



THE GLOBAL STANDARD
FOR LIVESTOCK DATA

Część 4 – Wytyczne dot. technologii DNA

Wersja: luty 2022

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

Spis treści

1	Genetyka molekularna.....	6
1.1	Wprowadzenie.....	6
1.2	Markery genetyczne	6
1.2.1	Mikrosatelity.....	7
1.2.2	Polimorfizm Pojedynczego Nukleotydu (Single Nucleotide Polymorphism - SNP).....	7
1.3	Definicje i terminologia	8
1.4	Obecne i potencjalne zastosowania technologii DNA	9
1.4.1	Weryfikacja pochodzenia i ustalanie pochodzenia	9
1.4.2	Identyfikowalność i uwierzytelnianie produktów zwierzęcych oferowanych konsumentom	10
1.4.3	Molekularna informacja genetyczna na potrzeby programów selekcji wspomaganey markerami	11
1.4.4	Odporność na choroby i wady genetyczne	12
1.5	Aspekty techniczne	13
1.5.1	Pobieranie DNA	13
1.5.2	Zbieranie danych	14
1.5.3	Kontrola jakości informacji genomowych.....	14
2	Usługi ICAR związane z technologią DNA	20
3	Akredytacja ICAR dla laboratoriów świadczących usługi genotypowania DNA .	21
3.1	Wprowadzenie.....	21
3.2	Zakres	22
3.3	Zasady i wytyczne ICAR dotyczące akredytacji laboratoriów genotypowania	23
3.3.1	Wniosek o akredytację	23
3.3.2	Uiszczenie odpowiedniej opłaty	23
3.3.3	Przegląd wniosku.....	23
3.3.4	Przyznanie akredytacji	24
3.3.5	Odnowienie akredytacji	24

3.3.6	Akredytacja laboratoriów.....	24
3.3.7	Uczestnictwo i wyniki ring testu.....	24
3.3.8	Markery mikrosatelitarne.....	25
3.3.9	Markery SNP.....	26
3.3.10	Nomenklatura markerów.....	26
4	Akredytacja organizacji prowadzących analizę pochodzenia opartą na SNP	27
4.1	Wprowadzenie.....	27
4.2	Zakres.....	28
4.3	Akredytacja organizacji przeprowadzających analizę pochodzenia	28
4.3.1	Wniosek.....	28
4.3.2	Przegląd wniosku.....	28
4.3.3	Przetwarzanie techniczne plików testowych	28
4.3.4	Przyznanie akredytacji	29
5	Usługa wymiany genotypów - GenoEx-PSE.....	30
6	LISTA ZAŁĄCZNIKÓW.....	30

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.
February 22	<p>Amended section 1.2 and added new section 1.5.3 to reflect accuracy of parentage verification by SNP genotyping over microsatellite analysis and blood typing.</p> <p>Updated and expanded section 1.5.4 for genomic quality control checks. Updated section 3 to current rules and guidelines for accreditation of genotyping laboratories. Updates names and links for various Appendices. Accept all changes and save as v18.06.</p>
March 22	Prepare and submit for Board approval.
June 22	Approved by General Assembly and published.

1 Genetyka molekularna

1.1 Wprowadzenie

Postępy w biologii molekularnej, zwłaszcza w dziedzinie genomiki, dostarczają szeregu nowych informacji, które można zastosować w produkcji zwierzęcej. Z jednej strony wykorzystanie informacji na poziomie molekularnym może przyczynić się do zwiększonego 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, oszacowania 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 oceny wartości hodowlanej, 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 genowych oraz różnych ekspresji genu aby zapobiec równoległym, negatywnym wpływom. Konieczna jest współpraca między branżą produkcji zwierzęcej a badaniami naukowymi 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 przeszła na mikrosatelity (MS) w latach 90. XX wieku, natomiast ostatnio na zastosowanie polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP). SNP i MS są polimorficznymi sekwencjami DNA (allelami) w

konkretnym locus określonego chromosomu. Chociaż oznaczanie grup krwi jest zatwierdzoną przez ICAR metodą weryfikacji rodzicielstwa, obecnie niewiele jest, jeśli w ogóle, komercyjnych laboratoriów nadal oferujących takie testy. Z tego powodu ICAR nie zaleca już określania grup krwi jako podstawy do przeprowadzania analizy pochodzenia zwierząt gospodarskich, w przypadku których technologia MS lub SNP jest powszechnie dostępna.

1.2.1 Mikrosatelity

Są to sekwencje DNA zawierające powtórzenia tandemowe podstawowych motywów, zazwyczaj dimerów i trimerów. Sekwencje te są usytuowane w całym genomie, głównie w obrębie fragmentów niekodujących. Z czasem regiony te podlegają dodaniu do lub odjęciu od powtórzeń tandemowych, co oznacza, że każdy mikrosatelita może mieć wiele niepowtarzalnych alleli. Mikrosatelity są powszechnie stosowane u wielu gatunków 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 gatunku zwierząt hodowlanych występują miliony 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 regionach międzygenowych 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, w powiązaniu z silną zdolnością przetwarzania, dzięki której tysiące lub setki tysięcy SNP mogą być sprawdzane razem dla dużej liczby zwierząt w sposób opłacalny i efektywny. Obecnie największe laboratoria genotypowania zwierząt gospodarskich mogą przetwarzać na takich macierzach setki tysięcy 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 genomowych. Genotypy SNP stały się międzynarodowym standardem dla podstaw analizy pochodzenia i ICAR zaleca to podejście zamiast stosowania mikrosatelitów tam, gdzie to możliwe, ze względu na lepszą dokładność i łatwość porównywania wyników między laboratoriami genotypowania.

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 genomowe są wykorzystywane do określenia, czy próbka tkanki może być wykluczona jako pochodząca od określonego zwierzęcia.
Genomika	Szereg technologii, które określają genetyczną charakterystykę zwierzęcia na poziomie molekularnym oraz określają sekwencje DNA genomu zwierzęcia.
Haplotyp	Grupa markerów/alleli genetycznych, 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 ojca matki	Proces, w którym haplotypy odziedziczone od matki są używane do przewidywania najbardziej prawdopodobnego ojca matki.

Microsatellita	Segment DNA zawierający tandemowe powtórzenia prostych motywów zwykle dimerów lub trimerów. Nazywany również STR: <i>short-tandem-repeat</i> .
Analiza pochodzenia	Ogólna analiza genotypów w odniesieniu do pochodzenia ale może też obejmować weryfikację pokrewieństwa, wykrycie rodziców oraz przewidywanie ojca 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 potwierdzeni lub 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 pokrewieństwa, 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 uwierzytelnienie ustalanie pochodzenia

Przed pojawieniem się genotypowania SNP weryfikacja pokrewieństwa/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 rodzic 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 liczby użytych markerów, od liczby alleli w locus, częstotliwości występowania alleli drugorzędnych w populacji, liczby rodziców i liczby możliwych kojarzeń. W tym celu Międzynarodowe Towarzystwo Genetyki Zwierząt (*International Society of Animal Genetics* - <http://www.isag.org.uk>) zaleciło specyficzne gatunkowo panele markerów mikrosatelitalnych i SNP, do których można dotrzeć za pośrednictwem linka umieszczonego 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 nt. rodziców, ale jednocześnie nie pozwala na dokładne przypisanie do 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 mieloną wołowinę zawierającą koninę, 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 przez cały

łańcuch produkcyjny 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 rejony genomu 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 wspomaganej markerami

Cechy ilościowe uznaje się generalnie za kontrolowane przez dużą liczbę genów. Jednak poszczególne geny odpowiadają za znaczną część 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 2022 r. zidentyfikowano > 177 000 QTL u bydła, > 16 000 u kurcząt, > 34 000 u świń i > 4000 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 gromadzą 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 żywienia, prowadzenie tych ocen jest bardzo kosztowne, trudne do uzyskania lub wykonywane w późnym stadium życia zwierzęcia. Z powodu tych wyzwań informacje o takich cechach są zazwyczaj gromadzone dla ograniczonej liczby zwierząt w danej populacji.

Dla ważnych ekonomicznie i stawiających wyzwania 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 genomowe wartości hodowlane 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 uwzględnienia w programach doskonalenia genetycznego, ponieważ wymagają dobrej oceny terenowej 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 martwy płód u różnych ras mlecznych. W 2022 r. OMIA ([Online Mendelian Inheritance in Animals](#)) wymieniła >1000 cech lub wad genetycznych zwierząt gospodarskich ze znaną mutacją przyczynową (bydło: 186, świnie: 58, owce: 48, kury: 56, konie: 48, kozy: 17). 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 wykorzystywane w przypadku drobiu, ponieważ u ptaków zachowują one jądro komórkowe, 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 zatwierdzenie 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, krople krwi na bibule filtracyjnej i wymazy z nosa.

1.5.2 Organizowanie danych

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

- Weryfikacja, przypisanie i/lub ustalenie pochodzenia
- Identyfikowalność produktów mięsnych
- Identyfikacja rasy lub zróżnicowanie ras
- Cechy jakościowe i ilościowe

Tabele bazy danych mogą zawierać:

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

1.5.3 Dokładność oceny pokrewieństwa

Chociaż użycie markerów mikrosatelitarnych i SNP są akredytowanymi przez ICAR metodami weryfikacji pochodzenia, nie mają one tej samej mocy w ocenie dokładności pochodzenia. Krótko mówiąc, kolejność dokładności dla paneli markerów rodzicielskich zatwierdzonych przez ISAG i ICAR jest następująca:

Mikrosatelity << małe panele SNP (100 lub mniej) < duże panele SNP (500 lub więcej)

Ta kolejność wynika zarówno z dokładności genotypowania, jak i ze wszystkich informacji genomowych. Na przykład wskaźnik błędu markera genomowego w mikrosatelitach była wynosi 1-5% (Baruch i Weller 2008), natomiast wskaźnik błędu

dla SNP wynosi <0,1% (Cooper, Wiggans i VanRaden 2013). Ponieważ 2-3 SNP zapewniają taką samą dokładność wykluczania pochodzenia jak 1 marker mikrosatelitarny (Vignal i wsp. 2002), panele SNP 100 i 200 ISAG do analizy pochodzenia są dokładniejsze od 12 markerów mikrosatelitarnych wytypowanych przez ISAG. W ten sam sposób panele do analizy pochodzenia zawierające ponad 500 SNP (McClure i wsp. 2018), takie jak ICAR₅₅₄, są zalecane do przewidywania pochodzenia, które wymaga nawet wyższego poziomu dokładności.

Baruch, E., and J. I. Weller. 2008. 'Estimation of the number of SNP genetic markers required for parentage verification', *Animal Genetics*, 39: 474-79.

Cooper, T. A., G. R. Wiggans, and P. M. VanRaden. 2013. 'Short communication: relationship of call rate and accuracy of single nucleotide polymorphism genotypes in dairy cattle', *Journal of dairy science*, 96: 3336-9.

McClure, M. C., J. McCarthy, P. Flynn, J. C. McClure, E. Dair, D. K. O'Connell, and J. F. Kearney. 2018. 'SNP Data Quality Control in a National Beef and Dairy Cattle System and Highly Accurate SNP Based Parentage Verification and Identification', *Front Genet*, 9: 84.

Vignal, A., D. Milan, M. SanCristobal, and A. Eggen. 2002. 'A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics', *Genet Sel Evol*, 34: 275-305.

1.5.4 Sprawdzenia dla kontroli jakości informacji genomowych

Jednym z najważniejszych elementów dużej genomowej bazy danych jest zapewnienie, że genotyp związany z konkretnym zwierzęciem naprawdę należy do tego zwierzęcia. Większość dużych genomowych baz danych zwierząt gospodarskich zajmuje się tylko danymi SNP, a jakość danych dotyczących genotypowania SNP ma ogromne znaczenie (Wu i in., Evaluation of genotyping concordance for commercial bovine SNP arrays using quality-assurance samples, *Animal Genetics*, 50: 367-371, 2019). Dlatego niniejszy punkt skupia się na kontroli jakości dla tego typu danych genomowych. Potrzebne są zarówno sposoby kontroli jakości próbek jak też SNP, oraz zachęca się do wcześniejszego opracowania systemu na ich potrzeby.

Dla pracujących z danymi genotypowymi istnieją dwie główne obawy. Po pierwsze, to zapewnienie, że dane genotypowe same w sobie są wysokiej jakości i są wiarygodne. Po drugie to zapewnienie, że genotyp naprawdę należy do wymienionego osobnika. Poniższe zalecane kontrole jakości będą działać w przypadku wszystkich gatunków zwierząt gospodarskich. Podstawowe kontrole można przeprowadzić przy minimalnych informacjach o osobniku, podczas gdy niektóre zaawansowane kontrole wymagają danych, które nie każdy będzie posiadał, takich jak historyczna miejsce pobytu zwierzęcia.

Podstawowe kontrole jakości genotypu dla danych genotypowych opartych na SNP

Genotyp:

1. Podczas analizy twojej populacji wyklucz SNP, których wskaźnik wywołania genotypu wynosi poniżej 90%. Zaleca się użycie 500 lub więcej zwierząt do określenia wskaźnika wywołań SNP. Chromosom Y SNP powinien mieć określony wskaźnik wywołania tylko u samców.
2. Unieważnij genotyp osobnika, jeśli jej ogólny wskaźnik wywołań jest poniżej <90%. W przypadku genotypów opartych na SNP, takich jak te z chipów Illumina lub Affymetrix, dokładność wywoływanych genotypów jest wątpliwa, gdy ogólny wskaźnik wywołań danego osobnika wynosi <90%.
3. Sprawdź, czy zwierzę ma wszystkie trzy klasy genotypów (tj.: AA, AB i BB) w pełnym pliku genotypowym. Jeśli brakuje jakiegokolwiek klasy genotypu lub ma częstotliwość poniżej 20%, unieważnij cały genotyp.
4. Sprawdź, czy w pliku genotypowym nie ma nieoczekiwanych alleli. Na przykład genotypy w formacie AB nie powinny mieć T, G, 0, 1, 2 lub 9. Jeśli są obecne, unieważnij cały genotyp.

Pochodzenie:

1. Potwierdzenie rodzica (ojca lub matki). Jeśli użyjesz SNP200 lub mniejszego, wymieniony ojciec będzie potwierdzony, jeśli <1% genotypów potomstwo-rodzic jest w konflikcie. Konfliktowy genotyp to sytuacja, w której potomstwo i wymieniony rodzic mają przeciwne genotypy homozygotyczne.

2. Walidacja kojarzenia po walidacji rodziców. Dla wszystkich walidacji pochodzenia przy użyciu SNP, gdy zwierzę jest heterozygotyczne, jeśli dla >1% tych SNP ojca i matki jest homozygotyczne pod względem tego samego allelu, wówczas wymienione kojarzenie jest unieważniane. Może oznaczać przypadek, w którym potomstwo i jedno z rodziców zostały błędnie oznaczone identyfikatorem drugiego (więc genotyp potomstwa należy do ojca lub matki i odwrotnie). W takich przypadkach zaleca się ponowne pobranie próbki DNA i ponowne genotypowanie, potencjalnie z panelem zawierającym więcej SNP.

Zaawansowane kontrole jakości dla danych genotypowych opartych na SNP

Zwierzę:

- 1) Wykrycie pokrewieństwa . Wykorzystanie danych SNP do przewidzenia, kto jest prawdopodobnym rodzicem zwierzęcia, może być bardzo przydatne, ale należy podjąć kroki w celu zapewnienia bardzo wysokiego prawdopodobieństwa, że prognoza jest trafna.

Zalecane są następujące działania:

- a. Używanie SNP 500 lub większych, które mają mniejszą częstotliwość alleli (MAF) powyżej 20% i stawki połączeń powyżej 90%. Zaleca się obliczenie MAF dla całej populacji. Przewidywani rodzice powinni mieć <1% współczynnika konfliktu ze zwierzęciem.
- b. Sprawdź płeć. Upewnij się, że ustanowiono proces zapewniający, że tylko samce są przewidywane jako reproductory, a tylko samice jako matki.
- c. Kontrola daty urodzenia. Jeśli nie zaznaczysz, że przewidywany rodzic jest starszy od zwierzęcia wtedy przewidywany osobnik może w rzeczywistości być potomstwem zwierzęcia.
- d. Różnica wieku. Bydło zwykle osiąga dojrzałość płciową w wieku 11-12 miesięcy, ale może to być już w wieku 8-9 miesięcy, a nawet młodsze, jeśli zapłodnienie in vitro jest technologią stosowaną w populacji. W normalnych okolicznościach zaleca się co najmniej 17 miesięcy między datami urodzenia zwierzęcia a jego przewidywanym rodzicem aby zapewnić, że przewidywany rodzic mógł być dojrzały płciowo w momencie rozmnażania.

- e. Konflikty SNP w szarej strefie. Większość zwierząt będzie miała $<0,5\%$ lub $>1,5\%$ sprzecznych genotypów z osobnikiem, gdy przeprowadza się wykrywanie pochodzenia. Te mające $<0,5\%$ mają potwierdzoną prognozę pochodzenia, a te mające $>1,5\%$ zostają wykluczone. Większość zwierząt, które nie przeszły pozytywnie testu, będzie miała wskaźnik konfliktu $>8\%$. W przypadku tych zwierząt, które mają od $0,5$ do $1,5\%$ sprzecznego SNP, gdy używany jest ustalony panel rodzicielski (tj.: lista ICAR₅₅₄ SNP), zaleca się, aby był używany wskaźnik konfliktu ze wszystkich dostępnych SNP między dwoma osobnikami i jeśli procent spreczny jest w $<1\%$, zostaje potwierdzony jako rodzic, ale jeśli $>1\%$, to nie.
- 2) Matryca Relacji Genetycznych (GRM). Jeśli prawdziwy rodzic zwierzęcia nie jest genotypowany, nie można tego bezpośrednio przewidzieć ani zweryfikować. Genetyczny związek między blisko spokrewnionymi zwierzętami można wykorzystać do zasugerowania potencjalnego rodzica bez genotypu. Do obliczenia GRM zaleca się użycie SNP 7000 lub więcej. Wyniki GRM NIE potwierdzają związku, a jedynie sugerują. Należy zachować ostrożność, ponieważ wartości GRM mogą być zawyżone dla osobników z inbredem. Pełne rodzeństwo i rodzic-dziecko powinni mieć wartości GRM około 50% , podczas gdy przyrodnie rodzeństwo około 25% . Zakres dla każdej grupy może różnić się o $5-10\%$ od oczekiwanej wartości.
- 3) Przewidywanie płci. Sposób przewidywania płci zależy od rodzaju i liczby SNP, które ma zwierzę z chromosomów X i Y. Chociaż nie każdy komercyjny chip zawiera SNP chromosomu Y, zazwyczaj zawierają one markery chromosomu X.
- a. SNP w regionie pseudoautosomalnym (PAR). Ponieważ oba chromosomy X i Y zawierają PAR, SNP z tego regionu należy wykluczyć z przewidywania płci. Jeśli granice pozycji PAR nie są opublikowane dla twojego gatunku, można je z grubsza określić, analizując SNP chromosomu X u znanych samców i samic i identyfikując region, w którym MAF u samców dla ciągłego zestawu SNP wynosi $> 1\%$. Regiony niepseudoautosomalne chromosomu X będą miały SNP ze średnim MAF $<1\%$ u samców i $>>1\%$ u samic.
- b. Przewidywany chromosom X. Użyj non-PAR SNP, aby określić współczynnik heterozygotyczności chromosomu X zwierzęcia (liczba heterozygotycznych

SNP chromosomu X / całkowita liczba chromosomów X SNP). Jeśli średni wskaźnik heterozygotyczności wynosi <5%, przewidywana płęć to samiec, a jeśli >15% to samica. Jeśli wskaźnik wynosi od 5 do 15%, przewidywana płęć jest nieznana.

- c. Przewidywany chromosom Y. Używanie SNP chromosomu Y do przewidywania płęć jest logicznie prostsze, ale wiele komercyjnych chipów ich nie zawiera. Załóźmy, że masz SNP na 7 chromosomie Y z wysokim wskaźnikiem połączeń u samców, zaleca się stosowanie następującej logiki. Samiec jest przewidywany, gdy występuje 6-7 SNP Y; samica jest przewidywana, gdy występuje <1 SNP, a niejednoznaczna płęć jest przewidywana, gdy występuje 2-5 Y SNP.
 - d. Niejednoznaczne przewidywanie płęć. Jeśli jeden zestaw SNP chromosomu płęć zwraca niejednoznaczną prognozę płęć a drugi nie, zaleca się użycie tego drugiego jako przewidywanej płęć. Jeśli oba zestawy SNP są niejednoznaczne, zwierzę może mieć zespół Turnera (X0) lub zespół Klinefeltera (XXY), w tym przypadku zaleca się zwrócenie niejednoznacznej przewidywanej płęć.
 - e. Jeśli przewidywana płęć z analizy chromosomów X i Y nie zgadza się, zaleca się zwrócenie niejednoznacznej przewidywanej płęć. Może to również wskazywać na możliwe zwierzę z zespołem Klinefeltera (XXY)
 - f. Wyselekcjonowane słomki z nasieniem AI. Przewidywania płęć nie należy przeprowadzać na DNA uzyskanym ze słomek nasienia AI wyselekcjonowanych według płęć.
- 4) Kontrola jakości potomstwa. Genotypowane i umieszczone w wykazie potomstwo zwierzęcia można wykorzystać do identyfikacji potencjalnych przypadków, w których genotyp zwierzęcia faktycznie należy do innego zwierzęcia. Powinny one być używane jako oznaczenia wskazujące na prowadzenie potencjalnego dochodzenia, ale zaleca się tymczasowo unieważnić genotyp zwierzęcia do czasu wyjaśnienia. Zalecane progi dla tych oznaczeń to:
- a) Ojciec AI: Jeśli >80% genotypowanego potomstwa nie powieździe się, jeśli genotypuje się >10 potomstwa.
 - b) Buhaj kryjący: Jeśli >80% genotypowanego potomstwa nie powieździe się, jeśli genotypuje się >5 potomstwa.

- c) Matka: Jeśli 100% genotypowanego potomstwa nie powiedzie się, jeśli genotypuje się 2 potomków, w przeciwnym razie, jeśli genotypuje się >5 potomków, zastosuj >80%.
- 5) Zdublikowany genotyp. Jedynym przypadkiem, w którym dwoje lub więcej zwierząt powinno mieć ten sam genotyp jest sytuacja, w której są to bliźnięta jednojajowe lub klony. Sprawdzenie czy >1 zwierzę ma te same genotypy, jest użyteczną kontrolą jakości. Zaleca się użycie zestawu SNP do kontroli pochodzenia do wstępnego badania przesiewowego i dla każdej pary, która ma >99% identycznych genotypów, a następnie użycie wszystkich dostępnych SNP, aby sprawdzić, czy >99% genotypów pasuje.

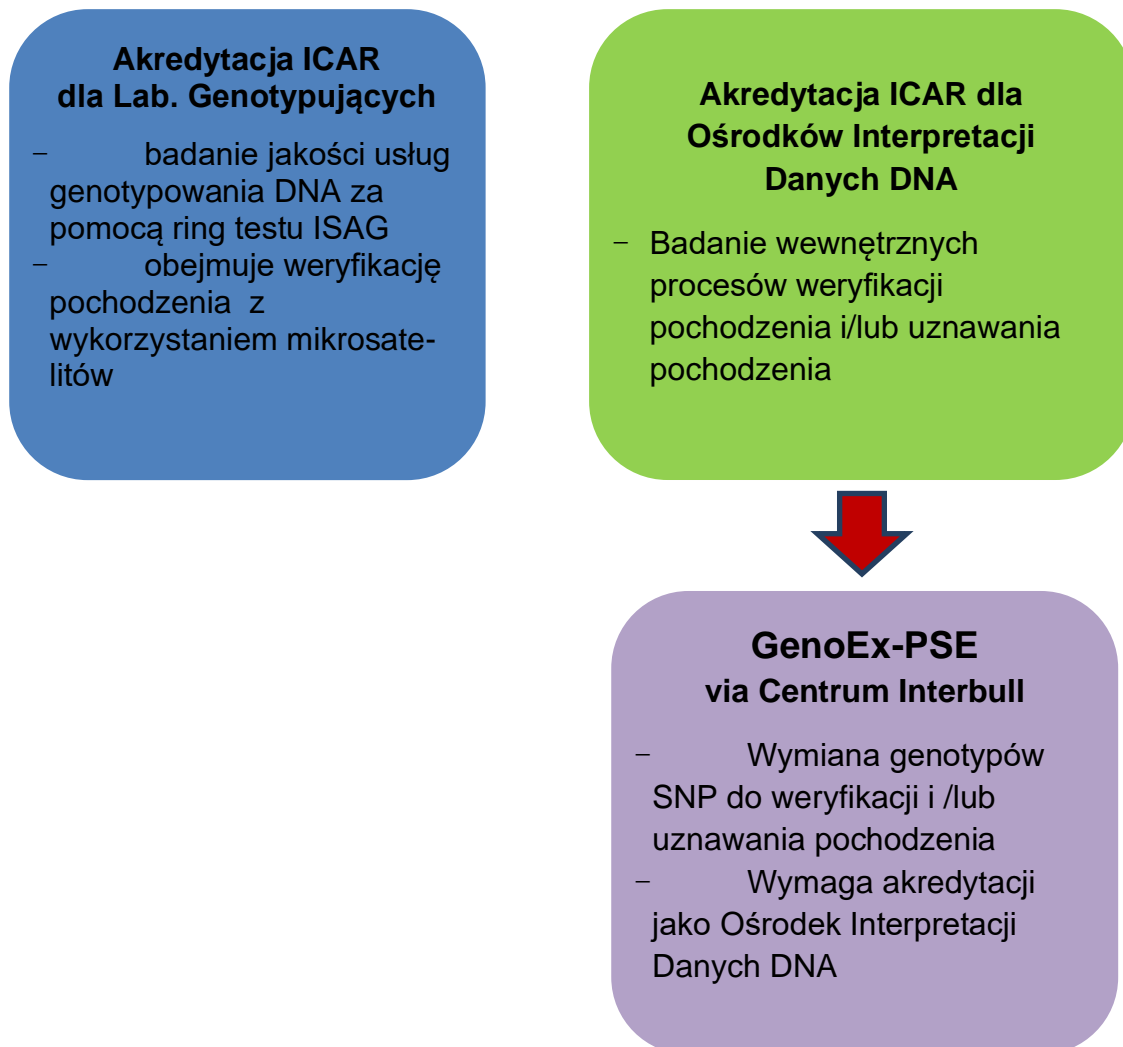
Dla celów standaryzacji w odniesieniu do nomenklatury genów lub loci, strona internetowa jest dostępna pod adresem:

<https://www.genenames.org/about/guidelines#genenames> a markerów pod adresem:
<http://www.HGVS.org/varnomen>.

2 Usługi ICAR związane z technologią DNA

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.

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 wyniki Rankingu 1 z udziału w najnowszym, wykonywanym co dwa lata, 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 akredytowana przez ICAR była wcześniej wykorzystywana do uznania laboratorium genotypowego jako akredytowanej organizacji w celu zapewnienia funkcji analizy pochodzenia bez dokładnego sprawdzania technicznej dokładności tego działania. Praktycznie od roku 2021 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 ponieważ ICAR nie ustanowił tej usługi w ramach pakietu możliwych akredytacji dla centrów interpretacji danych DNA. W przypadku laboratoriów genotypowania, które chciałyby otrzymać akredytację ICAR związaną z weryfikacją pochodzenia w oparciu o SNP, laboratoria genotypowania muszą teraz

złożyć oddzielny wniosek do ICAR o jego równoległą usługę akredytacji analizy pochodzenia dla ośrodków interpretacji danych DNA, jak opisano poniżej w części 4.

3.3 Wytyczne ICAR dotyczące akredytacji laboratoriów genotypowania

Proces akredytacji obejmuje następujące kroki:

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

3.3.1 Wniosek o akredytację

Laboratoria ubiegające się o akredytację wyłącznie w przypadku genotypowania i weryfikacji pochodzenia opartego na mikrosatelitach muszą złożyć wniosek, pobierając i wypełniając odpowiedni formularz, zgodnie z *Załącznikiem 2. Formularz wniosku o badanie pochodzenia bydła oparte na mikrosatelitach*. Laboratoria ubiegające się o akredytację ICAR obejmującą genotypowanie oparte na SNP muszą złożyć wniosek, pobierając i wypełniając odpowiedni formularz, jak przedstawiono w *Załączniku 3. Formularz wniosku o genotypowanie oparte na SNP wymagany do analizy pochodzenia bydła*. Laboratoria, które wcześniej otrzymały akredytację ICAR dla którejkolwiek usługi, mogą ponownie złożyć wniosek przed wygaśnięciem takiej akredytacji, korzystając ze skróconego formularza odnowienia dostępnego na stronie internetowej ICAR. Wszystkie formularze zgłoszeniowe, wypełnione dokładnie i kompletnie oraz uzupełnione o niezbędną dokumentację, jeśli jest to wymagane, należy przesłać e-mailem do sekretariatu ICAR na adres dna@icar.org.

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 w ramach corocznego naboru ICAR na kolejne wnioski, rok po nieudanym zgłoszeniu.

3.3.4 Przyznanie akredytacji

Akredytacja będzie udzielana na okres dwóch lat kalendarzowych, z datą ważności 31 grudnia drugiego roku po otrzymaniu akredytacji ICAR, jako laboratorium świadczącemu usługi genotypowania DNA.

3.3.5 Odnowienie akredytacji

Przed datą wygaśnięcia jakiegokolwiek istniejącej akredytacji ICAR, zwykle w tym samym roku, w którym przypada data wygaśnięcia 31 grudnia, laboratorium może ubiegać się o odnowienie swojej akredytacji, składając wniosek zgodnie z opisem w sekcji 3.3.1 powyżej i pomyślnie wykonując pozostałe kroki opisane w niniejszej części 3.

3.3.6 Akredytacja laboratoriów

Począwszy od ogłoszenia akredytacji w roku 2022, w celu zapewnienia wysokiej jakości systemów zarządzania wewnętrznego, obowiązkowym wymogiem w przypadku akredytacji ICAR opartej na SNP dla laboratoriów genotypowania jest akredytacja ISO17025 lub równoważna. Ponadto, począwszy od wezwania w 2022 r do akredytacji laboratoriów genotypowania dla mikrosatelitów (STR) - akredytacja podstawowa, certyfikat ISO9001, nie będzie już akceptowana i tylko ISO17025, lub równoważna akredytacja, będzie dopuszczalnym poziomem akredytacji w celu zapewnienia jakości wewnętrznych systemów zarządzania. W roku składania wniosku o akredytację ICAR jako laboratorium świadczące usługi genotypowania DNA, wnioskodawca musi przedstawić dowód akredytacji ISO17025 z datą wygaśnięcia 31 października następnego roku kalendarzowego lub później.

3.3.7 Uczestnictwo i wyniki ring testu

ISAG przeprowadza międzynarodowy ring test (porównawczy) laboratoriów genotypowania, oparty na mikrosatelitach i SNP w cyklu dwuletnim, inicjowanym w

latach parzystych (tj. 2022, 2026 itd.) i omawiając wyniki na odbywającej się co dwa lata konferencji w latach nieparzystych (2023, 2025 itd.).

Uczestnictwo w testach ISAG i wyniki w ramach tych ring testów muszą zostać ujawnione a certyfikaty, jeśli są dostępne, dostarczone do ICAR. Wnioskodawcy muszą również podpisać dokument umożliwiający ISAG bezpośrednio ujawnienie wyników ring testów dla ICARu. Udział w dwóch ostatnich ring testach ISAG jest wymogiem minimalnym do zakwalifikowania do akredytacji ICAR. W przypadku ring testu mikrosatelitów ISAG, należy ujawnić wyniki laboratoryjnego genotypowania dla oficjalnego zestawu 12 mikrosatelitów ISAG. Komitet ekspertów określi progi poprawności wyników dla każdego ring testu z należyтым uwzględnieniem struktury ring testu i średnich poprawności wyników laboratoriów w ring teście w danym roku. Tylko te laboratoria, które uzyskały status Rangi 1 w ostatnim dwuletnim ring teście ISAG, automatycznie będą kwalifikowały się do otrzymania akredytacji ICAR jako laboratorium genotypujące. Laboratoria osiągające rangę 2 w ostatnim ring teście ISAG mogą kwalifikować się do otrzymania akredytacji ICAR według uznania komisji ekspertów, ale muszą przedstawić dowód posiadania rangi 1 w poprzednich ring testach ISAG, a także dokumentację określającą przyczynę Wyniku 2. stopnia i wszelkie powiązane działania mające na celu złagodzenie podobnych wyników w przyszłych ring testach ISAG. Laboratoria osiągające status niższy niż Ranga 2 w najnowszym ring teście ISAG nie kwalifikują się do akredytacji ICAR jako laboratorium świadczące usługi genotypowania DNA.

3.3.8 Markery mikrosatelitarne

Należy podać nazwy wszystkich mikrosatelitów ustalonych dla wszystkich zwierząt (zestaw I markerów) i dodatkowo testowanych 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, jako minimalny wymóg certyfikacji weryfikacji pochodzenia na podstawie mikrosatelitów należy przeprowadzić analizę 500 zwierząt rocznie.

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 jest 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

Akredytacja ICAR dotycząca weryfikacji pochodzenia w oparciu o SNP opiera się na pełnym zestawie 200 SNP wcześniej zalecanych przez ISAG. Należy podać nazwę wszystkich genotypowanych SNP na wszystkich zwierzętach (zestaw markerów I, w tym 100 SNP „podstawowych”) oraz dodatkowych markerów oznaczanych w przypadku nierozstrzygniętego pochodzenia (zestaw markerów II, w tym 100 SNP „dodatkowy”), a także liczbę zwierząt genotypowanych SNP w co najmniej dwóch ostatnich latach. ICAR zaleca użycie pełnego zestawu 200 SNP do weryfikacji pochodzenia wszystkich genotypowanych zwierząt (patrz Załącznik 7. Lista zatwierdzonych SNP do weryfikacji pochodzenia bydła). ICAR może jednak, w oparciu o dowody naukowe, zidentyfikować konkretny problematyczny SNP, który należy wykluczyć z analizy pochodzenia, jak opisano w dokumentacji ICAR dotyczącej akredytacji ośrodków interpretacji danych DNA opisanej w części 4.

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, stowarzyszenia 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 genotypowania DNA dostarczanych przez laboratoria i wymaga genotypów 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 weryfikacji ich pochodzenia w ocenie użyteczności, 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. Przyznanie 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 wraz z uiszczeniem odpowiedniej opłaty.

4.3.2 Przegląd wniosku

Wniosek zostanie najpierw sprawdzony wewnątrz ICAR pod kątem jego 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 (n=200) pochodzenia lub wykrywania pochodzenia (n=554), 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. Dla wnioskodawcy dozwolony będzie okres maksymalnie 90 dni kalendarzowych na złożenie akceptowalnych plików 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.

4.3.5 Odnowienie akredytacji

Przed datą wygaśnięcia jakiegokolwiek istniejącej akredytacji ICAR, która zbiega się z datą dwuletniej rocznicy obecnej akredytacji, wnioskodawca może złożyć wniosek o odnowienie swojej akredytacji, składając wniosek zgodnie z opisem w części 4.3.1 powyżej i pomyślnie wypełniając inne wymagane kroki opisane w niniejszej części 4.

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

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

<https://www.icar.org/Guidelines/04-DNA-Technology-App-1-Cattle-SNP-ISAG-core-additional-panel-2013.xlsx>

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.

Załącznik 3. Formularz wniosku o analizę pochodzenia bydła opartą na SNP

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

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.

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.

Załącznik 6. Zasady testowania 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.

Załącznik 7. Lista zatwierdzonych SNP do weryfikacji pochodzenia u bydła

Proszę odnieść się [tutaj](#) do strony internetowej ICAR do listy zatwierdzonych przez ICAR 200 SNP do weryfikacji pochodzenia u bydła.

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.

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.

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.

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.