Назначение документа

В конце 2017 или начале 2018 года ICAR начнет предлагать две новые услуги, связанные с использованием SNP-генотипов для молочного и мясного скота. Одной из этих услуг является сервис Genotype Exchange Parentage SNP Exchange (GenoEx-PSE), который позволяет странам обмениваться SNP генотипами с целью оказания услуг по анализу происхождения для конкретных групп популяций пород на национальном уровне. Еще одна новая услуга, которая также является обязательным условием для GenoEx-PSE, — это услуга ICAR по аккредитации в сфере анализа происхождения для центров интерпретации данных, которая позволяет организациям, желающим выполнять услуги по анализу происхождения, получить аккредитацию от независимой третьей стороны. Организации, желающие стать пользователями услуг GenoEx-PSE, должны сначала получить аккредитацию ICAR для центров интерпретации данных.

В июле 2012 года Международное общество генетики животных (ISAG) утвердило стандарты для лабораторий генотипирования для проведения подтверждения происхождения. Настоящее *«Руководство по подтверждению происхождения крупного рогатого скота на основе SNP-маркеров»* было основано на подтверждении происхождения с использованием набора из 200 рекомендуемых SNP, из которых 100 считаются основными SNP, а второй набор из 100 — резервными SNP.

Данный документ имеет следующие две цели:

1. Пересмотреть существующие рекомендации ISAG по подтверждению происхождения молочного и мясного скота с использованием 200 SNP, рекомендованных ISAG, и

2. Разработать новые рекомендации по подтверждению происхождения на основе SNP, включенных для этой цели в сервис обмена генотипами GenoEx-PSE, которых первоначально насчитывается 554.

Принципы

При проведении анализа происхождения, который включает подтверждение и/или установление происхождения, нужно учитывать следующие основополагающие принципы:

• Должен быть определен унифицированный набор SNP для использования всеми организациями в целях международного признания аккредитации в сфере анализа происхождения и последующего предоставления «сертифицированной» информации о происхождении.

• Для каждого животного, задействованного в процессе анализа происхождения (т. е. для самого животного и каждого из его потенциальных родителей), требуется наличие доступной информации о генотипе SNP, для которого определена и доступна минимальная доля определенного набора SNP. При установлении таких минимальных требований следует учитывать включение определенных SNP на различные чипы для генотипирования, широко используемые в рассматриваемой популяции животных.

• Хотя очевидно, что только информативные SNP (т. е. SNP, по которым и животное, и его предполагаемый родитель являются гомозиготными) предоставляют полезную информацию для анализа происхождения, представляется более целесообразным основывать рекомендации на общем количестве SNP, доступных для животного и его предполагаемого родителя. Грубо говоря, около трети доступных для анализа происхождения SNP являются информативными, но эта пропорция зависит от средней частоты минорных аллелей, включенных SNP в рамках рассматриваемой популяции животных.

Подтверждение происхождения

Текущие рекомендации ISAG по подтверждению происхождения крупного рогатого скота предусматривают использование набора из 100 основных SNP, а также второго набора из 100 дополнительных SNP. В руководстве описывается возможный двухэтапный процесс, в соответствии с которым результаты на основе 100 основных SNP могут использоваться для признания статуса «происхождение подтверждено» или «происхождение исключено», и только при получении первичного статуса «происхождение недостоверно» анализ продолжается с использованием второй группы из 100 вспомогательных SNP. Этот второй этап подтверждения происхождения может иметь своим результатом окончательный статус «происхождение подтверждено» или «происхождение исключено». В случае повторного получения результата «происхождение недостоверно», когда были обработаны новые образцы и/или генотипы соответствующих животных и клиент не может определить других возможных родителей, зарегистрированное происхождение будет иметь статус «происхождение подтверждено».

Учитывая текущий уровень знаний и опыт использования генотипов SNP для подтверждения происхождения, для целей аккредитации ICAR были одобрены следующие модификации существующих руководств ISAG:

1. После одобрения Рабочей группой ICAR по технологиям ДНК, отдельные SNP, включенные в текущую группу из 200 SNP, рекомендованных ISAG для подтверждения происхождения крупного рогатого скота, могут быть сочтены неподходящими для включения. Такое сокращение используемого общего набора SNP будет применяться всеми организациями, получающими аккредитацию ICAR для центров интерпретации данных. В Приложении 1 перечислены SNP, применение которых вызвало проблемы при подтверждении происхождения и которые рекомендуется исключить из исходного списка 200 рекомендованных ISAG SNP для подтверждения происхождения. На постоянной основе ISAG может выявлять другие проблемные SNP на различных платформах и технологиях чипов для включения в Приложение 1 после окончательного утверждения Рабочей группой ICAR по ДНК.

2. Учитывая повышенную точность подтверждения происхождения, достигнутую за счет включения большего количества SNP, нынешний двухэтапный процесс следует заменить единым анализом, основанным на полном наборе примерно из 200 SNP для подтверждения происхождения, за исключением указанных в Приложении 1.

3. Требуемые минимумы с точки зрения количества SNP, как указано в текущих рекомендациях ISAG, должны быть масштабированы, что позволит отразить общее количество SNP, используемых для анализа по подтверждению происхождения. Например, если общее количество SNP из тех, что рекомендованы ISAG, уменьшено с 200 до 196 (как в текущей ситуации), то минимальное количество SNP, доступное в профиле каждого животного и потенциального родителя, должно быть увеличено до 186 (то есть: с 95% усечением), исходя из текущего минимума ISAG, равного 95 из 100.

4. Для присвоения статуса подтверждения происхождения в соответствии с количеством выявленных несоответствий SNP, ICAR утверждены следующие пересмотренные правила:

Шаг 1: Провести отдельную проверку для каждой комбинации животного с его зарегистрированным отцом и/или матерью с генотипом SNP. Информативными SNP являются те, в отношении которых животное и заявленный родитель являются гомозиготными, и несоответствие принимается в расчет, когда каждый из них является гомозиготным по разным аллелям в отношении любого информативного SNP. На основании минимальных критериев 186 SNP, доступных для животного и каждого родителя, минимальное количество общих SNP, доступных для проверки каждой комбинации животное-родитель, составляет 176 (т. е. 196 - (2 x (196-186)) = 176).

На этом этапе применяются следующие правила присвоения статуса подтверждения происхождение:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| - Количество несоответствий/несовпадений SNP: | 0 - 2 | => Происхождение подтверждено |
| - Количество несоответствий/несовпадений SNP: | 3 - 5 | => Происхождение недостоверно |
| - Количество несоответствий/несовпадений SNP: | >5 | => Происхождение исключено |

Шаг 2: В случае, если и отец, и мать имеют статус «происхождение подтверждено» на шаге 1, убедиться, что комбинация этих родителей является приемлемой. В этом случае информативными SNP являются те, в отношении которых оба верифицированных родителя гомозиготны, а потомство гетерозиготно. Несоответствие имеет место в тех случаях, когда родители гомозиготны по одному и тому же аллелю в отношении любого информативного SNP, а потомство гетерозиготно. В этом случае минимальное количество доступных общих SNP равно 166 (196 - (3 x (196-186)) = 166).

На этом этапе применяются следующие правила для доказательства статуса подтверждения происхождения для комбинации проверенных родителей:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| - Количество несоответствий/несовпадений SNP: | 0 - 3 | => Происхождение подтверждено |
| - Количество несоответствий/несовпадений SNP: | 4 - 7 | => Происхождение недостоверно |
| - Количество несоответствий/несовпадений SNP: | >7 | => Происхождение исключено |

5. Что касается животных, у которых генотипирован только один родитель, только те комбинации животное-родитель, которые получили статус «происхождение принято» на этапе 1, могут претендовать на выдачу организацией официального подтверждения происхождения для этого родителя. Что касается животных, у которых генотипированы оба родителя, только те животные, которые получили статус «происхождение принято» на этапе 2, могут претендовать на выдачу организацией официального подтверждения происхождения, включая обоих родителей.

6. В качестве дополнительной услуги для тех организаций, занимающихся установлением происхождения, которые получили аккредитацию ICAR, описанный ниже процесс может быть применен ко всем животным, для которых результат подтверждения происхождения на шаге 1 или шаге 2 выше был либо «происхождение недостоверно», либо «происхождение исключено».

Установление происхождения

В настоящее время не существует международных руководств для организаций, занимающихся установлением происхождения, хотя многие, если не все, поставщики услуг генетической оценки разработали такие процессы внутри своих организаций. Как и в случае подтверждения происхождения, точность установления происхождения повышается по мере увеличения количества включенных SNP. Для сервиса GenoEx-PSE был определен список из 554 SNP, предназначенных для обмена генотипами с участием пользователей сервиса, которые были аккредитованы ICAR для этого уровня анализа происхождения и согласились загрузить эти SNP в базу данных GenoEx-PSE на сайте Interbull Center, что является требованием для их скачивания. Эти 554 SNP включают 200 SNP, рекомендованных ISAG для подтверждения происхождения крупного рогатого скота, а также дополнительную группу из 354 SNP. В дополнение к 200 SNP, предназначенным для подтверждения происхождения, еще 75 SNP для установления происхождения распределены по хромосомам с 1 по 29, в то время как остальные 279 SNP были выбраны только из десяти хромосом, а именно 1, 2, 3, 5, 7, 8, 11, 13, 19 и 21. Эта стратегия выбора SNP была принята для снижения точности подстановки недостающих данных генотипа и предсказания генома в случае, если пользователи сервиса GenoEx-PSE попытаются использовать полученный в результате обмена генотип в подобных целях, даже если это явно запрещено в соответствии с Соглашением о пользовании сервисом GenoEx-PSE.

Чтобы соответствовать принципам и пересмотренным требованиям по подтверждению происхождения, изложенным выше, далее приведены рекомендации, одобренные ICAR для установления происхождения:

1. Рабочая группа ICAR по ДНК может в любое время выявлять и утверждать SNP из числа включенных в сервис GenoEx-PSE, которые должны быть исключены при установлении происхождения и которые перечислены в Приложении 2. Любой такой SNP будет включать SNP, утвержденные для исключения при подтверждении происхождения, а также может включать другие SNP при наличии достаточных оснований.

2. Организации, оказывающие услуги по установлению происхождения, должны внедрить процедуры обеспечения качества, обеспечивающие следующие параметры:

• Установленный родитель старше животного и не может быть его потомком

• Установленный родитель имеет соответствующий пол, то есть производители — самцы, а матери — самки.

• Генетически идентичные животные идентифицируются заранее, так что установленный родитель указывается как любой из генетически идентичных братьев и сестер.

3. По результатам недавней оценки списков SNP, связанных с различными чипами SNP, используемыми на международном уровне для генотипирования молочного и/или мясного скота, каждый чип имеет не менее 500 SNP, общих с 554 SNP, рекомендованными для установления происхождения. Учитывая возможный уровень распознавания генотипов для животного и любого потенциального родителя, подлежащего установлению, ICAR утвердил положение, что каждый генотип, включенный в такой анализ, имеет минимум 450 из 554 SNP, доступных для процесса установления происхождения.

4. Учитывая, что SNP-чипы для генотипирования, которые активно используются в популяциях крупного рогатого скота на международном уровне, содержат различное количество 554 SNP, определенных для включения в сервис GenoEx-PSE, результаты установления происхождения должны основываться на процентной доле SNP, имеющихся у животного и любого рассматриваемого потенциального родителя. Для присвоения статуса установления родителя рекомендуется следующее:

Шаг 1: В рамках отдельных процессов следует стремиться установить либо отца (т. е. самца старше животного с наименьшим количеством несоответствий), либо матери (т. е. самку старше животного с наименьшим количеством несоответствий) животного на основе доступных генотипов SNP. Исходя из минимальных критериев для включения каждого генотипа SNP, как указано в пункте 3 выше, минимальное количество общих SNP у животного и каждого из его родителей будет равно 350.

На этом шаге применяются следующие правила для присвоения статуса каждому обнаруженному родителю:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| - Процент общих SNP с несоответствием: | от 0 до <1,0% | => Родитель установлен |
| - Процент общих SNP с несоответствием: | от 1,0 до <3,0% | => Родитель недостоверный |
| - Процент общих SNP с несоответствием: | ≥3,0% | => Родитель исключен |

Шаг 2: В случае, если у животного есть и отец, и мать со статусом «родитель установлен» на шаге 1, эта комбинация родителей также должна быть подтверждена.

Для этого шага применяются следующие правила присвоения статуса комбинации установленных родителей:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| - Процент общих SNP с несоответствием: | от 0 до <1,5% | => Родители выявлены |
| - Процент общих SNP с несоответствием: | от 1,5 до <4,0% | => Родители недостоверны |
| - Процент общих SNP с несоответствием: | ≥4,0% | => Родители исключены |

5. Что касается животных, имеющих только одного родителя со статусом «родитель установлен» на этапе 1, только эта комбинация животное-родитель может претендовать на выдачу организацией официального подтверждения происхождения для этого родителя. Что касается животных, имеющих обоих родителей со статусом «родители установлены» на этапе 1, только животные, получившие статус «родители установлены» на этапе 2, могут претендовать на выдачу организацией официального подтверждения происхождения со статусом «происхождение подтверждено» для обоих родителей.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1: SNP в составе ISAG 200, которые будут исключены из подтверждения происхождения для целей аккредитации ICAR

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Название SNP (чипы Illumina Bead) | Группа ISAG | Причина исключения |
| ARS-USMARC-Parent-DQ837645-rs29015870 | Основной | Факторы, связанные с кластеризацией\* |
| ARS-BFGL-NGS-76191 | Вспомогательный | Факторы, связанные с кластеризацией\* |
| BTA-100621-no-rs | Вспомогательный | Факторы, связанные с кластеризацией\* |
| ARS-BFGL-NGS-99210 | Вспомогательный | Триаллельный\*\* |

\* - МакКлюр и др. (2015)

\*\* - Основано на проверке последовательности, что является особенно проблематичным для микрочипов.

Со временем могут быть добавлены SNP, связанные с другими платформами и/или технологиями чипов.

ПРИЛОЖЕНИЕ 2: SNP, включенный в GenoEx-PSE, будет исключен из определения происхождения для аккредитации ICAR

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Название SNP (чипы Illumina Bead) | Группа ISAG | Причина исключения |
| ARS-USMARC-Parent-DQ837645-rs29015870 | Основной | Факторы, связанные с кластеризацией\* |
| ARS-BFGL-NGS-76191 | Вспомогательный | Факторы, связанные с кластеризацией\* |
| BTA-100621-no-rs | Вспомогательный | Факторы, связанные с кластеризацией\* |
| ARS-BFGL-NGS-99210 | Вспомогательный | Триаллельный\*\* |

\* - МакКлюр и др. (2015)

\*\* - Основано на проверке последовательности, что является особенно проблематичным для микрочипов.

Со временем могут быть добавлены SNP, связанные с другими платформами и/или технологиями чипов.