

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.64

doi: 10.17223/19988591/60/1

Изучение продуктов жизнедеятельности сельскохозяйственных животных: перспективы создания биобанка

Ирина Сергеевна Ковтун¹, Мария Васильевна Филонова²,
Анна Александровна Борисова³, Алексей Эдуардович Сазонов⁴

^{1, 2, 4} Национальный исследовательский Томский государственный университет,
Томск, Россия

³ Национальный исследовательский центр Курчатовский институт, Москва, Россия

¹ kovtunirina2@gmail.com

² Maria-Caurus7@yandex.ru

³ AnnAlexBorisova@yandex.ru

⁴ sazonov_al@mail.ru

Аннотация. Коллекционирование образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными, представляет значительный научный и практический интерес. Проведение экспериментальных работ с использованием биологического материала, собранного и сохраненного в ходе широкомасштабных исследований, в том числе с привлечением возможностей гражданской науки, позволяет не только выявить параметры, характеризующие особенности физиологии животных, но и обнаружить новые виды микроорганизмов, перспективные для биотехнологий. Подход к процессу отбора проб требует особого внимания, поскольку качество отбираемого биологического материала играет решающую роль в исследовательском процессе. При этом методы и подходы гражданской науки позволяют значительно расширить территориально-географический охват мест отбора проб, что позволит увеличить достоверность получаемых научных данных. Биобанк выступает связующим звеном взаимодействия в контексте сопряжения профессиональных исследований и «гражданской науки», организует и координирует процесс. В статье приведен опыт организации биобанка НИ ТГУ, деятельность которого направлена на сохранение образцов продуктов жизнедеятельности сельскохозяйственно значимых животных (навоз, помет, компост, а также образцы кисломолочных продуктов). Кроме того, объектами хранения биобанка являются штаммы сельскохозяйственно значимых микроорганизмов, выделенных в ходе исследований собранного биологического материала. Биобанк выступает как уникальная в своем роде структура, «универсальный инструмент», созданный для реализации крупномасштабных научных проектов.

Ключевые слова: биоресурсная коллекция, биобанк, биологические образцы, продукты жизнедеятельности сельскохозяйственно значимых животных, сельскохозяйственно значимые микроорганизмы, гражданская наука

Источник финансирования: работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Фе-

деральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1401 от 03 ноября 2021 года).

Для цитирования: Ковтун И.С., Филонова М.В., Борисова А.А., Сазонов А.Э. Изучение продуктов жизнедеятельности сельскохозяйственных животных: перспективы создания биобанка // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 60. С. 6–22. doi: 10.17223/19988591/60/1

Original article

doi: 10.17223/19988591/60/1

The Study of Metabolic By-Products of Farm Livestock: Prospects for the Creation of a Biobank

**Irina S. Kovtun¹, Maria V. Filonova²,
Anna A. Borisova³, Alexey E. Sazonov⁴**

^{1, 2, 4} *National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation*

³ *National Research Center "Kurchatov Institute", Moscow, Russian Federation*

¹*kovtunirina2@gmail.com*

²*Maria-Caurus7@yandex.ru*

³*AnnAlexBorisova@yandex.ru*

⁴*sazonov_al@mail.ru*

Summary. Biobanks are a valuable resource for conducting all types of studies, since they are fundamental structures which contain accessible and defined biological samples of various types and related data. Biobanking includes collection, treatment, storage and distribution of samples and allows conducting a wide range of biomedical research with a significant number of samples, thus ensuring the quality of results and compliance with standard laboratory methods.

The literature search confirmed an insignificant activity in the animal biobanking sector when compared to that of human biobanking. In addition, the collection of samples associated with farm livestock is of considerable scientific and practical interest. Experimental work, which is carried out using the biological material collected and stored during large-scale studies (also involving the capabilities of citizen science), allows not only identifying the parameters characteristic of animal physiology features, but also discovering new types of biotechnologically promising microorganisms. The approach to the sampling process requires special attention, since the quality of the selected biological material is crucial in the research process. Moreover, the methods and approaches of citizen science can significantly expand the territorial and geographical coverage of sampling sites, which will enable to increase the reliability of the scientific data obtained. The biobank acts as a link connecting professional studies and "citizen science", organizes and coordinates the process of their interaction. The paper presents the experience of organizing the biobank of Tomsk State University which is aimed to store the samples of metabolic by-products of agriculturally significant animals (manure, droppings, compost, and samples of fermented dairy products). In addition, the strains of agriculturally significant microorganisms isolated while studying the collected biological material are stored in the biobank. The biobank acts as a unique structure of its kind, a "universal tool" created for implementation of large-scale research projects.

When implementing major biological research projects which involve conducting large-scale studies (for example, the projects as part of the federal scientific and technical program for the development of genetic technologies for 2019-2027 approved by

the Russian Federation Government Decree No 1930 as of December 28, 2019), there arises an urgent issue of obtaining biological material for the studies. As part of the project under implementation, The TSU Biobank of Agriculturally Significant Microorganisms (TSU Biobank of ASM), a bioresource collection of the samples of metabolic by-products of agriculturally significant animals and strains of agriculturally significant microorganisms isolated while studying the collected biological material was created. The biobank was created in order to ensure proper storage conditions for the samples, cultures of ASM, and genomic DNA collected during the project implementation, and provide information about the sources of samples and biological material, and their use in biotechnology. The biobank regulations – a document regulating the biobank activities – was designed, and a list of documents which guide the biobank in its activities was presented. General provisions, including general requirements for organization of the biobank's activities, its functions and powers, and the rules for reception/storage/distribution of biological material and associated information were also provided.

The biobank acts as a unique link between professional science and citizen science. It is the context of biobanking where the works of professional scientists can be combined with the contribution of "citizen scientists". In this case, the biobank acts as a controlling link, a source of criteria and methods for assessing the quality of biological material entering the biobank, since the quality of the received biological material may differ significantly depending on the degree of professionalism of a person who collects samples.

The article contains 2 Figures, 22 References.

Keywords: bioresource collection, biobank, biological samples, metabolic by-products of agriculturally significant animals, agriculturally significant microorganisms, citizen science

Acknowledgments: This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in the framework of the Federal scientific-technical program of the genetic technologies development for 2019–2027 (Agreement № 075-15-2021-1401, 3 November 2021).

For citation: Kovtun IS, Filonova MV, Borisova AA, Sazonov AE. The Study of Metabolic By-Products of Farm Livestock: Prospects for the Creation of a Biobank. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2022;60:6-22. doi: 10.17223/19988591/60/1

Введение

Коллекционирование образцов живой природы является неотъемлемой частью развития науки. В настоящее время количество и разнообразие коллекционируемых биологических объектов растет с каждым годом, расширяется область их использования. Совокупность биологических образцов, хранящихся в определённых условиях и представляющая научно-практический или просветительский интерес, называется биоресурсной коллекцией [1]. Регламентирование и цифровизация биоресурсных коллекций привели к появлению нового термина «биобанк». По отношению к биоресурсным коллекциям термин «биобанк» стал применяться сравнительно недавно – начиная с 2000-х гг. [2]. При этом важно отметить принципиальную разницу между коллекцией и биобанком. Так, коллекцией можно назвать любое хранилище биологических объектов, вплоть до лабо-

раторного морозильника, в котором помещен биологический исследовательский материал разного рода. Такие коллекции, как правило, не являются структурно-организованными, а вся ассоциированная с коллекционируемыми образцами информация не является доступной для сторонних пользователей. Кроме того, отбор, хранение и процессинг образцов редко регламентируются какими-либо стандартными операционными процедурами, что значительно затрудняет использование коллекционируемых образцов другими научными группами в силу отсутствия валидации. Наиболее структурно-организованными коллекциями являются гербарии и зоологические музеи, поскольку в этих случаях процесс создания коллекции подчиняется определенным правилам и стандартам, а доступ к образцам и ассоциированной с ними информации является относительно открытым [3]. Однако идея коллекционирования гербарных образцов и экспонатов зоологического музея заключается преимущественно в столь возможно длительном сохранении каждого образца без возможности изъятия фрагментов образцов и проведения с ними лабораторных исследований.

В свою очередь, смысл деятельности биобанка заключается в предоставлении валидированных биологических образцов, которые отобраны, транспортируемы и сохраняемы при строго определённых условиях, согласно стандартизированным процедурам. Получатель биологического материала может использовать образец или его фрагмент в научно-исследовательских целях без необходимости возвращения образца в биобанк. Вся ассоциированная с образцом информация является достоверной и верифицированной, что позволяет максимально продуктивно использовать все собранные образцы в научных целях. Биобанкирование как строго регламентированный и контролируемый процесс способствует значительной оптимизации исследовательской деятельности [4].

Если обратиться к истории, то можно отметить, что коллекционирование образцов живой природы как процесс шло параллельно и даже предшествовало исследовательским процессам, что создавало необходимую материальную базу и позволяло накапливать материал для опытов. С развитием науки и профессионализацией научно-исследовательской деятельности появилась необходимость модификации биоресурсных коллекций в направлении сохранения всей информации, ассоциированной с собранными образцами, а также в направлении организации сетевого взаимодействия с другими биоколлекциями и сотрудничества с заинтересованными исследователями. Так стал развиваться процесс биобанкирования как самостоятельный раздел науки.

В современном представлении биобанк – это структура, создаваемая с целью долгосрочного хранения биологических образцов и ассоциированной с ними информации для их дальнейшего использования в научных и клинических исследованиях. При этом стоит отметить, что сама идеология биобанкирования подразумевает не только хранение биологического материала и метаданных, но и создание рекомендаций по оснащению и планировке помещений биобанка, предполагает обучение персонала биобанка,

стандартизацию процедур по отбору, транспортировке, процессингу, анализу и контролю качества образцов, а также создание современных, удобных при эксплуатации баз данных для организации научно-практического взаимодействия с потенциальными пользователями услуг биобанка [5].

В подавляющем большинстве биобанки в их современном понимании создавались для сохранения биологического материала человека с целью решения ограниченного круга медицинских задач, прежде всего связанных с гемотрансфузией и трансплантологией (банк крови, банк органов и др.). Однако с освоением и пониманием самого процесса биобанкирования, расширилась и область применения данного инструмента. Например, создание биобанков репродуктивных клеток позволило преодолеть проблемы бесплодия, а биобанки микробиоты человека позволили значительно продвинуться в диагностике и терапии ряда патологий, ассоциированных с желудочно-кишечным трактом.

В настоящее время деятельность биобанков также в основном направлена на сохранение биологического материала человека, что обусловлено востребованностью со стороны активно развивающихся медицинских биотехнологий. Однако в отношении животных такая практика не является общепринятой за исключением сохранения половых клеток породистых сельскохозяйственных и линейных экспериментальных животных, а также некоторых попыток сохранения генетического материала в интересах изучения биоразнообразия. При этом бурное развитие сельскохозяйственной биотехнологии последних лет сформировало запрос на создание коллекций биологических образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными. Такие образцы могут служить как основой создания диагностических инструментов для оценки здоровья и качества питания сельскохозяйственных животных, так и являться источником ценных микроорганизмов, которые могут быть использованы в биотехнологии для нужд человека. Однако подобных биобанков до сих пор не существует [6].

Развитие биобанкирования в сфере сельского хозяйства, сохранение продуктов жизнедеятельности сельскохозяйственно значимых животных несомненно позволит значительно расширить область применения микроорганизмов кишечника сельскохозяйственных животных, предупреждать ряд заболеваний животных, а также осуществлять мониторинг состояния здоровья племенных животных и ценных особей. А использование биобанка как инструмента научно-исследовательского процесса позволит привязывать микробный состав кишечника каждой конкретной особи к месту обитания, к условиям питания и жизни в целом. Объектом коллекционирования могут быть не только непосредственно фекалии сельскохозяйственных животных, но и образцы компоста и фекалии диких сородичей, что позволит выделять штаммы сельскохозяйственно значимых микроорганизмов. Биобанк при этом становится связующим звеном и гарантом качества, стандартизируя процесс отбора и хранения проб. Таким образом, создание биобанка для сохранения продуктов жизнедеятельности сельскохозяйственно значимых животных, а также сельскохозяйственно значимых

микроорганизмов позволит расширить область и масштабы научно-исследовательского применения микробиоты.

Биобанкирование образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными

Биобанкирование образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными, прежде всего продуктов их жизнедеятельности, лежит в основе целого ряда научных направлений. С одной стороны, такие образцы могут служить источником ценной информации о физиологии животных, с другой стороны, могут быть источником микроорганизмов с уникальными, хозяйственно ценными свойствами. Микробиологический анализ собранных образцов должен идти с позиции изучения микробиома, поскольку такой подход обеспечивает целостное представление о микробной структуре и функциях любых экологических и клинических образцов [11, 12]. К понятию «микробиом» относятся не только микроорганизмы как таковые, но и все их функциональные и экологические взаимодействия друг с другом и со средой, что, в свою очередь, приводит к формированию специфических экологических ниш. Микробиом, образуя динамическую, интерактивную микроэкосистему, способную масштабироваться и изменяться во времени, интегрируется в макроэкосистемы, включая эукариотических хозяев, играя решающую роль в их функционировании и поддерживая гомеостаз. Таким образом, микробиом представляет собой совокупность микроорганизмов, принадлежащих к разным таксонам (прокариоты (бактерии, археи), эукариоты (простейшие, грибы, водоросли)), внедрённых в экологические условия среды обитания, а также включает микробные структуры, метаболиты, мобильные генетические элементы (транспозоны, фаги, вирусы), реликтовую ДНК [7–10]. Понимание пространственной организации и функциональности микробного сообщества необходимо для исследования роли микробного биоразнообразия в различных экосистемах [12, 13], в том числе при изучении образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными.

Подавляющее большинство научных исследований микробных сообществ в настоящее время посвящено изучению микробиома кишечника, что связано со значительным разнообразием микроорганизмов, населяющих этот орган. Так, количество бактериальных клеток в кишечнике человека превышает число клеток в его организме в 10 раз, а генов бактерий – в 100 раз больше, чем человеческих генов. Состав микробиома и динамика его организации различны и зависят от взаимодействия с организмом хозяина, учитывая его метаболизм, диету, образ жизни, осложнения со здоровьем, а также воздействие антибиотиков и окружающей среды [8, 11, 14, 15]. Растущий научно-исследовательский интерес к микробиому кишечника подчеркивает важность его изучения, однако количество исследований, посвященных роли микробиома у сельскохозяйственных животных, и тем

более коллекционирование образцов продуктов их жизнедеятельности все еще остается ограниченным [12, 14].

Изучение микробиоты животных можно отнести к относительно новому научному направлению, которое стало возможным благодаря появлению технологий секвенирования для определения таксономической идентичности и функциональных признаков микроорганизмов без культивирования [9, 14]. В настоящее время наиболее актуальным является исследование микробиома животных в аспекте развития продуктивности животноводства в контексте обеспечения продовольственной безопасности. Постоянный рост населения (по оценкам, к 2050 г. оно составит 10 млрд человек, согласно отчету Организации Объединенных Наций за 2017 г.) связан с растущим спросом на продукты питания как растительного, так и животного происхождения. Предполагается, что растущий спрос на производство мяса приведет к необходимости изменения методов животноводства в сторону интенсификации и экономичного производства, но в то же время и к росту требований сократить использование антибиотиков в пищевых продуктах, повышению внимания к здоровью и благополучию животных.

Микробиом желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственных животных модулирует несколько важных физиологических функций, таких как пищеварение и всасывание, энергетический обмен и развитие иммунной системы, и помогает в профилактике патогенных инфекций. Его исследование позволяет решать ряд задач практического животноводства, в том числе вопросы диагностики и профилактики болезней сельскохозяйственных животных. Так, одной из современных проблем сельского хозяйства и ветеринарной медицины является наличие болезней кишечника, обусловленных истощением адаптационных механизмов, иммунодефицитным состоянием и дисбактериозом, приводящим к эндогенным бактериальным инфекциям. При этом профилактика таких состояний нацелена, в первую очередь, на увеличение числа представителей полезной микрофлоры кишечника – молочно-кислых бактерий (лактобактерий и бифидобактерий) [9, 11, 16–18]. Микрофлора кишечника животных может быть источником для целевого выделения штаммов-продуцентов различных соединений, таких как антибактериальные соединения, витамины, ферменты, незаменимые аминокислоты. Кроме того, использование экспериментальных животных в качестве моделей болезней, позволяет использовать их микрофлору для разработки терапевтических и диагностических инструментов [11].

Возвращаясь к вопросам биобанкирования, можно отметить, что развитие исследований микробиома в целом и микрофлоры в частности свидетельствует о смене парадигмы в научном подходе от сохранения аксенических образцов в коллекциях культур к сохранению сложных сообществ. Экологические или прикладные исследования бактериальных сокультур, накопительных культур, консорциумов или даже образцов окружающей среды более приближены к реальным биологическим условиям *in situ*, чем работа с чистыми культурами, и поэтому обычно считаются более актуальными. Таким образом, сохранение неповрежденного образца мик-

робиоты считается одним из лучших подходов для будущей культуромики и изучения влияния внешних факторов на экологическую функциональность. Исследования по хранению таких образцов находятся в зачаточном состоянии и требуют в том числе развития поддерживающей инфраструктуры [10, 12, 19].

Создание биобанков образцов кишечной микрофлоры сельскохозяйственных животных и сопутствующая молекулярная информация о ее бактериальных членах могут стать ценным ресурсом исследований с целью внесения фундаментального вклада в понимание взаимосвязи между микробиотой и болезнями [8, 15]. Одним из несомненных преимуществ биобанкирования образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными, является стабильное и долгосрочное хранение микробных ресурсов, что, в свою очередь, позволяет валидировать ранее полученные результаты, избежать случайных загрязнений или потери во время исследований, каталогизировать генетическое биоразнообразие для будущих исследований, обеспечить долгосрочную доступность культур для биотехнологического или коммерческого использования [8, 20].

Образцы микрофлоры в контексте биобанкирования требуют специальных знаний по оптимизации их хранения, поскольку биологический материал такого рода весьма специфичен. В настоящее время накоплено достаточное количество информации о сохранении образцов микрофлоры человека. Допустимо криосохранение образцов фекалий как методом шоковой заморозки жидким азотом, так и в низкотемпературных морозильных камерах (-80°C), однако такой подход требует добавления криопротекторов для максимально бережного хранения образцов. Можно предположить, что условия сохранения аналогичных образцов животного происхождения требуют похожего подхода. При этом важно учитывать, что условия хранения образцов могут отличаться в зависимости от цели их дальнейшего использования. Например, для получения чистых культур и консорциумов микроорганизмов важно сохранить образец в максимально неизменном виде после отбора, это позволит получить наиболее полную картину микробного разнообразия образца. Поэтому в данном случае целесообразным является не только строгое соблюдение температурного режима при транспортировке биологического материала, но и повышаются требования к его хранению: так, целесообразно будет помещение образца в условия сверхнизких температур (до -80°C или криоконсервация в жидком азоте). Для избегания повреждения клеток при криоконсервации и последующем оттаивании применяется широкий спектр криозащитных агентов (диметилсульфоксид, глицерин и др.) [21]. При исследовании видового разнообразия и поиска новых видов микроорганизмов в образцах допустимо высушивание или консервирование образцов, что значительно упрощает процесс их транспортировки и хранения (допустимо хранение при комнатной температуре или в условиях низких температур до $+4^{\circ}\text{C}$) [12, 19, 22].

При всем разнообразии имеющихся методов биобанкирования, сохранение образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными,

требует разработки новых уникальных подходов. Необходимо учитывать, что микрофлора представляет собой динамическую систему, которая изменяется в ответ на влияние окружающей среды и биотических факторов. На функциональном уровне удаление одного критического микробного компонента из-за применения неоптимизированного подхода к хранению может необратимо повлиять на целостность системы [10]. Кроме того, неправильный отбор и хранение образцов могут существенно исказить исходные данные, создавая искусственную изменчивость результатов исследований. Таким образом, возникает необходимость в подробном описании и стандартизации процедур отбора, транспортировки и хранения, разрабатываемых специально для каждого конкретного вида животного [12].

Методы и подходы гражданской науки в контексте биобанкирования

При реализации крупных научных проектов биологического профиля, в которых подразумевается проведение масштабных исследований (например, проектов в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 гг., утвержденной Постановлением Правительства Российской Федерации от 28.12.2019 № 1930), остро встает вопрос получения биологического материала для исследований. В этой связи использование инструментов, методов и подходов гражданской науки может быть вполне актуально. Под гражданской наукой понимается концепция проведения научных исследований с привлечением добровольцев, не имеющих специального образования и навыков в данной области предполагаемого исследования. Основным преимуществом использования такого подхода является широкий географический охват при отборе проб и возможность достижения большего разнообразия образцов, чем при использовании труда ученых-профессионалов.

Мировой опыт использования гражданской науки в области биологии не так велик в сравнении с потенциальными возможностями, которые открывает этот подход. В основном, упор делается на методы, основанные на наблюдении, а также на сбор и коллекционирование биологических объектов, не требующих определенных специальных знаний при сборе и/или отправке в лабораторию для дальнейших исследований, например, некоторых засушенных насекомых, частей растений, образцов почв [21].

В нашем проекте «Широкомасштабный поиск и изучение микроорганизмов и микробных сообществ, ассоциированных с сельскохозяйственными животными и продуктами животного происхождения» (проект ФНТП № 075-15-2021-1401 от 3.11.2021 г.) в рамках гражданской науки организованы сбор и отправка биологического материала «гражданскими учеными» (микробиологами-волонтерами, не имеющими специального образования и представляющими преимущественно сельскохозяйственные колледжи). Необходимо отметить, что обычно и сбор, и отправка биологического материала предполагают наличие специальных знаний, умений и навыков. И если в случае сотрудничества с коллегами-учеными вопрос о

навыках сводится лишь к проведению краткого инструктажа, то в случае с «гражданскими учеными» необходимо проводить обучение, чтобы качество отбираемого биологического материала соответствовало необходимым требованиям. В рамках нашего проекта обучение «гражданских ученых» организовано в рамках образовательной программы «Изучение микробиомов и молекулярная основа резистентности микроорганизмов».

Отдельно стоит отметить организацию технической части отбора и отправки проб, а также проработку вопросов, связанных с условиями транспортировки отбираемых проб. Здесь важнейшим звеном взаимодействия «гражданских ученых» с профессиональными учеными становится именно биобанк, который берет на себя огромную ответственность за контроль каждого образца, поступающего в рамках реализации научного проекта. Биобанк сельскохозяйственно значимых микроорганизмов, уникальный в своем роде, создан как структурное подразделение Национального исследовательского Томского государственного университета, на базе которого реализуется научный проект.

Биологические образцы, ассоциированные с сельскохозяйственными животными, являются достаточно сложным биологическим материалом для биобанкирования. Это связано с фактическим отсутствием мировых стандартов и протоколов отбора, транспортировки, хранения и контроля качества такого рода образцов. Образцы могут подвергаться значительным динамическим изменениям в зависимости от состояния здоровья животного, от времени отбора проб, от погодных условий в момент отбора проб и т.д. Все это, несомненно, требует разработки и внедрения стандартных операционных процедур для унификации и стандартизации всех стадий сохранения биологического материала от непосредственного отбора, транспортировки, процессинга, криосохранения до реализации, контроля качества и утилизации.

Для организации вклада трудов «гражданских ученых» в «большую» науку биобанку необходимо разрабатывать протоколы и стандартные операционные процедуры для контроля над процессом отбора и транспортировки проб «гражданскими учеными». При этом важно учитывать, что последовательность действий и описание всех процедур, связанных со сбором биологического материала, должны быть описаны по-разному для профессиональных ученых и «гражданских ученых». Поэтому разработке всех стандартных операционных процедур уделялось особое внимание, и наряду со стандартными протоколами, обеспечивающими общую организацию деятельности биобанка, разработаны процедуры отбора и транспортировки для каждого конкретного вида биологического материала. При этом для «гражданских ученых» разработана отдельная инструкция, включающая двойное толкование и употребление специфических терминов для максимально точного воспроизведения последовательности действий, описанных в протоколе при отборе проб. Кроме того, для «гражданских ученых» предложен более простой и консервативный способ сохранения образцов после их отбора, не требующий создания особых условий транспортировки, – каждый образец помещался в раствор консерванта, сохраняющий нуклеиновые кислоты от повреждений и разрушения. Такой спо-

соб значительно снижал риски, связанные с сохранностью образцов в процессе транспортировки, однако накладывал существенные ограничения на дальнейшее использование образца. Тем не менее сохранение нуклеиновых кислот позволяет с помощью секвенирования изучить метагеном каждого образца, определив филогенетическую принадлежность микроорганизмов, находящихся в образце. Этой информации может быть достаточно для понимания видового разнообразия, например, кишечника животного, а ассоциированная с каждым образцом информация даст исчерпывающее представление о месте и условиях отбора проб.

Содержание каждой стандартной операционной процедуры (СОП) может быть изменено, при этом важно понимать, что разработка любого протокола или процедуры невозможна без наличия обратной связи как от профессиональных ученых, так и от «гражданских ученых», поскольку даже незначительные корректировки СОП могут влиять на качество отбираемого и транспортируемого биологического материала.

Еще одной важной технической задачей, которую берет на себя биобанк, является организация получения и контроль отправки проб, отобранных «гражданскими учеными». При этом уже на старте организации работы «гражданских ученых» необходимо четко понимать, кто возьмет на себя затраты на транспортные услуги по перевозке образцов, а также спланировать четкую логистическую схему отправки и получение каждой посылки. Чем тщательнее будет продумана эта система, тем проще станет вопрос об организации сотрудничества и научного взаимодействия с гражданскими учеными. На рис. 1 представлена схема взаимодействия гражданских ученых с биобанком, как контролирующим и стандартизирующим звеном в цепи перемещения биологических образцов (рис. 1).

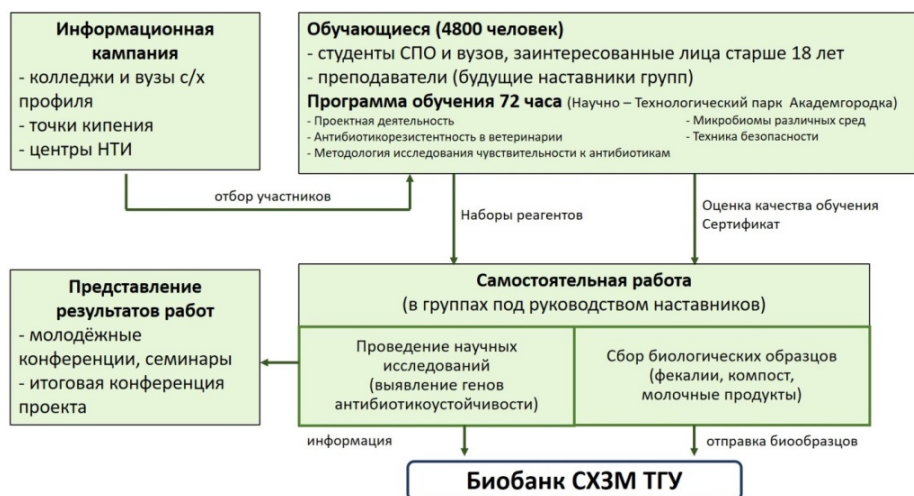


Рис. 1. Схема взаимодействия «гражданских ученых» с биобанком
[Fig. 1. Scheme of interaction between citizen scientists and the biobank]

Биобанк сельскохозяйственно значимых микроорганизмов

Анализ мирового опыта биобанкирования показал практическое отсутствие готовых решений по созданию и документальному сопровождению биобанка образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными, поэтому перед нами встала задача не только по организации уникального в своем роде биобанка, но и по разработке и внедрению всех необходимых для успешного функционирования биобанка документов, в том числе правил, регламента, стандартных операционных процедур и протоколов.

При разработке положения о биобанке и регламента деятельности биобанка опирались на опыт уже существующих биобанков, учитывая специальные требования к организации помещений для биобанкирования, особенности условий хранения биологического материала, необходимость создания информационной системы, содержащей базу данных всей ассоциированной с биологическими образцами информации, а также возможность реализации научно-образовательных программ на базе биобанка. ходе работы разработаны следующие документы: положение о биобанке, регламент организации деятельности биобанка, правила пользования биобанком, штатное расписание и должностные инструкции сотрудников биобанка, а также 10 стандартных операционных процедур. При этом важно понимать, что вся разрабатываемая документация может быть при необходимости подвергнута коррекции в установленном порядке. Как положение о биобанке, так и регламент его деятельности являются основополагающими документами, и тщательность проработки их содержания впоследствии может сыграть значительную роль в организации биобанка.

Организация биобанкирования подразумевает не только процесс отбора, транспортировки, хранения биологического материала, но и создание единой информационной системы учета образцов, а также хранения всей ассоциированной с биологическим материалом информации. Особенности биобанкинга диктуют определенные требования к информационной системе, которые обязательно должны быть учтены уже на стадии разработки технического задания на создание информационной базы данных. При этом техническое задание должно включать следующие разделы:

- общие сведения, где перечислены наименование информационной системы (ИС), основания для проведения работ по созданию ИС, заказчик, исполнитель, сроки выполнения работ и источник финансирования;
- назначение и цели создания информационной системы, включающие описание назначения системы, цели создания системы, задачи ИС;
- характеристика объектов информатизации, включающая сведения об объекте информатизации, сведения об условиях эксплуатации объекта информатизации;
- требования к системе, включающие общие требования к структуре, к надежности, к безопасности, требования к эргономике и технической эстетике, к транспортабельности, к эксплуатации, техническому обслужива-

нию, ремонту и хранению, требования к защите информации от несанкционированного доступа, требования по сохранности информации при авариях, требования к защите от влияния внешних воздействий, требования к патентной чистоте, требования к стандартизации и унификации, дополнительные требования; требования к функциям, выполняемым системой; требования к видам обеспечения;

- состав и содержание работ по созданию системы;
- порядок контроля и приёмки системы;
- требования к составу и содержанию работ по подготовке объекта информатизации к вводу системы в действие;
- требования к документированию.

Кроме того, необходимо предусмотреть емкость системы с точки зрения дальнейшей работы с так называемыми карточками образцов – в системе должна быть учтена возможность дробления проб с увеличением мест хранения без создания новых карточек учета образцов. Под карточкой образца подразумевается информационная ячейка в электронной базе данных, куда при поступлении образца вносится вся исчерпывающая информация о биологическом материале (тип, место отбора, дата отбора, погодные условия в момент отбора пробы, особенности жизни, питания, режима дня сельскохозяйственного животного, с которым связан образец, условия транспортировки и описание всех манипуляций, проводимых с образцом, и т.д.). Вся заносимая в карточку образца информация в дальнейшем позволит исследователям использовать образцы в научных целях без необходимости организации экспедиций к местам отбора образцов.

Поскольку у нас нет достаточных данных о мировом опыте в области контроля качества при приеме проб на хранение в биобанк образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными, отдельной задачей стала необходимость разработки процедур по контролю качества поступающих образцов. Так, наряду с визуальным контролем осуществлялась процедура выделения ДНК, качественная и количественная ее оценка с последующим помещением образцов и ДНК в криохранилище. На рис. 2 представлена общая логическая схема функционирования биобанка (рис. 2).

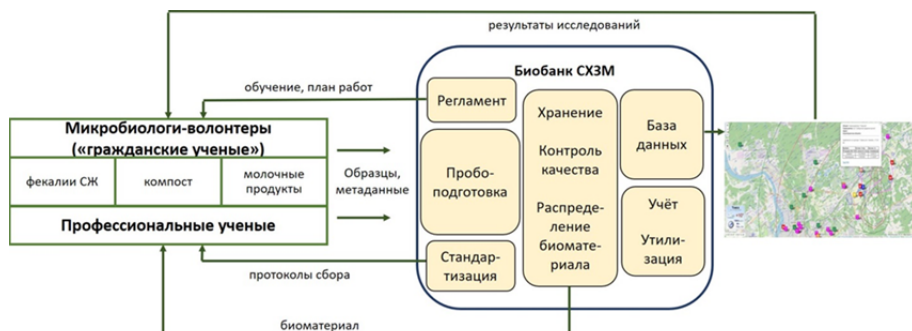


Рис. 2. Общая логическая схема функционирования биобанка
[Fig. 2. General logical scheme of the functioning of the biobank]

На данный момент в биобанке находится 473 образца фекалий, компоста, кисломолочных продуктов, 290 образцов ДНК, запущена в эксплуатацию и функционирует информационная система биобанка (<https://biobank.microbiomes.ru>), позволяющая хранить всю ассоциированную с биологическими образцами информацию, а также все необходимые нормативные документы, на основании которых осуществляется работа биобанка сельскохозяйственно значимых микроорганизмов (СХЗМ) ТГУ.

Заключение

Таким образом, в рамках реализуемого проекта создана биоресурсная коллекция образцов продуктов жизнедеятельности сельскохозяйственно значимых животных, а также штаммов сельскохозяйственно значимых микроорганизмов, выделенных в ходе исследований собранного биологического материала под названием «Биобанк сельскохозяйственно значимых микроорганизмов ТГУ» (Биобанк СХЗМ ТГУ). Биобанк создан с целью обеспечения надлежащих условий хранения собранных в ходе выполнения проекта образцов, культур СХЗМ, геномной ДНК, а также обеспечения информацией об источниках образцов и биологического материала и их применении в биотехнологиях. Разработано положение о биобанке – документ, регламентирующий деятельность биобанка, а также представлен перечень документов, которыми в своей деятельности руководствуется биобанк. Общие положения включают общие требования к организации деятельности биобанка, его функции и полномочия, а также правила приема/хранения/распределения биологического материала и ассоциированной с ним информации.

Биобанк выступает как своеобразное связующее звено между профессиональной наукой и гражданской наукой. Именно в контексте биобанкирования становится возможным объединение трудов профессиональных ученых с вкладом «гражданских ученых». В данном случае биобанк выступает в роли контролирующего звена, источником критериев и методов оценки качества биологического материала, поступающего в биобанк, поскольку качество принимаемого биологического материала может существенно отличаться в зависимости от профессионализма отбирающего образца человека.

Список источников

1. Каменский П.А., Сазонов А.Э., Федянин А.А., Садовничий В.А. Биологические коллекции: стремление к идеалу // *Acta naturae*. 2016. № 8 (2). С. 6–10.
2. Брызгалина Е.В., Аласания К.Ю., Садовничий В.А. Социально-гуманитарная экспертиза функционирования национальных депозитариев биоматериалов // *Вопросы философии*. 2016. № 2. С. 18–21.
3. Lopez A., Sassone A.B. The uses of herbaria in botanical research // *Frontiers in Plant Science*. 2019. № 10 (1363). PP. 1–10. doi:10.3389/fpls.2019.01363
4. Paskal W., Paskal A.M., Debski T. et al. Aspects of modern biobank activity – comprehensive review // *Pathology & Oncology Research*. 2018. № 24 (4). PP. 771–785. doi: 10.1007/s12253-018-0418-4

5. Долудин Ю.В., Борисова А.Л., Покровская М.С. и др. Современные передовые практики и рекомендации по биобанкированию // Клиническая лабораторная диагностика. 2019. № 64 (12). С. 769–776.
6. Groeneveld L.F., Gregusson S., Guldbrandtsen B. Domesticated Animal Biobanking: Land of Opportunity // *PLoS Biol.* 2016. № 14 (7). PP. e1002523. doi: 10.1371/journal.pbio.1002523
7. Read S., Marzorati M., Guimarães B.C.M. Microbial resource management revisited: successful parameters and new concepts // *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2011. № 90. PP. 861–871. doi: 10.1007/s00253-011-3223-5
8. Bolan S., Seshadri B., Talley N.J., Naidu R. Bio-banking gut microbiome samples // *EMBO reports.* 2016. № 17 (7). PP. 929–930. doi: 10.15252/embr.201642572
9. Jarett J.K., Kingsbury D.D., Dahlhausen K.E. et al. Best practices for Microbiome study design in companion animal research // *Frontiers in Veterinary Science.* 2021. № 8. PP. 644836. doi: 10.3389/fvets.2021.644836
10. Ryan M.J., Schlöter M., Berg G. Development of Microbiome Biobanks – Challenges and Opportunities // *Trends in Microbiology.* 2021. № 29 (2). PP. 89–92. doi: 10.1016/j.tim.2020.06.009
11. Jin Song S., Woodhams D.C., Martino C. Engineering the microbiome for animal health and conservation // *Experimental Biology and Medicine.* 2019. № 7244 (6). PP. 494–504. doi: 10.1177/1535370219830075
12. Prakash O., Nimonkar Y., Desai D. A Recent Overview of Microbes and Microbiome Preservation // *Indian Journal of Microbiology.* 2020. № 60 (3). PP. 297–309. doi: 10.1007/s12088-020-00880-9
13. Berg G., Rybakova D., Fischer D. et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges // *Microbiome.* 2020. № 8. PP. 103.
14. Bahrndorff S., Alemu T., Alemneh T., Lund Nielsen J. The Microbiome of Animals: Implications for Conservation Biology // *International Journal of Genomics.* 2016. № 2016. PP. 5304028. doi: 10.1155/2016/5304028
15. Caenazzo L., Tozzo P. Microbiome Forensic Biobanking: A Step toward Microbial Profiling for Forensic Human Identification // *Healthcare (Basel).* 2021. № 9 (10). PP. 1371. doi: 10.3390/healthcare9101371
16. Макаров В.В. Факторные болезни: так что же это такое? // Ветеринарный консультант. 2008. № 6. С. 3–7.
17. Chen S., Luo S., Yan C. Gut Microbiota Implications for Health and Welfare in Farm Animals: A Review // *Animals (Basel).* 2021. № 12 (1). PP. 93. doi: 10.3390/ani12010093
18. Wegl G., Grabner N., Köstelbauer A. et al. Toward Best Practice in Livestock Microbiota Research: A Comprehensive Comparison of Sample Storage and DNA Extraction Strategies // *Frontiers in Microbiology.* 2021. № 12. PP. 627539. doi: 10.3389/fmicb.2021.627539
19. Vekeman B., Heylen K. Preservation of Microbial Pure Cultures and Mixed Communities // *Hydrocarbon and Lipid Microbiology Protocols: Isolation and Cultivation.* 1 ed / eds. by T.J. McGenity, K.N. Timmis, B. Nogales. Berlin : Springer-Verlag, 2015. PP. 299–315.
20. Hoefman S., Van H.K., Boon N. et al. Survival or Revival: Long-Term Preservation Induces a Reversible Viable but Non-Culturable State in Methane-Oxidizing Bacteria // *PLoS ONE.* № 7 (4). PP. e34196. doi: 10.1371/journal.pone.0034196
21. Encarnacao J., Teodosio M.A., Morais P. Citizen science and biological invasions: a review // *Frontiers in Environmental Science.* 2021. Vol. 8 (602980). PP. 1–13.
22. Kerckhof F.M., Courtens E.N., Geirnaert A. Optimized cryopreservation of mixed microbial communities for conserved functionality and diversity // *PLoS One.* 2014. № 9 (6). PP. e99517. doi: 10.1371/journal.pone.0099517

References

1. Kamenski PA, Sazonov AE, Fedyanin AA, Sadovnichy VA. Biological collections: chasing the ideal. *Acta natura*. 2016;8(2):6-10. In Russian, In English
2. Bryzgalina EV, Alasania KY, Sadovnichy VA, Mironov VV, Gavrilenko SM, Var-khotov TA, Shkomova EM, Nabiulina EA. The Social and Humanitarian Expertise of Functioning of the National Depositories of Biomaterials. *Russian Studies in Philosophy*. 2016;2:18-21. In Russian, English summary
3. Lopez A, Sassone AB. The uses of herbaria in botanical research. *Frontiers in Plant Science*. 2019;10(1363):1-10. doi:10.3389/fpls.2019.01363
4. Paskal W, Paskal AM, Debski T, Gryziak M, Jaworowski J. Aspects of modern biobank activity – comprehensive review. *Pathology and Oncology Research*. 2018;24(4):771-785. doi: 10.1007/s12253-018-0418-4
5. Doludin YV, Borisova AL, Pokrovskaya MS, Stefanyuk OV, Sivakova OV, Botsoeva SA, Meshkov AN, Metelskaya VA, Drapkina OM. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2019;64(12):769-776. doi:10.18821/0000-0000-0000-00-0-0-00. In Russian, English summary
6. Groeneveld LF, Gregusson S, Guldbrandtsen B. Domesticated Animal Biobanking: Land of Opportunity. *PLOS Biology*. 2016;14(7):e1002523. doi: 10.1371/journal.pbio.1002523
7. Read S, Marzorati M, Guimarães BCM. Microbial resource management revisited: successful parameters and new concepts. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2011;90:861-871. doi: 10.1007/s00253-011-3223-5
8. Bolan S, Seshadri B, Talley NJ, Naidu R. Bio-banking gut microbiome samples. *EMBO reports*. 2016;17(7):929-930. doi: 10.15252/embr.201642572
9. Jarett JK, Kingsbury DD, Dahlhausen KE, Ganz HH. Best practices for Microbiome study design in companion animal research. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021;8:644836. doi: 10.3389/fvets.2021.644836
10. Ryan MJ, Schlöter M, Berg G. Development of Microbiome Biobanks - Challenges and Opportunities. *Trends in Microbiology*. 2021;29(2):89-92. doi: 10.1016/j.tim.2020.06.009
11. Jin Song S, Woodhams DC, Martino C. Engineering the microbiome for animal health and conservation. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood). 2019;244(6): 494-504. doi: 10.1177/1535370219830075
12. Prakash O, Nimonkar Y, Desai D. A Recent Overview of Microbes and Microbiome Preservation. *Indian Journal of Microbiology*. 2020;60(3):297-309. doi: 10.1007/s12088-020-00880-9
13. Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Vergès M C, Charles T, Chen X, Cocolin L, Eversole L, Corral GH, Kazou M, Kinkel L, Lange L, Lima N, Loy A, Macklin JA, Maguin E, Mauchline T, McClure R, Mitter B, Schlöter M. Microbiome definition revisited: old concepts and new challenges. *Microbiome*. 2020;8:103. doi:10.1186/s40168-020-00875-0
14. Bahrndorff S, Alemu T, Alemneh T, Lund Nielsen J. The Microbiome of Animals: Implications for Conservation Biology. *International Journal of Genomics*. 2016;2016:5304028. doi: 10.1155/2016/5304028
15. Caenazzo L, Tozzo P. Microbiome Forensic Biobanking: A Step toward Microbial Profiling for Forensic Human Identification. *Healthcare* (Basel). 2021;9(10):1371. doi:10.3390/healthcare9101371
16. Makarov VV. Faktornye bolezni: tak chto zhe jeto takoe?. *Veterinarnyj konsul'tant*. 2008;6:3-7. In Russian
17. Chen S, Luo S, Yan C. Gut Microbiota Implications for Health and Welfare in Farm Animals: A Review. *Animals* (Basel). 2021;12(1):93. doi: 10.3390/ani12010093
18. Wegl G, Grabner N, Köstelbauer A, Klose V, Ghanbari M. Toward Best Practice in Livestock Microbiota Research: A Comprehensive Comparison of Sample Storage and DNA Extraction Strategies. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:627539. doi: 10.3389/fmicb.2021.627539.

19. Vekeman B, Heylen, K. Preservation of Microbial Pure Cultures and Mixed Communities. In: Hydrocarbon and Lipid Microbiology Protocols: Isolation and Cultivation 1 ed [Eds. McGenity T.J., Timmis K.N., Nogales B.] Berlin: Springer-Verlag, 2015.299-315.
20. Hoefman S, Van HK, Boon N, Vandamme P, De VP, Heylen K. Survival or Revival: Long-Term Preservation Induces a Reversible Viable but Non-Culturable State in Methane-Oxidizing Bacteria. *PLoS ONE*. 2012;7(4):e34196. doi: 10.1371/journal.pone.0034196
21. Encarnacao J, Teodosio MA, Morais P. Citizen science and biological invasions: a review. *Frontiers in Environmental Science*. 2021;8(602980):1-13. doi: 10.3389/fenvs.2020.602980
22. Kerckhof FM, Courtens EN, Geirnaert A. Optimized cryopreservation of mixed microbial communities for conserved functionality and diversity. *PLoS One*. 2014;9(6):e99517. doi: 10.1371/journal.pone.0099517

Информация об авторах:

Ковтун Ирина Сергеевна – м.н.с. лаборатории биохимии и молекулярной биологии, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Томск, Россия).

E-mail: kovtunirina2@gmail.com

Филонова Мария Васильевна – канд. биол. наук, доцент кафедры физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Томск, Россия).

E-mail: Maria-Caurus7@yandex.ru

Борисова Анна Александровна, – лаборант-исследователь, НИЦ «Курчатовский институт» (Москва, Россия).

E-mail: AnnAlexBorisova@yandex.ru

Сазонов Алексей Эдуардович – советник при ректорате, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Томск, Россия).

E-mail: sazonov_al@mail.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Kovtun Irina S. – junior researcher Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russian Federation).

E-mail: kovtunirina2@gmail.com

Filonova Maria V. – Cand. Sci. (Biol.) Assoc. Prof. Department of Plant Physiology, Biotechnology and Bioinformatics, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russian Federation).

E-mail: Maria-Caurus7@yandex.ru

Borisova Anna A., – research laboratory assistant Kurchatov Institute National Research Centre (Moscow, Russian Federation).

E-mail: AnnAlexBorisova@yandex.ru

Sazonov Alexey E. – adviser to the administration of the National Research Tomsk State University (Tomsk, Russian Federation).

E-mail: sazonov_al@mail.ru

The Authors declare no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 17.10.2022;
одобрена после рецензирования 19.12.2022; принята к публикации 29.12.2022.*

*The article was submitted 17.10.2022;
approved after reviewing 19.12.2022; accepted for publication 29.12.2022.*