

**Стандартная операционная процедура по криоконсервации культур  
алканотрофных актинобактерий**

**Региональная профилированная коллекция алканотрофных  
микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ)**

Верификация штаммов:

1. *Gordonia alkanivorans* ИЭГМ 748
2. *Gordonia rubripertincta* ИЭГМ 96
3. *Gordonia rubripertincta* ИЭГМ 731
4. *Gordonia terrae* ИЭГМ 136
5. *Rhodococcus erythropolis* ИЭГМ 10
6. *Rhodococcus erythropolis* ИЭГМ 20
7. *Rhodococcus erythropolis* ИЭГМ 186
8. *Rhodococcus erythropolis* ИЭГМ 200
9. *Rhodococcus erythropolis* ИЭГМ 204
10. *Rhodococcus erythropolis* ИЭГМ 270
11. *Rhodococcus erythropolis* ИЭГМ 487
12. *Rhodococcus erythropolis* ИЭГМ 708
13. *Rhodococcus erythropolis* ИЭГМ 767
14. *Rhodococcus fascians* ИЭГМ 34
15. *Rhodococcus fascians* ИЭГМ 35
16. *Rhodococcus fascians* ИЭГМ 40
17. *Rhodococcus opacus* ИЭГМ 56
18. *Rhodococcus opacus* ИЭГМ 249
19. *Rhodococcus rhodochrous* ИЭГМ 63
20. *Rhodococcus rhodochrous* ИЭГМ 66
21. *Rhodococcus rhodochrous* ИЭГМ 608
22. *Rhodococcus rhodochrous* ИЭГМ 647
23. *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 219
24. *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 230
25. *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231

- 26. *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 235
- 27. *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 326
- 28. *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 327
- 29. *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 338
- 30. *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 346

Криоконсервация (при -86 °С) коллекционных бактериальных культур осуществляется следующим образом.

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

**Этап 2.** Выращивание бактерий на агаризованных питательных средах в оптимальных условиях, обозначенных в Каталоге Коллекции ИЭГМ ([www.iegmc.org](http://www.iegmc.org)).

**Этап 3.** Бактерии, 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 стеклянные 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 эквilibрации заполненные криопробирки помещают в пластиковые коробки с ячейками и приступают к низкотемпературному охлаждению с помощью вертикального низкотемпературного морозильника (-86°С, Sanyo, Япония).

**Этап 9.** Перед использованием замороженный образец размораживают при комнатной температуре и проверяют жизнеспособность культуры с помощью высокоточного респирометра Micro-Oxymax<sup>®</sup> (Columbus Instruments, США).

Криоконсервация (при  $-86^{\circ}\text{C}$ ) бактериальных культур осуществляется с использованием следующего оборудования, материалов и реагентов: автоклав вертикальный, термостат, микровстряхиватель, вертикальный низкотемпературный морозильник, респирометр, одноканальный механический дозатор переменного объема (рабочий объем 0,1–1,0 мл) с набором наконечников, стерильные пластиковые криопробирки с винтовой крышкой объемом 2,0 мл, микробиологическая петля, спиртовка стеклянная, штатив пластиковый для пробирок, пластиковые коробки с ячейками, стеклянные пробирки с дистиллированной водой, этиловый спирт, 20% раствор глицерина, питательный агар для культивирования.

Штамм *G. alkanivorans* ИЭГМ 748 помещен на криохраниение 06.04.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$ . Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей Стандартной операционной процедуре. Хранение бактериальных клеток *G. alkanivorans* ИЭГМ 748 в присутствии криопротектора при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$  обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение пяти и более лет.

Штамм *G. rubripertincta* ИЭГМ 96 помещен на криохраниение 06.04.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$ . Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей Стандартной операционной процедуре. Хранение бактериальных клеток *G. rubripertincta* ИЭГМ 96 в присутствии криопротектора при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$  обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *G. rubripertincta* ИЭГМ 731 помещен на криохраниение 11.04.2017 г. Бактериальная суспензия ИЭГМ 731 хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$ . Проверка на аутентичность осуществляется согласно соответствующей Стандартной операционной процедуре. Хранение бактериальных клеток *G. rubripertincta* ИЭГМ 731 в присутствии криопротектора при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$  обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *G. terrae* ИЭГМ 136 помещен на криохраниение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 11.04.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$ . Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей Стандартной операционной процедуре. Хранение бактериальных клеток *G. terrae* ИЭГМ 136 в присутствии криопротектора при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$  обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

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

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

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

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

Штамм *R. erythropolis* ИЭГМ 204 помещен на криохраниение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 31.05.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °С. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей Стандартной операционной процедуре. Хранение бактериальных клеток *R. erythropolis* ИЭГМ 204 в присутствии криопротектора при температуре -86°С

обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение трех и более лет.

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

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

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

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

Штамм *R. fascians* ИЭГМ 34 помещен на криохраниение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 05.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °С. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей Стандартной

операционной процедуре. Хранение бактериальных клеток *R. fascians* ИЭГМ 34 в присутствии криопротектора при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$  обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *R. fascians* ИЭГМ 35 помещен на криохраниение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 08.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$ . Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей Стандартной операционной процедуре. Хранение бактериальных клеток *R. fascians* ИЭГМ 35 в присутствии криопротектора при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$  обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *R. fascians* ИЭГМ 40 помещен на криохраниение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 08.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$ . Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей Стандартной операционной процедуре. Хранение бактериальных клеток *R. fascians* ИЭГМ 40 в присутствии криопротектора при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$  обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение четырех и более лет.

Штамм *R. opacus* ИЭГМ 56 помещен на криохраниение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 08.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$ . Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей Стандартной операционной процедуре. Хранение бактериальных клеток *R. opacus* ИЭГМ 56 в присутствии криопротектора при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$  обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение пяти и более лет.

Штамм *R. opacus* ИЭГМ 249 помещен на криохраниение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 13.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$ . Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей Стандартной операционной процедуре. Хранение бактериальных клеток *R. opacus* ИЭГМ 249 в присутствии криопротектора при температуре  $-86^{\circ}\text{C}$  обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение пяти и более лет.

Штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 63 помещен на криохраниение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 13.06.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в

криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °С. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей Стандартной операционной процедуре. Хранение бактериальных клеток *R. rhodochrous* ИЭГМ 63 в присутствии криопротектора при температуре -86°С обеспечивает гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение одиннадцати и более лет.

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

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

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

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

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

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

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

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

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 327 помещен на криохраниение в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов 07.02.2017 г. Бактериальная суспензия хранится в криопробирках в 20% растворе глицерина при температуре -86 °С. Проверка на аутентичность осуществлялась согласно соответствующей Стандартной операционной процедуре. Хранение бактериальных клеток *R. ruber* ИЭГМ 327 в присутствии криопротектора при температуре -86°С обеспечивает

гарантированное сохранение их высокой жизнеспособности в течение трех и более лет.

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

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