**Раздел 4. Руководство по ДНК-технологии**

Раздел 4. ДНК-технология

Версия по состоянию на октябрь 2018 г.

Ссылка: 04 DNA v18.06.docx

СОДЕРЖАНИЕ

1 Молекулярная генетика 5

1.1 Введение 5

1.2 Генетические маркеры 5

1.2.1 Микросателлиты 5

1.2.2 Однонуклеотидный полиморфизм (SNP) 5

1.3 Определения и терминология 6

1.4 Текущее и потенциальное использование ДНК-технологий 7

1.4.1. Подтверждение и установление происхождения 7

1.4.2. Отслеживание и аутентификация продуктов животного происхождения, предлагаемых потребителям 7

1.4.3. Молекулярно-генетическая информация для схем маркерной селекции 8

1.4.4. Устойчивость к болезням и генетические дефекты 8

1.5 Технические аспекты 9

1.5.1. Сбор ДНК 9

1.5.2. Сбор данных 9

1.5.3 Контроль качества генома 9

2 Услуги ICAR, связанные с ДНК-технологией 10

3 Аккредитация ICAR лабораторий, предоставляющих услуги ДНК-генотипирования 11

3.1 Введение 11

3.2 Область применения 12

3.3 Правила и руководства ICAR по аккредитации лабораторий генотипирования 12

3.3.1 Заявка на аккредитацию 12

3.3.2 Уплата соответствующего взноса 12

3.3.3 Рассмотрение заявок 12

3.3.4 Предоставление аккредитации 12

3.3.5 Продление аккредитации 13

3.3.6 Аккредитация лаборатории 13

3.3.7 Участие и результаты в рамках проверки квалификации 13

3.3.8 Микросателлитные маркеры 13

3.3.9 SNP-маркеры 14

3.3.10 Номенклатура маркеров 14

4 Аккредитация организаций, проводящих анализ происхождения на основе SNP 14

4.1 Введение 14

4.2 Область применения 14

4.3 Аккредитация организаций, проводящих анализ происхождения 15

4.3.1 Подача заявки 15

4.3.2 Рассмотрение заявок 15

4.3.3 Техническая обработка контрольных файлов 15

4.3.4 Предоставление аккредитации 15

5 Сервис по обмену данных о генотипах — GenoEx-PSE 16

6 СПИСОК ПРИЛОЖЕНИЙ 16

6.1 Приложение 1. Ссылка на SNP-маркеры, рекомендованные ISAG для подтверждения происхождения 16

6.2 Приложение 2. Форма заявки на подтверждение происхождения крупного рогатого скота на основе анализа микросателлитов 16

6.3 Приложение 3. Бланк заявки на подтверждение происхождения крупного рогатого скота на основе анализа SNP 16

6.4 Приложение 4. Стоимость услуги ICAR по аккредитации ДНК-лаборатории 16

6.5 Приложение 5. Рекомендуемые ISAG микросателлиты для подтверждения происхождения крупного рогатого скота 16

6.6 Приложение 6. Правила подтверждения происхождения крупного рогатого скота на основе анализа микросателлитов 16

6.7 Приложение 7. Рекомендуемые ISAG SNP-маркеры для подтверждения происхождения крупного рогатого скота 17

6.8 Приложение 8. Форма заявки для организаций, желающих получить аккредитацию ICAR в сфере анализа происхождения, для центров интерпретации данных ДНК 17

6.9 Приложение 9. Руководство для подавших заявку на аккредитацию ICAR в сфере анализа происхождения для центров интерпретации данных ДНК 17

6/10 Приложение 10. Руководство ICAR по подтверждению и установлению происхождения на основе SNP-генотипов 17

6.11 Приложение 11. Список SNP, которые будут использоваться либо для подтверждения происхождения, либо для его установления 17

6.12 Приложение 12: Список ICAR SNP 554 для установления происхождения 17

Сводка изменений

| **Дата изменения** | **Характер изменения** |
| --- | --- |
| Август 2017 г. | Переформатировано с использованием нового шаблона. |
| Август 2017 г. | Добавлено содержание. |
| Август 2017 г. | Отредактированы номера и формулировки заголовков для большей ясности и удаления лишнего текста. |
| Август 2017 г. | Приложения заменены ссылками на соответствующие Приложения на веб-сайте ICAR. |
| Август 2017 г. | Файл перемещен в новый шаблон (v2017\_08\_29) |
| Август 2017 г. | Ссылки на сайт ICAR скрыты под словом «здесь». |
| Сентябрь 17 г. | Версия обновлена по состоянию на сентябрь 2017 г. |
| Сентябрь 17 г. | Исправлены ссылки на веб-сайты, посвященные ДНК-технологиям. |
| Сентябрь 17 г. | Исправлена ссылка на формы заявок на сайте ICAR. Версия обновлена по состоянию на октябрь. Заменены ссылки на терминологию. |
| Октябрь 2017 г. | Исправлены гиперссылки. |
| Январь 2018 г. | Рабочая группа по ДНК выполнила полный пересмотр и доработку. |
| Сентябрь 2018 г. | Обновлена и доработана часть 1 и связанные с ней разделы.  Применен шаблон руководства ICAR.  Правки по результатам встречи РГ по ДНК от 25 сентября.  Приняты все изменения, документ сохранен как v18.05. |
| Октябрь 2018 г. | Подготовлено и представлено на утверждение Совета. |
| Сентябрь 2020 г. | Добавлен список ICAR 554 SNP для установления происхождения |

1 Молекулярная генетика

1.1 Введение

Достижения в области молекулярной биологии, особенно в области геномики, предоставляют новый набор информации, которая может использоваться в животноводстве. С одной стороны, использование молекулярной информации может способствовать повышению доверия потребителей к способности отслеживать и контролировать производственную цепочку продуктов животноводства. С другой стороны, молекулярная информация будет в значительной степени способствовать достижению генетического улучшения селекционных признаков животных за счет использования геномной племенной ценности, отбора на основе маркеров, генной интрогрессии, прогнозирования гетерозиса, проверки/прогнозирования родословной и определения статуса носителя генетического дефекта. В большинстве случаев преимущества от использования молекулярной информации посредством геномных оценок заключаются в повышении точности оценки племенной ценности животных, сокращении интервалов между поколениями и повышении интенсивности селекции. Даже при всех этих достижениях по-прежнему существует потребность в исследованиях и разработках для поиска взаимосвязей между генетическими маркерами и интересующими признаками, особенно ввиду включения новых признаков в национальные индексы оценки. В дополнение к этому, даже с учетом внесения геномной информации в национальные схемы селекции, по-прежнему требуется понимание действия генов, взаимодействия генов и дифференциальной экспрессии генов, чтобы избежать негативных побочных эффектов. Сотрудничество предприятий животноводства и научно-исследовательских учреждений необходимо для успешного и полезного поиска генетической информации в рамках популяции коммерческого скота.

1.2 Генетические маркеры

Генетические маркеры являются фундаментальными молекулярными инструментами геномики, даже несмотря на изменение типа используемых маркеров. Первые ассоциации генетических маркеров у домашнего скота были зарегистрированы в рамках определения групп крови в 1960-х годах, затем в 1990-х технология перешла к микросателлитам (MS), и совсем недавно стали использовать однонуклеотидный полиморфизм (SNP). SNP и MS представляют собой полиморфные последовательности ДНК (аллели) в определенном локусе конкретной хромосомы.

1.2.1 Микросателлиты

Это сегменты ДНК, содержащие тандемные повторы простых мотивов, обычно димеров или тримеров. Эти сегменты расположены по всему геному, как правило, в некодирующих областях. Со временем в этих областях происходит добавление или вычитание тандемных повторов, а это означает, что каждый микросателлит может иметь от 2 до 15 и более уникальных аллелей. Микросателлиты обычно используются у многих видов домашнего скота для подтверждения происхождения.

1.2.2 Однонуклеотидный полиморфизм (SNP)

SNP являются наиболее распространенным типом генетической изменчивости: каждый SNP представляет собой вариацию одного нуклеотида. В геноме каждого вида скота имеется множество SNP. Для геномики наиболее информативные SNP традиционно располагаются либо в (а) кодирующих областях, где разные аллели изменяют структуру или функцию кодируемого белка, либо (б) в некодирующих областях, которые участвуют в регуляторной функции гена. Для геномной племенной ценности SNP, расположенные в других областях генома, также информативны, поскольку они могут находиться в неравновесном сцеплении с аллелями, вызывающими изменение фенотипа.

Одним из больших преимуществ SNP является их развертывание на массивах SNP с высоким потенциалом параллельной обработки, благодаря чему можно одновременно проверить тысячи или сотни тысяч SNP экономически рентабельным и эффективным способом и для большого количества животных. В настоящее время крупнейшие лаборатории генотипирования скота могут ежегодно обрабатывать на таких массивах данные по более чем 100 000 животных. Таким образом, доступность этих больших панелей SNP способствует поиску мутаций, лежащих в основе генетической изменчивости простых и сложных признаков. Это также в корне изменило скорость, с которой осуществляется выявление генов или областей генов, связанных с признаками, а также скорость принятия стратегий геномной селекции.

1.3 Определения и терминология

В Таблице 1 представлен краткий обзор терминов, используемых в молекулярной генетике, геномике и/или при анализе происхождения.

Таблица 1. Термины, используемые в молекулярной генетике, геномике и/или при анализе происхождения.

| **Термин** | **Определение** |
| --- | --- |
| Подтверждение идентификации животного | Процесс использования геномных маркеров для определения того, можно ли исключить происхождение образца ткани от конкретного животного. |
| Геномика | Ряд технологий, которые идентифицируют генетический профиль животного на генном уровне и последовательности ДНК генома животного. |
| Гаплотип | Группа аллелей генетических маркеров, которые наследуются вместе от одного родителя. Все генетические маркеры находятся на одной и той же хромосоме и обычно занимают сегмент определенной длины на этой хромосоме. |
| Аккредитация ICAR | Признание со стороны ICAR того факта, что организация предоставила достаточные доказательства соблюдения ею руководящих принципов ICAR. |
| Подстановка недостающих данных | Процесс восполнения отсутствующих генотипов животного на основе его родословной и других генетических маркеров. Обычно используется для подстановка недостающих данных SNP и/или микросателлитов на основе SNP. |
| MAF | Частота минорного аллеля. |
| Прогнозирование прародителя по материнской линии | Процесс использования гаплотипов, унаследованных от матери, для прогнозирования наиболее вероятного отца матери. |
| Микросателлит | Участок ДНК, содержащий тандемные повторы простых мотивов, обычно димеров или тримеров. Также называется STR: короткий тандемный повтор. |
| Анализ происхождения | Общий анализ генотипов, связанный с происхождением, который может включать подтверждение происхождения, установление происхождения и прогнозирование прародителя по материнской линии. |
| Установление происхождения | Процесс, в ходе которого исследуют нескольких потенциальных родителей животного, обычно самцов, но возможно и самок, и на основе совпадения генотипов определяют наиболее вероятных отца и/или мать. |
| Подтверждение происхождения | Процесс, в ходе которого генотипы зарегистрированных родителей (отца и/или матери) животного исследуются относительно генотипа животного, чтобы определить, исключается ли один или оба из них в качестве родителя (родителей). |
| QTL | Локусы количественных признаков. Геномная область, влияющая на количественный признак, например рост. Эта область может иметь на фенотип небольшое (<0,01%) или большое влияние (>5%). Количественный признак будет иметь несколько локусов количественных признаков (QTL), распределенных по геному. |
| Подтверждение отцовства | То же, что и подтверждение происхождения, но исключительно на основании зарегистрированного отца. |
| SNP | Однонуклеотидный полиморфизм: замена одного основания в последовательности ДНК. |

1.4 Текущее и потенциальное использование ДНК-технологий

1.4.1. Подтверждение и установление происхождения

До появления генотипирования SNP подтверждение происхождения было основной сферой коммерческого использования генетических маркеров. Традиционно проверка происхождения основывалась на исключении родства (т. е. отца или матери), когда животное имеет генотип, несовместимый с предполагаемым родством. Новые тенденции в системах животноводства предусматривают поощрение роста производства животных в пересчете на одно хозяйство (в ответ на экологические и производственные ограничения). В таких условиях несколько животных могут быть осеменены или родиться в один и тот же день, что может привести к росту числа ошибок при регистрации родословной. Поскольку стоимость анализа снижается, а количество доступных генетических маркеров увеличивается, племенные ассоциации теперь могут вести племенной учет, используя генетические маркеры, чтобы прогнозировать родословную телят, рожденных в стаде в данный момент времени. Обычно для этого требуется предварительное знание потенциальных производителей и матерей для теленка, если используется меньшее количество (<200) маркеров, но при достаточном количестве SNP можно прогнозировать правильных родителей без предварительного знания, если родитель также генотипирован. Вероятность отнесения к правильной паре животных будет зависеть от количества используемых маркеров, количества аллелей на локус, частоты минорного аллеля в популяции, количества родителей и количества возможных спариваний. Международное общество генетики животных (www.isag.us) имеет рекомендованные для этой цели видоспецифичные панели микросателлитных и SNP-маркеров, доступ к которым можно получить по ссылке, приведенной в Приложении 1. Ссылка на SNP-маркеры, рекомендованные ISAG для подтверждения происхождения. Для крупного рогатого скота ICAR разработал набор SNP происхождения, ICAR554, который включает панель, рекомендованную ISAG, и другие высокоинформативные SNP. Эта панель позволяет проводить высокоточное подтверждение и установление происхождения, не позволяя при этом обеспечить точную подстановку данных с более высокой плотностью. Таким образом, панель ICAR554 может использоваться странами и участниками рынка для анализа происхождения без опасений, что другие стороны смогут использовать ее для прогнозирования геномной племенной ценности. ICAR и Interbull Center предлагают международный сервис по обмену генотипами, названный GenoEx и описанный далее в Главе 5, специально для обмена генотипами SNP в целях анализа происхождения.

1.4.2. Отслеживание и аутентификация продуктов животного происхождения, предлагаемых потребителям

Вследствие многочисленных кризисов, в том числе вспышек коровьего бешенства из-за говяжьего фарша, содержащего конину, а также из-за повышенного интереса потребителей к происхождению потребляемых ими продуктов питания, отслеживаемость поставок мясных продуктов вызывает большую озабоченность у представителей отрасли. Отслеживаемость основана на наличии системы проверки и контроля, которая отслеживает все важные события по всей производственной цепочке животноводства. Поскольку генетическая последовательность особи уникальна и не меняется, ее ДНК остается неизменной от «оплодотворения до потребления». Следовательно, использование генетических маркеров позволяет сопоставить ДНК особи при рождении с конечным продуктом.

Генетические маркеры для аутентификации продуктов животного происхождения в целях маркировки качества, связанной с географическим положением, и маркировки качества, связанной с конкретными породами или их гибридами, являются/или будут очень полезными. Однако это требует установления молекулярных стандартов или частот аллелей для каждой породы внутри вида. Много информации поступает из исследований генетического разнообразия пород. Особый интерес представляют гены, подвергающиеся интенсивному отбору в каждой популяции. При достаточно большом наборе SNP и генотипированных чистопородных эталонных животных также можно прогнозировать наиболее вероятный породный состав особей.

1.4.3. Молекулярно-генетическая информация для схем маркерной селекции

Обычно считается, что количественные признаки контролируются большим количеством генов. Однако отдельные гены иногда объясняют значительное количество вариаций признака. Так обстоит дело с геном миостатина и двойной мускулатурой у мясного скота, геном DGAT1 и компонентами молока у молочного скота или геном плодовитости овец бурула и уровнем овуляции у овец. Поскольку генотип животного не меняется в течение его жизни, большой интерес представляет использование информации о ДНК путем идентификации маркеров, сцепленных с QTL, влияющих на продуктивные признаки, или идентификации самого гена вместе с каузативным вариантом. Тем не менее, для сложных признаков растет потребность в достаточно большом наборе маркеров, чтобы включать молекулярную информацию для принятия решений по отбору. Включение геномной информации в качестве критерия отбора представляет особый интерес для признаков, которые трудно и дорого измерить и/или которые измеряются в более позднем возрасте. К 2018 г. были идентифицированы QTL >116 000 голов крупного рогатого скота, >10 000 кур, >28 000 свиней и >2000 овец, которые связаны с экономически важными признаками, такими как здоровье, масса туши, характеристики молока, плодовитость и экстерьер. База данных AnimalQTLdb, включенная в Национальную программу исследования генома животных, содержит актуальную информацию о данных QTL крупного рогатого скота, кур, лошадей, свиней, форели и овец, собранную из опубликованных данных.

Схемы учета десятилетиями собирали информацию о наиболее распространенных производственных признаках, измеряемых у домашнего скота. Объем доступной информации постоянно растет, но для некоторых признаков, таких как качество мяса, устойчивость к болезням и эффективность корма, учетные данные очень дорого измерять, их трудно получить или они выполняются на более поздних этапах жизни животного. Из-за этих проблем информация о таких признаках обычно собирается по уменьшенному количеству животных в рамках любой данной популяции.

Что касается этих сложных, но экономически важных признаков, генетические маркеры и геномная селекция предлагают значительные возможности для отбора признаков в тех случаях, в которых раньше это было экономически нецелесообразно. В целом, генетические маркеры и геномика будут играть важную роль в определении важных признаков независимо от вида скота. Геномика также может привести к увеличению интенсивности отбора, поскольку она позволяет прогнозировать геномную племенную ценность большого количества животных и, таким образом, иметь больше кандидатов для отбора.

1.4.4. Устойчивость к болезням и генетические дефекты

Другая группа признаков с высоким потенциалом для использования молекулярных данных и геномики связана с устойчивостью, сопротивляемостью и восприимчивостью к болезням. Существует ряд многофакторных или сложных заболеваний, которые являются результатом взаимодействия между геномом животного и компонентами окружающей среды. Признаки устойчивости к болезням представляют особую сложность при включении в программы генетического улучшения, потому что они требуют хорошего полевого измерения статуса болезни животных и систематического контроля содержания или условий окружающей среды, которые позволяют идентифицировать влияние окружающей среды на состояние здоровья животных. Инфекционные заболевания в значительной степени зависят от факторов окружающей среды, таких как степень воздействия возбудителей. Таким образом, если воздействие низкое, животные будут демонстрировать небольшие изменения. Частью фенотипических различий устойчивости могут быть различия в степени заражения. Поэтому при правильной идентификации генов или генетических маркеров, связанных с устойчивостью, устойчивых животных можно будет отобрать на основе их геномной информации. Для многих заболеваний идентификация генов, связанных с устойчивостью, потребует использования экспериментальных условий. В настоящее время используется генетический анализ для выявления гетерозиготных носителей генетических заболеваний, вызванных одиночными рецессивными генами. Примеры у молочного скота включают сложные пороки развития позвоночника (CVM), брахиспину (BY), дефицит холестерина (CD) и несколько генов, участков генов или гаплотипов, вызывающих потерю эмбрионов или мертворождение у различных молочных пород. В 2018 году OMIA (онлайн-база менделевской наследственности у животных) перечислила >770 признаков или генетических дефектов у домашнего скота с известной каузативной мутацией (крупный рогатый скот: 150; овцы: 50; куры: 44; лошади: 44). Включение этих каузативных аллелей или связанных с ними гаплотипов в программу племенной работы позволит производителям свести к минимуму риск генетических дефектов и максимально увеличить генетический прогресс за счет полезных признаков.

1.5 Технические аспекты

1.5.1. Сбор ДНК

Рекомендуется систематический сбор ДНК в нескольких популяциях домашнего скота. ДНК может быть получена из любой ядерной клетки организма. В настоящее время доступны протоколы выделения ДНК из крови (лейкоциты), спермы, слюны (эпителиальные клетки), волосяных фолликулов, мышц, кожи, внутренних органов (печень, селезенка и т. д.). В случае домашней птицы также можно использовать эритроциты, поскольку эритроциты птиц (в отличие от большинства других видов) содержат ядра. Для стандартного анализа ДНК требуется небольшое количество тканевого материала. Однако, если в будущем ДНК будет использоваться для целого ряда задач (полное секвенирование генома, прослеживаемость, проверка каузативных аллелей и т. д.), то затраты на хранение и на экстракцию ДНК, а также качество и количество ДНК, полученные с помощью различных протоколов, должны быть тщательно изучены и оптимизированы. Общие методы сбора включают сбор волосяных фолликулов, образцов тканей (часто полученных посредством перфорации ушной раковины), сохраняемых в закрытых контейнерах, получение пятен крови на фильтровальной бумаге и взятие мазков из носа.

1.5.2. Сбор данных

Может быть организована централизованная база данных по основным видам использования генетической информации:

a. Подтверждение, назначение и/или установление происхождения

b. Прослеживаемость мясопродукции

c. Идентификация или разнообразие породы

d. Качественные и количественные признаки

Таблицы базы данных могут содержать следующую информацию:

a. Идентификация животного для привязки ко всей остальной информации о животном и его родственниках.

b. Количество генетических маркеров: n

c. Стандартное название каждого маркера i (для i = 1, n)

d. Учетный номер для маркера, например идентификатор dbSNP.

e. Аллели маркера i

f. Геномное расположение маркера i

g. Влияние нереференсного аллеля на белок

h. Фенотипический эффект аллеля

i. Ассоциация с другими признаками

1.5.3 Контроль качества генома

Одной из наиболее важных частей большой геномной базы данных является обеспечение того, чтобы генотип, связанный с отдельным животным, действительно принадлежал этому животному. Большинство крупных геномных баз данных домашнего скота имеют дело только с данными SNP, поэтому в этом разделе основное внимание уделяется контролю качества для этого типа геномных данных. Необходимы меры контроля качества как образца, так и SNP, поэтому рекомендуется разработать соответствующую систему для них на раннем этапе. Источниками ошибок являются производители, лаборатории и центры искусственного осеменения.

Рекомендуемые меры генетического контроля качества включают исключение генотипа, когда:

a. Уровень определений составляет менее 90%, поскольку более низкий уровень определений указывает на то, что точность оставшегося генотипа может быть сомнительной. Коэффициент конкордантности генотипа составляет <99%, когда уровень определений ниже 90%.

b. Отклонение от равновесия Харди–Вайнберга (за исключением летальных или интенсивно селектируемых).

c. SNP постоянно имеет >1% иммунных конфликтов, в отличие от других SNP.

d. Если частота генотипа животного (АА, АВ, ВВ) <20%.

e. Если есть неожиданные аллели (например: ATCG при ожидании AB).

Рекомендуемые меры контроля качества животных включают отбраковку генотипа в случаях, когда:

a. Предполагаемый пол по SNP, расположенному на хромосоме(-ах) X и/или Y, не соответствует указанному полу животного.

b. Генотип на >99% идентичен другому животному, не являющемуся близнецом первого.

c. Генотип животного на <99% идентичен его предыдущему генотипу.

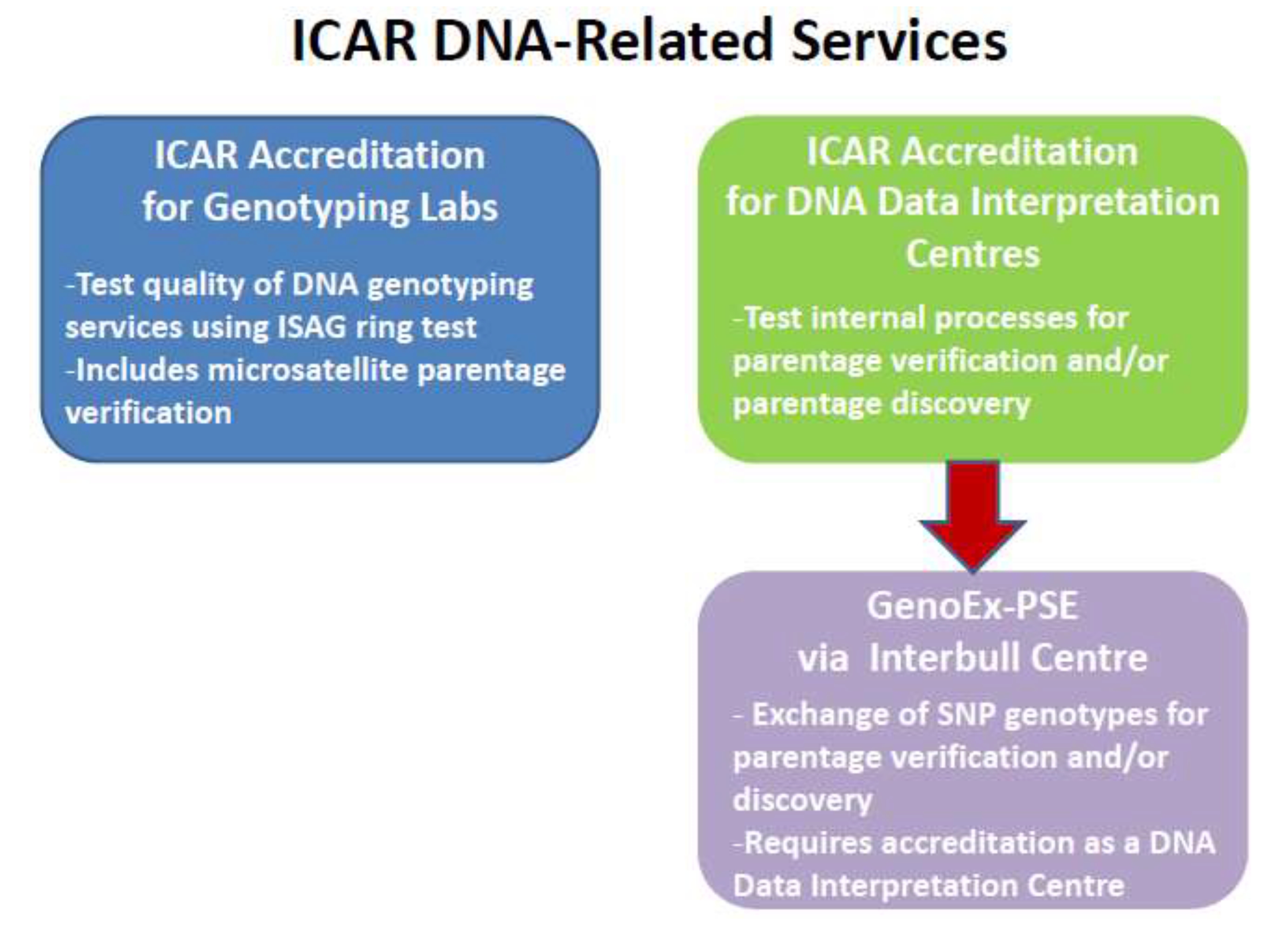
d. Предсказанная порода отличается от заявленной/зарегистрированной породы.

В целях стандартизации, для номенклатуры генов или локусов можно использовать данные с веб-страницы по адресу: https://www.genenames.org/about/guidelines#genenames; для маркеров — по адресу: http://www.HGVS.org/varnomen.

2 Услуги ICAR, связанные с ДНК-технологией

С 2018 года ICAR предлагает три услуги, связанные с использованием ДНК, каждая из которых в той или иной форме связана с анализом происхождения, как показано на Рисунке 1. Услуги ICAR, связанные с использованием ДНК, более подробное описание которых приведено в разделах ниже.

Рисунок 1. Услуги ICAR, связанные с использованием ДНК



**Услуги ICAR, связанные с использованием ДНК**

**Аккредитация ICAR для лабораторий генотипирования**

**- Оценка качества услуг по генотипированию ДНК с помощью проверки квалификации, разработанной ISAG**

**Включает подтверждение происхождения на основе анализа микросателлитов**

**Аккредитация ICAR для центров интерпретации данных ДНК**

**- Тестирование внутренних процессов, применяемых для подтверждения и/или установления происхождения**

**GenoEx-PSE  
 через Interbull Centre**

**- Обмен генотипами SNP для подтверждения и/или установления происхождения**

**- Требуется аккредитация в качестве центра интерпретации данных ДНК**

3 Аккредитация ICAR лабораторий, предоставляющих услуги ДНК-генотипирования

3.1 Введение

Принимая во внимание потребность в высоких стандартах качества при любом использовании молекулярных данных, ICAR в течение нескольких лет предлагает услуги по аккредитации, основанные на определенных минимальных требованиях для лабораторий, осуществляющих генотипирование ДНК. Основные требования этой аккредитации включают подтверждение минимальных внутренних стандартов обеспечения качества управления и участие в международной проверке квалификации, разработанной и предложенной Международным обществом генетики животных (ISAG).

Кроме того, такие лаборатории, как правило, анализируют полученные генотипы для проведения анализа происхождения на основе микросателлитов и/или SNP, включая либо подтверждения происхождения, либо подтверждение идентификации животных. Эта услуга аккредитации со стороны ICAR ранее использовалась для признания лаборатории генотипирования в качестве аккредитованной организации для выполнения задач по анализу происхождения без специальной проверки технической точности такого анализа. Начиная с 2018 года запуск услуги по аккредитации в сфере анализа происхождения на основе SNP для центров интерпретации данных ДНК заменил предыдущую лабораторную аккредитацию для подтверждения происхождения на основе SNP. В будущем аналогичный технический процесс для аккредитации в сфере анализа происхождения на основе микросателлитов может быть введен ICAR, но до этого времени будет действовать существующий процесс аккредитации лабораторий генотипирования.

Следующие рекомендации по аккредитации представлены для генотипирования крупного рогатого скота на основе микросателлитов и SNP. В будущем могут быть определены минимальные требования для дополнительных видов и других тестов ДНК.

3.2 Область применения

Данное руководство предназначено для аккредитации ICAR лабораторий генотипирования, которые занимаются анализом биологических образцов крупного рогатого скота с использованием генотипирования на основе микросателлитов и/или SNP, с целью возможного последующего использования для различных уровней анализа происхождения, восстановления недостающих данных генотипа, оценки геномной племенной ценности и других видов деятельности, связанных со стратегиями геномной селекции. Этот процесс аккредитации также включает подтверждение происхождения на основе анализа микросателлитов. В целях получения аккредитации ICAR, связанной с подтверждением происхождения на основе SNP, лаборатории генотипирования должны подавать заявки в ICAR на параллельную услугу аккредитации в сфере анализа происхождения для центров интерпретации данных ДНК, как описано ниже.

3.3 Правила и руководства ICAR по аккредитации лабораторий генотипирования

Процесс аккредитации включает следующие этапы:

a. Заявка на аккредитацию

b. Уплата соответствующего взноса

c. Рассмотрение заявок

d. Предоставление аккредитации

3.3.1 Заявка на аккредитацию

Лаборатория, запрашивающая аккредитацию для генотипирования на основе микросателлитов и/или SNP, должна подать заявку, загрузив и заполнив соответствующие формы, согласно Приложению 2. Форма заявки в отношении подтверждения происхождения крупного рогатого скота на основе анализа микросателлитов и Приложение 3 Форма заявки в отношении подтверждения происхождения крупного рогатого скота на основе SNP соответственно, и ее отправка по электронной почте в секретариат ICAR ([dna@icar.org](mailto:dna@icar.org)). Точное и полное заполнение форм является обязательным, с предоставлением необходимой документации по мере необходимости.

3.3.2 Уплата соответствующего взноса

Наряду с заполненной формой заявки заявитель также должен полностью уплатить соответствующий взнос, установленный ICAR и описанный в Приложении 4. Стоимость услуги ICAR по аккредитации ДНК-лаборатории.

3.3.3 Рассмотрение заявок

Заявка будет оцениваться комитетом экспертов, назначенным ICAR, который должен выбрать один из вариантов:

a. Одобрить заявку

b. Запросить дополнительную информацию, или

c. Отклонить заявку

В случае отказа лаборатория может подать новую заявку не менее чем через год после отклонения заявки.

3.3.4 Предоставление аккредитации

Аккредитация будет выдана сроком на два года.

3.3.5 Продление аккредитации

По истечении двухлетнего срока лаборатория может подать заявку на продление своей аккредитации, подав заявку, как описано в параграфе 3.3.1 выше.

3.3.6 Аккредитация лаборатории

В настоящее время аккредитация по ISO17025 или ISO9001 является обязательной для аккредитации в сфере анализа микросателлитов (STR). После инициированной ICAR в 2020 г. аккредитации лабораторий генотипирования, аккредитация по ISO17025 или аналогичная аккредитация для обеспечения качества внутренних систем управления станет обязательным условием для аккредитации в сфере анализа SNP. Кроме того, после инициированной в 2020 г. аккредитации лабораторий генотипирования приемлемым уровнем аккредитации в рамках обеспечения качества внутренних систем управления для целей аккредитации в сфере анализа микросателлитов (STR) будет являться только сертификация по ISO17025 или аналогичная ей, тогда как сертификация по ISO9001 больше не будет считаться приемлемой для этих целей.

3.3.7 Участие и результаты в рамках проверки квалификации

ISAG проводит международную (сравнительную) проверку квалификации лабораторий для генотипирования на основе микросателлитов и/или SNP. Должно быть раскрыто участие в проекте ISAG и результаты проверок квалификации, с предоставлением сертификатов, если таковые имеются. Заявители также должны подписать разрешение, позволяющее ISAG напрямую раскрывать ICAR результаты своей проверки квалификации. Минимальным требованием является участие как минимум в двух проверках квалификации ISAG. В рамках проверки квалификации в сфере анализа микросателлитов, проводимой ISAG, необходимо раскрыть результаты лабораторного генотипирования для официального набора ISAG из 12 микросателлитов. Комитет экспертов определит пороговые значения показателей для каждой проверки квалификации с должным учетом структуры теста и средних результатов лабораторий при проверке квалификации в этом году. Только те лаборатории, которые получили статус категории 1 в рамках ежегодной проверки квалификации ISAG, могут автоматически получить аккредитацию ICAR в качестве лабораторий генотипирования; при этом аккредитация лабораторий генотипирования с более низкой категории проверки квалификации осуществляется по усмотрению комитета экспертов ICAR.

3.3.8 Микросателлитные маркеры

Должны быть указаны названия всех микросателлитов, типированных на всех животных (набор маркеров I), и дополнительных микросателлитов, проанализированных в случае неустановленного происхождения (набор маркеров II), а также количество животных, типированных как минимум за последние два года. Минимальным требованием для международного обмена является полный набор ISAG из 12 официальных микросателлитных маркеров. Для обеспечения достаточного опыта лаборатории установлено минимальное требование для сертификации подтверждения происхождения на основе анализа микросателлитов, предусматривающее анализ 500 животных в год.

Приложение 5. Рекомендуемые ISAG микросателлиты для подтверждения происхождения крупного рогатого скота содержат список микросателлитных маркеров, рекомендованных ISAG, и метод расчета вероятностей исключения 1 родителя и 2 родителей. Правила подтверждения происхождения крупного рогатого скота на основе анализа микросателлитов описаны в Приложении 6. Правила подтверждения происхождения крупного рогатого скота на основе анализа микросателлитов Вероятность исключения (PE; 2 родителя и 1 родитель) каждого маркера и полных наборов маркеров должна быть рассчитана и указана в заявке. Необходимо описать тип популяции и количество животных (минимум 150), используемых для расчетов. ICAR рекомендует по возможности использовать голштинскую породу в качестве контрольной группы. Комитет экспертов ICAR оценивает достижение соответствующей PE для аккредитации на основе проанализированной популяции.

3.3.9 SNP-маркеры

Должны быть указаны названия всех SNP, генотипированных на всех животных (набор маркеров I), и дополнительных микросателлитов, проанализированных в случае неустановленного происхождения (набор маркеров II), а также количество животных, генотипированных как минимум за последние два года. Минимальное требование предусматривает использование не менее 95 SNP из набора, рекомендованного ISAG (см. Приложение 7. Рекомендуемые ISAG SNP-маркеры для подтверждения происхождения крупного рогатого скота) на всех генотипированных животных.

3.3.10 Номенклатура маркеров

Должна быть описана номенклатура маркеров. Номенклатура ISAG требуется для официального набора ISAG 12 маркеров, а также для набора ISAG SNP-маркеров.

4 Аккредитация организаций, проводящих анализ происхождения на основе SNP

4.1 Введение

С появлением генотипирования SNP функция генотипирования ДНК как лабораторной деятельности может быть отделена от функций подтверждения и установления происхождения. В дальнейшем ICAR учредил отдельную аккредитацию для применения результатов генотипирования на основе SNP, которое может проводиться лабораториями, племенными ассоциациями, центрами генетической оценки и любыми другими организациями, занимающимися подтверждением происхождения и/или обработкой данных генотипов SNP.

Подтверждение и установление происхождения связаны с использованием результатов, полученных лабораториями на основе генотипирования ДНК, и требуют наличия генотипов SNP для самого животного, его зарегистрированных родителей и других потенциальных родителей в случае установления происхождения. Организации, выполняющие эту функцию, могут быть поставщиками услуг, которые осуществляют взаимодействие с лабораториями, аккредитованными ICAR для генотипирования ДНК на основе микросателлитов и/или SNP, и конечными пользователями, в числе которых племенные ассоциации, селекционные предприятия, заводчики и коммерческие хозяйства.

Поставщики услуг могут использовать разные лаборатории для разных пород и/или видов. Принимая во внимание важность идентификации животных и подтверждения происхождения при учете животных, ICAR решил определить минимальные требования для использования результатов генотипирования ДНК и другой информации со следующими целями:

a. Подтверждение происхождения

b. Установление происхождения и

c. Подтверждение идентификации животного

Целью настоящего руководства является обеспечение основы для аккредитации процессов, используемых организациями, занимающимися генотипированием SNP крупного рогатого скота. В будущем могут быть определены минимальные требования для дополнительных видов и других анализов ДНК.

4.2 Область применения

Настоящее руководство предназначено для аккредитации со стороны ICAR организаций, которые используют результаты тестов на основе SNP для анализа происхождения крупного рогатого скота, что включает подтверждение происхождения, установление происхождения и/или подтверждение идентификации животных.

4.3 Аккредитация организаций, проводящих анализ происхождения

Процесс аккредитации ICAR включает следующие этапы:

a. Заявка на аккредитацию

b. Уплата соответствующего взноса

c. Рассмотрение заявок

d. Техническая обработка файлов тестовых данных

e. Предоставление аккредитации

4.3.1 Подача заявки

Организация, проводящая анализ происхождения на основе SNP и запрашивающая аккредитацию ICAR в качестве центра интерпретации данных ДНК, должна подать заявку, загрузив и заполнив соответствующую форму, приведенную ниже в Приложении 8. Форма заявки для организаций, желающих получить аккредитацию ICAR в сфере анализа происхождения для центров интерпретации данных ДНК. Эта форма должна быть заполнена точно и полностью, с предоставлением необходимой документации по мере необходимости, и отправлена в ICAR при условии уплаты соответствующего взноса.

4.3.2 Рассмотрение заявок

Сначала ICAR рассмотрит заявку на предмет ее полноты; при необходимости могут быть запрошены дополнительные сведения. Администрация ICAR также подтвердит получение соответствующего взноса.

4.3.3 Техническая обработка контрольных файлов

Организация-заявитель получит от ICAR через Interbull Centre набор файлов данных для обработки с использованием существующих процедур, с целью проведения анализа происхождения в той категории, для которой заявитель запрашивает аккредитацию ICAR в качестве Центра интерпретации данных ДНК. Подробное описание этого шага приведено в Руководстве подавшего заявку на аккредитацию ICAR в сфере анализа происхождения для центров интерпретации данных ДНК, приведенном ниже в Приложении 9. Руководство для подавших заявку на аккредитацию ICAR в сфере анализа происхождения для центров интерпретации данных ДНК. Для успешного получения заявителем запрошенной аккредитации ICAR, используемые им процедуры анализа происхождения должны точно соответствовать Руководству ICAR по подтверждению и установлению происхождения на основе генотипов SNP, которое также включено ниже в Приложение 10. Руководство ICAR по подтверждению и установлению происхождения на основе SNP-генотипов. Список SNP, которые должны использоваться либо для подтверждения происхождения, либо для установления происхождения, доступен в Приложении 11. Список SNP, которые будут использоваться либо для подтверждения происхождения, либо для его установления. После выполнения заявителем своих внутренних процедур анализа происхождения на основе полученных им файлов с аккредитационными тестами, он должен отправить файл данных с результатами обратно в Interbull Centre. Максимальный срок для отправки заявителем приемлемых файлов результатов обратно в Interbull Centre составляет 90 календарных дней.

4.3.4 Предоставление аккредитации

Сразу после получения от заявителя файла с результатами анализа происхождения Interbull Center выполнит техническую проверку и определит, прошел ли заявитель аккредитацию. Interbull Center информирует ICAR о результатах, и ICAR направляет официальное уведомление заявителю. Если заявителю не удалось получить аккредитацию ICAR, заявитель может инициировать новый запрос на аккредитацию, заполнив и отправив соответствующие формы и оплатив соответствующий взнос, как указано выше.

5 Сервис по обмену данных о генотипах — GenoEx-PSE

С 2018 года ICAR предоставляет сервис по обмену генотипами для анализа происхождения GenoEx-PSE, предлагаемый через Interbull Centre. Основная цель этого сервиса — упростить международный обмен генотипами SNP, чтобы авторизованные пользователи сервиса могли эффективно выполнять услуги по анализу происхождения на национальном уровне. Система базы данных GenoEx-PSE и пользовательский интерфейс были разработаны для обеспечения обмена генотипами SNP с целью либо подтверждения, либо установления происхождения на основе списка SNP, приведенного в Приложении 11. Список SNP, которые будут использоваться либо для подтверждения происхождения, либо для его установления.

Чтобы организация могла квалифицироваться как пользователь сервиса GenoEx-PSE, она должна сначала получить аккредитацию ICAR в качестве центра интерпретации данных ДНК. Уровень такой аккредитации ICAR (т. е. только для подтверждения происхождения на основе анализа SNP либо как для подтверждения, так и для установления происхождения на основе анализа SNP) должен определять наивысший уровень SNP для потенциального обмена через сервис GenoEx-PSE. Подробную информацию об этом сервисе ICAR см. на веб-сайте GenoEx-PSE по адресу www.GenoEx.org .

6 СПИСОК ПРИЛОЖЕНИЙ

6.1 Приложение 1. Ссылка на SNP-маркеры, рекомендованные ISAG для подтверждения происхождения

http://www.isag.us/Docs/Cattle-SNP-ISAG-core-additional-panel-2013.xlsx

6.2 Приложение 2. Форма заявки на подтверждение происхождения крупного рогатого скота на основе анализа микросателлитов

Вы можете перейти по этой ссылке на веб-сайт ICAR для получения формы заявки на аккредитацию в сфере подтверждения происхождения крупного рогатого скота на основе анализа микросателлитов.

6.3 Приложение 3. Бланк заявки на подтверждение происхождения крупного рогатого скота на основе анализа SNP

Вы можете перейти по этой ссылке на веб-сайт ICAR для получения формы заявки на аккредитацию в сфере подтверждения происхождения крупного рогатого скота на основе SNP.

6.4 Приложение 4. Стоимость услуги ICAR по аккредитации ДНК-лаборатории

Информацию о взносе за услуги по аккредитации в сфере тестирования ДНК можно найти по этой ссылке на веб-сайте ICAR.

6.5 Приложение 5. Рекомендуемые ISAG микросателлиты для подтверждения происхождения крупного рогатого скота

Вы можете перейти по этой ссылке на веб-сайт ICAR для получения списка рекомендуемых ISAG микросателлитов для подтверждения происхождения крупного рогатого скота. Метод расчета описан здесь.

6.6 Приложение 6. Правила подтверждения происхождения крупного рогатого скота на основе анализа микросателлитов

Вы можете перейти по этой ссылке на веб-сайт ICAR для ознакомления с правилами подтверждения происхождения крупного рогатого скота на основе анализа микросателлитов.

6.7 Приложение 7. Рекомендуемые ISAG SNP-маркеры для подтверждения происхождения крупного рогатого скота

Вы можете перейти по этой ссылке на веб-сайт ICAR для ознакомления с рекомендуемыми ISAG SNP-маркерами для подтверждения происхождения крупного рогатого скота.

6.8 Приложение 8. Форма заявки для организаций, желающих получить аккредитацию ICAR в сфере анализа происхождения, для центров интерпретации данных ДНК

Вы можете перейти по этой ссылке на веб-сайт ICAR для получения формы заявки для организаций, желающих получить статус аккредитации ICAR в качестве центра интерпретации данных ДНК.

6.9 Приложение 9. Руководство для подавших заявку на аккредитацию ICAR в сфере анализа происхождения для центров интерпретации данных ДНК

Вы можете перейти по этой ссылке на веб-сайт ICAR для ознакомления с Руководством подавшего заявку на аккредитацию ICAR в сфере анализа происхождения для центров интерпретации данных ДНК.

6.10 Приложение 10. Руководство ICAR по подтверждению и установлению происхождения на основе SNP-генотипов

Вы можете перейти на веб-сайт ICAR по этой ссылке для ознакомления с Руководством ICAR по подтверждению и установлению происхождения на основе генотипов SNP.

6.11 Приложение 11. Список SNP, которые будут использоваться либо для подтверждения происхождения, либо для его установления

Вы можете перейти на веб-сайт ICAR по этой ссылке для ознакомления со списком SNP, которые будут использоваться для подтверждения либо установления происхождения.

6.12 Приложение 12: Список ICAR SNP 554 для установления происхождения

Вы можете перейти на веб-сайт ICAR по этой ссылке для ознакомления со списком ICAR SNP 554 для установления происхождения.