

Соглашение № 14.604.21.0062 от 27 июня 2014 г.

«МОДЕЛИРОВАНИЕ ПАНЕЛЕЙ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ И РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМ ИХ ИДЕНТИФИКАЦИИ НА ОСНОВЕ ТЕХНОЛОГИЙ ГЕННОГО И ГЕНОМНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ РАННЕГО ОТБОРА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ ПО ХОЗЯЙСТВЕННО- И ЭКОНОМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫМ ПРИЗНАКАМ»

Получатель субсидии:

ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЖИВОТНОВОДСТВА ИМЕНИ АКАДЕМИКА Л.К. ЭРНСТА (ВИЖ им. Л.К. Эрнста)

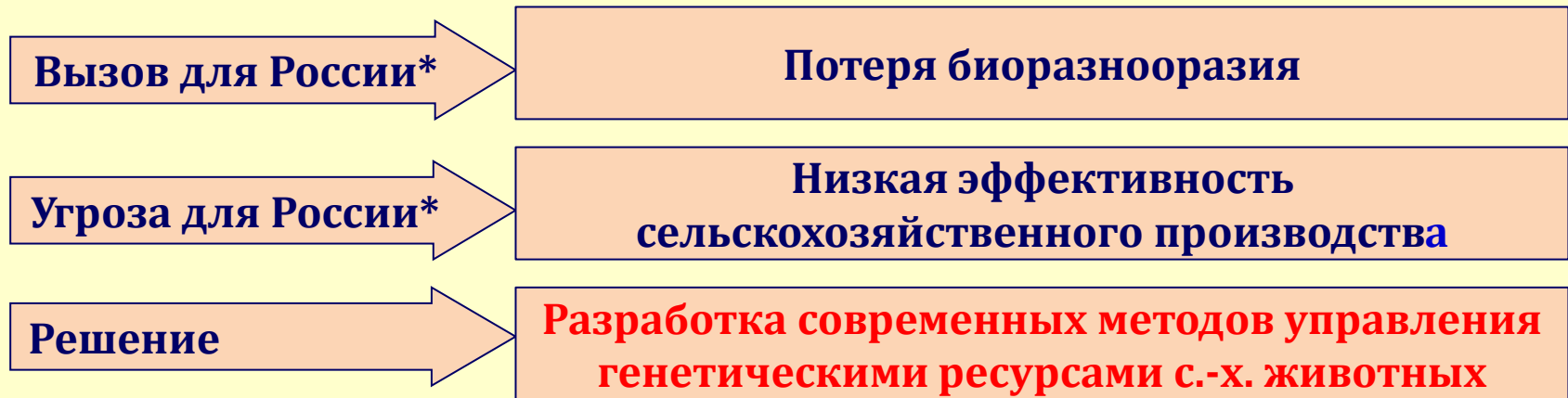
Вид средств	2014	2015	2016	Итого
Субсидия, млн. руб.	5,7	9,0	8,0	22,7
ВБС, млн. руб.	1,47	2,58	2,06	6,11
Итого, млн. руб.	7,17	11,58	10,06	28,81

Зиновьева Наталия Анатольевна

**доктор биологических наук, профессор, академик РАН,
Директор, рук. Центра биотехнологии и молекулярной диагностики
ВИЖ им. Л.К. Эрнста**

**Гладырь Елена Александровна, кандидат биологических наук
Зав. Лаборатории молекулярной генетики животных ВИЖ им. Л.К. Эрнста**

АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЙ



* Долгосрочный прогноз научно-технологического развития РФ до 2030 г." (2013)

Тенденции в воспроизводстве молочного скота:

Сервис-период (Washburn, 2002) - 1976 \Rightarrow 1999: **126 дн. \Rightarrow 169 дн.**

Число осеменений на корову (Lucy, 2001) - 1970 \Rightarrow 2000: **1,8 \Rightarrow 3,0**

Интервал между отелами (Lucy, 2001) - 1970 \Rightarrow 2000: **13,5 мес. \Rightarrow 14,9 мес.**

Стельность, % (Silvia, 1998) - 1972 \Rightarrow 1996: **62% \Rightarrow 34%**

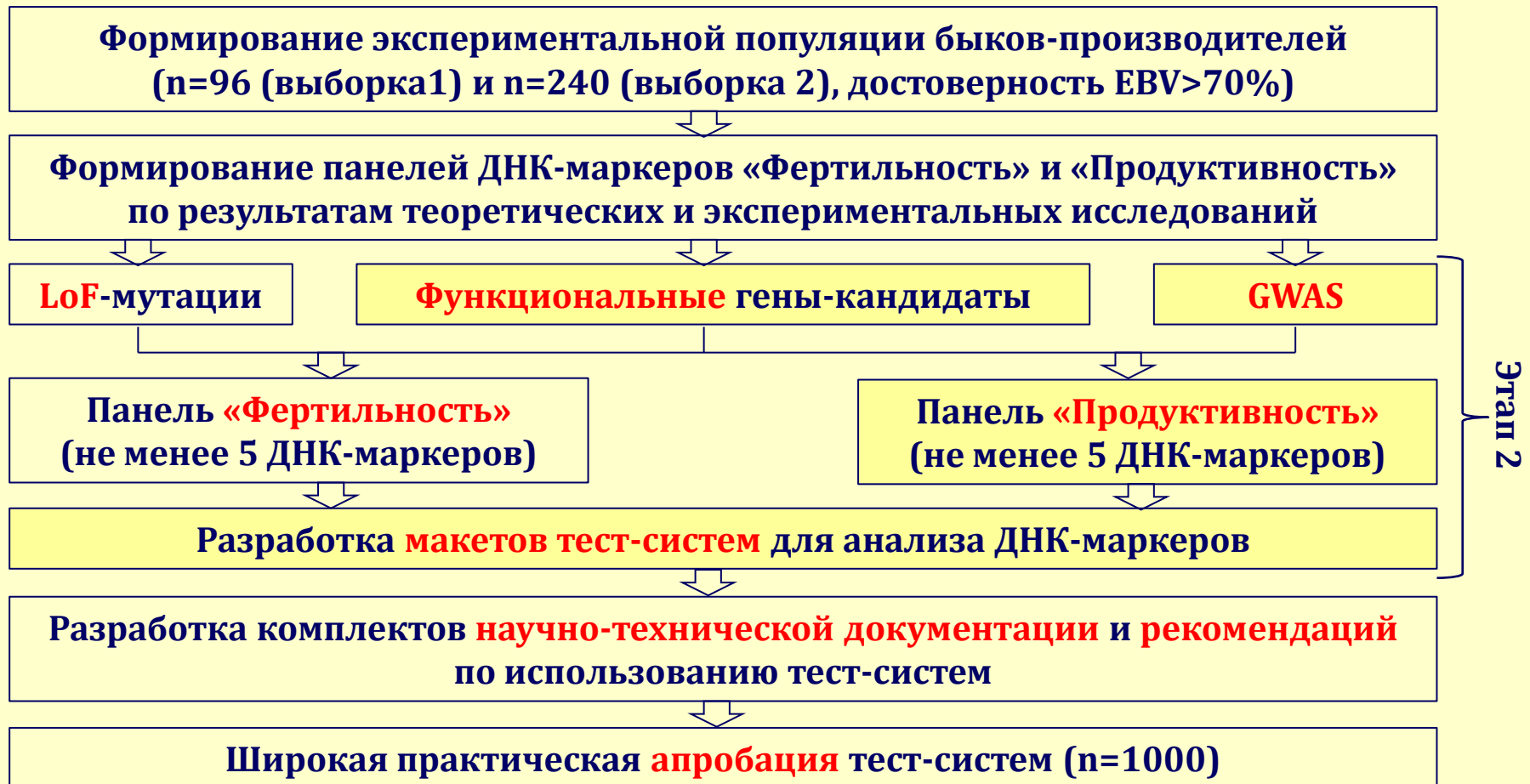
Молочная продуктивность (удой за лактацию на 1 корову):

Россия - **3,5 тонн** (2013), США - **9,8 тонн**

Приоритетная задача - создание биотехнологий, направленных на повышение эффективности использования биоресурсов для производства продукции животноводства

ЦЕЛЬ И ЭТАПЫ ВЫПОЛНЕНИЯ ПРОЕКТА

Цель - методическое и методологическое обеспечение разработки и внедрения в стране технологий генетической селекции молочного скота посредством моделирования панелей молекулярно-генетических маркеров и разработки систем их идентификации для раннего отбора животных по хозяйственно- и экономически значимым признакам

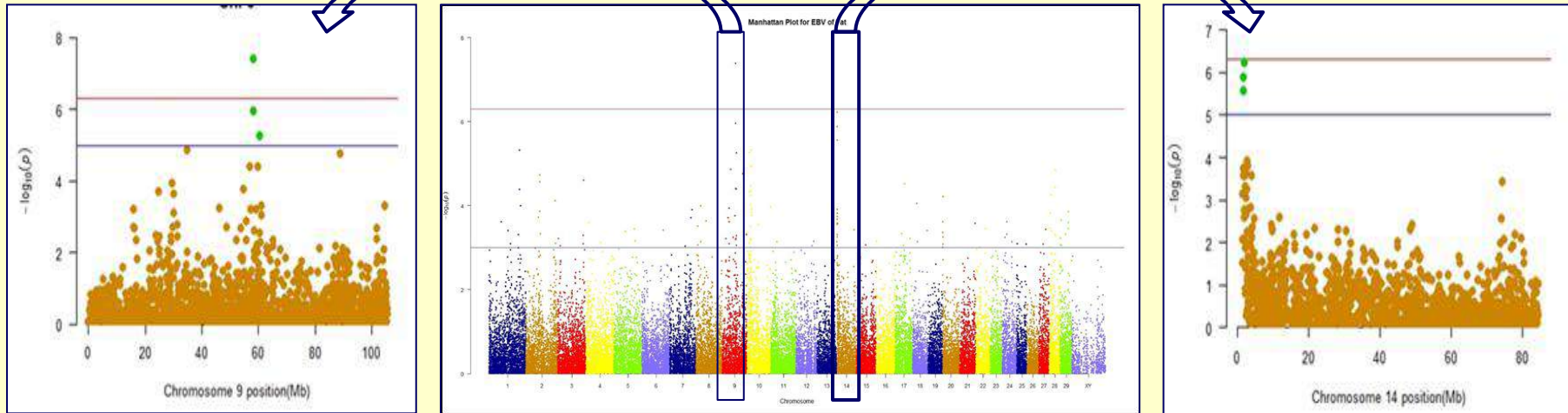


ЭТАП № 2: Моделирование панели молекулярно-генетических маркеров "Продуктивность" «Разработка макетов тест-систем для анализа молекулярно-генетических маркеров, включенных в панели "Продуктивность" и "Фертильность"»

<p>2.1. Определение спектра молекулярно-генетических маркеров (не менее 5) для включения в разрабатываемую панель "Продуктивность".</p> <p>2.2. Разработка тест-систем для анализа молекулярно-генетических маркеров, включенных в панели "Продуктивность" и "Фертильность".</p> <p>2.3. Получение (изготовление) тест-систем для анализа молекулярно-генетических маркеров, включенных в панели "Продуктивность" и "Фертильность".</p>	<ul style="list-style-type: none">• Промежуточный отчет о ПНИ.• Акты изготовления тест-систем для анализа молекулярно-генетических маркеров, включенных в панели "Продуктивность" и "Фертильность".
<p><u>Работы, выполняемые за счет ВБС:</u></p> <p>2.4. Теоретическое моделирование тест-систем анализа полиморфизма молекулярно-генетических маркеров, включенных в панель "Продуктивность".</p> <p>2.5. Проведение аналитических популяционно-генетических исследований быков-производителей экспериментальной популяции (выборка 1) по микросателлитным и SNP-маркерам</p> <p>2.6. Материально-техническое обеспечение работ этапа.</p>	<ul style="list-style-type: none">• Протоколы популяционно-генетических исследований быков-производителей экспериментальной популяции (выборка 1) по микросателлитным и SNP-маркерам

2.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПЕКТРА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ (НЕ МЕНЕЕ 5) ДЛЯ ВКЛЮЧЕНИЯ В РАЗРАБАТЫВАЕМУЮ ПАНЕЛЬ "ПРОДУКТИВНОСТЬ".

2.1.1. Отбор ДНК-маркеров по результатам полногеномных ассоциативных исследований с племенной ценностью быков-производителей



1. Тринадцатый член семейства растворенных веществ 2 (SLC2A13),
2. Непарно-связанный фактор транскрипции 1 (OSR1),
3. Содержащий парный домен фактор транскрипции 8 (PAX8),
4. Диацилглицерол O-ацилтрансфераза 1 (DGAT1).

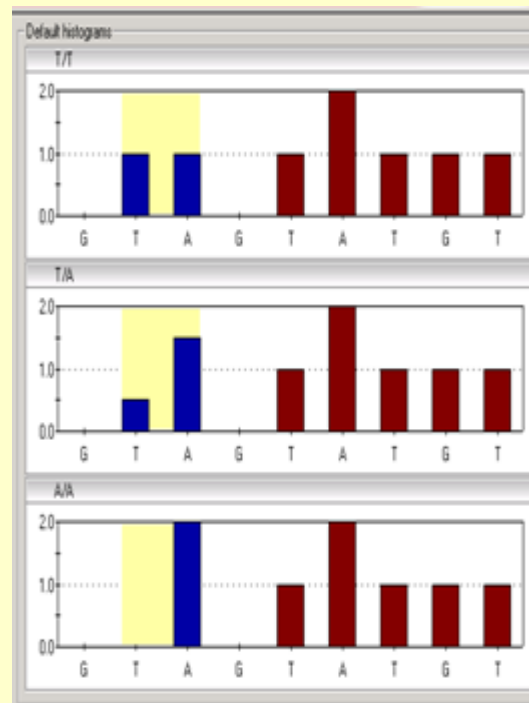
2.1.2. Отбор функциональных генов-кандидатов по результатам анализа научно-информационных источников

5. Диацилглицерол O-ацилтрансфераза 1 (DGAT1_K232A);
6. Рецептор гормона роста (GHR_F279Y).

2.4. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ТЕСТ-СИСТЕМ АНАЛИЗА ДНК-МАРКЕРОВ, ВКЛЮЧЕННЫХ В ПАНЕЛЬ «ПРОДУКТИВНОСТЬ»

№ п/п	ДНК-маркер	ВТР	Краткое описание метода, лежащего в основе тест-системы
1	SLC2A1 3	1	ПЦР-ПДРФ анализ
		2	пиросеквенирование
2	PAX8	1	ПЦР-ПДРФ анализ
		2	Пиросеквенирование
3	OSR1	1	ПЦР-ПДРФ анализ
		2	Пиросеквенирование
4	DGAT1	1	ПЦР-ПДРФ анализ
		2	Пиросеквенирование
5	DGAT1- K232A	1	ПЦР-ПДРФ анализ
		2	Пиросеквенирование
6	GHR- F279Y	1	ПЦР-ПДРФ анализ с созданием специфического сайта рестрикции посредством введения нуклеотидной замены в праймер
		2	Пиросеквенирование

Пример:
теоретическая модель тест-системы для анализа GHR-F279Y методом пиросеквенирования (PR6_ВТР2)



2.2. РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ АНАЛИЗА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ, ВКЛЮЧЕННЫХ В ПАНЕЛИ "ПРОДУКТИВНОСТЬ" И "ФЕРТИЛЬНОСТЬ"

№ п/п	ДНК-маркер	Локализация	Полиморфизм	Генотипы	Метод	
					ВТР1	ВТР2
Панель «Продуктивность»						
1	SLC2A13	ВТА5	С→Т	СС, СТ, ТТ	PSQ	PCR_RFLP
2	PAX8	ВТА11	А→G	АА, АG, GГ	PSQ	PCR_RFLP
3	OSR1	ВТА11	А→С	АА, АС, СС	PSQ	PCR_RFLP
4	DGAT1	ВТА14	А→G	АА, АG, GГ	PSQ	PCR_RFLP
5	DGAT1_K232A	ВТА14	GС→АА (A232K)	АА, АK, KК	PSQ	PCR_RFLP
6	GHR_F279Y	ВТА20	Т→А (F279Y)	FF, FY, YY	PSQ	PCR_RFLP
Панель «Фертильность»						
1	FANCI	ВТА21	Del (V877Lfs27X)	++, +Del, DelDel	PSQ	PCR
2	APAF1	ВТА5	С→Т (Q579X)	СС, СТ, ТТ	PSQ	PCR_RFLP
3	SMC2	ВТА8	Т→С (F1135S)	ТТ, ТC, СС	PSQ	AS-PCR
4	GART	ВТА1	А→С (N290T)	АА, АС, СС	PSQ	PCR_RFLP
5	SLC35A3	ВТА3	G→Т (V180F)	GГ, GT, ТТ	PSQ	PCR_RFLP
6	ITGB2	ВТА1	А→G	АА, АG, GГ	PSQ	PCR_RFLP
7	GPR161	ВТА3	G→А	GГ, GA, АА	PSQ	PCR_RFLP
8	MAP1B	ВТА20	G→А	GГ, GA, АА	PSQ	PCR_RFLP

PSQ – пиросеквенирование; PCR – полимеразная цепная реакция, AS-PCR – аллелеспецифическая PCR; RFLP – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов

СОСТАВ КОМПЛЕКТА РЕАГЕНТОВ ТЕСТ-СИСТЕМЫ (НА ПРИМЕРЕ ТЕСТ-СИСТЕМЫ PR1_ВТР1)

Наименование реагента	Маркировка	Фасовка	Условия хранения
Специальные реагенты: олигонуклеотиды <i>разработаны</i>	Oligo1 Oligo2	2 пробирки по 0,055 см ³ (мл)	минус 20°С
Реагент для ПЦР №1 (10х буфер для ПЦР) <i>разработан</i>	ПЦР № 1	1 пробирки, 0,165 см ³ (мл)	минус 20°С
Реагент для ПЦР № 2 (2 мМ дНТФ) <i>заимствован</i>	ПЦР № 2	1 пробирки, 0,165 см ³ (мл)	минус 20°С
Реагент для ПЦР № 3 (Taq-полимераза) <i>заимствован</i>	ПЦР № 3	1 пробирки, 0,022 см ³ (мл)	минус 20°С
Вода для ПЦР <i>заимствован</i>	H ₂ O _{bidest}	1 пробирки, 1,5 см ³ (мл)	плюс 2-8°С
Контрольный образец 1 (ДНК с известным генотипом концентрацией 50 нг/мкл) <i>разработан</i>	K1	1 пробирка по 0,05 см ³ (мл)	минус 20°С
Контрольный образец 2 (ДНК с известным генотипом концентрацией 50 нг/мкл) <i>разработан</i>	K2	1 пробирка по 0,05 см ³ (мл)	минус 20°С
Реагент GenTest1 (эндонуклеаза рестрикции BstMAI) <i>заимствован</i>	GenTest1	1 пробирки по 0,015 см ³ (мл)	минус 20°С
Буфер W+BSA <i>заимствован</i>	Buf1	1 пробирки, 0,120 см ³ (мл)	минус 20°С

2.3. ПОЛУЧЕНИЕ (ИЗГОТОВЛЕНИЕ) ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ АНАЛИЗА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ, ВКЛЮЧЕННЫХ В ПАНЕЛИ "ПРОДУКТИВНОСТЬ" И "ФЕРТИЛЬНОСТЬ".

Приложение А.

УТВЕРЖДАЮ
Директор
ВИЖ им. Л.К. Эрнста



Н.А. Зиновьева

«31» мая 2015 г.

АКТ № 1

изготовления тест-систем для анализа молекулярно-генетических
маркеров, включенных в панель "Продуктивность"

Соглашение о предоставлении субсидии от «27» июня 2014 г. №
14.604.21.0062
шифр «2014-14-576-0057-175»

«31» мая 2015 г.

п. Дубровицы

Комиссия в составе:

председателя	Ученый секретарь, к.б.н.	В.П. Губанова
и членов комиссии	Зав. лаборатории молекулярной генетики животных, к.б.н.	Е.А. Гладырь
	Рук. группы инновационной биотехнологии, к.б.н.	О.В. Костюниной

назначенная приказом по ВИЖ им. Л.К. Эрнста от «27» июня 2014 г. № 45, составила настоящий акт о нижеследующем.

1. Комиссии предъявлены:

1.1. Тест-системы для анализа молекулярно-генетических маркеров, включенных в панель "Продуктивность" (табл.)

№ п/п	ДНК-маркер	Наименование тест-системы	Кол-во реакций	Кол-во изготовленных комплектов
1	SLC2A13	PR1-BTP1	100	5
		PR1-BTP2	100	5
2	PAX8	PR2-BTP1	100	5
		PR2-BTP2	100	5
3	OSR1	PR3-BTP1	100	5
		PR3-BTP2	100	5
4	DGAT1	PR4-BTP1	100	5

№ п/п	ДНК-маркер	Наименование тест-системы	Кол-во реакций	Кол-во изготовленных комплектов
		PR4-BTP2	100	5
5	DGAT1-A232K	PR5-BTP1	100	5
		PR5-BTP2	100	5
6	GHR-F279Y	PR6-BTP1	100	5
		PR6-BTP2	100	5

1.2. Техническая документация о комплектности макета тест-системы для проведения ДНК-экспертизы крупного рогатого скота.

2. В результате проверки установлено:

2.1. Тест-системы изготовлены ВИЖ им. Л.К. Эрнста в период с «01» апреля 2015 г. по «31» мая 2015 г. в соответствии с разработанными требованиями в комплектности, установленной техническим заданием.

2.2. Тест-системы предназначены для определения полиморфизма 6 ДНК-маркеров, включенных в панель "Продуктивность", включая SLC2A13, OSR1 PAX8, DGAT1, DGAT-K232A, GRF-F279Y.

2.3. Комплектация разработанных тест-систем соответствует требованиям ТЗ.

3. Вывод

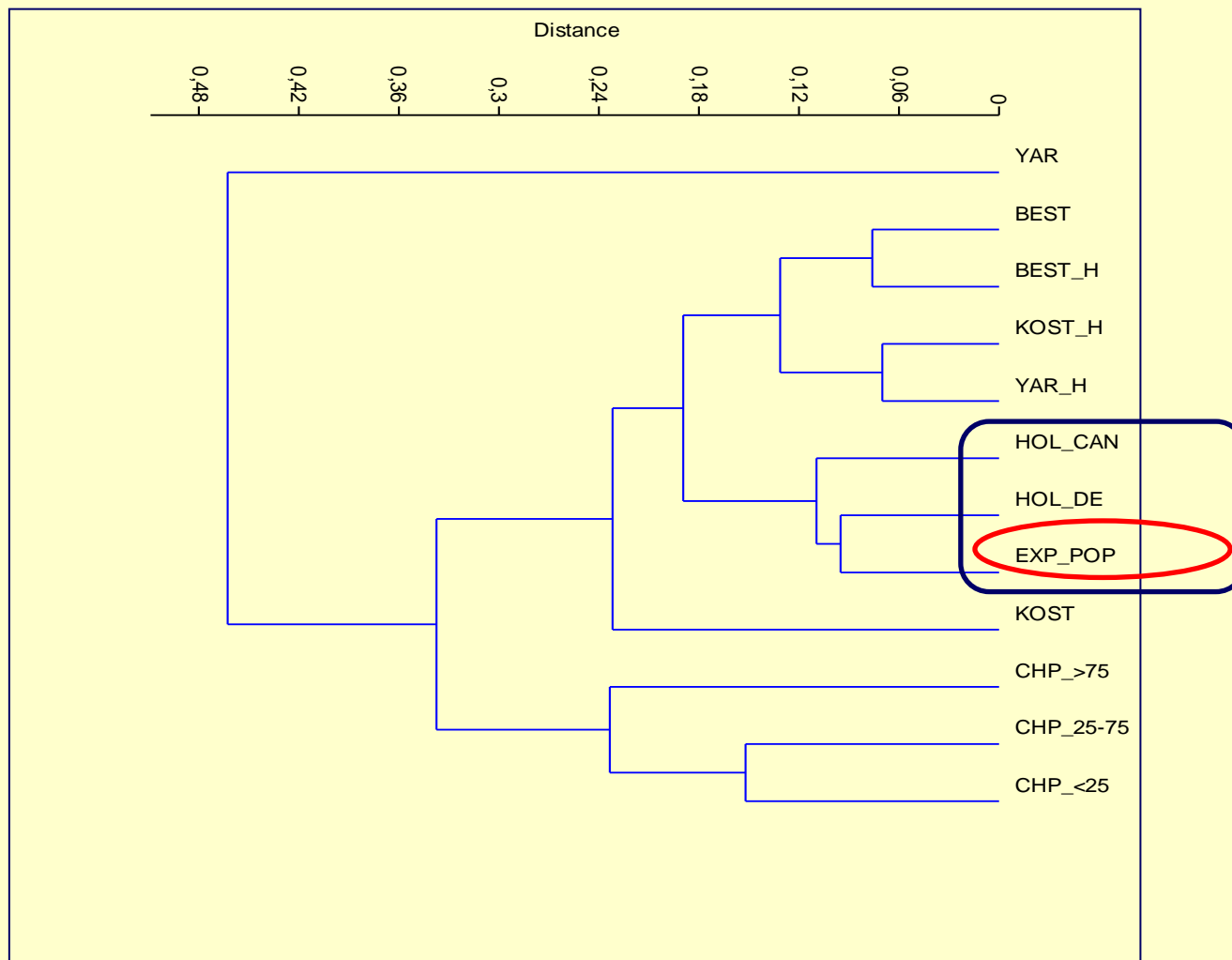
3.1. Тест-системы пригодны для проведения исследовательских испытаний;

3.2. Количество изготовленных тест-систем достаточно для проведения исследовательских испытаний на экспериментальной популяции быков-производителей (выборка 1).

Председатель комиссии
Члены комиссии

В.П. Губанова
 Е.А. Гладырь
 О.В. Костюнина

2.5. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИТИЧЕСКИХ ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПОПУЛЯЦИИ (ВЫБОРКА 1) ПО МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ И SNP-МАРКЕРАМ



ПОКАЗАТЕЛИ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ

Публикация по результатам исследований – 2 (индикатор - 2)

1. Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А., Багиров В.А., Брем Г. Динамика биоразнообразия отечественного черно-пестрого скота под воздействием кроссбридинга // **Вестник ВОГиС**, 2015, № 2, с. 222-225
2. Sermyagin A.A., Gladyr E.A., Kharitonov S.N., Ermilov A.N., Yanchukov I.N., Strekozov N.I., Zinovieva N.A. Genome-wide association study for milk production traits in Russian dairy cattle // **J. Anim. Sci.**, 2015, V. 93, Suppl. s3, 348-349

Мероприятия по демонстрации и популяризации результатов и достижений науки – 3 (индикатор – 3)

1	VIII Московский международный конгресса "Биотехнология: состояние и перспективы развития"	г. Москва, Здание Правительства Москвы, 17-20 марта 2015 г.	Приглашенный доклад Зиновьева Н.А.
2	XXII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов»	МГУ, г. Москва, 15 апреля 2015 г.	Постер Сермягин А.А.
3	V Международный ветеринарный конгресс	Г. Москва, 23 апреля 2015 г.	Приглашенный доклад Зиновьева Н.А.

ДОСТИЖЕНИЕ ЗАДАННЫХ ЗНАЧЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ (ИНДИКАТОРЫ)

№ п/ п	Наименование	Единица измерения	Значения по проекту ВСЕГО		Значения на текущий год		
			Запланировано достигнуто	Фактически достигнуто	Запланировано на текущий год	Достигнуто за отчетный период	Достигнуто итого за текущий год
1	Число публикаций по результатам исследований и разработок в научных журналах, индексируемых в базе данных Scopus или в базе данных "Сеть науки" (WEB of Science), не менее	единиц	6	3	2	2	2
2	Число патентных заявок, поданных по результатам исследований и разработок, не менее	единиц	3	0	1	0	0
3	Доля исследователей в возрасте до 39 лет в общей численности исследователей - участников проекта, не менее	процентов	39	66,7	39	66,7	66,7
4	Объем привлеченных внебюджетных средств	млн. руб.	6,11	3,2076116	2,58	1,5582086	1,5582086

ДОСТИЖЕНИЕ ЗАДАННЫХ ЗНАЧЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ (ПОКАЗАТЕЛИ)

№ п/п	Наименование	Единица измерения	Значения по проекту ВСЕГО		Значения на текущий год		
			Запланировано достигнуть	Фактически достигнуто	Запланировано на текущий год	Достигнуто за отчетный период	Достигнуто итого за текущий год
1	Средний возраст исследователей – участников проекта, не более	лет	46	39,3	47	39,3	39,3
2	Количество мероприятий по демонстрации и популяризации результатов и достижений науки, в которых приняла участие и представила результаты проекта организация - исполнитель проекта, не менее	единиц	7	9	3	3	3
3	Число диссертаций на соискание ученых степеней, защищенных по результатам исследований и разработок	единиц	1	0	0	0	0
5	Использование при выполнении ПНИ научного оборудования центров коллективного пользования научным оборудованием	единиц	1	1	1	1	1

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ