标准核酸序列建立指导原则

标准核酸序列系指供药品标准中要求的种属源性鉴别或鉴定的核酸序列，其具有确定的碱基排列顺序，是实施核酸检测的基础，用于药品检验、药品质量控制中涉及的动物、植物、微生物以及重组生物制品的种属鉴别或鉴定。本指导原则用于规范标准核酸序列的建立，为执行与核酸检测相关的国家药品标准提供指导。

标准核酸序列应具备权威性、准确性、专属性和溯源性。标准核酸序列在分类、遴选、使用和维护等方面应符合下列有关规定。

一、标准核酸序列的分类

标准核酸序列可分为植物来源、动物来源、微生物来源及重组生物制品的鉴别或鉴定用标准核酸序列等。

1. 植物来源

植物来源的标准核酸序列系指用种属来源明确的植物样本按 DNA 测序技术指导原则测定得到的标准序列，可用于植物来源的物种如中药材、中药饮片或提取物等的原植物鉴别或鉴定。

2. 动物来源

动物来源的标准核酸序列系指用种属来源明确的动物样本按 DNA 测序技术指导原则测定得到的标准序列，可用于动物来源的物种如中药材（含饮片）和动物来源的生化药、生物制品或药用辅料等的原物种鉴别或鉴定。

3. 微生物来源

微生物来源的标准核酸序列系指用种属来源明确的微生物样本按 DNA 测序技术指导原则测定得到的标准序列，以及《伯杰氏系统细菌学手册》收载的核酸序列，可用于生产、检定及质控用菌毒种、污染的外源微生物等的鉴定和溯源。

4. 重组生物制品

重组生物制品的标准核酸序列系指用种属来源明确的生产用的工程菌、毒种或生物技术产品等按 DNA 测序技术指导原则测定得到的标准序列，可用于用菌毒株和动物细胞基质等的原物种鉴别或鉴定。

二、标准核酸序列的遴选

遴选标准核酸序列的工作流程包括：品种的确定、候选品种核酸物质原料的选择、候选标准核酸序列的建立和审核批准。

1. 品种的确定

除另有规定外，根据药品标准制修订中拟采用待测物核酸序列进行质量控制的需要，确定需制备的品种。药品标准中采用核酸序列进行鉴定的品种，都应建立标准核酸序列。

2. 候选品种核酸物质原料的选择

候选品种核酸物质原料的选择应符合候选标准物质原料的选择要求，可参照国家药品标准物质制备指导原则（通则 9901）中“二、候选国家药品标准物质原料的选择”；国家药品标准物质通则（通则 0291）中“二、国家药品标准物质的建立，2. 候选药品标准物质的获取”。

候选品种核酸物质原料应具有准确性和代表性。用作核酸物质原料的药用动植物应经过基原鉴定，用作核酸物质原料的细胞系或菌株需确认其遗传背景。

3. 候选品种标准核酸序列的建立

确定候选品种后，可按以下要求开展研究。

（1）标准核酸序列的准确性：根据候选品种标准核酸序列分类的不同，选择合理的测序和序列分析流程。测序流程中的样品前处理、引物选择、序列片段及长度等均需按一定规范进行。

（2）标准核酸序列的重复性：建立的标准核酸序列须经过至少 3 家具有资质的实验室共同验证，每个实验室重复验证次数应不少于两次。共同验证的实验室应建立统一的设计方案和方法，确保实验操作的规范性和结果的一致性。各实验室对同一样本的共同验证测序结果应一致。

（3）标准核酸序列的可追溯性：标准核酸序列所对应的实物物质原料（实物样本）应进行编码和保存。实物样本的保存单位应为国家药典委员会认可机构，并满足实物样本保存的基本要求，保存单位应同时负责相关资料的保管（普遍易得的物种除外）。实物样本应在规定条件（温度、湿度以及其他特殊条件等）下保存，以保证保存期内样本的质量与生物活性。对于无法获得实物样本的，需确认样本来源、引物信息、测序过程及设备等信息。

（4）标准核酸序列的信息完整性：标准核酸序列应附详细说明，包括物种

名称、编号、用途、样本来源、碱基序列和基于现有实物鉴定标准的相关描述（如测序原始峰图和提供单位等信息）。如同一物种对应多个核酸标准序列，说明中应加以标注。

4. 标准核酸序列的审核批准

标准核酸序列建立后，应提交至国家有关管理部门审核，经批准后方可纳入标准核酸序列数据库使用。

三、标准核酸序列的使用

将按 DNA 测序技术指导原则测定得到的供试品 DNA 序列与标准核酸序列进行计算比对，进而结合判定标准进行种属鉴别或鉴定。判定标准的制定应考虑不同物种的变异范围，并在相应通则或品种项下予以明确。核酸序列比对方法一般建议根据样品特点从以下三种方法中选择采用。

1. BLAST 法

将待测样品核酸序列与标准核酸序列数据库进行比对，根据匹配分值来确定样品对应的物种。

2. 遗传距离法

计算待测样品核酸序列与数据库序列之间的遗传距离，根据遗传距离值来确定样品对应的物种。

3. 系统发育树法

比对标准核酸序列数据库内多样本序列，计算物种种属内和种属间遗传距离，构建系统发育树，根据聚类情况确定样品对应的物种。

标准核酸序列应在规定的适用范围内使用。如果作为其他目的使用，其适用性由使用者自行决定。

四、标准核酸序列的维护

标准核酸序列的建立单位应建立常规的质量保障体系，对其发行的标准核酸序列进行定期监测，确保标准核酸序列的及时更新。

标准核酸序列的数据存储由国家药典委员会统一管理。存储的数据应包含样本来源、提供单位、引物信息、原始测序峰图文件、核酸序列等关键信息，以及可用于样本物种鉴别或鉴别的其他有用信息。

征求意见稿