

Алгоритм определения подлинности биомедицинских клеточных препаратов, содержащих мезенхимальные стволовые клетки

С.С. Дружинина¹, М.А. Логинова^{1,2}, Д.Н. Смирнова¹, И.П. Обухов¹, К.О. Ярошенко¹,
Е.А. Попонина¹, Е.Л. Назарова¹, Н.В. Исаева¹, И.В. Парамонов¹

¹ Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России

610027, г. Киров, ул. Красноармейская, 72

² Вятский государственный университет

610000, г. Киров, ул. Московская, 36

Резюме

Применение мезенхимальных стволовых клеток (МСК), обладающих выраженной иммуномодулирующей активностью, – перспективное направление развития биомедицинских клеточных препаратов (БМКП). В онкогематологии использование БМКП, содержащих МСК, направлено на поддержку кроветворения при котрансплантации с гемопоэтическими стволовыми клетками (ГСК) и подавление иммунных конфликтов при аллогенной неродственной трансплантации и тяжелых аутоиммунных процессах. Обязательный этап регистрации БМКП – подтверждение подлинности клеточной линии МСК, включающий в себя установление морфологических характеристик, оценку экспрессии специфических маркеров и белков, подтверждение генетической стабильности клеточной линии в процессе культивирования. Определение маркеров генетической стабильности возможно с использованием различных методик, однако, согласно рекомендациям American National Standardization Institute, эталоном является анализ коротких tandemных повторов (STR-анализ). Цель исследования – разработка алгоритма определения подлинности БМКП, содержащих МСК, включающего в себя STR-анализ. **Материал и методы.** Идентификацию МСК в БМКП проводили по наличию иммунологических маркеров и адгезии к пластику веретенновидных клеток. Количество жизнеспособных клеток подсчитывали в камере Горяева. Иммунофенотипические характеристики МСК определяли методом проточной цитометрии. Уровень продукции специфических белков оценивали с помощью иммуноферментного анализа. Маркеры генетической стабильности выявляли методом STR-анализа. **Результаты и их обсуждение.** Методики апробированы в трех повторностях для десяти образцов БМКП для подтверждения воспроизводимости и достоверности получаемых результатов. Разработанный алгоритм определения подлинности БМКП имеет высокую точность, так как включает в себя методику STR-анализа, позволяющего идентифицировать 19 полиморфных STR-маркеров, расположенных на разных аллелях. Использование способа позволит производителям БМКП проходить процедуру государственной регистрации препаратов.

Ключевые слова: биомедицинский клеточный препарат, мезенхимальные стромальные стволовые клетки, идентичность (подлинность) клеточной линии, STR-анализ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Дружинина С.С., e-mail: kss1993@bk.ru

Для цитирования: Дружинина С.С., Логинова М.А., Смирнова Д.Н., Обухов И.П., Ярошенко К.О., Попонина Е.А., Назарова Е.Л., Исаева Н.В., Парамонов И.В. Алгоритм определения подлинности биомедицинских клеточных препаратов, содержащих мезенхимальные стволовые клетки. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(1):88–95. doi: 10.18699/SSMJ20230109

Algorithm for determining the authenticity of biomedical cell preparations containing mesenchymal stem cells

S.S. Druzhinina¹, M.A. Loginova^{1,2}, D.N. Smirnova¹, I.P. Obukhov¹, K.O. Yaroshenko¹,
E.A. Poponina¹, E.L. Nazarova¹, N.V. Isaeva¹, I.V. Paramonov¹

¹Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of FMBA of Russia

610027, Kirov, Krasnoarmeyskaya str., 72

²Vyatka State University

610000, Kirov, Moskovskaya str., 36

Abstract

The use of mesenchymal stem cells (MSCs), which have a pronounced immunomodulatory activity, is a promising direction in the development of biomedical cell preparations (BMCPs). In oncohematology, the use of BMCPs containing MSCs is aimed at supporting hematopoiesis during cotransplantation with hematopoietic stem cells (HSCs) and suppressing immune conflicts during allogeneic unrelated transplantation and severe autoimmune processes. An obligatory stage of registration of BMCPs is confirmation of the identity of the MSC cell line (CL), which includes the establishment of morphological characteristics, evaluation of the expression of specific markers and proteins, and confirmation of the genetic stability of CL during cultivation. Determination of markers of genetic stability is possible using various methods, however, according to the recommendations of the American National Standardization Institute, the standard is the analysis of short tandem repeats (STR analysis). The purpose of the study is to develop an algorithm for determining the authenticity of BMCPs containing MSCs, including STR analysis. **Material and methods.** Identification of MSC cells in BMCP was performed according to the criteria of the International Society for Cell Therapy. Viable cells were counted in a Goryaev chamber. Immunophenotypic characteristics of MSCs were determined by flow cytometry. The level of production of specific proteins was assessed using enzyme immunoassay. Genetic stability markers were identified by STR analysis. **Results and discussion.** The methods were tested in triplicate for ten BMCP samples to confirm the reproducibility and reliability of the results. The developed algorithm for determining the authenticity of BMCP has a high accuracy, as it includes the STR analysis technique, which makes it possible to identify 19 polymorphic STR markers located on different alleles. Using the method will allow BMCP manufacturers to go through the procedure of state registration of drugs.

Key words: biomedical cell preparation, mesenchymal stromal stem cells, cell line identity (authenticity), STR analysis.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Druzhinina S.S., e-mail: kss1993@bk.ru

Citation: Druzhinina S.S., Loginova M.A., Smirnova D.N., Obukhov I.P., Yaroshenko K.O., Poponina E.A., Nazarova E.L., Isaeva N.V., Paramonov I.V. Algorithm for determining the authenticity of biomedical cell preparations containing mesenchymal stem cells. *Sibirskij nauchnyy medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(1):88–95. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230109

Введение

На сегодняшний день одним из наиболее эффективных методов лечения онкогематологических заболеваний является высокодозная химиотерапия с последующей трансплантацией аллогенных ГСК [1]. Несмотря на стремительное развитие технологий HLA-типирования (HLA, human leukocyte antigens), позволяющих подбирать гистосовместимого донора, что является важнейшим фактором приживления трансплантата, частота развития посттрансплантационных осложнений остается крайне высокой: 30–50 % после родственной трансплантации аллогенных ГСК и 60–80 % после неродственной. Медика-

ментозная профилактика и лечение осложнений эффективны лишь в 50 % наблюдений [2]. Инновационным подходом к решению этой проблемы может стать применение клеточной терапии, а именно использование биомедицинских клеточных препаратов (БМКП), содержащих мезенхимальные стромальные стволовые клетки (МСК) доноров костного мозга.

Несмотря на то что исследования по получению и применению МСК в сфере трансплантологии и онкогематологии ведутся на протяжении длительного времени, в настоящее время в Российской Федерации не зарегистрирован ни один препарат, содержащий МСК. При производстве и государственной регистрации БМКП, содержа-

ских МСК, в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения № 14н от 31.01.2017 «Об утверждении формы спецификации на биомедицинский клеточный продукт» в спецификацию на препарат должны быть включены сведения об идентичности (подлинности) клеточной линии, входящей в его состав [3]. На сегодняшний день в России отсутствует практический опыт проведения процедуры подтверждения подлинности клеточных линий, которая также является востребованной при создании банков и реестров клеток [4].

Наиболее вариабельной методикой определения подлинности клеточных линий, входящих в состав БМКП, является выявление маркеров генетической стабильности. Для аутентификации клеток возможно применение таких методов, как кариотипирование, изоферментный анализ, иммунофенотипирование, молекулярно-генетические методы (HLA-типирование, построение генного профиля, анализ экспрессии микро-РНК, анализ эпигенетического профиля, ДНК-фингерпринтинг) [5, 6].

Рабочей группой по биологическим лекарственным препаратам Европейского агентства по лекарственным средствам установлено, что использование только проточной цитометрии считается недостаточным для доказательства подлинности препарата. Рекомендованная ВОЗ методика, включающая в себя этап HLA-типирования, является легко воспроизводимой, но недостаточно точной, так как позволяет определять группу генетических маркеров, локализованных лишь на одной хромосоме [7]. Методика, использующая определение однонуклеотидных полиморфизмов (SNP-анализ), имеет низкую информативность в расчете на локус из-за использования биаллельных маркеров [8]. Методика, рекомендованная рабочей группой Европейского агентства по лекарственным средствам, основанная на определении полиморфизма длин рестрикционных фрагментов, требует относительно большого количества ДНК (> 25 нг), не подверженной фрагментации, что в ряде случаев является труднодостижимым [9].

Метод коротких tandemных повторов (STR-анализ, short tandem repeat analysis) – один из наиболее качественных, чувствительных и точных методов оценки генома, признанный эталоном анализа подлинности клеточной линии, позволяет выявлять 19 полиморфных STR-маркеров и локус амелогенина человека, что соответствует международным стандартам молекулярно-генетической идентификации [10].

Цель исследования – разработать алгоритм определения подлинности биомедицинских клеточных препаратов, содержащих МСК доноров

костного мозга, включающий в себя метод STR-анализа.

Материал и методы

В качестве источника МСК использовали образцы костного мозга, полученные при миелоэкспузии у десяти доноров. Выделение миелокариотитов выполнено путем разделения образца на фракции методом центрифугирования на градиенте плотности (условия: $\rho = 1,077$, 1500 об/мин, 10–15 мин, температура 22 ± 1 °C). МСК культивировали в среде α MEM (StemCells, Канада), содержащей богатую тромбоцитами плазму (4 %), гепарин (Sigma, США, 2 Ед/мл), L-глутамин 2 мМ (StemCells, Канада), в CO₂-инкубаторе (5 % CO₂, температура 37 °C). После того, как формировался конфлюэнтный монослой, клетки обрабатывали 0,25%-м раствором трипсина.

МСК в препаратах БМКП идентифицировали по наличию иммунологических маркеров и адгезии к пластику веретеновидных клеток. Для определения жизнеспособности клеток производили их окрашивание трипановым синим красителем и подсчитывали неокрашенные клетки в камере Горяева. Наличие иммунологических маркеров определяли методом проточной цитометрии с использованием набора реагентов «Human MSC Analysis Kit» (BD Biosciences, США). Результаты реакции оценивали на лазерном проточном цитофлуориметре BD FACS Canto II (BD Biosciences) с использованием программного обеспечения BD FACS Diva версии 6,0. По результатам анализа делали выводы о наличии или отсутствии примеси ГСК, стабильности иммунофенотипа МСК в процессе культивирования.

Для оценки жизнеспособности и иммуномодулирующих свойств культуры МСК анализировали продукцию цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-12, фактора некроза опухоли альфа (TNF α) и трансформирующего фактора роста бета (TGF β)) в супернатантах культур МСК методом твердофазного ИФА с использованием наборов реагентов АО «Вектор-Бест» (Новосибирск) и Thermo Fisher Scientific (США) на анализаторе Tecan (TECAN, Австрия).

Для выявления маркеров генетической стабильности из препаратов МСК методом колоночной фильтрации с помощью наборов QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAgen GmbH, Германия) выделяли геномную ДНК. Концентрацию препаратов ДНК определяли спектрофотометрически на приборе TECAN Infinite 200 (TECAN). Для минимизации рисков ингибирования реакции амплификации остаточными количествами гепарина, добавляемого в среду для культивирования

Таблица 1. Сводная информация об анализируемых STR-локусах

Table 1. Summary of analyzed STR loci

Маркер	Референс- ный номер GenBank®	Референс- ный аллель GenBank®	Хромосомная локализация	Характеристика локуса
D3S1358	NT_005997	18	3p21.31	Локусы стандартной панели CODIS
D5S818	AC008512	11	5q23.2	
D7S820	AC004848	13	7q21.11	
D8S1179	AF216671	13	8q24.13	
D13S317	AL353628	11	13q31.1	
D16S539	AC024591	11	16q24.1	
D18S51	AP001534	18	18q21.33	
D21S11	AP000433	29	21q21.1	
CSF1PO	X14720	12	5q33.1	
FGA	M64982	21	4q31.3	
TH01	D00269	9	11p15.5	
TPOX	M68651	11	2p25.3	
VWA	M25858	18	12p13.31	
D1S1656	NC_000001.9	17	1q42	Локусы, рекомендованные ENFSI для расширения европейских национальных баз данных
D2S441	AL079112	12	2p14	
D10S1248	AL391869	13	10q26.3	
D12S391	G08921	19.3	12p13.2	
D22S1045	AL022314	17	22q12.3	
SE33	V00481	26.2	6q14	Наиболее полиморфный из известных STR-маркеров
Амелогенин X	M55418	X	Xp22.1-22.3	Продукты амплификации для хромосом X и Y различаются по длине
Амелогенин Y	M55419	Y	Yp11.2	

Примечание: CODIS – Combined DNA Index System, система комбинированного индекса ДНК; ENFSI – The European Network of Forensic Science Institutes, европейская сеть институтов криминалистики.

МСК, использовали разведение препарата ДНК деионизированной водой с учетом оптимального количества вносимого в реакцию ДНК (0,5 нг при объеме не более 20 мкл).

Аутентификацию клеточных линий выполняли методом мультиплексной амплификации 19 полиморфных STR-маркеров и локуса амелогенина человека, указанных в табл. 1, с использованием наборов COOrDIS Plus («ГОРДИЗ», Россия).

По завершении амплификации проводили капиллярный электрофорез на генетическом анализаторе 3500xl (Thermo Fisher Scientific). Полученные данные оценивали с использованием программного обеспечения GeneMapper ID (Thermo Fisher Scientific).

Результаты

Определение подлинности БМКП, содержащих МСК, осуществляли путем выполнения включенных в алгоритм аналитических методик. Во всех БМКП были идентифицированы МСК: клетки имели иммунологические маркеры, вер-

теновидную форму и адгезировались к пластику. Жизнеспособность МСК в течение всего срока наблюдения установлена на уровне 90 % и более. Иммунологическая характеристика клеток и остаточное содержание ГСК – одни из наиболее значимых показателей качества культуры МСК. При анализе иммунофенотипа отмечена экспрессия в высокой степени (более 60 %) таких маркеров, как CD90, CD73, CD44, CD105 (табл. 2).

Оценка популяции клеток первичного посева показала, что примесь ГСК составляет $3,5 \pm 1,8$ % от общего количества клеток, к концу первого пассажа данный показатель снизился до 0,5–1 %. Также выявлено снижение экспрессии антигенов гистосовместимости HLA класса II к пассажам 2 и 3. При анализе результатов цитометрии продукта культивирования подтверждается однородность полученной клеточной популяции – наличие одной фракции однотипных клеток.

Иммуномодулирующие свойства культуры МСК оценивали по продукции цитокинов, представленной в табл. 3 в виде минимума, максимума и медианы.

Таблица 2. Иммунофенотипическая характеристика образцов МСК

Table 2. Immunophenotypic characteristics of MSC samples

Иммунологический маркер	Номер пассажа			
	Первичный посев (n = 10)	P1 (n = 10)	P2 (n = 10)	P3 (n = 10)
CD90	85,4 ± 14,5	85,1 ± 14,3	74,5 ± 20,8	88,3 ± 13,7
CD105	70,6 ± 4,8	78,9 ± 13,1	77,2 ± 6,4	71,0 ± 4,6
CD73	85,3 ± 12,9	83,7 ± 13,2	66,1 ± 25,1	78,7 ± 12,7
CD44	86,3 ± 14,0	86,5 ± 9,6	61,6 ± 20,5	77,4 ± 15,6
CD34	4,0 ± 3,7	1,9 ± 0,9	1,1 ± 0,6	1,1 ± 0,5
CD45	5,2 ± 4,4	0	0	0,3 ± 0,1
CD31	0	6,3 ± 5,3	0,7 ± 0,3	0
CD54	14,3 ± 1,1	10,9 ± 6,6	2,6 ± 2,2	0
CD117	0	2,6 ± 2,3	0,2 ± 0,1	0
CD133	1,1 ± 1,0	3,8 ± 2,8	0,2 ± 0,2	0,8 ± 0,1
HLA-DR	10,9 ± 7,8	4,9 ± 2,6	4,9 ± 4,6	5,9 ± 5,8

Основными белками, синтезируемыми МСК, являются ИЛ-6 (не менее 82,19 пг/мл/сут) и TGFβ (не менее 4,76 пг/мл/сут). Их продукция оставалась на стабильном уровне на протяжении всех этапов культивирования. Различия указанных показателей на пассажах P0–P3 статистически недостоверны ($p > 0,05$, критерий Фридмана). Синтез остальных изученных цитокинов был ниже, однако в процессе культивирования значимых различий данных параметров не наблюдали ($p > 0,05$).

В ходе проведения STR-анализа установлено полное соответствие генетических профилей, определенных в образцах ДНК, полученных из препаратов МСК до культивирования и на каждом из трех этапов пассирования клеток. Экспериментально полученные STR-профили образца D1 в нативном препарате МСК (D1P0) и после

1-го, 2-го и 3-го пассажа (D1P1–D1P3) приведены в табл. 4.

В ходе исследования установлена полная идентичность STR-профилей референсных образцов и соответствующих им образцов БМКП, полученных на этапах многократного пассирования клеточных культур, что свидетельствует о сохранении генетической стабильности в процессе культивирования. Методики, входящие в алгоритм определения подлинности БМКП, апробированы в трех повторностях для десяти образцов БМКП с целью подтверждения воспроизводимости и достоверности получаемых результатов.

Закключение

Алгоритм, состоящий из трех аналитических методик, позволяет получить все результаты, необходимые для подтверждения подлинности

Таблица 3. Продукция цитокинов МСК доноров, пг/мл/сут

Table 3. Production of cytokines by donor MSCs, pg/ml/day

Содержание цитокина	Номер пассажа			
	Первичный посев (n = 10)	P1 (n = 10)	P2 (n = 10)	P3 (n = 10)
ИЛ-1β	0,57–0,83 (0,72)	0,51–0,95 (0,68)	0,59–1,07 (0,83)	0,57–1,01 (0,66)
ИЛ-2	0,37–0,70 (0,41)	0,26–1,79 (0,37)	0,22–2,47 (0,81)	0,29–1,59 (0,70)
ИЛ-6	82,19–233,25 (140,03)	124,85–240,46 (169,65)	126,39–233,95 (169,98)	123,93–168,52 (143,22)
ИЛ-12	0,09–0,55 (0,39)	0,08–0,78 (0,52)	0,11–0,75 (0,44)	0,12–0,55 (0,38)
ФНОα	0,14–0,55 (0,25)	0,05–0,21 (0,09)	0,04–0,29 (0,16)	0,03–0,18 (0,12)
TGFβ	5,76–19,59 (12,61)	4,76–28,91 (10,62)	5,26–18,11 (14,37)	6,26–17,01 (12,61)

Таблица 4. Генетический STR-профиль образца D1 в нативном препарате МСК и после пассирования клеток в процессе культивирования**Table 4.** Genetic STR profile of the D1 sample in the native MSC preparation and after cell passaging during cultivation

Маркер	Образец D1			
	Эксперимент № 1 (D1P0)		Эксперименты № 2–4 (D1P1–D1P3)	
	Аллель 1	Аллель 2	Аллель 1	Аллель 2
AMEL	X	Y	X	Y
CSF1PO	10	12	10	12
D10S1248	14	16	14	16
D12S391	18.3	20	18.3	20
D13S317	8	9	8	9
D16S539	12		12	
D18S51	13		13	
D1S1656	17.3	18.3	17.3	18.3
D21S11	31	32.2	31	32.2
D22S1045	15	16	15	16
D2S441	11		11	
D3S1358	16		16	
D5S818	11	12	11	12
D7S820	11	12	11	12
D8S1179	13	16	13	16
FGA	19	26	19	26
SE33	23.2	28.2	23.2	28.2
TH01	9.3		9.3	
TPOX	8	11	8	11
vWA	14	15	14	15

МСК, удовлетворяющие требованиям Приказа Минздрава России от 19.01.2017 № 14н «Об утверждении формы спецификации на биомедицинский клеточный продукт», поэтому может стать частью технологического регламента производства и способствовать прохождению доклинических испытаний и регистрации БМКП. Используемый в качестве метода подтверждения генетической стабильности STR-анализ, позволяющий анализировать 19 полиморфных STR-маркеров, расположенных на разных хромосомах, повышает точность алгоритма, а применение во всех методиках стандартизованных реагентов и автоматического анализа минимизирует риск субъективных ошибок.

Список литературы

1. Звонков Е.Е., Королева Д.А., Габеева Н.Г., Гаврилина О.А., Федорова С.Ю., Губкин А.В., Ковригина А.М., Яцык Г.А., Клясова Г.А., Савенко Т.А., Савченко В.Г. Высокодозная химиотерапия первичной диффузной В-крупноклеточной лимфомы центральной нервной системы. Промежуточные результаты протокола CNS-2015. *Гематол. и трансфузиол.* 2019;64(4): 447–461. doi:10.35754/0234-5730-2019-64-4-447-461
2. Реакция «трансплантат против хозяина». Режим доступа: <https://www.podari-zhizn.ru/main/node/7769> (дата обращения: 05/06/2022)
3. Приказ Минздрава России от 19.01.2017 № 14н «Об утверждении формы спецификации на

биомедицинский клеточный продукт». Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_212714/

4. Мельникова Е.В., Рачинская О.А., Трусов Г.А., Хорольский М.Д., Семенова И.С., Терешкина Н.В., Меркулов В.А. Обоснование методических подходов к экспертной оценке подлинности биомедицинских клеточных продуктов. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019;19(1):28–38. doi: 10.30895/2221-996X-2019-19-1-28-38

5. SME Workshop on CMC of Biological Medicinal Products. EMA London. CMC ISSUES for Cell Based ATMP. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/presentation/presentation-sme-workshop-cmc-biological-medicinal-products-margarida-menezes-ferreira_en.pdf

6. Q5D Quality of Biotechnological/Biological Products: Derivation and Characterization of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products. Available at: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/q5d-quality-biotechnologicalbiological-products-derivation-and-characterization-cell-substrates-used>

7. Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks (WHO/BS/10.2132). Available at: <https://gxp-academy.org/upload/iblock/8df/8df32e5342a440d38ed3e5b0fbec42ca.pdf>

8. Однонуклеотидные полиморфизмы в судебной генетике: методы детекции SNP Available at: <https://testgen.ru/ru/nauchnye-issledovaniya/stati-i-spravochnye-materialy/odnonukleotidnye-polimorfizmy-v-sudebnoy-genetike-metody-deteksii-snp/>

9. SME Workshop on CMC of Biological Medicinal Products. EMA London 14–16.04.2015. CMC ISSUES for Cell Based ATMP. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Presentation/2015/05/WC500187353.pdf

10. American Type Culture Collection Standards Development Organization Workgroup ASN-0002. Cell line misidentification: the beginning of the end. *Nat. Rev. Cancer*. 2010;10(6):441–448. doi: 10.1038/nrc2852/

References

1. Zvonkov E.E., Koroleva D.A., Gabeeva N.G., Gavrulina O.A., Fedorova S.Yu., Gubkin A.V., Kovrigina A.M., Yatsyk G.A., Klyasova G.A., Savenko T.A., Savchenko V.G. High-dose chemotherapy for primary diffuse large β -cell lymphoma of the central nervous system. interim results of the CNS-2015 protocol. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology*. 2019;64(4): 447–461. [In Russian]. doi: 10.35754/0234-5730-2019-64-4-447-461

2. Graft-versus-host reaction. [In Russian]. Available at: <https://www.podari-zhizn.ru/main/node/7769> (date of access: 05/06/2022).

3. Order of Minzdrav of Russia dated January 19, 2017 No 14n “On approval of the specification form for a biomedical cell product”. [In Russian]. Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_212714/

4. Melnikova E.V., Rachinskaya O.A., Trusov G.A., Khorolsky M.D., Semenova I.S., Tereshkina N.V., Merkulov V.A. Justification of methodological approaches to identification testing of biomedical cell products. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2019;19(1):28–38. [In Russian]. doi: 10.30895/2221-996X-2019-19-1-28-38

5. SME Workshop on CMC of Biological Medicinal Products. EMA London. CMC ISSUES for Cell Based ATMP. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/presentation/presentation-sme-workshop-cmc-biological-medicinal-products-margarida-menezes-ferreira_en.pdf

6. Q5D Quality of Biotechnological/Biological Products: Derivation and Characterization of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products. Available at: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/q5d-quality-biotechnologicalbiological-products-derivation-and-characterization-cell-substrates-used>

7. Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks (WHO/BS/10.2132). Available at: <https://gxp-academy.org/upload/iblock/8df/8df32e5342a440d38ed3e5b0fbec42ca.pdf>

8. Single nucleotide polymorphisms in forensic genetics: SNP detection methods. [In Russian]. Available at: <https://testgen.ru/ru/nauchnye-issledovaniya/stati-i-spravochnye-materialy/odnonukleotidnye-polimorfizmy-v-sudebnoy-genetike-metody-deteksii-snp/> [In Russian].

9. SME Workshop on CMC of Biological Medicinal Products. EMA London 14–16.04.2015. CMC ISSUES for Cell Based ATMP. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Presentation/2015/05/WC500187353.pdf

10. American Type Culture Collection Standards Development Organization Workgroup ASN-0002. Cell line misidentification: the beginning of the end. *Nat. Rev. Cancer*. 2010;10(6):441–448. doi: 10.1038/nrc2852/

Сведения об авторах:

Светлана Сергеевна Дружинина, ORCID: 0000-0002-2371-4044, e-mail: kss1993@bk.ru
Мария Александровна Логинова, д.б.н., ORCID: 0000-0001-7088-3986, e-mail: loginova@niigpk.ru
Дарья Николаевна Смирнова, к.б.н., ORCID: 0000-0002-0090-1891, e-mail: smirnovadn@niigpk.ru
Иван Павлович Обухов, ORCID: 0000-0001-8782-6419, e-mail: van-obukhov@yandex.ru
Кристина Олеговна Ярошенко, ORCID: 0000-0001-8117-1327, e-mail: repnitsina@niigpk.ru
Елена Александровна Попонина, к.м.н., ORCID: 0000-0003-4941-1735, e-mail: poponinaea@niigpk.ru
Елена Львовна Назарова, к.м.н., ORCID: 0000-0003-2010-8679, e-mail: nazarova@niigpk.ru
Наталья Васильевна Исаева, к.б.н., ORCID: 0000-0001-9766-5137, e-mail: isaevanatalia@yandex.ru
Игорь Владимирович Парамонов, д.м.н., ORCID: 0000-0002-7205-912X, e-mail: paramonov@niigpk.ru

Information about the authors:

Svetlana S. Druzhinina, ORCID: 0000-0002-2371-4044, e-mail: kss1993@bk.ru
Maria A. Loginova, doctor of biological sciences, ORCID: 0000-0001-7088-3986, e-mail: loginova@niigpk.ru
Daria N. Smirnova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-0090-1891, e-mail: smirnovadn@niigpk.ru
Ivan P. Obukhov, ORCID: 0000-0001-8782-6419, e-mail: van-obukhov@yandex.ru
Kristina O. Yaroshenko, ORCID: 0000-0001-8117-1327, e-mail: repnitsina@niigpk.ru
Elena A. Poponina, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-4941-1735, e-mail: poponinaea@niigpk.ru
Elena L. Nazarova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-2010-8679, e-mail: nazarova@niigpk.ru
Natalya V. Isaeva, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0001-9766-5137, e-mail: isaevanatalia@yandex.ru
Igor V. Paramonov, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-7205-912X, e-mail: paramonov@niigpk.ru

Поступила в редакцию 10.10.2022

После доработки 18.11.2022

Принята к публикации 13.01.2023

Received 10.10.2022

Revision received 18.11.2022

Accepted 13.01.2023