



**Институт генетики и цитологии
НАН Беларуси**

Генетические ресурсы – практика сохранения и использования в научных исследованиях

**Кильчевский А.В., Лемеш В.А.,
Сычёва Е.А., Гузенко Е.В.**



БИОРАЗНООБРАЗИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ



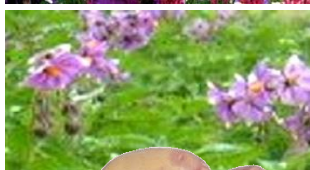
Последние два с половиной десятилетия характеризуются стремительным ростом использования биологических (генетических) ресурсов в разных сферах производственной деятельности.



Генетические ресурсы стали не только объектом коммерческого интереса, но и причиной усиления «биоразведки» и «биопиратства».



Последнее привело к необходимости принятия **Конвенции ООН о биологическом разнообразии**



с целью **сохранения биологического разнообразия, устойчивого использования его компонентов и совместного получения на справедливой и равной основе выгод, связанных с использованием генетических ресурсов**, путем предоставления необходимого доступа к ним и передачи соответствующих технологий с учетом всех прав на такие ресурсы и технологии, а также путем должного финансирования данной деятельности.





Согласно Конвенции о биоразнообразии

«генетический материал» - любой материал растительного, животного, микробного или иного происхождения, содержащий единицы наследственности (любые материальные носители генетической информации, включая индивидуальные гены и их комбинации, фрагменты ДНК, образцы РНК и др.)

«генетические ресурсы» - генетический материал, представляющий фактическую или потенциальную ценность.



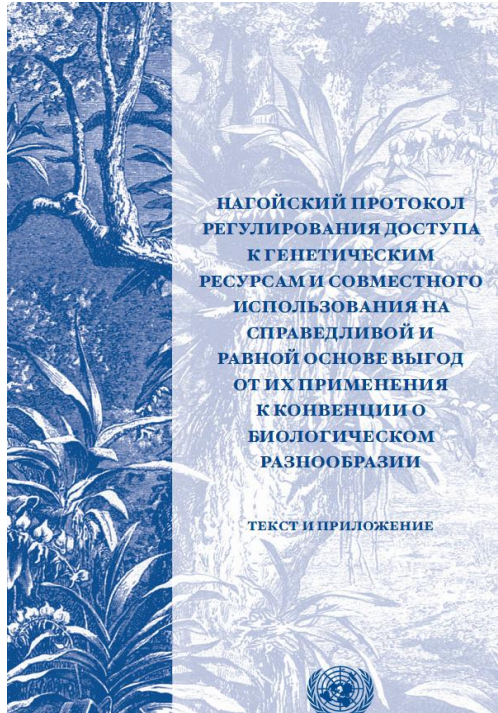
Согласно нормам международного права природные ресурсы принадлежат государству и отчуждаться представителями других государств они должны в разрешительном порядке и на возмездной основе, причем с особым учетом интересов коренных народов, проживающих на территории изъятия генетических ресурсов.

Формы компенсаций за доступ к генетическим ресурсам:

- **денежные выгоды;**
- **неденежные выгоды - информационное обеспечение, дополнительное образование, соавторство в публикациях, заявки на патенты, лизинг, обеспечение научно-технической литературой, приборами, реактивами, методиками и т.д.**



Нагойский протокол к Конвенции о биологическом разнообразии



В протоколе заложена правовая основа для обеспечения четкой определенности и прозрачности при взаимодействии стран, поставляющих генетические ресурсы и биотехнологии, и стран, которые их используют.

Республика Беларусь в мае 2014 года присоединилась к Нагойскому протоколу к Конвенции о биологическом разнообразии.

[http:// abs.igc.by](http://abs.igc.by)

Национальный координационный центр по вопросам доступа к генетическим ресурсам и совместного использования выгод (Институт генетики и цитологии НАН Беларуси)



БИОРАЗНООБРАЗИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ

В соответствии со Статьей 2 Нагойского протокола «использование генетических ресурсов» означает проведение исследований и осуществление разработок с использованием генетического материала, представляющего фактическую или потенциальную ценность, в том числе путем применения биотехнологии.

Следовательно, к организациям, подпадающим под действие Нагойского протокола, в первую очередь относятся те, в которых имеются собственные коллекции живых объектов (целых организмов, тканей, клеток) или банки ДНК, а также те, которые используют живые организмы в производственном процессе.



Держатели генетических ресурсов в Беларуси

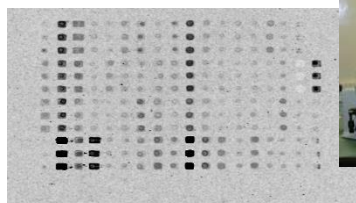
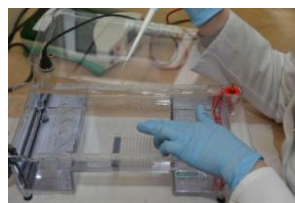
- **Национальные парки и заповедники.** Сохраняемые генетические ресурсы – дикорастущие виды флоры и фауны
- **Научные учреждения Национальной академии наук Беларуси.** Сохраняемые генетические ресурсы - коллекции живых растений, коллекции древесных видов растений и грибов, гербарий, коллекции семян и клеточных культур, селекционно-племенные фермы сельскохозяйственных животных, банк ДНК





Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси

- в виде **живых организмов** – коллекции сортов культурных растений (томат, перец, физалис, пшеница, тритикале, лен, соя, подсолнечник, картофель)
- в виде **коллекций ДНК** – Республиканский банк ДНК растений, животных, микроорганизмов и человека





Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов



создан в 2013 г.

**В 2016г. получил статус
национального достояния**

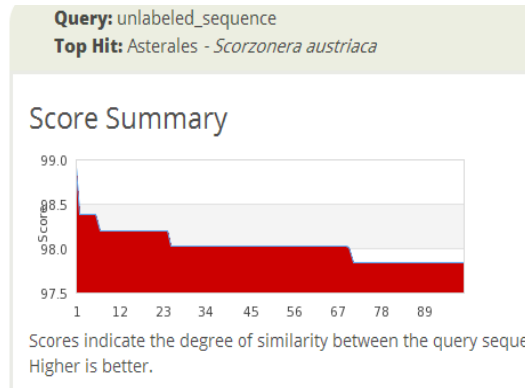
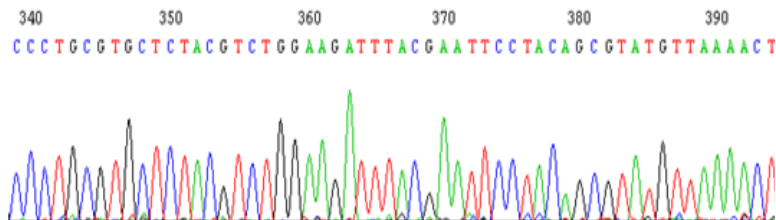
(постановление Совета Министров
Республики Беларусь № 629 от 13
августа 2016г.)

**для обеспечения сохранности уникальных
коллекций ДНК и биологического материала
Института генетики и цитологии НАН Беларуси**

**Руководитель банка ДНК: академик НАН Беларуси
Кильчевский А.В.**



- Наличие банка ДНК создает условия для развития биотехнологии в нашей стране, для ведения научной работы в рамках крупномасштабных, мультидисциплинарных исследований, как внутри страны, так и для сотрудничества в рамках выполнения международных научно-исследовательских проектов и программ.
- Возможность ДНК-инвентаризации генетических ресурсов Республики Беларусь.





Формы депонирования (хранения) образцов ДНК в банке

Одна из форм хранения - для научных целей

- используется депозиторами для собственных нужд,
- служит для обмена образцами ДНК между лабораториями учреждений РБ и других стран, занимающихся молекулярно-генетическими исследованиями



ИНСТИТУТ ГЕНЕТИКИ И ЦИТОЛОГИИ НАН БЕЛАРУСИ
Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов

УТВЕРЖДАЮ
Зам. директора Института генетики и цитологии НАН Беларуси
Е.А. Сачёва
20 апреля 2018г.

Акт
выдачи образцов ДНК
из хранилищ Республиканского банка ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов

Настоящий акт составлен в том, что из хранилищ Республиканского банка ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов выданы образцы биологического материала для лаборатории молекулярных основ стабильности генома Института генетики и цитологии НАН Беларуси в количестве 159 образцов ДНК

по профилю: «Банк ДНК (Ювенильный идиопатический артрит (ЮИА), суставный синдром, системная красная волчанка, спондилоартрит, гематофиллез, васкулит, контроль)»

форма депонирования для научных целей

для выполнения работ по мероприятию «Молекулярно-генетическая оценка риска аутоиммунных заболеваний» научно-технической программы Союзного государства «Разработка инновационных геногеографических и геномных технологий идентификации личности и индивидуальных особенностей человека на основе изучения генофондов регионов Союзного государства» (ДНК-идентификация).

Руководитель Республиканского банка ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов
академик НАН Беларуси

Образцы принял:
н.с. лаборатории молекулярных основ стабильности генома
Н.В. Пикитченко

Лаборатория молекулярных основ стабильности генома
Зам. директора Института генетики и цитологии НАН Беларуси
Е.А. Сачёвой

Заявление _____ 2018 г.

Прошу выдать 159 образцов ДНК по профилю «Банк ДНК (Ювенильный идиопатический артрит (ЮИА), суставный синдром, системная красная волчанка, спондилоартрит, гематофиллез, васкулит, контроль)» в целях проведения научных исследований по мероприятию «Молекулярно-генетическая оценка риска аутоиммунных заболеваний» научно-технической программы Союзного государства «Разработка инновационных геногеографических и геномных технологий идентификации личности и индивидуальных особенностей человека на основе изучения генофондов регионов Союзного государства» (ДНК-идентификация).

Н.с. лаборатории молекулярных основ стабильности генома
Никитченко Н.В.

Согласовано: авторы

	Гончарова Г.И.
	Сухово А.В.
	Кузнецов Т.Д.
	Рабоклов Н.И.
	Савина Н.В.
	Никитченко Н.В.
	Юдин А.А.
	Чичко А.М.
	Серябрякова Е.В.

Руководитель Республиканского банка ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов
академик НАН Беларуси

Образцы принял:
н.с. лаборатории молекулярных основ стабильности генома
А.В. Кильчевский

Использование коллекций ДНК человека, растений и животных в научных исследованиях

ГОСУДАРСТВЕННАЯ ПРОГРАММА

«Наукоемкие технологии и техника»

подпрограммы 4 «Мобилизация и

**рациональное использование генетических ресурсов
растений национального банка для селекции, обогащения
культурной и природной флоры Беларуси»
на 2016 – 2020 годы**

**Задание «Создание генетически маркированной
коллекции зерновых, овощных и технических культур
для включения в селекционные программы и
национальный банк генетических ресурсов растений
Республики Беларусь, разработка интерактивной
электронной базы данных для мониторинга
использования генетических ресурсов растений»**

Сравнительная геномика. Пасленовые культуры

Основываясь на филогенетической близости пасленовых культур ведутся исследования:

- поиск генов-ортологов по хозяйственно-ценным признакам у перца, баклажана, физалиса с использованием маркеров, разработанных для томата;
- выявление аллельного полиморфизма генов;
- сравнение фенотипического проявления и функций генов-ортологов.



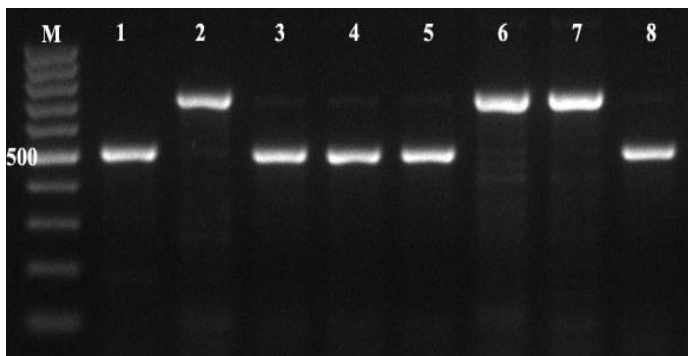
Генотипирование сортового генофонда мягкой пшеницы

Гены, ассоциированные с качеством зерна	<ul style="list-style-type: none">• Гены твердозерности <i>PinA-D1</i> и <i>PinB-D1b</i>• Гены запасных белков семян – глютелинов <i>Glu-A1</i>, <i>Glu-B1</i> и <i>Glu-D1</i>• Ген предуборочного прорастания семян <i>Vp-1</i>• Наличие 1BL.1RS ржаной транслокации
Гены, ассоциированные с массой зерна	<ul style="list-style-type: none">• Ген инвертазы клеточной стенки <i>TaCwi-A1</i>• Ген, влияющего на массу тысячи зерен <i>TaGW2</i>• Ген сахароз синтазы 2 <i>TaSus2</i>
Гены, ассоциированные с высотой растения	<ul style="list-style-type: none">• Гены карликовости <i>Rht1</i>, <i>Rht2</i> и <i>Rht8</i>
Гены, ассоциированные с типом развития растения	<ul style="list-style-type: none">• Ген устойчивости к фотопериодизму <i>Ppd-D1</i>• Гены яровости/озимости <i>Vrn-A1</i>, <i>Vrn-B1</i> и <i>Vrn-D1</i>
Гены, ассоциированные с адаптивностью к условиям окружающей среды	<ul style="list-style-type: none">• Ген семейства стресс-ассоциированных белков <i>TaSap-A1</i>



ДНК-маркирование устойчивости пшеницы к грибным болезням

Подобрана коллекция из **50 ДНК маркеров**, сцепленных с **50 генами устойчивости** пшеницы к возбудителям мучнистой росы, бурой, стеблевой и желтой ржавчины *Lr1, Lr9, Lr10, Lr19/Sr25, Lr20/Sr15/Pm1, Lr21, Lr22a, Lr24/Sr24, Lr25/Pm7, Lr26/Sr31/Yr9/Pm8, Lr28, Lr29, Lr34/Yr18/Pm38, Lr35/Sr39, Lr37/Sr38/Yr17, Lr42, Lr47, Sr22, Sr26, Sr1RSAmigo, Sr2, Sr36, Sr40, Sr44, Sr45, Yr5, Yr10, Yr26, Pm3 (Pm3a, Pm3b, Pm3c, Pm3d, Pm3e, Pm3f, Pm3g), Pm4 и Pm17.*



Результаты разделения методом электрофореза продуктов амплификации в 1,5% агарозном геле, полученные с помощью 2 пар SCAR маркеров SCS265512 и SCS253736 к гену устойчивости к бурой ржавчине *Lr19*.
Лунка 1 – изогенная линия мягкой пшеницы Thatcher/7* *Thinopyrum elongatum* (Тс+*Lr19*) (положительный контроль).

Сформирована коллекция из **более 500 изогенных линий** и сортов пшеницы с известными генами устойчивости к грибным болезням.

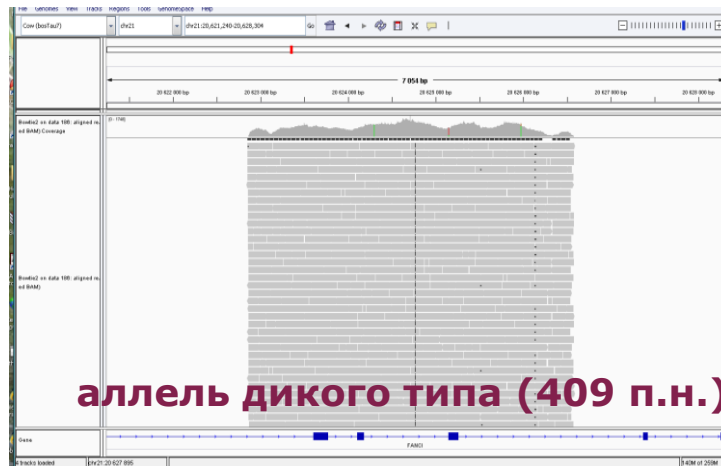
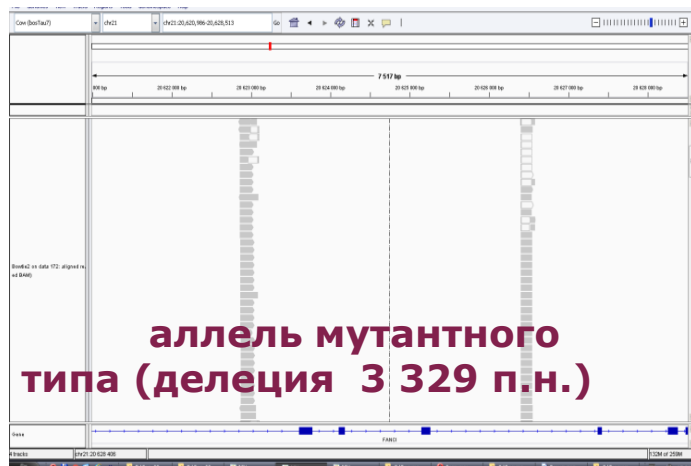
Выявлены новые источники устойчивости пшеницы к грибным болезням и охарактеризованы их донорские свойства.



NGS секвенирование на базе Illumina MiSeq

Выполнено секвенирование фрагмента гена *FANCI*, наличие мутации в котором детерминирует развитие генетически обусловленного **дефекта брахиспины** (низкая плодовитость) крупного рогатого скота.

Выявлены аллели мутантного (делеция 3 329 п.н.) и дикого типа гена *FANCI*.



Нуклеотидная последовательность ПЦР-продуктов соответствует референсной нуклеотидной последовательности AC_000178.1 (GenBank), что подтверждает специфичность метода и достоверность результатов

Разработана ДНК-технология детекции генетического дефекта крупного рогатого скота голштинской породы, детерминирующего синдром брахиспины (BY).

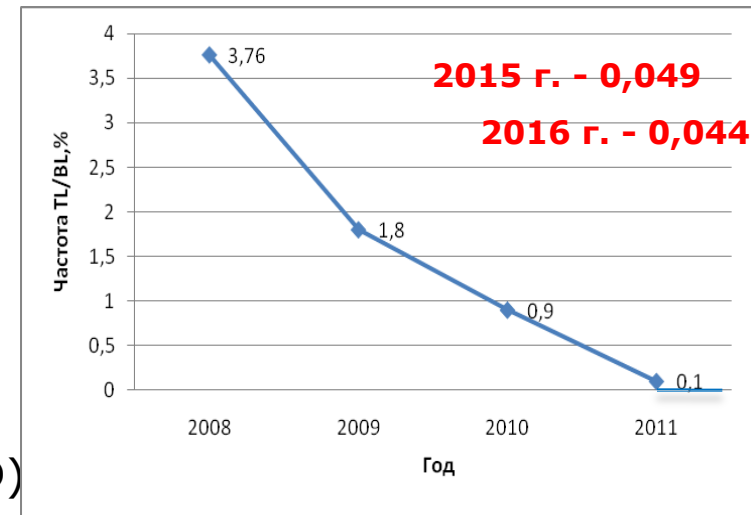
ДНК–диагностика носительства наследственных заболеваний крупного рогатого скота



Согласно Закону Республики Беларусь «О племенном деле в животноводстве» все высокопродуктивные племенные животные должны подвергаться генетической экспертизе, в том числе и по ДНК-маркерам генетически обусловленных заболеваний.

ДНК-диагностика скрытых носителей наследственных заболеваний крупного рогатого скота:

- ❖ наследственный иммунодефицит (BLAD-синдром);
- ❖ ранняя абортруемость эмбрионов (DUMPS),
- ❖ комплексный порок позвоночника (CVM);
- ❖ дефицит фактора свертываемости крови (FXID)
- ❖ костной деформации - брахиспины (BY).
- ❖ нарушение биосинтеза мочевины - цитруллинемия (BC).



Мониторинг частоты мутантных генотипов, обуславливающих развитие иммунодефицитного состояния КРС в Беларуси с 2008 по 2016 гг.

Позволяет проводить строгий генетический контроль племенных животных, **выявлять скрытых носителей мутантного аллеля и контролировать распространение мутации в популяции**

Гаплотипы фертильности КРС

В голштинской породе в настоящее время регистрируется **10 гаплотипов фертильности** (HCD, HH0, HH1, HH2, HH3, HH4, HH5, HHB, HHC, HHD), оказывающих влияние на процент успешных осеменений (с наступлением стельности) и (или) **ассоциированных с эмбриональной и ранней постэмбриональной смертностью** на различных стадиях и встречающихся с частотой от 0,01 до 2,95 % (*Larkin D.M., 2012*).

Проводятся работы по мониторингу скрытых носителей мутаций, ассоциированных с фертильностью крупного рогатого скота, в Беларуси

Распределение животных по выявленным генетическим аномалиям, ассоциированным с фертильностью в популяции КРС Республики Беларусь (*Михайлова М.Е. и др. 2018*)

Гаплотип фертильности, ген	Кол-во исследов. животных	Выявлено носителей			
		%	n	в том числе	
				коров, гол.	быков, гол
HH1, ген <i>APAF1</i>	104	2,88	3	1	2
HH3, ген <i>SMC2</i>	325	3,38	11	9	2
HH4, ген <i>GART</i>	324	1,23	4	4	-
HH5, ген <i>TFB1M</i>	409	2,69	11	7	4
HCD, ген <i>APOB</i>	320	1,25	4	-	4
HH0 (BY)	334	1,9	8	5	3
HHB (BLAD)	417	0,48	2	2	-
HHC (CVM)	417	2,88	12	10	2
HHD (DUMPS)	409	-	-	-	-

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ БЕЛОРУССКОЙ И ПОЛЬСКОЙ ПОПУЛЯЦИЙ ЕВРОПЕЙСКОГО ЗУБРА (*Bison bonasus*)



Цель: Оценить генетическое разнообразие белорусской и польской популяций европейского зубра по микросателлитным локусам и полиморфизму генов *DRB3* и *DQB* главного комплекса гистосовместимости для сохранения и рационального использования данного вида.

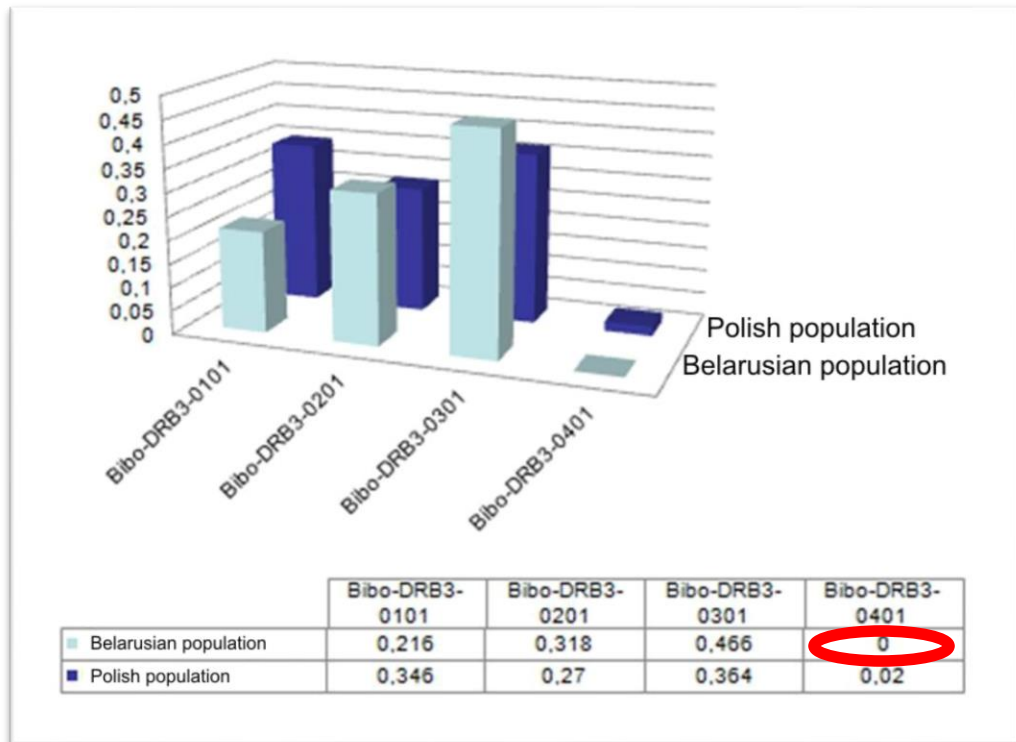
Полиморфизм микросателлитных локусов европейского зубра (*European bison*) белорусской и польской популяций

Polish population		Belarusian population		
Allele	Frequency (%)	Locus	Allele	Frequency (%)
-	-	ETH3	119	6.6
125	46,3		125	45.6
129	53,7		129	47.8
250	62,9	SPS115	250	14.2
254	7,5		254	25.0
258	29,6		258	60.8
-	-	TGLA122	132	6.5
144	75,9		144	83.7
164	24,1		164	9.8
-	-	BM2113	121	33.4
-	-		125	20.6
-	-		129	10.8
130	7,4		-	-
132	92,6		133	35.2
153	51.8	ETH225	153	47.8
155	48.2		155	52.2
181	16,7	BM1824	181	34.7
183	83,3		183	65.3
213	29,6	ETH10	213	25.0
215	2.0		215	14.1
217	62,9		217	54.4
221	5,5		221	6.5
153	75,9	TGLA53	153	60.0
155	24,1		155	40.0
112	12,9	TGLA126	112	13.0
116	59,3		116	66.3
122	27,8		120	20.7
100,0	192	INRA23	192	100,0

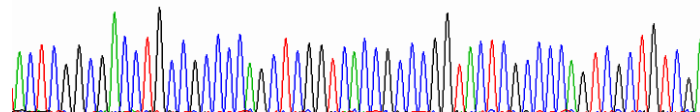
Коллекция ДНК
 – 30 образцов беловежской линии;
 - 120 образцов беловежско-кавказской линии (РБ).

- Микросателлитный анализ, показал что, несмотря на единое происхождение, высокое сходство белорусской и польской популяций европейского зубра, различные принципы разведения привели к явным отличиям в генетической структуре.
- Наличие определенных аллелей микросателлитных локусов подтверждает гибридное происхождение белорусского поголовья.

Поиск редких аллельных вариантов гена DRB3, участвующего в формировании иммунитета



file: 13-5F Sequence Name: (none) Run ended: (unknown)
90 100 110 120 130 140
ACTCGGGGACCTGCCGCCCCAGCTCGGTCAACGCCCGGTACTCGGCCAGTCGCTGTCGA



Фрагмент сиквенса II экзона гена DRB3

Показано отсутствие аллеля Bibo-DRB3*0401 ГКГ в белорусской популяции зубра.

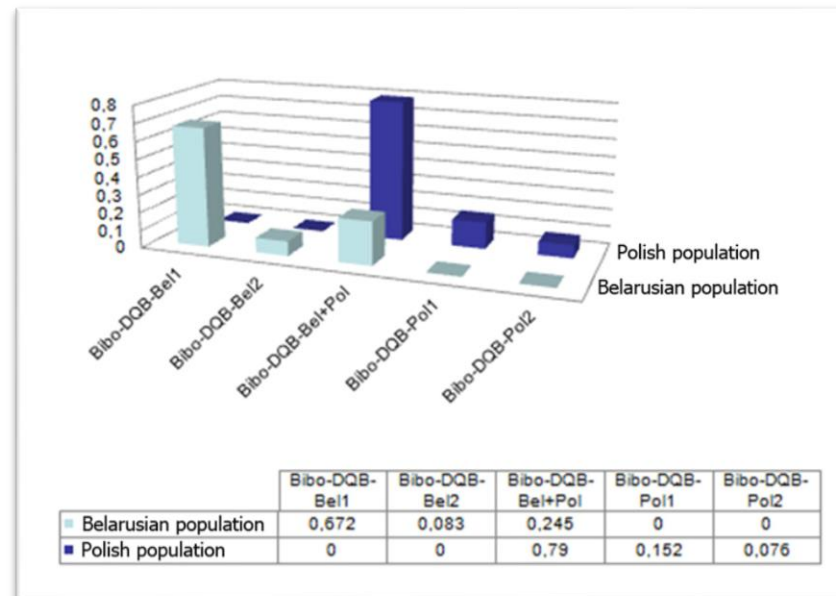
Сравнение частот аллелей гена DRB3 главного комплекса гистосовместимости белорусской (Mikhailova M., Medvedeva Y. 2013) и польской популяций (Radwan J. 2007)

Изучение полиморфизма гена DQB, участвующего в формировании иммунитета

Выявлено 5 аллельных вариантов гена DQB главного комплекса гистосовместимости у европейского зубра.

Показано отличие генетической структуры белорусской популяции европейского зубра по частотам встречаемости аллельных вариантов гена DQB ГКГ.

Выявлено присутствие в польской популяции уникальных аллельных вариантов гена Vibo-DQB-Pol2 и Vibo-DQB-Pol3, что делает их ценными для увеличения генетического разнообразия белорусской популяции.



Сравнение частот аллелей гена DQB главного комплекса гистосовместимости белорусской и польской популяции европейского зубра (Mikhailova M., Medvedeva Y. 2015)

Выявление особей, несущих редкие аллельные варианты микросателлитных локусов и генов ГКГ будет способствовать увеличению генетического разнообразия и вовлечению уникальных генов и аллелей в селекционный процесс, что, несомненно, позволит повысить жизнеспособности вида.

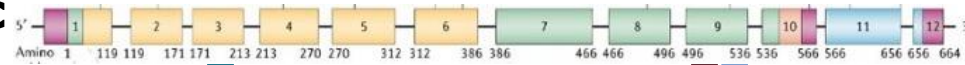
NGS секвенирование на базе Illumina MiSeq

Используя современные технологии секвенирования, найдены носители мутаций в гене LMNA, ассоциированные с развитием **дилатационной кардиомиопатии** и **сопутствующих жизнеугрожающих синдромов**.

Впервые в геноме человека описана мутация Arg190Pro гена LMNA. Изучено ее фенотипическое проявление, установлена патогенность.

Определены бессимптомные носители (дети) мутаций в семьях пациентов, что позволяет проводить лечебную коррекцию неблагоприятных исходов заболевания.

Коллекция ДНК – 160 образцов



Arg190Pr

Trp520Ar

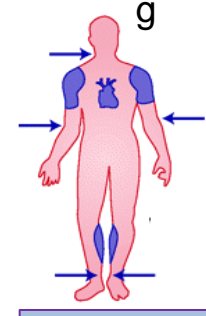
Thr528Ar



Dilated cardiomyopathy with conduction defects



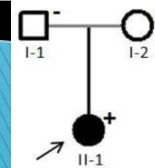
Конечностно-поясничная мышечная дистрофия 1B



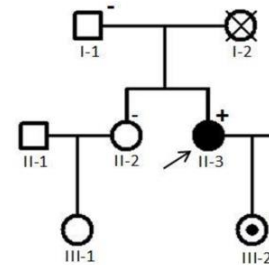
Миодистрофия Эмери-Дрейфуса

Дилатационная кардиомиопатия

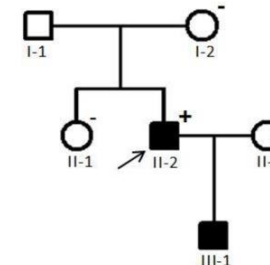
Case 1



Case 2



Case 3



MedCrave
MOJ Clinical & Medical Case Reports

Case Report of Malouf Syndrome not Associated with LMNA Gene Mutation

Volume 4 Issue 6 - 2016

Tat'yana G. Vaikhanskaya^{1*}, Lar'isa N. Sivitskaya², Nina G. Danilenko³, Tat'yana V. Kurushka⁴ and Oleg G. Davydenko⁵

*Corresponding author: Tat'yana G. Vaikhanskaya, Health Information Technology Department, Republican Scientific and Practical Center of Cardiology, Belarus

Received: September 22, 2016; Published: September 28, 2016

OMCR
Case Report

OMCR 2014 9 (3 pages)
doi:10.1093/omcr/omr040

LMNA-related dilated cardiomyopathy

Tat'yana Vaikhanskaya¹, Lar'isa Sivitskaya², Nina Danilenko³, Oleg Davydenko⁵, Tat'yana Kurushka⁴ and Irina Sidorenko¹

¹Cardiology, Republican Scientific and Practical Center of Cardiology, Minsk, Belarus and ²Cyttoplasmic Inheritance, Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences, Minsk, Belarus

³Correspondence address: Cardiology, Republican Scientific and Practical Center of Cardiology, R Luksemburg str 110, Minsk 220036, Belarus. Tel: +375-17-263-5827; Fax: +375-17-211-8514; E-mail: tel_vaikh@mail.ru

Received 12 February 2014; revised 30 July 2014; accepted 8 August 2014

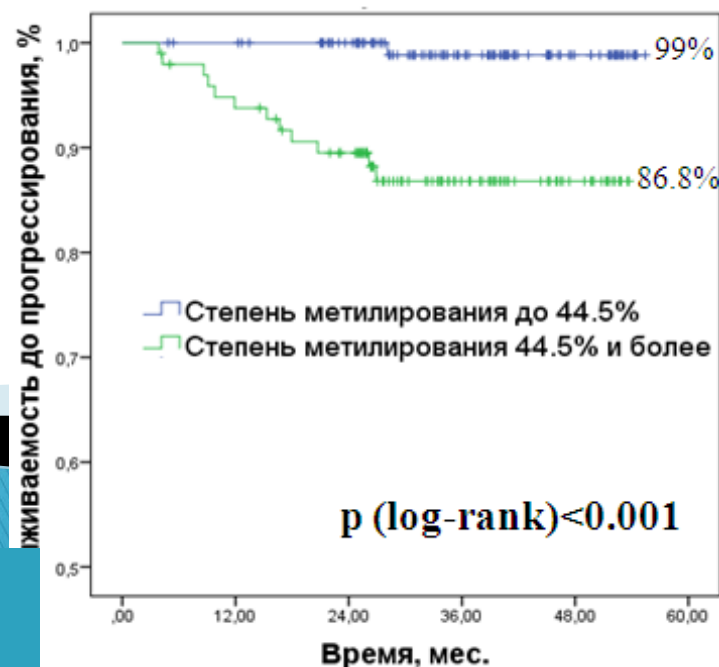
A case of idiopathic dilated cardiomyopathy (DCM) that is likely to be associated with LMNA mutation Arg190Pro in a heterozygote is described. The features of DCM in the patient were conduction disorders, cardiac arrhythmias, progressive heart failure and minor musculoskeletal disturbances. We consider that the mutation Arg190Pro contributes to the formation of a weak nuclear lamina and diminishes muscle mechanical stability which is critical during cardiac contraction. The case report illustrates in detail the phenotypic manifestations of the novel LMNA mutation and difficulties in management related to it.

Оценка влияния эпигенетической изменчивости на клиническое течение рака мочевого пузыря

Коллекция ДНК – 380 образцов

- Проведен качественный и количественный анализ метилирования промоторных областей генов *RUNX3*, *TBX4*, *HOXA9*, *SOX1* с использованием методов метил-специфической ПЦР и Ms-SNuPE.
- Показана статистически значимая связь гиперметилирования генов *RUNX3*, *TBX4* и *SOX1* с патоморфологическими показателями агрессивности заболевания: мышечной инвазией, низкой степенью дифференцировки, большими размерами опухоли.

➤ Установлено, что эпигенетические изменения генов *RUNX3* и *TBX4* являются независимыми от клинических параметров факторами риска прогрессирования рака мочевого пузыря.



3-летняя выживаемость до прогрессирования
при низкой степени метилирования *TBX4* – 99%
при высокой степени метилирования *TBX4* – 86,8%

Генетическое тестирование в спорте

**Протестировано более 500 представителей
30-ти олимпийских и национальных команд Беларуси.**

Создан банк ДНК элитных спортсменов.

Разработаны программы генетического тестирования:

- для отбора начинающих спортсменов (по генам спортивной одарённости);
- для спортивной профилизации;
- для коррекции тренировочного процесса;
- для подбора медико-биологического обеспечения спортсмена.

Генетическое тестирование позволяет улучшить спортивный отбор; оптимизировать тренировочный процесс и корректировать медико-биологическое обеспечение атлетов, что в итоге способствует повышению их результативности, улучшает реализацию спортивного потенциала спортсмена.





Благодарю за внимание!

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

200072, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Академическая, 27

тел.: (+375 17) 284-18-56, 284-04-11 тел./факс: (+375 17) 284-19-17

www.igc.by, e-mail: office@igc.by, igc_market@igc.by