

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
Института биологии развития
им. Н.К. Кольцова РАН

А.В. Васильев

« 15 » марта 2017 г.

Регламент

содержания и доступа к Коллекции линных перьев редких и особо ценных видов
хищных птиц

ЦКП по биологии развития на основе использования клеточных технологий и
оптических методов исследований при

Федеральном государственном бюджетном учреждении науки
Институте биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Общие положения.

В связи с тем, что основными задачами Коллекции линных перьев редких и особо ценных видов хищных птиц (далее – Коллекция) являются депонирование образцов линных перьев и ДНК и создание базы данных молекулярно-генетических маркеров редких и особо ценных видов хищных птиц для использования в фундаментальных и прикладных научных исследованиях, а также пополнение Коллекции новыми образцами, необходимо, чтобы Коллекция отвечала следующим требованиям (критериям):

1) Для образцов в Коллекции должны быть описаны видовая принадлежность, по возможности, подвидовая принадлежность, дата и место сбора, фенотипические характеристики особей и иные параметры, пригодные для проведения фундаментальных и прикладных научных исследований.

2) Данные об образцах формируются при проведении экспедиций по сбору материала для пополнения фондов Коллекции или при передаче образцов в Коллекцию в соответствии с условиями договора или соглашения с авторами сборов (далее – авторы).

3) Образцы в Коллекции должны быть охарактеризованы с помощью классических современных молекулярно-генетических методов. Процедуры проверки соответствия декларируемой видовой принадлежности и определения генотипа проводятся по мере поступления образцов в Коллекцию в соответствии с СОПами (см. Стандартные Операционные Процедуры при работе с Коллекцией – Приложение Б).

4) В Коллекции имеется система документирования (для каждого образца, находящегося в Коллекции, имеется набор характеристик, отражающий всю информацию о доступных данных об образце, наличии и типах материала, а также по проведенным манипуляциям, начиная с момента попадания в Коллекцию), а также система маркировки, исключающая потерю и перепутывание материала.

5) Помещения, в которых содержится Коллекция и ведется работа по депонированию образцов ДНК, используемые материалы, оборудование и процедуры должны отвечать разработанной системе требований по контролю условий труда в соответствии с российскими и международными нормативами. Основные нормативные документы: 1. Трудовой кодекс Российской Федерации. Принят 30 2001 г. 197-ФЗ (с изменениями и дополнениями). 2. Федеральный закон от 27.12.2002 г. № 184 – ФЗ «О техническом регулировании». 3. ГОСТ Р 12.0.001-2013 Система стандартов безопасности труда. Основные положения. 4. Постановление Правительства Российской Федерации от 27 декабря 2010 г. № 1160. Положение о разработке, утверждении и изменении нормативных правовых актов, содержащих государственные нормативные требования охраны труда. 5. Постановление Минтруда России от 17 декабря 2002 г. № 80. Об утверждении Методических рекомендаций по разработке государственных нормативных требований охраны труда.

В том числе, помещения для ведения коллекционной работы должны быть оборудованы системой поддержания постоянной температуры (25°C), вытяжками, оборудованием для работы с коллекцией, морозильниками для хранения выделенных образцов ДНК.

6) Доступ к Коллекции для сотрудников ИБР РАН осуществляется через предварительную запись в журнал заказов. Ответственный за коллекцию сотрудник формирует заказы по мере поступления. Для сотрудников других учреждений доступ к Коллекции осуществляется по предварительной договоренности и с разрешения Руководителя Коллекции.

7) Процедура передачи образцов Пользователям вместе с информацией, достаточной для исследования образцов в их лабораториях, а также с подписанием в отдельных случаях Соглашения о передаче материалов, осуществляется в соответствии с российским и международным законодательством об охране редких и особо ценных видов. По предварительной договоренности с Пользователем необходимые молекулярно-генетические исследования могут быть проведены в рамках заключенного договора о совместной научно-исследовательской работе на базе ИБР РАН с привлечением, в случае необходимости, иных сторонних организаций.

8) Постоянная работа над пополнением Коллекции ведется в ходе экспедиций, одной из целей которых является сбора линных перьев редких и особо ценных видов хищных птиц в природе и обмена между коллекционными фондами профильных научных и природоохранных организаций. Ответственность за исполнение российского и международного законодательства,

регламентирующего исследования редких и особо ценных видов, при сборах образцов для Коллекции лежит на авторах сборов.

9) Стороны заключенных Соглашений не вправе разглашать информацию о точных координатах мест сбора коллекционных материалов и иных данных об образцах, если эти данные скрыты авторами, а также передавать эти данные третьим лицам. При необходимости указания в публикациях и отчётах координат мест сбора коллекционных материалов, которые скрыты авторами, следует использовать координаты центроидов по методу сеточного картирования из GBIF.

10) В перспективе каждый образец будет иметь полный паспорт с информацией об истории сбора, фото особи, стереотипе гнездования, данных о миграции, молекулярных и изотопных маркерах и др. по сведениям, размещенным в базе данных веб-ГИС «Фаунистика» (<http://raptors.wildlifemonitoring.ru>) с ежегодным импортом данных в Global Biodiversity Information Facility (<http://www.gbif.org/publisher/477dbd45-674f-4389-8952-7c9bbde10f68>) и иным сведениям, предоставленным авторами. Краткий паспорт образца выдается Пользователю Коллекции и включает индивидуальную выборку сведений о необходимых характеристиках образца согласно предварительной договоренности с Пользователем Коллекции.

11) Поддержание Коллекции осуществляется путем хранения образцов линных перьев при стандартной температуре и влажности и образцов ДНК – при температуре не ниже -20°C . Проверка сохранности коллекционных фондов осуществляется не реже, чем 1 раз в год. В перспективе планируется организация криохранилища образцов ДНК редких и особо ценных видов хищных птиц.

Основные мероприятия, обеспечивающие корректную работу с коллекцией.

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

Все работы, проводимые в условиях лаборатории, должны вестись в соответствии с правилами пожарной безопасности и охраны труда. Процедуры молекулярно-генетического анализа, требующие стерильности, проводят в ламинарных боксах. При работе обеспечиваются условия, предотвращающие воздействие на персонал потенциальных аллергенов от коллекционного материала.

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

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

Приложение А.

Перечень актуальных услуг, оказываемых заинтересованным пользователям с учетом нагрузки.

1. Обеспечение заинтересованных учебных и научных организаций образцами ДНК и линных перьев хищных птиц с заданными характеристиками (вид, происхождение, генотип и т.п.).
2. Проведение заказных исследований с использованием коллекционных образцов в совместных работах с представителями внешних организаций.
3. Проведение учебно-практических мероприятий с заинтересованными пользователями по постановке генетических экспериментов на коллекционном материале.
4. Оказание консультационной помощи в работе с коллекцией, базой данных коллекционных материалов в веб-ГИС «Фаунистика» и базой данных Global Biodiversity Information Facility, подготовке научных статей и иных научно-практических результатов, основанных на работе с коллекцией.

Перечень основного технологического оборудования.

1. Источники УФ.
2. Весы.
3. Холодильники.
4. Ламинары и ПЦР-боксы.
5. Амплификаторы (Терцик, VeritiFast Applied Biosystem)
6. Секвенатор DNA analyser 3500
7. Чипридер и чипрайтер Perkin Elmer

Используемые методики.

1. Методы выделения ДНК, амплификации, секвенирования по Сэнгеру и кДНК-микроарреев при описании генотипа коллекционных образцов.

Руководитель Коллекции

к.б.н.



Зиневич Л.С.

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

**Стандартные операционные процедуры (СОП) содержания и развития
 «Коллекция линных перьев редких и особо ценных видов хищных птиц»
 Объединенная коллекция тканей диких животных для фундаментальных,
 прикладных и природоохранных исследований**

Составил	Согласовал	Утвердил
Н.с. лаборатории эволюционной генетики развития Зиневич Л.С.  <hr/> « 15 » марта 2017г	Зав. Лабораторией эволюционной генетики развития Куликов А.М.  <hr/> « 15 » марта 2017г	Директор ИБР РАН Васильев А.В.  <hr/> « 15 » марта 2017г 

Применение

Процедура применима к характеристике и описанию образцов линных перьев, включаемых в Коллекцию.

Цель

Описание образцов линных перьев по молекулярно-генетическим характеристикам и депонирование образцов ДНК редких и особо ценных видов хищных птиц.

Определения

Образец – одно или несколько линных перьев, собранных и охарактеризованных по данным сбора как единая точка в единый момент времени.

ID – уникальный номер-идентификатор образца по электронному каталогу Коллекции.

Образец ДНК – ДНК, выделенная из одного пера.

ПЦР – полимеразная цепная реакция.

Молекулярное определение пола – определение пола особи, от которой было получено перо или иной материал, по данным ПЦР-анализа с универсальными праймерами для определения пола у птиц.

Секвенирование – определение последовательности ДНК маркерного локуса с целью идентификации видовой принадлежности образца или определения гаплотипа по данному локусу.

Микросателлитный анализ – определение генотипа особи по локусам tandemных повторов.

Генотипирование на чипах – выявление молекулярных маркеров с помощью метода микроарреев для получения данных о генотипе особи по многим маркерам.

Список литературы

1. Horvath M. et al., 2005. An overlooked DNA source for non-invasive genetic analysis in birds // *Journal of Avian biology*. V.36.- P.84-88.
2. Fridolfsson A.-K., Ellegren H., 1999. A Simple and Universal Method for Molecular Sexing of Non-Ratite Birds // *Journal of Avian Biology*. V. 30.- pp. 116-121.

Ответственность

Научный сотрудник, осуществляющий работу с коллекционными фондами и проводящий характеризацию образцов; руководитель коллекции.

Порядок действий

1. При поступлении в Коллекцию этикетированного образца линных перьев из природы образцу присваивается уникальный ID, включающий номер (номер точки сбора в базе данных веб-ГИС «Фаунистика» (<http://raptors.wildlifemonitoring.ru>), номер в реестре переданных образцов, иной номер при наличии), дату сбора материала, предполагаемую видовую принадлежность. При отсутствии номера на этикетке образцу присваивается внутренний номер Коллекции ИБР РАН с учетом видовой принадлежности образца.

а. Примеры ID:

АН-К1А 11.07.2014 Aq. heliaca (веб-ГИС «Фаунистика»)

ХНУ 1а 06.07.2016 Aq. nipalensis (реестр переданных образцов)

АС-IDB16 2015 г. Aq. chrysaetos (внутренний номер Коллекции)

2. Образец под уникальным ID включается в электронный каталог образцов Коллекции с данными о дате и месте сбора, отметками о наличии доступного материала в образце и иными особыми отметками при их наличии.

3. После визуального контроля сохранности и влажности образец вместе с этикеткой упаковывается в пищевую пленку/полиэтилен с сохранением доступа воздуха, но исключением возможности кросс-контаминации образцов при хранении или быстрого распространения плесневых грибов и иных возможных повреждений коллекционного фонда.

4. Образцы хранятся при температуре 20-23°C и влажности не более 65%.

5. Визуальный контроль состояния образцов коллекционного фонда проводится при каждом обращении к Коллекции, но не реже 1 раза в год для каждого образца.

6. Для проведения генотипирования из образца произвольным образом выбирается 1 перо. В случае наличия только одного пера в образце, в электронный каталог Коллекции вносится соответствующая отметка о расходовании образца.

7. Перо этикетуется в соответствии с присвоенным ID в базе данных и фотографируется с обязательным масштабированием.

8. ДНК выделяется из мезенхимной пульпы пера (Horvath et al., 2005) гуанидин-тиоцианатным или иным пригодным стандартным методом выделения ДНК.
9. Выделенному образцу ДНК присваивается уникальный ID, включающий ID образца по базе данных и порядковый номер пера, взятого из образца.
10. Методом ПЦР с универсальными праймерами для определения пола птиц по стандартной методике (Fridolfsson, Ellegren, 1999) проводится определение пола особи, от которой было получено перо.
11. Методами ПЦР, секвенирования по Сэнгеру и/или генотипирования на чипах проводится определение генотипа особи по маркерным локусам митохондриального и ядерного геномов, с помощью программы BLAST (NCBI, США) проводится подтверждение заявленной видовой принадлежности пера. При необходимости для подтверждения межвидовых или подвидовых гибридов проводится микросателлитный анализ.
12. Данные о результатах молекулярного определения пола и подтверждении видовой принадлежности заносятся в электронный каталог Коллекции.
13. Выделенный и этикетированный образец ДНК хранится при температуре не ниже -20°C . При расходовании образца ДНК на исследования в электронный каталог вносится соответствующая отметка.
14. Перо, из которого была выделена ДНК, хранится в условиях, аналогичных условиям хранения исходных образцов, для последующих дополнительных исследований: измерения, изотопного анализа методами газовой хроматографии и масс-спектрометрии и т.д.

Пересмотр СОП

Пересмотр СОП осуществляется 1 раз в год, в связи с совершенствованием методов контроля молекулярно-генетических признаков и пополнением коллекции и набора методов характеристики хищных птиц по линным перьям.