

---

---

**Пищевые продукты. Принципы выбора  
и критерии валидации для методов  
сортовой идентификации с  
использованием специфической  
нуклеиновой кислоты**

*Foodstuffs — Principles of selection and criteria of validation for varietal  
identification methods using specific nucleic acid*  
(standards.iteh.ai)

ISO 13495:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/cdc058a8-5275-433d-a061-008eda21f2f1/iso-13495-2013>

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R  
(Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава ISO



Ссылочный номер  
ISO 13495:2013(R)

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

ISO 13495:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/cdc058a8-5275-433d-a061-008eda21f2f1/iso-13495-2013>



**ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ**

© ISO 2013

Все права сохраняются. Если не задано иначе, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без предварительного письменного согласия офиса ISO по адресу, указанному ниже, или членом ISO в стране регистрации пребывания.

ISO copyright office  
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20

Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax + 41 22 749 09 47  
E-mail [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Опубликовано в Швейцарии

## Содержание

Страница

Предисловие.....	iv
Введение .....	v
<b>1 Область применения.....</b>	<b>1</b>
<b>2 Нормативные ссылки .....</b>	<b>1</b>
<b>3 Термины и определения.....</b>	<b>1</b>
3.1 Термины, относящиеся к сорту растений .....	1
3.2 Термины, относящиеся к выделению и очистке дезоксирибонуклеиновой кислоты (DNA)/рибонуклеиновой кислоты (RNA).....	2
3.3 Термины, относящиеся к амплификации нуклеиновых кислот методом PCR.....	2
3.4 Термины, относящиеся к обнаружению.....	4
3.5 Термины, относящиеся к контролям.....	4
3.6 Термины, относящиеся к маркерам .....	4
<b>4 Обеспечение качества результатов испытания.....</b>	<b>5</b>
<b>5 Выбор методов.....</b>	<b>7</b>
<b>6 Выбор маркеров.....</b>	<b>7</b>
6.1 Общие критерии .....	7
6.2 Выбор набора маркеров.....	7
6.3 Маркеры SSR.....	7
6.4 Однонуклеотидный полиморфизм (SNP).....	8
<b>7 Лабораторные пробы .....</b>	<b>8</b>
7.1 Проба .....	8
7.2 Размер пробы .....	8
7.3 Стандартный образец .....	8
<b>8 Лабораторная валидация.....</b>	<b>9</b>
8.1 Общие вопросы .....	9
8.2 Критерии внутрилабораторной валидации.....	9
8.3 Критерии межлабораторной валидации.....	11
<b>9 Интерпретация и выражение результатов.....</b>	<b>12</b>
9.1 Общие вопросы .....	12
9.2 Система комментирования данных .....	12
9.3 Анализ результатов.....	12
9.4 Выражение результатов.....	13
<b>10 Протокол испытания.....</b>	<b>13</b>
<b>Библиография.....</b>	<b>15</b>

## Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) является Всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные правительственные и неправительственные организации, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. Что касается стандартизации в области электротехники, ISO работает в тесном сотрудничестве с Международной электротехнической комиссией (IEC).

Процедуры, используемые для разработки настоящего документа, и процедуры, предназначенные для его последующего ведения, описаны в Директивах ISO/IEC, Часть 1. В частности, должны быть указаны разные критерии подхода к различным типам документов ISO. Проект настоящего документа был разработан по редакционным правилам, указанным в Директивах ISO/IEC, Часть 2. [www.iso.org/directives](http://www.iso.org/directives)

Обращается внимание на возможность того, что некоторые элементы данного международного стандарта могут быть объектом патентных прав. ISO не несет ответственности за идентификацию какого-либо или всех таких патентных прав. Детали любых патентных прав, идентифицированных при разработке настоящего документа, будут указаны во введении или в списке ISO полученных патентных деклараций. [www.iso.org/patents](http://www.iso.org/patents)

Любое фирменное название, используемое в этом документе, указывается только как информация для удобства пользователей и не является рекомендацией.

Комитетом, ответственным за этот документ, является ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитет SC 16, *Горизонтальные методы для молекулярного анализа биомаркёров*.

[ISO 13495:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/cdc058a8-5275-433d-a061-008eda21f2f1/iso-13495-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/cdc058a8-5275-433d-a061-008eda21f2f1/iso-13495-2013>

## Введение

Настоящий международный стандарт дает общие руководящие указания для содействия в принятии решений и валидации протоколов, используемых для получения высококачественных молекулярных данных для сортовой идентификации.

Для анализа сортовой идентификации требуются высококачественные маркёры, которые могут обеспечить воспроизводимые данные при использовании разнообразного оборудования, химических процессов и реагентов. Соответственно в данном международном стандарте рассматриваются только методы специфической амплификации.

Цель настоящего международного стандарта состоит в том, чтобы обеспечить методы анализа совместимые с запросами потребителя, представить различные шаги к выполнению валидации метода и определить критерии приемки. Он также гарантирует, что общие принципы, применяемые в проведении этих анализов, будут одинаковы во всех лабораториях (стандартный образец, размер пробы, лабораторная проба, испытательный образец, извлечение, анализ и интерпретация результатов, сертификат анализа).

Наконец, этот международный стандарт является существенным для стандартизации результатов, полученных различными лабораториями

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

[ISO 13495:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/cdc058a8-5275-433d-a061-008eda21f2f1/iso-13495-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/cdc058a8-5275-433d-a061-008eda21f2f1/iso-13495-2013>



# Пищевые продукты. Принципы выбора и критерии валидации для методов сортовой идентификации с использованием специфической нуклеиновой кислоты

## 1 Область применения

Настоящий международный стандарт устанавливает молекулярные инструменты для создания молекулярных профилей разнообразных видов растений, позволяющих провести сортовую идентификацию, т.е. подтверждение идентичности в отношении одной или более ссылок.

Этот международный стандарт применяется для различных матриц, семян, листьев, корней, промышленных продуктов, состоящих только из одного сорта. Матрицы, представленные в виде смесей различных сортов (таких как пюре, компоты, мука) исключены из области применения этого документа.

Настоящий международный стандарт не распространяется на генетическую чистоту.

## 2 Нормативные ссылки

Следующие ссылочные нормативные документы целиком или частично являются обязательными при применении данного документа. Для жестких ссылок применяется только цитированное издание документа. Для плавающих ссылок необходимо использовать самое последнее издание нормативного ссылочного документа (включая любые изменения).

ISO/IEC 17025:2005, *Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий*

## 3 Термины и определения

Применительно к этому документу используются термины и определения, данные в ISO 8196|IDF 128 (все части), и нижеследующие.

### 3.1 Термины, относящиеся к сорту растений

#### 3.1.1

**культивар**  
**сорт растений**  
**cultivar**

совокупность культивируемых растений, которая явственно отличается морфологическими, физическими, цитологическими, химическими или другими признаками и сохраняет свои отличительные признаки при половом или бесполом размножении

[ИСТОЧНИК: ISO 7563:1998, определение 1.12]

Примечание 1 к статье: Понятие “культивар” существенно отличается от понятия ботанической разновидности “лат. *varietas*”, в следующем

— “культивар” является внутривидовой категорией, образующейся в результате регулируемой селекции, даже эмпирической;

— “разновидность” является внутривидовой категорией, образующейся в результате естественного отбора.

Термины “культивар” и “сорт растений” (в смысле культурной разновидности) эквивалентны. В тексте переводов или адаптациях ботанической номенклатуры для конкретных целей можно использовать термины “культивар” или “сорт растений” (или их эквиваленты на других языках).

Примечание 2 к статье: Названия ботанических разновидностей и видов всегда даются на латинском языке согласно ботанической номенклатуре.

### 3.1.2

#### **вид species**

совокупность организмов, которые имеют высокий уровень генетического (DNA) сходства и способны к взаимному скрещиванию: часто содержат подвиды, разновидности или расы

Примечание 1 к статье: Вид обозначается указанием родового названия с последующим видовым названием, которые набираются курсивом, например *Ananas comosus*.

### 3.1.3

#### **разновидность variety**

уникальная и однородная часть вида растения (кроме гибридного вида), которая сохраняет его признаки от поколения к поколению путем естественного размножения

[ИСТОЧНИК: ISO 5527:—, определение 2.1.7 изменено — другой предпочтительный термин “культивар” исключен.]

## **3.2 Термины, относящиеся к выделению и очистке дезоксирибонуклеиновой кислоты (DNA)/рибонуклеиновой кислоты (RNA)**

### 3.2.1

#### **выделение нуклеиновой кислоты nucleic acid extraction**

обработка пробы для высвобождения целевой нуклеиновой кислоты

Примечание 1 к статье: Процедура выделения нуклеиновой кислоты используется для отделения нуклеиновых кислот от других клеточных компонентов, таких как, белок, липиды, углеводы и другие примеси в испытательном образце.

[ИСТОЧНИК: ISO 22174:2005, определение 3.2.1 изменено — добавлено Примечание 1.]

### 3.2.2

#### **очистка нуклеиновой кислоты nucleic acid purification**

метод, обеспечивающий высокую очистку DNA

Примечание 1 к статье: Процедура или процесс, включающие последовательные шаги для отделения DNA и/или RNA от других компонентов в пробе. В пробе высокоочищенной DNA или RNA отмечаются незначительные наблюдаемые или измеряемые эффекты, которые относят за счет ингибиторов полимеразной цепной реакции.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 к статье: В этом контексте чистота относится к уменьшению наблюдаемых и измеряемых эффектов ингибиторов полимеразной цепной реакции (PCR).

[ИСТОЧНИК: ISO 22174:2005, определение 3.2.2 изменено — Примечание 1 добавлено; Примечание 2 изменено.]

## **3.3 Термины, относящиеся к амплификации нуклеиновых кислот методом PCR**

### 3.3.1

#### **ампликон amplicon**

специфический фрагмент DNA, образуемый методом DNA-амплификации, такой как полимеразная цепная реакция (PCR)



**3.3.2****гибридизация  
hybridization**

специфическое связывание комплементарных последовательностей нуклеиновых кислот при соответствующих условиях реакции

[ИСТОЧНИК: ISO 22174:2005, определение 3.6.3]

**3.3.3****мультиплексная PCR  
multiplex PCR**

PCR, в которой используются несколько пар праймеров в различных локусах, комбинированных в пределах единичной реакционной смеси для образования нескольких ампликонов одновременно

[ИСТОЧНИК: ISO 22174:2005, определение 3.4.11 изменено — добавлена фраза после “праймеров”.]

**3.3.4****полимеразная цепная реакция  
polymerase chain reaction  
PCR**

Ферментативная реакция, которая позволяет проведение амплификации DNA *in vitro*

[ИСТОЧНИК: ISO 22174:2005, определение 3.4.1]

**3.3.5****праймер  
primer**

олигонуклеотид определенной длины и последовательности, комплементарный фрагменту аналитически релевантной последовательности DNA

[ИСТОЧНИК: ISO 22174:2005, определение 3.4.12]

**3.3.6****зонд  
probe**

меченая молекула с определенной последовательностью, используемая для обнаружения целевой DNA посредством гибридизации

[ИСТОЧНИК: ISO 22174:2005, определение 3.6.1 изменено — первоначально указывался термин “DNA-зонд”.]

**3.3.7****специфичность  
specificity**

способность метода реагировать исключительно на характеристику или аналит, которые исследуются

Примечание 1 к статье: Характеризуется способность распознавать исключительно последовательность нуклеиновой кислоты, подлежащей анализу, отличая ее от других последовательностей нуклеиновой кислоты, а также тенденция праймера или зонда скрещиваться с заданной мишенью и не скрещиваться с другими нецелевыми последовательностями.

[ИСТОЧНИК: ISO 24276:2006, определение 3.1.4 изменено — добавлено Примечание 1.]

**3.3.8****термоциклер  
амплификатор  
thermocycler**

автоматизированный лабораторный прибор, применяемый для многократного циклического повышения и понижения температуры пробы посредством ряда дискретных и запрограммированных шагов

Примечание 1 к статье: Это циклическое изменение температур управляет процессом PCR.

### 3.4 Термины, относящиеся к обнаружению

#### 3.4.1

**электрофорез**  
**electrophoresis**

метод отделения электрически заряженных частиц посредством их дифференциальной миграции под действием электрического поля

Примечание 1 к статье: Для отделения продуктов PCR можно использовать различные типы электрофореза.

### 3.5 Термины, относящиеся к контролям

#### 3.5.1

**стандартный образец**  
**reference sample**  
**reference material**

материал или вещество, значения одного или более свойств которого достаточно однородны и достоверно установлены, чтобы их использовать для калибровки прибора, оценки метода измерения или для приписывания значений для соответствующих материалов

Примечание 1 к статье: Стандартный образец может предоставляться заказчиком, быть внутрилабораторным или официально назначенным.

[ИСТОЧНИК: ISO Guide 30]

[ИСТОЧНИК: ISO 24276:2006, определение 3.5.1 изменено — добавлено Примечание 1.]

#### 3.5.2

**контроль испытания**  
**test control**

один или более образцов, которые были подвергнуты всему или частичному процессу анализа, предназначенного для целевых образцов, и которые могут выявить известные аллели используемых маркёров, тем самым сигнализируя о любых ошибках процесса и обеспечивая стандартные образцы аллелей, которые могут способствовать считыванию результатов

### 3.6 Термины, относящиеся к маркёрам

#### 3.6.1

**конкуренция аллелей**  
**allele competition**

предпочтительная амплификация одного аллеля относительно другого в гетерозиготе или смеси

#### 3.6.2

**частота аллеля**  
**allele frequency**

величина, показывающая, насколько определенный аллель является общим для всей популяции; доля или процентное отношение всех встречаемостей локуса, который занят данным аллелем

#### 3.6.3

**маркёр**  
**marker**

генетический маркёр, который обычно относится к фрагментам DNA, соответствующим данному локусу, и дает информацию о генотипе носителя или генотипе соседних локусов

#### 3.6.4

**нулевой аллель**  
**null allele**

<контекст PCR> вариант последовательности, который препятствует амплификации PCR для конкретной мишени, приводя к отсутствию детектируемого продукта PCR

**3.6.5****область повтора  
repeat region**

геномная область, в которой конкретная последовательность DNA или RNA появляется в нескольких копиях

**3.6.6****простой повтор последовательностей  
simple sequence repeat  
SSR**

область DNA, состоящая из короткой последовательности (1 пара оснований до 6 пар оснований) (единица повтора), которая тандемно повторяется много раз (как правило, от 5 до 50)

Примечание 1 к статье: простые повторы последовательностей (SSRs) известны как микросателлиты.

Примечание 2 к статье: Количество единиц повтора при заданном SSR, так что общая длина SSR часто меняется между индивидами.

**3.6.7****однонуклеотидный полиморфизм  
single nucleotide polymorphism  
SNP**

изменчивость единичных нуклеотидов в генетической последовательности, которая происходит в популяции с заметной частотой

Примечание 1 к статье: SNP часто произносится как “снип”.

[ИСТОЧНИК: ISO 25720:2009, определение 4.23 изменено — добавлено Примечание 1.]

**4 Обеспечение качества результатов испытания**

Требования и руководящие указания, приведенные в Таблице 1, обозначены следующим образом:

— C: Обязательные;

— R: Рекомендованные.