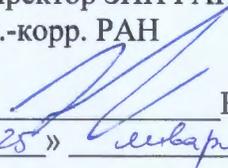


Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ЗООЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ЗИН РАН)

УДК 59.082
Per № НИОКТР 122011300307-2



УТВЕРЖДАЮ
Директор ЗИН РАН,
гл.-корр. РАН


Н.С. Чернецов
« 25 » сентября 2022 г.

ОТЧЕТ
О ВЫПОЛНЕННЫХ РАБОТАХ ПО РЕАЛИЗАЦИИ ПРОЕКТА

**РАЗВИТИЕ КРУПНЕЙШЕЙ БИОРЕСУРСНОЙ КОЛЛЕКЦИИ РОССИИ НА БАЗЕ
УНИКАЛЬНОЙ ФОНДОВОЙ КОЛЛЕКЦИИ ЗООЛОГИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА
РАН: ИЗУЧЕНИЕ, РАЦИОНАЛЬНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ И ОТВЕТСТВЕННОЕ
ХРАНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ МИРОВОЙ ФАУНЫ**

Отчет за 2021 г.
(промежуточный)
Этап 1

Федеральная научно-техническая программа
развития генетических технологий на 2019-2027 годы
Соглашение № 075-15-2021-1069 от 28.09. 2021 г.

Книга 1

Руководитель НИР:
гл. научн. сотр., д-р биол. наук


А.В. Абрамов

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Зоологический институт Российской академии наук (ЗИН РАН):

Руководитель НИР,

гл. научн. сотр., д-р биол. наук



А.В. Абрамов

(подпись, дата) (введение, раздел 3, заключение)
25.01.2022

Исполнители НИР:

Вед. научн. сотр., канд. биол. наук



Н.И. Абрамсон

(подпись, дата)

(разделы 1, 2, 3)

25.01.2022

Гл. научн. сотр., д-р биол. наук

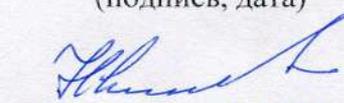


А.О. Аверьянов

(подпись, дата)

(раздел 5)

Гл. научн. сотр., д-р биол. наук



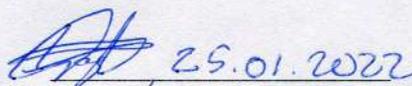
Н.Б. Ананьева

25.01.2022

(подпись, дата)

(раздел 5)

Мл. научн. сотр., без степени

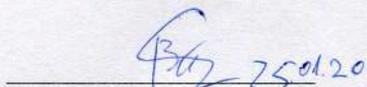


С.Ю. Бодров

(подпись, дата)

(разделы 1, 2, 3)

Научн. сотр., канд. биол. наук

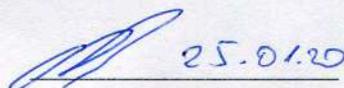


М.С. Вишневская

(подпись, дата)

(раздел 3)

Ст. научн. сотр., канд. биол. наук



Л.Л. Войта

(подпись, дата)

(разделы 4, 5)

Мл. научн. сотр., без степени



Е.Н. Волкова

(подпись, дата)

(раздел 3)

Гл. научн. сотр., д-р биол. наук

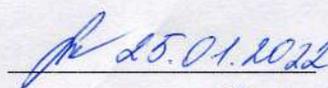


К.В. Галактионов

(подпись, дата)

(раздел 3)

Мл. научн. сотр., без степени

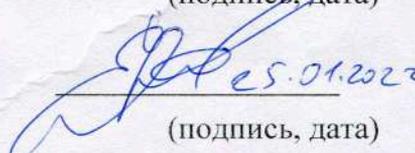


А.И. Ганюкова

(подпись, дата)

(разделы 1, 3)

Научн. сотр., канд. биол. наук

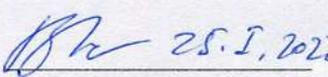


Е.А. Генельт-Яновский

(подпись, дата)

(разделы 1, 2, 3)

Вед. научн. сотр., д-р биол. наук

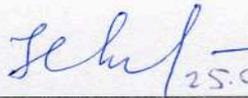
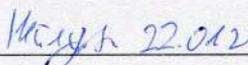
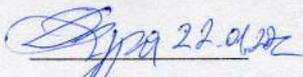
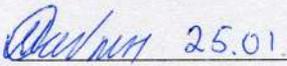
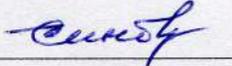
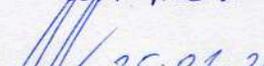
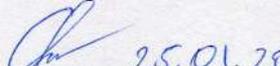
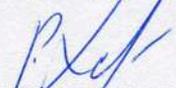


В.М. Гнездилов

(подпись, дата)

(введение, разделы 1, 2)

Мл. научн. сотр., без степени	<u>ГК 25.01.2022</u> (подпись, дата)	А.Г. Гончар (разделы 1, 2, 3)
Ст. научн. сотр., канд. биол. наук	<u>И.Г. 25.01.2022</u> (подпись, дата)	И.Г. Данилов (основная часть)
Стажер-исследователь, без степени	<u>Д.А. 25.01.2022</u> (подпись, дата)	П.А. Джелали (раздел 3)
Ст. научн. сотр., канд. биол. наук	<u>И.В. 25.01.2022</u> (подпись, дата)	И.В. Доронин (раздел 3)
Мл. научн. сотр., без степени	<u>Д.О. 25.01.2022</u> (подпись, дата)	Д.О. Драчко (раздел 3)
Гл. научн. сотр., д-р биол. наук	<u>С.А. 25.01.2022</u> (подпись, дата)	С.А. Карпов (раздел 3)
Ст. научн. сотр., канд. биол. наук	<u>Ф.В. 25.01.2022</u> (подпись, дата)	Ф.В. Константинов (разделы 3, 4)
Ст. научн. сотр., канд. биол. наук	<u>А.А. 25.01.2022</u> (подпись, дата)	А.А. Кудрявцев (раздел 3)
Гл. научн. сотр., д-р биол. наук	<u>В.А. 25.01.2022</u> (подпись, дата)	В.А. Лухтанов (разделы 1, 3)
Вед. научн. сотр., канд. биол. наук	<u>Б.А. 25.01.2022</u> (подпись, дата)	Б.А. Лёвин (разделы 1, 3)
Мл. научн. сотр., без степени	<u>М.С. 25.01.2022</u> (подпись, дата)	М.С. Мелехин (раздел 3)
Мл. научн. сотр., канд. биол. наук	<u>А.А. 25.01.2022</u> (подпись, дата)	А.А. Миролубов (раздел 3)
Системный инженер, без степени	<u>А.Н. 25.01.2022</u> (подпись, дата)	А.Н. Мясницын (раздел 3)

Ст. научн. сотр., канд. биол. наук	 25.01.2022	А.А. Намятова (разделы 1, 3)
	(подпись, дата)	
Ст. научн. сотр., канд. биол. наук	 22.01.22	В.В. Нейморовец (раздел 3)
	(подпись, дата)	
Вед. научн. сотр., канд. биол. наук	 25.01.2022	Н.И. Орлов (разделы 3, 5)
	(подпись, дата)	
Научн. сотр., канд. биол. наук	 22.01.2022	Т.В. Петрова (разделы 1, 2, 3)
	(подпись, дата)	
Лаборант-исследователь, без степени	 22.01.22	Е.М. Полянская-Образцова (раздел 3)
	(подпись, дата)	
Гл. научн. сотр., д-р биол. наук	 25.01.2022	М.В. Саблин (разделы 3, 5)
	(подпись, дата)	
Гл. научн. сотр., д-р биол. наук	 25.01.2022	С.Ю. Синев (разделы 3, 5)
	(подпись, дата)	
Ст. научн. сотр., канд. биол. наук	 25.01.2022	В.В. Старунов (раздел 3)
	(подпись, дата)	
Научн. сотр., канд. биол. наук	 22.01.2022	Е.В. Сыромятникова (раздел 3)
	(подпись, дата)	
Гл. научн. сотр., д-р биол. наук	 25.01.2022	А.О. Фролов (разделы 3, 5)
	(подпись, дата)	
Вед. системный инженер, без степени	 25.01.2022	Р.Г. Халиков (раздел 4)
	(подпись, дата)	
Ст. научн. сотр., канд. биол. наук	 25.01.2022	Н.А. Шаповал (разделы 1, 3)
	(подпись, дата)	

Соисполнитель:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук (ИБР РАН)

Соглашение между ЗИН РАН и ИБР РАН № 261 ОТ 08.10.2021 г.

Руководитель НИР:

Вед. научн. сотр., канд. биол. наук



24.01.2022 О.В. Брандлер
(подпись, дата) (разделы 6, 7, 8)

Научн. сотр., канд. биол. наук



24.01.2022 С.И. Зиневич
(подпись, дата) (разделы 6, 7, 8)

Научн. сотр., канд. биол. наук



24.01.2022 С.Ю. Капустина
(подпись, дата) (разделы 6, 7, 8)

Мл. научн. сотр., без степени



24.01.2022 В.Г. Тамбовцева
(подпись, дата) (разделы 6, 7, 8)

Мл. научн. сотр., без степени



24.01.2022 А.Р. Тухбатулин
(подпись, дата) (разделы 6, 7, 8)

Старший лаборант



24.01.2022 Д.Н. Рожкова
(подпись, дата) (разделы 6, 7, 8)

РЕФЕРАТ

Отчет 750 с., 2 кн., 12 рис., 10 табл., 33 источн., 10 прил.

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ, ДИГИТАЛИЗАЦИЯ, ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА, КАТАЛОГИЗАЦИЯ, МИТОГЕНОМ, МОДЕРНИЗАЦИЯ, МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ, ОБОРУДОВАНИЕ, ПАЛЕОГЕНОМИКА, ПРОЕКТНАЯ ДОКУМЕНТАЦИЯ, СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА, ТИПОВЫЕ ЭКЗЕМПЛЯРЫ, ФИКСИРОВАННЫЕ ТКАНИ ЖИВОТНЫХ

Проект направлен на инфраструктурное и информационное развитие биоресурсной коллекции на базе Уникальной фондовой коллекции Зоологического института РАН (УФК ЗИН РАН) совместно с Институтом биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (ИБР РАН) (по Соглашению между ЗИН РАН и ИБР РАН № 261 от 08.10.2021 г.). Основная цель проекта состоит во внедрении современных молекулярно-генетических методов характеристики коллекционных образцов, новых стандартов хранения, каталогизации и мониторинга коллекций, новых способов взаимодействия с пользователями зоологических коллекций и создания на ее основе сетевой коллекции по направлению БРК «Музейные коллекции животных», равно как и в подготовке высококвалифицированных кадров в области молекулярной генетики и коллекционного дела.

В 2021 г. в ЗИН РАН проведено генотипирование 15 экземпляров типовой коллекции грызунов, в том числе получены 10 отдельных молекулярных последовательностей митохондриального гена цитохром б для типовых экземпляров *Lemmus sibiricus* (4 экз.), *Blanfordimys bucharensis* (3 экз.), *Neodon yuldaschi* (2 экз.) и *Lasiopodomys fuscus* (1 экз.). В связи с тем, что не все отобранные типовые материалы из коллекции грызунов дали достаточный выход ДНК для получения библиотек и сборки полных митогеномов, план исследований был скорректирован и для митогеномного анализа был использован дополнительный коллекционный материал по другим таксонам. Впервые получены полные митогеномы для 2 экземпляров мышинной тупайи *Dendrogale murina* (отряд Scandentia), определено их филогенетическое положение в рамках семейства Tupaiidae. Получены библиотеки и проведено секвенирование для сборки митогеномов от трёх представителей класса хитоны (Mollusca: Polyplacophora).

Создана новая лаборатория эволюционной геномики и палеогеномики; проведено оснащение этой лаборатории оборудованием для проведения молекулярно-генетических исследований. Закуплены реактивы для создания геномных библиотек, наборы для

выделения ДНК и лабораторный пластик. Приобретено оборудование для криоконсервации тканей животных для генетических исследований. Приобретено оборудование для дезинфекции/дезинсекции «сухих» материалов УФК ЗИН РАН. Приобретено лабораторное оборудование для модернизации и оптимизации условий хранения для коллекционных лабораторий, в которых имеются коллекции тканей и ДНК, коллекции протистов и клеточных культур (ЦКП «Таксон», Лаборатория ихтиологии, Лаборатория паразитических червей и протистов, Лаборатория клеточной и молекулярной протистологии). Закуплены расходные материалы для текущей коллекционной работы.

Подготовлен проект нового положения об УФК ЗИН РАН. Разработаны новые стандартные операционные процедуры (СОП) по направлениям «молекулярно-генетические технологии для характеристики», «первичная электронная каталогизация» и «дигитализация коллекционных образцов» для биоресурсных коллекций «Музейные коллекции животных». Подготовлен план на 2022-2023 гг. по разработке и верификации новых СОП.

Осуществлены модернизация и расширение компьютерного сетевого хранилища ЗИН РАН для создания информационно-аналитической системы (ИАС). Подготовлено техническое задание для аутсорсинга разработки программных решений ИАС.

Подготовлена проектная документация и техническое задание на модернизацию коллекционной инфраструктуры УФК ЗИН РАН. Подготовлен и утвержден план переоборудования коллекционных хранилищ ЗИН РАН на 2022–2023 гг. Осуществлен ремонт лабораторных помещений и коллекционных хранилищ ЗИН РАН на общей площади 351.3 кв. м.

Исследования, выполненные соисполнителем Проекта, ИБР РАН, проведены в рамках двухстороннего договора № 261 о выполнении НИР от 08.11.2021 г. Проведено генотипирование экземпляров коллекции фиксированных тканей животных ИБР РАН на основе секвенирования отдельных молекулярных маркеров. Разработаны новые СОП для применения молекулярно-генетических технологий для характеристики коллекционных образцов в специализированной коллекции фиксированных тканей животных ИБР РАН на основе соответствующих СОП ЗИН РАН. Проведены инвентаризация и профилактические мероприятия по обеспечению сохранности образцов для выделения ДНК коллекционных фондов ИБР РАН.

СОДЕРЖАНИЕ

КНИГА 1	
СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ	2
РЕФЕРАТ	6
СОДЕРЖАНИЕ	8
ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	12
ВВЕДЕНИЕ	13
1 ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ЭКЗЕМПЛЯРОВ ТИПОВОЙ КОЛЛЕКЦИИ ГРЫЗУНОВ. СЕКВЕНИРОВАНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ФРАГМЕНТОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА ТИПОВЫХ ЭКЗЕМПЛЯРОВ ГРЫЗУНОВ	18
2 СОЗДАНИЕ НОВОЙ ЛАБОРАТОРИИ ЭВОЛЮЦИОННОЙ ГЕНОМИКИ И ПАЛЕОГЕНОМИКИ ЗИН РАН. ОСНАЩЕНИЕ НОВОЙ ЛАБОРАТОРИИ ОБОРУДОВАНИЕМ И РАСХОДНЫМИ МАТЕРИАЛАМИ	34
3 ПОДГОТОВКА ПРОЕКТА ПОЛОЖЕНИЯ О КОЛЛЕКЦИИ УФК ЗИН РАН. РАЗРАБОТКА НОВЫХ СОП ПО НАПРАВЛЕНИЮ «МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ» КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ БРК «МУЗЕЙНЫЕ КОЛЛЕКЦИИ ЖИВОТНЫХ»	37
3.1 ПОДГОТОВКА ПРОЕКТА ПОЛОЖЕНИЯ О КОЛЛЕКЦИИ УФК ЗИН РАН	37
3.2 РАЗРАБОТКА НОВЫХ СОП ПО НАПРАВЛЕНИЮ «МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ» КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ БРК «МУЗЕЙНЫЕ КОЛЛЕКЦИИ ЖИВОТНЫХ»	38
4 ЗАКУПКА ОБОРУДОВАНИЯ ДЛЯ РАСШИРЕНИЯ ОБЪЕМА КОМПЬЮТЕРНОГО СЕТЕВОГО ХРАНИЛИЩА ЗИН РАН ДЛЯ СОЗДАНИЯ ИАС. РАЗРАБОТКА НОВЫХ СОП ПО НАПРАВЛЕНИЮ "ПЕРВИЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ КАТАЛОГИЗАЦИЯ" МАТЕРИАЛОВ КОЛЛЕКЦИЙ ДЛЯ ВНЕСЕНИЯ ИНФОРМАЦИИ В ИНФОРМАЦИОННО–АНАЛИТИЧЕСКУЮ СИСТЕМУ (ИАС) В РАМКАХ МОДЕЛИ СЕТЕВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И СОП ПО НАПРАВЛЕНИЮ «ДИГИТАЛИЗАЦИЯ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ». ПОДГОТОВКА ТЕХНИЧЕСКОГО ЗАДАНИЯ НА РАЗВИТИЕ СИСТЕМЫ ВВОДА ПЕРВИЧНЫХ ДАННЫХ В ИАС	45

4.1 ЗАКУПКА ОБОРУДОВАНИЯ ДЛЯ РАСШИРЕНИЯ ОБЪЕМА КОМПЬЮТЕРНОГО СЕТЕВОГО ХРАНИЛИЩА ЗИН РАН ДЛЯ СОЗДАНИЯ ИАС	45
4.2 РАЗРАБОТКА НОВЫХ СОП ПО НАПРАВЛЕНИЮ "ПЕРВИЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ КАТАЛОГИЗАЦИЯ" МАТЕРИАЛОВ КОЛЛЕКЦИЙ ДЛЯ ВНЕСЕНИЯ ИНФОРМАЦИИ В ИНФОРМАЦИОННО–АНАЛИТИЧЕСКУЮ СИСТЕМУ (ИАС) В РАМКАХ МОДЕЛИ СЕТЕВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И СОП ПО НАПРАВЛЕНИЮ «ДИГИТАЛИЗАЦИЯ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ»	47
4.3 ПОДГОТОВКА ТЕХНИЧЕСКОГО ЗАДАНИЯ НА РАЗВИТИЕ СИСТЕМЫ ВВОДА ПЕРВИЧНЫХ ДАННЫХ В ИАС	50
5 ПЛАНИРОВАНИЕ ИНЖЕНЕРНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ МОДЕРНИЗАЦИИ КОЛЛЕКЦИОННОЙ ИНФРАСТРУКТУРЫ УФК ЗИН РАН. ПРОВЕДЕНИЕ РЕМОНТА В ЛАБОРАТОРНЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ И КОЛЛЕКЦИОННЫХ ХРАНИЛИЩАХ ЗИН РАН. ЗАКУПКА ОБОРУДОВАНИЯ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ И МОДЕРНИЗАЦИИ УСЛОВИЙ ХРАНЕНИЯ КОЛЛЕКЦИЙ УФК ЗИН РАН. ЗАКУПКА РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ТЕКУЩЕЙ КОЛЛЕКЦИОННОЙ РАБОТЫ	53
5.1 ПЛАНИРОВАНИЕ ИНЖЕНЕРНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ МОДЕРНИЗАЦИИ КОЛЛЕКЦИОННОЙ ИНФРАСТРУКТУРЫ УФК ЗИН РАН	53
5.2 ПРОВЕДЕНИЕ РЕМОНТА В ЛАБОРАТОРНЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ И КОЛЛЕКЦИОННЫХ ХРАНИЛИЩАХ ЗИН РАН	57
5.3 ЗАКУПКА ОБОРУДОВАНИЯ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ И МОДЕРНИЗАЦИИ УСЛОВИЙ ХРАНЕНИЯ КОЛЛЕКЦИЙ УФК ЗИН РАН	58
5.4 ЗАКУПКА РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ТЕКУЩЕЙ КОЛЛЕКЦИОННОЙ РАБОТЫ	59
6 ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ И ГЕНОТИПИРОВАНИЕ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ В СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ФИКСИРОВАННЫХ ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ ИБР РАН	61
7 РАЗРАБОТКА СОП ДЛЯ ВНЕДРЕНИЯ СТАНДАРТОВ ПРИМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ В СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ФИКСИРОВАННЫХ ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ ИБР РАН	78

8 ПОДГОТОВКА К ВЫДЕЛЕНИЮ КОЛЛЕКЦИИ ТКАНЕЙ ИБР РАН ИЗ ОБЩЕГО СОСТАВА КОЛЛЕКЦИЙ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ИБР РАН В ОТДЕЛЬНУЮ МУЗЕЙНУЮ КОЛЛЕКЦИЮ ЖИВОТНЫХ	81
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	86
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	91
КНИГА 2	94
СОДЕРЖАНИЕ	95
ПРИЛОЖЕНИЕ А. ДОКУМЕНТЫ НОВОЙ ЛАБОРАТОРИИ	97
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. ПРОЕКТ ПОЛОЖЕНИЯ ОБ УФК ЗИН РАН	103
ПРИЛОЖЕНИЕ В. НОВЫЕ СОП ПО НАПРАВЛЕНИЮ «МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ» КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ БРК «МУЗЕЙНЫЕ КОЛЛЕКЦИИ ЖИВОТНЫХ», НАПРАВЛЕНИЮ "ПЕРВИЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ КАТАЛОГИЗАЦИЯ" И НАПРАВЛЕНИЮ «ДИГИТАЛИЗАЦИЯ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ»	120
ПРИЛОЖЕНИЕ Г. ПЛАН НА 2022-2023 ГГ. ПО РАЗРАБОТКЕ И ВЕРИФИКАЦИИ НОВЫХ СТАНДАРТНЫХ ОПЕРАЦИОННЫХ ПРОЦЕДУР (СОП)	135
ПРИЛОЖЕНИЕ Д. ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ НА РАЗРАБОТКУ СИСТЕМЫ ВВОДА ПЕРВИЧНЫХ ДАННЫХ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ УФК ЗИН РАН В ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКУЮ СИСТЕМУ (ИАС)	138
ПРИЛОЖЕНИЕ Е. ПЛАН РАБОТ ЗИН РАН НА 2022-2023 ГГ. ПО ПРОЕКТИРОВАНИЮ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ХРАНИЛИЩ	164
ПРИЛОЖЕНИЕ Ж. ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ НА МОДЕРНИЗАЦИЮ КОЛЛЕКЦИОННОЙ ИНФРАСТРУКТУРЫ УФК ЗИН РАН НА 2021-2023 ГГ. ...	166
ПРИЛОЖЕНИЕ 3. ПРОЕКТНО-СМЕТНАЯ ДОКУМЕНТАЦИЯ ПО ПРИСПОСОБЛЕНИЮ ЗДАНИЯ, НАХОДЯЩЕГОСЯ В ОПЕРАТИВНОМ УПРАВЛЕНИИ ЗИН РАН, РАСПОЛОЖЕННОГО ПО АДРЕСУ: САНКТ-ПЕТЕРБУРГ, УНИВЕРСИТЕТСКАЯ НАБ., Д. 1-3 ЛИТЕР «Г» ДЛЯ ХРАНЕНИЯ КОЛЛЕКЦИЙ ЗИН РАН	185

ПРИЛОЖЕНИЕ И. ПРОЕКТНО-СМЕТНАЯ ДОКУМЕНТАЦИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ КОМПЛЕКСНОЙ СИСТЕМЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ ЗДАНИЯ, НАХОДЯЩЕГОСЯ В ОПЕРАТИВНОМ УПРАВЛЕНИИ ЗИН РАН, РАСПОЛОЖЕННОГО ПО АДРЕСУ: САНКТ- ПЕТЕРБУРГ, УНИВЕРСИТЕТСКАЯ НАБ., Д. 1-3 ЛИТЕР «Г» ДЛЯ ХРАНЕНИЯ КОЛЛЕКЦИЙ ЗИН РАН	523
ПРИЛОЖЕНИЕ К. НОВЫЕ СОП ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ В СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ФИКСИРОВАННЫХ ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ ИБР РАН НА ОСНОВЕ СООТВЕТСТВУЮЩИХ СОП ЗИН РАН	741

ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

В настоящем отчете о НИР применяют следующие сокращения и обозначения:

ЗИН РАН – Зоологический институт Российской академии наук

ИБР РАН – Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук

РАН – Российская академия наук

НИР – научно-исследовательская работа

УФК ЗИН РАН – Уникальная фондовая коллекция ЗИН РАН

СОП – стандартная операционная процедура

едх. – единица хранения

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

мтДНК – митохондриальная ДНК

ядНК – ядерная ДНК

п.н. – пары нуклеотидов

COI – митохондриальный ген цитохромоксидазы, субъединица I

Cyt b – митохондриальный ген цитохром б

CR – контрольный регион митохондриальной ДНК

CHD1 – ген хромохеликазы 1

PCG – белок-кодирующие гены

STR – короткие tandemные повторы ядерного генома (short tandem repeats)

ПЦР – полимеразная цепная реакция

BLAST – средство поиска основного локального выравнивания (Basic Local Alignment Search Tool), компьютерная программа

ИАС – информационно-аналитическая система

ИБП – источник бесперебойного питания

ПЭК – первичная электронная каталогизация

ЭК – электронная каталогизация

БД – база данных

ВВЕДЕНИЕ

В начале XXI века стало очевидным насколько критически важно депонирование на постоянной основе коллекционных образцов животных, являющихся хозяевами-переносчиками инфекций, потенциально опасных для человека, с целью последующего изучения их разнообразия, особенностей распространения и основных биологических факторов, ответственных за их передачу в дикой природе и в человеческих популяциях. Отсутствие подобных коллекционных материалов может серьёзно ограничить способности мирового сообщества быстро реагировать на возникающие пандемии. Важность развития биоресурсных коллекций и необходимость создания и поддержания таксономических школ во всех государствах устанавливает и Глобальная таксономическая инициатива в рамках Международной Конвенции по Биологическому разнообразию.

Многие европейские государства – держатели крупных естественно-научных коллекций, такие как Великобритания, Германия, Нидерланды, Чехия и другие, предпринимают значительные усилия по укрупнению и развитию своего музейного потенциала. В частности, введены в эксплуатацию новые музейные здания с современным оборудованием для коллекционных хранилищ в Ляйдене, Лондоне и Праге. Активно разрабатывается технический проект по расширению музея естественной истории в Берлине за счёт создания подземных коммуникаций под уже существующим историческим зданием и оснащением нового современного хранилища в пригороде Берлина. Ежегодно на эти цели правительства разных государств ассигнуют десятки миллионов евро. Россия, обладающая одним из крупнейших депозитариев зоологических образцов в мире – коллекцией УФК ЗИН РАН, не может оставаться в стороне от этих общемировых процессов.

Уникальная коллекция ЗИН РАН, отмечающая в этом году 190-летие – это одно из крупнейших мировых зоологических собраний с более чем 60 миллионами единиц хранения, где представлено около 25% известной мировой фауны, в том числе, почти все виды животных, известные с территории России. Коллекция, основанная в июле 1832 года академиком Ф.Ф. Брандтом и включившая в качестве музейных единиц отдельные экспонаты из собрания Петра I, является наиболее представительной коллекцией в мире для многих групп животных Северного полушария Старого Света. В состав собрания входят систематические, типовые, экспозиционные, региональные, тематические и обрабатываемые коллекции. При этом, типовые коллекции насчитывают около 100 тысяч эталонных экземпляров, составляющих объективную основу зоологической номенклатуры и имеющих первостепенное значение для систематиков всего мира в решении проблемных

номенклатурных вопросов, связанных с установлением приоритетных названий. Объектами коллекции являются зоологические материалы, и изготовленные из них препараты, полученные в ходе организованных ЗИН РАН экспедиций по обширной территории бывшего СССР и Монголии, переданные (подаренные) другими учреждениями и частными лицами, купленные или полученные в результате обмена. Единицами хранения являются чучела, тушки, шкурки, скелеты позвоночных животных и их части, птичьи яйца и гнезда, сухие и влажные (в спирте или формалине) рыбы, земноводные, пресмыкающиеся и беспозвоночные животные, специальные препараты животных микроскопических размеров или их частей, современные и ископаемые останки животных, и образцы ДНК. Диапазон таксономических групп депонируемых материалов охватывает 34 типа животных от примитивных многоклеточных до хордовых со всех континентов и Мирового океана.

Зоологическая коллекция сегодня – это необходимый инструмент к описанию (инвентаризации) существующего биологического разнообразия, популяризации научных знаний и уникальный генофонд существующих и уже вымерших видов, который может быть использован в различных исследованиях, включая смежные с зоологией отрасли науки, с использованием современных генетических технологий. Таким образом, УФК ЗИН РАН рассматривается в качестве стратегического генофонда, имеющего огромное значение для развития исследований в области геномных технологий, значимых для таких стратегических направлений научно-технологического развития Российской Федерации как «создание систем обработки больших объемов данных», «разработка и внедрение систем рационального применения средств биологической защиты сельскохозяйственных растений», «противодействие биогенным угрозам», «освоение и использование Мирового океана, Арктики и Антарктики».

ЗИН РАН – это не только депозитарий коллекционных образцов, но и коллектив квалифицированных специалистов-систематиков по различным группам организмов, обладающих высоким экспертным уровнем, широко востребованным в России и за рубежом. Многие специалисты ЗИН РАН принимают участие в международных проектах, выступают с лекциями и докладами на европейских и мировых конгрессах, обеспечивая высокий авторитет российской науки на мировом уровне.

ЗИН РАН находится в тесном взаимодействии с другими научными институтами – держателями биоресурсных коллекций в России и за рубежом (Зоологический музей МГУ, Сибирский зоологический музей в Новосибирске, Музей естественной истории в Берлине, Институт защиты растений в Тегеране, Музей естественной истории в Париже и многие другие). В частности, для внедрения новых технологий интактного анализа зоологических образцов было заключено соглашение о научном сотрудничестве с Национальным

исследовательским центром «Курчатовский институт» для отработки процедур компьютерной микротомографии на основе разных источников излучения для различных типов коллекционных образцов с получением качественных массивов данных.

Текущий проект по развитию на базе УФК ЗИН РАН сетевой российской зоологической коллекции можно рассматривать как актуальное и крайне востребованное начинание, исходя из оценки современного состояния российских коллекций и задач Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 гг. Особенно важными являются модернизация коллекционных хранилищ с учётом современных технологий хранения биологических материалов и развитие её информационной структуры. Включение коллекции тканей ИБР РАН в текущий проект по развитию на базе УФК ЗИН РАН сетевой российской коллекции позволяет вовлечь её фонды в выполнение поставленных задач проекта, в частности, поддержание и модернизацию материальной базы Объединенной коллекции тканей диких животных для фундаментальных, прикладных и природоохранных исследований ИБР РАН.

Необходимость развития биоресурсных коллекций «Музейные коллекции животных» обусловлена несомненной важностью мероприятий по сохранению и рациональному использованию биологического разнообразия и выявления и оценки потенциала биологических ресурсов Российской Федерации, что согласуется с целями и задачами международных актов и с концепцией российской природоохранной деятельности, в соответствии с постановлением правительства об охране окружающей среды.

Анализ ДНК музейных экземпляров, который будет осуществляться на базе созданной в 2021 г. лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики ЗИН РАН, открывает новые возможности для изучения биологического разнообразия, в том числе, для оценки генетических изменений организмов во времени. Использование геномных подходов к изучению внутри и межвидового разнообразия и родственных связей различных организмов на современных и ископаемых материалах позволяет реконструировать эволюционную историю изучаемой группы и найти следы отбора на уровне генома при освоении разных экологических ниш, а также проанализировать влияние изменения климата и антропогенных факторов на генетическую изменчивость животных.

Выполнение проекта позволяет отработать на модельных группах животных генетические и геномные методики для характеристики коллекционных экземпляров, что должно обеспечить оптимальные условия для выполнения проектов мирового уровня в области геномных технологий, биологического разнообразия, рационального использования животных ресурсов и обеспечения биологической безопасности России

путём накопления и ответственного депонирования зоологических образцов мировой фауны.

Текущий проект направлен на инфраструктурное и информационное развитие биоресурсной коллекции на базе УФК ЗИН РАН совместно с ИБР РАН. Основная цель проекта состоит во внедрении современных молекулярно-генетических методов характеристики коллекционных образцов, новых стандартов хранения, каталогизации и мониторинга коллекций и новых способов взаимодействия с пользователями зоологических коллекций, а также создания на ее основе сетевой коллекции по направлению БРК «Музейные коллекции животных» с подготовкой высококвалифицированных кадров в области молекулярной генетики и коллекционного дела.

На 2021 год были поставлены следующие задачи:

1 Характеризация и молекулярный анализ коллекционных образцов млекопитающих. Пробоподготовка и секвенирование старых музейных образцов, в частности, пяти митогеномов и не менее 10 отдельных молекулярных последовательностей типовых экземпляров грызунов (*Lemmus sibiricus bungei* Vinogradov, 1924, *Alticola argentatus* Severtzov, 1879, *Lasiopodomys fuscus* Buchner, 1889, *Microtus gregalis egorovi* Feigin, 1980) для понимания механизмов видообразования, оценки внутривидового разнообразия и истории становления ключевых компонентов современной фауны.

2. Создание лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики в ЗИН РАН для разработки и внедрение новых стандартов молекулярно-генетической характеристики коллекционных образцов, проведения фундаментальных, поисковых и прикладных исследований в этой области, а также создания базы для проведения научных конференций, семинаров и школ по подготовке специалистов в области применения молекулярно-генетических методов в изучении позвоночных и беспозвоночных животных.

3. Подготовка проекта Положения о коллекции УФК ЗИН РАН.

4. Подготовка проекта технического задания на развитие системы ввода первичных данных в ИАС с закупкой оборудования для расширения объёма компьютерного сетевого хранилища ЗИН РАН, что создаёт необходимые условия для начала масштабных работ по каталогизации и дигитализации коллекции, предусмотренных на 2022–2023 годы.

5. Разработка новых стандартных операционных процедур (СОП) по направлениям «молекулярно-генетические технологии для характеристики коллекционных образцов», «первичная электронная каталогизация» и «дигитализация коллекционных образцов».

6. Подготовка проектной документации и технического задания на оптимизацию и расширение коллекционных хранилищ ЗИН РАН. Закупка специализированного

современного оборудования для дезинфекции/дезинсекции «сухих» коллекций и хранения отдельных коллекционных материалов (морозильные камеры и др.), а также расходных материалов для коллекционной работы и ведения мониторинга. Ремонт лабораторных помещений и хранилищ ЗИН РАН.

7. Генетическая характеристика и генотипирование коллекционных образцов в специализированной коллекции фиксированных тканей животных ИБР РАН.

8. Разработка СОП для внедрения стандартов применения молекулярно-генетических технологий для характеристики коллекционных образцов в специализированной коллекции фиксированных тканей животных ИБР РАН.

9. Подготовка к выделению коллекции тканей ИБР РАН из общего состава коллекций лабораторных животных ИБР РАН в отдельную музейную коллекцию животных.

1 ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ЭКЗЕМПЛЯРОВ ТИПОВОЙ КОЛЛЕКЦИИ ГРЫЗУНОВ. СЕКВЕНИРОВАНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ФРАГМЕНТОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА ТИПОВЫХ ЭКЗЕМПЛЯРОВ ГРЫЗУНОВ

Фундаментальные исследования в области изучения и систематизации биоразнообразия все больше зависят от развития геномных технологий. Накопление сиквенсов как отдельных локусов и фрагментов генов, так и полногеномных данных в международных генетических базах происходит с беспрецедентной скоростью. Таким образом, значение ДНК последовательностей как ключевых компонентов в эволюционных и экологических исследованиях только возрастает. В то же время эти данные будут иметь очень ограниченное значение вне филогенетического контекста и без точной таксономической привязки. Корректное употребление имен таксонов полностью зависит от того, насколько доказана генетическая идентичность вновь собранных экземпляров с экземпляром, с которым связано название (голотип, типовой материал). Генетические исследования музейных коллекций при этом имеют первостепенное значение (в данном случае речь, прежде всего о генотипировании типовых экземпляров). Кроме того, коллекции – это также бесценный источник материала, собранный в предшествующие столетия в труднодоступных ныне географических регионах в силу политических и экономических причин. Музейный материал позволяет исследовать генетическими методами и недавно исчезнувшие популяции, и виды, находящиеся под угрозой исчезновения

В отчетный период было проведено генотипирование типового материала ряда экземпляров грызунов из коллекции ЗИН РАН. Был исследован материал, наиболее актуальный с точки зрения решения спорных в номенклатурном отношении вопросов. Информация о генотипированных типовых образцах из фондовой коллекции ЗИН РАН представлена в Таблице 1. В Таблице 2 приведены генотипированные образцы из научных коллекций других учреждений.

Таблица 1 – генотипированный типовой материал из фондовой коллекции ЗИН РАН

№	№ в коллекции ЗИН РАН	Вид (по первоописанию)	№ ткан и и ДНК	Номенклатурный статус	Место сбора/дата	Дли на фрагмент a cyt b	Результат генотипирования (переопределение)
---	-----------------------	------------------------	----------------	-----------------------	------------------	-------------------------	---------------------------------------------

1	11028	<i>Lemmus sibiricus bungei</i> Vinogr. 1924	4899	лектотип	Россия, Якутия, о-в Мостах, 1883 г.	313 п.н.	<i>L. sibiricus East</i>
2	6726	<i>Lemmus sibiricus bungei</i> Vinogr., 1924	4901	паралектотип	Россия, Якутия, дельта Лены, о-в Сагастырь, 1883 г.	313 п.н.	<i>L. sibiricus West</i>
3	11025	<i>Lemmus sibiricus bungei</i> Vinogr., 1924	4902	паралектотип	Россия, Якутия, дельта Лены, о-в Сагастырь, 1883 г.	313 п.н.	<i>L. sibiricus West</i>
4	11026	<i>Lemmus sibiricus bungei</i> Vinogr.1924	4903	паралектотип	Россия, Якутия, дельта Лены, о-в Сагастырь, 1883 г.	313 п.н.	<i>L. sibiricus West</i>
5	20311	<i>Blanfordimys bucharensis</i> Vinogr., 1930	4658	лектотип	Таджикистан, Зеравшанский р-н, 8 км к югу от Пенджикента, 1929 г.	154+ 162 п.н.	<i>Blanfordimys bucharensis</i>
6	20556	<i>Blanfordimys bucharensis</i> Vinogr., 1930	4659	паралектотип	Uzbekistan, Surkhandar'insky Range, 1929	137 п.н.	
7	45021	<i>Blanfordimys bucharensis davydovi</i> Golenishchev et Sablina, 1991	4661	голотип	Таджикистан, кишлак Ташахур, 1955 г.	154 п.н.	<i>Blanfordimys bucharensis</i>
8	2327	<i>Lasiopodomys fuscus</i> Buchner, 1889	4435	лектотип	Китай, Цинхай, Сев-Вост. Тибет, 1884 г.	334+ 166 п.н.	<i>Neodon fuscus</i>
9	1908	<i>Lasiopodomys fuscus</i> Buchner, 1889	4436	паралектотип	Китай, Цинхай, Сев-Вост. Тибет, 1884 г.	429+ 166 п.н.	<i>Neodon fuscus</i>
10	2090	<i>Neodon leucurus strauchi</i> Buchner, 1889	4437	лектотип	China, Qinghai, урочище Гас, 1884 г.	154 п.н.	<i>Neodon leucurus</i>
11	52710	<i>Dryomys nitedula ognevi</i> Heptner et Formosov, 1928	4833	голотип	Дагестан, аул Ахты на р. Самур, 1924 г.	100 п.н.	
12	6813	<i>Neodon yuldaschi</i> Severtzov, 1879	4664	паратип?	Таджикистан, Памир, окр. оз. Кара-Куль, 1879 г.	154+ 166 п.н.	<i>Blanfordimys yuldaschi</i>
13	6876	<i>Neodon yuldaschi</i> Severtzov, 1879	4665	паратип?	Таджикистан, Памир, окр. Оз. Кара-Куль, 1879 г.	154 п.н.	<i>Blanfordimys yuldaschi</i>
14	54582	<i>Microtus (Stenocranius) gregalis egorovi</i> Feigin, 1980	нет	голотип	Якутия, верхнее течение р. Индигирка, 1968 г.	0 п.н.	Не установлено

15	20223	<i>Alticola argentatus</i> Severtzov, 1879	нет	голотип	Памир, Бадахшан, Аличур, 1879 г.	0 п.н.	Не установлено
----	-------	-----------------------------------------------	-----	---------	-------------------------------------	-----------	-------------------

Таблица 2 – коллекционные образцы из других музеев, генотипированные по отдельным фрагментам мт генома. ISEA – Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, ZMMU – Зоологический музей МГУ, Москва

Вид	Колл. №	Место сбора	Дата сбора	Длина фрагмента Cyt b	Результат генотипирования (переопределение)
<i>L. amurensis</i>	ISEA 49007	Россия, Магаданская область, Кегали, 64.362° N, 161.968° E (16)	1969	313	<i>L. sibiricus</i> East
<i>L. amurensis</i>	ISEA 49037		1969	313	<i>L. sibiricus</i> East
<i>L. amurensis</i>	ISEA 49039		1969	313	<i>L. sibiricus</i> East
<i>L. amurensis</i>	ZMMU s124117	Россия, Магаданская область, Омолон, 65.234° N, 160.550° E (17)	1978	313	<i>L. sibiricus</i> East
<i>L. amurensis</i>	ZMMU s124118		1978	313	<i>L. sibiricus</i> East

Геномную ДНК выделяли при помощи наборов Qiagen's QIAamp Tissue Kit. Генотипирование проводили по митохондриальному гену цитохром б (Cyt b), так как именно по этому гену имеется наиболее полная база последовательностей позвоночных в Генбанке (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Фрагменты митохондриального гена цитохром б амплифицировали со специально подобранными специфичными праймерами, амплифицирующими короткие фрагменты гена с перекрытием. Для выделения ДНК из сухих музейных экземпляров брали фрагмент шкуры порядка 2 мм³ (из щечной области). Тотальная ДНК выделялась с помощью набора с колонками Qiagen's QIAamp Tissue Kit. Фрагменты митохондриального цитохрома б (Cyt b) амплифицировались с помощью следующего протокола ПЦР: 5-минутный нагрев до 94°C, 40 циклов денатурации (94°C в течение 15 с.), отжиг праймеров (55°C в течение 20 с.) и элонгация (72°C в течение 30 с.) с финальной элонгацией при 72°C в течение 5 минут. Для представителей родов *Neodon* и *Blanfordimys* использовались следующие пары праймеров: L14728 – NF_R2, UCBU – NF_R2, F75 – R322, F275 – R430, F389 – R654, F646 – R817, для рода *Lemmus* использовались три пары праймеров Lem_C1aF – Lem_C1aR, Lem_C2aF – Lem_C2aR, Lem_C3aF – Lem_C3aR, для *Dryomys nitedula* – Dry_F_389 – Dry_R_505 (Таблица 3).

Таблица 3 – праймеры, использованные в работе

Праймер	Последовательность праймера (5' – 3')
L14729	GACATGAAAAATCATCGTTGTTATT
UCBU	CCATCAAACATCTCATCCTGATGAAA
NF_R2	CSTATGTTTCATGTTTCRATTATGTT
F75	GACCTCCCAGCCCCATCA
R322	CSTATGTTTCATGTTTCGATTATGTT
F275	AACGGAGCTTCCATATTCTTCAT
R430	AGCTGATAGGAGGTTTGTGATTACTGT
F389	ATAGCCACAGCATTCATAGG
R654	GATTTTGTCTGTGTCCGAGTTT
F646	CCAACCGGACTAAACTCAGACACAG
R817	GATGGCGTAGGCGAAGAGGAAGTA
Dry_F_389	ATAGCAACCGCATTCATAGG
Dry_R_505	GTTAGTGTTGCTTTGTCTACTGA

Выделение и постановку ПЦР проводили в помещении, изолированном от проведения работ, связанных визуализацией ПЦР фрагментов (форез) и любых пост-ПЦР-манипуляций. Подготовку ПЦР реакции (реакционную смесь) готовили в ПЦР-боксе (<https://ued-lab.ru/catalog/ekologicheskoe-i-biotekhnologicheskoe-oborudovanie/laminarnye-sistemy/shkaf-laminar>), рабочую поверхность стерилизовали с помощью ультрафиолета и хлорамина – во избежание контаминации. Все инструменты и пластик обрабатывали в ультрафиолетовой камере (BIO-LINK crosslinker, VILBER LOURMAT, Франция). ПЦР продукты очищали на с использованием наборов Омникс (Омникс, Санкт-Петербург) и секвенировали в обе стороны используя автоматический анализатор ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems Inc.) и наборы для секвенирования ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit. Сиквенсы редактировались и выравнивались в программе BioEdit [1].

Уровень генетических отличий, основанный на *p*-дистанциях, оценивался в программе MEGA X [2]. Выбор модели молекулярной эволюции проводился в программе JmodelTest 2.1.1 [3] с использованием информационного критерия Акаике (AIC). Филогении реконструировались с помощью Байесовского подхода (BI) в программе MrBayes 3.2.2 [4]. Были заданы следующие параметры анализа: *nst*=6 и гамма-распределение скоростей замен между сайтами. Каждый анализ начинался со случайного дерева и имел две повторности с четырьмя Марковскими цепями (MCMC) и 10 млн. поколений, с записью результатов каждое тысячное поколение. Перед построением консенсусных деревьев первые 25% результатов отбрасывались. Финальное дерево визуализировалось в программе FigTree 1.4.0 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>). Медианная сеть гаплотипов строилась методом медианного связывания [5] в программе PopART 1.7 (<http://popart.otago.ac.nz>).

Результаты анализа использованы для решения спорных вопросов систематики и номенклатуры сибирских леммингов Евразии. Настоящие лемминги рода *Lemmus Link, 1795*, широко распространенные и многочисленные грызуны, играющие ключевую роль в арктических наземных экосистемах Евразии и Северной Америки. Несмотря на это, систематика и номенклатура этого рода полна нерешенных вопросов. Это с одной стороны связано с большими пробелами в коллекционных сборах, до сих пор много территорий, откуда нет никаких данных, с другой стороны отражает противоречия в подходах к выделению видов и определения видовых границ. Десятилетия интенсивного изучения систематики рода с использованием различных методов, таких как, морфологический анализ, кариология, применение межвидового скрещивания в лабораторных условиях и анализ последовательностей *Cyt b* только усилили разногласия и в трех последних крупных сводках по систематике млекопитающих, опубликованных в период 2012–2019 гг. приводятся очень противоречивые сведения на состав рода в Палеарктике. Количество признаваемых видов варьирует от одного до четырех. Одно из противоречий связано с тем, что броские отличия, на основе которых выделяются формы рода, такие как окраска меха, не совпадают с выделением по митохондриальным кладам. Широко распространённый морфотип *L. sibiricus Kerr, 1792* оказался составным из двух сильно дивергентных митохондриальных клад, так называемой западной и восточной. Граница между этими кладами предположительно проходит по дельте Лены. Лемминги из дельты Лены были описаны в 1924 году Б. Виноградовым [6] как подвид *L. obensis bungei Vinogradov, 1924* и это второе по старшинству название после *Lemmus sibiricus Kerr, 1792*. Таким образом, сравнение генетических данных типового материала, носителя этого названия, для дальнейших ревизий систематики рода, независимо от взглядов на количество таксонов,

будет иметь первостепенное значение. Именно это название без соотнесения с типовым материалом уже предлагалось использовать для леммингов восточной клады, либо как видовое, либо как подвидовое. В соответствии с вышесказанным, главная задача нашего исследования была состояла в генотипировании типовой серии *L. obensis bungei* и проверки его идентичности той или иной современной кладе леммингов. Мы также провели генотипирование мелких леммингов, пойманных в среднем течении реки Омолон, правый приток Колымы, где могут обитать как *L. sibiricus* восточной клады, так и *L. trimucronatus*. Географическое происхождение генотипированных экземпляров леммингов показано на Рисунке 1.

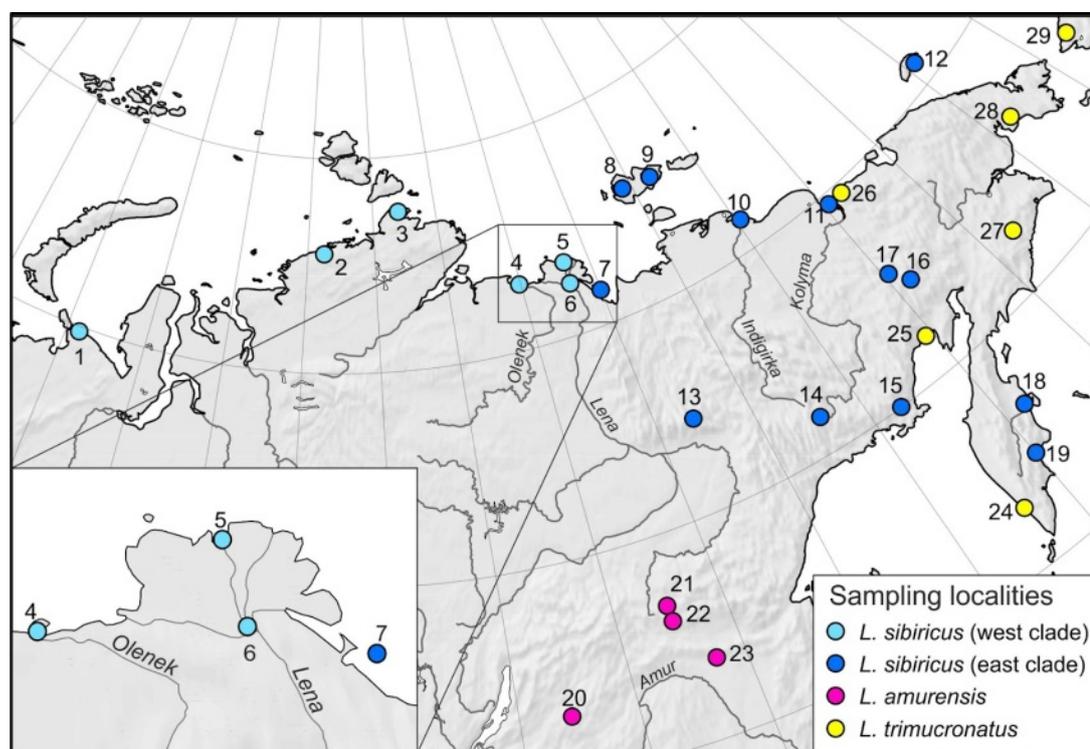


Рисунок 1 – Географическое происхождение генотипированных экземпляров леммингов. Цветовые обозначения точек на карте соответствуют цветовому обозначению клад *cutb* на медианной сети (Рисунок 2). Точки 7 и 5 – местонахождение лектотипа и паралектотипов *Lemmus obensis bungei* соответственно. Точки 16 и 17 соответствуют местонахождениям экземпляров, первоначально определенных как *L. amurensis*

Для проверки положения исследованных типовых образцов и других коллекционных экземпляров среди генетически изученных современных леммингов, мы проанализировали 88 последовательностей: в дополнение к 9 полученными в ходе исследования, 79 последовательностей взято из Генбанка, в том числе полученные нами в предыдущих исследованиях. Длина выравнивания составила 312 п.н., 88 последовательностей представлены 72 гаплотипами. Медианная сеть (Рисунок 2) четко

демонстрирует деление на 5 кластеров. Положение исследованных музейных экземпляров с реки Кегали и поселка Омолон (Магаданская область, Колымская низменность) на медианной сети соответствует их географическому происхождению (Рисунок 1, точки 16 и 17), но противоречит исходному определению как *L. amurensis*. Генетический анализ позволил четко идентифицировать их как принадлежащих *L. sibiricus*, восточная клада.

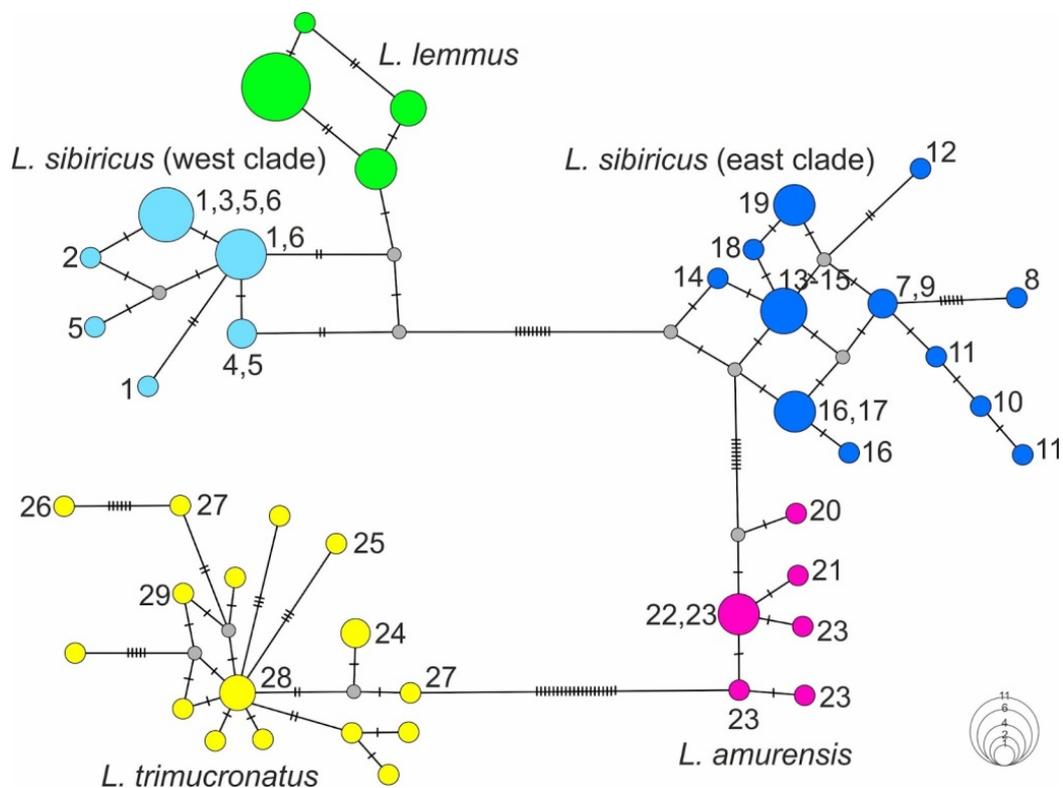


Рисунок 2 – Медианная сеть гаплотипов палеарктических леммингов рода *Lemmus*. Цифры рядом с кругами соответствуют цифрам на карте (Рисунок 1). Гаплотипы не имеющие цифр – из местонахождений за пределами изображенного участка ареала. Цветовые обозначения на карте на рис 1 и на сети на рис.2 идентичны. Площадь круга пропорциональна частоте встречаемости гаплотипа, длина ветвей обозначена вертикальными штрихами, соответствующим одной замене

Морфологические и цитогенетические особенности леммингов, населяющих бассейн Омолона, южные территории Магаданской области, Южную Якутию и Камчатку, позволили (в свое время) отнести все эти популяции к амурскому леммингу. Молекулярно-генетический анализ, однако, показал, что «амурские» лемминги Камчатки (из кальдеры Узон и Усть-Камчатка) и южных территорий Магаданской области относятся к *L. sibiricus*, а область обитания *L. amurensis* ограничена лишь Забайкальем, Амурской областью и Южной Якутией [7]. Представленные нами данные однозначно показывают, что бассейн Омолона также населяют сибирские лемминги (Рисунок 2).

Несомненно, омолонские лемминги представляют собой реликтовую популяцию. В период позднеплейстоценового похолодания область обитания сибирского лемминга

выходила на Охотское побережье. С восстановлением таежной растительности, в особенности в период голоценового климатического оптимума, основной ареал *L. sibiricus* сместился в зону тундры. В верховьях же Колымы, Омолона и Ямы сохранились изолированные популяции сибирского лемминга.

Ситуация с леммингами типовой серии *L. obensis bungei* из дельты реки Лена оказалась сложнее. Экземпляры с острова Сагастыр (коллекция ЗИН РАН №№ 6726, 11025 и 11026) имеющие статус паратипов (Рисунок 1, точка 5) оказались в западной кладе сибирских леммингов, тогда как лектотип с острова Мостах (Рисунок 1, точка 7) оказался в восточной кладе *L. sibiricus* (Рисунок 2).

Как уже отмечено выше идентичность лектотипа имеет принципиальное значение для номенклатуры сибирских леммингов. Лектотип выделяется из серии синтипов, согласно Международному Кодексу зоологической номенклатуры.

Следуя рекомендации МКЗН (статья 74В), Баранова и Громов [8] из серии синтипов выделили в качестве лектотипа экземпляр, изображенный в первоописании, это экземпляр с острова Мостах. Таким образом если придавать восточный кладе сибирских леммингов видовой статус, как хотят некоторые зоологи, то тогда правомочным видовым названием для нее будет *L. bungei* или если подвидовой статус, то правомочно называть восточную кладу *L. sibiricus bungei*, считая младшим синонимом *L. sibiricus*.

Проведено генотипирование типовых экземпляров центральноазиатских полевков родов *Lasiopodomys*, *Blanfordimus*, *Neodon*.

В крупнейшей сводке, третьем издании видов млекопитающих мировой фауны “Mammal Species of the World”, приводятся следующий состав обозначенных таксонов и их географическое распространение (Рисунок 3). Род *Lasiopodomys* включает виды: *brandtii*, *mandarinus*, *fuscus*; род *Blanfordimus* включает *afghanus*, *bucharensis*; род *Neodon* включает *forestii*, *irene*, *sikimensis*, *juldaschi* и др. и Географическое распространение двух таксонов (*fuscus* и *juldaschi*), если посмотреть на карту, находится в резком противоречии с таксономической логикой. Так ареал *Lasiopodomys fuscus* очень изолирован от других видов своего рода, но окружен ареалами видов рода *Neodon*. Ареал *Neodon juldaschi* в свою очередь, сильно изолирован от видов рода *Neodon*, но окружен видами рода *Blanfordimus*.

Типовые экземпляры этих полевков, собранные еще Пржевальским и Северцовым в конце 19-го века, хранятся в коллекции Зоологического института РАН. Мы получили последовательности *Cyt b* от типовых экземпляров и наши данные внесли логический порядок в таксономию и географическое распространение этих видов. Генотипирование доказало, что вне всяких сомнений «*juldaschi*» относится к роду *Blanfordimus*, а «*fuscus*» к роду *Neodon* (Рисунок 4).

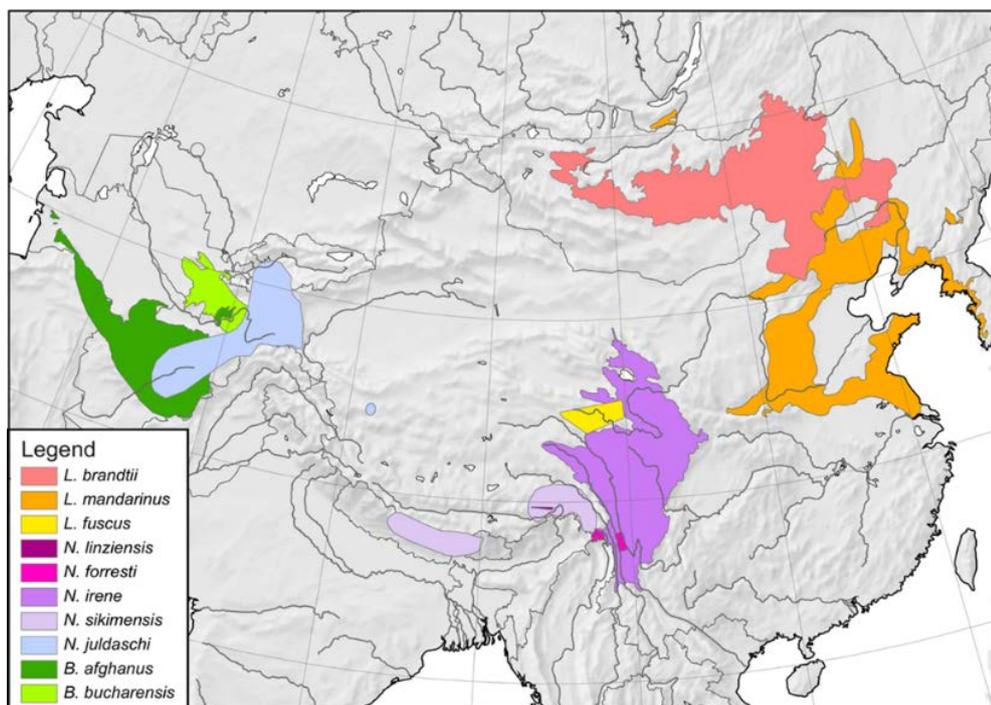


Рисунок 3 – Карта распространения центральноазиатских полевок родов *Lasiopodomys*, *Blanfordimys*, *Neodon*

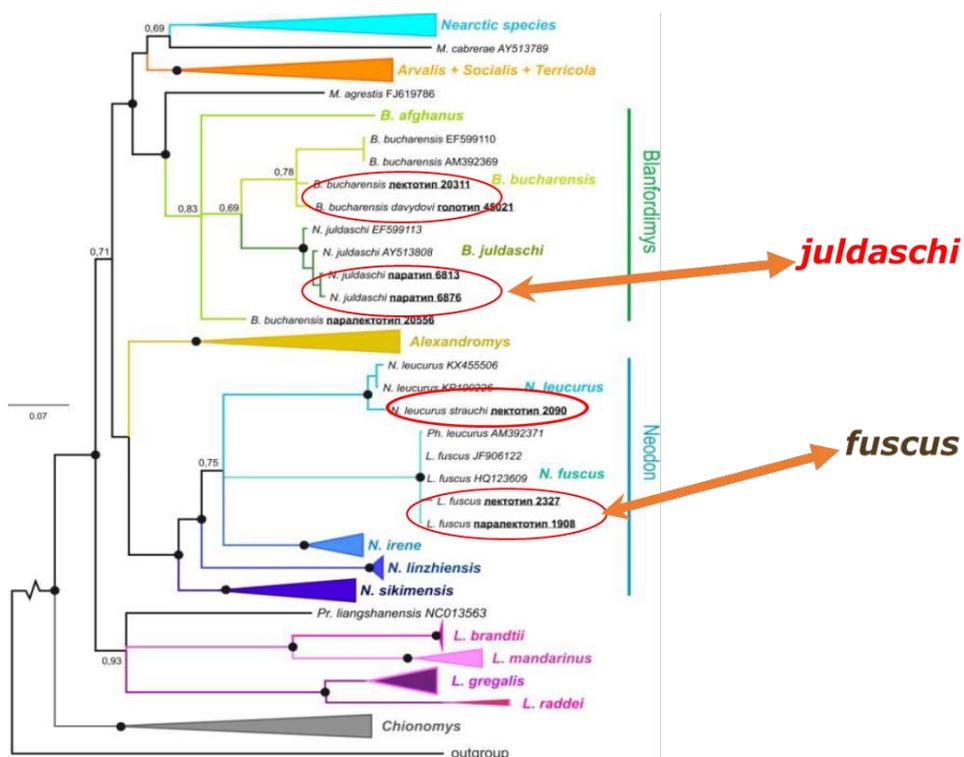


Рисунок 4 – Филогенетическое дерево (Баесов анализ), построенное по последовательностям *Cyt b* с включением типовых экземпляров полевок из родов *Blanfordimys*, *Neodon*, *Lasiopodomys*. Узлы, обозначенные черными кружочками, полностью поддержаны. Типовой материал обведен красным овалом

В 2021 г. начаты исследования полных митогеномов с использованием высокопроизводительного секвенирования.

Деревья, построенные по всей последовательности мтДНК, имеют большую разрешающую способность, по сравнению с отдельными фрагментами митохондриальных генов. Сборка митохондриального генома значительно более простая по сравнению со сборкой ядерного ввиду маленького размера первого. При этом большая копияность митохондрий позволяет получать большое покрытие, что также облегчает процесс сборки. Из-за консервативности и размера в 16–20 тысяч п.н. в качестве референса для сборки мтДНК каждого из видов можно использовать митохондриальные геномы близких форм, которые уже собраны и проаннотированы и доступны в базе данных NCBI Genome (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome>). Для сборки митохондриальных геномов из данных полногеномного секвенирования с достаточным покрытием (100x) мы использовали Geneious Prime (<https://www.geneious.com>) и стандартный способ построения филогении по полногеномным данным: отдельное выравнивание каждого гена с помощью программы prank, конкатенация и очистка от неинформативных фрагментов с помощью программы Gblocks, построение филогенетического дерева программой RAxML и визуализация результатов в FigTree (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

В 2021 г. были предприняты попытки сборки полных митогеномов из типовых образцов сухой коллекции грызунов из следующих таксонов: позднеплейстоценовой узкочерепной полевки *Microtus (Stenocranius) gregalis egorovi* Feigin, 1980, горной полевки *Alticola argentatus* Severtzov, 1879, лесной сони *Dryomys nitedula ognevi*, Heptner et Formozov, 1928, полуденной песчанки *Meriones meridianus lepturus*, Bucner, 1889 и когтистой песчанки *Meriones unguiculatus kozlovi* Satunin, 1903.

Microtus (Stenocranius) gregalis egorovi был описан по позднеплейстоценовой мумии, хорошо сохранившейся в вечной мерзлоте в районе дельты Индигирки, в Якутии. Морфологические особенности в строении черепа позволяли отнести находку к узкочерепной полевке, а некоторые особенности строения зубов, отличающие эту форму от современных узкочерепных полевок дали основания для описания нового подвида. Почти через тридцать лет Ф.Н. Голенищевым [9] была проведена ревизия морфологического описания и показано, что эта полевка близка к современной полевке *Microtus miurus* Osgood, 1901, обитающей в настоящее время на Аляске. Действительно, эти два вида полевок обладают очень узким черепом и на этом основании многие исследователи прошлого века считали их близкородственными формами. Однако первые же молекулярно-генетические исследования современных форм этих полевок показали, что это далекие формы, относящиеся к разным родам и их морфологическое сходство имеет

конвергентную природу. Генотипирование плейстоценовой мумии с Индигирки позволило бы однозначно ответить на вопрос к какому роду относится данный экземпляр и проверить выдвинутую Голенищевым гипотезу о том, что полевка Егорова в позднем плейстоцене мигрировала в Евразию из Северной Америки через Берингийский мост. Если эта гипотеза подтвердится, то это будет только второй пример миграции в этом направлении для грызунов этого подсемейства, в то время как примеров миграции из Евразии в Северную Америку достаточно много.

Несмотря на ряд попыток и применение различных протоколов выделения ДНК (фенол-хлороформный, специальные наборы), нам пока не удалось получить ДНК в достаточной концентрации для изготовления библиотек для полногеномного секвенирования. Мы предполагаем, что мумия после извлечения из мерзлоты была на какое-то время помещена в формалин, что привело к дополнительным повреждениям ДНК. Мы планируем в начале 2022 г. повторить попытку выделения, используя уже не ткани мумии, а изолированные зубы.

К сожалению, попытки получить ДНК достаточной концентрации для полногеномного секвенирования из других перечисленных образцов также не увенчались успехом. По окончании процедуры выделения ДНК была произведена оценка концентрации тотальной ДНК этих образцов из сухой коллекции, которой оказалось недостаточно для дальнейшего приготовления полногеномных библиотек. Поскольку в нашем распоряжении имелись праймеры к *Cyt b* для полевок, мы попытались провести его амплификацию для образца *Alticola argentatus*. В данном случае из нескольких наборов праймеров комплиментарных разным участкам гена *Cyt b* нам удалось амплифицировать только один короткий фрагмент, но концентрация ПЦР продукта оказалась недостаточной для секвенирования. В 2022 г. мы планируем модифицировать протокол выделения и подготовить шотган-библиотеки ДНК для последующего секвенирования парных прочтений (pair-end) на платформе Illumina HiSeq4000.

Поскольку мы предполагали, что с первой попытки не все отобранные старые типовые материалы могут, гарантировано дать положительный результат при выделении ДНК и получении библиотек, мы взяли в работу дополнительный коллекционный материал, обращая в первую очередь внимание на малоизученные и труднодоступные в настоящее время виды животных. Секвенирование таких образцов соответствует основным задачам Проекта, сформулированным в заявке. Были получены шотган-библиотеки ДНК, проведено секвенирование парных прочтений (pair-end) на платформе Illumina HiSeq4000 с получением сырых ридов, для последующей сборки митогеномов для следующих видов из коллекции ЗИН РАН: *Selevinia betpackdalensis* (отряд Rodentia, семейство Gliridae),

Dendrogale murina (отряд Scandentia, семейство Tupaiidae), трёх представителей класса хитоны (Mollusca: Polyplacophora), относящихся, предположительно к родам *Strictochiton*, *Boreochiton* и *Tonicia*.

Впервые исследована селевиния *Selevinia betpakdalensis* (отряд Rodentia, семейство Gliridae). Это уникальный эндемик Казахской степи, вид описанный в середине прошлого века, в коллекциях крупнейших мировых музеев представлен единичными экземплярами, никаких генетических данных для этого вида нет. Нами изучен единственный экземпляр из коллекции ЗИН РАН. К сожалению, покрытие оказалось недостаточным для получения данных по полному геному (Рисунок 5).

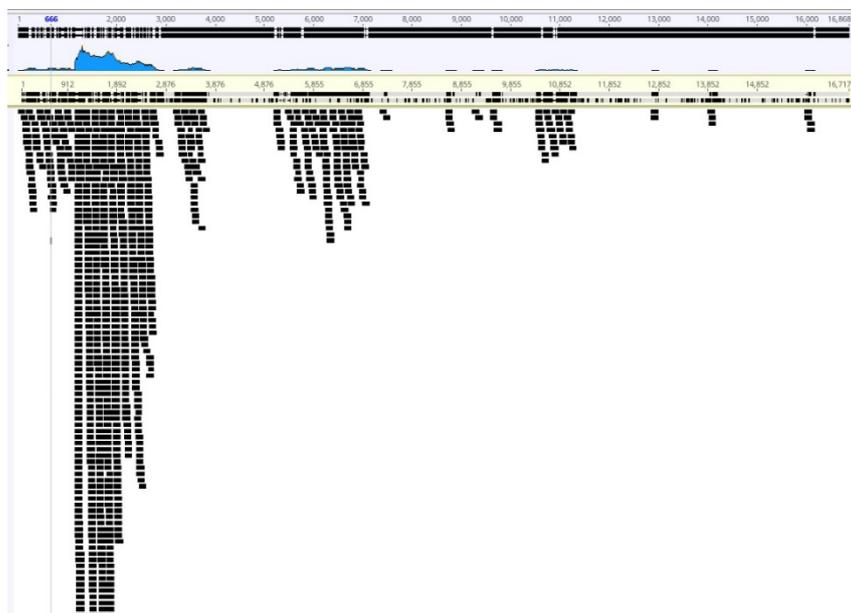


Рисунок 5. Глубина покрытия митогенома селевинии при картировании на выравнивание митогеномов сонь (данные по соням из Генбанка)

Наилучшее покрытие и полное прочтение получено для митохондриальных рибосомальных генов 12 S и Cyt b. Поскольку для представителей семейства соневых наибольшее количество депонированных в Генбанке последовательностей относится к гену 12 S дальнейший филогенетический анализ проведен с использованием именно этого гена (Рисунок 6).

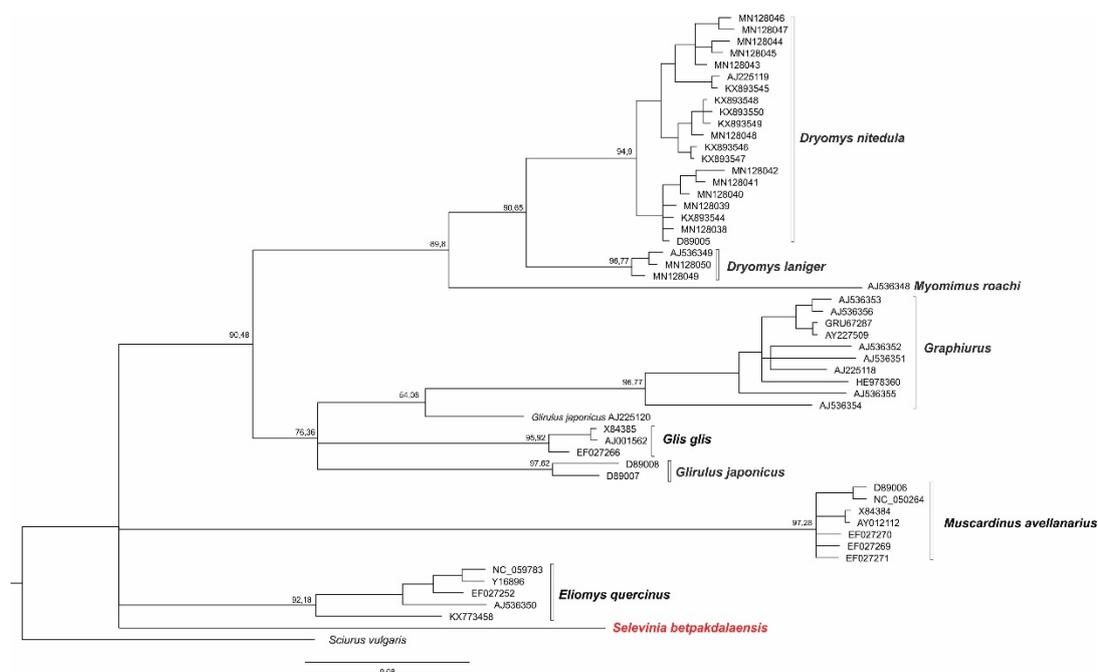


Рисунок 6. Филогенетическое дерево семейства соневых (Gliridae), построенное по митохондриальному гену 12S и положение *Selevinia betpakdalaensis* среди других родов семейства

Показано, что селевиния занимает обособленное, базальное положение в семействе, что не совсем согласуется с предположением о ее близости к роду *Myomimus*.

Впервые получены митогеномные данные для мышинной тупайи *Dendrogale murina* (отряд Scandentia, семейство Tupaiidae). Исследовано два экземпляра тупай (№№ фондовой коллекции ЗИН РАН: 100298, 100299; №№ в коллекции тканей 5842 и 5843) из Вьетнама, провинция Донгнай.

Митогеном *D. murina* представляет собой кольцевую молекулу размером 16,844–16,850 пн и содержит типичный набор из 13 белок-кодирующих генов (PCG), 2 генов рибосомальных РНК, 22 транспортных РНК (tRNAs), и контрольного региона. Порядок генов и организация митохондриального генома *D. murina* совпадает с таковым у других, изученных ранее, представителей семейства Tupaiidae. Митохондриальный геном мышинной тупайи относительно беден по составу GC- (39.4%) в сравнении с митогеномами р. *Tupaia* (где этот показатель превышает 40%). Нуклеотидный состав А, С, G, и Т составляет 33.5%, 25.6%, 13.9% и 27.1% соответственно. Девять генов (NAD6 и 8 tRNAs) ориентированы в обратном направлении, тогда как другие в прямом. Кодоны инициации транскрипции для 13 PCGs *D. murina* традиционные старт кодоны (ATG для ND1, COX1, COX2, ATP8, ATP6, COX3, ND4L, ND4 и ATT для ND2, ND3, ND5, ND6, CYTB). Стандартные стоп –кодоны (TAA или TAG) присутствуют у 11 PCGs. Для COX1 и ND6 отмечены стоп-кодоны AGA. На основании выравнивания полных митохондриальных

геномов с использованием метода Баеса (MrBayes 3.2.6, [4]) построено филогенетическое дерево таксонов отряда. В качестве внешней группы взят лемур *Galeopterus variegatus* Audebert, 1799. Полученное филогенетическое дерево (Рисунок 7) подтверждает топологию, полученную ранее, при использовании только рибосомальных генов 12S и 16S с сестринскими кладами рода *Dendrogale* и рода *Tupaia* в рамках семейства *Tupaiaidae*.

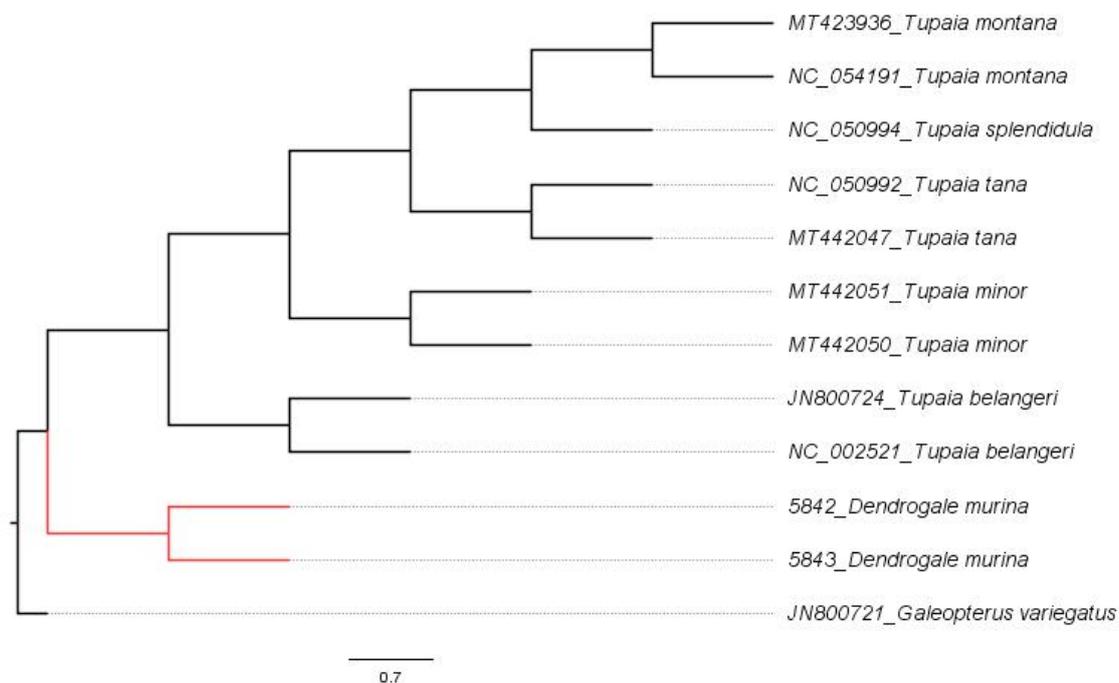


Рисунок 7. Филогенетическое дерево для представителей отряда Scandentia, построенное по полным митогеномам. Данные по роду *Dendrogale* получены впервые в данном Проекте. Данные по видам рода *Tupaia* взяты из Генбанка

Выполнено shotgun секвенирование трёх представителей класса хитоны (Mollusca: Polyplacophora), относящихся, предположительно к родам *Strictochiton*, *Voreochiton* и *Tonicia*. Два из указанных образцов собраны на острове Матуа (Курильская гряда), и один – в Антарктике. Изучение таксономического положения данной группы родов направлено на оценку филогенетических связей внутри семейства *Tonicellidae* и поможет описанию морского биоразнообразия Курильской гряды. Присутствующие к настоящему моменту в коллекции ЗИН РАН образцы данных видов характеризуются низким качеством спиртовой фиксации, потому амплификация и последующее секвенирование по Сангеру последовательностей митохондриальных генов выполнить ранее не удавалось. Этим объясняется новизна и актуальность данного исследования. Хотя данные образцы не являются типовыми, это потенциально новые виды или представители уникальных островных популяций.

Значительной проблемой в изучении коллекционного материала моллюсков (в особенности Polyplacophora и Gastropoda) является часто плохая сохранность фиксированного материала вследствие плотных наружных покровов, которые могут не пропускать спирт внутрь тканей). Подготовка библиотек четырех образцов показала, что три образца пригодны для секвенирования, а проведенное секвенирование продемонстрировало высокое качество ридов. Тем не менее, была обнаружена высокая контаминация, связанная вероятно, с условиями хранения и первичной фиксации материала в полевых условиях. Сборка митохондриальных геномов данных образцов de-novo с использованием инструментов NOVOPLASTY и GetOrganelle и последующей аннотацией в онлайн сервисе MITOS показала, что покрытие митохондриальных белок-кодирующих генов у всех образцов низкое, а наибольшей сохранностью характеризуются гены группы NADH. В настоящее время ведется выравнивание полученных ридов на референсные последовательности нескольких предположительно родственных видов, причем в анализе используются представители Polyplacophora, характеризующиеся различным порядком генов в митохондриальном геноме.

Выводы: Проведено генотипирование 15 экземпляров типовой коллекции грызунов, в том числе получены 10 отдельных молекулярных последовательностей митохондриального гена цитохром б для типовых экземпляров: *Lemmus sibiricus* – 4 экз. (№№ в коллекции ЗИН РАН: 11028, 6726, 11025, 11026), *Blanfordimys bucharensis* – 3 экз. (№№ 20311, 20556, 45021), *Neodon yuldaschi* – 2 экз. (№№ 6813, 6876), *Lasiopodomys fuscus* – 1 экз. (№ 1908). В результате проведенных генетических исследований коллекционного материала было показано, что: 1) типовая серия *L. sibiricus bungei* состоит из экземпляров, относящихся к разным митохондриальным кладам, паратипы к западной, а лектотип к восточной и таким образом название “bungei” может быть валидно только в случае применения к леммингам восточной клады; 2) переопределены типовые экземпляры центральноазиатских полевков родов *Lasiopodomys*, *Blanfordimus*, *Neodon*. Генотипирование этих полевков внесло логический порядок в таксономию и географическое распространение этих видов.

В 2021 г. были предприняты попытки сборки полных митогеномов из типовых образцов сухой коллекции грызунов из следующих таксонов: позднеплейстоценовой узкочерепной полевки *Microtus (Stenocranius) gregalis egorovi* Feigin, 1980, горной полевки *Alticola argentatus* Severtzov, 1879, лесной сони *Dryomys nitedula ognevi*, Heptner et Formozov, 1928, полуденной песчанки *Meriones meridianus lepturus*, Bucner, 1889 и когтистой песчанки *Meriones unguiculatus kozlovi* Satunin, 1903. Впервые генетически

исследован уникальный эндемик Казахской степи – селевиния *Selevinia betpakdalensis* (отряд Rodentia, семейство Gliridae). Показано, что селевиния занимает обособленное, базальное положение в семействе, что не совсем согласуется с предположением о ее близости к роду *Myomimus*, высказанное ранее на основе морфологических данных. К сожалению, покрытие оказалось недостаточным для получения данных по полному митогеному *Selevinia betpakdalensis*.

В связи с тем, что не все отобранные старые типовые материалы дали достаточный выход ДНК для получения библиотек и сборки полных митогеномов, этот раздел Плана-графика исследований был скорректирован. В исследование был включен дополнительный коллекционный материал, первоначально не указанный в п.1.1 Плана-графика. Впервые получены полные митогеномы для мышинной тупайи *Dendrogale murina* (отряд Scandentia, семейство Tupaiidae), определено филогенетическое положение рода как сестринское по отношению к роду *Tupaia* в рамках семейства Tupaiidae. Получены библиотеки и проведено секвенирование для последующей сборки митогеномов от трёх представителей класса хитоны (Mollusca: Polyplacophora), относящихся, предположительно к родам *Strictochiton*, *Voreochiton* и *Tonicia*.

2 СОЗДАНИЕ НОВОЙ ЛАБОРАТОРИИ ЭВОЛЮЦИОННОЙ ГЕНОМИКИ И ПАЛЕОГЕНОМИКИ ЗИН РАН. ОСНАЩЕНИЕ НОВОЙ ЛАБОРАТОРИИ ОБОРУДОВАНИЕМ И РАСХОДНЫМИ МАТЕРИАЛАМИ

Необходимость создания в институте отдельной лаборатории, сфокусированной в своей работе на геномных исследованиях, продиктована современными тенденциями развития зоологии и эволюционной биологии. Подобные профильные лаборатории уже существуют в крупнейших естественнонаучных музеях мира, в частности, в музее естественной истории Нью-Йорка и в Смитсоновском институте в Вашингтоне (США), Британском музее в Лондоне (Великобритания), музее естественной истории в Вене (Австрия), Стокгольмском музее естественной истории (Швеция) и других. Мировая практика показала, что эффективность исследований в различных отраслях биологии значительно возрастет при создании отдельной лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики. Инфраструктура такой лаборатории будет включать «чистую комнату» с источником УФ излучения и систему фильтрации воздуха, что позволит проводить исследования древней ДНК на соответствующем мировым стандартам уровне. Создание «чистой комнаты» запланировано на второй этап (2022 г.) выполнения Проекта. Необходимость разработки и использования особых методов работы с ДНК старых коллекционных материалов обусловлена её посмертным повреждением, фрагментацией, и разложением путем гидролиза, деаминирования и пуринизации, а её секвенирование часто содержит ошибки, что в итоге влияет на интерпретацию получаемых данных. В данных обстоятельствах основным подходом в преодолении проблемы денатурации ДНК является амплификация многочисленных перекрывающихся фрагментов и сборка целого гена или даже целого митохондриального генома для дальнейших исследований, что возможно только при наличии высокотехнологичного оборудования и квалифицированных специалистов в области геномных технологий.

Лаборатория эволюционной геномики и палеогеномики (далее Лаборатория) создана на основании решения Ученого совета и приказа директора ЗИН РАН № 125.2-102 от 12.10.2021 г. Лаборатория является структурным подразделением ЗИН РАН и действует на условиях, определяемых Положением о данной лаборатории (далее – Положение, см. Приложение А).

В лаборатории шесть научных сотрудников, включая руководителя, и лаборант (<https://www.zin.ru/departments/evolutionary-genomics/>). Коллектив Лаборатории имеет большой опыт работы в области применения генетических технологий обработки музейных образцов и реализации новых подходов к их анализу, полученный во время работы в

лаборатории териологии ЗИН РАН в составе исследовательской группы под руководством кбн Н.И. Абрамсон (ныне руководитель Лаборатории). Ранее ими были успешно получены и проанализированы последовательности ДНК от многих уникальных коллекционных образцов с применением техники высокопроизводительного секвенирования, позволившие проанализировать не только фрагменты митохондриальных генов, но и собрать полные митогеномы, что было отражено в ряде высокоимпактных публикаций.

Лаборатория создана для разработки и широкого внедрения в практику исследований ЗИН РАН геномных технологий и методов в изучении позвоночных и беспозвоночных животных, включая ископаемые образцы, на базе УФК ЗИН РАН в рамках фундаментальных исследований Института по государственному заданию и из внебюджетных средств. Одним из направлений работ сотрудников Лаборатории является также оценка действия отбора и адаптивных изменений на геномном уровне, анализ относительной роли факторов изоляции и дрейфа генов, миграции и отбора в процессе видообразования на фоне климатических изменений.

Согласно Положению для обеспечения всесторонности зоологических исследований ЗИН РАН с максимальным охватом таксономических групп молекулярно-генетическими методами изучения каждый научный сотрудник ЗИН РАН имеет право обратиться к руководителю лаборатории со своим проектом и предложениями по его реализации и запросить разрешение на привлечение к выполнению своего проекта сотрудников лаборатории с использованием оборудования и помещений лаборатории.

В качестве основных задач Лаборатории определены:

- 1) организация и проведение фундаментальных, поисковых и прикладных исследований, соответствующих мировому уровню и обеспечивающих продвижение российских генетических технологий в мировом научном сообществе;
- 2) разработка и внедрение новых стандартов молекулярно-генетической характеристики коллекционных образцов, включая генотипирование типовых материалов, и формирование коллекции генетических ресурсов;
- 3) проведение научных школ по подготовке специалистов в области применения молекулярно-генетических методов для характеристики коллекционных зоологических образцов разной длительности хранения.

Лаборатория эволюционной геномики и палеогеномики располагается в лабораторном здании ЗИН РАН по адресу г. Санкт-Петербург, Английский пр., д.32А. В 2021 г. для новой лаборатории там были отремонтированы и введены в эксплуатацию два новых лабораторных помещения общей площадью 27.9 кв.м. с рабочими местами для пяти научных сотрудников.

Проведено оснащение Лаборатории оборудованием и расходными материалами для создания геномных библиотек, закуплены наборы для экстракции ДНК, лабораторный пластик и необходимые реактивы (наборы пробирок, наконечников, штативы и др.). Кроме того, для оснащения лаборатории закуплено специальное оборудование:

1. Низкотемпературная морозильная камера Binder 9020-0348 UF V 700, объем 700 л, от -40°C до -90°C – необходима для правильного долгосрочного хранения образцов тканей и ДНК.

2. Амплификатор для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) VeritiPro, реакционный блок 96×0,2 мл, Thermo FS.

3. Дозаторы Eppendorf, пипеточные Eppendorf Research Plus с принадлежностями, варианты исполнения: дозатор механический переменного объема одноканальный (0.5-10 мкл) – 3 шт., (объем 10-100мкл) – 3 шт., (объем 100-1000мкл) – 3 шт.

4. Три набора с подставками и микроспин Eppendorf.

5. Секвенатор нового поколения Oxford Nanopore Minion с комплектом принадлежностей для быстрого секвенирования с ПЦР – позволяет получать длинные прочтения, необходимые для хорошей сборки геномов.

6. Штатив магнитный на 24 лунки для пробирок 0,2 мл, магнитный штатив Полюс-16 для 8×0,5 и 8×1,5 мл пробирок, штатив-подставка для пипеток универсальный на 5 дозаторов.

7. Источники бесперебойного питания Ippon Innova G2 EURO 2000 1800Вт 2000ВА G2 2000 EURO – 3 шт., источники бесперебойного питания Ippon Innova G2 EURO 3000 2700Вт 3000ВА G2 3000 EURO – 3 шт.

В 2022 году запланировано создание на базе ЦКП «Таксон» для нужд Лаборатории и других подразделений ЗИН РАН «чистой комнаты» с источником УФ излучения и системой фильтрации воздуха, что позволит проводить исследования древней ДНК на соответствующем мировым стандартам уровне.

Выводы: Создана новая лаборатория эволюционной геномики и палеогеномики. Проведено оснащение новой лаборатории оборудованием для проведения молекулярно-генетических исследований. Закуплены реактивы для создания геномных библиотек, наборы для выделения ДНК, лабораторный пластик.

3 ПОДГОТОВКА ПРОЕКТА ПОЛОЖЕНИЯ О КОЛЛЕКЦИИ УФК ЗИН РАН. РАЗРАБОТКА НОВЫХ СОП ПО НАПРАВЛЕНИЮ «МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ» КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ БРК “МУЗЕЙНЫЕ КОЛЛЕКЦИИ ЖИВОТНЫХ”

3.1 ПОДГОТОВКА ПРОЕКТА ПОЛОЖЕНИЯ О КОЛЛЕКЦИИ УФК ЗИН РАН

Уникальная фондовая коллекция Зоологического института РАН (УФК ЗИН РАН) собрана многими поколениями отечественных и иностранных зоологов. В целом, в УФК ЗИН РАН представлено более 260 тысяч видов животных, что составляет около четверти известной мировой фауны. В коллекции имеются почти все виды животных, известные из России, многие представлены большими сериями. Исключительную ценность представляют хранящиеся в УФК ЗИН РАН несколько десятков тысяч типовых экземпляров видов животных, которые имеют статус международных эталонов и составляют объективную основу зоологической номенклатуры. Типовые экземпляры (эталонные) животных по своей уникальности и значимости могут быть сравнимы с эталонами мер и весов. Типовые экземпляры по определению уникальны, они не имеют аналогов и не могут быть заменены. УФК ЗИН РАН входит в число крупнейших зоологических коллекций мира, для многих групп животных Северного полушария Старого Света — это наиболее представительные коллекции в мире. В России других коллекций такого же уровня нет. УФК ЗИН РАН входит в мировую сеть уникальных зоологических коллекций как неотъемлемая часть фактической научной основы для работы зоологов всего мира.

УФК ЗИН РАН включает разные типы «классических» коллекционных собраний, таких как энтомологическая, ихтиологическая, герпетологическая, орнитологическая, териологическая и паразитологическая коллекции, начало которым было положено коллекциями Кунсткамеры, переданными в 1832 г. во вновь образовавшийся Зоологический музей Императорской академии наук. На протяжении почти 200 лет УФК ЗИН РАН остается крупнейшим собранием зоологических образцов России. Каждый год УФК ЗИН РАН получает около 100 000 новых коллекционных экземпляров животных, представленных как «классическими» единицами хранения (чучела, тушки, шкурки, скелеты позвоночных животных и их части, птичьи яйца и гнезда, сухие и влажные (в спирте или формалине) рыбы, земноводные, пресмыкающиеся и беспозвоночные животные, современные и ископаемые останки животных), так и образцами для молекулярно-генетических исследований (пробы тканей, образцы для клеточных линий и т.п.).

Действующие нормативные документы, регламентирующие деятельность УФК ЗИН РАН («Положение о Коллекционном фонде УФК ЗИН РАН» и «Правила учета, хранения и пополнения фондовых коллекционных материалов Зоологического института РАН и пользования ими») разработаны и утверждены еще в 2017 г. (<https://www.zin.ru/collections/documents.html>). Эти документы не учитывают структурные изменения, произошедшие в Зоологическом институте за последние годы, а также развитие современных подходов к изучению коллекционных материалов. Разработан проект нового Положения об УФК ЗИН РАН с учетом требований времени (Приложение Б).

В последние два десятилетия ученые всего мира осознают уникальность зоологических коллекций с точки зрения материального «архива» генетической информации, как источника фундаментальных и прикладных исследований не только в области систематики, эволюции и сохранения биоразнообразия, но и в области глобальной биобезопасности и сохранения генетического разнообразия животного мира.

Стремительное совершенствование ДНК-технологий, происходящее в последнее десятилетие, в том числе широкое внедрение методов высокопроизводительного секвенирования, значительно расширило возможности исследования ДНК, выделенной как из свежего материала, так и из коллекционных исторических и ископаемых образцов. Новые методические приёмы позволяют дополнять таксономические, филогеографические, биогеографические и эволюционные исследования уникальным историческим материалом, анализировать генетические паттерны не только в пространственном, но и временном контексте. Это требует отработки протоколов отбора проб тканей для генетических и геномных исследований от коллекционных экземпляров, что в международной музейной практике получило название «destructive sampling policy». В ходе выполнения работ 2021 г. в ЗИН РАН были разработаны нормативные документы, позволяющие регламентировать подобные исследования с использованием материалов УФК ЗИН РАН и протоколы отбора проб тканей (Приложение Б).

3.2 РАЗРАБОТКА НОВЫХ СОП ПО НАПРАВЛЕНИЮ «МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ» КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ БРК «МУЗЕЙНЫЕ КОЛЛЕКЦИИ ЖИВОТНЫХ»

В рамках выполнения проекта с 29.09.2021 г. по 31.12.2021 г. начата работа по разработке СОП для внедрения в коллекционную и исследовательскую практику ЗИН РАН и других организаций направления БРК «Музейные коллекции животных» молекулярно-генетических и геномных технологий для подробной характеристики коллекционных

зоологических образцов. Согласно п. 1.3. утвержденного плана-графика (Приложение 9 Соглашения 075-15-2021-1069) в течение 3 рабочих месяцев 2021 г. подготовлены СОП по следующим направлениям:

- отбор проб от коллекционных экземпляров для молекулярно-генетических и геномных исследований;
- выделение ДНК;
- секвенирование по Сангеру отдельных фрагментов митохондриального и ядерного геномов.

Данный раздел включает пояснительные записки по каждому из вышеперечисленных разделов, с подробным описанием всех СОП по направлению «молекулярно-генетические технологии для характеристики» коллекционных образцов БРК «Музейные коллекции животных» (см. Приложение В).

СОП № ЗИН-2021-01 «Отбор проб от коллекционных экземпляров для молекулярно-генетических и геномных исследований»

В зоологических коллекциях ЗИН РАН и других организаций направления БРК «Музейные коллекции животных» представлено три формы постоянного хранения экземпляров: (а) сухие коллекции; (б) влажные (спиртовые, формалиновые) коллекции; (в) фиксированные коллекции тканей современных животных для генотипирования (спиртовые, криоконсервирование). Отбор проб для молекулярно-генетической и геномной характеристики коллекционного экземпляра для каждой формы хранения предусматривает собственный протокол. Во всех случаях, кроме использования фиксированных коллекций тканей, отбор проб носит деструктивный характер для коллекционного образца. Во избежание многократных операций с коллекционными экземплярами, нарушающими их целостность, в коллекциях ведутся журналы учета и производятся электронные записи в ИАС.

Местом проведения операций с коллекционными экземплярами является коллекционное хранилище.

Протокол № ЗИН-2021-01-a1: Отбор пробы от экземпляра из сухой коллекции рецентных животных

Целевой объект: мягкие и покровные сухие ткани позвоночных (тушки, чучела, шкуры, линные перья), фрагменты тела беспозвоночных (наколотые насекомые, насекомые и др. беспозвоночные в послойном хранении).

Последовательность операций:

- (i) прожиг инструмента (ножницы, пинцеты, скальпели) для отбора пробы;
- (ii) отделение целевого участка коллекционного образца в необходимом объеме;
- (iii) перенос отделенного фрагмента ткани в стерильную пробирку;
- (iv) маркировка пробирки;
- (v) внесение записи в журнал отбора проб для генотипирования с подробным указанием данных экземпляра, описанием участка отбора пробы и размера отделенного фрагмента, даты и фамилии оператора;
- (vi) внесение данных о пробе в ИАС.

Расходные материалы: этиловый спирт (5 мг), стерильная пластиковая пробирка.

Документация: журнал отбора проб от коллекционных экземпляров для генотипирования.

Протокол № ЗИН-2021-01-а2: Отбор пробы от экземпляра из сухой остеологической (одонтологической) коллекции рецентных и ископаемых животных

Целевой объект: элементы скелета позвоночных (монтированные скелеты, фрагменты скелета, черепа, в т.ч. ископаемый субфоссильный материал), зубы позвоночных (зубы *in situ*, изолированные зубы и их фрагменты, в т.ч. ископаемый субфоссильный материал).

Последовательность операций:

- (i) механическая и химическая очистка инструмента (буры разного диаметра, дисковые и сабельные пилы) для отбора пробы;
- (ii) высверливание ткани или отпиливание участка кости (зуба) от коллекционного образца в необходимом объеме над листом алюминиевой фольги;
- (iii) перенос отделенного фрагмента твердой ткани или сыпание порошка с листа фольги в стерильную пробирку;
- (iv) маркировка пробирки;
- (v) внесение записи в журнал отбора проб для генотипирования с подробным указанием данных экземпляра, описанием участка отбора пробы и размера/объема отделенного фрагмента, даты и фамилии оператора;
- (vi) внесение данных о пробе в ИАС.

Расходные материалы: этиловый спирт (5 мг), фольга алюминиевая (пищевая, 0,2 мм; 20 п. см.), стерильная пластиковая пробирка.

Документация: журнал отбора проб от коллекционных экземпляров для генотипирования.

Протокол № ЗИН-2021-01-б1: Отбор пробы от экземпляра из влажной коллекции рецентных животных

Целевой объект: части мягких, покровных и смешанных (кожа, мышцы, кость; покровный скелет, мышцы) тканей позвоночных и беспозвоночных животных (фиксированные тушки или отдельные фрагменты тела), зубы позвоночных (зубы фиксированных позвоночных животных).

Последовательность операций:

(i) прожиг инструмента (ножницы, пинцеты, скальпели) для отбора пробы;

(ii) отделение целевого участка коллекционного образца в необходимом объеме;

(iii) перенос отделенного фрагмента ткани в стерильную пробирку;

(iv) маркировка пробирки;

(v) внесение записи в журнал отбора проб для генотипирования с подробным указанием данных экземпляра, описанием участка отбора пробы и размера отделенного фрагмента, даты и фамилии оператора;

(vi) внесение данных о пробе в ИАС.

Расходные материалы: этиловый спирт (5 мг), стерильная пластиковая пробирка.

Документация: Журнал отбора проб от коллекционных экземпляров для генотипирования.

Протокол № ЗИН-2021-01-в1: Отбор пробы от фиксированных коллекции тканей современных животных, специально предназначенных для генотипирования.

Целевой объект: ткани позвоночных и беспозвоночных, специально фиксированных в свежем состоянии (спиртовая фиксация или криоконсервация) для генотипирования.

Последовательность операций:

(i) прожиг инструмента (ножницы, пинцеты, скальпели) для отбора пробы;

(ii) отделение фрагмента фиксированной ткани (при криоконсервации без размораживания) в необходимом объеме;

(iii) замена фиксатора хранящегося фрагмента ткани (выполняется в случае спиртовой фиксации);

(iv) перенос отделенного фрагмента ткани в стерильную пробирку;

(v) маркировка пробирки;

(vi) внесение записи в журнал отбора проб для генотипирования с подробным указанием данных экземпляра, описанием участка отбора пробы и размера отделенного фрагмента, даты и фамилии оператора;

(vii) внесение данных о пробе в ИАС.

Расходные материалы: этиловый спирт (15 мг), стерильная пластиковая пробирка.

Документация: журнал отбора проб от коллекционных экземпляров для генотипирования.

СОП № ЗИН-2021-02 «Выделение ДНК»

Отобранные пробы от коллекционных образцов поступают в лабораторию для проведения процедур выделения ДНК. Процесс включает последовательное использование специализированного оборудования и специализированных наборов для выделения (например, GeneJET Genomic DNA Purification Kit или аналогичных). В ЗИН РАН для выделения ДНК используются разные методики: протоколы с использованием Chelex-100, СТАВ, фенол-хлороформного метода, солевого метода.

Местом проведения операций с пробами является специализированное лабораторное помещение.

Последовательность операций при выделении ДНК солевым методом:

(i) измельчить стерильным скальпелем на фольге кусочек ткани (2-5 мм²). Высушить спирт, содержащийся в фиксированной ткани;

(ii) добавить 215 µl лизирующего буфера (25mM ЭДТА, 10mM Tris [pH 7,5], 1% SDS), и 10 µl раствора протеиназы К (20µg/µl), смешать и поставить в водяную баню (55-60°C) на 2 ч;

(iii) добавить к лизату 150 µl насыщенного (~6M) раствора NaCl, вортиксировать;

(iv) центрифугировать 5 мин на максимальной скорости. Отобрать верхнюю (водную) фазу в новые пробирки, стараясь не задеть осадок;

(v) повторить предыдущий шаг; перенести в 2 мл пробирку;

(vi) добавить 3 объема 96% этанола (1125µl) и интенсивно перемешать;

(vii) центрифугировать 10 мин на 20000g (+4°C);

(viii) отобрать спирт, стараясь не задеть образовавшийся осадок (пеллету) и добавить 500µl 70% спирта;

(ix) при комнатной температуре эппендорфы стоят на столе около 20 минут;

(x) центрифугировать 5 мин на 20000g;

(xi) удалить спирт и высушить осадок;

(xii) развести ДНК в 70µl dd H₂O (растворяется минут 40 или ночь на +4°C);

(xiii) измерить концентрацию ДНК на спектрофотометре;

(xiv) для проверки качества ДНК нанести на агарозный гель 0,8 % по 5 мкл;

Расходные материалы: 25mM ЭДТА, 10mM Tris [pH 7,5], 1% SDS; стерильная микроцентрифужная пробирка 2 мл; стерильная микроцентрифужная пробирка 0.5 мл;

стерильные одноразовые наконечники для автоматических дозаторов объемом 10, 200 и 1000 мкл; реактивы для выделения и электрофореза (этанол 96%, раствор этанола 70%, агароза, буфер).

Документация: Журнал первичного и текущего инструктажа по соблюдению техники безопасности при работе с вредными веществами.

СОП № ЗИН-2021-03 «Секвенирование по Сангеру отдельных фрагментов митохондриального и ядерного геномов»

Секвенирование по методу Сангера. Проводится определение генотипа особи по маркерным локусам митохондриального и ядерного геномов. В качестве маркера мтДНК используется баркод (фрагмент гена COI), ген цитохрома b, D-петля.

Необходимый этап перед секвенированием — это постановка ПЦР (полимеразной цепной реакции) со специфичными к секвенируемому в дальнейшем фрагменту праймерами.

Местом проведения ПЦР является специализированное лабораторное помещение.

Последовательность операций при проведении ПЦР:

- (i) подписать реакционные пробирки;
- (ii) смешать компоненты реакции (см. Таблица 4) исключая образцы и Taq-полимеразу;
- (iii) отвортексировать и коротко отцентрифугировать;
- (iv) раскапать образцы по реакционным пробиркам;
- (v) добавить в реакционную смесь Taq-полимеразу;
- (vi) отвортексировать и коротко отцентрифугировать;
- (vii) раскапать реакционную смесь по пробиркам;
- (viii) отвортексировать и коротко отцентрифугировать пробирки;
- (ix) поместить реакционные пробирки в термоциклер;
- (x) нанести на 1% агарозный гель по 5 мкл ПЦР-продуктов + 1 мкл 6x загрузочного буфера; в каждую лунку добавить бромистый этидий.

Таблица 4 – компоненты реакции, расход компонентов на 5 образцов и профиль ПЦР

	1x	6x	Regime of PCR reaction:			
Праймеры:	3	18	1) T1	94°C	5 min 00 sec	
MgCl ₂ 100 mM	0.4	2.40	2) T2	94°C	0 min 15 sec	
Taq buffer	2	12	3) T3	60°C	0 min 20 sec	
dNTP 40 mM	0.5	3	4) T4	72°C	0 min 20 sec	
dH ₂ O	11.9	71.4	(2-4) 30 cycles			

DNA		2	12	4) T5	72°C	5 min 00 sec
Taq-pol		0.2	1.2	5) T6	4°C	pause
		V = 20 µl	V = 120 µl			

Расходные материалы: см. Таблица 4; в качестве альтернативы набор для выделения ДНК GeneJET Genomic DNA Purification Kit (или аналогичный); стерильная микроцентрифужная пробирка 1.5 мл; стерильная микроцентрифужная пробирка 0.5 мл; стерильные одноразовые наконечники для автоматических дозаторов объемом 10, 200 и 1000 мкл;

Документация: Журнал первичного и текущего инструктажа по соблюдению техники безопасности при работе с вредными веществами.

В соответствии с Планом-графиком (п.1.3) подготовлен и утвержден План на 2022-2023 гг. по разработке и верификации новых стандартных операционных процедур (СОП) (Приложение Г).

Выводы: Подготовлен проект Положения о коллекции УФК ЗИН РАН. Разработаны новые СОП по направлению «молекулярно-генетические технологии для характеристики» коллекционных образцов БРК «Музейные коллекции животных». Подготовлен и утвержден План на 2022-2023 гг. по разработке и верификации новых стандартных операционных процедур (СОП).

4 ЗАКУПКА ОБОРУДОВАНИЯ ДЛЯ РАСШИРЕНИЯ ОБЪЕМА КОМПЬЮТЕРНОГО СЕТЕВОГО ХРАНИЛИЩА ЗИН РАН ДЛЯ СОЗДАНИЯ ИАС. РАЗРАБОТКА НОВЫХ СОП ПО НАПРАВЛЕНИЮ "ПЕРВИЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ КАТАЛОГИЗАЦИЯ" МАТЕРИАЛОВ КОЛЛЕКЦИЙ ДЛЯ ВНЕСЕНИЯ ИНФОРМАЦИИ В ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКУЮ СИСТЕМУ (ИАС) В РАМКАХ МОДЕЛИ СЕТЕВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И СОП ПО НАПРАВЛЕНИЮ «ДИГИТАЛИЗАЦИЯ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ». ПОДГОТОВКА ТЕХНИЧЕСКОГО ЗАДАНИЯ НА РАЗВИТИЕ СИСТЕМЫ ВВОДА ПЕРВИЧНЫХ ДАННЫХ В ИАС

4.1 ЗАКУПКА ОБОРУДОВАНИЯ ДЛЯ РАСШИРЕНИЯ ОБЪЕМА КОМПЬЮТЕРНОГО СЕТЕВОГО ХРАНИЛИЩА ЗИН РАН ДЛЯ СОЗДАНИЯ ИАС

В ходе первого этапа (2021 г.) реализации Проекта по созданию ИАС было закуплено оборудование для расширения сетевого хранилища ЗИН РАН для выполнения работ по двум основным направлениям развития инфраструктуры корпоративной сети ЗИН РАН — расширение сетевого хранилища для создания информационно-аналитической системы (ИАС) и модернизация серверной инфраструктуры и модернизация.

Произведена подготовка закупочной документации для приобретения серверного оборудования и комплектующих, включающего:

- 1) источник бесперебойного питания APC SRT5KRMXLI (2 шт.);
- 2) серверный твердотельный накопитель SSD Seagate XS1600LE70084 Nytro 3532 1.6 ТБ SAS (3 шт.);
- 3) RAID-контроллер для внешних дисковых хранилищ LSI MegaRAID 9580-8i8e (1 шт.);
- 4) дисковая полка высокой плотности SuperMicro SuperChassis 846BE2C-R1K03JBOD в комплекте с кабелем Supermicro CBL-SAST-0573 (1 шт.);
- 5) накопитель на жестких дисках для дисковой полки Western Digital Ultrastar DC HC550 WUH721818AL5204 18 ТБ SAS (12 шт.).

Осуществлена приемка закупленного серверного оборудования и комплектующих с оформлением предусмотренной документации.

Произведены монтаж в серверный шкаф и ввод в эксплуатацию источников бесперебойного питания (ИБП). Выполнена полная перекоммутация потребителей мощности серверного парка и балансировка нагрузки между ИБП. Выполнено конфигурирование встроенных в ИБП сетевых интерфейсов управления, настройка

удаленного мониторинга и управления всеми аспектами функционирования данного оборудования. Выполнено всестороннее тестирование ИБП, включающее специализированные нагрузочные тесты и методики тестирования, предусмотренные производителем оборудования.

С целью снижения рисков отказа накопителей на жестких дисках и продления сроков эффективной эксплуатации серверных платформ трех выделенных серверов поддержки сетевой инфраструктуры, имеющие ключевое значение для функционирования корпоративной сети в целом (два контроллера домена и прокси-сервер), выполнена модернизация их дисковых подсистем с использованием серверных твердотельных накопителей (SSD). Работы по модернизации дисковых подсистем включали обновление микропрограммного обеспечения RAID-контроллеров серверных платформ и контроллеров накопителей, комплекс мероприятий по миграции операционных систем и системного программного обеспечения на новые накопители, комплексное тестирование результатов миграции, оптимизацию алгоритмов резервного копирования.

Произведены пуско-наладочные работы по интеграции нового серверного оборудования (дисковая полка высокой плотности, RAID-контроллер для внешних дисковых хранилищ) в имеющуюся инфраструктуру серверного парка. Выполнены установка и конфигурирование RAID-контроллера для внешних дисковых хранилищ, обновление микропрограммного обеспечения RAID-контроллера и контроллеров дисковой полки, планирование инфраструктуры дискового хранилища высокой плотности.

Произведены установка 12 накопителей на жестких дисках в дисковую полку, сборка и инициализация отказоустойчивого дискового массива уровня RAID6 с полезным объемом 147 ТБ. Выполнено комплексное тестирование созданного специализированного сетевого хранилища данных, получаемых в рамках выполнения проекта в результате дигитализации (оцифровки) образцов фондовых коллекций и сопутствующих материалов. Для системы хранения данных выполнено планирование режима многопользовательского доступа, в том числе удаленного, с разделяемыми правами доступа на основе учетных записей пользователей и групп пользователей службы каталогов Microsoft Active Directory для оперативной работы кураторов коллекций. Выполнено планирование интеграции модернизированного сетевого хранилища в создаваемую ИАС и подготовка инструментов выборочной публикации коллекционных данных онлайн.

4.2. РАЗРАБОТКА НОВЫХ СОП ПО НАПРАВЛЕНИЮ "ПЕРВИЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ КАТАЛОГИЗАЦИЯ" МАТЕРИАЛОВ КОЛЛЕКЦИЙ ДЛЯ ВНЕСЕНИЯ ИНФОРМАЦИИ В ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКУЮ СИСТЕМУ (ИАС) В РАМКАХ МОДЕЛИ СЕТЕВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И СОП ПО НАПРАВЛЕНИЮ «ДИГИТАЛИЗАЦИЯ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ»

В рамках выполнения проекта с 29.09.2021 г. по 31.12.2021 г. начата работа по разработке комплекса стандартов и протоколов по двум направлениям: (1) первичная электронная каталогизация; и (2) дигитализация коллекционных образцов. До начала реализации настоящего Проекта в ЗИН РАН не существовало разделения между «первичной» электронной каталогизацией (ПЭК) и собственно электронной каталогизацией (ЭК), так как все электронные каталоги представляли собой локальные архивы данных по единицам хранения в виде таблиц MS Excel, нередко файлов MS Word или MS Access, хранящихся в основной массе на компьютерах лабораторий ЗИН РАН. Таким образом, электронные каталоги частично дублируют лабораторные инвентарные каталоги и/или систематические каталоги. В ходе реализации настоящего Проекта в ЗИН РАН ведется разработка новых модулей ИАС, которые с 2022 должны, с одной стороны, начать ассоциировать локальные архивы коллекционных лабораторий в единую информационно-поисковую систему на базе унифицированного серверного хранилища ЗИН РАН и, с другой стороны, обеспечить прямой ввод первичных данных от оператора в лаборатории в ИАС без посредничества MS Excel, MS Word или MS Access. Система ввода данных, как один из новых модулей ИАС, разрабатываемый в ЗИН РАН с октября 2021 г., предполагает настройку разного уровня доступа для пользователей с разной квалификацией. Самый первый «минимальный» уровень доступа будет обеспечивать наиболее быструю и массовую работу ПЭК за счет минимального набора операций с введением минимума первичной информации с этикетки единицы хранения, оцифровки этикетки и ее загрузки в систему. Такая работа может быть поручена сотрудникам или волонтерам с минимальными навыками работы с коллекционными материалами, среднего уровня знаниями персонального компьютера и навыками работы с планшетным сканером. Это позволяет вести массовую работу ПЭК, что очень актуально с учетом объемов УФК ЗИН РАН. Последующие уровни доступа к модулю ввода данных ИАС предполагают более расширенный арсенал опций, которые становятся доступны оператору. На этом уровне графическая информация с этикетки единицы хранения, загруженная на первом уровне при выполнении процедур ПЭК, позволяет уже без непосредственного обращения к

коллекционному образцу проводить интерпретацию данных этикетки и вводить данные по дате поступления материала, коллекторах, таксономическому положению, географическому положению точки сбора материала, проверки достоверности введенной информации и пр. Эта работа требует определенной квалификации и предполагает участие старших хранителей и научных сотрудников. Разные блоки информации, вводимые в ИАС требуют подробного описания СОП. Одним из таких СОП является ПЭК, другим — «дигитализация коллекционных образцов». Оба СОП предполагают работу с коллекционными образцами, что требует обязательного использования журнала проведения первичного и текущего инструктажа по работе в коллекционных хранилищах и операций с единицами хранения. Приложение В содержит подробное описание этих СОП.

СОП № ЗИН-2021-04 «Первичная электронная каталогизация»

Целевой объект: коллекционный образец, имеющий бумажную этикетку и запись/записи в инвентарный каталог лаборатории (на примере лаборатории териологии: череп мелкого млекопитающего).

Последовательность операций:

- (i) оцифровка этикетки с использованием планшетного сканера или фотоаппарата;
- (ii) загрузка одного или нескольких изображений этикетки в ИАС через модуль ввода данных;
- (iii) внесение данных с этикетки в ИАС: номер каталога единиц хранения, номер поступления единиц хранения (при наличии);
- (iv) возврат единиц хранения на место постоянного хранения.

Уровень доступа к ИАС: первый (минимальный).

Документация: Журнал проведения первичного и текущего инструктажа по работе в коллекционных хранилищах и операций с единицами хранения.

СОП № ЗИН-2021-05 «Дигитализация коллекционных образцов»

Целевой объект: коллекционный образец, имеющий бумажную этикетку и запись/записи в инвентарный каталог лаборатории (на примере лаборатории териологии: череп мелкого млекопитающего).

Последовательность операций:

- (i) на локальном ПК создать папку с номер образца (например, "49820");
- (ii) установить фотоаппарат на столик для макросъемки, выбрать объектив, подключить фотоаппарат к компьютеру;
- (iii) в программе захвата изображений (Helicon Remote, или другие) установить

настройки (приоритет выдержки (TV), светочувствительность (ISO), качество снимков, компенсация экспозиции (EV), баланс белого);

(iv) установить фон (пластинку с клейкой массой или кювету с песком) в центре поля фокусировки камеры;

(v) установить две линейки с таким расчетом, что на стороне верхней кромки пластинки ("за объектом" от оператора) на булавках или подставках устанавливается "верхняя линейка", позволяющая в дальнейшем масштабировать элементы вентральной части единицы хранения либо ее части (линейка должна изменять положение в зависимости от "высоты" объекта); в нижней части пластинки на поверхность укладывается "нижняя линейка" для масштабирования плоских структур (например, получелюсть, см. рис. 1.4.2.1); в случае объемной единицы хранения или ее части, (например, неразделенной нижней челюсти) используется выставленная по высоте "верхняя линейка";

(vi) установить объект в одной из стандартных позиций (важно, чтобы оператор ставил объекты одинаково, для этого нужно выработать систему реперов на фотографируемом объекте и оценки "средних позиций", Рисунок 8): дорсальная проекция выравнивается по реперам и средней горизонтали объекта, вентральная позиция по боковым и осевым реперам, латеральная позиция выравнивается по МЗ правой и левой стороны так, чтобы верхний зуб был на уровне нижнего зуба без относительного выступания того или другого; половинки получелюстей: верхняя позиция — получелюсть в медиальной проекции; нижняя позиция — в латеральной проекции; тушки в дорсальной и вентральной позициях; все объекты ориентируются одинаково относительно операторы: передние (ростральные) концы — налево, верхние (дорсальные) части — вверх;

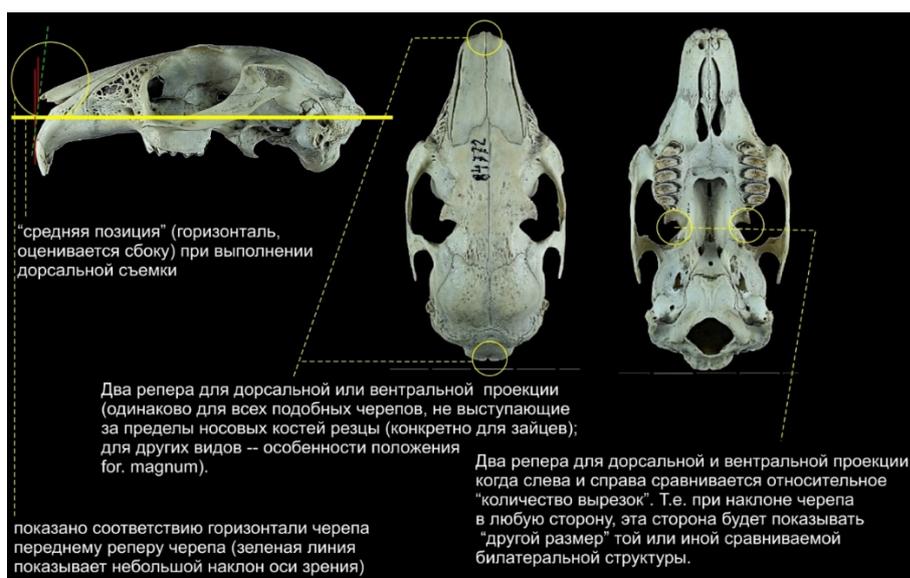


Рисунок 8 – Визуальные реперы, используемые при выравнивании черепа млекопитающего (заяц *Nesolagus timminsi*) при фотографировании

(vii) выполнить серию кадров со смещением области фокусировки объекта от нижней части (подложка) до верхней точки объекта;

(viii) слить серию кадров в одно полностью сфокусированное изображение объекта в программе Helicon Focus (или аналогичных);

(ix) сохранить готовый файл в формате TIFF в заранее созданной папке; имена файлов: [номер объекта]_[часть объекта]_[проекция].tiff (часть объекта: skull, mandible(s), skin; проекция: dorsal, ventral, lateral);

(x) подгрузить фотографии единицы хранения в ИАС через модуль ввода данных в ранее созданный профиль; в случае, если дигитализация производится без предварительного создания профиля единицы хранения на уровне ПЭЖ, тогда дополнительно выполняются процедуры СОП 2021-04 «Первичная электронная каталогизация»;

(xi) возврат единицы хранения на место постоянного хранения.

Уровень доступа к ИАС: второй и выше.

Документация: Журнал проведения первичного и текущего инструктажа по работе в коллекционных хранилищах и операций с единицами хранения.

4.3. ПОДГОТОВКА ТЕХНИЧЕСКОГО ЗАДАНИЯ НА РАЗВИТИЕ СИСТЕМЫ ВВОДА ПЕРВИЧНЫХ ДАННЫХ В ИАС

С началом собственных разработок по коллекционным базам данных ЗИН РАН вступил на путь закономерной модернизации системы учета фондовых коллекций. Такая система не просто сохраняет информацию о единицах хранения — это с успехом делают физические традиционные каталоги, которые существуют и будут существовать далее параллельно электронным ресурсам, информационная система позволяет извлекать новую информацию за счет комбинаторных возможностей, на порядки ускорить процесс поиска нужной информации об объекте или их группах, настроить систему сервисов, облегчающих работу научно-технического и научного персонала, обеспечить распределенное хранение информации об объектах, и многое другое.

Исходя из этого основной целью создания Информационной системы фондовых коллекций (ИСФК) является модернизация системы учета поступления и хранения коллекционных единиц в соответствии с современными технологиями хранения и анализа оцифрованных данных. В рамках реализации этой цели выделяются следующие задачи:

1) основной задачей остается, как и 200 лет назад, строгий учет разнообразной

первичной информации по вновь поступающим и хранящимся в коллекции объектам;

- 2) повышение скорости и эффективности поиска информации по единицам хранения;
- 3) улучшение условий труда научно-технического персонала (хранителей) и минимизация ошибок в наборах данных по единицам хранения;
- 4) повышение производительности труда научных сотрудников по корректировке научных данных в наборах информации по единицам хранения;
- 5) оптимизация процедуры взаимодействия связанных баз данных и редактирования классификаторов для достижения автоматизации в обновлении информации внутри ИСФК и поддержании ее в актуальном состоянии;
- 6) интерпретация специалистами аутентичных первичных данных по единицам хранения;
- 7) контроль движения и процесса обработки единиц хранения;
- 8) превентивный ответ на запросы контролирующих органов Минобрнауки РФ и РАН по инвентаризации коллекционных фондов и предоставления ежегодной отчетности по работе с коллекциями, их востребованности и пр.

Единая информационно-аналитическая система (ИАС) по классическим фондовым коллекциям УФК ЗИН РАН, предназначена для:

– ведения полного цикла электронной каталогизации оцифровываемых коллекционных экземпляров. Начиная с первичного ввода параметров экземпляра и данных его этикетки, пополнения данными о времени и точке сбора, до пополнения электронными изображениями, географическими данными, таксономическими определениями и информацией о публикациях.

– надёжного хранения информации, не ограниченного по срокам и с достаточным резервированием.

– выборочной публикации информации на веб-сайте института.

ИАС должна быть реализована по современным стандартам, в парадигме модульной архитектуры, и обеспечивать разграничение прав и интерфейсов доступа для разных пользовательских ролей. Полнофункциональная версия ИАС должна учитывать апробированный опыт первичной реализации базы данных с публичным веб-интерфейсом — <https://www.zin.ru/collections/collections.html>

Параллельно с созданием СОП по первичной электронной каталогизации и дигитализации коллекционных образцов (см. Раздел 4.2) заведующим отделом информационных технологий ЗИН РАН Р.Г Халиковым проведен системный анализ

собственных разработок и решений, применявшихся в ЗИН РАН на протяжении последних 25 лет. Это позволило сформулировать основные задачи единой информационно-аналитической системы с учетом специфики зоологических баз данных и значительного разнообразия типов хранения коллекционных образцов в УФК ЗИН РАН. Спроектирована и разработана инфологическая структура оригинальной информационно-аналитической системы для хранения первичных данных по образцам фондовых коллекций, инвентаризации фауны и мониторингу состояния популяций модельных видов.

Для проведения независимого аудита имеющихся решений и проектной документации был привлечен внешний подрядчик ООО «Мув ту диджитал» (<https://www.movetodigital.ru/>), которому были предоставлены сформированные на предыдущем этапе рабочие материалы и образцы электронных записей коллекционных экземпляров лаборатории териологии. Отдельной задачей, поставленной перед внешним подрядчиком, стал анализ рынка имеющихся технологических решений и рисков, связанных с созданием современной БД «с нулевого цикла». По результатам работы было подготовлено техническое задание на разработку системы ввода первичных данных коллекционных образцов УФК ЗИН РАН в информационно-аналитическую систему (Приложение Д). Компания ООО «Мув ту диджитал» рекомендовала в дальнейшем для построения модульной структуры ИАС использовать программные продукты и решения компании «Earthcare». В 2022 г. подготовленное техническое задание предполагается использовать для разработки модуля системы ввода первичных данных единиц хранения в ИАС в рамках реализации настоящего проекта.

Выводы: В 2021 г. в соответствии с Планом-графиком осуществлены модернизация и расширение сетевого хранилища ЗИН РАН для создания ИАС. Разработаны новые СОП по направлению "первичная электронная каталогизация". Разработаны новые СОП по направлению «дигитализация коллекционных образцов». Разработано техническое задание для аутсорсинга разработки программных решений ИАС.

5 ПЛАНИРОВАНИЕ ИНЖЕНЕРНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ МОДЕРНИЗАЦИИ КОЛЛЕКЦИОННОЙ ИНФРАСТРУКТУРЫ УФК ЗИН РАН. ПРОВЕДЕНИЕ РЕМОНТА В ЛАБОРАТОРНЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ И КОЛЛЕКЦИОННЫХ ХРАНИЛИЩАХ ЗИН РАН. ЗАКУПКА ОБОРУДОВАНИЯ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ И МОДЕРНИЗАЦИИ УСЛОВИЙ ХРАНЕНИЯ КОЛЛЕКЦИЙ УФК ЗИН РАН. ЗАКУПКА РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ТЕКУЩЕЙ КОЛЛЕКЦИОННОЙ РАБОТЫ

5.1 ПЛАНИРОВАНИЕ ИНЖЕНЕРНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ МОДЕРНИЗАЦИИ КОЛЛЕКЦИОННОЙ ИНФРАСТРУКТУРЫ УФК ЗИН РАН

УФК ЗИН РАН – крупнейшая зоологическая коллекция Российской Федерации. В настоящее время она включает более 60 миллионов единиц хранения. Помещения для хранения УФК ЗИН РАН включают основные коллекционные хранилища (10076 кв.м.) и экспозиционную часть Зоологического музея ЗИН РАН (5365 кв.м.), которые расположены в Главном здании ЗИН РАН по адресу: г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 1; и дополнительное коллекционное хранилище «Шувалово» (8000 кв.м.), расположенное по адресу: г. Санкт-Петербург, Заповедная ул., д. 51, корп. 2). Общая площадь, занятая под хранение коллекций, составляет 18876 кв.м.

Основная часть материально-технической базы УФК ЗИН РАН в значительной степени устарела. Последняя реконструкция/модернизация УФК ЗИН РАН, в результате которой значительно улучшены технические параметры и условия хранения материалов, была проведена в 1967 г. Коллекционные хранилища и системы хранения (шкафы, стеллажи, коллекционные емкости) в основном и дополнительном коллекционных хранилищах ЗИН РАН в значительной степени изношены и не соответствуют современным стандартам хранения зоологических материалов. Огромный объем УФК ЗИН РАН нуждается в дополнительных коллекционных площадях.

В рамках выполнения Проекта в 2021–2023 гг. предполагается провести существенную модернизацию коллекционной структуры УФК ЗИН РАН. Подготовлен и утвержден общий План переоборудования коллекционных хранилищ УФК ЗИН РАН (Приложение Е). Данный план включает задачи по подготовке специализированных помещений для создаваемых в рамках Проекта новых типов коллекций: 2022 г. – «Фиксированные ткани животных для генетических исследований» (п.2.2 Плана-графика), 2023 г. – «Культуры гетеротрофных протистов» (п. 3.3 Плана-графика).

План работ ЗИН РАН на 2022-2023 гг. по проектированию коллекционных хранилищ (см. Приложение Е):

- 1) ремонт и переоборудование части Главного здания ЗИН (помещения бывшего Архива) согласно разработанной проектно-сметной документации (1 полугодие 2022 г.),
- 2) подготовка документации по ремонту и локальному переоборудованию помещений коллекционного хранилища «Шувалово» для установки современных систем хранения (1 полугодие 2022 г.),
- 3) локальное переоборудование, косметический ремонт и подготовка для установки современных систем хранения в помещениях коллекционного хранилища «Шувалово» (1 полугодие 2022 г.),
- 4) проведение конкурсных процедур на проектирование, изготовление и поставку специализированных систем хранения зоологических коллекций для части Главного здания ЗИН (помещения бывшего Архива) и коллекционного хранилища «Шувалово» (1 полугодие 2022 г.),
- 5) ремонт и подготовка помещений Лабораторного здания ЗИН РАН для размещения и функционирования новой коллекции «Фиксированные ткани животных для генетических исследований» (2 полугодие 2022 г.),
- 6) проектирование, изготовление и поставка специализированных систем хранения для части Главного здания ЗИН (помещения бывшего Архива) (2 полугодие 2022 г.),
- 7) проектирование, изготовление и установка систем хранения в помещениях коллекционного хранилища «Шувалово» (2 полугодие 2022 г.),
- 8) монтаж и пуско-наладочные работы систем хранения в отремонтированном помещении бывшего Архива (2 полугодие 2022 г. – 1 полугодие 2023 г.),
- 9) перемещение териологических коллекций из Главного здания ЗИН РАН в новое коллекционное хранилище в помещениях бывшего Архива (2 полугодие 2023 г.),
- 10) размещение коллекционных материалов УФК ЗИН РАН в помещениях коллекционного хранилища «Шувалово» (2 полугодие 2022 г. – 1 полугодие 2023 г.),
- 11) ремонт и подготовка помещений Лабораторного здания ЗИН РАН для размещения и функционирования новой коллекции «Культуры гетеротрофных протистов» (2 полугодие 2023 г.).

На основании этого Плана в соответствии с п. 1.5 Плана-графика было подготовлено Техническое задание на модернизацию коллекционной инфраструктуры УФК ЗИН РАН на период выполнения Проекта (см. Приложение Ж).

В 2021 г. реализована часть Технического задания (см. Приложение Ж: Проект технического задания № 2021-01) по разработке проектно-сметной документации для приспособления части Главного здания ЗИН РАН (помещения бывшего Архива РАН) под коллекционное хранение.

В 2020 г. в оперативное управление ЗИН РАН распоряжением Минобрнауки России от 28.10.2020 г. № 398-р были переданы помещения Санкт-Петербургского филиала Архива РАН. Данная постройка (общая площадь 476,8 кв.м.) имеет фактический адрес: г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 1-3, литер «Г» (Рисунок 9), и конструктивно представляет собой часть Главного здания ЗИН РАН. Этот корпус соединен с южным крылом Главного здания переходом и имеет общие коммунальные сети. Предполагаемая модернизация помещений бывшего Архива РАН в качестве коллекционных хранилищ ЗИН РАН позволит оптимизировать работу сотрудников Лаборатории териологии, значительная часть коллекций которой ныне располагается именно в южном крыле Главного здания. Согласно разработанному (и утвержденному плану работ ЗИН РАН (см. Приложение Е), териологические коллекции из северного крыла Главного здания ЗИН РАН будут перемещены в новые помещения бывшего Архива. Таким образом, все основные коллекции этого структурного подразделения ЗИН РАН будут расположены недалеко друг от друга, что будет способствовать оптимальной работе с ними.



Рисунок 9 – Здание бывшего Архива РАН (Университетская наб., д. 1-3, литер «Г») – часть южного крыла Главного здания ЗИН РАН (в левой части кадра виден переход и южное крыло Главного здания)

В соответствии с планом развития и модернизации коллекционной инфраструктуры УФК ЗИН РАН в данном здании, после соответствующих ремонта и переоборудования, предполагается разместить часть териологической коллекции. В новом коллекционном хранилище будут размещены материалы сухой коллекции (шкуры, тушки, чучела) и материалы спиртового хранения. Именно эта часть териологической коллекции ЗИН РАН

является наиболее важной с точки зрения генетических исследований и сохранения генетической информации. Новое хранилище призвано обеспечить поддержание постоянного температурного и влажностного режима, что критично для последующих исследований, связанных с выделением ДНК из коллекционных экземпляров. Современные специализированные системы хранения (шкафы и стеллажи компакторного типа) позволят наиболее рационально использовать новые коллекционные помещения.

Согласно п. 1.5 Плана-графика и утвержденному План работ ЗИН РАН на 2022-2023 гг. по проектированию коллекционных хранилищ (Приложение Е) в 2021 г. были подготовлены проектная документация и техническое задание на модернизацию данного здания с целью последующего размещения там коллекционной инфраструктуры УФК ЗИН РАН. Подготовку проектной документации осуществляла специализированная проектная организация ООО «Гипротейтр» (свидетельство СРО-П-012-077-06 от 13.02.2015 г.), входящая в Ассоциацию проектных организаций «Союзпетрострой-Проект».

ООО «Гипротейтр» имеет лицензию № МКРФ 00544 от 22.02.2013 г. Министерства культуры Российской Федерации, разрешающую разработку проектной документации по консервации, реставрации и воссозданию объектов культурного наследия (памятников истории и культуры) народов Российской Федерации и разработку проектной документации по ремонту и приспособлению объектов культурного наследия (памятников истории и культуры) народов Российской Федерации.

Отчетная документация, представленная ООО «Гипротейтр» по результатам проведенных изысканий, включает:

1) Проектно-сметную документацию по приспособлению помещений бывшего Архива, расположенных в Главном здании ЗИН РАН, для хранения фондовых коллекций ЗИН РАН, включающую детальную документацию (см. Приложение З) по следующим разделам:

- Пояснительная записка,
- Техническое обследование,
- Обмерные чертежи,
- Архитектурные решения,
- Внутреннее электрооборудование и электроосвещение,
- Внутренние сети водоснабжения и водоотведения,
- Отопление и вентиляция,
- Сметная документация.

Сводный сметный расчет (в уровне цен 4 квартала 2021 г.) на проведение работ по приспособлению помещений бывшего Архива, расположенных в Главном здании ЗИН РАН, для хранения фондовых коллекций ЗИН РАН составляет 9 001 440 рублей.

2) Проектно-сметную документацию по разработке комплексной системы обеспечения безопасности помещений бывшего Архива, расположенных в Главном здании ЗИН РАН, для хранения фондовых коллекций ЗИН РАН, включающую детальную документацию (см. Приложение И) по следующим разделам:

- Техническое обследование,
- Автоматическая пожарная сигнализация,
- Охранная сигнализация,
- Система видеонаблюдения,
- Система контроля и управления доступом,
- Система оповещения и управления эвакуацией,
- Сметная документация.

Сводный сметный расчет (в уровне цен 4 квартала 2021 г.) выполнения работ по устройству комплексной системы обеспечения безопасности помещений бывшего Архива, расположенных в Главном здании ЗИН РАН, для хранения фондовых коллекций ЗИН РАН составляет 2 125 780 рублей.

Проектно-сметная документация (Приложения 3–И) положена в основу технического задания на модернизацию Главного здания ЗИН РАН (помещения бывшего Архива), запланированную на 2022 г. (см. Приложение Ж: Проекты технических заданий № 2022-01 и № 2022-02).

5.2 ПРОВЕДЕНИЕ РЕМОНТА В ЛАБОРАТОРНЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ И КОЛЛЕКЦИОННЫХ ХРАНИЛИЩАХ ЗИН РАН

Согласно плану-графику выполнения Проекта, в 2021 г. проведены ремонтные и отделочные работы в следующих помещениях ЗИН РАН:

- 1) Главное здание ЗИН РАН (г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д.1):
 - помещение 137 (17,9 кв.м.), предназначенное для кабинета молекулярно-генетических исследований лаборатории ихтиологии.
 - помещение 82 (23,2 кв.м.), предназначенное для кабинета молекулярно-генетических исследований лаборатории паразитических червей и протистов.
 - помещение 35 (74,7 кв.м.), предназначенное для хранения морфологических коллекций лаборатории териологии.
- 2) Лабораторное здание ЗИН РАН (г. Санкт-Петербург, Английский пр., д. 32А:

– помещения 113, 119, 120 (общая площадь 27,8 кв.м.) ЦКП «Таксон», предназначенные для размещения оборудования для томографических и микроскопических исследований на основе УФК ЗИН РАН: компьютерный томограф NeoScan N80, сканирующий электронный микроскоп Hitachi TM1000, критическая точка для высушивания образцов, прибор для покрытия образцов платиной и бинокляр для пробоподготовки;

– помещение 206 (13,7 кв.м.) ЦКП «Таксон», предназначенное для размещения оборудования для микроскопических исследований (ультрамикротом) на основе УФК ЗИН РАН;

– помещения 409 и 410 (27,9 кв.м.), предназначенные для размещения сотрудников новой лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики, созданной в 2021 г. в рамках выполнения данного Проекта (см. Раздел 2 отчета);

– помещение 413 (13,8 кв.м.), предназначенное для размещения сотрудников ЦКП «Таксон»;

– помещения лаборатории по изучению паразитических червей и протистов (общая площадь 52,3 кв.м.), предназначенные для работы с коллекциями паразитических протистов УФК ЗИН РАН.

3) Коллекционное хранилище «Шувалово» (г. Санкт-Петербург, Заповедная ул., д.51, корп. 2.):

– помещение (100,0 кв.м.), предназначенное для камеральной обработки материалов УФК ЗИН РАН, размещенных в коллекционном хранилище «Шувалово».

Общая площадь отремонтированных помещений составила 351,3 кв.м., что на 31.3 кв.м. больше площади, заявленной в Плане-графике на 2021 г. (320 кв.м.). В ходе конкурсных процедур на проведение ремонтных работ (в соответствии с ФЗ 44) получилась некоторая экономия запланированных на ремонты средств, что позволило частично выполнить ремонт помещений, запланированных на 2022 г. (см. п.2.5 Плана-графика).

5.3 ЗАКУПКА ОБОРУДОВАНИЯ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ И МОДЕРНИЗАЦИИ УСЛОВИЙ ХРАНЕНИЯ КОЛЛЕКЦИЙ УФК ЗИН РАН

Правильное хранение материалов зоологических коллекций, с использованием современного оборудования, специальных материалов и методов консервации позволяет сохранять уникальные коллекционные образцы и, что особенно важно, позволяет получать

важную научную информацию с использованием современных молекулярно-генетических технологий.

В рамках модернизации условий хранения коллекций УФК ЗИН РАН были приобретены морозильные камеры для дезинфекции/дезинсекции «сухих» коллекций и хранения отдельных коллекционных материалов, низкотемпературные холодильники для криоконсервации тканей животных для молекулярно-генетических исследований; коллекционные шкафы и лабораторная мебель (препаровальные столы), термостаты (для подготовки паразитологических препаратов).

Для идентификации и каталогизации отдельных коллекционных материалов ряда структурных подразделений ЗИН РАН (ЦКП «Таксон», Лаборатория ихтиологии, Лаборатория паразитических червей и протистов, Лаборатория клеточной и молекулярной протистологии) используются коллекции ДНК. Многие мелкие экземпляры беспозвоночных животных в процессе генетических исследований полностью уничтожаются и абсолютно необходимо в таких случаях иметь коллекцию ДНК, извлеченных из этих экземпляров. Кроме того, коллекция ДНК необходима и в тех случаях, когда экземпляры остаются в базовой коллекции тканей и в фондовой коллекции ЗИН. Выделенная ДНК может очень долго сохраняться при низких температурах (-80 и ниже). Для оптимизации для оптимизации и поддержания коллекции тканей и ДНК, коллекций протистов и клеточных культур было приобретено дополнительное оборудование (центрифуги, эксикаторы, паровые автоклавы, термошейкер, ламинарный шкаф, трансиллюминатор, камеры для электрофореза).

5.4 ЗАКУПКА РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ТЕКУЩЕЙ КОЛЛЕКЦИОННОЙ РАБОТЫ

Содержание естественно-научных коллекций, как уникальной организационной формы хранения общебиологической информации, включает ряд позиций, связанных со спецификой их эксплуатации и модернизации. Поскольку биологический материал чрезвычайно восприимчив к агентам биологического разрушения, коллекционные образцы требуют тщательного хранения и щадящего режима использования.

Текущая коллекционная работа, включающая поддержание, пополнение и развитие биологических коллекций (подготовка и монтировка образцов, включение их в основные фонды, борьба с вредителями, пересев и консервация живых культур и т.п.) требует определенных расходных материалов и постоянного мониторинга коллекций.

В 2021 г. для текущей коллекционной работы были закуплены следующие расходные материалы:

– этиловый спирт (1600 литров), предназначенный для хранения коллекционных материалов, включая первичную фиксацию, замену и долив фиксирующей жидкости в основных коллекциях следующих структурных подразделений ЗИН РАН: лаборатория ихтиологии, лаборатория морских исследований, лаборатория герпетологии, лаборатория орнитологии, лаборатория клеточной и молекулярной протистологии, лаборатория по изучению паразитических членистоногих, лаборатория пресноводной и экспериментальной гидробиологии, лаборатория систематики насекомых, лаборатория териологии, Беломорской биологической станции, ЦКП «Таксон», Зоологического музея ЗИН РАН.

– емкости для хранения коллекционных экземпляров (энтомологические коробки, банки, пробирки, пластиковые контейнеры).

– 289 упаковок (по 100 штук) № 00–7 стальных энтомологических булавок для наковки экземпляров насекомых и одна упаковка (500 штук) стальных булавок для донных этикеток в коробках.

Выводы: Подготовлен и утвержден план переоборудования коллекционных хранилищ ЗИН РАН на 2022-2023 гг. Подготовлено и техническое задание на модернизацию коллекционной инфраструктуры УФК ЗИН РАН. Разработана проектная документация для модернизации части Главного здания ЗИН РАН (помещения бывшего Архива). Осуществлен ремонт лабораторных помещений и хранилищ на общей площади 351.3 кв.м. Приобретено оборудование для оптимизации и модернизации условий хранения коллекций УФК ЗИН РАН. Закуплены расходные материалы для текущей коллекционной работы.

6 ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ И ГЕНОТИПИРОВАНИЕ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ В СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ФИКСИРОВАННЫХ ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ ИБР РАН

В 2021г. в рамках выполнения Проекта № 075-15-2021-1069 ИБР РАН проводил работы по генетической характеристике коллекции ИБР РАН по Соглашению между ЗИН РАН и ИБР РАН № 261 от 08.10.2021 г.

Одним из основных общепринятых молекулярных маркеров, на основании которых делаются заключения о видовом и подвиговом статусе таксонов, является митохондриальная ДНК и ее фрагменты, начиная от баркодингового участка гена цитохромоксидазы I (COI) и заканчивая полными последовательностями митохондриального генома. Преимущество митохондриальных маркеров заключается в сравнительно высокой скорости накопления изменчивости и отсутствии рекомбинации. Также по некоторым фрагментам мтДНК откалиброваны т.н. «молекулярные часы» для разных групп видов, позволяющие по количеству нуклеотидных замен в последовательности оценить время расхождения ветвей филогенетического древа. Для млекопитающих и птиц такой последовательностью является ген цитохрома б (Cyt b) [10, 11].

Кроме того, для описания популяционно-генетической структуры, оценки генетического разнообразия локальных популяций, степени их изоляции и генетической дистанции между ними «золотым стандартом» являются ядерные микросателлиты, т.е., короткие tandemные повторы ядерного генома (short tandem repeats, STR) [12].

Молекулярно-генетические маркеры ядерного генома могут эффективно использоваться при генетическом определении видовой принадлежности экземпляров животных [13]. Благодаря более низкой изменчивости, по сравнению с последовательностями мтДНК, в маркерах яДНК информацию о видовой принадлежности могут дать один или несколько полиморфных нуклеотидных локусов. Основанный на этом метод рестрикции маркерных ПЦР фрагментов позволяет выполнить генетическую диагностику большого числа образцов без секвенирования. Однако системы видовых маркеров яДНК чаще всего являются специфичными для определенных таксономических групп и требуют предварительной разработки.

В настоящее время имеются две системы, в которых можно провести определение видов на основе сравнения нуклеотидных последовательностей [14]. Одна из них создана в рамках международного проекта, так называемого ДНК-баркодинга. В качестве

молекулярного маркера в ней используется фрагмент первой субъединицы митохондриального гена COI длиной 648 п.н. Вторая основана на базе данных GenBank NCBI и позволяет проводить сравнение и идентификацию видовой принадлежности по всем фрагментам как митохондриального, так и ядерного генома тестируемых видов, если они присутствуют в базе. В последнее время появилась возможность проводить сравнение на уровне полногеномных данных мтДНК и яДНК. Обе системы активно расширяют и пополняют свои базы данных, в связи с чем потенциал и точность видовой диагностики постоянно повышаются.

Из митохондриальных маркеров COI очень активно и массово используется в видовой диагностике беспозвоночных. Исторически сложилось так, что у позвоночных, и, в частности, млекопитающих наиболее часто используемым маркером мтДНК является *сyt b* [15]. Контрольный регион мтДНК (CR), проявляющий более высокую изменчивость, чем кодирующие участки митохондриального генома, активно применяется при исследовании внутривидовой генетической изменчивости видов.

По мере накопления данных о структуре ядерных геномов повышается возможность видовой диагностики по их фрагментам. Видовая диагностика с помощью маркеров яДНК с успехом используется при разграничении близких видов и в изучении гибридных зон [16, 17].

Несмотря на универсальность и стандартизацию методов система ДНК-баркодирования имеет существенные ограничения в видовой диагностике млекопитающих. Более достоверным и качественным подходом в молекулярном определении видов является комплексный подход с использованием системы нескольких молекулярных маркеров кmtДНК и яДНК. В этом случае система оценки сходства нуклеотидных последовательностей BLAST, реализованная на базе данных GenBank NCBI, является более удобной и универсальной для генетической характеристики образцов позвоночных животных.

Существующая система подвидовых названий птиц зачастую не согласуется с данными анализа молекулярно-генетических маркеров. Например, митохондриальная ДНК птиц в 97% случаев не отражает изоляции, предсказанной на основании морфологических данных или реально существующей по данным исследования экологии, поведения и миграций [18]. В то же время именно эти различия имеют ключевое значение для принятия мер по охране вида, поскольку именно они отражают разнообразие вида и, что важнее, адаптацию локальных популяций к местообитаниям.

Также у птиц существуют и другие ограничения на использование классических митохондриальных маркеров для генотипирования. Результаты, полученные с помощью

митохондриальных маркеров, могут оказаться искаженными за счет учета в анализе ПЦР-продуктов не митохондриального генома, а ядерных митохондриальных псевдогенов (NUMTs), весьма распространенных у птиц, в том числе, у соколов, у которых они многочисленны и обширны [19]. В частности, ген цитохромоксидазы I практически обязательно имеет псевдогены в составе ядерного генома, что крайне затрудняет не только анализ филогенетических отношений, но иногда и видовую идентификацию с помощью данного маркера.

Разработка универсальных праймеров на другие области мт-генома и более изменчивые маркеры, чем ген COI, сталкивается с еще одной трудностью: изменением порядка генов в митохондриальном геноме у некоторых таксонов птиц. Контрольный регион у большинства таксонов находится между генами тРНК глутамина и фенилаланина, однако у семейства Соколиные Falconidae и некоторых других типичный контрольный регион находится между тРНК триптофана и пролина, а на месте контрольного региона находится т.н. псевдоконтрольный регион – некодирующая область митохондриального генома с не до конца исследованными функциями [20].

Что касается использования линных перьев для генетического анализа, основным источником ДНК является сгусток крови в мезенхимной пульпе пера и, в меньшей степени – кончик очина (Рисунок 10). Опахало пера может быть использовано для анализа изотопного состава методами газовой хроматографии и масс-спектрометрии, однако для выделения ДНК эта часть пера не подходит.

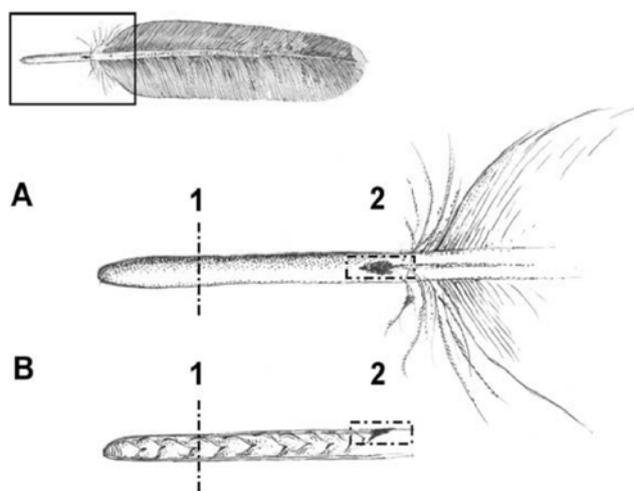


Рисунок 10 – Выделение ДНК из линного пера. 1 – очин, 2 – область мезенхимной пульпы, основной источник ДНК в линном пере [21]

Поскольку у птиц эритроциты имеют ядро, количества ДНК из мезенхимной пульпы вполне достаточно для анализа с применением метода ПЦР, однако ДНК в линном пере

сильно фрагментирована [21]. Это накладывает дополнительные ограничения на использование универсальных праймеров для генотипирования по ядерным и митохондриальным маркерам, поскольку полная длина, например, контрольного региона у птиц превышает 1000 п.н., и эта последовательность обладает сильной изменчивостью между видами и значительным внутривидовым разнообразием. При этом в линном перье редко сохраняются фрагменты такой длины, что делает невозможным ПЦР с использованием универсальных внешних праймеров на более консервативные области митохондриального генома. В связи с этим генотипирование образцов линных перьев птиц по митохондриальным и ядерным маркерам обычно требует разработки видоспецифичных праймеров для каждого маркера, которые, тем не менее, могут обладать некоторой кросс-специфичностью для близких видов.

Еще одной особенностью линных перьев как неинвазивных образцов для молекулярно-генетического анализа является невозможность установления особи, которой принадлежит перо, при сборе. У хищных птиц, которые не имеют особого периода полной линьки и при этом могут совместно насиживать кладку и выкармливать птенцов, перья, собранные с гнезда, могут принадлежать как самке, так и самцу, даже если вероятность найти на гнезде перья самки гораздо выше. Одновременно с этим на гнездах хищников могут присутствовать перья их добычи, а также иные: например, степные орлы и курганники зачастую приносят в гнездо много мусора, найденного в степи, и используют его для маскировки или выстилки гнезда. Однако последняя вероятность менее существенна, чем определение половой принадлежности перьев хозяев гнезда, поскольку обнаружение перьев как самки, так и самца дает вдвое больше материала для оценки генетического разнообразия и структуры популяции, в частности, по митохондриальным маркерам.

Долгое время главным препятствием для разработки метода молекулярного определения пола птиц было отсутствие привязанного к хромосомам маркера, отвечающего за пол, такого, как ген SRY у млекопитающих. Кроме того, в отличие от млекопитающих, птицы имеют обратную систему половых хромосом: самки гетерогаметны – ZW, самцы – гомогаметны ZZ. Однако в 1996 г. Ханс Эллегрен открыл первый ген в половых хромосомах птиц – ген хромохеликазы 1 (CHD1), для которого была показана различная длина интронов в Z- и W-хромосомах при высокой консервативности последовательностей экзонов [22].

В 1999 г. Ханс Эллегрен вместе с Анн-Карин Фридольфссон разработали метод молекулярного определения пола птиц по результатам ПЦР с парой праймеров 2550F/2718R [23]. Этот метод показал высокую надежность при кросс-специфичности для многих видов птиц разных семейств, однако имел также некоторые ограничения: размер

продуктов с W-хромосомы для представителей отряда Сивообразные превышал 1000 п.н. Использование этой пары праймеров для молекулярного определения пола на образцах ДНК сов низкого качества привело к ошибочному предположению об отсутствии разницы в длине интронов гена CHD1 у отдельных, причем не родственных друг другу, видов Сивообразных, например, у обыкновенного филина *Bubo bubo* и болотной совы *Asio flammeus* [24]. Такая особенность делает данный универсальный метод определения пола применимым для коллекции линных перьев только с ограничениями по видам и требует дополнительной проверки.

Помимо этой тест-системы, широко распространены и другие пары универсальных праймеров, фланкирующих другие интроны гена хромохеликазы 1 в Z- и W-хромосомах. Такими универсальной системы Р. Гриффитса и соавторов с праймерами P2/P8 [25], и праймеры 1232L/1272H, фланкирующие короткий интрон на краю гена CHD1 и дающие ПЦР-продукты небольшого размера [26]. Однако с этими праймерами существует проблема интерпретации данных, поскольку разница между продуктами с Z- и W-хромосом также невелика.

Для генетической характеристики образцов млекопитающих из коллекции фиксированных тканей животных ИБР РАН были подобраны и опробованы традиционно используемые в изучении генетической изменчивости животных маркеры.

Наиболее универсальным и пригодным для генетического тестирования видовой принадлежности является полноразмерная последовательность гена *Cyt b* (1140 п.н.). Использование универсальных праймеров позволяет получить ПЦР-продукт в большинстве случаев. Тем не менее мутационные замены в местах посадки праймера на матричной цепи ДНК могут потребовать изменения последовательности олигонуклеотидов или разработки нового праймера с локализацией отжига на другом участке цепи. Нами были опробованы праймеры для одной из наиболее представленных в коллекции групп грызунов – наземных беличьих (триба *Marmotini*) и для слепышей рода *Spalax*. Для обеих групп использовались специфические праймеры.

Последовательность контрольного региона мтДНК проявляла высокую видовую специфичность в исследованных группах, а также использовалась нами для верификации внутривидовых таксономических групп (подвидов). У наземных беличьих видовое определение по маркерам митохондриальной ДНК затруднено в связи с широким распространением случаев межвидовой интрогрессивной гибридизации [27]. Для выявления образцов, имеющих смешанный генотип, и их генотипирования мы апробировали и использовали маркеры яДНК. Прежде всего были исследованы образцы особей, отловленных вне зоны перекрывания ареалов скрещивающихся видов.

Для контроля определения пола экземпляра образца и определения видовой принадлежности отцовских линий использовался фрагмент гена SmcY, локализованный на Y-хромосоме.

Последовательности использованных праймеров и номенклатурные названия митохондриальных и ядерных молекулярно-генетических маркеров представлены в Таблице 5.

В процессе подбора и тестирования молекулярных маркеров и для целей генетической характеристики образцов коллекции было выполнено 1129 стандартных операций генотипирования. Количество генотипированных образцов представлено в Таблице 6.

Таблица 6 – маркеры и праймеры для генотипирования образцов тканей млекопитающих

Маркер	Таксон	Длина последовательност и маркера	Название праймера	Олигонуклеотидная последовательность 5'-3'	Источник
Маркеры митохондриального генома					
Cytb	Marmotini	1140	L14725_M13F	TGTA AACGACGGCCAGTTGAAAAAYCATCGTTGT	[16] модифицированный
			H15915_M13R	CACAGGAAACAGCTATGACCTCTCATTTYWGGTTTACAAGAC	[16] модифицированный
Cytb	Spalax	1600	SpalaxCBfw2	TGACATGAAAAATCATCG	[28]
			SpalaxCBrv2	CGAGAAGAGAGGТАCTA	[28]
CR	Marmotini	1007	MDL1_M13F	TGTA AACGACGGCCAGTTCCACCTTCAACTCCCAAAGC	[16] модифицированный
			H00651_M13R	CACAGGAAACAGCTATGACCTAACTGCAGAAGGCTAGGACCAAACC T	[28] модифицированный
CR	Spalax microphtalmus	1013	mtSpx	TCCCACCATCAACACCCAAA	Вновь разработанные
			DL-4H	TAATTATAAGGCCAGGACCA	
Маркеры ядерного генома					
GBA	Marmotini	337	GBA-f	AAAAGCTTCGGCTACAGCTC	[29]
			GBA-r	TCCCTTCACTTTCTGGAACTTC	[29]
BGN	Marmotini	754	BGN-f	CTCCAAGAACCACCTGGTG	[29]
			BGN-r	TTCAAAGCCACTGTTCTCCAG	[29]
MGF	Marmotini	778	MGF-f	ATCCATTGATGCCTTCAAGG	[29]
			MGF-r	CTGTCATTCTAAGGGAGCTG	[29]

i6p53	Marmotini	~590	Sp536x	CTCCTCAGCATCTCATCCGA	[16]
			Sp537a	CTAGAGTCTTCCAACGTGAT	[16]
PRKCI	Marmotini	593	PRKCI-f	GGGTAATAGGAAGAGGAAGTT	[29]
			PRKCI-r	CCAACAAGGAAAGGATGAT	[29]
i5HoxB	Marmotini	664	HOX b5-r	GAACTCCTTCTCCAGCTCCA	[17]
			HOX b5-d	AGACTCCTCAGATATTCCCC	[17]
i13BCR	Marmotini	674	SMD1	CACATTCCACTGACCATCAAC	[17]
			D3	AGTGGCTGAGTGGACGATGA	[17]
i8SmcY	Marmotini	618	Smc8D	ATGCTCTCGTGGGGATGAAG	[16]
			Smc9R	ACAGGCATGTTGAAGTAGTC	[16]

Таблица 6 – количество генотипированных образцов млекопитающих по выбранным маркерам

Вид	Cytb	CR	i5HoxB	i13BCR	i8SmcY	BRCA1	GBA	BGN	MGF	p53	PRKCI
<i>Spermophilus major</i>	82	24	1	48	94		2	41	12	1	42
<i>Spermophilus brevicauda</i>	16	38	2	12	11		2	10	5	4	28
<i>Spermophilus fulvus</i>	3	13		9	9		1	5	3		4
<i>Spermophilus erythrogenys</i>	1	5	1	4	4		1	2	1	1	1
<i>Spermophilus pigmaeus</i>	7	23		6	7		1	17	1	1	14

Spermophilus relictus	2	2						1			
Spermophilus pallidicauda	10	68	5	4	13	3					
Spermophilus alaschanicus	8	12	5	4	5	5					
Spermophilus suslicus				6		3					
Urocitellus undulatus	18	136	19	13	7	11					
Urocitellus parryii				2	1	1					
Marmota baibacina		45				2					
Marmota sibirica		27		3		4					
Marmota bobak	3	15									
Marmota camtschatica		2									
Marmota menzbieri	3										
Marmota olympus	2										
Spalax microphtalmus	2	37									

В связи с особенностями строения митохондриального генома многих хищных птиц, распространенностью митохондриальных псевдогенов в ядерном геноме и постоянным присутствием в образцах ДНК из линных перьев генетического материала облигатных паразитов птиц (например, грибов отдела *Ascomycota*), использование для птиц любых применяемых для генотипирования млекопитающих универсальных праймеров становится невозможным.

Для генетической характеристики и генотипирования коллекционных образцов в специализированной коллекции фиксированных тканей животных ИБР РАН (линные перья) в качестве маркера, имеющего наибольшую разрешающую способность и при этом подходящего для определения вида образца, был выбран контрольный регион (D-петля) митохондриального генома. Поскольку данный маркер не является универсальным, особенно у птиц, нами были сконструированы специфические праймеры для генотипирования образцов отдельных видов, наиболее представленных в коллекции, и для этих праймеров была проверена кросс-специфичность на близкородственных видах. В качестве второго маркера нами был выбран митохондриальный ген цитохрома *b*.

Кроме того, специфика коллекции линных перьев заключается в том, что перья, собранные с одной точки и представляющие собой единицу хранения, могут при этом принадлежать разным особям. В случаях, когда перья собраны с гнезд, в сборах могут быть представлены перья как от самки, так и от самца, поскольку у многих хищных птиц самец также принимает участие в насиживании и выкармливании потомства. Как следствие, в процессе генотипирования образца нам также необходимо было определить пол, для чего мы сравнили несколько тест-систем.

Также в связи с трудностями идентификации видов соколов группы *Hierofalco* и, в случае линных перьев, трудностями отличия их от сапсана *Falco peregrinus*, мы также использовали анализ ядерных микросателлитов, для которых ранее на малых выборках были показаны отличия в генотипах балобана *F. cherrug* и кречета *F. rusticolus* (Dawna et al., 2008).

Последовательности праймеров представлены в Таблице 7.

Таблица 7 – маркеры и праймеры для генотипирования образцов линных перьев хищных птиц

Маркер	Вид	Последовательность праймеров	Кросс-специфичность	Ссылка	Примечания
D-петля мт-генома (полная последовательность)	<i>Aquila nipalensis</i>	ANDfor GCCCTCGAAAATAAAATGC ANDrev GGGGTGTCTTTGTGGCTCGGTTGG	<i>Aquila</i> sp. (<i>A. nipalensis</i> , <i>A. heliaca</i> , <i>A. rapax</i> , <i>A. chrysaetos</i>)	[30]	
D-петля мт-генома (полиморфный участок)	<i>Aquila nipalensis</i>	AND2for CCCCCGGGCTAAATCCATGCC AND2rev GTCCCACAAGCATTCACTA	<i>Aquila</i> sp. (<i>A. nipalensis</i> , <i>A. heliaca</i> , <i>A. rapax</i>)	[30]	Подходят для линных перьев и музейных образцов
Мт-ген цитохрома b (полная последовательность)	<i>Aquila chrysaetos</i>	CytbAfor CCTCCACACCGGCCTAATCAA CytbArev TTTCGGGCCGGGTAACCTAAG	<i>Aquila</i> sp. (<i>A. chrysaetos</i> , <i>A. nipalensis</i> , <i>A. heliaca</i>)	Вновь разработанные	Не тестировали на <i>A. rapax</i>
D-петля мт-генома (полная последовательность)	<i>Falco</i> sp.	FCDfor TTGGCCAAGTACTTCACTCTCCT FCDrev GGTTGGGGGTTATTGTTGACTTTG	<i>Falco</i> sp. (<i>F. cherrug</i> , <i>F. rusticolus</i> , <i>F. peregrinus</i>)	Вновь разработанные	На остальных видах <i>Falco</i> не тестировали
D-петля мт-генома (фрагмент)	<i>Falco</i> sp.	FCR1for AACCCCTCCTAATCCTCCTCCC	<i>Falco</i> sp. (<i>F. cherrug</i> , <i>F. rusticolus</i>)	Вновь разработанные	На остальных видах <i>Falco</i> не тестировали
D-петля мт-генома (фрагмент)	<i>Falco</i> sp.	FCR1rev CTGACGCTGGTCGTGTAATG	<i>Falco</i> sp. (<i>F. cherrug</i> , <i>F. rusticolus</i>)	Вновь разработанные	На остальных видах <i>Falco</i> не тестировали
D-петля мт-генома (фрагмент)	<i>Falco</i> sp.	FCD3for ACTAAACCCATGCCCTGTAT	<i>Falco</i> sp. (<i>F. cherrug</i> , <i>F. rusticolus</i>)	Вновь разработанные	На остальных видах <i>Falco</i> не тестировали

D-петля мт-генома (фрагмент)	Falco sp.	FCD3rev GAACCAACCGCCCCAAAAAG	Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus)	Вновь разработанные	На остальных видах <i>Falco</i> не тестировали
D-петля мт-генома (фрагмент)	Falco sp.	FCD4for GCCCTTCTCCGAGCCATCTG	Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus)	Вновь разработанные	На остальных видах <i>Falco</i> не тестировали
D-петля мт-генома (фрагмент)	Falco sp.	FCD4rev GGGTAGGGGGTTTTAAGTTTTTGT	Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus)	Вновь разработанные	На остальных видах <i>Falco</i> не тестировали
D-петля мт-генома (фрагмент)	Falco sp.	FCD5for CGGTTTGCGTATTTGGAGTCA	Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus)	Вновь разработанные	На остальных видах <i>Falco</i> не тестировали
D-петля мт-генома (фрагмент)	Falco sp.	FCD5rev TCGGGCGGTTTAGGTTTATTGG	Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus)	Вновь разработанные	На остальных видах <i>Falco</i> не тестировали
Мт-ген цитохрома b (фрагмент)	Falco sp.	FCB1for ATCAATCCTAACTATCCTACTC FCB3rev CAGATGAAGAATAAGGATGC	Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus)	[31]	Подходят для линных перьев и музейных образцов
Мт-ген цитохрома b (фрагмент)	Falco sp.	FCB3for GACTAATCCGCAACCTACATG FCB1rev GGAAGGTGAGGTGGATTAGGG	Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus)	[31]	Подходят для линных перьев и музейных образцов
Мт-ген цитохрома b (фрагмент)	Falco sp.	FCB2for ACTGACCCGATTCTTCGCCC FCB4rev GTGAAGTAGAGGGCTTAG	Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus)	[31]	Подходят для линных перьев и музейных образцов
Мт-ген цитохрома b (фрагмент)	Falco sp.	FCB4for CCGCCTCAGTGCTAATCC FCB2rev GGGTGTGTGGTTGGTGGG	Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus)	[31]	Подходят для линных перьев и музейных образцов
Ген <i>CHD1</i> в половых хромосомах	Универсальные	2550F GTTACTGATTCGTCTACGAGA	Aquila sp., Falco sp.	[23]	Не подходят для определения пола сов и скопы, а также

		2718R ATTGAAATGATCCAGTGCTTG	(зафиксированные образцы), Bubo bubo (зафиксированные образцы), Buteo sp., Haliaeetus albicilla		группы видов Hierofalco по линным перьям
Ген CHD1 в половых хромосомах	Универсальные	1237L GAGAAACTGTGCAAAACAG 1272H CCAGAATATCTTCTGCTCC	Aquila sp., Falco sp., Bubo sp., Buteo sp., Pandion haliaetus	[26]	
Микросателлитный локус Ufpc1	Falco peregrinus	Ufpc1F [TAMRA]TGTAAGTGGTGTAAAACAG Ufpc1R GATATTAATCCAAAGTCCA	Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus, F. peregrinus)	[32]	Подходят для линных перьев и музейных образцов
Микросателлитный локус fp13	Falco peregrinus	fp13F [FAM6]AGCTTGATTGAGGCTGTG fp13R CCAAATCCCTGCTGAAG	Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus, F. peregrinus)	[32]	Подходят для линных перьев и музейных образцов
Микросателлитный локус fp89	Falco peregrinus	fp89F [R6G]CTCTGCCCTGAATACTTAC fp89R GAATCTTGTTTGCATTGGAG	Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus, F. peregrinus)	[32]	Подходят для линных перьев и музейных образцов
Микросателлитный локус fp54	Falco peregrinus	fp54F [TAMRA]TGATTGCAGGAACCTAAGAC fp54R TACATTCGCCAAAGGACG	Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus, F. peregrinus)	[32]	Подходят для линных перьев и музейных образцов
Микросателлитный локус fp82-2	Falco peregrinus	fp82-2F [FAM6]CTGCACGAGGAGATGATG fp82-2R CCAGATAGCTGTGAAATGG	Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus, F. peregrinus)	[32]	Подходят для линных перьев и музейных образцов

Микросателлитный локус fp91-2	Falco peregrinus	fp91-2F [R6G]TТАCTAGAAAGGCTGCTCAG fp91-2R CGTATTCCAAACTTTATGGC	Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus, F. peregrinus)	[32]	Подходят для линных перьев и музейных образцов
Микросателлитный локус fp79-4	Falco peregrinus	fp79-4F [TAMRA]ATACACACATCACCCAGAAGCACC fp79-4R TCATGTGTTCCCTCCTATGAGCTG	Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus, F. peregrinus)	[32]	Подходят для линных перьев и музейных образцов
Микросателлитный локус Age5	Accipiter gentilis	Age5F [FAM6]ACGTTACAGACACCGATTACTTCC Age5R AGCCACGCGTCTGATACTTT	Accipiter gentilis, Falco sp. (F. cherrug, F. rusticolus, F. peregrinus)	[32]	Подходят для линных перьев и музейных образцов

Зафиксированные в спирте образцы растущих перьев представляют собой практически образец ткани и могут быть фрагментированы и генотипированы по подобранным маркерам, как и любая зафиксированная ткань животного. Что касается линных перьев, которые в природе существенное время находятся под воздействием прямых ультрафиолетовых лучей и температурных перепадов, они представляют собой источник обедненной и фрагментированной ДНК, основное количество которой можно выделить из мезенхимной пульпы, меньшее количество – из очина [21].

В связи с этим измерение концентрации ДНК после выделения или проверка ее качества методом горизонтального электрофореза нецелесообразны – для оценки качества выделения необходимо потратить слишком много образца. Однако качество ДНК можно оценить либо по результатам ПЦР наименьшего по размерам из митохондриальных фрагментов для генотипирования, либо по результатам молекулярного определения пола. При генотипировании проводили ПЦР с увеличенным количеством циклов (до 40). Также для всех случаев, кроме микросателлитных маркеров и стандартных методик молекулярного определения пола было показано, что ПЦР с образцами ДНК из линных перьев лучше всего идет при увеличении времени отжига и увеличении времени элонгации. Таким образом, итоговая программа ПЦР для митохондриальных маркеров выглядела так: 5 мин 94°C, (30 сек 94°C, 60 сек Т отжига, 70-90 сек 72°C) × 35 циклов, 7 мин 72°C.

Что касается молекулярного определения пола, мы сравнили эффективность двух распространенных тест-систем для некоторых видов, представленных в коллекции. Результаты ПЦР с праймерами на разные интроны гена хромохеликазы 1 (CHD1) в образцах нескольких видов хищных птиц представлены на Рисунках 11 и 12.

В результате было показано, что в зависимости от источника ДНК, вида и качества образца различные тест-системы для молекулярного определения пола могут давать противоположные результаты. Однако несмотря на то, что тест-система Кана и соавторов менее чувствительна в силу меньшего размера ПЦР-продуктов к качеству исходной ДНК, результаты ее применения, особенно на одном образце или мультивидовой выборке довольно сложно интерпретировать. В связи с этим для стандартного генотипирования была выбрана тест-система с праймерами 2550F/2718R, однако с ограничениями ее применения в случаях линных перьев сов и скопы. Также была принята обязательная повторная постановка ПЦР с праймерами 1237L/1272H в случаях: проверки качества ДНК с помощью молекулярного определения пола, получения отрицательного результата с целью избежать отбраковки образцов ДНК от самцов, т.к. размер продукта амплификации интрона между праймерами 2550F и 2718R с Z-хромосомы составляет около 700 п.н.



Рисунок 11 – Результаты ПЦР с праймерами 2550F/2718R [23]. 1 – кречет *Falco rusticolus*, мышечная ткань; 2 – скопа *Pandion haliaetus*, кровь; 3 – степной орел *Aquila nipalensis*, линное перо; 4, 5, 6 – скопа *Pandion haliaetus*, кровь; 7, 8 – филин обыкновенный *Bubo bubo*, линное перо; 9 – степной орел *Aquila nipalensis*, линное перо; 10, 11 – скопа *Pandion haliaetus*, кровь; 12 – балобан *Falco cherrug*, мышечная ткань; 13 – рыбный филин *Bubo blakistoni*, зафиксированное перо; 14, 15 – сапсан *Falco peregrinus*, плодные оболочки яйца

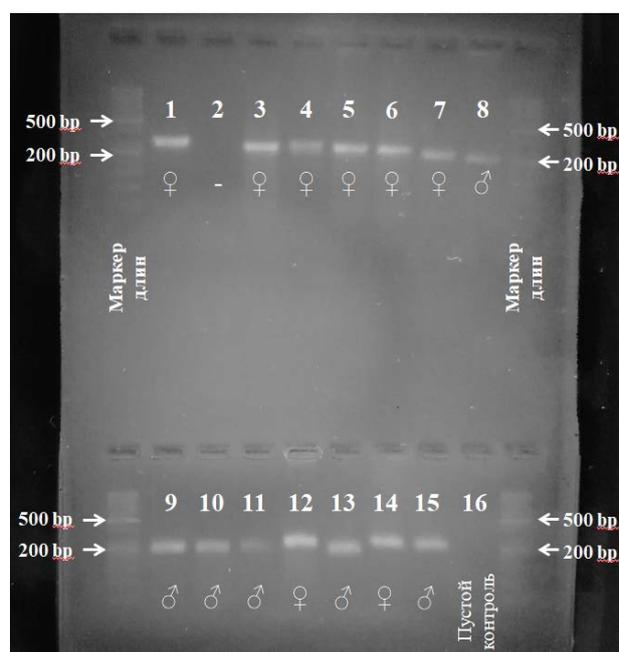


Рисунок 12 – Результаты ПЦР с праймерами 1237L/1272H [26]. 1 – кречет *Falco rusticolus*, мышечная ткань; 2 – скопа *Pandion haliaetus*, кровь; 3 – степной орел *Aquila nipalensis*, линное перо; 4, 5, 6 – скопа *Pandion haliaetus*, кровь; 7, 8 – филин обыкновенный *Bubo bubo*, линное перо; 9 – степной орел *Aquila nipalensis*, линное перо; 10, 11 – скопа *Pandion haliaetus*, кровь; 12 – балобан *Falco cherrug*, мышечная ткань; 13 – рыбный филин *Bubo blakistoni*, зафиксированное перо; 14, 15 – сапсан *Falco peregrinus*, плодные оболочки яйца

Всего нами было проведено 572 реакции генотипирования по выбранным маркерам образцов наиболее представленных в коллекции видов птиц. Количество образцов по видам и маркерам представлено в Таблице 8.

Таблица 8 – количество генотипированных образцов хищных птиц по выбранным маркерам

Вид	D-петля	cyt b	Молекулярное определение пола	Микросателлитный анализ
<i>Aquila nipalensis</i>	220	1	145	145
<i>Aquila heliaca</i>	72	1	13	72
<i>Aquila chrysaetos</i>	2	2	1	10
<i>Aquila rapax</i>	2			2
<i>Falco cherrug</i>	187	14	51	152
<i>Falco rusticolus</i>	11	11		22
<i>Falco peregrinus</i>				10
<i>Bubo bubo</i>			3	
<i>Pandion haliaetus</i>			91	

Выводы: Подобрано (с учетом международных стандартов) 2 молекулярных маркера для характеристики коллекционных экземпляров ИБР РАН. Проведено генотипирование на основе секвенирования молекулярных маркеров экземпляров коллекции фиксированных тканей животных ИБР РАН.

7 РАЗРАБОТКА СОП ДЛЯ ВНЕДРЕНИЯ СТАНДАРТОВ ПРИМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ В СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ФИКСИРОВАННЫХ ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ ИБР РАН

В 2021 г. проведена разработка стандартных операционных процедур (СОП) для внедрения стандартов применения молекулярно-генетических технологий для характеристики коллекционных образцов в специализированной коллекции фиксированных тканей животных ИБР РАН (Приложение К).

Стандартные операционные процедуры (СОП «Генотипирование образцов»), используемых для генетической характеристики коллекционных образцов были разработаны на основе выполнявшихся операций проведенного генотипирования в коллекции фиксированных тканей животных ИБР РАН. СОПы генотипирования образцов тканей животных и линных перьев хищных птиц разделены на два подраздела единой системы СОПов.

СОП «Генотипирование образцов» определяет протокол выделения ДНК, а также все действия с единицами хранения для установления особенностей генетического материала. В соответствии с Регламентом содержания коллекции для определения генетических характеристик коллекционного фонда и для обеспечения запросов исследователей из сторонних организаций, проводится выделение ДНК из коллекционных образцов и иные процедуры для выявления специфики генотипа едх. Все действия по определению генетических особенностей отдельных едх. фиксируются в Расширенном электронном каталоге. СОП «Генотипирование образцов» определяет протокол необходимых действий по следующим типам единиц хранения: а) едх. «Ткани животных»; б) едх. «Линные перья».

Генотипирование образцов едх. «Ткани животных» включает следующие операции:

а) отделение от образца фрагмента, необходимого для анализа – для выделения ДНК от образца фиксированной ткани при помощи стерильного, обработанного в пламени горелки, препаровального инструмента отделяется необходимый фрагмент ткани и переносится в стерильную пробирку, которая маркируется в соответствии с ID образца.

б) выделение ДНК при помощи специализированных наборов GeneJET Genomic DNA Purification Kit или аналогичным – при помощи автоматических дозаторов со сменными наконечниками, наборов для выделения GeneJET Genomic DNA Purification Kit (или аналогичным) и с использованием термошейкера, вортекса, аспиратора и др. происходит выделение ДНК согласно протоколу прилагаемому к используемому набору.

Полученный раствор ДНК проходит контроль качества, при помощи горизонтального электрофореза, и определяется концентрация ДНК при помощи прибора NanoDrop. Полученный раствор ДНК поступает на хранение в коллекцию ДНК, хранящуюся в холодильнике при -20°C , а аликвота доводится до концентрации рабочего раствора для дальнейшей работы по генотипированию. Все результаты, особенности ДНК и наблюдения заносятся в документы, касающиеся данного ID, печатается этикетка на пробирки с полученными растворами ДНК.

в) постановка ПЦР-реакции;

г) секвенирование маркерных фрагментов ДНК – методами ПЦР, секвенирования по Сэнгеру проводится определение генотипа особи по маркерным локусам митохондриального и ядерного геномов. В качестве маркера мтДНК используется баркод (COI), ген цитохрома б, D-петля. Анализ фрагментов яДНК значительно разнится в зависимости от типа решаемых научных проблем. Обработка результатов секвенирования проводится с помощью пакета программ Lasergene, использованием извлеченных из открытой базы данных Genbank (NCBI, США) нуклеотидных последовательностей анализируемых фрагментов и сравнением с собственными, полученными ранее, данными об их нуклеотидном составе. Подтверждение заявленной видовой принадлежности проводится с помощью программы BLAST (NCBI, США).

д) ведение документации – данные о результатах определения видовой принадлежности и генотипирования заносятся в электронный каталог Коллекции и аналитические базы данных.

Генотипирование образцов едх. «Линные перья» включает следующие операции:

а) отделение от образца 1 пера для анализа, этикетирование – 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. Перо этикетуется в соответствии с присвоенным ID в базе данных и фотографируется с обязательным масштабированием.

б) выделение ДНК методом Diatome DNA Prep 200 Kit или аналогичным – ДНК выделяется в стерильных условиях из мезенхимной пульпы пера [21] гуанидин-тиоцианатным или иным пригодным стандартным методом выделения ДНК. Предварительно вырезанная мезенхимная пульпа инкубируется overnight в лизирующем буфере для регидратации. Выделенному образцу ДНК присваивается уникальный ID, включающий ID образца по базе данных и порядковый номер пера, взятого из образца. Полученный образец ДНК аликвотируется на две или более части, которые помещаются в

стерильные пробирки объемом 0.5 мл. Одна из аликвот используется для генотипирования образца, остальная часть образца поступает на хранение в коллекцию образцов ДНК при температуре не выше -20°C.

в) постановка ПЦР-реакции для молекулярного определения пола – методом ПЦР с универсальными праймерами для определения пола птиц по стандартной методике [23] проводится определение пола особи, от которой было получено перо. Поскольку данный метод не подходит для отдельных видов сов, в том числе, для европейского филина [24], для линных перьев сов процедура неприменима. Данные о результатах молекулярного определения пола заносятся в электронный каталог коллекции и аналитические базы данных.

г) постановка ПЦР-реакции для генотипирования по митохондриальному маркеру;

д) секвенирование маркерных фрагментов ДНК – 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. В силу наличия у многих хищных птиц митохондриальных псевдогенов цитохромоксидазы I в ядерном геноме, баркод в качестве маркера видовой принадлежности требует проверки, а универсальные праймеры у хищных птиц не работают в силу изменения порядка организации митохондриального генома [33]. В качестве маркера используется D-петля митохондриального генома или, в редких случаях, митохондриальный ген цитохрома б.

е) ведение документации – данные о результатах определения видовой принадлежности и генотипирования заносятся в электронный каталог Коллекции и аналитические базы данных.

Подробное описание стандартных операционных процедур (СОП), выполняемых для генотипирования образцов Объединенной коллекции тканей диких животных для фундаментальных, прикладных и природоохранных исследований ИБР РАН приведено в Приложении К.

Выводы: Разработаны новые СОП «Генотипирование образцов» для применения молекулярно-генетических технологий для характеристики коллекционных образцов в специализированной коллекции фиксированных тканей животных ИБР РАН.

8 ПОДГОТОВКА К ВЫДЕЛЕНИЮ КОЛЛЕКЦИИ ТКАНЕЙ ИБР РАН ИЗ ОБЩЕГО СОСТАВА КОЛЛЕКЦИЙ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ИБР РАН В ОТДЕЛЬНУЮ МУЗЕЙНУЮ КОЛЛЕКЦИЮ ЖИВОТНЫХ

В 2021 г. была запланирована подготовка к выделению коллекции тканей ИБР РАН из общего состава коллекций лабораторных животных ИБР РАН в отдельную музейную коллекцию животных: инвентаризация коллекционных фондов и профилактические мероприятия по обеспечению сохранности образцов для выделения ДНК

В рамках подготовки к выделению коллекции тканей в отдельную музейную коллекцию животных была проведена инвентаризация замороженных, хранящихся при низкой температуре (-70°C) образцов единиц хранения коллекции фиксированных тканей животных. Образцы, не внесенные ранее в электронный каталог коллекции, были каталогизированы.

С целью обеспечения сохранности образцов были проведены профилактические работы: проверка целостности пробирок, в которых хранятся образцы, замена вышедших из строя емкостей, этикетирование, доливка фиксатора. Всего подвергнуто инвентаризации и профилактике 5197 образцов 1393 едх. 61 вида животных. Сведения о количестве инвентаризованных образцов представлены в Таблице 9.

Таблица 9 – результаты инвентаризации коллекции замороженных тканей диких животных

	Виды	едх	Количество образцов
1	<i>Allocricetulus evermannii</i>	1	5
2	<i>Alticola argentatus</i>	5	17
3	<i>Arvicola terrestris</i>	3	15
4	<i>Bufo raddei</i>	1	1
5	<i>Bufo viridis</i>	44	155
6	<i>Clethrionomys glareolus</i>	19	123
7	<i>Clethrionomys rutilus</i>	18	59
8	<i>Clethrionomys sp.</i>	5	34
9	<i>Cricetulus barabensis</i>	2	14
10	<i>Cricetulus migratorius</i>	5	21
11	<i>Ellobius alaicus</i>	31	31
12	<i>Ellobius lutescens</i>	25	25

13	<i>Ellobius talpinus</i>	9	13
14	<i>Ellobius tancrei</i>	664	753
15	<i>Hemiechinus auritus</i>	2	7
16	<i>Marmota baibacina</i>	41	530
17	<i>Marmota bobak</i>	46	924
18	<i>Marmota caligata</i>	2	11
19	<i>Marmota camtschatica</i>	7	168
20	<i>Marmota caudata</i>	11	91
21	<i>Marmota flaviventris</i>	1	2
22	<i>Marmota kastschenkoi</i>	21	336
23	<i>Marmota marmota</i>	8	23
24	<i>Marmota menzbieri</i>	2	24
25	<i>Marmota monax</i>	1	6
26	<i>Marmota sibirica</i>	32	256
27	<i>Meriones meridianus</i>	1	4
28	<i>Meriones mongolicus</i>	2	16
29	<i>Microtus agrestis</i>	4	32
30	<i>Microtus arvalis</i>	3	10
31	<i>Microtus gregalis</i>	43	328
32	<i>Microtus middendorfi</i>	5	10
33	<i>Microtus oeconomus</i>	3	24
34	<i>Microtus rossiaemeridionalis</i>	6	48
35	<i>Mus musculus</i>	4	25
36	<i>Mustela eversmanii</i>	2	20
37	<i>Ochotona dauurica</i>	3	9
38	<i>Ochotona pallasii</i>	2	5
39	<i>Phodopus sungorus</i>	4	17
40	<i>Rattus turkestanicus</i>	2	3
41	<i>Salpingotus crassicaudata</i>	1	2
42	<i>Spalax microphthalmus</i>	55	151
43	<i>Spermophilopsis leptodactylus</i>	1	8
44	<i>Spermophilus alaschanicus</i>	11	15
45	<i>Spermophilus brevicauda</i>	1	1
46	<i>Spermophilus citellus</i>	7	29

47	<i>Spermophilus dauricus</i>	33	48
48	<i>Spermophilus erythrogegens</i>	17	88
49	<i>Spermophilus fulvus</i>	13	56
50	<i>Spermophilus major</i>	9	45
51	<i>Spermophilus musicus</i>	6	13
52	<i>Spermophilus pallidicauda</i>	46	172
53	<i>Spermophilus pygmaeus</i>	6	14
54	<i>Spermophilus relictus</i>	12	26
55	<i>Spermophilus suslicus</i>	28	112
56	<i>Spermophilus xanthoprimum</i>	3	8
57	<i>Tamias sibiricus</i>	1	10
58	<i>Terricola daghestanicus</i>	1	8
59	<i>Urocyon parryi</i>	3	8
60	<i>Urocyon undulatus</i>	36	155
61	<i>Ursus arctos</i>	13	33

В рамках подготовки к выделению коллекции линных перьев в отдельную музейную коллекцию в составе коллекции тканей была проведена инвентаризация и профилактические мероприятия по обеспечению сохранности образцов. Последняя полная инвентаризация коллекции проходила в 2017 г., с тех пор в коллекцию поступили сборы 2018, 2019, 2020 и частично 2021 гг., а также часть материалов была передана для научных исследований в другие организации.

Были проведены работы по инвентаризации, проверке и обеспечению сохранности (упаковка и проверка целостности линных перьев, проверка количества фиксатора в зафиксированных образцах) для 2 019 образцов 30 видов. Образцом (единицей хранения) считали сбор перьев с одной точки или зафиксированный образец ткани (обычно растущие или свежие перья) с одной особи. Сведения о количестве образцов по видам представлены в Таблице 10.

Таблица 10 – результаты инвентаризации коллекции линных перьев ИБР РАН

	Вид	Тип образца	Количество едх в каталоге коллекции
--	-----	-------------	-------------------------------------------

1	Балобан <i>Falco cherrug</i>	Линное перо	107
		Заспиртованная ткань (растущие перья)	183
		ДНК из музейных и прочих недублированных образцов	109
2	Кречет <i>Falco rusticolus</i>	Линное перо	4
		Зафиксированные образцы	7
		ДНК из музейных образцов	27
3	Сапсан <i>Falco peregrinus</i>	Линное перо	12
		Заспиртованная ткань	1
4	Степной орел <i>Aquila nipalensis</i>	Линное перо	522
		Заспиртованная ткань (растущие перья)	119
		ДНК из музейных образцов	20
5	Орел могильник <i>Aquila heliaca</i>	Линное перо	121
		Заспиртованная ткань (растущие перья)	35
		ДНК из музейных образцов	15
6	Орлан белохвост <i>Haliaeetus albicilla</i>	Линное перо	41
		Заспиртованная ткань (растущие перья)	27
7	Большой подорлик <i>Clanga clanga</i>	Линное перо	33
		Заспиртованная ткань (растущие перья)	3
8	Мохноногий курганник <i>Buteo hemilasius</i>	Линное перо	222
		Заспиртованная ткань (растущие перья)	15
9	Канюк <i>Buteo buteo</i>	Линное перо	15
10	Обыкновенный филин <i>Bubo bubo</i>	Линное перо	72
		Заспиртованная ткань (растущие перья)	3
11	Длиннохвостая неясыть <i>Strix uralensis</i>	Линное перо	12
12	Черный коршун <i>Milvus migrans</i>	Линное перо	15
		Заспиртованная ткань (растущие перья)	4
13	Степная пустельга <i>Falco naumanni</i>	Линное перо	1
		Заспиртованная ткань (растущие перья)	3
14	Дербник <i>Falco columbarius</i>	Заспиртованная ткань (растущие перья)	1
15	Обыкновенная пустельга <i>Falco tinnunculus</i>	Линное перо	11

16	Черный гриф <i>Aegypius monachus</i>	Линное перо	24
		Заспиртованная ткань (растущие перья)	1
17	Ястреб тетеревятник <i>Accipiter gentilis</i>	Линное перо	13
18	Ястреб перепелятник <i>Accipiter nisus</i>	Линное перо	6
19	Беркут <i>Aquila chrysaetos</i>	Линное перо	50
		Заспиртованная ткань (растущие перья)	5
20	Обыкновенный курганник <i>Buteo rufinus</i>	Линное перо	34
21	Бородач <i>Gypaetos barbatus</i>	Линное перо	4
22	Кумай <i>Gyps himalayensis</i>	Линное перо	1
23	Кобчик <i>Falco vespertinus</i>	Линное перо	1
24	Ушастая сова <i>Asio otis</i>	Линное перо	12
25	Чеглок <i>Falco subbuteo</i>	Линное перо	1
26	Бородатая неясыть <i>Strix nebulosa</i>	Линное перо	1
27	Тювик <i>Accipiter brevipes</i>	Линное перо	1
28	Болотная сова <i>Asio flammeus</i>	Линное перо	3
29	Осоед <i>Pernis apivorus</i>	Линное перо	2
30	Скопа <i>Pandion haliaetus</i>	Линное перо	4
		Заспиртованная ткань (кровь)	74
		ДНК	22

Выводы: Проведены инвентаризация и профилактические мероприятия по обеспечению сохранности образцов для выделения ДНК коллекционных фондов ИБР РАН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проект направлен на инфраструктурное и информационное развитие биоресурсной коллекции на базе УФК ЗИН РАН совместно с ИБР РАН. Главная цель проекта состоит во внедрении современных молекулярно-генетических методов характеристики коллекционных образцов, новых стандартов хранения, каталогизации и мониторинга коллекций, новых способов взаимодействия с пользователями зоологических коллекций, а также создания на ее основе сетевой коллекции по направлению БРК «Музейные коллекции животных» с подготовкой высококвалифицированных кадров в области молекулярной генетики и коллекционного дела.

В отчетный период было проведено генотипирование типового материала для ряда видов грызунов из УФК ЗИН РАН. Был исследован материал, наиболее актуальный с точки зрения решения спорных номенклатурных вопросов. Секвенирование отдельных фрагментов митохондриального генома типовых экземпляров грызунов проведено для следующих таксонов – *Lemmus sibiricus bungei* Vinogradov, 1924, *Blanfordimys bucharensis* Vinogradov, 1930, *Blanfordimys bucharensis davydovi* Golenishchev et Sablina, 1991, *Lasiopodomys fuscus* Buchner, 1889, *Neodon leucurus strauchi* Buchner, 1889, *Dryomys nitedula ognevi* Heptner et Formosov, 1928, *Neodon yuldaschi* Severtzov, 1879, *Alticola argentatus* Severtzov, 1879, *Microtus gregalis egorovi* Feigin, 1980

Результаты анализа использованы для решения спорных вопросов систематики и номенклатуры сибирских леммингов Евразии. Генотипирование типовых экземпляров центральноазиатских полевок родов *Lasiopodomys*, *Blanfordimus*, *Neodon* доказало, что вне всяких сомнений таксон «*yuldaschi*» относится к роду *Blanfordimus*, а «*fuscus*» – к роду *Neodon*. Впервые получены митогеномные данные для мышшиной тупайи *Dendrogale murina* (отряд Scandentia, семейство Tupaiidae). Впервые исследована селевиния *Selevinia betpakdalensis* (отряд Rodentia, семейство Gliridae). Выполнено shotgun секвенирование трёх представителей класса хитоны (Mollusca: Polyplacophora), относящихся, предположительно к родам *Strictochiton*, *Boreochiton* и *Tonicia*.

Создана новая лаборатория эволюционной геномики и палеогеномики. В лаборатории шесть научных сотрудников, включая руководителя, и лаборант. Коллектив Лаборатории имеет большой опыт работы в области применения генетических технологий обработки музейных образцов и реализации новых подходов к их анализу. Лаборатория создана для разработки и широкого внедрения в практику исследований геномных технологий и методов в изучении позвоночных и беспозвоночных животных, включая

ископаемые образцы, на базе УФК ЗИН РАН в рамках фундаментальных исследований Института по государственному заданию и из внебюджетных средств. Одним из направлений работ сотрудников Лаборатории является также оценка действия отбора и адаптивных изменений на геномном уровне, анализ относительной роли факторов изоляции и дрейфа генов, миграции и отбора в процессе видообразования на фоне климатических изменений. Проведено оснащение новой лаборатории оборудованием для проведения молекулярно-генетических исследований. Закуплены реактивы для создания геномных библиотек, наборы для выделения ДНК, лабораторный пластик.

Разработан проект нового Положения об УФК ЗИН РАН с учетом требований времени. Действующие нормативные документы, регламентирующие деятельность УФК ЗИН РАН («Положение о Коллекционном фонде УФК ЗИН РАН» и «Правила учета, хранения и пополнения фондовых коллекционных материалов Зоологического института РАН и пользования ими») разработаны и утверждены еще в 2017 г. Эти документы не учитывают структурные изменения, произошедшие в Зоологическом институте за последние годы, а также развитие современных подходов к изучению коллекционных материалов.

Стремительное совершенствование ДНК-технологий, происходящее в последнее десятилетие, в том числе широкое внедрение методов высокопроизводительного секвенирования, значительно расширило возможности исследования ДНК, выделенной как из свежего материала, так и из коллекционных исторических и ископаемых образцов. Новые методические приёмы позволяют дополнять таксономические, филогеографические, биогеографические и эволюционные исследования уникальным историческим материалом, анализировать генетические паттерны не только в пространственном, но и временном контексте. Это требует отработки протоколов отбора проб тканей для генетических и геномных исследований от коллекционных экземпляров, что в международной музейной практике получило название «destructive sampling policy». В ходе выполнения работ 2021 г. в Зоологическом институте были разработаны нормативные документы, позволяющие регламентировать подобные исследования с использованием материалов УФК ЗИН РАН и протоколы отбора проб тканей.

Начата работа по разработке комплекса стандартов и протоколов (СОП) для внедрения в коллекционную и исследовательскую практику ЗИН РАН и других организаций направления БРК «Музейные коллекции животных» молекулярно-генетических и геномных технологий для подробной характеристики коллекционных зоологических образцов. Подготовлены СОП по следующим направлениям:

- отбор проб от коллекционных экземпляров для молекулярно-генетических и

геномных исследований;

- выделение ДНК;

- секвенирование по Сангеру отдельных фрагментов митохондриального и ядерного геномов.

В ходе первого этапа (2021 г.) реализации Проекта были выполнены работы по двум основным направлениям развития инфраструктуры корпоративной сети ЗИН РАН — модернизация серверной инфраструктуры и модернизация и расширение сетевого хранилища для создания ИАС.

Единая информационно-аналитическая система (ИАС) по классическим фондовым коллекциям ЗИН РАН, предназначена для:

- ведения полного цикла электронной каталогизации оцифровываемых коллекционных экземпляров. Начиная с первичного ввода параметров экземпляра и данных его этикетки, пополнения данными о времени и точке сбора, до пополнения электронными изображениями, географическими данными, таксономическими определениями и информацией о публикациях.

- надёжного хранения информации, не ограниченного по срокам и с достаточным резервированием.

- выборочной публикации информации на веб-сайте института.

ИАС должна быть реализована по современным стандартам, в парадигме модульной архитектуры, и обеспечивать разграничение прав и интерфейсов доступа для разных пользовательских ролей. Полнофункциональная версия ИАС должна учитывать апробированный опыт первичной реализации базы данных с публичным веб-интерфейсом.

Начата работа по разработке комплекса стандартов и протоколов по двум направлениям: (1) первичная электронная каталогизация; и (2) дигитализация коллекционных образцов. В ходе реализации настоящего Проекта в Зоологическом институте РАН ведется разработка новых модулей ИАС, которые с 2022 должны, с одной стороны, начать ассоциировать локальные архивы коллекционных лабораторий в единую информационно-поисковую систему на базе унифицированного серверного хранилища ЗИН РАН и, с другой стороны, обеспечить прямой ввод первичных данных от оператора в лаборатории в ИАС без посредничества MS Excel, MS Word или MS Access. Система ввода данных, как один из новых модулей ИАС, разрабатываемый в ЗИН РАН с октября 2021 г., предполагает настройку разного уровня доступа для пользователей с разной квалификацией. информации и пр. Эта работа требует определенной квалификации и предполагает участие старших хранителей и научных сотрудников. Разные блоки информации, вводимые в ИАС требуют подробного описания СОП. Одним из таких СОП

является ПЭК, другим — «дигитализация коллекционных образцов». Оба СОП предполагают работу с коллекционными образцами.

Согласно плану-графику выполнения Проекта, в 2021 г. были подготовлены проектная документация и техническое задание на модернизацию части Главного здания ЗИН РАН (помещения бывшего Архива) с целью последующего размещения там коллекционной инфраструктуры УФК ЗИН РАН. Подготовку проектной документации осуществляла специализированная проектная организация ООО «Гипротеатр» (свидетельство СРО-П-012-077-06 от 13.02.2015 г.), входящая в Ассоциацию проектных организаций «Союзпетрострой-Проект». В соответствии с планом развития и модернизации коллекционной инфраструктуры ЗИН РАН в данном здании, после соответствующих ремонта и переоборудования, предполагается разместить часть териологической коллекции. В новом коллекционном хранилище будут размещены материалы сухой коллекции (шкуры, тушки, чучела) и материалы спиртового хранения. Именно эта часть териологической коллекции ЗИН РАН является наиболее важной с точки зрения генетических исследований и сохранения генетической информации. Новое хранилище призвано обеспечить поддержание постоянного температурного и влажностного режима, что критично для последующих исследований, связанных с выделением ДНК из коллекционных экземпляров. Современные специализированные системы хранения (шкафы и стеллажи компактного типа) позволят наиболее рационально использовать новые коллекционные помещения.

Подготовлен план переоборудования коллекционных хранилищ ЗИН РАН на 2022–2023 гг.

Согласно Плану-графику выполнения Проекта, в 2021 г. проведены ремонтные и отделочные работы в лабораторных помещениях и коллекционных хранилищах ЗИН РАН, расположенных в главном здании института (СПб, Университетская наб., д.1), лабораторном здании (СПб, Английский пр., д.32) и коллекционном хранилище «Шувалово» (СПб, Заповедная ул., д. 51, корп. 2). Общая площадь отремонтированных помещений 351.3 кв.м.

В рамках модернизации условий хранения коллекций УФК ЗИН РАН были приобретены морозильные камеры для дезинфекции/дезинсекции «сухих» коллекций и хранения отдельных коллекционных материалов, низкотемпературные холодильники для криоконсервации тканей животных для молекулярно-генетических исследований; коллекционные шкафы и лабораторная мебель (препаровальные столы), термостаты (для подготовки паразитологических препаратов). Для коллекционных лабораторий, в которых имеются коллекции тканей и ДНК, коллекции протистов и клеточных культур (ЦКП

«Таксон», Лаборатория ихтиологии, Лаборатория паразитических червей и протистов, Лаборатория клеточной и молекулярной протистологии) приобретенное оборудование включает: центрифуги, эксикаторы, паровые автоклавы, термошейкер, ламинарный шкаф, трансиллюминатор, камеры для электрофореза.

Содержание естественно-научных коллекций, как уникальной организационной формы хранения общебиологической информации, включает ряд позиций, связанных со спецификой их эксплуатации и модернизации. Поскольку биологический материал чрезвычайно восприимчив к агентам биологического разрушения, коллекционные образцы требуют тщательного хранения и щадящего режима использования. Текущая коллекционная работа, включающая поддержание, пополнение и развитие биологических коллекций (подготовка и монтировка образцов, включение их в основные фонды, борьба с вредителями, пересев и консервация живых культур и т.п.) требует определенных расходных материалов и постоянного мониторинга коллекций. В 2021 г. для текущей коллекционной работы были закуплены расходные материалы, включая этиловый спирт (1600 литров), предназначенный для хранения коллекционных материалов, емкости для хранения коллекционных экземпляров (энтомологические коробки, банки, пробирки, пластиковые контейнеры), расходные энтомологические материалы (булавки).

В 2021 г. были подобраны и опробованы молекулярно-генетические маркеры для генетической характеристики и генотипирования коллекционных образцов в специализированной коллекции фиксированных тканей животных ИБР РАН. Для образцов млекопитающих подобраны маркеры митохондриальной и ядерной ДНК для видовой диагностики и обнаружения гибридных генотипов. В ходе исследования особенностей генетических маркеров у птиц были подобраны кросс-специфичные маркеры для генотипирования образцов линных перьев и сформулированы рекомендации для молекулярного определения пола при генотипировании. По результатам исследования для коллекции были составлены стандартные операционные процедуры (СОП) «Генотипирование образцов».

Была проведена инвентаризация и профилактика сохранности более 5000 образцов коллекций ИБР РАН, хранящихся при низкой температуре. Была проведена инвентаризация коллекции линных перьев хищных птиц, включающей более 2000 образцов неинвазивного материала для молекулярно-генетических исследований редких и особо ценных видов, и проведены процедуры поддержания сохранности коллекции.

Сведения о выполнении работ 1 этапа Проекта (2021 г.) размещены на официальном сайте ЗИН РАН (https://www.zin.ru/projects_programmes/).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Hall T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // *Nucleic Acids Symposium Series*. – 1999. – Vol. 41. – P. 95–98.
- 2 Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipiński A., Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 // *Molecular Biology and Evolution*. – 2013. – Vol. 30. – P. 2725–2729.
- 3 Darriba D., Taboada G. L., Doallo R., Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing // *Nature Methods*. – 2012. – Vol. 9. – P. 772.
- 4 Ronquist F., Huelsenbeck J. P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models // *Bioinformatics*. – 2003. Vol. 19. – P. 1572–1574.
- 5 Bandelt H. J., Forster P., Rohlf A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // *Molecular Biology and Evolution*. – 1999. – Vol. 16. – P. 37–48.
- 6 Vinogradov B. S. Two new interesting lemmings from Siberia // *Annals and Magazine of Natural History*. – 1924. – Vol. 14. – P. 186–189.
- 7 Abramson N. I., Petrova T. V. Genetic analysis of type material of the Amur lemming resolves nomenclature issues and creates challenges for the taxonomy of true lemmings (*Lemmus*, Rodentia: Cricetidae) in the eastern Palearctic // *Zoological Journal of the Linnean Society*. – 2018. – Vol. 182. – No. 2. – P. 465–477.
- 8 Баранова Г. И., Громов И. М. Каталог типовых экземпляров коллекции Зоологического института РАН. Млекопитающие (Mammalia). Выпуск 4. Грызуны (Rodentia). – СПб.: ЗИН РАН, 2003. – 100 с.
- 9 Golenishchev F. N. Egorov's narrow-skulled vole (Rodentia, Arvicolinae) from the Late Pleistocene of Eastern Siberia, a North American immigrant // *Paleontological Journal*. – 2008. – Vol. 42. – No. 3. – P. 292–296.
- 10 Baker R. J., Bradley R. D. Speciation in mammals and the genetic species concept // *Journal of Mammalogy*. – 2006. – Vol. 87. – No. 4. – P. 643–662.
- 11 Weir J. T., Schluter D. Calibrating the avian molecular clock // *Molecular Ecology*. – 2008. – Vol. 17. – P. 2321–2328.
- 12 Галинская Т., Щепетов Д., Лысенков С. Предубеждения о микросателлитных исследованиях и как им противостоять // *Генетика*. – 2019. – Т. 55. – С. 617–632.
- 13 Картавец Ю. Ф., Редин А. Д. Оценки генетической интрогрессии, ретикуляции генных деревьев, дивергенции таксонов и состоятельности ДНК-штрихкодирования по

молекулярным маркерам генов // Успехи современной биологии. – 2019. – Т. 139. – № 1. – С. 3–24.

14 Лухтанов В. А., Кузнецова В. Г. Молекулярно-генетические и цитогенетические подходы к проблемам видовой диагностики, систематики и филогенетики // Журнал общей биологии. – 2009. – Т. 70. – № 5. – С. 415–437.

15 Абрамсон Н. И. Молекулярные маркеры, филогеография и поиск критерия разграничения видов // Труды Зоологического института РАН. – 2009. – Т. 1. – С. 185.

16 Ермаков О. А., Сурин В. Л., Титов С. В., Тагиев А. Ф., Лукьяненко А. В., Формозов Н. А. Изучение гибридизации четырех видов сусликов (*Spermophilus*: Rodentia, Sciuridae) молекулярно-генетическими методами // Генетика. – 2002. – Т. 38. – № 7. – С. 950–964.

17 Brandler O. V., Kapustina S. Y., Nikol'skii A. A., Kolesnikov V. V., Badmaev B. B., Adiya Y. A study of hybridization between *Marmota baibacina* and *M. sibirica* in their secondary contact zone in Mongolian Altai // *Frontiers in Ecology and Evolution*. – 2021. – Vol. 9. – P. 555341.

18 Zink R. M. The role of subspecies in obscuring avian biological diversity and misleading conservation policy // *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*. – 2004. – Vol. 271. – P. 561–564.

19 Nacer D. F., Raposo do Amaral F. Striking pseudogenization in avian phylogenetics: Numts are large and common in falcons // *Mol. Phylogenet. Evol.* – 2017. – Vol. 115. – P. 1–6.

20 Mindell D. P., Sorenson M. D., Dimcheff D. E. Multiple origin of mitochondrial gene order in birds // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 1998. – Vol. 95. – P. 19693–10697.

21 Horvath M. B., Martinez-Cruz B., Negro J. J., Kalmar L., Godoy J. A. An overlooked DNA source for non-invasive genetic analysis in birds // *Journal of Avian Biology*. – 2005. – Vol. 36. – No. 1. – P. 84–88.

22 Ellegren H. First gene on the avian W chromosome (CHD) provides a tag for universal sexing of non-ratite birds // *Proceedings of the Royal Society, Biological Sciences*. – 1996. – Vol. 263. – No. 1377. – P. 1635–1641.

23 Fridolfsson A.-K., Ellegren H. A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds // *Journal of Avian Biology*. – 1999. – Vol. 30. – No. 1. – P. 116–121.

24 Wang L. C., Severinghaus L. L., Chen C. T., Liu L. Y., Pan C. H., Huang D., Lee H. Y., Lir J. T., Chin S. C., Pu C. E., Wang C. H. Sex identification of owls (family Strigidae) using oligonucleotide microarrays // *Journal of Heredity*. – 2008. – Vol. 99. – No. 2. – P. 187–192.

25 Griffiths R., Double M. C., Orr K., Dawson R. J. G. A DNA test to sex most birds // *Molecular Ecology*. – 1998. – Vol. 7. – No. 8. – P. 1071–1075.

26 Kahn N. W., John J. St., Quinn T. W. Chromosome-specific intron size differences in the avian CHD gene provide an efficient method for sex identification in birds // *The Auk*. – 1998. – Vol. 115. – No. 4. – P. 1074–1078.

27 Ermakov O. A., Simonov E., Surin V. L., Titov S. V., Brandler O. V., Ivanova N. V., Borisenko A. V. Implications of hybridization, NUMTs, and overlooked diversity for DNA barcoding of Eurasian ground squirrels // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10. – No. 1. – P. e0117201.

28 Németh A., Csorba G., Laczkó L., Mizsei E., Bereczki J., Pásztor J. A., Petró P., Sramkó G. Multi-locus genetic identification of a newly discovered population reveals a deep genetic divergence in European blind mole rats (Rodentia: Spalacidae: *Nannospalax*) // *Annales Zoologici Fennici*. – 2020. – Vol. 57. – No. 1-6. – P. 89–98.

29 Lyons L. A., Laughlin T. F., Copeland N. G., Jenkins N. A., Womack J. E., O'Brien S. J. Comparative anchor tagged sequences (CATS) for integrative mapping of mammalian genomes // *Nature Genetics*. – 1997. – Vol. 15. – No. 1. – P. 47–56.

30 Карякин И. В., Зиневич Л. С., Щепетов Д. М., Сорокина С. Ю. Популяционная структура ареала степного орла и предварительные данные по генетическому разнообразию его популяций и статусу подвидов // *Пернатые хищники и их охрана*. – 2016. – № 32. – С. 67–88.

31 Рожкова Д. Н., Зиневич Л. С., Карякин И. В., Сорокин А. Г., Тамбовцева В. Г., Куликов А. М. Нейтральная изменчивость цитохрома b у балобана *Falco cherrug* Grey, 1834 и кречета *Falco rusticolus* L. // *Генетика*. – 2021. – Т. 57. – № 4. – С. 454–464.

32 Dawnay N., McEwing R., Thorpe R. S., Ogden R. Preliminary data suggests genetic distinctiveness of gyr and saker falcons // *Conserv. Genet*. – 2008. – Vol. 9. – P. 703–707.

33 Roques S., Godoy J. A., Negro J. J., Hiraldo F. Organization and variation of the mitochondrial control region in two vulture species, *Gypaetus barbatus* and *Neophron percnopterus* // *Journal of Heredity*. – 2004. – Vol. 95. – No. 4. – P. 332–337.