

Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ: Parkányi Vladimír, RNDr., CSc.	Evidenčné číslo projektu: APVV-27-005505
Názov projektu: Sex pre-selekcia spermii v inseminačnej dávke králiku imunomagnetickou a PCR technikou	

Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Centrum výskumu živočíšnej výroby Nitra
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	

Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	
Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uved'te i publikácie prijaté do tlače):	<p>PARKÁNYI V., RAFAY J., ONDRUŠKA L. (2007) Králik ako modelové zviera v genetickom výskume. In: Sborník referátů IX. Celostátního semináře: „Nové směry v chovu brojlerových králiků“, Praha - 14. listopad 2007, vydal VÚŽV Praha-Uhřetěves, v.v.i., 103 s. , ISBN 978 – 80 – 86454 -87-0, s. 57 – 62.</p> <p>VAŠÍČEK D., VAŠÍČKOVÁ K., PARKÁNYI V., RAFAY J., ONDRUŠKA L. (2007) Effective generation of genetically modified rabbits by sperm mediated gene transfer. World Rabbit Sci., 15: 161 – 166.</p>
Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.	<p>PARKÁNYI V., VAŠÍČEK D., ONDRUŠKA L., RAFAY J. (2008) The Sex-detection in Newborn Rabbits by X-chromatin and PCR-SRY. In: Proceedings of the 9th World Rabbit Congress, Edited by Gerolamo Xiccato, Angela Trocino and Steven D. Lukefahr-Verona, Italy, June 10-13, 2008, Published by Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche-72-Brescia-Italy, Tipografia Camuna-Brescia, 2008, ISBN 978-88-902814-6-4, s. 67.</p> <p>PARKÁNYI, V., RAFAY J. (2008) Gonozomálna selekcia králičích spermii. História, súčasnosť a perspektívy genetiky, Zborník abstraktov-poster P33, Konferencia pri príležitosti 40. výročiu vzniku Katedry genetiky PrF UK Bratislava, 11.9.-12.9.2008, Genetická spoločnosť Gregora Mendela, Katedra genetiky Prírodovedeckej fakulty UK v Bratislave , ISBN 978-80-223-2413-7, s. 64.</p> <p>VAŠÍČKOVÁ, K., PARKÁNYI V., ONDRUŠKA L., RAFAY J., VAŠÍČEK D. (2008) Sperm-mediated Gene Transfer in Rabbit Model, s. 413-415, In: Biotechnology 2008, University of South Bohemia České Budějovice, ČR, Zborník referátov, ISBN 80-85645-58-0, published by: Scientific Pedagogical Publishing, 1147 p.</p>
V čom vidíte uplatnenie výsledkov projektu:	<p>Výsledkom projektu je využitie FITC monoklonálnej protilátky voči membránovo špecifickému H-Y antigénu, viazanej prostredníctvom anti-FITC protilátky na supermagnetických polymérových nosičoch-nanopartikulách, pre poskytnutie separačnej techniky na preselekcii králičích spermii nesúcich Y chromozóm a X chromozóm. Touto imunomagnetoseparačnou technikou v kombinácii s technikou inseminácie možno dosiahnuť posun novonarodených mláďat králikov v smere samic, resp. samcov. Technológie aplikované v projekte je možné využiť aj u iných druhov hospodárskych zvierat, vzhľadom ku fylogenetickému stabilite membránovo špecifického H-Y antigénu a jeho asociácii s Y chromozómom (determinácia pohlavia).</p>

Charakteristika výsledkov

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - slovensky:

Predložený projekt rieši aktuálnu problematiku separácie spermíí, nesúcich pohlavný chromozóm Y a pohlavný chromozóm X, na základe prítomnosti špecifického membránového antigénu H-Y na povrchu spermíí s Y chromozómom. Základným biologickým materiálom boli králiky línií M91 (samice), P91 (samci) a ich mláďatá narodené po inseminácii. Samcom bolo pravidelne odoberané semeno, ktoré sa po imunomagnetickom ovplyvnení a PCR analýze, použilo na insemináciu hormonálne stimulovaných samíc. Narodeným mláďatám sa asepticky odoberali z ušnic malé vzorky kože na DNA a PCR analýzy. Aplikované metodiky pre-selektie králičích spermíí sa zatiaľ v uvedenej kombinácii cytogenetických, molekulárnych a imunomagnetických techník na území SR nepoužili. Separčná technika v predloženom projekte využila novú kombináciu reakcie spermíí so supermagnetickými polymérovými guľčkami viazanými s anti-FITC protilátkou. Na imunomagnetickú separáciu králičích spermíí v inseminačnej dávke sme použili dva systémy: 1. systém je typ EasySep a 2. systém je typ MidiMACS Magnetic Cell Sorting. Týmto metodickým prvkom sa podstatne odlišuje od techník doteraz použitých vo svetových laboratóriách a dosiahol sa efekt exaktnej riadenej imunomagnetoreakcie. Hormonálne synchronizované a stimulované dospelé králičice boli inseminované separovanými spermiami. Po uplynutí obdobia gravidity samíc (30 dní), u narodených mláďat sa uskutočnila z malých vzoriek kože PCR analýza na prítomnosť SRY (touto molekulárnou technikou detekujeme pohlavie živým aj uhynutým mláďatám). Použitý titer monoklonálnej protilátky FITC anti- H-Y TCR: špecifickej ku H-Y epitopu IgG1 sa nachádzal v rozmedzí od: 1: 100 až 1:10. Negatívne selektovanými spermiami sme dosiahli posun pohlavia mláďat králikov v prospech samíc v pomere 75% ♀♀ : 25% ♂♂, čo predstavuje štatisticky signifikantný rozdiel voči teoreticky očakávanému pomeru pohlavia 50:50, $\chi^2_{(0,05)} = 12,50^{+++}$.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - anglicky:

Present project deals with topical problems an isolation of Y – chromosome and X-chromosome bearing sperm on the basis specific membrane H-Y antigen on surface Y bearing sperm. Fundamental biological material were rabbits of M91 (does), P91 (bucks) lines and their cubs born after artificial insemination. The sperm was exposed to immunomagnetic reaction and after PCR it was used for artificial insemination of hormonal stimulated does. The small skin samples from newborn's ear were taken for DNA and PCR analysis. The applied methodology of pre-selection rabbit's sperm was not use til now in initiate combination cytogenetic, molecular and immunomagnetic techniques in Slovakia. The present project was used new immunoreaction of the sperms with supermagnetic polymer beads bound via anti-FITC antibody. For imunomagnetic separation of the rabbit sperms in insemination dose were used two systems: 1. system was EasySep a 2. system was MidiMACS Magnetic Cell Sorting. By this methodical component essentially differs from techniques until now used in the world laboratories and it is possible to achieve of the exact controled immunomagnetoreaction. The hormonally synchronized and stimulated adult does were inseminated by separated sperms. After gestation (30 days), from cub's small ear pieces were realized of SRY PCR analysis (the live and the dead newborn rabbits). The titer monoclonal antibody FITC anti- H-Y TCR: specific to H-Y epitop IgG1 was in rate from 1:100 to 1:10. By using negative selected sperms was achieved sex shift of the cubs towards females in ratio 75% ♀♀ : 25% ♂♂. It is statistically significant difference to expected sex ratio 50:50, $\chi^2_{(0,05)} = 12,50^{+++}$.

Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas so zverejnením údajov v nej uvedených.

RNDr. Vladimír Parkányi, CSc,

11.5.2009

Podpis zodp. riešiteľa:

Dátum:

**Ing. Janka Beresecká
Riaditeľka CVŽV Nitra**

Podpis štatutárneho zástupcu:

Pečiatka: