

ГУО «Институт подготовки научных кадров
Национальной академии наук Беларуси»

Кафедра естественно-научных дисциплин



ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ОРГАНИЗМЫ И ПРОБЛЕМЫ БИОБЕЗОПАСНОСТИ

Учебно-методическое пособие

Минск
2011

ГУО «Институт подготовки научных кадров
Национальной академии наук Беларуси»

Кафедра естественно-научных дисциплин

ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ОРГАНИЗМЫ И ПРОБЛЕМЫ БИОБЕЗОПАСНОСТИ

Учебно-методическое пособие

Электронная версия

Минск
2011

УДК 504.06: 575.856(476)(047.31)

ББК 28.04я73

Г34

Рекомендовано к опубликованию Ученым советом
Института подготовки научных кадров НАН Беларуси
протокол № 14 от 20.12.2010 г.

Рецензенты:

доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой ГУО «Международный государственный
экологический университет имени А.Д.Сахарова» С. Б. Мельнов,

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник
ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» Е. В. Воронкова

Авторы:

С. Е. Дромашко, А. П. Ермишин, Е. Н. Макеева, Е. Г. Попов,
М. О. Холмецкая

Г34 Генетически модифицированные организмы и проблемы биобезопасности
: учеб.-метод. пособие / С. Е. Дромашко [и др.]. – Минск : Ин-т подгот. на-
уч. кадров Нац. акад. наук Беларуси, 2011. – 70 с. : ил.

ISBN 978-985-6820-40-6

В пособии представлены материалы по получению и использованию транс-
генных организмов. Подробно описываются проблемы биобезопасности, свя-
занные с широкомасштабным использованием генетически модифицированных
растений в сельском хозяйстве, приводится информация о национальной и меж-
дународной системе биобезопасности. Закреплению знаний способствуют кон-
трольные вопросы по проверке уровня усвоения материала и задания для само-
подготовки.

Пособие ориентировано на магистрантов, аспирантов, соискателей и сту-
дентов, изучающих проблемы современной биологии.

УДК 504.06: 575.856(476)(047.31)

ББК 28.04я73

ISBN 978-985-6820-40-6

© Коллектив авторов, 2011

© ГУО «Институт подготовки научных кадров
НАН Беларуси», 2011

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	5
1 ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ ОРГАНИЗМОВ.....	6
1.1 Биотехнология и генная инженерия.....	6
1.2 Векторные системы для введения генетической информации в растительные клетки.....	8
1.3 Современные направления в технологии создания генетически модифицированных растений.....	17
Контрольные вопросы.....	24
2 СОЦИАЛЬНЫЕ, ЭКОНОМИЧЕСКИЕ И ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ ПРАКТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТРАНСГЕННЫХ ОРГАНИЗМОВ.....	25
2.1 Социально-экономические аспекты внедрения трансгенных организмов в практику.....	25
2.2 Международная и государственная регламентация биобезопасности	29
Контрольные вопросы.....	42
3 ПРОБЛЕМЫ БИОБЕЗОПАСНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОРГАНИЗМОВ.....	44
3.1 Критерии и методы оценки безопасности генетически модифицированных организмов.....	44
3.2 Требования законодательства к полевым испытаниям трансгенных растительных организмов	48
3.3 Контроль генетически модифицированных ингредиентов в пищевых продуктах и сельскохозяйственном сырье.....	52

Контрольные вопросы.....	56
ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ.....	57
СЛОВАРЬ ОСНОВНЫХ ТЕРМИНОВ.....	58
ЛИТЕРАТУРА.....	70

ВВЕДЕНИЕ

Курс «Современные проблемы биологии» призван обеспечить специальную подготовку в области биологии студентов магистратуры как второй степени высшего профессионального образования.

Основные его задачи: расширить профессиональный кругозор будущих специалистов высшей квалификации в предметной области биологических наук; ознакомить их с наиболее актуальными направлениями современных биологических исследований и их прикладными аспектами; углубить специальные знания по наиболее актуальным вопросам современной биологии.

В настоящем учебно-методическом пособии представлены материалы по получению и использованию трансгенных организмов. Подробно описываются проблемы биобезопасности, связанные с широкомасштабным использованием генетически модифицированных растений в сельском хозяйстве, приводится информация о национальной и международной системе биобезопасности, что позволяет в целом углубить специальные знания магистрантов при изучении разделов «Генетика, физиология и медицинская биология», «Прикладные аспекты биологии и биотехнология» и «Экология и рациональное природопользование».

В пособии использованы результаты работ к.б.н. Б. Ю. Аношенко, Е. В. Воронковой, В. Е. Подлиских – сотрудников Национального координационного центра биобезопасности при ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», а также материалы докладов профессора Я. И. Бурьянова (Филиал Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино) и профессора В. Д. Цедендамбаева (Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, Москва), представленных на III Всероссийском симпозиуме «Физиология трансгенного растения и фундаментальные основы биобезопасности» (Москва, 18–21 октября 2010 г.). Всем им авторы выражают свою глубокую признательность.

Часть иллюстраций заимствована из статей и с сайтов, указанных в списках основной и дополнительной литературы и интернет-ресурсов.

1 ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ ОРГАНИЗМОВ

1.1 Биотехнология и генная инженерия

В узком смысле биотехнология есть совокупность методов и приемов разработки и введения в сферу потребления полезных для человека продуктов, включая методы геной, клеточной и экологической инженерии. Поскольку биотехнологические методы используются в различных отраслях промышленности и затрагивают многие сферы жизни человека, в мире принята следующая "цветовая" классификация биотехнологии в зависимости от областей ее применения: "красная" – обеспечение поддержки здоровья и прогрессивного развития методов лечения человека (вплоть до коррекции его генома), а также производство биофармпрепаратов (протеинов, ферментов, антител); "зеленая" – разработка и создание генетически модифицированных (ГМ) растений, устойчивых к биотическим и абиотическим стрессам; оптимизация методов ведения сельского и лесного хозяйства; "белая" – промышленная, объединяющая производство в пищевой, химической (в том числе биотопливо) и нефтеперерабатывающей индустрии; "серая" – природоохранная деятельность, биоремедиация; "синяя" – использование морских организмов и сырьевых ресурсов.

Основой «зеленой» биотехнологии является *генная*, или *генетическая инженерия*, – совокупность приемов, методов и технологий получения *рекомбинантных РНК и ДНК*, выделения генов из организма (клеток) или биохимического синтеза генов на основе знания об их строении, осуществления манипуляций с генами и введения их в другие организмы, – имеющая своим результатом создание *генетически модифицированных организмов (ГМО)*. Рекомбинантная ДНК – это искусственно созданная человеком последовательность ДНК, части которой синтезируются химическим путем с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) или клонируются из ДНК различных организмов. Эти рекомбинантные ДНК встраивают в состав бактериальных плазмид или вирусных векторов, которыми затем трансформируют клетки живых организмов (микроорганизмов, растений, животных). Генетически модифицированные животные и растения обычно содержат рекомбинантные гены, встроенные непосредственно в их хромосомы.

В технологии рекомбинантных ДНК используются следующие методы:

- специфическое расщепление ДНК рестрицирующими *нуклеазами*, ускоряющее выделение и манипуляции с отдельными генами;
- изучение нуклеотидной последовательности (секвенирование) в очищенном фрагменте ДНК, что позволяет определить границы гена, его струк-

турные элементы и аминокислотную последовательность, кодируемую этим геном;

- конструирование рекомбинантной ДНК;
- гибридизация нуклеиновых кислот, позволяющая выявлять специфические последовательности РНК или ДНК с большой точностью и чувствительностью, основанная на их способности связывать комплементарные последовательности нуклеиновых кислот;
- клонирование ДНК: амплификация *in vitro* с помощью *полимеразной цепной реакции (ПЦР)* или введение фрагмента ДНК в бактериальную клетку, которая после такой трансформации воспроизводит этот фрагмент в миллионах копий;
- введение рекомбинантной ДНК в клетки или организмы (*трансформация*).

Методом генной инженерии уже получен ряд препаратов медицинского назначения, в том числе инсулин человека и противовирусный препарат интерферон путем создания рекомбинантных плазмид, несущих соответствующие целевые гены. Поскольку плазмидная ДНК представляет собой замкнутую кольцевую молекулу, кольцо сначала разрывают, чтобы его свободные концы были в химическом отношении реакционноспособными. Это достигается с помощью различных ферментов, называемых *нуклеазами (рестриктазами)*. Затем фрагменты ДНК соединяют с помощью *лигаз* – ферментов, исправляющих повреждение в ДНК и сшивающих концы ее разорванных нитей. Именно таким путем на заре генной инженерии плазмиды из штамма *Escherichia coli*, устойчивого к тетрациклину, и плазмиды из штамма, устойчивого к другому антибиотику, канамицину, были соединены и был получен штамм *E. coli*, устойчивый к обоим антибиотикам. Перенос плазмид с нужными генами в микроорганизмы превращает их в биореакторы по производству искомым веществ.

Начиная с 1982 г. фирмы США, Японии, Великобритании и ряда других стран производят генно-инженерный инсулин для лечения диабета. Из тысячи литров бактериальной культуры получают приблизительно 200 г инсулина, что равно количеству, получаемому из 1600 кг поджелудочной железы животных. Интерферон – белок, синтезируемый организмом в ответ на вирусную инфекцию, – изучают сейчас как возможное средство лечения рака и СПИДа. Всего один литр бактериальной культуры дает такое количество интерферона, для получения которого потребовалось бы ~10 тыс. литров крови человека. Методами генной инженерии удалось создать и ряд вакцин, которые испытываются для проверки эффективности их воздействия на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). С помощью рекомбинантной ДНК получают и человеческий гормон роста, являющийся единственным средством ле-

чения редкой детской болезни – гипофизарной карликовости. В Беларуси в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии создан лиофилизированный препарат рекомбинантного нуклеокапсидного белка вируса гепатита С, который обладает антигенными и иммуногенными свойствами и будет использован в качестве антигена в диагностической иммуноферментной тест-системе отечественного производства для выявления антител к вирусу гепатита С.

Большим преимуществом данных генно-инженерных лекарственных препаратов является отсутствие при их использовании негативных побочных эффектов, характерных для препаратов, полученных из тканей животных или человека.

Технология рекомбинантных ДНК сделала возможным нетрадиционный подход *белок–ген*, получивший название *обратной генетики*. При таком подходе из клетки выделяют белок, синтезируют и клонируют ген этого белка, модифицируют его, создавая мутантный ген, кодирующий измененную форму белка. Полученный ген вводят в клетку. Если он экспрессируется, несущая его клетка и ее потомки будут синтезировать измененный белок. Таким образом можно исправлять дефектные гены и лечить наследственные заболевания.

Если гибридную ДНК ввести в оплодотворенную яйцеклетку животных, могут быть получены трансгенные организмы, экспрессирующие модифицированный ген и передающие его потомкам. С помощью генетической инженерии созданы линии животных, устойчивых к вирусным заболеваниям, а также породы с полезными для человека признаками. Например, микроинъекция рекомбинантной ДНК, содержащей ген соматотропина быка, в зиготу кролика позволила получить трансгенное животное с гиперпродукцией этого гормона. Полученные животные обладали ярко выраженной акромегалией. Кроме чисто практической полезности генетической трансформации животных, она позволяет решать и некоторые задачи фундаментальной науки. Например, она может оказать большую помощь в установлении роли отдельных генов и их белковых продуктов как в регуляции активности других генов, так и в различных патологических процессах.

1.2 Векторные системы для введения генетической информации в растительные клетки

Ввести чужеродную, так называемую *целевую*, ДНК в растения можно различными способами. Для двудольных растений существует естественный вектор для горизонтального переноса генов: плазмиды агробактерий. Что касается однодольных, то, хотя в последние годы достигнуты определенные успехи в их трансформации агробактериальными векторами, однако подобный путь трансформации встречает существенные затруднения.

Векторы на основе Ti-плазмиды *Agrobacterium tumefaciens*. Почвенная бактерия *A. tumefaciens* вызывает образование опухолей стебля двудольных растений – так называемых корончатых галлов. Бактерии прикрепляются к клеткам растения в местах повреждений. Сайтами связывания на поверхности бактерий, видимо, являются молекулы β-глюкана и О-антигенной цепи липополисахарида внешней мембраны.

Кроме *A. tumefaciens*, к агробактериальной трансформации способны и некоторые другие бактерии этого же рода: *A. rhizogenes* – вызывает заболевание, именуемое "бородатый корень", при котором в зоне повреждения корня образуется масса новых корешков; *A. rubi* обычно индуцируют неорганизованные опухоли (тератомы), тогда как штаммы *A. radiobacter* авирулентны.

Способность *A. tumefaciens* индуцировать у растений образование опухолей типа "корончатого галла" коррелирует с наличием у них Ti-плазмиды. Опухолевая трансформация проявляется в гипертрофии, возникающей после проникновения агробактерий в пораненные участки (сайты) растений. Трансформация является результатом стабильного ковалентного включения (инсерции или интеграции) сегмента («transferred» или Т-ДНК) большой плазмиды (pTi – *tumor inducing* или pRi – *root inducing*) бактерий в ядерную ДНК растительной клетки.

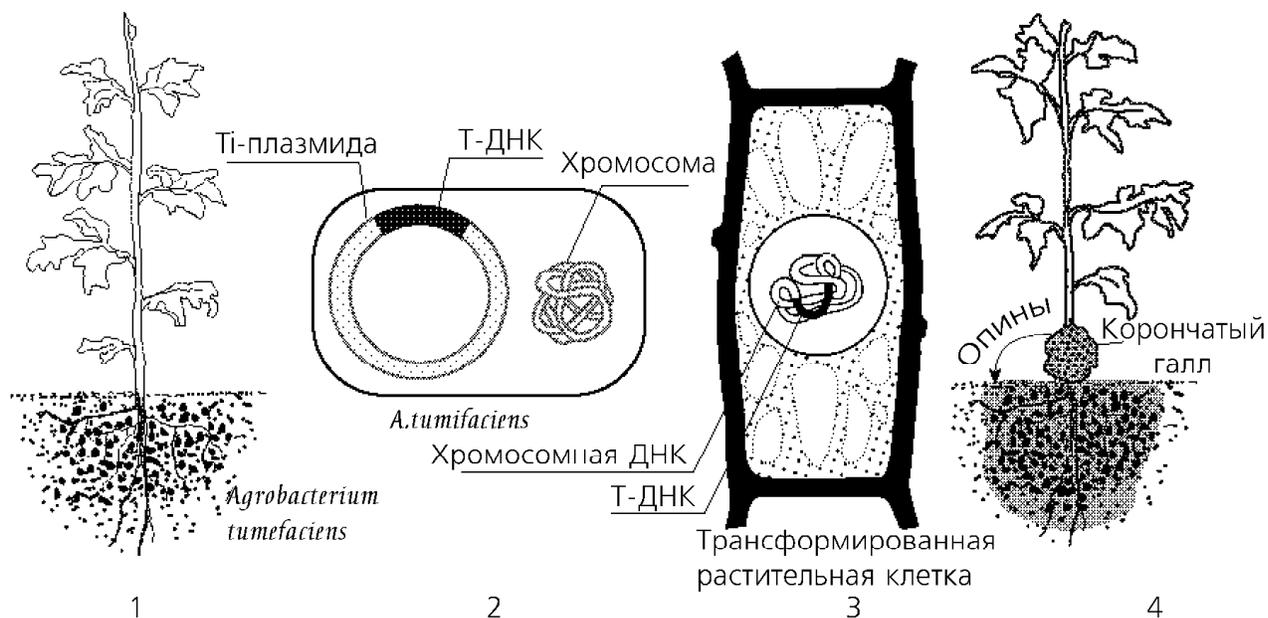


Рисунок 1 – Генетическая колонизация растения *A. tumefaciens*

Примечание: 1 – агробактерии существуют в ризосфере; 2 – строение *A. tumefaciens*; 3 – встраивание Т-ДНК в геном; 4 – образование опухоли

Ткани корончатых галлов содержат наиболее высокие уровни ауксина и цитокининов. Кроме того, выявлено еще одно наследуемое изменение в клетках корончатых галлов – это синтез опинов. Необычное для растений соединение, производное аргинина, обнаруженное лишь в определенных опухолевых линиях, было названо октопином. Затем было показано, что другими опухолевыми линиями синтезируется еще одно соединение – нопалин, также производное аргинина. В зависимости от типа индуцируемого в опухоли опи-на штаммы *A. tumefaciens* и находящиеся в них Ti-плазмиды получили соответствующее обозначение — октопиновые или нопалиновые (рисунок 2).

Подробная информация о структуре плазмид *Agrobacterium* получена путем их рестрикционного или физического картирования. В результате исследований обнаружены четыре основные области гомологии между октопиновой и нопалиновой плазмидами. Две консервативные (области А и D) вовлечены в онкогенность, еще одна (В) соответствует области контроля репликации плазмиды, в то время как последняя (С) кодирует функции конъюгативного переноса.

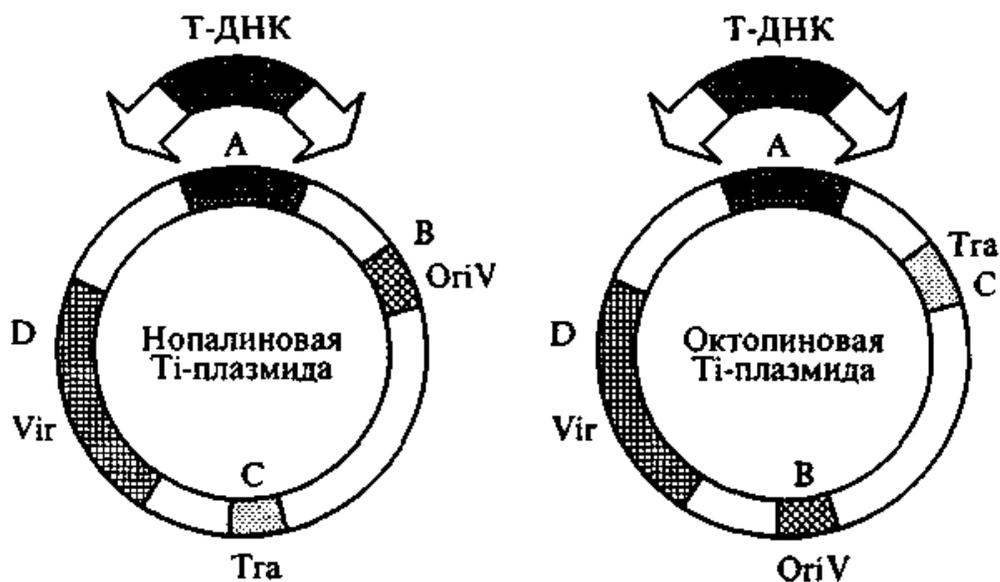


Рисунок 2 – Структура Ti-плазмид нопалинового и октопинового типа

Примечание: показаны область собственно T-ДНК и участки, кодирующие функцию конъюгации (Tra), репликации (Ori V) и вирулентности (Vir)

Последовательности Ti-плазмиды, фланкирующие T-ДНК (пограничные или концевые области), играют важную роль в интеграции в растительный геном и содержат несовершенные прямые повторы по 24–25 п. н. Делеция левой границы T-ДНК не влияет на опухолеобразование, но удаление

правой пограничной области приводит практически к полной утрате вирулентности. Показано, что делеция правого повтора или его части приводит к потере способности T-ДНК включаться в растительную ДНК.

Учитывая важную роль концов T-области в переносе T-ДНК, можно предположить, что любой сегмент ДНК, встроенный между этими концами, может быть перенесен в растения как часть T-ДНК. Плазмиды модифицируют таким образом, чтобы удалить все онкогенные последовательности, так как они не принимают участие ни в переносе, ни в интеграции в геном клетки-хозяина. На место этих генов можно встроить чужеродную ДНК, при этом плазида теряет свои онкогенные свойства. Неонкогенные T-ДНК, присутствующие в растениях-регенерантах, при их гибридизации с интактными растениями наследуются согласно законам Менделя.

Род *Agrobacterium* имеет очень широкий круг растений-хозяев и может инфицировать практически все двудольные растения. Долгое время считалось, что однодольные растения не чувствительны к агробактериальной инфекции. В настоящее время показано, что при соблюдении определенных условий агробактерии могут инфицировать однодольные растения, в частности представителей таких семейств, как амариллисовые (*Amaryllidaceae*), лилейные (*Liliaceae*), зерновые (*Gramineae*), ирисовые (*Iridaceae*) и некоторые другие. Однако отмечены определенные вариации круга хозяев для различных штаммов *Agrobacterium*: некоторые штаммы способны вызывать галлообразование на отдельных видах растений, но не инфицируют другие. Различные сорта одного и того же растения также могут иметь различную чувствительность к данному бактериальному штамму.

Невозможность заражения в природе обуславливается отсутствием соответствующих рецепторов, необходимых для взаимодействия с бактериями. Другим фактором, препятствующим инфицированию однодольных агробактериями, возможно, является отсутствие в клетках растений низкомолекулярных индукторов вирулентности *Agrobacterium*, например ацетосирингона, которые обычно присутствуют в клеточном соке при ранении двудольных растений.

Коинтегративные и бинарные векторы. Разработаны два метода для введения Ti-плазмидных последовательностей, содержащих нужный ген, в растение.

Первый метод – метод «промежуточных векторов» (*cis*-, или *коинтегративных векторов*) – основан на использовании гомологичной рекомбинации между плазмидой кишечной палочки pBR 322 и Ti-плазмидой агробактерии (рисунок 3).

T-ДНК вырезают из Ti-плазмиды с помощью рестриктаз и встраивают в плазмиду pBR 322 для клонирования в *E. coli*. Бактерии, содержащие плазми-

ду с Т-ДНК, размножают, после чего эту плазмиду выделяют. Затем в клонированную Т-ДНК с использованием рестриктаз встраивают нужный ген. Эту рекомбинантную молекулу, содержащую Т-ДНК со встроенным в нее геном, снова размножают, т.е. клонируют в кишечной палочке; затем с помощью конъюгации вводят в клетки агробактерии, несущие полную Тi-плазмиду.

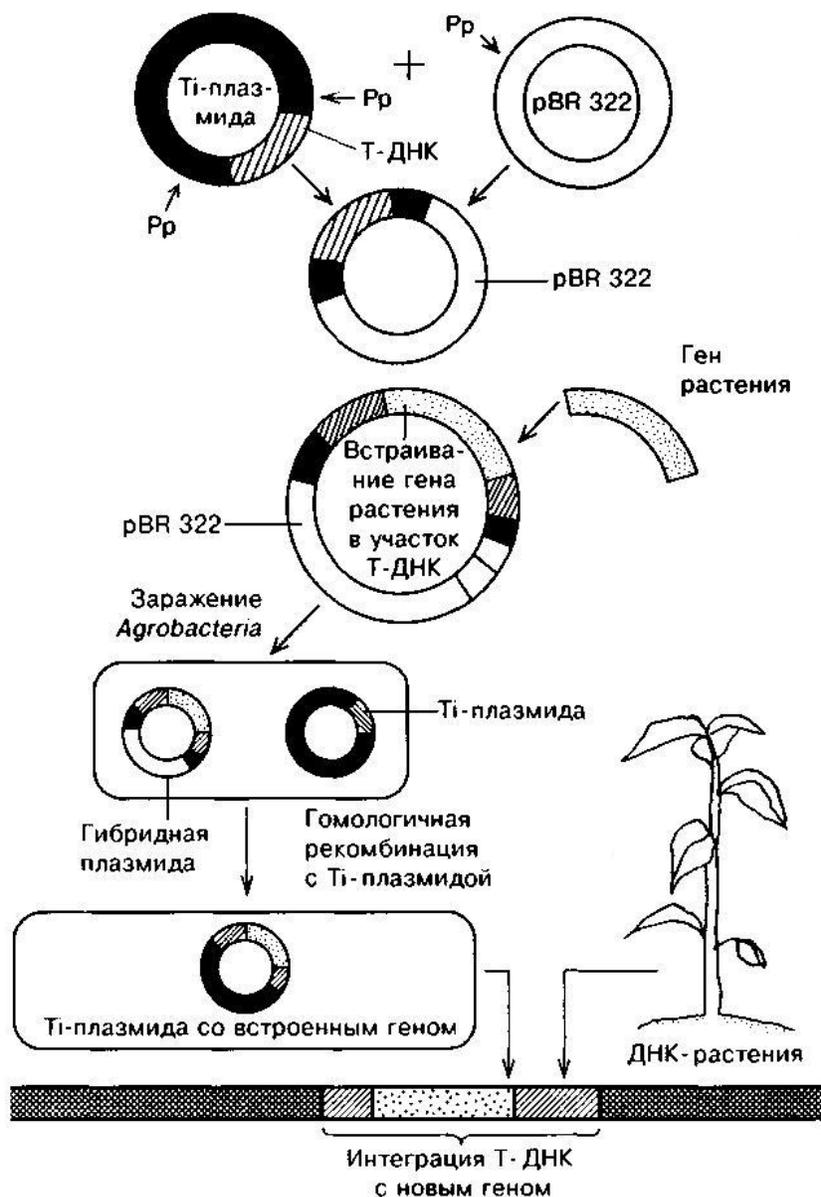


Рисунок 3 – Создание коинтегративного вектора на основе Ti-плазмиды

Примечание: Pp – расщепление рестриктазой

Между Т-сегментами нативной Ti-плазмиды и промежуточного вектора происходит гомологичная рекомбинация. В результате этого Т-ДНК со встроенным геном включается в нативную Ti-плазмиду, замещая исходную ДНК. Получаются клетки *A. tumefaciens*, несущие Ti-плазмиды со встроенными в Т-сегмент нужными генами. Далее их перенос в клетки растения осуществляется обычным способом, характерным для агробактерий.

Второй метод основан на создании системы *trans*-, или *бинарных (двойных), векторов*.

Эти векторы не имеют гомологии с Т-ДНК. Они обязательно содержат сайт начала репликации (*ori*) от плазмиды с широким кругом хозяев либо *ori*-сайты как *Agrobacterium*, так и *E.coli*, благодаря чему способны автономно реплицироваться в обоих этих микроорганизмах.

При создании современных трансгенных сортов растений в основном используют бинарные векторные системы. Вектор представляет собой плазмиду, которая содержит сайт начала репликации (*ori*), а также по 25 п.н. левого и правого краев Т-ДНК, между которыми расположены нужные исследователю гены с соответствующими регуляторными элементами. Конструируют их исключительно методами технологии рекомбинантных ДНК. Методы традиционной селекции микроорганизмов, основанные на гомологичной рекомбинации, практически не используются. Такие плазмиды можно клонировать в *E. coli*, где они способны автономно реплицироваться.

На рисунке 4 представлен пример плазмидного бинарного вектора. Вектор pMON10117 использован при создании томатов с удлиненным сроком созревания благодаря пониженному уровню синтеза этилена – фитогормона, регулирующего процесс созревания плодов (встраивание гена, кодирующего фермент АСС-деаминазу; этот фермент играет важную роль в биосинтезе этилена). По внешнему периметру плазмиды отмечены сайты рестрикции соответствующих рестриктаз, а также номера последовательностей нуклеотидов, начиная с правого края (Right border). По внутреннему периметру отмечена последовательность генетических элементов, содержащихся на плазмиде. В ДНК трансгенных растений включена часть плазмиды (Т-ДНК), ограниченная левым и правым краями (Left and Right borders). *Ori*-322 и *ori*-V-сайты начала репликации плазмиды соответственно в *E. coli* и *A. tumefaciens*.

После клонирования, изучения и отбора нужных конструкций генов отселектированные бинарные векторы переносят в специальные штаммы, созданные на основе высоковирулентных штаммов *Agrobacterium* (как правило, *A. tumefaciens*). Характерная особенность этих штаммов проявляется в том, что они имеют так называемую разоруженную *vir*-плазмиду. Послед-

няя представляет собой Тi-плазмиду, которая содержит интактную *vir*-область, но полностью утрачивает Т-область.

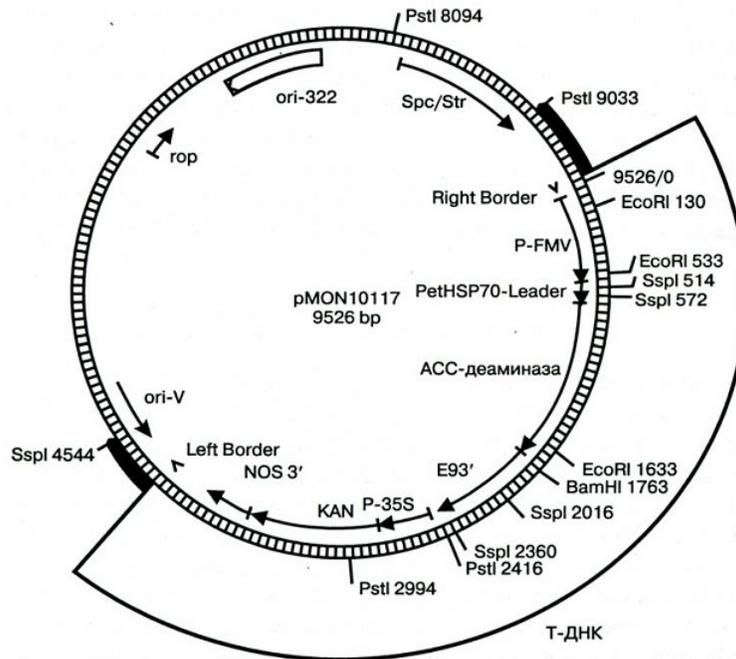


Рисунок 4 – Пример плазмидного бинарного вектора

Привнесенный в *Agrobacterium* бинарный вектор способен в ней автономно реплицироваться благодаря наличию *ori*-сайта от плазмиды с широким кругом хозяев. Вследствие же наличия разоруженной *vir*-плазмиды он может успешно переноситься и встраиваться в геном клеток растений.

При разработке бинарных векторных систем использована такая важная особенность механизма агробактериальной трансформации, согласно которой *vir*-область Тi-плазмиды обеспечивает перенос Т-области из бактерий в растения, но сама при этом в растения не попадает. Кроме того, в процессе переноса Т-области существенным является присутствие очень небольшой части Т-ДНК: по 25 п.н. ее левого и правого краев. Остальная часть Т-ДНК, в том числе все онкогены и гены, кодирующие образование опинов, для процесса переноса Т-ДНК несущественны. Они выполняют в нем пассивную роль и могут быть заменены любыми другими генами.

Для введения сконструированных Тi-плазмид в растительную клетку может быть использовано несколько методов. Наиболее простой из них – природный способ, т.е. инокуляция сконструированных штаммов в поврежденные (пораненные) области растения.

Другой метод состоит в трансформации протопластов путем их совместного культивирования (*кокультивирования*) с агробактериями. Методика кокультивации может рассматриваться как индукция опухолей в искусственных условиях: вирулентные агробактерии временно совместно культивируются с протопластами.

Методы физического переноса ДНК. Агробактериальная трансформация – наиболее эффективная технология введения трансгенов в клетки растений, применяемая сегодня. Однако она имеет ограничения, связанные с кругом хозяев агробактерий. Специально отобранные штаммы *Agrobacterium* с широким кругом хозяев могут инфицировать приблизительно половину двудольных видов растений, а также некоторые из голосеменных. Многие двудольные и голосеменные и практически все однодольные растения устойчивы к агробактериальной инфекции и никогда не образуют опухолей. Тем не менее совершенствование этого метода продолжается. В результате разработаны протоколы для агробактериальной трансформации риса. Выделены вступающие в симбиоз с растениями микроорганизмы, отличные от агробактерий (*Rhizobium*, *Sinirhizobium*, *Mesorhizobium*), которые после соответствующей генетической модификации способны к горизонтальному переносу генов.

Для трансформации устойчивых (*рекальцитрантных*) к агробактериям растений разработаны методы прямого физического переноса ДНК в клетку, многие из которых перенесены из практики работы с клетками бактерий или животных. Эти методы достаточно разнообразны: они включают бомбардировку микрочастицами или *баллистический метод* (иначе – *баллистическая трансфекция*; *биолистика*); электропорацию; обработку полиэтиленгликолем; перенос ДНК в составе липосом и др.

Баллистический и агролистический методы переноса ДНК. Наиболее продуктивным и чаще всего используемым является метод бомбардировки микрочастицами, обработанными препаратом ДНК, предназначенной для переноса в растение. При достаточной скорости эти частицы могут непосредственно проникать в ядро, что значительно повышает эффективность трансформации. Этим же методом можно трансформировать и другие ДНК-содержащие клеточные органеллы – хлоропласты и митохондрии.

Баллистическая трансфекция основана на обстреле органов и тканей микрочастицами тяжелых металлов (золото, вольфрам), покрытых плазмидной ДНК. Микрочастицы проходят через клеточные слои и переносят генетическую конструкцию непосредственно в ядра клеток. «Генная пушка» (*gene gun*) по устройству сходна со стрелковым оружием. Глубина проникновения микрочастиц, как правило, невелика – до 1 мм. На рисунках 5 и 6 представле-

ны принципиальная схема баллистического метода и конкретный пример использования современной «генной пушки».

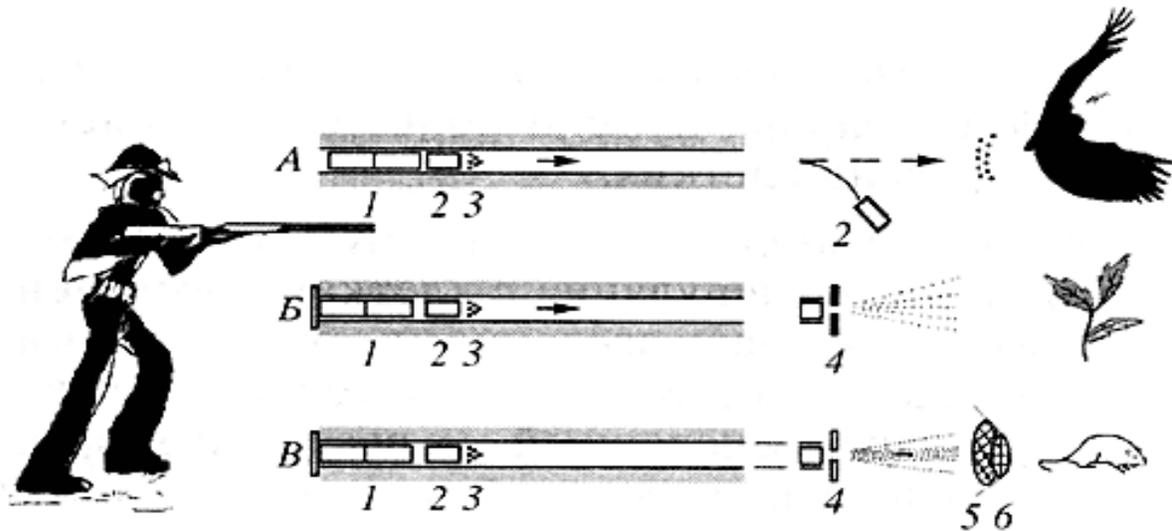


Рисунок 5 – Принцип конструкции ускорителя микрочастиц (генной пушки)

Примечание: А – дробовое ружье: 1 – пороховой заряд, 2 – войлочный пыж, 3 – дробь;

Б – пороховой ускоритель Клейна и Стэнфорда: 1 – пороховой заряд, 2 – макроноситель (аналог пыжа), 3 – микрочастицы вольфрама, несущие вводимую ДНК, 4 – стопорная диафрагма для остановки микрочастиц;

В – ускоритель Колесникова: 1 – заряд гремучей ртути, 2 – макроноситель, 3 – смесь микрочастиц золота и вольфрама, покрытых вводимой ДНК, 4 – стопорная диафрагма для остановки микрочастиц, 5, 6 – сетчатые диафрагмы для удаления частей разрушенного макроносителя и дезинтеграции конгломерата микрочастиц

В последнее время разработан и успешно применяется также комбинированный метод трансформации, названный *агролистическим*. При этом чужеродная ДНК вводится в ткани каким-либо физическим методом, например, баллистическим. Вводимая ДНК включает как Т-ДНК вектор с целевым и маркерным геном, так и агробактериальные гены вирулентности, поставленные под эукариотический промотор. Временная экспрессия генов вирулентности в растительной клетке приводит к синтезу белков, которые правильно вырезают Т-ДНК из плазмиды и встраивают ее в геном растения-хозяина, как и при обычной агробактериальной трансформации.

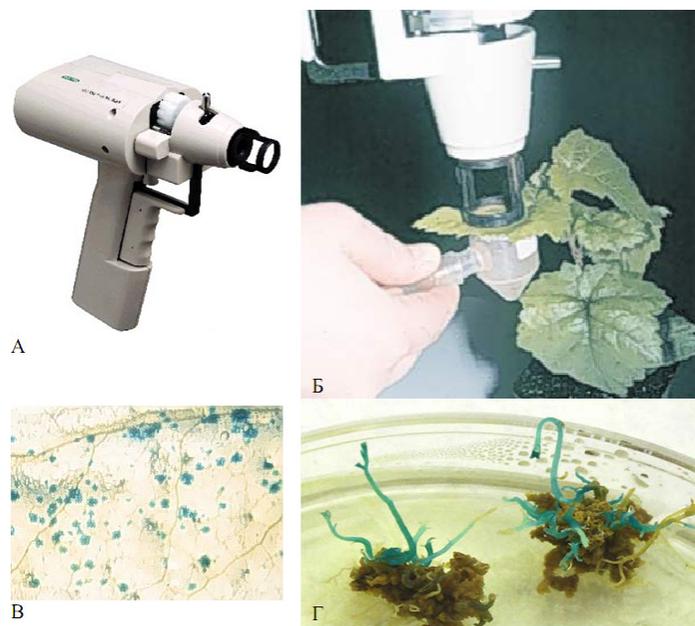


Рисунок 6 – Метод введения ДНК в клетки растений с помощью биолистики

Примечание: А – внешний вид современной «генной пушки» Helios™ Gene Gun фирмы BioRad;

Б – «обстрел» листьев из «генной пушки»;

В – результаты «обстрела»: пятна на листьях – экспрессия репортерного гена *gus* в трансформированных клетках;

Г – регенерация растений из каллюса, полученного из обработанных листьев

После проведения тем или иным способом трансформации растительной ткани, ее помещают *in vitro* на специальную среду с фитогормонами, способствующую размножению клеток. Среда обычно содержит селективный агент, в отношении которого трансгенные, но не контрольные, клетки приобретают устойчивость. Регенерация чаще всего проходит через стадию каллуса, после чего при правильном подборе сред начинается органогенез (побегообразование). Сформированные побеги переносят на среду укоренения, часто также содержащую селективный агент для более строгого отбора трансгенных особей.

1.3 Современные направления в технологии создания генетически модифицированных растений

Первые трансгенные растения были получены с помощью технологии рекомбинантной ДНК в 1982 г. учеными из Института растениеводства в

Кельне (ФРГ) и компании Monsanto (США), а история их промышленного использования насчитывает около 15 лет.

Генетическая конструкция, вводимая в растительную клетку обычно включает: белок-кодирующую структурную последовательность (*целевой ген или белок*), регуляторную часть, состоящую из сигнальных элементов трансляции и транскрипции, а также гены селективных маркеров (*селективные гены*), как это изображено на рисунке 7.



Рисунок 7– Типичная трансгенная вставка

Наиболее важными из регуляторных последовательностей являются проксимальный участок промотора, связывающий РНК-полимеразу; участок, кодирующий 5'-конец мРНК, необходимый для связывания с рибосомой и инициации трансляции, и эукариотический сигнал полиаденилирования на 3'-конце мРНК. Среди эукариотических организмов эти конститутивные сигнальные элементы оказались высококонсервативными и достаточно универсальными, так что растительные клетки в основном правильно экспрессируют чужеродные гены не только растений других видов, но и млекопитающих, дрожжей и других эукариот.

Однако для генов бактериального происхождения необходима замена их конститутивных сигнальных элементов на соответствующие эукариотические. Для лучшей экспрессии гена на уровне трансляции мРНК желательно также приблизить набор кодонов целевого гена к типичному для растения. Обычно для этого посредством направленных точечных мутаций заменяют "редкие" кодоны на синонимичные "частые", что не сказывается на первичной структуре белка. В результате экспрессия гена может быть усилена до 300 раз.

Минимальный промотор, связывающий РНК-полимеразу, как правило, недостаточен для обеспечения заметного, а тем более тканеспецифичного уровня транскрипции. Для усиления экспрессии встроенного гена и придания ей заданных характеристик используют полноразмерные промоторы, включающие энхансеры (усилители) и (или) фактор-зависимые цис-элементы (ДНК растения-хозяина). Это значит, что подготовленный для трансформации ген, как правило, является *химерным*, т.е. включает фрагменты ДНК одного вида, соединенные с фрагментами ДНК другого вида.

Набор известных к настоящему времени промоторов достаточно разнообразен и постоянно пополняется. Конститутивные промоторы применяются для наработки существенных количеств продукта гена во всем растении. Для двудольных растений такими эффективными промоторами являются, например, 35S-промотор вируса мозаичности цветной капусты (CaMV) и постерминатор гена нопалин-синтазы агробактерий; для однодольных – промоторы гена алкогольдегидрогеназы кукурузы (Adh) и гена актина 1 риса (Act).

Помимо конститутивных, известно большое количество специфических промоторов, которые активны лишь в отдельных органах, тканях или клетках (например, корнях, меристемах), либо на отдельных стадиях онтогенеза растения. Примером может служить промотор гена пататина картофеля, работающий практически только в клубнях. Интенсивно изучаются и используются индуцибельные промоторы, которые активируются лишь при определенных условиях: температуры, освещения, концентрации фитогормонов и т.д.

Многие из таких промоторов достаточно универсальны, например, некоторые промоторы генов теплового шока. В частности, промотор гена *hsp70* из дрозофилы равно эффективен в клетках растений. Особый интерес представляют промоторы, индуцируемые низкомолекулярными химическими эффекторами, часто не свойственными растениям. В зависимости от типа промотора, индукторами могут служить тетрациклин, дексаметазон, бензотиадиазол, этанол, ионы меди и другие соединения. Эти промоторы очень важны для фундаментальных исследований с помощью трансгенных растений физиологии и биохимии растительной клетки, позволяя четко дифференцировать первичные и вторичные эффекты изучаемого гена и тем самым прояснять его истинную биологическую функцию. Они перспективны и для биотехнологии, так как позволяют вызвать экспрессию гена в заданный период, когда она уже либо не препятствует нормальному росту и развитию растения, либо не вызывает иных отрицательных последствий.

Представление о способах создания генетически модифицированных растений дает рисунок 8, на котором приведена принципиальная схема получения трансгенного табака, устойчивого к вирусам. В качестве основных элементов генетической конструкции здесь использованы гены неспецифической нуклеазы из генома бактерии *Serratia marcescens* и панкреатической рибонуклеазы быка, которые обладают противовирусной активностью.

На первом этапе осуществляется выделение трансгена из геномной ДНК (или кДНК) организма-донора. Здесь приведены два основных варианта генетических конструкций: содержащих белок-кодирующие трансгены (конструкция 1) или участки генов, расположенные в антисмысловой ориентации (конструкции 2 и 3). Используются следующие обозначения: RB, LB – повторы, маркирующие участок ДНК в векторе, который переносится в геном

растений ферментами агробактерии; NPTII – ген, экспрессия которого позволяет растениям-трансформантам развиваться на питательной среде в присутствии антибиотика канамицина; РНКаза – ген панкреатической рибонуклеазы быка; ПДГ – участки гена пролиндегидрогеназы арабидопсиса, размещенные в антисмысловой ориентации; рMAS, р35S – промоторы, управляющие экспрессией трансгенов. В конструкции использован промотор гена маннопинсинтазы (рMAS), обеспечивающий средний уровень экспрессии трансгена в листьях и корнях растения и высокий – в клетках, окружающих поврежденные ткани.

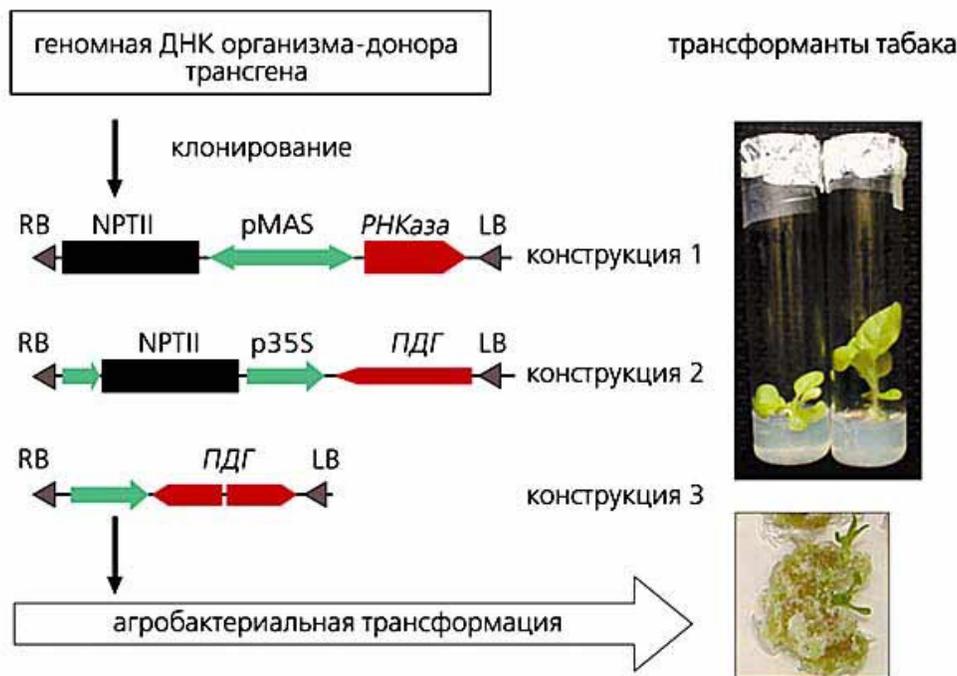


Рисунок 8 – Схема получения генетически модифицированных вирусоустойчивых растений табака

До последнего времени большинство выращиваемых в сельском хозяйстве трансгенных сортов растений содержали либо ген устойчивости к гербицидам (73%), либо ген устойчивости к вредителям (18%) и лишь немногие (9%) – другие гены. Сегодня создаются генетически модифицированные растения, которые будут устойчивы не только к *биотическим факторам* (фитопатогенным вирусам, бактериям, грибам, нематодам и насекомым), но и к *факторам абиотическим* (засухе, заморозкам, засолению). Эти генетически модифицированные растения будут также обладать пониженной аллергенностью и повышенной пищевой ценностью и усвояемостью. Так, уже созданы салат с увеличенным содержанием железа; обогащенная лизином кукуруза; рис, содержащий большее количество триптофана, а также “золотой рис”, на-

званный так из-за ярко-желтой окраски эндосперма, в составе которого много β -каротина.

В таблице 1 показаны объемы посевных площадей, занятых трансгенными культурами (по данным *International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA)* за 2009 г.).

Таблица 1 – Посевные площади под трансгенными растениями в 2009 г.

Страна	Площадь, млн га	Генетически модифицированные растения
США	64,0	соя, кукуруза, хлопчатник, рапс масличный (канола), папайя, тыква, люцерна, сахарная свекла
Бразилия	21,4	соя, кукуруза, хлопчатник
Аргентина	21,3	соя, кукуруза, хлопчатник
Индия	8,4	хлопчатник
Канада	8,2	рапс масличный (канола), кукуруза, соя, сахарная свекла
Китай	3,7	хлопчатник, томат, тополь, папайя, сладкий перец
Парагвай	2,2	соя
Южная Африка	2,1	кукуруза, соя, хлопчатник
Уругвай	0,8	соя, кукуруза
Боливия	0,8	соя
Филиппины	0,5	кукуруза
Австралия	0,2	хлопчатник, рапс масличный (канола)
Буркина Фасо	0,1	хлопчатник
Испания	0,1	кукуруза
Мексика	0,1	хлопчатник, соя
Чили	<0,05	кукуруза, соя, рапс масличный (канола)
Колумбия	<0,05	хлопчатник
Коста Рика	<0,05	хлопчатник, соя
Гондурас, Египет, Польша, Португалия, Румыния, Словакия, Чехия	<0,05 в каждой стране	кукуруза

Ведутся также исследования по созданию растений-биореакторов, синтезирующих неспецифичные для растений продукты метаболизма, которые можно будет использовать для производства различных промышленных продуктов и лекарственных веществ. В будущем растения могут стать даже источниками новых видов топлива и заменить нефть, запасы которой неуклонно истощаются. Такие исследования проводятся и в лаборатории молекулярной генетики Института генетики и цитологии НАН Беларуси.

Хотя с момента появления первых генетически модифицированных растений прошло лишь более 25 лет, площади под ними перешагнули рубеж 130 млн га.

Аргументы сторонников расширения практического применения технологии создания трансгенных растений сводятся к следующему. В ближайшие несколько десятилетий продукцию растениеводства необходимо увеличить в 2–3 раза. Решение этой проблемы классическими селекционно-генетическими и агротехническими методами невозможно, по их мнению, так как генетический потенциал растений исчерпан для классической селекции. Кроме того, существует настоятельная необходимость быстрого введения в практику новых сортов высокопродуктивных устойчивых растений. Именно генетическая инженерия растений способна решить все эти задачи, причем путем, принципиально сходным с классическим селекционно-генетическим процессом.

Перечислим возможности генной инженерии растений:

- улучшение качества запасных белков, в частности их аминокислотного состава;
- производство белков животного происхождения;
- повышение содержания жиров, изменение их спектра;
- увеличение содержания полисахаридов;
- создание гербицидоустойчивых растений;
- повышение устойчивости растений к стрессовым условиям;
- повышение эффективности биологической азотфиксации;
- повышение эффективности фотосинтеза;
- получение растений с новыми свойствами.

Однако внесение в растения чужеродной ДНК из микроорганизмов или животных продолжает вызывать возражения у противников генетической инженерии. Так, например, все больше раздается голосов об опасности присутствия в геноме ГМО так называемого «технологического мусора», в частности остатков векторов, с помощью которых был осуществлен перенос трансгена, а также маркерных генов, в качестве которых обычно выступают гены устойчивости к антибиотикам.

Поэтому сегодня значительное внимание при конструировании трансгенных растений уделяется разработке новых технологий, позволяющих увеличить их биобезопасность. На рисунке 9 представлена схема отбора трансформантов, при которой отпадает нужда в наличии гена антибиотикоустойчивости и отбора трансформантов на селективных средах. В традиционном варианте растения-регенеранты высаживаются на селективную среду с антибиотиком. Вырасти могут только трансформанты, содержащие маркерный ген устойчивости к этому антибиотику. Некоторые из них могут содержать и целевой ген, что определяется наличием его экспрессии. Далее определяется степень экспрессии целевого гена и проводится детекция целевого продукта. В альтернативном варианте растения выращивают на неселективной среде, а отбор ведется только на основе детекции наличия целевого продукта. Присутствие продукта означает, что целевой ген экспрессируется и включился в геном.

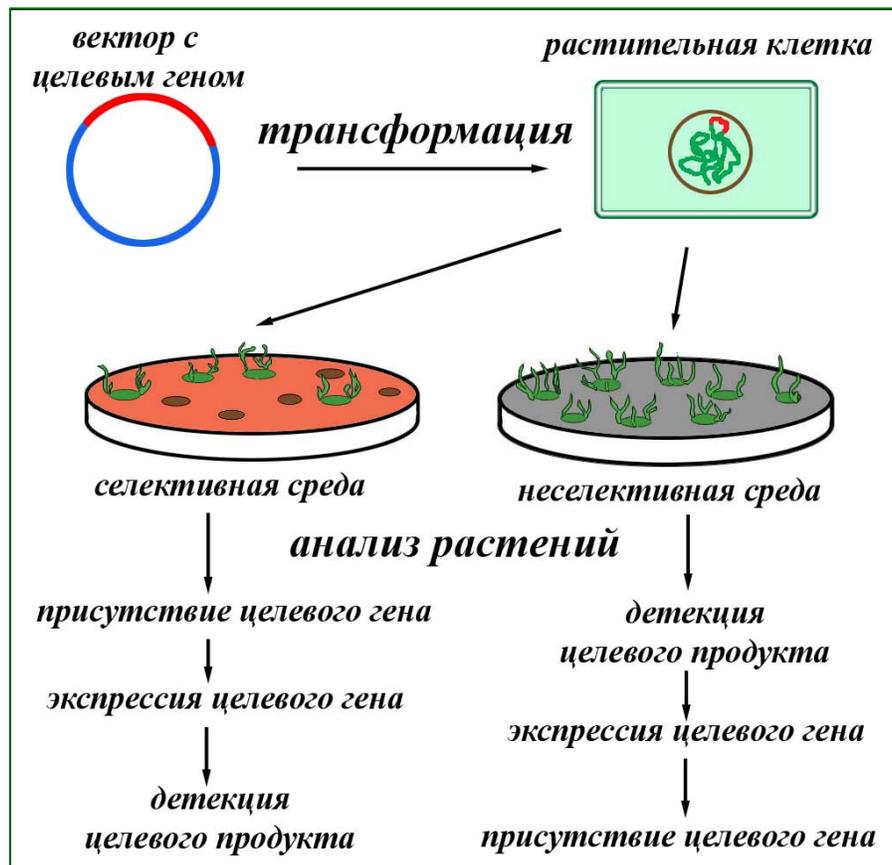


Рисунок 9 – Способы отбора трансформантов

Уже не является фантастикой еще один вариант создания генетически модифицированных растений, где генетическая конструкция не содержит трансгенов, кодирующих белок. В этом случае используется феномен РНК-интерференции, позволяющий отключить или снизить активность одного из собственных генов растения. Принципиальная схема выключения гена-мишени выглядит так: выделяется необходимый фрагмент ДНК из генома и помещается в генетическую конструкцию в перевернутом (антисмысловом) положении. Такая конструкция синтезирует РНК, которая ничего не кодирует, но связывается с мРНК гена-мишени и по механизму РНК-интерференции запускает целый каскад событий: остановку трансляции, разрушение мРНК и резкое снижение или даже полное прекращение экспрессии гена-мишени. Заметим, что такой же эффект возможен при добавлении избыточной копии собственной ДНК организма. За него также отвечает явление РНК-интерференции

Контрольные вопросы

- 1 Что означают цвета в названиях различных направлений биотехнологии?
- 2 Что означает понятие «трансгенный организм»?
- 3 Какие методы используют в генетической инженерии?
- 4 Что включает в себя понятие «современная биотехнология»?
- 5 Какие методы используют для получения растений-трансформантов? Что изучают с их помощью?
- 6 Что такое рекомбинантная ДНК? Какие основные методы ее получения вы можете назвать? Приведите примеры использования методов генной модификации для получения трансгенных микроорганизмов и животных.
- 7 Какие основные векторные системы применяются для введения генетической информации в растительные клетки?
- 8 Чем различаются отдельные типы векторов, используемых для трансформации растений?
- 9 Чем характеризуются современные направления генетических модификаций растительных организмов?
- 10 Какие примеры генетических конструкций, способствующих повышению их биобезопасности, вы можете привести?
- 11 Каких реальных успехов достигла генно-инженерная деятельность в создании новых признаков живых измененных организмов?

2 СОЦИАЛЬНЫЕ, ЭКОНОМИЧЕСКИЕ И ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ ПРАКТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТРАНСГЕННЫХ ОРГАНИЗМОВ

2.1 Социально-экономические аспекты внедрения трансгенных организмов в практику

ГМО и экономическое развитие. Правительства многих стран мира намеренно поддерживают развитие современных биотехнологий как важной движущей силы роста экономики, увеличения благосостояния населения и повышения конкурентоспособности собственного (национального) производства. Количество биотехнологических предприятий в странах Европейского союза (ЕС) приближается к 2000, а их доходы составляют десятки миллиардов евро. В таком "локомотиве" ЕС, как, например, Германия их около 500. Большинство предприятий задействовано в сфере "красной" биотехнологии. Тем не менее, и агробизнес, использующий ГМ-организмы (ГМО), стремительно развивается, поскольку отрасль сталкивается с изменением климата, ростом численности населения и уменьшением посевных площадей для выращивания продуктов питания. По прогнозам исследователей к 2025 г. площадь с/х угодий в мире сократится с $\frac{1}{2}$ до $\frac{1}{4}$ га на человека, так как численность населения на планете сегодня составляет 6,6 млрд, и, увеличиваясь в год примерно на 80 млн, к 2050 г. достигнет, по прогнозным расчетам, 9 млрд человек. Поэтому даже индустриально развитые страны могут столкнуться с проблемой недостатка продуктов питания на душу населения.

На фоне этой информации необходимо отметить, что генная инженерия не только интенсифицирует сельское хозяйство, но и способствует сохранению биоразнообразия дикой природы (а не его уничтожению), так как позволяет сократить площади посевов и, следовательно, сохранить больше «нетронутой», «дикой» природы (лесов, степей и т.д.). Генная инженерия увеличивает вероятность использования для целей селекции генетической информации не только внутри одного, но и между абсолютно разными видами, что невозможно достигнуть, используя методы классической селекции. Ведутся работы по созданию ГМ-растений, способных очищать почву от тяжелых металлов, нефтепродуктов и т.д. Сотни примеров свидетельствуют об успешном создании ГМ-растений и их огромной практической ценности, поэтому ожидается, что в ближайшие 10–20 лет около 80% из 29 основных сельскохозяйственных культур будут высеваться ГМ-семенами, так как их культивирование приносит существенную экономическую выгоду. Мировая динамика роста посевных площадей, занятых трансгенными сельскохозяйственными культурами, отражена на рисунке 10.

Исследования по клонированию хозяйственно-ценных генов и созданию первичных трансгенных растений активно ведутся в большинстве стран Европы (Великобритания, Франция, Германия, Швеция, Италия, Чехословакия, Венгрия, Бельгия, Россия и др.). В государствах-членах ЕС к настоящему времени зарегистрировано более 400 заявок на реализацию генетически измененной кукурузы, 13 заявок по пшенице и 3 заявки по ячменю.

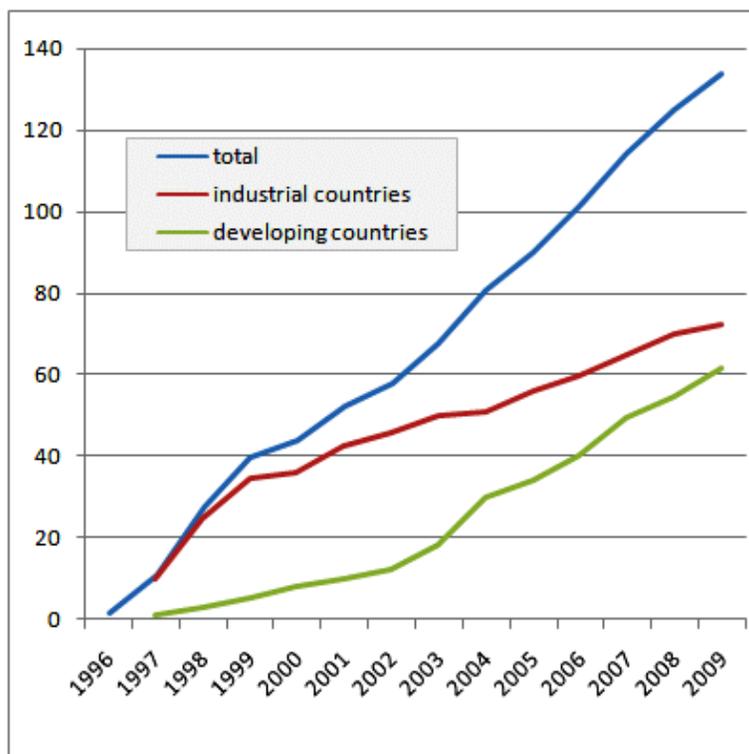


Рисунок 10 – Рост посевных площадей в мире под трансгенными культурными растениями

В Беларуси научные исследования, имеющие конечной целью создание трансгенных растений, были начаты по инициативе академика Н. А. Картеля в 2002 г. в рамках государственной программы «Генетическая инженерия». В частности, к 2006 г. в руководимой им лаборатории в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси были созданы модельные растения табака, устойчивые к высоким дозам тяжелых металлов и нефтепродуктов. В настоящее время работы по использованию ДНК-технологий для сельского хозяйства и здравоохранения продолжаются в ряде учреждений НАН Беларуси и Министерства здравоохранения в рамках государственной программы «Инновационные биотехнологии». Создаются трансгенные растения картофеля с геном

хитиназы из бактерии *Serratia plymuthica*, табака с геном цитохрома P450scс (рисунок 11), льна, рапса масличного, клюквы крупноплодной и др.

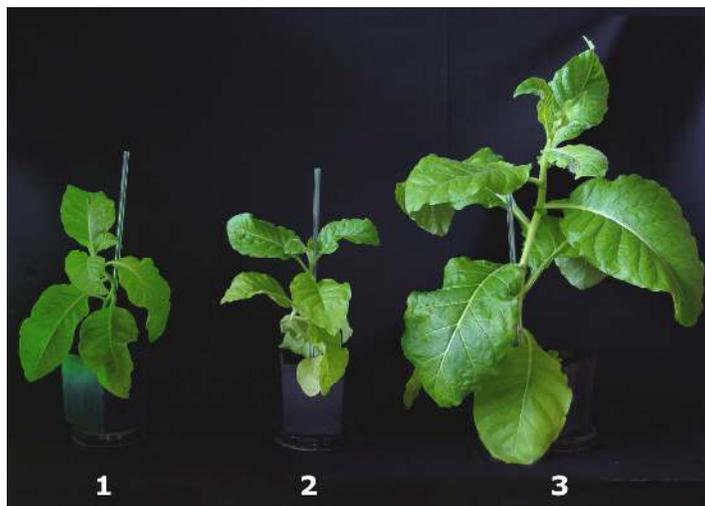


Рисунок 11 – Трансгенные растения табака с введенным геном цитохрома P450scс (CYP11A1)

Примечание: 1 – дикий тип, 2 – контрольное растение с пустым вектором, 3 – трансгенное растение в возрасте трех месяцев

Проблемы безопасности ГМО. Если экономическая выгода от использования ГМО в целом очевидна, то их безопасность по-прежнему вызывает жаркие споры, давно вышедшие за пределы лабораторий и научных форумов. Особенно это касается генетически модифицированных растений, бесконтрольное широкомасштабное использование которых может быть в принципе чревато неблагоприятными последствиями для окружающей среды и здоровья человека. В частности, ГМО-технологии способствуют преобладанию монокультуры, что негативно сказывается на генетическом разнообразии и видовом составе сопутствующих агроценозу биологических видов.

Поэтому исследование безопасности ГМО является важной частью программы исследовательских и технологических разработок в прикладной молекулярной биологии.

В настоящее время специалистами считается общепринятым мнение о том, что неблагоприятное действие генно-модифицированных продуктов, по крайней мере в краткосрочной перспективе, не имеет научно-доказанных подтверждений. Однако в ряде неоднозначно оцениваемых научных сообществом работ высказывается противоположное мнение. Так, высказываются опасения неконтролируемого переноса конструкций, особенно определяющих различные типы устойчивости к пестицидам, вредителям и болезням

растений, вследствие переопыления с дикорастущими родственными и предковыми видами. В связи с этим возможно снижение биоразнообразия дикорастущих предковых форм культурных растений и формирование "суперсорняков". Действительно, за последние 10 лет в США найдены 15 видов сорняков, устойчивых к раундапу®: *Lolium* spp. (2 вида), *Conyza* spp. (2 вида), *Amaranthus* spp. (2 вида), *Chenopodium alba*, *Ambrosia* spp. (2 вида), *Echinochloa colona*, *Euphorbia* spp. (2 вида), *Sorghum halepense*, *Eleusine indica* и *Plantago lanceolata*. На рисунке 12 приведена карта распространения устойчивых к раундапу сорняков по данным на сентябрь 2006 г.

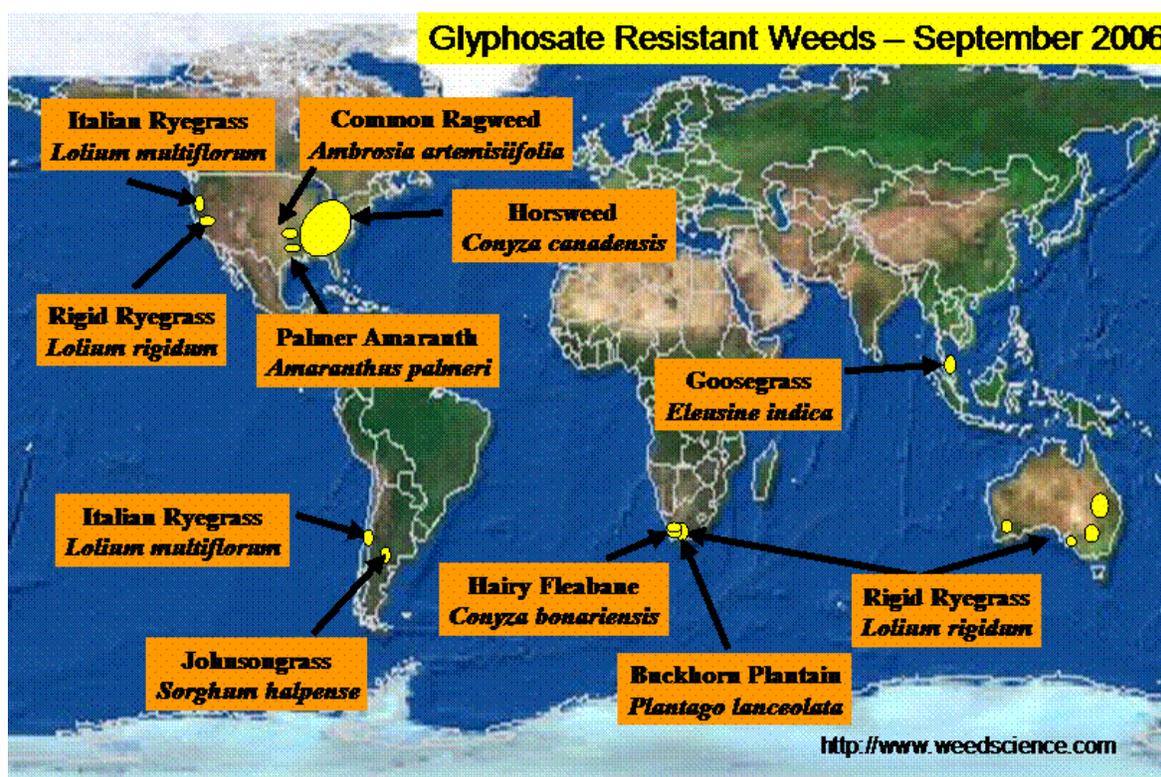


Рисунок 12 – Распространение устойчивых к раундапу сорняков

Недопустим также рост химического загрязнения окружающей среды при массовом выращивании устойчивых к гербицидам сортов растений. Например, практические рекомендации ученых из университета Пердью (Purdue University, Indiana, USA) фермерам для борьбы с новыми «суперсорняками» содержат такие позиции, как повторная обработка полей тем же раундапом, но в концентрации в тысячу раз более высокой по сравнению с исходной или повышенными дозами других гербицидов.

Нельзя также упускать из виду проблему так называемых волонтерных растений. Например, рапс масличный устойчив ко всем существующим ти-

пам гербицидов, и поэтому борьба с ним при высеве последующих культур представляет большую сложность.

Существует риск появления устойчивости к используемым трансгенным токсинам у насекомых-фитофагов, бактерий, грибов и других вредителей под действием отбора на признак устойчивости, высокоэффективного для этих организмов. Вероятно и негативное влияние на биоразнообразие через поражение токсичными трансгенными белками нецелевых насекомых и почвенной микрофлоры, а также нарушение трофических цепей. Так, пыльца ГМ-кукурузы и другие части растения, содержащие Vt-токсин, естественным образом смываются с полей и попадают в близлежащие ручьи, а затем – в озёра, и реки. От попадания этих частичек в пищу гибнут или замедляют рост ручейники, служащие кормовой базой для таких высших организмов, как рыбы или земноводные. Эти насекомые являются родственниками вредителя кукурузы – кукурузного мотылька (*Ostrinia nubilalis*), устойчивость к которому и была целью создания трансгенной Vt-кукурузы. Отмечено, что в водоемах вблизи полей с Vt-кукурузой ручейники гибли в два–три раза чаще, чем на полях с обычной, и во взрослом состоянии были в два раза меньше по размеру, чем особи с контрольных участков.

Вызывает опасения и возможность неконтролируемого горизонтального переноса трансгенных конструкций в ризосферную микрофлору. Актуальны также риски появления новых, более патогенных штаммов фитовирусов в результате их взаимодействия с трансгенными конструкциями. Не исключают также синергетического воздействия на растения рекомбинантой вирусной ДНК и других типов вирусов, присутствующих в растении.

Существует также угроза снижения генетического разнообразия сельскохозяйственных культур в целом и опасность распространения ГМ-растений в развивающихся странах, являющихся центрами происхождения этих культур.

2.2 Международная и государственная регламентация биобезопасности

Биологическая безопасность и сохранение биоразнообразия. В дискуссии о безопасности использования трансгенных растений и животных в сельском хозяйстве участвуют правительственные комиссии и неправительственные организации типа «Гринпис». На рисунке 13 представлена карта мира с указанием стран, в которых использование генетически модифицированных организмов разрешено или запрещено, а в таблице 2 – аргументы за и против использования ГМО.

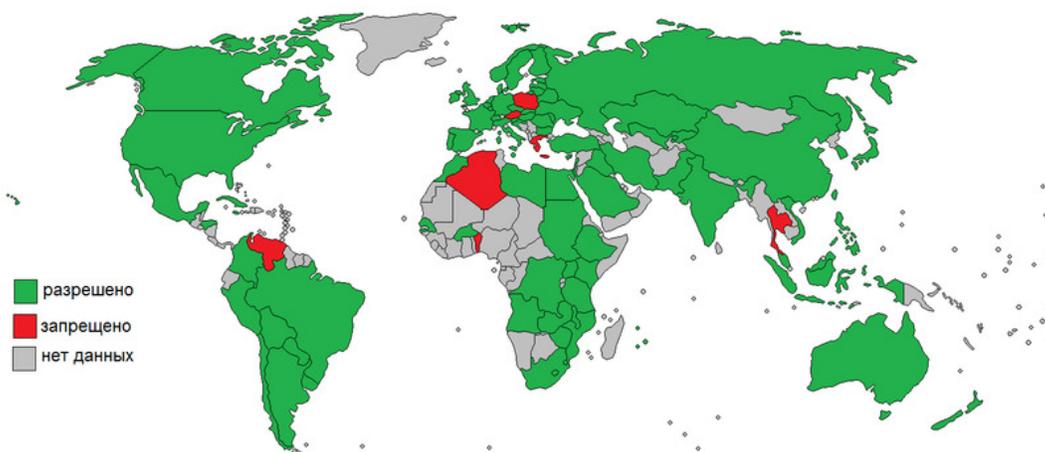


Рисунок 13 – Отношение государства к использованию ГМО в различных странах мира

Таким образом, проблемы биологической безопасности и сохранения биоразнообразия выходят за рамки науки на уровень первоочередных задач государств и международных организаций, в обязанности которых входит обеспечение благоприятных условий для жизни населения на планете Земля.

Таблица 2 – Аргументы сторонников и противников использования генетически модифицированных организмов

За ГМО	Против ГМО
Пищевая безопасность	
Контроль безопасности	Недостаточность исследований по биобезопасности
Опыт использования организмов, полученных с помощью биотехнологии	
Небезопасность продуктов традиционного сельского хозяйства	
Экологическая безопасность	
Безопасные технологии выращивания ГМО (на изолированных полигонах)	Вытеснение естественных видов и распространение гибридов с ГМО
Распространённость горизонтального переноса генов в природе (ничего нового генная инженерия не добавляет)	

Конвенция о биологическом разнообразии и Картахенский протокол по биобезопасности. Одним из важных документов, регламентирующих генно-инженерную деятельность (ГИД) и одновременно регулирующих меж-

государственные отношения, является *Конвенция о биологическом разнообразии* (КБР, Рио-де-Жанейро, июнь 1992 г.). В ней провозглашается ответственность человечества за сохранение, устойчивое использование и долгосрочное развитие биологического разнообразия. В Конвенцию также включены проблемы сохранения природных мест обитания, рационального использования биологических ресурсов, восстановления деградировавших экосистем и исчезающих видов, строгого контроля над современными биотехнологиями, разработки национальных экологических сетей и законодательной институциональной базы. В соответствии с *принципом принятия мер предосторожности* (§15 КБР), в 2000 г. был разработан, 11 сентября 2003 г. вступил в силу и, по состоянию на август 2010 г., ратифицирован большинством стран-сторон КБР (160 из 192 государств-членов ООН) *Картахенский протокол по биобезопасности* (КПБ) к КБР. Цель КПБ – содействие правительствам стран в обеспечении надлежащего уровня защиты в области безопасной передачи, обработки и использования живых (генетически) измененных организмов (ЖИО/ГИО), являющихся результатом применения современной биотехнологии (в том числе генетической модификации, ГМ) и способных оказать неблагоприятное воздействие на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия, с учетом рисков для здоровья человека и проявления особого внимания к их трансграничному перемещению.

Наряду с очевидными позитивными возможностями генно-инженерной деятельности, существует также потенциальный риск негативного влияния живых измененных организмов (ЖИО по терминологии Картахенского протокола) при их выпуске в окружающую среду. Этот аспект ГИД вызывает огромное беспокойство у ученых и общественности, так как известно, что наличие трансгенных конструкций в геноме может приводить к непредсказуемым изменениям в составе нуклеиновых кислот и балансе экспрессии генетического материала.

Возможные отрицательные явления можно подразделить на две составляющие. Во-первых, у самих ЖИО (в том числе в продуктах из них) могут проявиться или усилиться токсичность и аллергенность, патогенность и инвазивность (например, у микроорганизмов); биологическая агрессивность – опасность вытеснения ими ценных и редких аборигенных видов или утрата последних в результате засорения генами, перенесенными от ЖИО; ядовитое воздействие на нецелевые виды (например, на пчел, бабочек, муравьев, жуков и др.). Во-вторых, возникновение ряда нежелательных и даже вредных последствий от использования измененных организмов, как в сфере *природопользования* (например, акселерация появления суперрезистентных вредителей; опасность превращения ЖИО в сорняк, возникновение более вредоносных сорняков в результате переноса трансгенов другим видам); накопление в

почве и воде токсинов трансгенных растений; так и *сельскохозяйственного производства* (неблагоприятные психолого-экономические взаимоотношения между производителями продукции из ГИО (фермерами, например) и поставщиками семян трансгенных растений и химикатов к ним (биотехнологические и химические фирмы); неожиданные ситуации, например, непредвиденные дополнительные расходы на пестициды для уничтожения вредителей "второй волны", размножившихся после снятия конкурентного прессинга основного насекомого-вредителя, или накопление в зоне выращивания ГМ-растений и прилегающих зонах гербицидов, к которым данные ГМ-растения устойчивы; накопление в почве и воде токсинов трансгенных растений и иные неблагоприятные воздействия на экосистемы.

Национальный координационный центр биобезопасности (НКЦБ).

С учетом всех этих проблем, согласно постановлению Совета Министров Республики Беларусь «О создании Национального координационного центра биобезопасности» от 19 июня 1998 г. № 963 соответствующие функции были возложены на Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, в котором и был создан *Национальный координационный центр биобезопасности (НКЦБ)* (рисунок 14).

Основной целью НКЦБ является упорядочение и координация работ в области реализации стратегии и национального плана действий по сохранению и устойчивому использованию биоразнообразия в рамках конвенции ООН (КБР). Задачи НКЦБ:

- 1) сбор, анализ и систематизация информации о законодательстве и научных исследованиях по вопросам биобезопасности, полевых испытаниях генно-инженерных объектов, ввозе (вывозе), коммерческом использовании в Беларуси ГИО и продуктов на их основе, а также указанной информации по биобезопасности из баз данных международных информационных сетей, развитие национальной базы данных о биобезопасности и ГИО;
- 2) предоставление этой информации заинтересованным министерствам и иным органам государственного управления, средствам массовой информации, гражданам и общественным объединениям;
- 3) обмен информацией с координационными центрами других стран и международными организациями;
- 4) ведение государственного реестра экспертов по биобезопасности в области ГИД (совместно с Минприроды);
- 5) обеспечение проведения научной экспертизы безопасности ГИО (совместно с экспертами государственного реестра);
- 6) оказание консультативных услуг министерствам и иным республиканским органам государственного управления в разработке проектов актов законодательства, касающихся ввоза (вывоза) и безопасного использования ГИО

и продуктов на их основе, руководств по оценке и предупреждению риска для окружающей среды и здоровья человека, инструкций по технике безопасности для лабораторий генетической инженерии;

- 7) оказание консультативных услуг министерствам и иным республиканским органам государственного управления в подготовке предложений по заключению двусторонних и региональных соглашений, в разработке международных соглашений по вопросам биобезопасности и осуществление соответствующих законодательству функций.

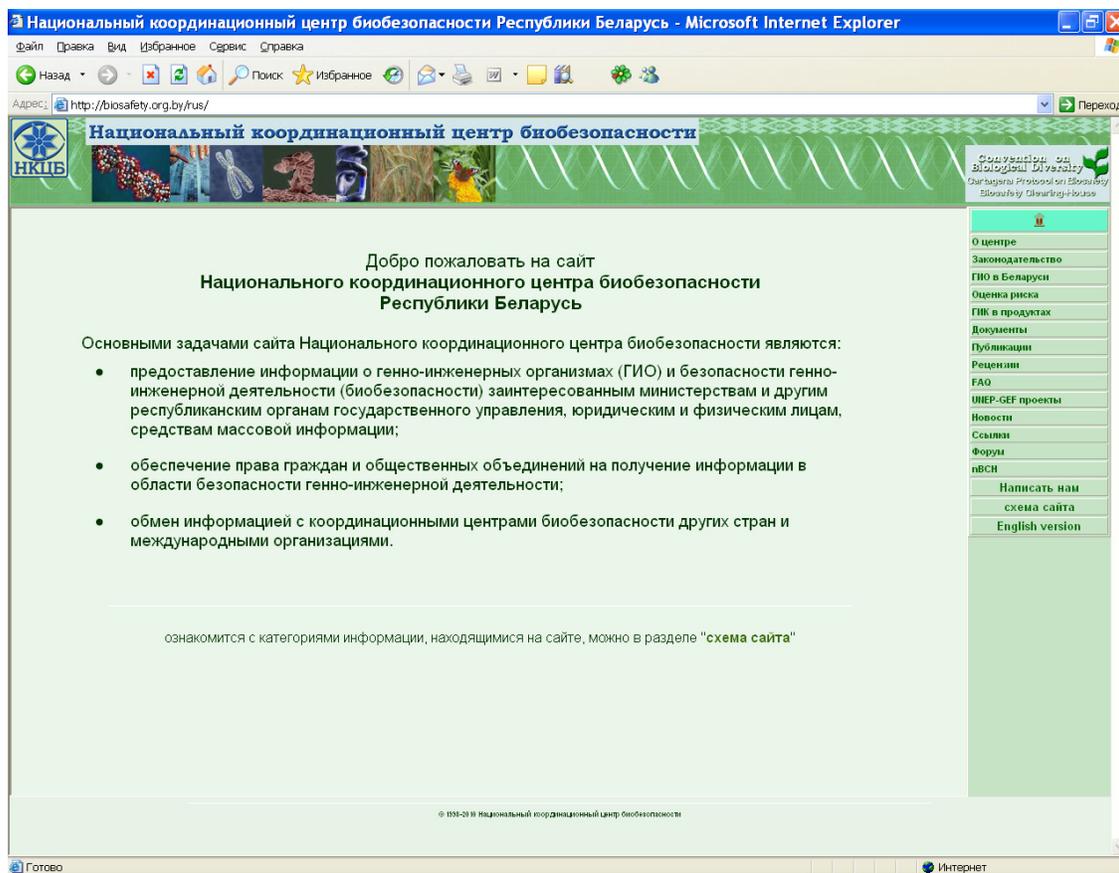


Рисунок 14 – Сайт Национального координационного центра биобезопасности

Национальная система безопасности генно-инженерной деятельности. Присоединившись 6 мая 2002 г. к Картахенскому протоколу, Республика Беларусь разработала национальную систему безопасности ГИД (рисунок 15).

Постановлением Совета Министров Республики Беларусь «О мерах по реализации положений Картахенского протокола по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии» от 5 июня 2002 г. № 734 создан ряд компетентных национальных органов. В качестве таких органов определены

Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды (далее – Минприроды) в части функций, связанных с высвобождением ЖИО/ГИО в окружающую среду, Министерство здравоохранения и Министерство сельского хозяйства и продовольствия – по вопросам использования ЖИО в хозяйственной деятельности. Этим же постановлением на НКЦБ возложена функция связи с секретариатом КПБ.



Рисунок 15 – Структура системы биобезопасности Республики Беларусь

В основу концепции государственного регулирования безопасности ГИД в Беларуси положен накопленный мировой опыт, белорусское законодательство и сложившаяся в стране система государственного управления, ее обязательства по международным соглашениям. Важнейшие положения концепции нашли отражение в Законе Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» (далее – Закон), принятом 9 января 2006 г. Этот закон вместе с актами действующего законодательства и другими правовыми документами, разработанными в его развитие, составляют основу нормативной правовой базы формирующейся национальной системы био-

безопасности, в задачу которой входит реализация прав граждан Беларуси на жизнь, охрану здоровья, информацию и на предотвращение нарушения этих прав.

Закон устанавливает правовые и организационные основы обеспечения безопасности ГИД. Его положения не распространяются на отношения, связанные с применением генетической инженерии к человеку, его органам и тканям, обращением с фармацевтическими препаратами, продовольственным сырьем и пищевыми продуктами, кормами для животных, полученными из ГИО или их компонентов (ст. 2), так как они регулируются специальным законодательством о здравоохранении. В ст. 5 Закона определены следующие меры по обеспечению безопасности ГИД: принятие (издание) нормативных правовых актов; утверждение и введение в действие технических нормативных правовых актов в области безопасности ГИД и их реализации; проведение государственной экспертизы безопасности ГИО; осуществление контроля в области безопасности ГИД и ряд других мер обеспечения безопасности.

Оценки рисков использования ГИО в Беларуси регламентирует Постановление Совета Министров от 4 мая 2010 г. № 677 (утверждено декретом Президента Республики Беларусь № 5/31786, подписанным 07.05.2010) «Об утверждении Положения о порядке проведения оценки риска возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на здоровье человека». Определены порядок и единые требования проведения оценки риска возможных вредных воздействий ГИО на здоровье человека. В постановлении используются следующие основные термины: оценка риска – определение вероятности вредного воздействия ГИО на здоровье человека; факторы риска – характеристики ГИО, связанные с генетической модификацией, которые могут оказать вредное воздействие на здоровье человека. Оценка риска проводится в целях определения возможных вредных воздействий ГИО на здоровье человека, оценки вероятности и степени опасности таких воздействий, а также способов их предупреждения и контроля (менеджмента). Порядок оценки риска включает следующие этапы:

- 1) выявление (идентификация) факторов риска;
- 2) оценку вероятности вредного воздействия каждого идентифицированного фактора риска на здоровье человека с учетом использования генно-инженерных организмов;
- 3) оценку масштаба возможных последствий каждого идентифицированного вредного воздействия ГИО на здоровье человека при потенциальной их реализации;
- 4) оценку величины риска, обусловленного каждым идентифицированным фактором риска, с учетом его вероятности и масштабов возможных неблагоприятных последствий;

- 5) оценку совокупного риска на основании отдельной оценки вероятности и масштабов последствий каждого идентифицированного фактора риска;
- 6) подготовку информации об оценке риска и его приемлемости;
- 7) определение стратегии для управления такими рисками.

На рисунке 16 представлена структура алгоритмов оценки рисков от высвобождения ЖИО в Республике Беларусь.

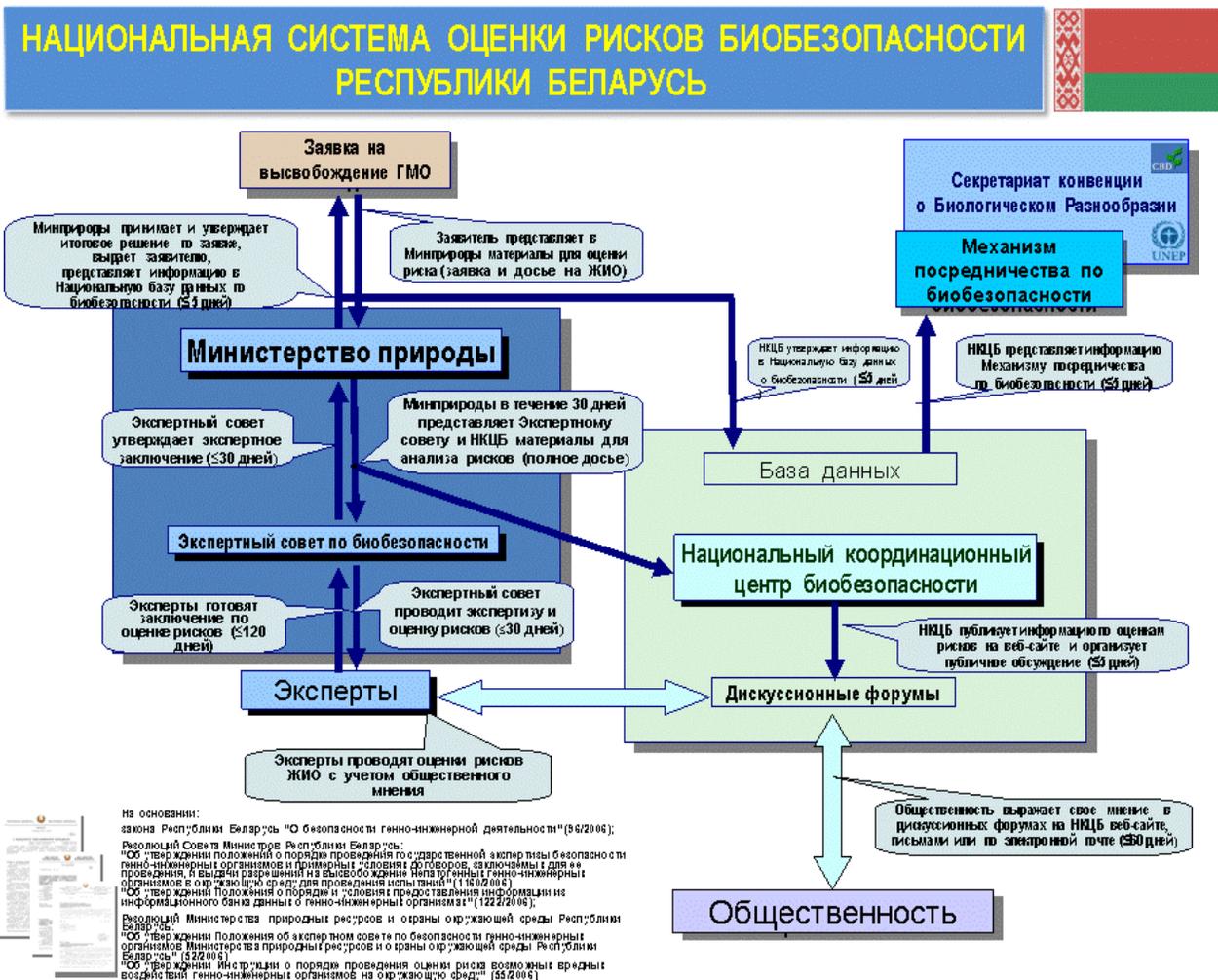


Рисунок 16 – Структура алгоритмов оценки рисков от высвобождения ГМО/ЖИО в Республике Беларусь

Принципами оценки риска являются:

- научно обоснованный, интегрированный и индивидуальный подходы;
- сравнение идентифицированных характеристик ГИО, несущих потенциальную угрозу здоровью человека, с аналогичными характеристиками немодифицированных, исходных организмов;

- последовательность анализа каждого этапа создания ГИО с учетом типа рассматриваемого ГИО, способа его предполагаемого использования и потенциальной среды высвобождения.

При оценке риска определяются:

- безопасность любых эффектов, возникших в результате генетической модификации;
- безопасность новых белков, возникших в результате ГМ (токсичность, аллергенность);
- снижение пищевой ценности ГМ-продуктов; вероятность переноса в микрофлору желудочно-кишечного тракта генов устойчивости к антибиотикам.

Оценки проводятся осуществляющими ГИД экспертами, юридическими лицами и индивидуальными предпринимателями. Полученная информация в установленном законодательством порядке включается в материалы, предоставляемые юридическими лицами и индивидуальными предпринимателями в Минприроды для проведения государственной экспертизы безопасности ГИД. При поступлении новой информации о ГИО и его воздействии на здоровье человека результаты оценки риска могут быть пересмотрены. Одной из важнейших мер по обеспечению ГИД является установление ответственности за нарушение требований законодательства (ст. 5 Закона «О безопасности генно-инженерной деятельности»). В целях реализации указанного предписания 18 мая 2007 г. был принят Закон РБ «О внесении дополнений в некоторые кодексы Республики Беларусь по вопросам установления ответственности за нарушение законодательства о безопасности генно-инженерной деятельности», которым внесен ряд дополнений в административное и уголовное право страны. В части 1 статьи 15.4 Кодекса Республики Беларусь об административных правонарушениях (далее – КоАП) предусмотрена ответственность за нарушение правил безопасности производства, хранения, использования, транспортировки, захоронения и иного обращения с радиоактивными, бактериологическими, химическими веществами или отходами производства и потребления. Законом от 18 мая 2007 г. данная норма КоАП была дополнена указанием на то, что такую же ответственность влечет и совершение аналогичных действий с ГИО. Также в части 1 статьи 278 Уголовного кодекса сформулированы дополнения, аналогичные внесенным в части 1 статьи 15.4 КоАП, согласно которым установлена ответственность за аналогичные нарушения правил безопасности – при наличии *административной преюдиции* (т.е. уже вступившего в законную силу судебного решения) – налагается штраф в размере от 20 до 1000 базовых величин (≈ 10 тыс. у.е.); размер уголовной ответственности за подобные нарушения – до 7 лет лишения свободы.

Законодательство стран ЕС и СНГ в области биобезопасности. Для стран ЕС нетипичны многие сельскохозяйственные культуры (соя, кукуруза, канола, хлопок) и площади, засеянные этими, заметим, не трансгенными культурами, составляют от 0,5% (соя) до 3% (кукуруза), в то время как именно они занимают >90% всех посевов ГМ-растений в мире. Введение в оборот нового ГМ-растения осуществляется поэтапно: сначала растение проходит испытания в лаборатории или в теплицах (с присвоением идентификационного номера), и затем, с учетом накопленного опыта – полевые испытания, сроки проведения которых ограничены так же, как и площадь опытных полей. Перед каждым выпуском ГМО в окружающую среду должно быть получено *разрешение органов власти*, осуществляющих контроль над соблюдением предусмотренных мер безопасности.

В ЕС для этого задействованы специальные компетентные ведомства. Так, в Германии этими вопросами занимается Федеральное ведомство по защите прав потребителей и безопасности продуктов питания, причем в выдаче разрешения на использование ГМО принимают участие: Федеральное ведомство по охране природы, Федеральный институт по оценке риска, Институт Роберта Коха, а также Федеральный биологический научно-исследовательский центр сельского и лесного хозяйства. Непосредственно оценку возможного риска для людей, животных и окружающей среды дают компетентные *экспертные комиссии (советы) по биобезопасности*. В частности, *Центральная Комиссия по биобезопасности Германии* состоит из экспертов в области микробиологии, токсикологии, генетики, растениеводства и экологии, а также специалистов в сфере экономики, сельского хозяйства, охраны окружающей среды, охраны природы, защиты прав потребителей и организаций, финансирующих исследования. Подобный состав комиссий по оценке риска при национальных органах в ЕС обеспечивает участие всех общественных групп; во внимание принимаются также выводы ученых, скептически относящихся к генной инженерии. В любом случае, компетентные организации и общественность должны в ходе тщательных экспертиз получать доказательства допустимости приемлемых рисков (прямых и опосредованных, немедленных и отдаленных) или их отсутствия (одновременно разрабатываются и меры ликвидации негативных сценариев с высвобождением ЖИО/ГМО). Если ни при одном из испытаний ЖИО не будет выявлено возможность недопустимых рисков, может быть подано заявление на выдачу разрешения на введение ГМ-растений в оборот. Разрешенные для использования трансгенные растения вносятся в общедоступный реестр, в том числе публикуемый на специальных сайтах Интернета (напр., www.transgen.de). В качестве дальнейшего обеспечения безопасности продолжительность действия разрешения на введение в оборот ограничивается сроком до 10 лет. По

истечении этого срока разрешение может быть продлено, но при этом вновь проводится проверка наличия всех необходимых предпосылок для разрешения с учетом новых научно обоснованных данных. С каждым заявлением предоставляется план наблюдения с целью обнаружения ранее неизвестных воздействий на человека и окружающую среду в период срока действия разрешения. В случае появления опасений в отношении безопасности, разрешение на использование растения может быть в любое время аннулировано. Таким образом создаются все гарантии, что ЖИО и произведенные из них продукты, представляющие опасность для здоровья, не попадут в окружающую среду или продовольственные магазины.

По аналогичному пути идут и страны СНГ. Например, состав Национальной комиссии по биобезопасности Молдовы утверждается Постановлением Правительства (первое – № 603 от 20 мая 2003 г.). Комиссия назначается сроком на 5 лет и функционирует как межведомственный орган, состоящий из 13 человек: председателя, секретаря, четырех ученых от Академии наук Молдовы, трех членов от других научных и университетских учреждений биологического или медицинского профиля, по одному представителю от центральных органов экономики и здравоохранения и одного специалиста от неправительственных организаций, деятельность которых связана с охраной окружающей среды. Членство в комиссии несовместимо с трудовыми отношениями (юридическими и физическими), связанными с производством и реализацией ГМО.

В нашей стране Постановлением № 52 Минприроды от 17 августа 2006 г. определяется, что экспертный совет по биобезопасности является коллегиальным органом и состоит из председателя, его заместителей, секретаря, членов этого совета из числа должностных лиц Минприроды, уполномоченных лиц других республиканских органов государственного управления, ученых и специалистов в области ГИД (граждан Беларуси). Персональный состав экспертного совета утверждается приказом Минприроды.

Некоторые различия в законодательствах стран Европы касаются допуска к использованию ЖИО. В то время как в нашей стране осуществляется общая система государственного учета трансгенных сортов растений, пород животных и штаммов микроорганизмов, в Российской Федерации и ЕС практикуются два вида госрегистрации трансгенных событий ЖИО: 1) для выращивания с целью производства промышленной продукции; 2) для использования в качестве продуктов питания, кормов и для переработки. Особая тема – обеспечение безопасности и качества продовольственного сырья и продуктов питания, производимых с использованием ГМ-сырья (таблица 3).

Таблица 3 – Сравнительный анализ регламентации в разных странах маркировки продукции содержащей ЖИО/ГМО

ЕС, СНГ, Россия, Молдова	После экспертизы маркируются только те продукты (корма), в которых содержится более чем 0,9% ингредиентов из ЖИО/ГМО
Беларусь	Ведется регламентная предварительная экспертиза и соответствующей маркировке подлежат все продукты, содержащие ингредиенты ЖИО/ГМО, независимо от их концентрации
США	Специального маркирования продуктов питания из ЖИО/ГМО(или содержащих ГМ-ингредиенты), не требуется, так как нет оснований полагать, что они существенно отличаются от традиционных, поэтому не представляют собой какие-либо новые (увеличенные) риски для здоровья потребителей. Маркировка изменяется, если в ходе экспертизы будут найдены отличительные особенности, которые надлежит указать на этикетке; если же содержание белков и ДНК ЖИО мало (от 0,1 до 0,5 %), то и такая маркировка не обязательна

Примечания: при использовании гербицид-устойчивых ГМ-растений гораздо важнее указывать остаточное содержание гербицида (или продуктов его деградации) независимо то того, есть ли в продукте ДНК (белок).

В ЕС для обеспечения безопасности продуктов питания и кормов из ЖИО проводятся строгий контроль и исследования в соответствии с существующими законодательными актами (Директивами ЕС). Свободный выбор потребителей обеспечивается благодаря маркировке продуктов питания, ингредиентов и добавок, изготовленных из ЖИО или содержащих их компоненты. Международно-признанные принципы анализа рисков продуктов из ГМО и специальные положения по проведению оценки безопасности трансгенных растений и микроорганизмов разработаны так называемым Продовольственным кодексом (Codex Alimentarius). Речь идет о маркировке в процессе производства (напр., "содержит ГМО-компоненты" или "не содержит ГМО-

компоненты"), дающей информацию о применении ГИД независимо от вещественного состава сходных продуктов питания (состав бывает одинаков).

Из-за сложности оценки риска Организация экономического сотрудничества и развития (ОЕСД) в 1993 г. сформулировала концепцию "эквивалентности по существу" (принята во всем мире), определяющую не абсолютную, а относительную величину биобезопасности ГМ-продукта (за исходный уровень биобезопасности принимается адекватная традиционному аналогу). Согласно действующим нормам ЕС для животной продукции (мяса, молока, яиц) маркировка не обязательна, если животных кормили генетически модифицированными кормами. Часто этот момент критикуется союзами по защите окружающей среды и прав потребителей как ограничение свободы выбора конечного потребителя. Однако Европа не может сохранить требуемый уровень производства мяса, молока и яиц без импорта кормов из ГМ-растений (кукуруза, рапс, соя). В результате большая часть европейской животной продукции должна была бы маркироваться как произведенная с использованием ГМ-кормов. Покупая животную продукцию, многие потребители хотели бы знать, получали ли животные ГМ-корма или нет. Поэтому, например, в Германии Федеральное министерство продовольствия, сельского хозяйства и защиты прав потребителей прилагает максимум усилий для разработки практического и небюрократического решения в сфере маркировки всех продуктов, изготовленных с применением ГМО.

Законодательство Беларуси *не запрещает* использование и оборот пищевого сырья и продуктов питания, произведенных из ГМО, но в соответствии с законами республики "О качестве и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов для жизни и здоровья человека" [Национальный реестр правовых актов (НРПА). 2003, № 79, 2/966] и "О защите прав потребителей" (НРПА. 2003, № 8, 2/932) *покупатель имеет право* на получение информации о продуктах питания, в том числе – о содержании в них ГМО или их компонентов.

Однако в то время как в ЕС и Российской Федерации допускается отсутствие маркировки, если в продукте содержится меньше 0,9% ингредиентов из ГМО, в Республике Беларусь Постановлениями № 116 Главного государственного санитарного врача «О государственной гигиенической регламентации и регистрации продовольственного сырья и пищевых продуктов, полученных из или с использованием генетически модифицированных источников» от 2 сентября 2003 г. и № 434 Совета Министров «О некоторых вопросах информирования потребителей о продовольственном сырье и пищевых продуктах» от 28 апреля 2005 г. относительно допустимых уровней ГМО-компонентов *установлена беспороговая система* – маркируется всё, в чем в результате проверки обнаруживается ГМО-примесь, причем узаконена про-

верка (в отношении всех продуктов, содержащих сою и кукурузу), а реализация продукции, содержащей ГМО без соответствующей информации в маркировке, и использование ГМО в пищевых продуктах для детского питания *запрещены*. Для организации ГМО-контроля в республике создано 15 испытательных лабораторий, из них в системе Минздрава – 6, Госстандарте – 6, НАН Беларуси – 2, Минсельхозпроду – 1. Определение ГМО растительного происхождения в продовольственном сырье и пищевых продуктах осуществляется в лабораториях по двум методам: ПЦР в реальном времени (количественное исследование) и ПЦР + иммуноферментный анализ (качественное исследование). Указанные методы имеют как общие, так и отличительные признаки, в целом же позволяют объективно и качественно проводить исследования.

Можно заключить, что белорусское законодательство по биобезопасности совершенствуется в соответствии с новыми достижениями науки и современными требованиями в таких областях, как государственная экспертиза безопасности генно-инженерной деятельности, механизмы информирования и участия общественности в принятии решений.

В настоящее время к основным направлениям генно-инженерной деятельности, регулируемым законодательством Республики Беларусь, относятся следующие:

- 1) генно-инженерная деятельность в замкнутых системах;
- 2) высвобождение генно-инженерных организмов в среду обитания для проведения испытаний;
- 3) использование ЖИО в хозяйственных целях;
- 4) ввоз в Беларусь, вывоз и транзит через ее территорию генно-инженерных организмов;
- 5) хранение и обезвреживание генно-инженерных организмов.

Анализ, проведенный зарубежными экспертами, показал, что национальная система биобезопасности Республики Беларусь, созданная отечественными специалистами в процессе выполнения проектов ЮНЭП-ГЕФ, находится в логическом и функциональном соответствии с действующими в этой сфере законодательствами стран СНГ и Евросоюза. Это значит, что Республика Беларусь в сфере биобезопасности полностью выполняет свои международные обязательства, а ее правительство – обязательства перед своими гражданами.

Контрольные вопросы

1 Каковы положительные стороны использования ГМО и их экономическая значимость?

2 Сравните аргументы "за и против" использования ГМО.

- 3 С чем связаны возможные риски распространения ГМ-растений?
- 4 Что вы знаете про Конвенцию о биологическом разнообразии?
- 5 Когда был разработан и вступил в силу Картахенский протокол по биобезопасности и какова его главная цель?
- 6 Какие меры наказания предусмотрены УК Беларуси за нарушение правил безопасности производства, хранения, использования, транспортировки, захоронения и иного обращения с ГИО?
- 7 Какие имеются различия в законодательной регламентации ГМ-продуктов в Евросоюзе, России и Беларуси?
- 8 Какие меры приняты для организации ГМО-контроля в Беларуси?
- 9 Перечислите 5 основных направлений генно-инженерной деятельности, регулируемых законодательством Республики Беларусь.

3 ПРОБЛЕМЫ БИОБЕЗОПАСНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОРГАНИЗМОВ

3.1 Критерии и методы оценки безопасности генетически модифицированных организмов

Риск и оценка риска. По наиболее общему определению риск – это вероятность нежелательного события. Учитывая также величину потенциального ущерба в случае, если данное событие будет реализовано, риск определяется математическим выражением:

риск = вероятность × последствие,

или

риск = вероятность негативного воздействия фактора риска × величина последствий воздействия.

Часто риск определяют через взаимодействие фактора риска и экспозиции (exposure), т.е. степени, продолжительности воздействия на «мишень» (здоровье человека, окружающую среду). Степень подверженности «мишени» тому или иному фактору риска выражается как частота и продолжительность контакта человека или другого биологического объекта, например экосистемы, с вредным веществом определенной концентрации. Следовательно, подверженность фактору риска пропорциональна вероятности и величине (значимости) воздействия фактора риска на существо (объект) этого воздействия. А риск определяется как

риск = фактор риска × подверженность «мишени» фактору риска (экспозиция).

Риск генно-инженерной деятельности (ГИД). Для получения экономической выгоды от внедрения биотехнологии в производство в настоящем и будущем в каждом государстве должен функционировать регуляторный механизм, который обеспечит безопасное и устойчивое развитие. Обязательным компонентом такого механизма является идентификация и минимизация любых потенциальных рисков для здоровья человека и окружающей среды, возникающих вследствие генно-инженерной деятельности. При этом оценка риска производится на всех уровнях манипуляций с ГИО: от лабораторных исследований до широкого внедрения ГИО или продуктов, содержащих ГИО, на товарный рынок.

В соответствии с действующими международными правовыми документами (в частности директивными документами Европейского союза) це-

лью процедуры оценки риска ГИД является идентификация всех возможных вредных для здоровья человека и окружающей среды прямых и непрямых, немедленных и отдаленных воздействий ГИО; оценка вероятности осуществления данных воздействий в рамках рассматриваемой ГИД и размера ущерба здоровью человека и окружающей среде при допущении, что они осуществляются.

В итоге процедура оценки риска должна дать ответ на следующие вопросы:

1. Является ли потенциальный риск ГИД приемлемым в сопоставлении с выгодами, получаемыми в результате ее осуществления?
2. Имеются ли регуляторные механизмы, адекватные для безопасного осуществления ГИД?

Принцип принятия мер предосторожности. Источники появления и применения принципа принятия мер предосторожности проистекают из экологического общественного движения 70-х гг. прошлого века, когда он был сформулирован как реакция на скептицизм относительно возможности научной оценки риска и предотвращения вредных последствий применения сложных технологий. Принцип гласит, что при отсутствии необходимых знаний (научная неопределенность) предпочтительнее осуществлять меры безопасности с избытком, страхующим здоровье человека и окружающую среду в случае ошибок в оценке риска. Принятие мер предосторожности является политической аксиомой. Строгая (жесткая) интерпретация принципа – никаких неприемлемых рисков – требует «высокого стандарта» доказательств о безопасности технологии ГИД от тех, кто ее внедряет. Практически это требование интерпретируется выражением – «не предпринимай никаких действий, пока ты не уверен, что они не нанесут вреда» (т.е. риски исключаются или пренебрежительно малы). Груз ответственности за биобезопасность ГИД на ее апологетов налагает и менее строгая (мягкая) трактовка принципа предосторожности – отсутствие полноты знаний не оправдывает бездействие (ибо потворствует нанесению вреда). Комиссия ЕС выработала правила использования принципа принятия мер предосторожности в процедурах оценки и управления риском ГИД «прозрачным» образом:

- *Адекватность.* Меры по управлению риском ГИД должны быть пропорциональны желаемому уровню защиты, а не должны ставить своей целью снижение риска до нуля.
- *Отсутствие дискриминации.* Сходные ситуации при оценке и управлении риском ГИД не должны рассматриваться различным образом, а различные ситуации не должны рассматриваться сходным образом без объективных оснований осуществлять оценку именно таким образом.

- *Пропорциональность соответствия.* Меры по управлению риском ГИД в условиях, когда получены все необходимые данные, не обязаны быть точь-в-точь такими, как принимавшиеся ранее в подобных случаях – главное эффективность.
- *Изучение выгоды и стоимости действия или отсутствия действия.* Такое изучение должно включать экономический анализ (расчет соотношения цены и выгоды), когда он возможен и выполним.
- *Изучение научного развития.* Меры по управлению риском должны иметь предварительный (временный) характер в ожидании возможности получить более достоверные научные данные. Научные исследования должны продолжаться до получения более полных данных.
- *Учет развития научных данных о факторе риска при его оценке.* Новые научные данные по фактору риска немедленно учитываются в алгоритмах оценок и действиях.

На рисунке 17 представлены компоненты «идеальной» системы оценки риска.

Применяемая в разных странах методика оценки риска ГИД в большей или меньшей степени соответствует приведенной выше системе оценки риска. Требования к процедуре оценки риска ГИД, характерные для Европейского союза, приведены в директивных документах ЕС, являющихся базовыми, на основании которых разработаны соответствующие процедуры многих европейских стран, в том числе Республики Беларусь. Оценка риска возможных неблагоприятных последствий использования ГИО включает следующие этапы:

1. Выявление любых генотипических и фенотипических характеристик ГИО, связанных с генетической модификацией, которые могут оказать неблагоприятное воздействие на здоровье человека и окружающую среду (выявление факторов риска ГИД). При этом сравнительный анализ ГИО и традиционного аналога в предполагаемых условиях осуществления ГИД будет способствовать идентификации неблагоприятных эффектов, обусловленных именно генетической модификацией исходного организма.

2. Оценка возможных последствий каждого неблагоприятного воздействия ГИД, если оно осуществится.

3. Оценка вероятности неблагоприятного воздействия каждого идентифицированного фактора риска с учетом характера среды осуществления ГИД и ее особенностей.

4. Оценка риска, обусловленного его каждым идентифицированным фактором.

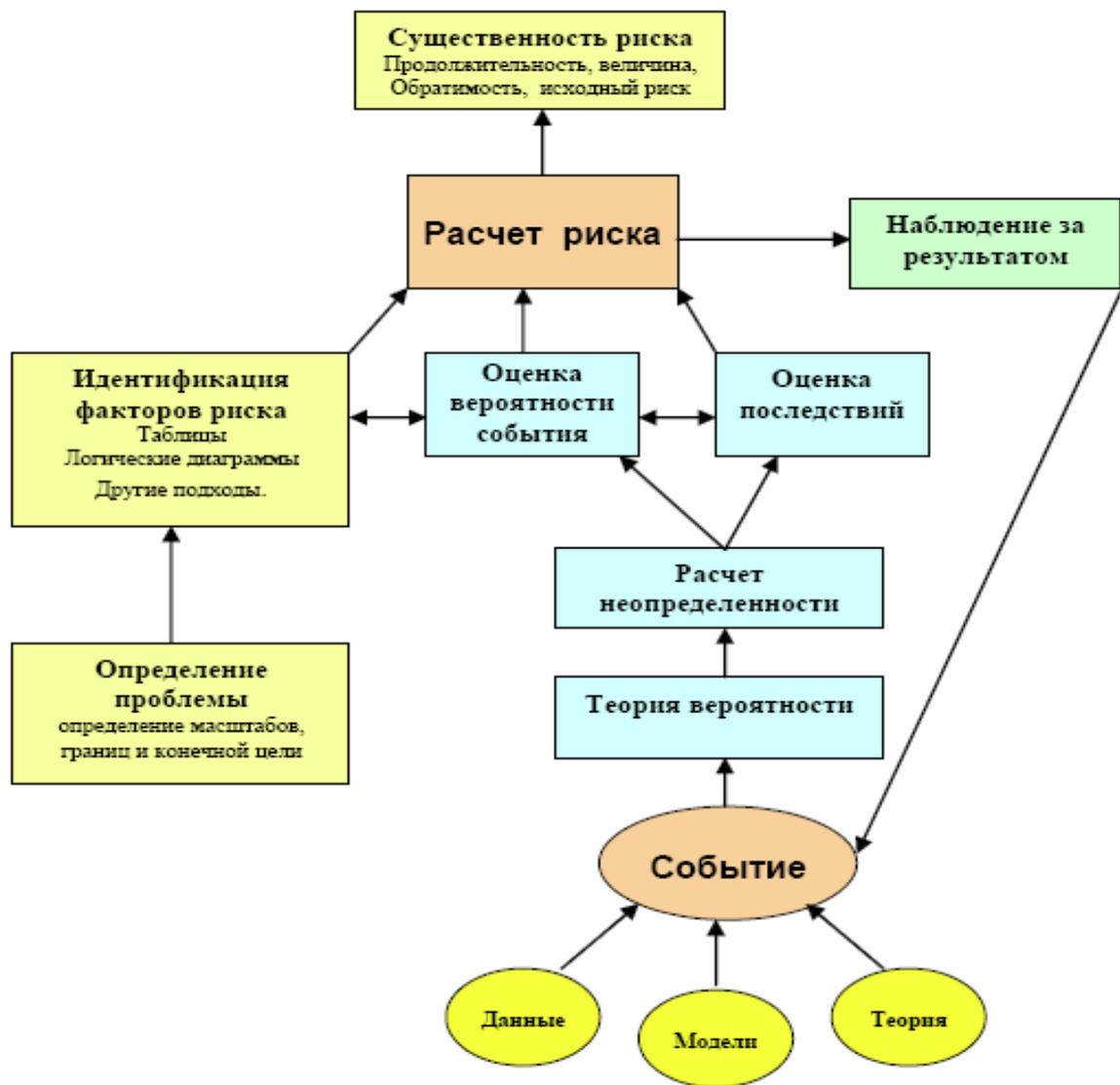


Рисунок 17 – Компоненты идеальной системы оценки риска

5. Оценка совокупного риска использования ГИО на основе оценки вероятности воздействия и масштаба последствий выявленных факторов риска.

6. Вынесение рекомендаций относительно того, являются ли риски приемлемыми или регулируемые, включая, если это необходимо, определение стратегий для регулирования таких рисков.

3.2 Требования законодательства к полевым испытаниям трансгенных растительных организмов

Наиболее часто рассматриваемыми факторами риска для окружающей среды, связанными с использованием ГМО, являются риски, связанные с высвобождением трансгенных растений при введении их в сельскохозяйственную культуру. Это вполне объяснимо, так как воздействия ГМ-растений на природные ландшафты обусловлены их способностью распространяться на обширные территории и сохраняться там достаточно долго. При этом учитываются:

- 1) эволюционно закрепленная способность к обмену генетическим материалом посредством пыльцы, которая переносится на значительные расстояния с помощью ветра, насекомых и др.;
- 2) способность к образованию специальных вегетативных органов (клубней, столонов, корневищ), позволяющих выживать в неблагоприятных условиях, быстро размножаться и заселять новые участки местности.

Предотвращение возможного негативного влияния трансгенных растений при их высвобождении является одной из важнейших задач, решаемых учеными и государственными органами охраны природы. В лабораторных условиях изучают генетические механизмы регуляции экспрессии новых, в первую очередь хозяйственно-ценных, признаков ГМ-растений, но эти растения физически изолированы от окружающей среды и не представляют для нее никакой опасности.

Проведение полевых испытаний является следующим шагом изучения трансгенных растений, так как оно проводится в реальных климатических условиях, но с соблюдением изоляции от окружающей природы, на специальных испытательных полях (полигонах). Полигон является охраняемым полем размера ≤ 1 га, которое обустривают так, чтобы предотвратить несанкционированное перемещение семян и вегетативной массы испытуемых растений (рисунок 18).

Основными целями выращивания ГМ-растений на испытательном поле является изучение генетических, физиологических и других механизмов формирования хозяйственно-ценных признаков, заданных введением в генотип испытуемых растений определенных генов, а также исследование возможных генетических механизмов интродукции чужеродных генов в живые организмы окружающей природы и их последствий. При этом интродуцированные в растения гены не должны попасть с пыльцой в окружающую среду, так как она может оказаться вовлеченной в скрещивания с растениями, произрастающими на окружающей полигон местности; кроме того, ни семена, ни растительные остатки трансгенных растений не должны попасть в пищевую цепочку животных, а тем более – людей. На основании результатов оценки

ожидаемых и непредвиденных рисков при выращивании трансгенных растений в условиях испытательного полигона принимается решение о возможности (невозможности) их выпуска в коммерческое производство.



а



б

Рисунок 18 – Примеры испытательных полигонов

Примечание: а – вид типичного испытательного полигона в США;
б – испытательное поле в провинции Манитоба (Канада)

Создание испытательного полигона для ГМ-растений – это не только научный и инженерно-технический, но и правовой объект, и при его строительстве и технико-производственном оснащении должны соблюдаться все требования безопасности, предъявляемые к опытным полям, предназначенным для проведения испытаний непатогенных генно-инженерных организмов при их первом высвобождении в окружающую среду. Такие требования четко изложены в Постановлении № 56 от 29 августа 2006 г. Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды, основанном на статье 9 Закона

Республики Беларусь от 9 января 2006 г. «О безопасности генно-инженерной деятельности». Согласно Постановлению на полигоне, предназначенном для проведения испытаний непатогенных генно-инженерных организмов при их первом высвобождении в окружающую среду, должна оформляться *информационная доска*, размещенная возле входа на него, на которой должны быть указаны:

- наименование юридического лица или фамилия и инициалы индивидуального предпринимателя, осуществляющего испытание;
- площадь опытного поля;
- предупреждающая надпись о том, что на данном опытном поле проводятся испытания генно-инженерных организмов.

Юридическое лицо (индивидуальный предприниматель) должен иметь *паспорт опытного поля*, который утверждается руководителем учреждения (индивидуальным предпринимателем) по согласованию с соответствующим территориальным органом Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь. В паспорте указываются:

- наименование юридического лица (фамилия и инициалы индивидуального предпринимателя), осуществляющего испытание;
- вид (виды) испытываемого генно-инженерного организма;
- область, район, землевладелец, землепользователь или собственник земельного участка, на котором проводятся испытания;
- схема полигона с привязкой к ближайшим населенным пунктам и указанием его площади;
- информация о расположенных на расстоянии до 500 метров от полигона посевах и посадках генно-инженерных растений и сельскохозяйственных культур традиционной селекции;
- перечень видов диких животных, обитающих на испытательном поле и на расстоянии до 300 метров от него, а также видов дикорастущих растений, произрастающих на примыкающих к опытному полю территориях и на расстоянии до 300 метров от опытного поля;
- описание типа почвы, системы севооборота, используемых удобрений, средств защиты растений от вредителей, болезней и сорняков.

Полигон должен иметь ограждение, препятствующее несанкционированному проникновению на его территорию людей и животных и обеспечивающее защиту генно-инженерных организмов от их несанкционированного перемещения за пределы испытательного поля и передачи ими свойств, приобретенных в результате генно-инженерной деятельности, другим организмам. Для этого предусматривается размещение видеокамер наблюдения, обеспечение охранной сигнализацией, подача светового и звукового предупредительных сигналов при движении кого-либо в сторону объекта, а в слу-

чае несанкционированного проникновения на территорию поля – прибытие милиции в течение двух минут.

Для предотвращения несанкционированного перемещения генетически модифицированных организмов за пределы испытательного поля на нем в обязательном порядке должно находиться оборудование для их уничтожения, хранилище продукции генно-инженерных организмов с обеспечением защиты от несанкционированного доступа к ней в том случае, если необходимо осуществлять хранение такой продукции, а также площадка или помещение для очистки техники после ее контакта с генно-инженерными организмами.

Организация или индивидуальный предприниматель, осуществляющие испытания генно-инженерных организмов на испытательном полигоне, должны контролировать эффективность мер защиты, указанных в подпункте 1.3 пункта 1 указанного выше Постановления, и соблюдать технику безопасности работ с генно-инженерными организмами. Они несут полную ответственность за нарушение безопасности генно-инженерной деятельности в порядке, установленном законодательством Республики Беларусь.

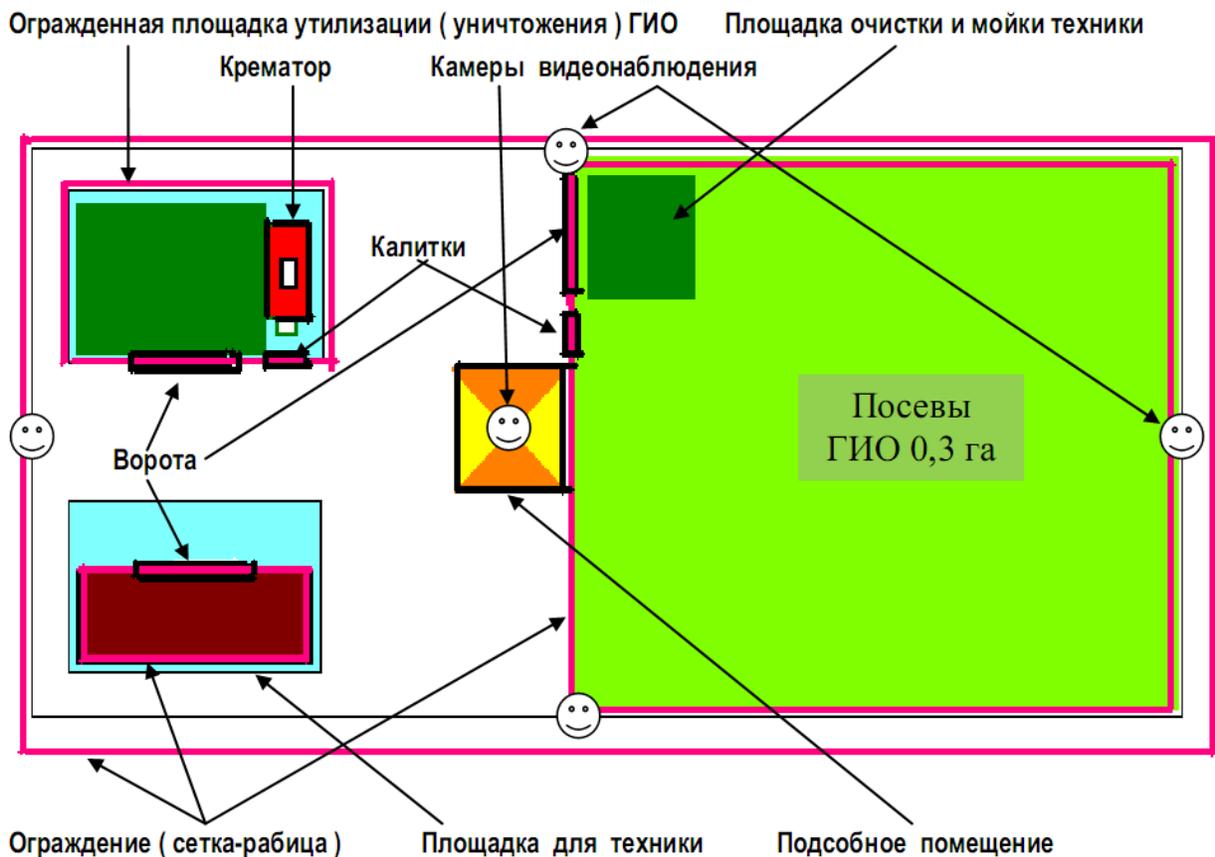


Рисунок 19 – Схема размещения объектов опытного поля (полигона) для испытаний непатогенных генно-инженерных организмов (ГИО)

Испытательный полигон (опытное поле) для трансгенных растений создается на основе технического задания, включающего проектирование объекта с учетом всех требований, указанных в Постановлении. На рисунке 19 представлена принципиальная схема такого полигона, создаваемого Институтом генетики и цитологии НАН Беларуси. Она может быть принята как типовая для организаций или индивидуальных предпринимателей, проводящих испытания ГМ-растений.

Все данные, полученные при испытании ГМ-растений на полигоне, вносятся в базу данных, обрабатываются и на их основе делаются выводы о степени безопасности (уровне риска) каждого конкретного ГМ-сорта и заключение о возможности (или невозможности) его использования в сельскохозяйственном производстве.

3.3 Контроль генетически модифицированных ингредиентов в пищевых продуктах и сельскохозяйственном сырье

Трансгенные технологии и пищевая продукция с генетически модифицированными ингредиентами. В настоящее время отмечается заметный рост новых технологий, связанных с созданием трансгенных растений и получением на их основе пищевой продукции. В результате этого возникает достаточно высокая доля вероятности попадания генетически модифицированных ингредиентов (ГМИ) в организм человека. Пищевые продукты, полученные путем генетической модификации, как правило, проходят более жесткую оценку на безопасность, чем традиционные продукты. При этом международное и национальные законодательства в области биобезопасности требуют учитывать право потребителя иметь информацию об использовании генно-инженерных технологий производства данного продукта.

Маркировка продукции, содержащей ГМИ. В разных странах используются различные нормативные требования в отношении маркировки продукции, содержащей ГМИ. В частности, в России и странах ЕС допускается отсутствие маркировки ГМ-продуктов при условии, если содержание ГМИ не превышает 0,9 %. Как отмечалось выше в разделе 2.2, в Республике Беларусь принята беспороговая система маркировки и исследование продуктов из сои и кукурузы согласно перечню таблицы 4.

Постановлением Минздрава и Госстандарта Республики Беларусь «Об утверждении перечня продовольственного сырья и пищевых продуктов, подлежащих контролю за наличием генетически модифицированных составляющих (компонентов) устанавливает порядок исследований и перечень продуктов, содержащих сою и кукурузу.

Методы детекции ГМИ. Цель анализов по определению ГМИ заключается в определении и количественной оценке в заданной матрице генетиче-

ских элементов или белков, свойственных генетически модифицированным организмам и произведенным из них продуктов.

При детекции ГМИ в практике используются следующие основные методы, основанные на:

- выявлении белков-продуктов трансгенов (ELISA-тест);
- детекции фрагментов ДНК, характерных для трансгенных вставок;
- полимеразная цепная реакция (ПЦР) + электрофорезе;
- ПЦР в реальном времени;
- ПЦР+детекция ДНК на биочипе.

Таблица 4 – Перечень продовольственного сырья и пищевых продуктов, подлежащих в Республике Беларусь контролю за наличием генетически модифицированных составляющих (компонентов)

Соя и продукты из сои	соя; соевые бобы; соевые проростки; концентрат соевого белка и его текстурированные формы; изолят соевого белка; соевая мука и ее текстурированные формы; заменитель молока (соевое молоко); консервированная соя; вареные и жареные соевые бобы; жареная соевая мука; продукты, полученные из (или с использованием) изолята соевого белка, соевой муки, сухого соевого молока; ферментированные соевые продукты; соевая паста и продукты из нее; соевый соус; продукты, полученные из (или с использованием) соевого молока (тофу, сквашенные напитки, мороженое, майонез и др.)
Кукуруза и продукты из кукурузы	кукуруза; кукуруза для непосредственного употребления в пищу (мука, крупа и др.); кукуруза замороженная и консервированная; попкорн; кукурузные чипсы; мука смешанная, содержащая кукурузную муку
Пищевые добавки	пищевые добавки, содержащие продукты из сои и (или) кукурузы
Детское питание	детское питание, полученное с использованием продуктов из сои и (или) кукурузы

Методы использования в качестве анализируемого показателя белок включают процедуры анализа на основе антител.

Методы, в которых в качестве анализируемого показателя используются нуклеиновые кислоты, основаны на выделении из пищевого продукта ДНК и определении факта ее генетической модификации посредством ПЦР. Методы базируются на идентификации рекомбинантной ДНК и направлены на выявление регуляторной последовательности промотора 35S вируса мозаики цветной капусты. Это обусловлено тем, что почти все генетически модифицированные растения, представленные в настоящее время на мировом продовольственном рынке, содержат одни и те же последовательности ДНК, регулирующие работу гена, кодирующего вносимый признак, а именно промотор 35S из вируса мозаики цветной капусты и терминатор NOS из *A. tumefaciens*. При контроле образцов на содержание ГМИ в Республике Беларусь используются два основных метода: ПЦР + электрофорез в агарозном геле и ПЦР в реальном времени (СТБ ГОСТ Р 52173-2005, СТБ П ISO 21569:2005).

Оба метода в Республике Беларусь получили достаточно широкое практическое распространение. Метод ПЦР в реальном времени является более дорогостоящим и обеспечивает пороговую чувствительность менее 0,1 %. В ряде случаев это может стать причиной получения так называемых *«ложно положительных» результатов*, поскольку стандартные образцы (референсные материалы) калибруются на наличие ГМИ с погрешностью не менее 0,1 %.

Опыт работы лаборатории детекции ГМО (ЛДГМО) Института генетики и цитологии НАН Беларуси. В ЛДГМО используется метод ПЦР + электрофорез, который позволяет определять ГМИ в продуктах питания с чувствительностью 0,1 %, которая была подтверждена при анализе референсных материалов. При такой чувствительности появление *«ложно положительных» результатов* практически исключено (при использовании стандартных референсных материалов), в то же время, чувствительность 0,1 % достаточна для проведения качественного анализа образцов на содержание ГМИ.

За время существования лаборатории проведено свыше 11 тыс. анализов на наличие ГМИ-образцов пищевых продуктов, содержащих сою и кукурузу, а также осуществлялся мониторинг пищевых продуктов по заказу Белорусского государственного института метрологии.

Цель такого мониторинга – получение результатов испытаний некоторых групп продуктов для возможного расширения перечня контролируемой на содержание ГМИ продукции, и установления порогового значения содержания ГМИ, при превышении которого продукция подлежит обязательной маркировке. По данным исследований ЛДГМО, в группах такой продукции, как томаты, рис, картофель, не обнаружен 35S промотор и сделан вывод об отсутствии ГМИ в этих продуктах.

Результаты определения ГМИ в пищевых продуктах по заказу организаций и индивидуальных предпринимателей, полученные за 2006–2010 гг. приведены в таблице 5.

Таблица 5 – Данные об испытаниях пищевой продукции на содержание ГМИ в ЛДГМО Института генетики и цитологии НАН Беларуси за 2006–2010 гг.

Год	Количество испытаний		Процент положительных результатов, %
	Общее	Положительные (соя – С, кукуруза – К)	
2006	312	3 (2С+1К)	1,00
2007	1746	16 (15С+1К)	0,92
2008	3131	62 (11К+51С)	1,98
2009	3482	39 (38С+1К)	1,12
2010	2374	3С	0,10
Итого	11045	123	1,10

В результате проведенных анализов установлено, что в среднем чуть больше 1 % продукции содержит ГМИ, в подавляющем числе случаев генетически модифицированную сою. Генетически модифицированная кукуруза обнаружена в единичных случаях. В состав продукции, содержащей ГМИ, попали соевый шрот, рыбные бургеры, куриные окорочка (за счет панировки). Наибольшее количество генетически модифицированных продуктов поступало в 2008 г. – около 2 %. В 2009 и 2010 гг. отмечено снижение относительного количества такой продукции. Однако определенные выводы о возможной тенденции к снижению ГМИ-продукции пока делать рано: необходим дальнейший набор статистически достоверных данных. Достигнутые результаты исследований ЛДГМО будут учитываться при совершенствовании и гармонизации законодательства в области биобезопасности и защиты прав потребителей.

Контрольные вопросы

1 Какими основными математическими выражениями определяется риск использования ГМО в коммерческом производстве?

2 Какой принцип является основным при осуществлении ГИД?

3 Как можно управлять риском при ГИД и использовании ГИО?

4 Что такое «испытательное поле» (или полигон) трансгенных растений? Для чего его создают?

5 Какие основные требования предъявляются к полигонам при испытании на них трансгенных растений?

6 Кто осуществляет контроль за использованием полигонов для испытаний трансгенных растений?

7 Что именно определяется при оценке риска от использования ГИО и на основании каких принципов?

8 Какие отличия характерны для законодательств Российской Федерации, стран ЕС и Республики Беларусь по маркировке ГМО-содержащей продукции?

9 Какие основные методы детекции ГМО применяются в Республике Беларусь, и каковы их отличительные особенности?

10 Что такое «ложно положительный» результат при детекции ГМО и продуктов, содержащих ГМИ?

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

1 Подготовить реферат на тему: «Риски современных биотехнологий в области генно-инженерной деятельности».

2. Сделать анализ информации интернет-сайта <http://biosafety.org.by/> НКЦБ, обосновать предложения по улучшению его качества и предоставить актуальные материалы для размещения в его рубриках.

3. Проанализировать литературу по алгоритмам оценки рисков различных трансгенных сортов растений (соя, хлопчатник, кукуруза и др.) перед их коммерческим использованием в сельском хозяйстве.

4 Подготовить реферат на тему: «Картахенский протокол по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии».

5 Подготовить электронную презентацию на тему: «Как создают генно-инженерные организмы».

6 Подготовить реферат на тему: «Генно-инженерная деятельность и экономика сельскохозяйственного производства».

7 Подготовить электронную презентацию на тему: «Чего больше в борьбе против внедрения ГМО в производство: политики, экономики, обеспечения биобезопасности?».

8 Проанализировать литературу по использованию генно-инженерных технологий в создании трансгенных сортов сельскохозяйственных растений.

9 Проанализировать литературу по методам определения ГМО в трансгенных растениях и продуктах, полученных на их основе.

10 Подготовить реферат на тему: «Понятие «риск»: (а) с точки зрения биобезопасности; (б) с позиции опасности ГИД».

11 Дать аналитический обзор основных правил управления риском, принятых в странах ЕС

12 Подготовить электронную презентацию на тему: «Сравнительный анализ основных принципов организации полигонов для полевых испытаний ГМО в разных странах мира».

СЛОВАРЬ ОСНОВНЫХ ТЕРМИНОВ

Агробактериальная трансформация – использование *Agrobacterium tumefaciens* или *A. rhizogenes* и их Ti- или Ri-плазмид для переноса чужеродных генов (ДНК) в реципиентный геном растений.

Агробактерия *Agrobacterium tumefaciens* – естественно встречающаяся в природе грамотрицательная почвенная бактерия рода *Rhizobium*, часто содержащая крупную Ti-плазмиду. Бактерии, несущие Ti-плазмиды, при инфицировании растений (в основном двудольных) вызывают на стебле и листьях опухольные образования, называемые корончатыми галлами. От этой болезни особенно сильно страдают виноградники. Образование *A. tumefaciens* опухолей – пока единственный известный случай естественной генетической трансформации у растений.

Vt-белки – инсектицидные белки *Bacillus thuringiensis*, экспрессируемые модифицированными растениями (так называемые Vt-защищенные растения), что обеспечивает безопасную технологию борьбы с насекомыми-вредителями.

Безопасность генно-инженерной деятельности, безопасность в биотехнологии (биобезопасность) – система мероприятий (законодательных актов и др.), направленная на предотвращение или снижение до безопасного уровня неблагоприятных воздействий ГМО на здоровье человека и окружающую среду при осуществлении генно-инженерной деятельности.

Биоинженерные продукты питания – продукты питания, которые были получены путем генетической модификации с использованием методов генетической инженерии.

Биолистика, биобаллистика – метод биологической баллистики. Трансфекция клеток методом бомбардировки их микрочастицами (металлическими микропулями), обернутыми ДНК.

Биологическое загрязнение – попадание в окружающую среду и распространение генетически модифицированных или экстремально токсичных организмов, главным образом бактерий и дрожжей. При проведении исследований с организмами, потенциально опасными для человека или живой природы в целом, предусматривается ряд мер, предотвращающих биологическое загрязнение. Нарушение этих мер влечет наказание, определенное законодательными и подзаконными актами, принятыми в стране происхождения.

Биологическое сдерживание (методы биобезопасности), биологическое "ограничение" – использование генетически неполноценных векторных молекул (сдерживающий вектор) и хозяйских организмов (сдерживающий хозяин), которые выживают только в специально создаваемых лабораторных условиях для работы с рекомбинантными ДНК и являются нежизне-

способными за пределами данной лаборатории. Эти меры безопасности создаются для того, чтобы снизить риск попадания рекомбинантных ДНК в микроорганизмы окружающей среды и их распространения в ней.

Биоразнообразие, биологическое разнообразие – мера изменчивости всего живого на биосистематическом, видовом и генетическом уровнях. Биоразнообразие на уровне биосистем описывает изменчивость среды обитания; на видовом уровне – количество видов и особей каждого из них; на генетическом – общая оценка (степень) генетического разнообразия.

Биотехнология – 1. Наука, изучающая возможности использования организмов, биологических процессов и систем в производстве, включая превращение различных видов сырья в высококачественные продукты. Основой современных биотехнологий являются генетическая и клеточная инженерия в сочетании с микробиологическим синтезом и широким набором методов биохимии, биоорганической химии и биопроцессорной инженерии. 2. Совокупность промышленных методов, использующих для производства живые организмы и биологические процессы, например в хлебопечении, виноделии, производстве некоторых лекарственных препаратов (эндокринных и т.п.), биологической очистке сточных вод и др.

Биотехнология сельскохозяйственная – применение ДНК-технологий в культивировании важных для сельского хозяйства растений и организмов.

Вектор, переносчик – 1. Молекула ДНК, способная к автономной репликации и включению в себя чужеродной ДНК (например, бактериальная плаزمиды). Является инструментом генной инженерии, обеспечивающим доставку (перенос) генетической информации в клетку-реципиент и ее клонирование. 2. Общее название, применяемое к молекуле ДНК, полученной из плазмиды или бактериофага, в которую могут быть вставлены или клонированы фрагменты ДНК. Вектор должен содержать один или более уникальных сайтов рестрикции для встройки чужеродной ДНК и быть способным к автономной репликации в определенном хозяине, промежуточном организме таким образом, чтобы репродуцировалась клонированная последовательность. Векторная молекула должна также давать организму хозяина некоторый хорошо определяемый фенотип, являющийся либо селективным (напр., устойчивость к антибиотикам), либо легко определяемым (например, образование бляшек).

Вектор плазмидный – плаزمиды, участвующая в переносе гена или генов чужеродной ДНК в клетку хозяина, где они обычно не присутствуют. Используется в одном из методов так называемой генетической манипуляции *in vitro* или генетической инженерии.

Векторы растений – векторы, используемые для экспрессии рекомбинантных генов в клетках растений, специфика которых обусловлена главным

образом регуляторными последовательностями нуклеотидов, которые обеспечивают эффективную транскрипцию генов в растительных тканях. Например, в известном векторе *pCaMV*САТ используются промотор и сайт полиаденилирования генов вируса мозаики цветной капусты, под контролем которых находится ген бактериальной хлорамфениколтрансферазы (*cat*). Этот ген-репортер применяется для оптимизации условий введения векторной ДНК в клетки растений и может быть заменен на любой иной ген. Вектор *pCaMV*САТ является челночным, т.е. может реплицироваться как в клетках *E. coli*, так и растений.

Векторы челночные, векторы бинарные – векторы, способные реплицироваться в клетках-хозяевах разных биологических видов. Интегрирующая плаزمида *pFH7* получена путем объединения двух репликонов, один из которых берет начало от плазмиды *pC194 B. subtilis*, а другой – от плазмиды *pBR322 E. coli*, что дает возможность вектору существовать и стабильно реплицироваться, как в клетках *E. coli*, так и *B. subtilis*.

Вертикальная передача генов (трансгенов) – передача генетического материала в поколениях половым путем.

Выделение ДНК – совокупность технических приемов, включающих этапы разрушения клеток или тканей, выделения ядер, обработки протеинкиназой К или другими типами протеиназ, депротенинизации ДНК фенолом и хлороформом, осаждения ее этанолом. В качестве дополнительной очистки используются обработка РНКазой и центрифугирование в градиенте плотности хлористого цезия.

Высвобождение ГМО в окружающую среду – санкционированное внесение ГМО в окружающую среду. Различают следующие виды преднамеренного высвобождения ГМО в окружающую среду: контролируемое высвобождение – ограниченные полевые испытания на изолированных участках – полигонах (в том числе испытания на экологическую безопасность) с применением специальных мер ограничения рисков; запланированное высвобождение – высвобождение в окружающую среду без использования специальных мер ограничения рисков (в том числе сортоиспытания); широкомасштабное высвобождение – высвобождение ГМО при использовании в хозяйственной деятельности.

Галл, цецидий – аномальный, опухолевидный вырост тканей на растениях, возникающий под действием некоторых микроорганизмов (беспозвоночные, грибы, бактерии, вирусы). Корончатые галлы образуются в результате экспрессии в клетках растения генов *Ti*-плазмиды.

Ген – основная физическая и функциональная единица наследственности; представляет собой специфическую последовательность нуклеотидов в

ДНК, которая устанавливает последовательность аминокислот в определенном белке.

Генами манипулирование – образование новых комбинаций генов *in vitro* путем присоединения интересующих фрагментов ДНК к вектору, который позволяет инкорпорировать (внедрять, включать) их в организм хозяина, где они могут быть размножены.

Генетическая инженерия (современная биотехнология, по терминологии Картахенского протокола) – технология получения новых комбинаций генетического материала путем проводимых вне клетки манипуляций с молекулами нуклеиновых кислот (ДНК или РНК) и переноса созданных конструкций генов в реципиентный организм, в результате которого достигается их включение и активность в этом организме и у его потомства.

Генетическая трансформация – приобретение новых генетических признаков организмом при искусственном внедрении в него чужеродной ДНК. Наиболее часто используемыми культурами для изучения генетической трансформации являются картофель, рапс и табак. Возрастает частота экспериментов с однодольными. Всего проходили испытания 38 различных видов трансгенных растений.

Генно-инженерная деятельность – деятельность, связанная с созданием, испытанием, использованием, ввозом и вывозом ГМО.

Генно-инженерный организм (ГИО) – живой организм, содержащий новую комбинацию генетического материала, полученную с помощью генетической инженерии. В литературе используют для обозначения таких организмов и иные термины: «генетически модифицированный организм» (ГМО), «генно–инженерно–модифицированный организм» (ГИМО), «организм с новыми признаками» (ОМП), «трансгенный организм». В Картахенском протоколе по биобезопасности используется термин «живой измененный организм, являющийся результатом применения современной биотехнологии», или просто «живой измененный организм» (ЖИО).

Генно-инженерные, трансгенные, генетически модифицированные продукты (ГМ-продукты) – продукты питания, состоящие из ГМО или содержащие их, обработанные материалы, происходящие от ГМО и содержащие поддающиеся обнаружению способные к воспроизводству молекулы ДНК, включающие трансгены.

Геном – совокупность генетического материала организма.

Гербицидоустойчивые трансгенные растения – растения, обладающие устойчивостью к гербицидам, которая закреплена на генетическом уровне.

Горизонтальная передача генов (трансгенов) – передача генетического материала от одного организма к другому путем, отличным от полового

скрещивания/размножения. Таким образом, может происходить перенос генов от очень отдаленных систематических групп организмов: от бактерий к растениям, от вирусов к животным, растениям и т.п.

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) – носитель наследственной информации у живых организмов. Высокомолекулярный полимер, состоящий из четырех дезоксирибонуклеотидов (аденин А, гуанин G, цитозин С и тимин Т), аperiodическим чередованием которых кодируется генетическая информация.

Дикий тип, стандартный тип – 1. Наиболее часто встречающийся фенотип (линии, организма) в природной популяции. 2. Признак, детерминированный нормальными, немутативными, аллелями. 3. Генетическая конституция организма перед началом экспериментов с преобразованием ДНК их геномов или плазмид. Следовательно, дикий тип – это произвольное обозначение генотипа, служащего для сравнения с экспериментальными типами.

ДНК геномная – тотальная ДНК, выделяемая из любого типа клеток, хромосом или их фрагментов.

ДНК-технология(и) – новая область науки и технологии, возникшая в результате расшифровки структуры ДНК и развития методов работы с ней. ДНК-технология можно определить как область современной биологии, которая изучает возможности конструирования наследственности и изменчивости, стремительно увеличивает наши знания в области наследственности и ее изменения естественным и экспериментальным путем.

Живой измененный организм (ЖИО) – любой живой измененный организм, обладающий новой комбинацией генетического материала, полученной благодаря использованию современной биотехнологии.

Картахенский протокол по биобезопасности (Протокол по биобезопасности) – международное соглашение, принятое в рамках Конвенции о биологическом разнообразии. Цель Протокола заключается в том, чтобы в соответствии с осмотрительным подходом, изложенным в Принципе 15 Рио-де-Жанейрской декларации по окружающей среде и развитию, оказывать содействие обеспечению надлежащего уровня защиты в области безопасной передачи, обработки и использования живых измененных организмов, являющихся результатом применения современной биотехнологии и способных оказывать неблагоприятное воздействие на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия, с учетом также рисков для здоровья человека и с уделением особого внимания трансграничным перемещениям.

Клонирование ДНК – использование технологии рекомбинантной ДНК для инсерции (включения) фрагмента ДНК, например, гена, в клонирующий вектор, и размножение этой последовательности путем трансформа-

ции вектора в подходящую клетку-хозяина, например, в клетки кишечной палочки.

Конвенция о биологическом разнообразии (КБР) – международное соглашение, принятое в Рио-де-Жанейро 5 июня 1992 г. Целями Конвенции являются сохранение биологического разнообразия, устойчивое использование его компонентов и совместное получение на справедливой и равной основе выгод, связанных с использованием генетических ресурсов, в том числе путём предоставления необходимого доступа к генетическим ресурсам и надлежащей передачи соответствующих технологий с учетом всех прав на такие ресурсы и технологии, а также путём должного финансирования. Конвенция была открыта для подписания Сторонами 5 июня 1992 г. и вступила в силу 29 декабря 1993 г.

Маркировка ГМО – способ обозначения присутствия ГМО в каком-либо продукте в виде белковых молекул или в виде молекул ДНК.

Механизм посредничества по биобезопасности (МПБ) – учрежден в рамках статьи 20 Протокола по биобезопасности с целью оказания содействия обмену научной, технической, природоохранной и юридической информацией и опытом в отношении живых измененных организмов; и оказания содействия Сторонам в осуществлении Протокола.

Национальный координационный центр по биобезопасности (НКЦБ) – национальный орган, отвечающий за связь с секретариатом КБР по проблемам биобезопасности.

Нопалин-синтазы ген, НОП-ген – ген, кодируемый *Ti*-плазмиды из *Agrobacterium tumefaciens*. Кодирует фермент нопалин-синтазу и экспрессируется только в трансформированных клетках растения (корончатые галлы). Часто используется в качестве репортерного в экспериментах по трансформации растений. Его промотор и терминирующие последовательности встраиваются в растительные векторы.

Обстрел частицами – метод прямого переноса генов в клетки, ткани и органы целых растений. Для этого на золотые или вольфрамовые частицы (0,4–1,7 мк) наносится ДНК, затем эти частицы выстреливаются в клетки с помощью специально сконструированных пушек. Проходя через клетку, ДНК отделяется от частиц и может интегрировать в ядерный геном. Эта техника имеет определенные преимущества перед другими методами прямого переноса генов, поскольку в качестве мишени можно использовать целые клетки (не протопласты) и ткани.

Опин – одна из серии необычных аминокислот или производных сахара, специфически синтезирующихся раковыми клетками корончатых галлов, образованных агробактерией *Agrobacterium tumefaciens*. Гены опина находятся на *Ti*-плазмиде недалеко от правой границы *T*-ДНК и не транскрибируются

(или транскрибируются очень слабо) в агробактериях, однако после интеграции в геном растения экспрессируются конститутивно. Для агробактерий опины служат источником углерода, азота и энергии. Кроме того, они активируют *tra*-гены *Ti*-плазмиды и таким образом способствуют распространению плазмиды в бактериальной популяции. У растений являются маркерами рака.

Оценка риска – экологическая экспертиза ЖИО, проводимая в рамках регламентационного процесса в соответствии со статьей 15 Протокола.

Плазида – экстрахромосомный (внехромосомный) генетический элемент, закрытая кольцевая, автономно реплицирующаяся дуплексная молекула ДНК, имеющая размеры от 1 до 200 и более кб и от одной до нескольких сот копий на бактериальную клетку (1 – 3% клеточного генома). Число копий П. может зависеть от факторов среды. П. обычно придают селективные преимущества клетке хозяина (напр., устойчивость к антибиотикам). Конъюгативные П. имеют набор генов, обеспечивающих их перенос в другие клетки.

Плазмидный клонирующий вектор – плазида, сконструированная для клонирования чужеродной ДНК с помощью техники рекомбинантной ДНК. Обычно имеют небольшой размер, реплицируются под ослабленным контролем, содержат селективные маркерные гены, гены, кодирующие ферменты и легко анализируемые и уникальные сайты рестрикции, или полилинкеры.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – процесс амплификации *in vitro*, при котором фрагмент ДНК длиной до 15 кб может быть амплифицирован (размножен) до 10⁸ раз (копий). ПЦР нашла широкое распространение в молекулярной биологии, и на ее основе разработано множество методов анализа геномов. Имеет место также инвертированная полимеразная цепная реакция – это модификация обычной ПЦР, позволяющая амплифицировать неизвестные последовательности ДНК, прилежащие к коровой области известной последовательности.

Потенциальная принимающая среда – экосистема или место обитания, включая человека и животных, которые могут вступать в контакт с ГМО после их высвобождения.

Промотор – цис-(действующая) активная последовательность ДНК длиной 80–120 п. о., расположенная перед сайтом инициации гена, с которым может связываться РНК-полимераза и инициировать транскрипцию.

Прямой перенос генов – метод, позволяющий переносить гены (обычно последовательности ДНК) в реципиентный геном без использования векторов. Может осуществляться несколькими методами: осаждением с помощью кальций-фосфата или *DEAE*-декстрана, электрофоретической трансфек-

цией, электропорацией, обстрелом ткани микрочастицами, микроинъекцией и др.

Ri-плазмида; плазмида, индуцирующая образование корней – большая конъюгативная плазмида грамотрицательной почвенной бактерии *Agrobacterium rhizogenes*, которая является причиной болезни "волосатый корень" у двудомных растений.

Реестр экспертов – реестр назначаемых правительствами экспертов по биобезопасности, учрежденный КС для предоставления консультативной и другой помощи Сторонам, являющимся развивающимися странами, и Сторонам с переходной экономикой в области трансграничных перемещений живых измененных организмов.

Рекомбинантная ДНК (рекДНК) – новая последовательность ДНК, (1) образованная *in vitro* путем лигирования двух или более негомологичных молекул ДНК, или (2) объединение *in vitro* чужеродных (никогда в природе вместе не существующих) фрагментов ДНК в составе вектора с использованием методов генной инженерии. Организмы, содержащие такие *in vitro* сконструированные ДНК, также относятся к рекомбинантам (рекомбинантный фаг, бактерия).

Рекомбинантная плазмида, гибридная плазмида – плазмида, состав которой искусственно изменен методами генной инженерии таким образом, что она включает в себя участки ДНК разных плазмид или последовательности нуклеотидов, выделенных из хромосом какого-либо организма.

Рекомбинация генетическая (естественная) – получение новых комбинаций генов у потомков по сравнению с родительскими формами. В основном происходит в процессе образования половых клеток (мейозе) путем обмена участками ДНК между гомологичными хромосомами.

Репликация – многоэтапный внутриклеточный процесс точного самовоспроизведения молекул нуклеиновых кислот.

Риск – вероятность осуществления нежелательного (нецелевого) воздействия ГМО на здоровье человека и окружающую среду вследствие функционирования или передачи трансгенов другим организмам.

Рибонуклеиновая кислота (РНК) – преимущественно, одонитчатый низкомолекулярный полинуклеотид, в котором чередуются нуклеотиды аденин, гуанин, цитозин и урацил (вместо тимина). В качестве сахара в РНК входит рибоза. В функции мРНК (матричной, информационной РНК) входит передача генетической информации от ДНК к месту «сборки» белков – рибосомам. Транспортные РНК (тРНК) распознают и доставляют к рибосомам молекулы определенных аминокислот. У некоторых вирусов генетическая информация записана не в ДНК, а в РНК.

Сайты интеграции трансгенов – специфические сайты, используемые для включения трансгенов в хромосомы при их переносе. Исследования районов локализации интегрированных генов у трансгенных организмов показали, что интеграция является неспецифической, и трансгены хаотически разбросаны по хромосомам в количестве копий от одного до более десяти, т.е. перенос ДНК в специфические сайты хромосом отсутствовал.

Секретариат КБР – секретариат, учрежденный Конвенцией о биологическом разнообразии, который выполняет функции, изложенные в статье 24 КБР. На секретариат, находящийся в настоящее время в Монреале (Канада), возлагаются дополнительные обязанности в связи с Протоколом по биобезопасности, заключающиеся в выполнении и функций секретариата Протокола по биобезопасности. Секретариат поддерживает Центральный портал МПБ.

T-ДНК, переносимая ДНК – часть *Ti*-плазмиды в вирулентной *Agrobacterium tumefaciens* или *Ri*-плазмиды в вирулентной *Agrobacterium rhizogenes*, которая переносится из бактерии в ядерный геном растительных клеток. Там она стабильно интегрируется в геном и экспрессируется, вызывая постоянную пролиферацию (размножение) хозяйских клеток в опухоль (корончато-галловые опухоли или болезнь "бородатый"/"волосатый" корень).

Ti-плазида, плазида, индуцирующая опухоль – крупная конъюгативная плазида около 200 мД, обнаруженная во всех вирулентных штаммах грамотрицательных почвенных бактерий *Agrobacterium tumefaciens*. Содержит гены *oriV* – для репликации, *tra* – для переноса плазмиды, *Ape* – для удаления фагов, *Inc* – гены несовместимости, *vir*-область – вирулентности, *Roi*, *Shi* – индукции корней и побегов, *Nos*, *Ocs*, *Agc* – синтеза опинов в растениях, *Noc*, *Occ*, *Agc*, *Arc* – катаболизма опинов и *Psc* – катаболизма сахаров.

Технология рекомбинантных ДНК – методы получения новых последовательностей ДНК путем соединения *in vitro* (в пробирке) двух или более негомологичных молекул ДНК и внедрения их в клетки живых организмов, где они могут реплицироваться.

Трансген – ген, перенесенный из одного организма в другой или клетку, генно-инженерная конструкция, включающая ген(ы), который(ые) предполагается передать реципиентному организму, и генетические элементы, необходимые для его (их) переноса, инкорпорации в геном ядра или клеточных органелл и обеспечения активности в этом организме и у его потомства.

Трансгена экспрессия – характер экспрессии искусственных генных конструкций, введенных с использованием разных векторов, в частности вирусных геномов, зависит от присутствия различных регуляторных последовательностей в конструкции, количества интегрирующихся копий, места их интеграции в клеточные хромосомы. Две основные исследовательские проблемы

– «молчание» трансгена и стабильность его интегрированности в геном хозяина в поколениях.

Трансгенный организм – 1. Организм, в геном которого с использованием методов генетической инженерии перенесена чужеродная ДНК, экспрессирующаяся в нем. 2. Организм, несущий в своем геноме рекомбинантный ген.

Физическое сдерживание, методы безопасности – физико-технические меры безопасности, направленные на предотвращение неконтролируемой утечки живых организмов, содержащих рекомбинантные или иные опасные ДНК, из лабораторий или производственных помещений. Большинство стран пользуется четырьмя уровнями безопасности (*BL1–BL4*): *BL1* – наиболее низкий уровень, когда не требуется отдельная лаборатория, специальное защитное оборудование и специальное обучение персонала (достаточно владеть обычной микробиологической техникой); *BL2* – этот уровень требует ограничения доступа в лабораторию, биологически безопасных покрытий в комнатах и автоклавов; *BL3* – требует основательных дополнительных мер: правом доступа в лабораторию обладают только лица, имеющие разрешение, и специально обученный персонал, который должен носить защитную одежду; все поверхности в таких лабораториях должны быть защищены, а лаборатории – оборудованы воздушными шлюзами и обязательно обеспечены отрицательным давлением воздуха; *BL4* – наиболее строгий уровень защиты, требующий специального отдельного здания без окон, централизованной встроенной системы очистки воды и воздуха, наличия воздухо непроницаемых дверей (шлюзов) и защитной одежды с повышенным давлением.

Фиторемедиация – применение растений и симбиотических микроорганизмов для очистки почв, грунтовых вод, атмосферы от тяжелых металлов, радионуклидов и других соединений-загрязнителей. Фиторемедиация имеет ряд преимуществ перед физическими методами ремедиации, в частности может применяться на больших площадях, обходится значительно дешевле, не требует специального оборудования, способствует снижению эрозии почв. В последние годы стали разрабатывать новые генно-инженерные подходы к использованию растений для фиторемедиации.

Хромосомные мутации – структурные изменения хромосом вследствие перемещения или выпадения их сегментов в результате разрывов и соединения концов (межгенные мутации). Могут происходить как в пределах одной хромосомы, так и между гомологичными или негомологичными хромосомами. В любом случае это перемещение или потеря значительных по размерам генных блоков и соответственно изменение соотношения групп сцепления.

Хромосомы – основной материальный носитель наследственной информации. Самовоспроизводящиеся структуры, представляющие комплекс ДНК и белков в ядрах эукариотических клеток (клеток высших организмов, имеющих клеточное ядро). В каждой хромосоме содержится по одной молекуле ДНК. Количество хромосом для каждого вида высших организмов является строго определенной постоянной величиной и обычно выражено четным числом. При делении ядра и клетки поведение хромосом подчиняется определенным закономерностям.

Хромосомы гомологичные – парные хромосомы, у которых одинаковые локусы (место расположения отдельного гена на хромосоме) расположены в одной и той же линейной последовательности.

Цепь, нить ДНК – линейная полимерная молекула ДНК. Выделяют: а) кодирующую цепь – нить двухцепочечной ДНК, несущей информацию о синтезе белковой молекулы; б) комплементарные цепи, характеризующиеся тем, что если в одной из них в каком-либо месте стоит аденин (А), то в другой, в этом месте, должен стоять тимин (Т) и наоборот. Точно так же против гуанина (G) в другой цепи должен находиться цитозин (С), и наоборот. Комплементарность очень важна для копирования (репликации) ДНК; в) некодирующую цепь двухцепочечной ДНК, комплементарную кодирующей цепи, но не используемую для синтеза молекулы белка.

Челночный вектор, бифункциональный вектор, шаттл-вектор – плазмидный клонирующий вектор, содержащий последовательности ДНК, которые обеспечивают его селекцию и автономную репликацию в двух различных организмах (напр., *S. cerevisiae* и *E. coli* или *A. tumefaciens* и *E. coli*).

Эксперт по биобезопасности – специалист, обладающий экспертными знаниями в одной или нескольких дисциплинах, связанных с биобезопасностью, кандидатура которого выдвинута правительством для включения в реестр экспертов по биобезопасности.

Экспрессионный вектор для растений – плазмидный клонирующий вектор, специально сконструированный для эффективной транскрипции клонированных фрагментов ДНК и трансляции соответствующих транскриптов в растительных клетках. Такие векторы содержат конститутивный высокоактивный (сильный) промотор (например, *CaMV35*-промотор) или индуцибельный (гормонами, светом), или регулируемый. Сразу за промотором инсерцируется соответствующий сайт клонирования и последовательность, терминирующая транскрипцию у растений. Любой чужеродный ген без промотора, клонированный в такой экспрессионный вектор, активно экспрессируется в трансгенных растениях.

Электропорация, электротрансформация – метод для прямого переноса макромолекул (ДНК) в клетки путем пробивания клеточных мембран короткими (1 мсек) электрическими импульсами, во время которых молекулы ДНК успевают проникнуть в клетку. Они могут оставаться в цитоплазме или ядре и быстро деградировать, но могут и ковалентно интегрировать в геном ядра или органеллы. Электропорация используется для повышения частоты генетической трансформации.

ЛИТЕРАТУРА

* *Бутенко, Р. Г.* Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе / Р. Г. Бутенко. – М.: ФБК–ПРЕСС, 1999.

* *Глик, Б., Пастернак, Дж.* Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак. – М: Мир, 2002.

* *Ермишин, А. П., Подлиских, В. Е., Воронкова, Е. В., Аношенко, Б. Ю., Зарьков, В. М.* Биотехнология. Биобезопасность. Биоэтика / А. П. Ермишин [и др.]. – Минск: Тэхналогія, 2005.

** *Зеехофер, Х.* Зеленая генная инженерия / Х. Зеехофер. – Берлин, 2008. [Эл. ресурс: www.biosicherheit.de; дата доступа: 22.07.2010].

** *Кузнецов, Вл. В., Куликов, А. М., Митрохин, А. М., Цыдендамбаев, В. Д.* Генетически модифицированные организмы и биологическая безопасность / Вл. В. Кузнецов [и др.] // Федеральный вестник экологического права «Экоинформ». – 2004. – № 10. – С. 3–64.

** *Brookes, G., Barfoot, P.* GM crops: The global economic and environmental impact – The first nine years 1996–2004 / G. Brookes, P. Barfoot // AgBioForum. 2005. V.8. No. 2–3. P.187–196.

** *James, C.* Global status of commercialized biotech / C. James // ISAAA brief No.39. – New-York, 2008.

** *Qaim, M.* The economics of genetically modified crops / M. Qaim // The Ann. Rev. Res. Economics. 2009. V.1. P.665–693.

** *Steward, C. N.* Plant biotechnology and genetics: principles, techniques and applications / C. N. Steward. – Hoboken (NJ, USA), 2008.

*** <http://www.biodiv.org/biosafety/protocol.asp>

*** <http://www.gmo-compass.org/eng/home/>

*** <http://biosafety.org.by>

*** <http://biosafety.ru>

*** <http://www.gmo.com.ua>

*** <http://www.transgen.de>

*** <http://www.isaaa.org>

*** <http://bch.cbd.int/>

*** <http://www.aboutus.org/AgBios.com>

*** <http://www.belgim.by/>

Условные обозначения:

* основная литература;

** дополнительная литература;

*** интернет–сайты.

Учебное издание

Дромашко Сергей Евгеньевич, **Ермишин** Александр Петрович,
Макеева Елена Николаевна и др.

**ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ОРГАНИЗМЫ И
ПРОБЛЕМЫ БИОБЕЗОПАСНОСТИ**

Учебно-методическое пособие

Редактор и корректор А. А. Сычёв

Компьютерная верстка С. Е. Дромашко