biotechnol. V. 3., № 5., 294-299

Ответственность

Научный сотрудник

Последовательность действий

4.1. Выделение тотальной ДНК осуществляется стандартными методами из 10 взрослых мух.

4.2. Пробирка с ДНК оставляется на хранение при $t = -20^{\circ}\text{C}$.

4.3. Часть ДНК используется для ПЦР и секвенирования.

4.3.1. ПЦР проводится по стандартной методике с универсальными праймерами для гена *cox1*, используемыми для ДНК-штрихкодирования у насекомых (Folmer et al., 1994).

4.3.2. Проводится секвенирование фрагмента *cox1*.

4.4. Полученная последовательность сравнивается с имеющимися в базе данных NCBI BLAST для определения видовой принадлежности, а также с внутренней базой данных последовательностей для установления соответствия ДНК образца заявленной линии.

4.5. Данные о результатах анализа видовой и линейной принадлежности заносятся в электронный каталог коллекции.

Периодичность

Анализ проводится 1 раз в 2 года или при подозрении на контаминацию.

Пересмотр СОП

Пересмотр СОП осуществляется 1 раз в год, в связи с пополнением коллекции новыми линиями.

СОП №5 кд (№5 коллекция дрозофил)

“Пополнение коллекционных фондов линиями из природы и полученными по обмену с другими коллекционными фондами”

Применение

Процедура применима к содержанию коллекционных линий дрозофил и соблюдению своевременной проверки соответствия декларируемым стандартам коллекционных линий.

Цель

Обеспечение безопасного пополнения коллекционных линий дрозофил, недопущение привнесения бактериального или иного заражения в основной фонд путем совершения карантинных мероприятий.

Определения

Линия – коллекционная культура дрозофил определенного вида с указанным генотипом и/или фенотипом.

Кормовая среда – изготавливаемая по стандартной методике пищевая смесь для содержания дрозофил.

Пересевание – перенос имаго дрозофил на новую кормовую среду.

Список литературы

Fly Pushing: The Theory and Practice of Drosophila Genetics Ralph J Greenspan. Cold Spring Harbor Laboratory. 2004. 191 pp., ISBN : 087969711

Медведев И.Н. Практическая генетика. М.: Наука, 1968, 297 с.

Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975, 580 с.

Ответственность

Старший лаборант, осуществляющий работу с коллекционными фондами; научный сотрудник, проводящий регулярную проверку соответствия коллекционных линий декларируемым признакам; руководитель коллекции.

Порядок действий

5.1. Прежде всего проводится определение отловленных видов дрозофил, которое осуществляет научный сотрудник, являющийся специалистом в области систематики и таксономии дрозофилид. В случае поступления новых линий из других коллекционных фондов также проводится их изучение с целью подтверждения видовой принадлежности дрозофил.

5.2. Каждая самка из числа отловленных в природе помещается индивидуально в отдельную пробирку с кормом для создания изосамковой линии.

5.3. После этого осуществляется карантин для новых линий дрозофил в течение одного поколения мух. Визуально по цвету кормовой среды в пробирках проверяется наличие или отсутствие бактериального или иного заражения, под бинокулярной лупой определяется наличие заражения клещами. Карантин проводится в отдельном помещении, в удалении от основной коллекции. При необходимости осуществляется дополнительное пересевание мух на свежий корм. После вылета нового поколения мух из куколок при условии отсутствия клещей в пробирках и бактериального заражения корма можно перемещать эти линии из карантина в основной коллекционный фонд.

5.4 Пересев линий при содержании в карантине осуществляется в соответствии с СОП-1. Подготовка кормовой среды для ловушек и для ведения линий осуществляется в соответствии с СОП-6.

Периодичность

СОП осуществляется в случае необходимости.

Пересмотр СОП

Пересмотр СОП осуществляется 1 раз в год, в связи с совершенствованием методов контроля признаков и пополнением коллекции линиями с новыми требованиями к содержанию.

СОП № 6 кд (№6 коллекция дрозофил) “Приготовление кормовой среды для коллекции дрозофил”

Применение

Процедура применима к организации процесса поддержания коллекционных линий дрозофил на этапе подготовки материалов.

Цель

Организация процесса приготовления кормовой среды для содержания и разведения коллекционных линий дрозофил.

Определения

Стакан – плоскодонный цилиндрический стеклянный стакан или пробирка многоразового использования объемом 10, 30 и 100 мл.

Линия – коллекционная культура дрозофил определенного вида с указанным генотипом и/или фенотипом.

Единица хранения – индивидуальная линия дрозофил коллекции.

Кормовая среда – изготавливаемая по стандартной методике пищевая смесь для содержания дрозофил.

Список литературы

Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975, 580 с.

Ответственность

Зоолаборант

Последовательность действий

6.1. Кормовая среда для коллекционных линий дрозофил имеет следующий состав: вода – 1 л; сахар 40 г (или мальтозная патока - 60 мл); пекарские дрожжи – 70 г (или сухие дрожжи - 18 г); изюм – 40 г.; манная крупа – 35 г; агар-агар – 7 г; пропионовая кислота – 2 мл. Кормовая среда готовится в алюминиевой емкости объемом 5 л, исходя из расчета на 3 л воды. Подготавливаются навески ингредиентов.

6.2. К 3 л кипящей воды добавляется 120 г сахара, 54 г сухих дрожжей и 40 г измельченного изюма. Смесь варится на небольшом огне в течение 40 мин.

6.3. К кипящей смеси аккуратно добавляется 110 г манной крупы при постоянном помешивании во избежание образования комков.

6.4. Через 10 мин при постоянном помешивании добавляется 20 г агар-агара и варится еще 10 мин.

6.5. Смесь следует остудить до 60-70° С после чего добавить пропионовую кислоту в объеме 6 мл.

6.6. Смесь разливается по используемым ёмкостям слоем около 1,5 - 2 см в соответствии с количеством заказанных стаканов. Неиспользованная остывшая смесь хранится при 4° С в течение одной недели.

6.7. Стаканы со свежей кормовой средой оставляют остывать в течение 2х часов, накрыв их стерильной марлей.

4.8. После испарения конденсата со стенок стаканов они могут быть закрыты стерильными ватными пробками. Особое внимание уделяется контролю прилегания ватной пробки к стенкам стакана. В таком виде стаканы могут быть использованы для пересадки дрозофил или оставлены на хранение в течение 1 недели при 4° С.

Периодичность

СОП выполняется 1 – 2 раза в неделю

Пересмотр СОП

Пересмотр СОП осуществляется 1 раз в год, в связи с оптимизацией состава кормовой смеси.

СОП № 7 кд (№7 коллекция дрозофил)

“Обработка отработанной посуды и подготовка к дальнейшему использованию”

Применение

Процедура применима к организации процесса поддержания коллекционных линий дрозофил на этапе подготовки материалов.

Цель

Организация кругооборота емкостей для содержания и разведения коллекционных линий дрозофил.

Определения

Стакан – плоскодонный цилиндрический стеклянный стакан или пробирка многоразового использования объемом 10, 30 и 100 мл.

Линия – коллекционная культура дрозофил определенного вида с указанным генотипом и/или фенотипом.

Единица хранения – индивидуальная линия дрозофил коллекции.

Кормовая среда – изготавливаемая по стандартной методике пищевая смесь для содержания дрозофил.

Ответственность

Зоолаборант

Последовательность действий

7.1. Отработанные стаканы освобождают от ватных пробок и живых имаго. Имаго утилизируют в растворе детергента.

7.2. Ватные пробки также стерилизуются путем автоклавирования.

7.3. Стаканы погружаются в емкость, заливаются 0,2% раствором каустической соды (около 20–25 г NaOH на ведро) и нагревают до кипения.

7.4. Органические остатки удаляются со стенок стаканов механически при помощи ершика.

7.5. Стаканы ополаскиваются проточной водой 2 раза.

7.6. Для дезинфекции стаканы обрабатываются сухим жаром в сушильном шкафу при $t=120^{\circ}\text{C}$ в течение 2х часов.

7.7. Готовые стаканы ставятся в деревянные лотки. Для длительного хранения стаканы ставятся на лотки вверх дном или тщательно укрываются бумагой.

7.8. Деревянные лотки, бывшие в употреблении, моются горячей водой и периодически дезинфицируются слабым раствором соды.

Периодичность

СОП выполняется 1 – 2 раза в неделю

Пересмотр СОП

Пересмотр СОП осуществляется 1 раз в год, в связи с изменением объема работы и оптимизацией процесса.