

Детекция ГМО. Информация на сайте Механизма посредничества по биобезопасности



ИНСТИТУТ ГЕНЕТИКИ И ЦИТОЛОГИИ
НАН БЕЛАРУСИ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ КООРДИНАЦИОННЫЙ
ЦЕНТР БИОБЕЗОПАСНОСТИ

Анализ ГМО

(детекция и идентификация ГМО)

играет ключевую роль в реализации законодательства в области безопасности генно-инженерной деятельности, например, для того чтобы обеспечить надлежащую маркировку одобренных ГМО и продукции, содержащей ГМ-ингредиенты или для обнаружения возможного присутствия неразрешенных ГМО, то есть тех ГМО, которые проходят процедуру оценки потенциальных экологических рисков и рисков здоровью человека либо не прошедших процедуру оценки риска и не одобренных для высвобождения на рынок.



НЕКОТОРЫЕ ПОДХОДЫ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ГМО

Основные методы идентификации ГМО можно разделить на 2 группы:

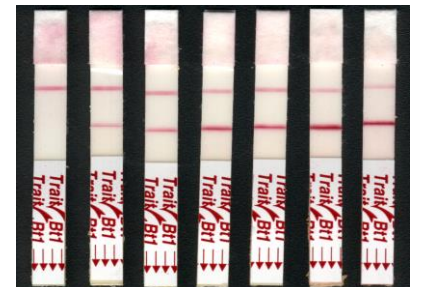
1. Основанные на детекции белка
2. Основанные на детекции ДНК

ГМО часто разрабатываются путем введения одного или нескольких смысловых генов, которые представляют собой молекулы ДНК, кодирующие белки, которые придают особые признаки организму, такие как устойчивость к насекомым или гербицидам. Обнаружение или идентификация таких ГМО может проводиться путем определения ДНК либо белка.

ГМО-специфичные белки (то есть те, которые продуцируются встроенными генами) могут быть обнаружены с помощью антитела, специфичного для трансгенного белка. Метод тестирования белка может представлять собой либо тест полоски, либо иммуно-ферментный анализ на микропланшетах, или анализ с помощью гель-электрофореза (также известный как вестерн-блот).

МЕТОДЫ НА ОСНОВЕ ОБНАРУЖЕНИЯ ГМ-СПЕЦИФИЧНОГО БЕЛКА

- Тест-полоску помещают в сырой белковый экстракт, и положительный результат определяется появлением тестовой линии благодаря распознаванию антителом трансгенного белка. Преимущества этого качественного метода состоят в том, что он прост в исполнении, требует небольшого технического опыта или оборудования и может быть выполнен в точке отбора проб. Также были разработаны электронные устройства, которые позволяют получить полуколичественную интерпретацию результата. Недостатком этого способа является то, что его чувствительность зависит от аффинности связывания между антителом и белком.
- С помощью метода ИФА можно получить не только качественный, но и количественный результат при использовании ряда белковых стандартов.
- Преимущество метода вестерн-блот заключается в том, что он достаточно чувствителен и может обнаруживать различные изоформы целевого белка. Недостатком этого метода является то, что первичное антитело может перекрестно реагировать с нативными формами того же белка, который может присутствовать в организме.



МЕТОДЫ НА ОСНОВЕ ОБНАРУЖЕНИЯ ГМ-СПЕЦИФИЧНОГО БЕЛКА

- Широко используются для быстрого скрининга растительного материала на полях или после сбора урожая, но эти методы не годны для детекции ГМО в обработанных продуктах из-за деградации молекул.

ГОСТ ИСО 21572-2009 Продукты пищевые. Методы анализа для обнаружения генетически модифицированных организмов и производных продуктов. Методы, основанные на протеине. **Не принят в Республике Беларусь.**

Методы, основанные на выявлении фенотипа (например, устойчивость к гербицидам). Применение очень ограничено. Используются, например Ассоциацией Официальных органов по сертификации семян в их официальных схемах по сертификации семян.

ОСНОВНОЙ МЕТОД ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ГМО - ПЦР

ДНК обладает большей химической стабильностью по сравнению с белками, что позволяет ей выдерживать химические и термические обработки. ДНК также присутствует во всех клетках, и поэтому любая часть организма может быть использована для тестирования. Кроме того, методы ПЦР более универсальны, чем белковые методы, и ПЦР можно использовать для скрининга образца на наличие нескольких потенциальных ГМ-линий одновременно с относительной легкостью. Кроме того, ПЦР можно применять качественно, чтобы обнаружить конкретные гены или события, и количественно, чтобы определить процентный уровень конкретного ГМ-события в образце.



АНАЛИЗ ДНК – ЭТО ЦЕПЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕДУР

Исследование генетически модифицированных организмов (ГМО) и производных продуктов осуществляется посредством ряда стадий, выполняемых последовательно или одновременно. После отбора проб нуклеиновые кислоты выделяются из анализируемой пробы – и далее они могут быть очищены от возможных примесей в самом процессе выделения или после него. Следующими этапами являются: оценка количества выделенных нуклеиновых кислот, разведение нуклеиновых кислот (при необходимости) и выполнение полимеразной цепной реакции.



ДНК-МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ ГМО

ПЦР - это метод, в котором используются синтетические олигонуклеотиды ДНК, так называемые «праймеры», для репликации или «амплификации» целевых областей вставленной последовательности ДНК, присутствующей в ГМО. Затем можно обнаружить амплифицированный продукт, чтобы определить, присутствует ли в образце ДНК, происходящая из ГМО.

Методы на основе ДНК требуют выделения ДНК до обнаружения ПЦР. Важно определить, какой метод выделения ДНК подходит для конкретного ГМО. Хотя большинство методов экстракции используют протокол цетилтриметиламмонийбромид (ЦТАБ) после механической гомогенизации ГМО, для разных типов культур могут потребоваться дополнительные шаги для оптимальной экстракции ДНК. Также важно отметить, что количество использованной лабораторной пробы будет также влиять на точность и чувствительность обнаружения ЖИО.



«ЗОЛОТОЙ СТАНДАРТ» - ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

Технология ПЦР в реальном времени позволяет обнаруживать амплифицированную последовательность-мишень в процессе амплификации ПЦР с использованием флуоресцентного ДНК-связывающего красителя или флуоресцентно-меченного зонда. ДНК-связывающий краситель просто определяет уровень амплификации ПЦР, но не различает специфическую и неспецифическую амплификацию. Напротив, использование флуоресцентного зонда можно использовать для проверки того, что конкретная последовательность-мишень была амплифицирована во время процесса ПЦР. Если технология ПЦР в реальном времени используется в сочетании с необходимыми стандартами, можно определить процентное содержание ГМ-события в образце. Общая применимость этого метода должна оцениваться с точки зрения доступности оборудования, его практичности и экономической эффективности.



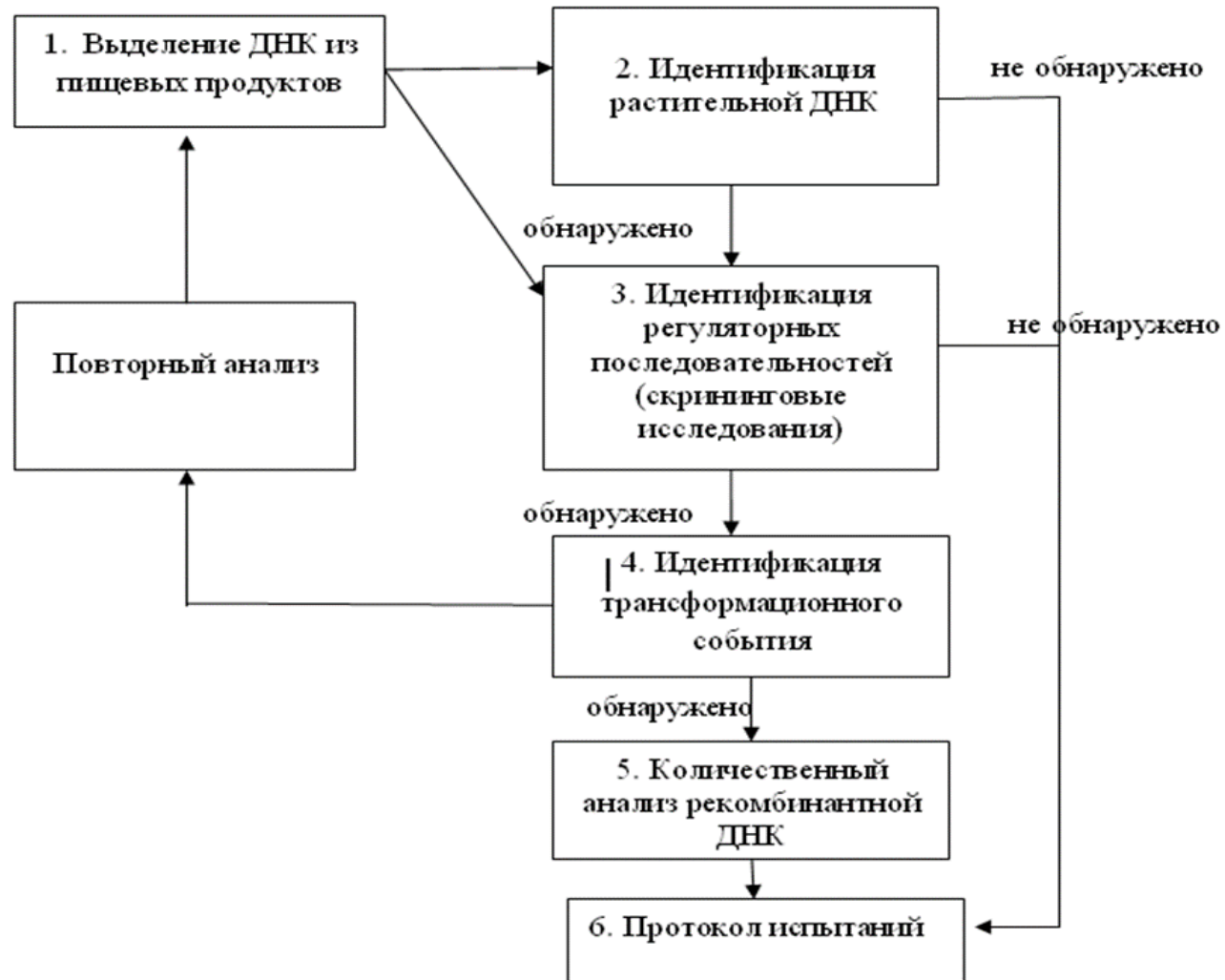
ДЕТЕКЦИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГМО

Эффективные и малозатратные методы детекции ГМО в основном используют для начала тесты, позволяющие выявить 1 или несколько общих мишеней для того чтобы выявить ГМО – Скрининг.

Многие ЛДГМО начинают анализ со скрининга наиболее часто встречаемых ГМ-аналитов например **P-35S, FMV-35S, T-NOS, PAT, BAR**, т.к. это наименее трудоемкий и низкзатратный метод.

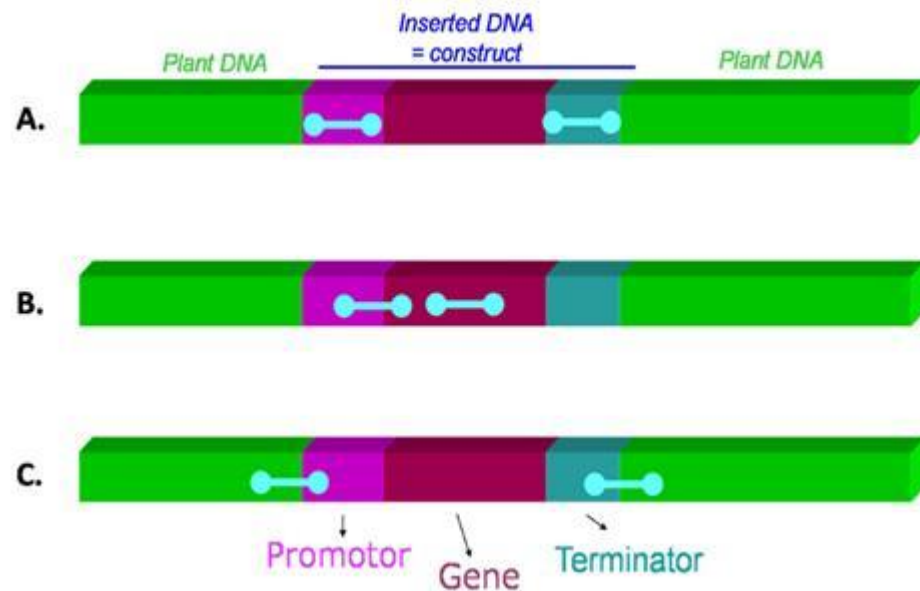
Увеличение числа и разнообразие разрабатываемых ГМО, появление пакетированных ГМО заставляет ЛДГМО рационализировать их аналитическую работу и сейчас большинство лабораторий применяет первоначальный ПЦР скрининг за которым следует (в случае необходимости) более специфическая ПЦР идентификация и количественное определение.

СХЕМА СКРИНИНГОВОГО КОНТРОЛЯ



ДЕТЕКЦИЯ РАЗЛИЧНЫХ ОБЛАСТЕЙ-МИШЕНЕЙ

Методы обнаружения могут быть направлены на различные типы последовательностей ДНК в ГМО:



- A. Детекция общих регуляторных элементов (промоторы, терминаторы)
- B. Метод специфического гена и метод специфической конструкции (соединение между двумя генетическими элементами в конструкции)
- C. Метод специфического события (соединение между встроенной конструкцией и растительным геномом), позволяющих однозначно определить наличие одного конкретного ГМО.

После тестирования лабораторного образца на наличие определенного набора меток, результаты сравниваются с информацией ГМО матрицы. Соответствие между результатами и характером, предсказанным ГМО-матрицей, указывает, что материал из отдельного ГМО может присутствовать в образце. Для каждого специфического теста результат подсчитывается в соответствии с заранее оговоренными критериями выбора. Такие критерии, например, указаны в **ISO 24276 (2006)**.

Матричный подход направлен на то, чтобы выявить максимальное количество ГМО. Любые позитивные результаты, которые не соответствуют модели, создаваемой только одобренными событиями, указывают на присутствие неодобренного события в образце.



Немецкая сеть лабораторий разработала «матрицу методов ГМО» (также известную как таблица Вайблингера), которая основана на пяти стадиях анализа, нацеленных на конкретные генетические элементы и конструкции, которые наиболее часто присутствуют в коммерческих ГМ-культурах. Он включает в себя набор методов ПЦР в реальном времени для обнаружения:

1. промотор вируса мозаики цветной капусты 35S (P-35S);
2. терминатор nos, полученный из *Agrobacterium tumefaciens* (T-nos);
3. соединение ctp2-cr4epsps хлоропласт-транзитного пептида (CTP2) из *Arabidopsis thaliana* и ген epsps из штамма *A. tumefaciens* CP4 (epsps);
4. ген bar из *Streptomyces hygrosopicus*; а также
5. последовательность из соединения P35S-pat промотора CaMV P-35S и синтетического гена pat3.

Все пять методов были полностью проверены и включены в базу данных методов EURL-GMFF.

БАЗА ДАННЫХ МЕТОДОВ ОБНАРУЖЕНИЯ ГМО

Европейская база данных эталонных методов анализа ГМО была разработана референс-лабораторией Объединенного исследовательского центра по генетически модифицированным продуктам питания и кормам Европейского Союза (EURL-GMFF). Эта база данных содержит полностью проверенные методы обнаружения ГМО.

<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/gmomethods/>

Legal Notice Privacy statement English (EN)

European Commission

JOINT RESEARCH CENTRE
European Union Reference Laboratory for GM Food and Feed

European Commission > EU Science Hub > EU-RL GMFF

EU-RL GMFF Home
Legal basis
Tasks and duties
Guidance documents
Status of dossiers
Proficiency tests
Methods database
JRC GMO-Matrix
JRC GMO-Amplicons
Capacity building
ENGL
Emergencies/
Unauthorised GMOs
Contacts

GMOMETHODS:
EU Database of Reference Methods for GMO Analysis

Home

Search for Search Select by Unique Identifier:

Quantitative GMO detection PCR methods

- GMO specific
 - Event specific
 - Maize
 - Soybean
 - Cotton
 - Oilseed rape
 - Papaya
 - Potato
 - Rice
 - Sugar beet
 - Construct specific
 - Element specific
- Taxon specific
 - Validated independently
 - Validated in combination with other method(s)

Qualitative GMO detection PCR methods

- GMO specific
 - Event-specific
 - Construct-specific
 - Element-specific
 - Cauliflower Mosaic Virus 35S promoter (CaMV P-35S)
 - CaMV T-35S pCambia
 - CP4-EPSPS gene (CP4-EPSPS)
 - Cry1Ab/Ac gene (cry1Ab/Ac)
 - Cry1A(b) gene (cry1A(b))
 - Cry1Ac
 - Figwort Mosaic Virus 35S promoter (P-FMV)
 - Neomycin phosphotransferase II gene (nptII)
 - Nopaline synthase promoter (P-nos)
 - Nopaline synthase terminator (T-nos)

ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ В РАМКАХ АККРЕДИТОВАННЫХ ЛАБОРАТОРИЙ

Любой метод должен быть валидирован (валидация - экспериментальное доказательство того, что методика пригодна для решения предполагаемых задач).

В Госстандарте утвержден межнациональный стандарт **ГОСТ ИСО 21571–2009** «Продукты пищевые. Методы анализа для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Экстракция нуклеиновых кислот» (с 1 января 2011).

Он является идентичным международному стандарту ИСО 21571:2005 «Продукты пищевые. Методы анализа для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Экстракция нуклеиновых кислот».

Документом устанавливаются общие требования и специфические методы выделения, очистки и количественной оценки дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК).

СТАНДАРТНЫЕ МЕТОДЫ, ДЕЙСТВУЮЩИЕ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

ГОСТ ИСО 21571–2009 распространяется на пищевые продукты, но может быть также применен к другим продуктам, например, семенам и кормам.

Данный стандарт рекомендован к применению совместно с **ГОСТ ИСО 21569, ГОСТ ИСО 21570** в части аналитических методов на основе нуклеиновых кислот (в частности, качественных аналитических методов, установленных в ИСО 21569, и количественных аналитических методов, установленных в ИСО 21570).



ЕЩЁ БОЛЬШЕ ИНФОРМАЦИИ НА [HTTP://WWW.CBD.INT](http://www.cbd.int)

The screenshot shows the website interface for the Convention on Biological Diversity. At the top, there are language options: العربية | 中文 | english | español | français | русский. On the right, there are links for 'Создать учетную запись' and 'Войти в систему'. The main header features the CBD logo and a banner image of hands holding a globe. Below this is a navigation menu with 'Конвенция', 'Картахенский протокол', 'Дополнительный протокол', 'МПБ', and 'Секретариат'. A dropdown menu is open for 'Профили стран...'. The main content area is titled 'Картахенский протокол по биобезопасности' and includes a sidebar with a table of contents. The main text area is titled 'Technical Tools and Guidance for the Detection and Identification of LMOs' and includes a 'Background' section with text about genetic engineering and LMOs. A sidebar on the right contains a graphic titled 'Technical Tools and Guidance for the Detection and Identification of LMOs' and a link to the 'Offline format of the Technical Tools and Guidance'.

العربية | 中文 | english | español | français | русский

Создать учетную запись | Войти в систему

Convention on Biological Diversity

Конвенция | Картахенский протокол | Дополнительный протокол | МПБ | Секретариат

Профили стран...

Картахенский протокол по биобезопасности

Картахенский протокол

- Что нового?
- О протоколе
- Текст Картахенского протокола
- Strategic Plan

Nagoya – Kuala Lumpur Supplementary Protocol on Liability and Redress

Ключевые вопросы Протокола

- Оценка и обзор
- Создание потенциала
- Соблюдение
- Механизм финансирования
- Mainstreaming
- Обработка, транспортировка, упаковка и идентификация:
- Результаты работы
- Решения
- Sampling, Detection and Identification
- Technical Tools and Guidance
- Laboratory network
- Relevant documents
- Customs Portal
- Обмен информацией

Домашняя страница | Картахенский протокол | ОТУИ | SD&I | Technical Tools and Guidance

Technical Tools and Guidance for the Detection and Identification of LMOs

Background

By: Joachim Kreysa, Angela Lozan, Lilian Odongo, and Nisreen Al-Hmoud

Since its invention, the genetic engineering of plants has led to an increasing number of Living Modified Organisms (LMOs) (commonly known as Genetically Modified Organisms or GMOs) being developed. Currently, there are more than 300 LMOs in the research and development pipeline with more than 100 having entered the global market and/or been released into the environment.

In 2000, the Conference of the Parties to the Convention on Biological Diversity (CBD) adopted the Cartagena Protocol on Biosafety (CPB) as an international legally binding instrument that sets the minimum requirements for regulating the transboundary movement of LMOs. The Cartagena Protocol came into force in 2003 and, by May 2014, it was ratified or accessioned by 167 countries. Its objective is to contribute to ensuring an adequate level of protection in the field of the safe transfer, handling and use of living modified organisms resulting from modern biotechnology that may have adverse effects on the conservation and sustainable use of biological diversity, taking also into account risks to human health, and specifically focusing on transboundary movements.

In addition to their obligations vis-à-vis the Protocol, Parties require the capacity to monitor, detect and identify LMOs in such a manner that enables them to meet the requirements of trade agreements, as appropriate.

At its **fifth meeting**, the Conference of the Parties serving as the Meeting of the Parties to the Protocol (COP-MOP) acknowledged

Technical Tools and Guidance for the Detection and Identification of LMOs

Offline format of the Technical Tools and Guidance

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

**НАЦИОНАЛЬНЫЙ КООРДИНАЦИОННЫЙ ЦЕНТР
БИОБЕЗОПАСНОСТИ**

ул. Академическая, 27, каб. 208

г. Минск, Республика Беларусь

тел. +375 (17) 284 0297

info@biosafety.by

www.biosafety.by