



THE GLOBAL STANDARD
FOR LIVESTOCK DATA

Część 4 – Wytyczne dot. technologii DNA

Wersja: grudzień 2018

Oficjalna, zatwierdzona przez ICAR, jest wyłącznie wersja angielska Wytycznych dostępna [tutaj](#) .

Spis treści

1	Genetyka molekularna	5
1.1	Wprowadzenie	5
1.2	Markery genetyczne	5
1.2.1	Mikrosatelity	6
1.2.2	Polimorfizm Pojedynczego Nukleotydu (Single Nucleotide Polymorphism - SNP).....	6
1.3	Definicje i terminologia	6
1.4	Obecne i potencjalne zastosowania technologii DNA	8
1.4.1	Weryfikacja pochodzenia i ustalanie pochodzenia.....	8
1.4.2	Identyfikowalność i uwierzytelnianie produktów zwierzęcych oferowanych konsumentom	9
1.4.3	Molekularna informacja genetyczna na potrzeby programów selekcji wspomaganiej markerami	9
1.4.4	Odporność na choroby i wady genetyczne	10
1.5	Aspekty techniczne	11
1.5.1	Pobieranie DNA.....	11
1.5.2	Zbieranie danych.....	12
1.5.3	Kontrola jakości informacji genomowych.....	12
2	Usługi ICAR związane z technologią DNA	14
3	Akredytacja ICAR dla laboratoriów świadczących usługi genotypowania DNA	14
3.1	Wprowadzenie	14
3.2	Zakres.....	15
3.3	Zasady i wytyczne ICAR dotyczące akredytacji laboratoriów genotypowania	15
3.3.1	Wniosek o akredytację.....	16
3.3.2	Uiszczenie odpowiedniej opłaty	16
3.3.3	Przegląd wniosku	16
3.3.4	Przyznanie akredytacji	16
3.3.5	Odnowienie akredytacji	16
3.3.6	Akredytacja laboratoriów	17
3.3.7	Uczestnictwo i wyniki ring testu	17
3.3.8	Markery mikrosatelitarne	17
3.3.9	Markery SNP	18
3.3.10	Nomenklatura markerów	18
4	Akredytacja organizacji prowadzących analizę pochodzenia opartą na SNP	18
4.1	Wprowadzenie	18
4.2	Zakres.....	19
4.3	Akredytacja organizacji przeprowadzających analizę pochodzenia	19
4.3.1	Wniosek	20
4.3.2	Przegląd wniosku	20
4.3.3	Przetwarzanie techniczne plików testowych.....	20
4.3.4	Przyznanie akredytacji	21
5	Usługa wymiany genotypów - GenoEx-PSE	21

6	LISTA ZAŁĄCZNIKÓW	22
6.1	Załącznik 1. Link do markerów SNP rekomendowanych przez ISAG do weryfikacji pochodzenia	22
6.2	Załącznik 2. Formularz wniosku o weryfikację pochodzenia w oparciu o mikrosatelity bydła	22
6.3	Załącznik 3. Formularz wniosku o weryfikację pochodzenia bydła opartą na SNP	22
6.4	Załącznik 4. Opłaty za usługi akredytacji ICAR dla laboratorium DNA.....	22
6.5	Załącznik 5. Mikrosatelity zalecane przez ISAG do weryfikacji pochodzenia u bydła.....	22
6.6	Załącznik 6. Zasady weryfikacji pochodzenia w oparciu o mikrosatelity u bydła	22
6.7	Załącznik 7. Zalecane przez ISAG markery SNP do weryfikacji pochodzenia u bydła	22
6.8	Załącznik 8. Formularz wniosku dla organizacji starających się o akredytację ICAR dla analizy pochodzenia dla ośrodków interpretacji danych DNA.....	22
6.9	Załącznik 9. Przewodnik Wnioskodawcy o Akredytację ICAR Analiz Pochodzenia dla Ośrodków Interpretacji Danych DNA	23
6.10	Załącznik 10. Wytyczne ICAR dotyczące weryfikacji pochodzenia i wykrywania pochodzenia w oparciu o genotypy SNP.....	23
6.11	Załącznik 11. Lista SNP, do stosowania przy weryfikacji pochodzenia lub wykrywania pochodzenia	23

Change Summary

Date of Change	Nature of Change
August 17	Reformatted using new template.
August 17	Table of contents added.
August 17	Heading numbers and heading text edited for clarity and removal of redundant text.
August 17	Annexes replaced by links to relevant Appendices on ICAR website.
August 17	Moved the file to the new template (v2017_08_29)
August 17	Links to ICAR website hidden behind “here”.
September 17	Update version to September, 2017.
September 17	Links to DNA technology websites corrected.
September 17	Link to application forms on ICAR website corrected. Update version to October. Replace links for terminology.
October 17	Hyperlinks have been corrected.
January 18	Comprehensive review and improvements completed by the DNA Working Group.
September 18	<p>Updated and finalized Part 1 and related sections.</p> <p>ICAR Guidelines Template applied.</p> <p>Edits from DNA-WG meeting 25th September.</p> <p>Accept all changes and save as v18.05.</p>
October 18	Prepare and submit for Board approval.
December 18	Approved by General Assembly and published.

1 Genetyka molekularna

1.1 Wprowadzenie

Postępy w biologii molekularnej dostarczają nowych informacji, które można zastosować w produkcji zwierzęcej. Z jednej strony wykorzystanie informacji na poziomie molekularnym może przyczynić się do wzmocnienia zaufania konsumentów do zdolności monitorowania i kontrolowania procesu produkcji zwierzęcej. Z drugiej strony informacja molekularna znakomicie przyczyni się do osiągnięcia genetycznego doskonalenia cech zwierząt poprzez zastosowanie genomowych wartości hodowlanych, selekcji wspomaganą markerami, introgresji genów, szacowania heterozji i prawidłowej kontroli/przewidywania pochodzenia oraz statusu przenoszenia wad genetycznych. W większości przypadków korzyści wykorzystywania informacji na poziomie molekularnym za pośrednictwem ocen genomowych wynikają z poprawienia dokładności, skrócenia odstępu międzypokoleniowego oraz zwiększenia intensywności selekcji. Mimo tych korzyści wciąż jednak istnieje potrzeba badań i doskonalenia w poszukiwaniu powiązań pomiędzy markerami genetycznymi a cechami budzącymi zainteresowanie, zwłaszcza że nowe cechy są uwzględniane w krajowych indeksach oceny. Dodatkowo, nawet przy obecnym włączaniu informacji genomowych do krajowych systemów selekcji, konieczne jest rozumienie działania genu, interakcji genu oraz różnych ekspresji genu aby zapobiec równoległym wpływom negatywnym. Konieczna jest współpraca między producentami zwierząt a instytucjami badawczymi w celu pomyślnego i korzystnego poszukiwania informacji genetycznej w komercyjnych populacjach zwierząt hodowlanych.

1.2 Markery genetyczne

Markery genetyczne są podstawowymi narzędziami molekularnymi dla genomiki, nawet jeśli zmienił się rodzaj używanego markera. Pierwsze powiązania markerów genetycznych u zwierząt hodowlanych opisywano za pomocą oznaczania grup krwi w latach 60. XX wieku, technologia ta następnie zmieniła się na mikrosatelity (MS) w latach 90. XX wieku, a ostatnio na zastosowanie polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP). SNP i MS są polimorficznymi sekwencjami DNA (allelami) w określonym locus określonego chromosomu.

1.2.1 Mikrosatelity

Są to sekwencje DNA zawierające powtórzenia tandemowe prostych wzorów zazwyczaj dimerów i trimerów. Sekwencje te są usytuowane w całym genomie i zwykle w rejonach niekodowania. Z biegiem czasu regiony te podlegają dodaniu lub odjęciu powtórzeń tandemowych, co oznacza, że każdy mikrosatelita może mieć od 2 do ponad 15 niepowtarzalnych alleli. Mikrosatelity są powszechnie stosowane w wielu gatunkach zwierząt gospodarskich do weryfikacji pochodzenia.

1.2.2 Polimorfizm Pojedynczego Nukleotydu (Single Nucleotide Polymorphism - SNP)

SNP są najczęstszym rodzajem zmienności genetycznej: każdy SNP reprezentuje zmianę pojedynczego nukleotydu. W całym genomie każdego gatunków zwierząt hodowlanych występuje mnóstwo SNP. Dla celów genomiki, najbardziej informacyjny SNP tradycyjnie znajduje się w (a) regionach kodujących, w których różne allele zmieniają strukturę lub funkcję kodowanego białka, lub (b) w niekodujących regionach, które biorą udział w funkcji regulacyjnej genu. W przypadku genomowych wartości hodowlanych SNP znajdujące się w innych regionach genomu, mają również charakter informacyjny, ponieważ mogą być w nierównowadze powiązań z allelami, które powodują zmianę fenotypu.

Jedną z największych zalet SNP jest ich rozmieszczenie na macierzach SNP o dużej zdolności przetwarzania równoległego, w których tysiące lub setki tysięcy SNP mogą być sprawdzane razem dla dużej liczby zwierząt w sposób efektywny kosztowo i wydajny. Obecnie największe laboratoria genotypowania zwierząt gospodarskich mogą przetwarzać na takich macierzach ponad 100 000 zwierząt rocznie. Dostępność tych dużych paneli SNP wzmacnia zatem poszukiwanie mutacji leżących u podstaw zmienności genetycznej dla cech prostych i złożonych. To także rewolucjonizuje szybkość, z jaką odkrywane są cechy związane z genami lub regionami genów, a także tempo przyjmowania strategii selekcji genomowej.

1.3 Definicje i terminologia

Tabela 1 zawiera krótki przegląd terminów stosowanych w odniesieniu do genetyki molekularnej, genomiki i / lub analizy pochodzenia.

Tabela 1. Terminy stosowane w odniesieniu do genetyki molekularnej, genomiki i / lub analizy pochodzenia.

Termin	Definicja
Potwierdzenie identyfikacji zwierząt	Proces, w którym markery genomu są wykorzystywane do określenia, czy próbka tkanki może być wykluczona jako pochodząca od określonego zwierzęcia.
Genomika	Zakres technologii, które identyfikują genetyczną charakterystykę zwierzęcia na poziomie genów oraz sekwencje DNA genomu zwierzęcia.
Haplotyp	Grupa genetycznych alleli markerowych, które są dziedziczone razem od jednego rodzica. Markery genetyczne znajdują się na tym samym chromosomie i zwykle zawierają określoną długość odcinka na tym chromosomie.
Akredytacja ICAR	Uznanie przez ICAR, że organizacja dostarczyła wystarczających dowodów na to, że postępuje zgodnie z wytycznymi ICAR.
Imputacja	Proces wypełniania brakujących genotypów zwierzęcia w oparciu o jego rodowód i inne markery genetyczne. Zwykle stosowany do imputacji SNP i / lub mikrosatelitów z SNP.
MAF	(<i>Minor allele frequency</i>) Mniejsza częstotliwość alleli.
Przewidywanie matka-dziadek	Proces, w którym haplotypy odziedziczone od matki są używane do przewidywania najbardziej prawdopodobnego ojca matki.
Microsatellita	Segment DNA zawierający tandemowe powtórzenia prostych motywów zwykle zawiera dimery lub trimery. Nazywany również STR: <i>short-tandem-repeat</i> .
Analiza pochodzenia	Ogólna analiza genotypów w odniesieniu do pochodzenia i może obejmować weryfikację rodziców, odkrywanie rodziców oraz przewidywanie dziadka ze strony matki.
Znajdowanie rodziców	Proces, w którym pewna liczba potencjalnych rodziców, zazwyczaj płci męskiej, ale także prawdopodobnych płci żeńskiej, jest badana i w oparciu o dopasowane genotypy zredukowana do najbardziej prawdopodobnego reproduktora i / lub matki.
Weryfikacja pochodzenia	Proces, w którym genotypy zarejestrowanych rodziców (ojca i / lub matki) zwierzęcia są badane w stosunku do genotypu zwierzęcia w celu ustalenia, czy jedno lub oboje są wykluczeni jako rodzic(-e).
QTL	(<i>Quantitative Trait Loci</i>). Locus cechy ilościowej. Region genomu, który ma wpływ na cechy ilościowe, takie jak wzrost. Region ten może mieć mały wpływ, <0,01% lub duży wpływ, > 5% na fenotyp. Cecha ilościowa będzie miała wiele QTL rozłożonych na genomie.
Weryfikacja ojca	Tak samo jak weryfikacja pochodzenia, ale w oparciu o branego pod uwagę zarejestrowanego ojca.

SNP	(<i>Single nucleotide polymorphism</i>) Polimorfizm pojedynczego nukleotydu: zmiana pojedynczej zasady w sekwencji DNA.
-----	---

1.4 Obecne i potencjalne zastosowania technologii DNA

1.4.1 Weryfikacja pochodzenia i ustalanie pochodzenia

Przed pojawieniem się genotypowania SNP, weryfikacja pochodzenia była głównym komercyjnym zastosowaniem markerów genetycznych. Tradycyjnie badanie pochodzenia opierało się na wykluczeniu pokrewieństwa (tj. ojca lub matki), gdy zwierzę ma genotyp niespójny z domniemanym pokrewieństwem. W odpowiedzi na ograniczenia środowiskowe i produkcyjne, nowe trendy w systemach produkcji zwierzęcej mają tendencję do zachęcania do większej produkcji w przeliczeniu na gospodarstwo. W tych dużych zbiorowościach wiele zwierząt może być kojarzonych lub rodzić w tym samym dniu, co może skutkować większą liczbą błędów zapisów rodowodowych. Ponieważ koszt analiz spada a liczba dostępnych markerów genetycznych wzrasta, związki hodowców będą zdolne do tworzenia zapisów na temat pochodzenia przy zastosowaniu markerów genetycznych aby móc przewidzieć pochodzenie cieląt urodzonych w stadzie w danym okresie. Zazwyczaj wymaga to wcześniejszej znajomości kandydatów na ojców i matki cielęcia, gdy używana jest mniejsza liczba (<200) markerów, ale przy wystarczającej liczbie SNP można przewidzieć właściwych rodziców bez wcześniejszej wiedzy, o ile rodzic jest również genotypowany. Prawdopodobieństwo przyporządkowania do odpowiedniej pary zwierząt będzie zależało od ilości alleli w locus, częstotliwości występowania alleli w populacji, liczby rodziców i liczby możliwych kojarzeń. W tym celu International Society of Animal Genetics (<http://www.isag.org.uk>) określiło panel markerów, do którego można dotrzeć za pośrednictwem linka takiego jak dostarczony w Załączniku 1 „Link do markerów SNP rekomendowanych przez ISAG do weryfikacji pochodzenia”. W przypadku bydła ICAR opracował zestaw rodzicielskich SNP, ICAR554, który zawiera panel zalecany przez ISAG oraz inne wysoce informacyjne SNP. Panel ten pozwala na bardzo dokładne sprawdzanie i znajdowanie danych rodziców, ale jednocześnie nie pozwala na dokładne przypisanie dla większej gęstości. W związku z tym panel ICAR554 może być dzielony między krajami i konkurentami w celu analizy pochodzenia bez obawy, że inni będą mogli wykorzystać je do przewidywania genomowych wartości hodowlanych. ICAR i Centrum Interbull współpracują przy oferowaniu międzynarodowej usługi wymiany genotypów, określanej jako GenoEx,

która jest opisana bardziej szczegółowo w rozdziale 5, zwłaszcza w odniesieniu do wymiany genotypów SNP do celów analizy pochodzenia.

1.4.2 Identyfikowalność i uwierzytelnianie produktów zwierzęcych oferowanych konsumentom

Z powodu wielu kryzysów, w tym epidemii BSE, aż po wołowe mięso mielone z udziałem mięsa końskiego, a także ze względu na rosnące zainteresowanie konsumentów tym, żeby ich żywność pochodziła z identyfikowalnych produktów mięsnych, stanowi to większy problem dla przemysłu. Identyfikowalność opiera się na możliwości weryfikacji i systemie kontroli, które monitorują wszelkie elementy mające znaczenie w całym procesie produkcji produktów zwierzęcych. Ponieważ sekwencja genetyczna osobnika jest niepowtarzalna i nie ulega zmianie, jego DNA pozostaje niezmiennie od "poczęcia do konsumpcji". Dlatego wykorzystanie markerów genetycznych pozwala dopasować DNA osobnika od momentu narodzin do produktu końcowego.

Markery genetyczne są/lub będą bardzo użyteczne do potwierdzenia autentyczności produktów zwierzęcych służąc do oznakowania jakości, odnoszące się do miejsca pochodzenia oraz oznakowania odnoszącego się do specyficznej rasy lub jej krzyżówek. Jednakże wymaga to ustalenia standardów molekularnych lub częstotliwości alleli dla każdej rasy. Dużo informacji pochodzi z badań nad zróżnicowaniem genetycznym pomiędzy rasami. Szczególnie interesujące są geny podlegające intensywnej selekcji w każdej populacji. Dzięki wystarczająco dużemu zestawowi SNP i genotypowanych czystorasowych zwierząt referencyjnych, możliwe jest również przewidzenie najbardziej prawdopodobnego składu rasy osobników.

1.4.3 Molekularna informacja genetyczna na potrzeby programów selekcji wspomaganą markerami

Cechy ilościowe uznaje się generalnie za kontrolowane przez dużą liczbę genów. Jednak poszczególne geny bywają przyczyną znacznej części zmienności cechy. Tak jest w przypadku genu miostatyny i podwójnego umięśnienia u bydła mięsnego, genu DGAT1 i składników mleka u bydła mlecznego lub genu płodności Booroola i wskaźnika owulacji u owiec. Ponieważ genotyp zwierzęcia nie zmienia się w trakcie jego życia, to wykorzystanie informacji dotyczącej DNA przez identyfikację markerów powiązanych z QTL-ami (locus cechy ilościowej) wpływającymi na cechy produkcyjne lub identyfikację samego genu

przyniesie duże korzyści w najbliższej przyszłości. Niemniej jednak, jeśli cechy stają się bardziej złożone, wzrasta potrzeba posiadania odpowiednio dużego zestawu markerów w celu włączenia informacji molekularnej do procesu podejmowania decyzji w procesie selekcji. Włączenie informacji molekularnej jako kryterium selekcji jest szczególnie korzystne dla cech, które są trudne i kosztowne do zmierzenia i/lub są mierzone w późniejszym okresie życia zwierzęcia. Do 2018 r. zidentyfikowano > 116 000 QTL u bydła, > 10 000 u kurcząt, > 28 000 u świń i > 2000 u owiec, które wiążą się z cechami ważnymi gospodarczo, takimi jak zdrowie, wyręby, mleko, płodność i budowa ciała. Baza danych AnimalQTLdb znajdująca się w [National Animal Genome Research Program](#) zawiera aktualne dane na temat danych QTL dotyczących bydła, drobiu, koni, świń, pstrągów i owiec, zebranych z opublikowanych danych.

Programy oceny użyteczności gromadziły informacje dotyczące najczęściej spotykanych cech produkcyjnych mierzonych u zwierząt gospodarskich. Coraz więcej informacji staje się dostępnych, ale dla niektórych cech, takich jak jakość mięsa, odporność na choroby i wydajność paszy, prowadzenie tych ocen jest bardzo kosztowne, trudne do uzyskania lub wykonywane w późnym stadium życia zwierzęcia. Z powodu tych wyzwania informacje o takich cechach są zazwyczaj gromadzone dla ograniczonej liczby zwierząt w danej populacji.

Dla tych trudnych, ale ważnych ekonomicznie cech, markery genetyczne i selekcja genomowa dają znaczne możliwości selekcji cech, które wcześniej nie były możliwe ze względów ekonomicznych. Ogólnie rzecz biorąc, markery genetyczne i genomika będą odgrywać ważną rolę dla ważnych cech, niezależnie od gatunku zwierząt gospodarskich. Genomika może również pozwolić nam na zwiększenie intensywności selekcji, ponieważ możemy przewidzieć wartości hodowlane genomów dla dużej liczby zwierząt, a tym samym mieć więcej kandydatów do selekcji.

1.4.4 Odporność na choroby i wady genetyczne

Inną grupą cech o dużym potencjale do wykorzystania danych molekularnych i genomiki są te związane z odpornością, żywotnością i podatnością na choroby. Istnieje wiele chorób wieloczynnikowych lub złożonych, które są wynikiem interakcji między genomem zwierzęcia a komponentami środowiskowymi. Cechy odporności na choroby należą do najtrudniejszych do włączenia do programów doskonalenia genetycznego, ponieważ wymagają dobrego

pomiaru polowego statusu chorobowego zwierząt oraz systematycznej kontroli zarządzania lub warunków środowiskowych, które pozwalają na identyfikację wpływu czynników środowiskowych. Choroby zakaźne zależą w dużym stopniu od czynników środowiskowych takich jak stopień wystawienia na czynniki patogenne. Jednakże jeśli ekspozycja jest niska, zwierzęta będą wykazywały małe zróżnicowanie. Część różnic fenotypowych dla odporności mogą stanowić różnice w stopniu zakażenia. Stąd, jeśli geny lub markery genetyczne związane z odpornością są identyfikowane prawidłowo, będzie można wyselekcjonować odporne zwierzęta na podstawie ich informacji molekularnej. W przypadku wielu chorób identyfikacja genów związanych z opornością będzie wymagać warunków eksperymentalnych. Obecnie stosowana jest analiza genetyczna identyfikowania heterozygotycznych nosicieli chorób genetycznych spowodowanych przez pojedyncze geny recesywne. Przykłady u bydła mlecznego obejmują złożone zniekształcenia kręgów (CVM), brachyspinę (BY), niedobór cholesterolu (CD) i kilka genów, regionów genów lub haplotypów powodujących utratę zarodka lub martwego płodu w różnych rasach mlecznych. W 2018 r. OMIA (Online Mendelian Inheritance in Animals) wymieniła >770 cech lub wad genetycznych zwierząt gospodarskich ze znaną mutacją przyczynową (bydło: 150, owce: 50, kury: 44, konie: 44). Włączenie tych przyczynowych alleli lub powiązanych haplotypów do programu hodowlanego pozwoli producentom zminimalizować ryzyko wynikające z wad genetycznych przy jednoczesnym maksymalizowaniu postępu genetycznego wynikającego z korzystnych cech.

1.5 Aspekty techniczne

1.5.1 Pobieranie DNA

Systematyczne pobieranie DNA jest zalecane w poszczególnych populacjach zwierząt gospodarskich. DNA można uzyskać z dowolnej komórki ciała zawierającej jądro komórkowe. Protokoły pobierania DNA są obecnie dostępne dla krwi (białe krwinki), nasienia, śliny (komórki nabłonkowe), mieszków włosowych, mięśni, skóry, organów (takich jak wątroba, śledziona itp.). Czerwone krwinki mogą być również stosowane w przypadku drobiu, ponieważ zatrzymują one jądro, podczas gdy u większości innych gatunków nie. Do rutynowej analizy DNA potrzebne są niewielkie ilości materiału tkankowego. Jednakże jeśli w przyszłości wykorzystanie DNA będzie obejmować użycie go do wielu różnych celów (sekwencjonowanie całego genomu, identyfikowalność, sprawcze zatwierdzanie alleli, ...)

wówczas trzeba starannie sprawdzić i zoptymalizować koszty przechowania, ekstrakcji, jakości i wydajności DNA. Powszechnie stosowane metody zbierania uwzględniają mieszki włosowe, próbki tkanek (często pochodzące z przebijania uszu) w zamkniętym pojemniku, plamy krwi na bibule filtracyjnej i wymazy z nosa.

1.5.2 Zbieranie danych

Scentralizowana baza danych może być zorganizowana w odniesieniu do głównych obszarów wykorzystania informacji genetycznej:

- a. Weryfikacja pochodzenia i/lub jego ustalenie
- b. Śledzenie produktów mięsnych
- c. Identyfikacja rasy zróżnicowanie rasy
- d. Cechy jakościowe i ilościowe

Tabele bazy danych mogą zawierać:

- a. Identyfikację zwierząt w celu powiązania wszystkich innych informacji na temat zwierzęcia i jego krewnych.
- b. Liczbę markerów genetycznych: n
- c. Standardową nazwę każdego markera i (dla $i = 1, n$)
- d. Numer dostępu dla markera, taki jak identyfikator dbSNP
- e. Allele dla markera i
- f. Genomową lokalizację markera i
- g. Wpływ allelu niereferencyjnego na białko
- h. Fenotypowy wpływ allelu
- i. Powiązanie z innymi cechami

1.5.3 Kontrola jakości informacji genomowych

Jednym z najważniejszych obowiązków dużej bazy danych genomowych jest zapewnienie, że genotyp związany z konkretnym zwierzęciem naprawdę należy do tego zwierzęcia. Większość dużych baz danych genomowych zwierząt gospodarskich zajmuje się tylko danymi SNP, więc ta część skupi się na kontroli jakości dla tego typu danych genomowych. Potrzebne są zarówno sposoby kontroli jakości próbki jak i SNP, i zachęca się do wczesnego opracowania systemu dla nich. Źródłem błędów są producenci, laboratorium i ośrodki sztucznego unasieniania.

Zalecane środki kontroli jakości genetycznej obejmują wyłączenie genotypu gdy:

- a. Odsetek powiązań jest mniejszy niż 90%, ponieważ niższy odsetek powiązań wskazuje, że dokładność pozostałego genotypu może być wątpliwa. Współczynnik zgodności genotypów wynosi <99%, gdy odsetki powiązań wynoszą poniżej 90%.
- b. Występuje odchylenie od równowagi Hardy'ego-Weinberga (wyłączając te, które są śmiertelne lub silnie wyselekcjonowane).
- c. SNP stale ma >1% konfliktów rodzic-potomek, podczas gdy inne SNP nie.
- d. Jeśli częstotliwość genotypu zwierzęcia (AA, AB, BB) wynosi <20%.
- e. Jeśli pojawiają się nieoczekiwane allele (np.: ATCG, gdy spodziewany jest AB).

Zalecane środki kontroli jakości zwierząt obejmują odrzucanie genotypu, gdy:

- a. Przewidywana płć z SNP zlokalizowana na chromosomie(ach) X i / lub Y nie zgadza się z wymienioną płcią zwierzęcia.
- b. Genotyp jest w >99% identyczny z innym zwierzęciem, który nie jest jego bliźniakiem
- c. Genotyp zwierzęcia jest <99% identyczny z jego poprzednim genotypem.
- d. Przewidywana rasa różni się od zgłoszonej / zapisanej rasy.

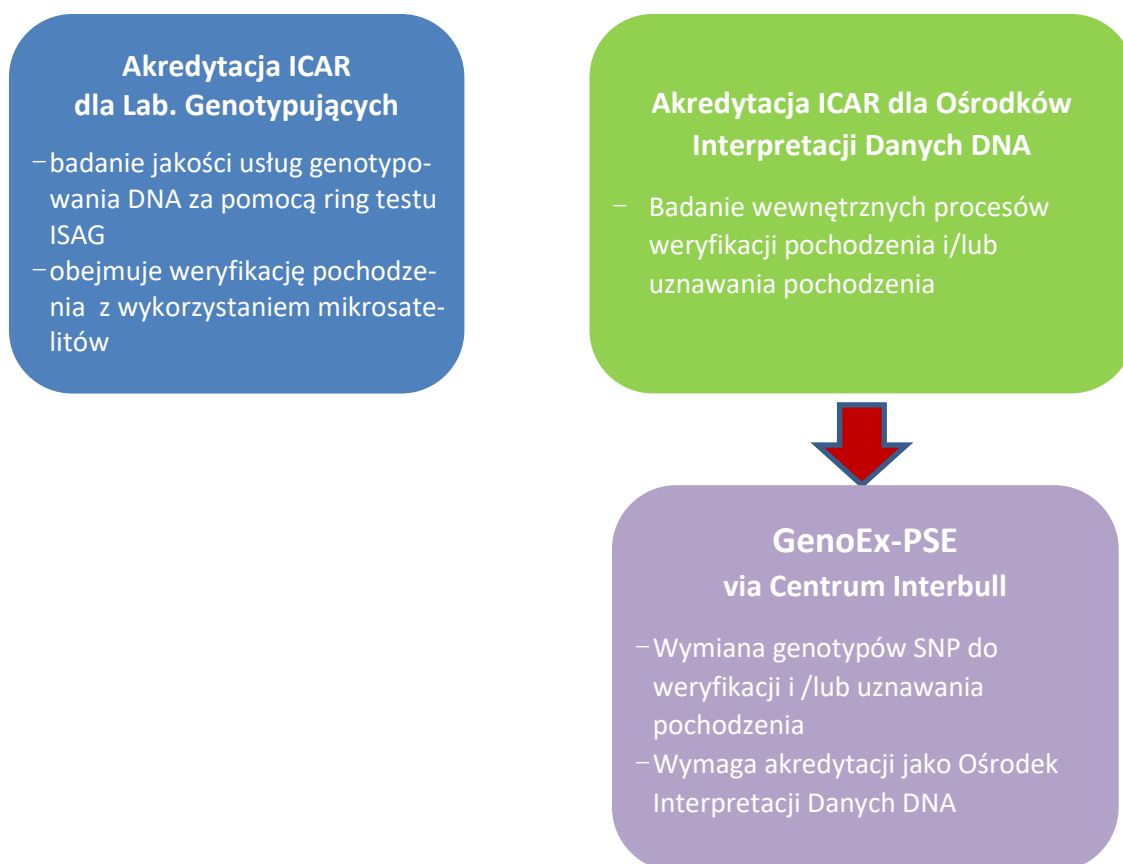
Dla celów standaryzacji w odniesieniu do nomenklatury genów lub loci, strona internetowa jest dostępna pod adresem: <https://www.genenames.org/about/guidelines#genenames>
a markerów pod adresem: <http://www.HGVS.org/varnomen>.

2 Usługi ICAR związane z technologią DNA

Praktycznie od roku 2018 ICAR oferuje trzy usługi, które są związane z wykorzystaniem DNA, z których wszystkie są powiązane z analizą pochodzenia w takiej czy innej formie, jak pokazano na Rysunku 1. „Usługi ICAR dot. DNA.”, oraz opisane bardziej szczegółowo w rozdziałach poniżej.

Rysunek 1. Usługi ICAR dot. DNA

Usługi ICAR dot. DNA



3 Akredytacja ICAR dla laboratoriów świadczących usługi genotypowania DNA

3.1 Wprowadzenie

Biorąc pod uwagę potrzebę wysokich standardów jakości we wszystkich zastosowaniach danych molekularnych, ICAR od kilku lat oferuje usługę akredytacji opartą na określonych minimalnych wymaganiach dla laboratoriów świadczących usługi genotypowania DNA. Podstawowe wymagania tej akredytacji obejmują potwierdzenie minimalnych wewnętrznych

standardów zapewniania jakości zarządzania oraz udział w międzynarodowym badaniu biegłości opracowanym i oferowanym przez International Society for Animal Genetics (ISAG).

Ponadto takie laboratoria zasadniczo analizują powstałe genotypy, aby przeprowadzić usługi analizy pochodzenia oparte na mikrosatelitach i/lub SNP, w tym weryfikację pochodzenia lub potwierdzenie identyfikacji zwierząt. Taka usługa akredytacji ICAR była wcześniej wykorzystywana do rozpoznawania laboratorium genotypowania jako akredytowanej organizacji w celu zapewnienia funkcji analizy pochodzenia bez dokładnego sprawdzania technicznej dokładności tego działania. Praktycznie od roku 2018 uruchomienie usługi akredytacji analizy pochodzenia opartej na SNP dla Centrum Interpretacji Danych DNA zastąpiło poprzednią akredytację laboratoryjną dla weryfikacji pochodzenia opartej na SNP. W przyszłości podobny proces techniczny dla akredytacji analizy pochodzenia opartej na mikrosatelitach może zostać wprowadzony przez ICAR, ale do tego czasu istniejący proces akredytacji laboratoriów genotypowania pozostanie w mocy.

Poniższe wytyczne dotyczące akredytacji są dostępne w odniesieniu do genotypowania opartego na mikrosatelitach i SNP u bydła. Minimalne wymagania dotyczące dodatkowych gatunków i innych testów DNA mogą zostać określone w przyszłości.

3.2 Zakres

Niniejsze wytyczne mają na celu akredytację przez ICAR laboratoriów genotypowania, które analizują próbki biologiczne pochodzące od bydła za pomocą genotypowania opartego na mikrosatelitach i/lub SNP, które mogą być następnie wykorzystane do różnych poziomów analizy pochodzenia, imputacji genotypu, oceny wartości genomowych oraz innych działań związanych ze strategiami selekcji genomowej. Ten proces akredytacji obejmuje także weryfikację pochodzenia opartą na mikrosatelitach. W przypadku akredytacji ICAR związanej z weryfikacją pochodzenia opartą na SNP, laboratoria genotypowania muszą zwrócić się do ICAR o równoległą usługę akredytacji analizy pochodzenia dla centrów interpretacji danych DNA, jak to opisano poniżej.

3.3 Zasady i wytyczne ICAR dotyczące akredytacji laboratoriów genotypowania

Proces akredytacji obejmuje następujące kroki:

- a. Wniosek o akredytację

- b. Uiszczenie odpowiedniej opłaty
- c. Przegląd wniosku
- d. Udzielanie akredytacji

3.3.1 Wniosek o akredytację

Laboratoria ubiegające się o akredytację w zakresie genotypowania opartego na mikrosatelitach i/lub SNP muszą złożyć wniosek, pobierając i wypełniając odpowiednie formularze, jak w Załączniku 2. „Formularz wniosku o weryfikację pochodzenia w oparciu o mikrosatelity bydła” oraz Załączniku 3. „Formularz wniosku o weryfikację pochodzenia bydła opartą na SNP” i wysyłając je pocztą elektroniczną do sekretariatu ICAR (dna@icar.org). Formularze muszą być wypełnione dokładnie i kompletnie, w razie potrzeby dostarczając niezbędną dokumentację.

3.3.2 Uiszczenie odpowiedniej opłaty

Wraz z wypełnionym formularzem aplikacyjnym, wnioskodawca musi również uiścić pełną odpowiednią opłatę ustaloną przez ICAR i podaną w Załączniku 4.” Opłaty za usługi akredytacji ICAR dla laboratorium DNA”.

3.3.3 Przegląd wniosku

Wniosek zostanie oceniony przez zespół ekspertów wyznaczonych przez ICAR, który albo:

- a. Zatwierdzi wniosek
- b. Poprosi o dodatkowe informacje, albo
- c. Odrzuci wniosek

W przypadku odrzucenia, laboratorium może złożyć nowe zgłoszenie przynajmniej rok po nieudanym zgłoszeniu.

3.3.4 Przyznanie akredytacji

Akredytacja będzie przyznawana na okres dwóch lat.

3.3.5 Odnowienie akredytacji

Pod koniec dwuletniej kadencji laboratorium może złożyć wniosek o przedłużenie akredytacji, składając wniosek zgodnie z opisem w pkt 3.3.1 powyżej.

3.3.6 Akredytacja laboratoriów

Obecnie akredytacja ISO17025 lub ISO9001 jest obowiązkowa dla akredytacji opartej na mikrosatelitach (STR). Począwszy od ogłoszenia akredytacji w roku 2020, w celu zapewnienia wysokiej jakości systemów zarządzania wewnętrznego, obowiązkowym wymogiem w przypadku akredytacji ICAR opartej na SNP dla laboratoriów genotypowania będzie akredytacja ISO17025 lub równoważna. Ponadto, począwszy od wezwania do akredytacji laboratoriów genotypowania w 2020 r., certyfikacja ISO9001 nie będzie już akceptowana i tylko ISO17025, lub równoważna akredytacja, będzie dopuszczalnym poziomem akredytacji w celu zapewnienia jakości wewnętrznych systemów zarządzania akredytacją opartą na mikrosatelitach (STR).

3.3.7 Uczestnictwo i wyniki ring testu

ISAG przeprowadza międzynarodowy ring test (porównawczy) laboratoriów genotypowania, oparty na mikrosatelitach i SNP. Uczestnictwo w testach ISAG i wyniki w ramach tych ring testów muszą zostać ujawnione, a certyfikaty, jeśli są dostępne, dostarczone. Wnioskodawcy muszą również podpisać dokument umożliwiający ISAG bezpośrednio ujawnienie wyników ring testów w ICAR. Udział w co najmniej dwóch ring testach ISAG jest wymogiem minimalnym. W przypadku ring testu mikrosatelitów ISAG należy ujawnić genotypowanie laboratoryjne dla oficjalnego zestawu 12 mikrosatelitów ISAG. Komitet ekspertów określi progi efektywności dla każdego ring testu z należyтым uwzględnieniem struktury ring testu i średniej efektywności laboratoriów w ring teście w danym roku. Tylko te laboratoria, które uzyskały status Rangi 1 w corocznym ring teście ISAG, automatycznie otrzymają akredytację ICAR jako laboratorium genotypowania, a akredytacja ICAR w laboratoriach genotypowania o niższej randze ring testu będzie przyznana według uznania komisji ekspertów.

3.3.8 Markery mikrosatelitarne

Należy podać nazwy wszystkich mikrosatelitów ustalonych dla wszystkich zwierząt (zestaw I markerów) i dodatkowo testowane w przypadku nierozwiązanego pochodzenia (zestaw II markerów), a także liczbę zwierząt ustalonych w co najmniej ostatnich dwóch latach. Minimalny wymóg wymiany międzynarodowej to komplet 12 oficjalnych markerów mikrosatelitarnych ISAG. Aby zapewnić wystarczające doświadczenie w laboratorium, należy przeprowadzić analizę 500 zwierząt rocznie jako minimalny wymóg certyfikacji weryfikacji pochodzenia na podstawie mikrosatelitów.

Załącznik 5. „Mikrosatelity zalecane przez ISAG do weryfikacji pochodzenia u bydła” zawiera listę markerów mikrosatelitarnych zalecanych przez ISAG oraz metodę obliczania prawdopodobieństwa wykluczenia jednego z rodziców i obojga rodziców. Zasady dotyczące weryfikacji pochodzenia w oparciu o mikrosatelity u bydła opisano w Załączniku 6. „Zasady weryfikacji pochodzenia w oparciu o mikrosatelity u bydła”. Prawdopodobieństwo wykluczenia (PE; 2 rodziców i 1 rodzica) każdego z markerów i kompletnych zestawów markerów musi zostać obliczone i podane we wniosku. Należy opisać rodzaj populacji i liczbę zwierząt (minimum 150) wykorzystywanych do obliczeń. ICAR zaleca używanie Holsztynów jako grupy referencyjnej, o ile to możliwe. Komitet ekspertów ICAR na podstawie analizowanej populacji oceni, czy w celu uzyskania akredytacji jest podjęta odpowiednia ocena PE.

3.3.9 Markery SNP

Należy podać nazwę wszystkich SNP genotypowanych na wszystkich zwierzętach (zestaw I markerów) i dodatkowych oznaczonych markerów w przypadku nierozwiązanego pochodzenia (zestaw II markerów), a także liczbę zwierząt genotypowanych w co najmniej ostatnich dwóch latach. Istnieje minimalny wymóg stosowania co najmniej 95 SNP ze zbioru zalecanego przez ISAG (patrz Załącznik 7. „Zalecane przez ISAG markery SNP do weryfikacji pochodzenia u bydła”) wszystkich genotypowanych zwierząt.

3.3.10 Nomenklatura markerów

Należy opisać nomenklaturę dla markerów. Nomenklatura ISAG jest wymagana dla oficjalnego zestawu znaczników ISAG 12, jak również dla zestawu markerów SNP ISAG.

4 Akredytacja organizacji prowadzących analizę pochodzenia opartą na SNP

4.1 Wprowadzenie

Wraz z pojawieniem się genotypowania SNP, funkcję genotypowania DNA jako czynności laboratoryjnej można oddzielić od funkcji przeprowadzania weryfikacji pochodzenia i znajdowania rodziców. W związku z tym ICAR ustanowił odrębną akredytację do stosowania wyników genotypowania opartego na SNP, które mogą być podjęte przez laboratoria, towarzystwa stowarzyszeń hodowców, ośrodki oceny genetycznej i wszelkie inne

organizacje zaangażowane w weryfikację pochodzenia i/lub przetwarzanie danych dot. genotypów SNP.

Weryfikacja i znajdowanie pochodzenia dotyczy wykorzystania wyników dostarczanych przez laboratoria z genotypowania DNA i wymaga genotypu SNP dla samego zwierzęcia, jego zarejestrowanych rodziców i innych potencjalnych rodziców w przypadku znajdowania pochodzenia. Organizacje podejmujące tę funkcję mogą być dostawcami usług między laboratoriami, które posiadają akredytację ICAR do genotypowania DNA opartego na mikrosatelitach i/lub SNP a użytkownikami końcowymi, do których można zaliczyć związki hodowców, firmy hodowlane, hodowców i rolników komercyjnych.

Usługodawcy mogą korzystać z różnych laboratoriów dla różnych ras i/lub gatunków. Biorąc pod uwagę znaczenie identyfikacji zwierząt i ich weryfikacji w ocenie użytkowości, ICAR zdecydował o określeniu minimalnych wymagań dotyczących wykorzystania genotypowania DNA oraz innych informacji w celu:

- a. Weryfikacji pochodzenia
- b. Znajdowania pochodzenia oraz
- c. Potwierdzania identyfikacji zwierząt

Celem niniejszych wytycznych jest dostarczenie podstaw do akredytacji procesów stosowanych przez organizacje wykorzystujące genotypy SNP u bydła. Minimalne wymagania dotyczące dodatkowych gatunków i innych analiz DNA mogą zostać określone w przyszłości.

4.2 Zakres

Niniejsze wytyczne mają na celu akredytację przez ICAR organizacji wykorzystujących wyniki badań opartych na SNP do analizy pochodzenia u bydła, która obejmuje weryfikację pochodzenia, znajdowanie rodziców i/lub potwierdzenie identyfikacji zwierząt.

4.3 Akredytacja organizacji przeprowadzających analizę pochodzenia

Proces akredytacji ICAR obejmuje następujące etapy:

- a. Wniosek o akredytację
- b. Uiszczenie odpowiedniej opłaty
- c. Przegląd wniosku

- d. Techniczne przetwarzanie plików z danymi testowymi
- e. Udzielenie akredytacji

4.3.1 Wniosek

Organizacje przeprowadzające analizę pochodzenia opartą na SNP i wnioskujące o akredytację ICAR jako Centrum Interpretacji Danych muszą złożyć wniosek pobierając i wypełniając odpowiedni formularz zamieszczony poniżej jako Załącznik 8. „Formularz wniosku dla organizacji starających się o akredytację ICAR dla analizy pochodzenia dla ośrodków interpretacji danych DNA”. Formularz ten musi zostać wypełniony dokładnie i kompletnie, dostarczając niezbędną dokumentację zgodnie z wymaganiami oraz przedłożony do ICAR po uiszczeniu odpowiedniej opłaty.

4.3.2 Przegląd wniosku

Wniosek zostanie najpierw sprawdzony wewnętrznie przez ICAR pod kątem jej kompletności, a dodatkowe informacje mogą być wymagalne w razie potrzeby. Administracja ICAR potwierdzi również otrzymanie stosownej opłaty.

4.3.3 Przetwarzanie techniczne plików testowych

Wnioskodawca otrzyma zbiór plików danych od ICAR za pośrednictwem Centrum Interbull, w celu przetworzenia przy użyciu swoich istniejących procedur do przeprowadzania analizy pochodzenia, dla której kandydat stara się o akredytację ICAR jako Centrum Interpretacji Danych DNA. Szczegółowy opis tego etapu jest opisany w Przewodniku Wnioskodawcy o Akredytację ICAR Analiz Pochodzenia dla Ośrodków Interpretacji Danych DNA Załącznik 9. „Przewodnik Wnioskodawcy o Akredytację ICAR Analiz Pochodzenia dla Ośrodków Interpretacji Danych DNA”. Aby wnioskodawca odniósł sukces w uzyskaniu wymaganej akredytacji ICAR, procedury przeprowadzania analizy pochodzenia muszą być dokładnie zgodne z wytycznymi ICAR dotyczącymi weryfikacji pochodzenia i znajdowania pochodzenia w oparciu o genotypy SNP, które są również zawarte poniżej w Załączniku 10. „Wytyczne ICAR dotyczące weryfikacji pochodzenia i wykrywania pochodzenia w oparciu o genotypy SNP”. Lista SNP, która ma być stosowna do weryfikacji pochodzenia lub wykrywania pochodzenia, jest dostępna w Załączniku 11. „Lista SNP, do stosowania przy weryfikacji pochodzenia lub wykrywania pochodzenia”. Po zakończeniu przez wnioskodawcę wewnętrznych procedur analizy pochodzenia w oparciu o otrzymane

pliki z wynikami akredytacji plik z danymi należy przesłać z powrotem do Centrum Interbull. Maksymalny okres 90 dni kalendarzowych będzie dozwolony dla wnioskodawcy, aby złożyć akceptowalne pliki wyników z powrotem do Centrum Interbull.

4.3.4 Przyznanie akredytacji

Gdy Centrum Interbull otrzyma od wnioskodawcy plik wyników analizy pochodzenia, wtedy zakończy przegląd techniczny i ustali, czy kandydat pomyślnie ukończył akredytację, czy też nie. Centrum Interbull poinformuje ICAR o wynikach, a ICAR wystawi oficjalne powiadomienie. W przypadku, gdy wnioskodawca nie uzyskałby pozytywnego wyniku akredytacji ICAR, wnioskodawca może wszcząć nowy wniosek o akredytację, wypełniając i przesyłając odpowiednie formularze oraz uiszczając odpowiednią opłatę, jak to opisano powyżej.

5 Usługa wymiany genotypów - GenoEx-PSE

Praktycznie od roku 2018 ICAR udostępnił usługę wymiany genotypów do analizy pochodzenia GenoEx-PSE, oferowaną za pośrednictwem Centrum Interbull. Głównym celem tej usługi jest ułatwienie międzynarodowej wymiany genotypów SNP, tak aby zatwierdzeni użytkownicy usług mogli wykonywać usługi analizy pochodzenia na poziomie krajowym w skuteczny sposób. System baz danych GenoEx-PSE i interfejs użytkownika został opracowany w celu umożliwienia wymiany genotypów SNP w celu sprawdzenia pochodzenia lub wykrycia rodziców w oparciu o listę SNP przewidzianą w Załączniku 11. Lista SNP do stosowania przy weryfikacji pochodzenia lub znajdowania pochodzenia

Aby organizacja mogła zostać zakwalifikowana jako użytkownik usługi dla GenoEx-PSE, musi najpierw otrzymać akredytację ICAR jako centrum interpretacji danych DNA. Poziom takiej akredytacji ICAR (tj. wyłącznie w przypadku weryfikacji pochodzenia opartej na SNP lub w przypadku zarówno weryfikacji, jak i wykrywania pochodzenia opartego na SNP) powinien określać najwyższy poziom SNP, który może być wymieniany za pośrednictwem usługi GenoEx-PSE. Szczegółowe informacje związane z tą usługą ICAR można znaleźć na stronie internetowej GenoEx-PSE pod adresem www.GenoEx.org.

6 LISTA ZAŁĄCZNIKÓW

6.1 Załącznik 1. Link do markerów SNP rekomendowanych przez ISAG do weryfikacji pochodzenia

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

6.2 Załącznik 2. Formularz wniosku o weryfikację pochodzenia w oparciu o mikrosatelity bydła

Proszę odnieść się [tutaj](#) do strony internetowej ICAR dot. formularza wniosku o akredytację weryfikacji pochodzenia u bydła opartego na mikrosatelitach.

6.3 Załącznik 3. Formularz wniosku o weryfikację pochodzenia bydła opartą na SNP

Proszę odnieść się [tutaj](#) do strony internetowej ICAR dla formularza wniosku o akredytację weryfikacji pochodzenia u bydła opartej na SNP.

6.4 Załącznik 4. Opłaty za usługi akredytacji ICAR dla laboratorium DNA

Proszę odnieść się [tutaj](#) do strony internetowej ICAR w sprawie opłat za usługi akredytacji testów DNA.

6.5 Załącznik 5. Mikrosatelity zalecane przez ISAG do weryfikacji pochodzenia u bydła

Proszę odnieść się [tutaj](#) do strony internetowej ICAR dla listy zalecanych mikrosatelitów ISAG do weryfikacji pochodzenia u bydła. Metoda obliczania opisana jest [tutaj](#).

6.6 Załącznik 6. Zasady weryfikacji pochodzenia w oparciu o mikrosatelity u bydła

Proszę odnieść się [tutaj](#) do strony internetowej ICAR w sprawie zasad weryfikacji pochodzenia u bydła w oparciu o mikrosatelity.

6.7 Załącznik 7. Zalecane przez ISAG markery SNP do weryfikacji pochodzenia u bydła

Proszę odnieść się [tutaj](#) do strony internetowej ICAR dla zalecanych przez ISAG markerów SNP do weryfikacji pochodzenia u bydła.

6.8 Załącznik 8. Formularz wniosku dla organizacji starających się o akredytację ICAR dla analizy pochodzenia dla ośrodków interpretacji danych DNA

Proszę odnieść się [tutaj](#) do strony internetowej ICAR dot. formularza wniosku dla organizacji ubiegających się o status akredytacji ICAR jako ośrodka interpretacji danych DNA.

6.9 Załącznik 9. Przewodnik Wnioskodawcy o Akredytację ICAR Analiz Pochodzenia dla Ośrodków Interpretacji Danych DNA

Proszę odnieść się [tutaj](#) do strony internetowej ICAR w celu uzyskania przewodnika dla wnioskodawców dotyczącego akredytacji ICAR dla analizy pochodzenia dla ośrodków interpretacji danych DNA.

6.10 Załącznik 10. Wytyczne ICAR dotyczące weryfikacji pochodzenia i wykrywania pochodzenia w oparciu o genotypy SNP

Proszę odnieść się [tutaj](#) do strony internetowej ICAR w celu uzyskania wytycznych ICAR dotyczących weryfikacji pochodzenia i wykrywania pochodzenia na podstawie genotypów SNP.

6.11 Załącznik 11. Lista SNP, do stosowania przy weryfikacji pochodzenia lub wykrywania pochodzenia

Proszę odnieść się [tutaj](#) do strony ICAR, aby wyświetlić listę SNP, która ma być użyta do weryfikacji pochodzenia lub wykrywania pochodzenia.