

Информация о проведении
оценки рисков непатогенных
генетически модифицированных
организмов перед их первым
выпуском в окружающую среду

Г.В. Мозгова

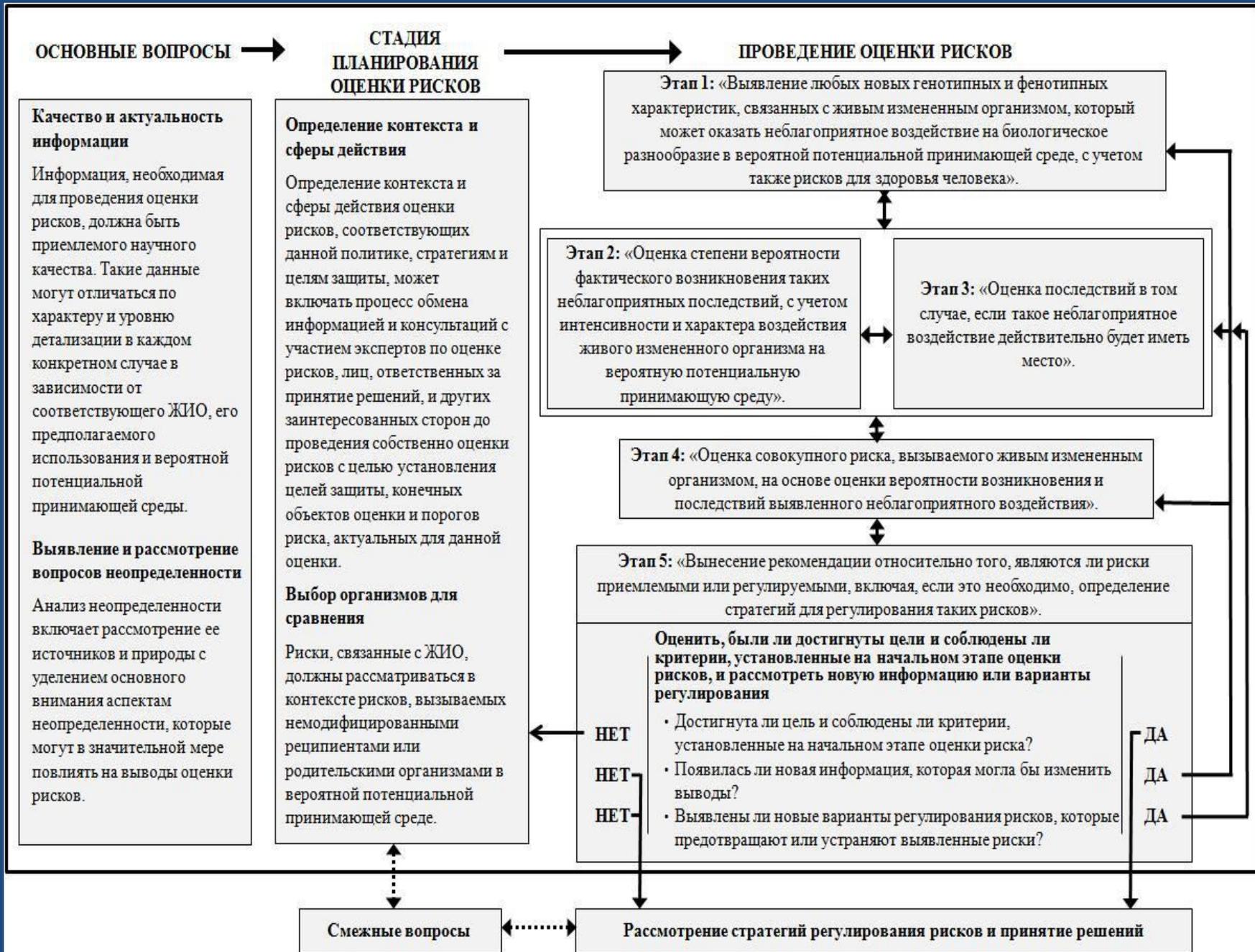
старший научный сотрудник лаборатории
генетики и клеточной инженерии растений

Цель проведения оценки рисков заключается в выявлении и оценке потенциального неблагоприятного воздействия живых измененных организмов на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия в потенциальной принимающей среде, с учетом также рисков для здоровья человека.

- Основные принципы оценки риска (Приложение III к Картахенскому протоколу):

- 1. Оценка рисков должна осуществляться научно обоснованным и транспарентным образом, и при ее проведении могут учитываться экспертные рекомендации и руководящие положения, разработанные соответствующими международными организациями.
- 2. Отсутствие научных знаний или научного консенсуса не должно обязательно истолковываться как указание на определенный уровень наличия риска, отсутствие риска или приемлемость риска.
- 3. Риски, связанные с живыми измененными организмами или содержащими их продуктами, т.е. обработанными материалами, происходящими от живого измененного организма и содержащими поддающиеся обнаружению новые комбинации воспроизводимого генетического материала, которые получены в результате использования современной биотехнологии, должны рассматриваться в контексте рисков, вызываемых немодифицированными реципиентами или родительскими организмами в вероятной потенциальной принимающей среде.
- 4. Оценка рисков должна осуществляться на индивидуальной основе. Требуемая информация может отличаться по характеру и уровню детализации в каждом конкретном случае в зависимости от соответствующего живого измененного организма, его предполагаемого использования и вероятной потенциальной принимающей среды.

БЛОК-СХЕМА ПРОЦЕССА ОЦЕНКИ РИСКОВ



ЗАКОН О БЕЗОПАСНОСТИ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ № 96 (9 января 2006 г.)

ГЛАВА 4 ГОСУДАРСТВЕННАЯ ЭКСПЕРТИЗА БЕЗОПАСНОСТИ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ ОРГАНИЗМОВ

Статья 20. Государственная экспертиза безопасности генно-инженерных организмов

Государственной экспертизе безопасности генно-инженерных организмов подлежат непатогенные генно-инженерные организмы при их первом высвобождении в окружающую среду для проведения испытаний и при государственной регистрации сортов генно-инженерных растений, пород генно-инженерных животных и штаммов непатогенных генно-инженерных микроорганизмов, предназначенных для использования в хозяйственных целях.

ПОЛОЖЕНИЕ о порядке проведения государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов и примерных условиях договоров, заключаемых для ее проведения (№1160, 8.09.2006)

- П. 3. К заявлению прилагаются:

информация об оценке риска возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на здоровье человека и окружающую среду, а также о мерах по предупреждению такого риска (далее - информация об оценке риска), для генно-инженерных организмов, относящихся к высшим растениям в соответствии с перечнем информации согласно приложению 2, для генно-инженерных организмов, относящихся к прочим организмам, отличным от высших растений, в соответствии с перечнем информации согласно приложению 3 на бумажном и электронном носителях.

Приложение 2 ПЕРЕЧЕНЬ

информации об оценке риска возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов, относящихся к высшим растениям (голосеменным и покрытосеменным), на здоровье человека и окружающую среду, а также о мерах по предупреждению такого риска

- 1. Информация о биологических особенностях реципиентного организма:
 - 1.1. полное название: семейство; род; вид; подвид; сорт/селекционная линия; обычное название;
 - 1.2. информация, касающаяся особенностей размножения: способ(ы) размножения; специфические факторы, влияющие на размножение; время производства потомства; половая совместимость с другими культивируемыми или дикими видами;
 - 1.3. выживаемость в окружающей среде: способность образовывать структуры для выживания или переходить в состояние покоя, специфические факторы, влияющие на выживаемость;
 - 1.4. рассеивание: пути и степень рассеивания;
 - специфические факторы, влияющие на рассеивание;
 - 1.5. географическое распространение;
 - 1.6. описание мест естественного произрастания, включая информацию о естественных хищниках, паразитах, конкурентах и симбионтах;
 - 1.7. потенциально значимое взаимодействие с организмами, отличными от растений, в экосистемах, характерных для обычного произрастания, включая информацию о токсичности для людей, животных или других организмов.

2. Информация о биологических особенностях организмов доноров:

- 2.1. полное название: семейство; род; вид; подвид; сорт/порода/штамм; обычное название;
- 2.2. происхождение организмов доноров;
- 2.3. биологические характеристики организмов доноров.

3. Биологические особенности вектора:

- 3.1. природа и происхождение вектора, естественная среда обитания и соответствующие характеристики безопасности;
- 3.2. структура транспозонов, промоторов и других некодирующих генетических сегментов, использованных для создания генетической конструкции, необходимых для ее переноса и функционирования в реципиентном организме;
- 3.3. частота мобилизации (способность приобретения мобильности) встроенного вектора или переноса в другие организмы;
- 3.4. факторы, которые могут влиять на способность вектора адаптироваться в других организмах-хозяевах

4. Информация, относящаяся к характеру генно-инженерной модификации:

- 4.1. методы, использованные при создании, переносе трансгенной конструкции и отборе трансгенных организмов;
- 4.2. описание встроенного в геном (плазмон) реципиентного организма фрагмента ДНК (размер и источник, то есть название донорного организма(ов) и предполагаемая функция каждого составного элемента или района встроенной ДНК, включая регуляторные и другие элементы, влияющие на функционирование трансгенов), структура (сиквенс) и функциональное соответствие встроенного фрагмента ДНК, присутствие в нем известных потенциально опасных последовательностей;
- 4.3. наличие во встроенной ДНК каких-либо неизвестных последовательностей и информация том, в какой степени вставка ограничена ДНК, необходимой для осуществления предполагаемой функции;
- 4.4. характеристика сайта модификации реципиентного генома (плазмона), локализация вставки (инкорпорирована в хромосому, хлоропласты, митохондрии или находится в неинтегрированном состоянии);
- 4.5. стабильность инкорпорации привнесенной ДНК в геном (плазмон) реципиентного организма;
- 4.6. количество копий трансгенов;
- 4.7. описание методики обнаружения и идентификации встроенного фрагмента ДНК, чувствительность, надежность и специфичность этой методики.

5. Информация, относящаяся к биологическим особенностям генно-инженерных организмов:

5.1. описание генетических признаков или фенотипических характеристик, в особенности новых признаков и характеристик, которые стали проявляться или перестали проявляться генно-инженерных организмов по сравнению с реципиентным организмом;

5.2. генетическая стабильность генно-инженерных организмов;

5.3. степень и уровень экспрессии трансгена(ов). Метод оценки экспрессии трансгена, его чувствительность;

5.4. активность и свойства протеина(ов), кодируемых трансгеном(ами);

5.5. части растения, в которых трансгены экспрессируются (корни, листья, пыльца и т.д.);

5.6. история прежних генно-инженерных модификаций генно-инженерных организмов;

5.7. характеристика генно-инженерных организмов в связи с безопасностью для здоровья человека: токсические или аллергенные эффекты генно-инженерных организмов и/или продуктов, полученных из генно-инженерных организмов;

5.8. предлагаемые методы обнаружения и идентификации генно-инженерных организмов, их точность, чувствительность и надежность.

6. Информация о потенциальной принимающей среде:

6.1. местоположение участка, где будет осуществляться высвобождение (область, район, населенный пункт, принадлежность земельного участка землевладельцу или землепользователю с его полным наименованием);

6.2. близость к заповедникам, заказникам и другим природоохранным объектам и территориям;

6.3. описание участка: размер и обработанность, климатическая, геологическая и почвоведческая характеристика, флора и фауна;

6.4. сравнение мест естественного обитания реципиентных организмов с предполагаемым местом высвобождения генно-инженерных организмов;

6.5. методы вмешательства в природу участка (методы культивации, ирригации и т.п.)

7. Информация о взаимодействии генно-инженерных организмов с окружающей средой:

7.1. биологические особенности генно-инженерных организмов (по сравнению с интактными реципиентными организмами), которые могут оказывать влияние на выживаемость, размножение и распространение в потенциальной принимающей среде;

7.2. известные и прогнозируемые условия потенциальной принимающей среды, которые могут оказывать влияние на выживаемость, размножение, рассеивание генно-инженерных организмов;

7.3. конкурентное преимущество генно-инженерных организмов (по сравнению с интактными реципиентными организмами);

7.4. вероятность проявления у генно-инженерных организмов в потенциальной принимающей среде нежелательных свойств, признаков;

7.5. вероятность резкого увеличения численности популяции генно-инженерных организмов в потенциальной принимающей среде;

7.6. способность к переносу генетической информации: наличие в потенциальной принимающей среде диких или культурных родственных видов, способных к гибридизации с генно-инженерными организмами, вероятность переноса трансгенов от генно-инженерных организмов к таким организмам;

7.7. идентификация и описание организмов-мишеней продуктов трансгенов;

7.8. предполагаемый механизм и результат взаимодействия генно-инженерных организмов с организмами-мишенями;

7.9. идентификация и описание организмов, не являющихся мишенями продуктов трансгенов, которые могут быть подвержены влиянию генно-инженерных организмов;

7.10. другие потенциально возможные взаимодействия генно-инженерных организмов с окружающей средой;

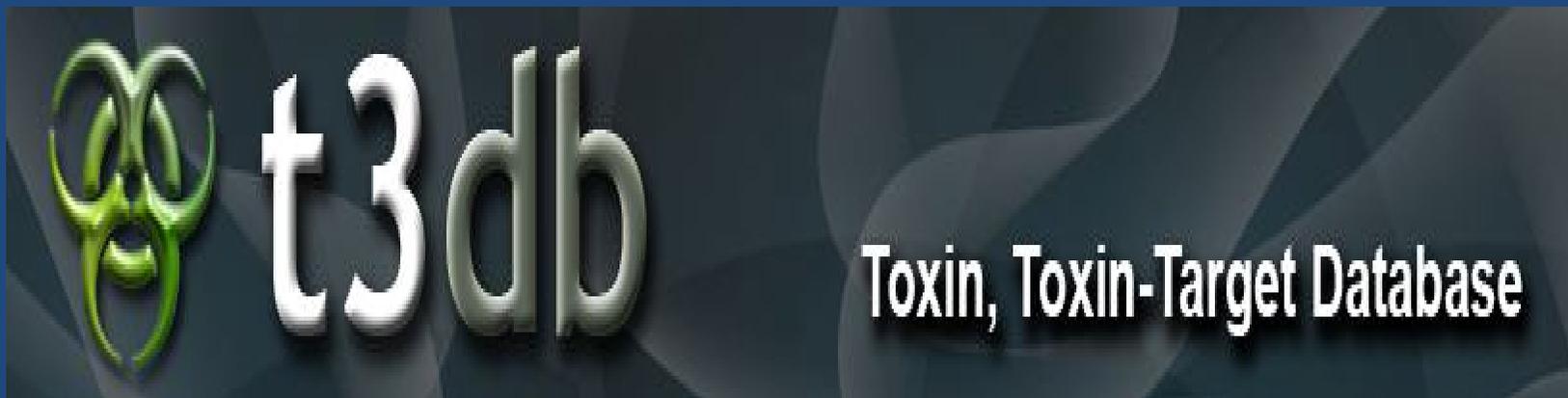
7.11. информация, касающаяся предполагаемого вида использования генно-инженерных организмов, включая новый или измененный вид использования по сравнению с организмом реципиентом

8. Информация об осуществлении высвобождения генно-инженерных организмов в окружающую среду, о мониторинге, контроле, очистке территории и действиях при непредвиденных обстоятельствах в ходе высвобождения и проведения испытаний:

- 8.1. информация о высвобождении генно-инженерных организмов: описание процесса предполагаемого высвобождения генно-инженерных организмов, цели высвобождения; предполагаемые сроки начала и окончания высвобождения и календарный план экспериментов, связанных с высвобождением, включая количество и продолжительность экспериментов; предполагаемое количество высвобождаемых генно-инженерных организмов, количество генно-инженерных организмов на единицу площади участка; расстояние от участка до посадок растений диких и культурных родственных видов, способных к гибридизации с генно-инженерными организмами; информация о наличии и результатах предыдущих высвобождений генно-инженерных организмов в окружающую среду;
- 8.2. методы мониторинга: методы наблюдения за генно-инженерными организмами, а также мониторинга их возможных взаимодействий с потенциально уязвимыми элементами окружающей среды; специфичность, то есть возможность идентифицировать генно-инженерные организмы, отличить их от реципиентных организмов, а также чувствительность и надежность методов мониторинга генно-инженерных организмов; методы выявления переноса трансгенов другим организмам; продолжительность и частота мониторинга;
- 8.3. контроль высвобождения генно-инженерных организмов: меры, которые предполагается использовать для предотвращения рассеивания пыльцы, семян генно-инженерных организмов; методы и процедуры, направленные на охрану территории высвобождения от вторжения посторонних лиц; методы и процедуры, предохраняющие территорию от нежелательного посещения другими организмами;
- 8.4. очистка территории: процедура обработки участка по завершении высвобождения; методы удаления генно-инженерных организмов по завершении экспериментов;
- 8.5. план действий в чрезвычайных ситуациях, связанных с непредвиденным распространением генно-инженерных организмов: методы и процедуры контроля генно-инженерных организмов в случае непредвиденного распространения; методы утилизации или оздоровления растений, животных и т.д., которые оказались подвергнуты воздействию генно-инженерных организмов в ходе или после их непредвиденного распространения; планы защиты здоровья человека и охраны окружающей среды в случае обнаружения нежелательных воздействий генно-инженерных организмов.

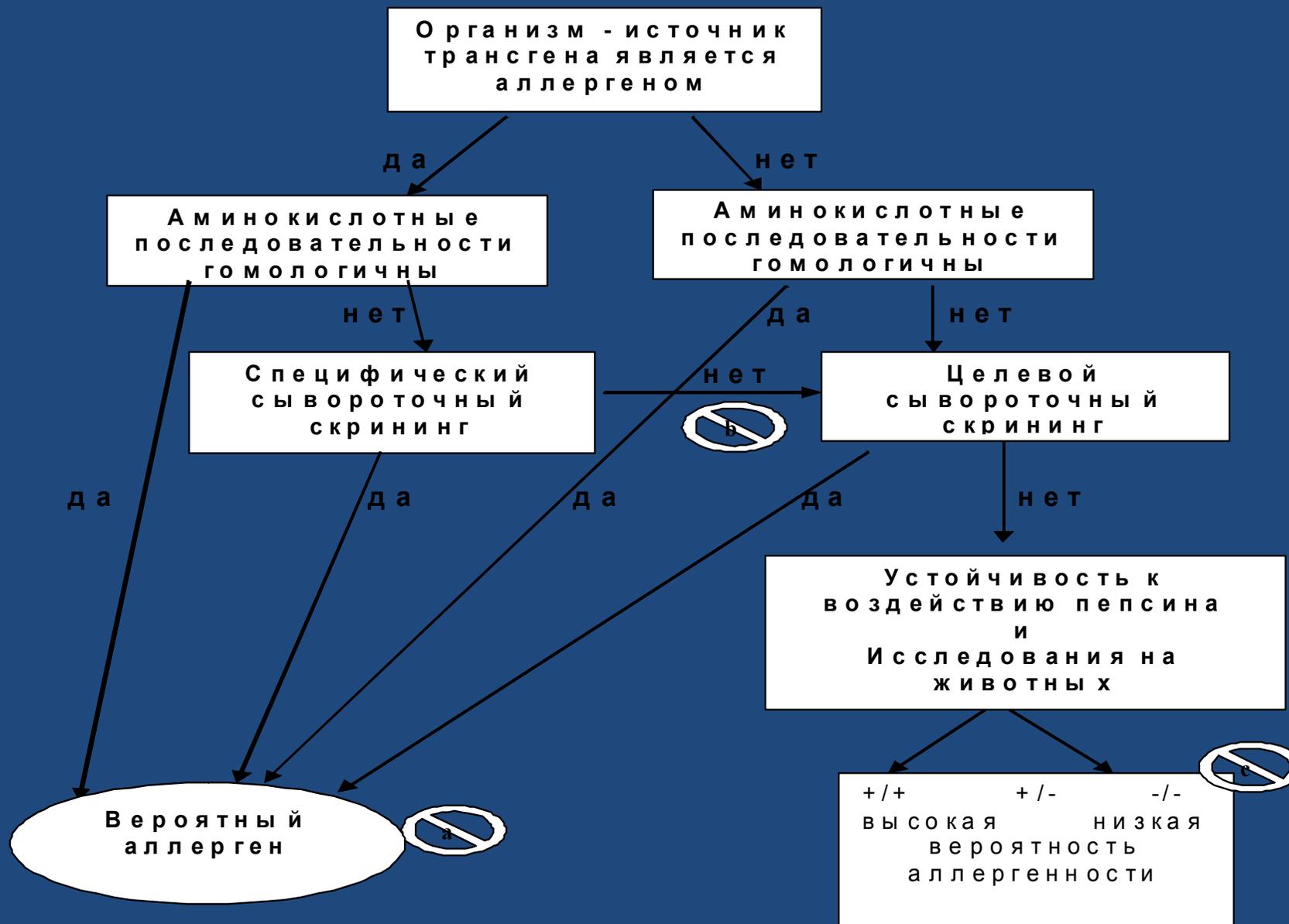
Оценка потенциальной токсичности белков ГМ растений

- В случае синтеза в ГМО новых белков/метаболитов, которые не имеют истории употребления в пищу, оценка потенциальной токсичности проводится на индивидуальной основе с использованием следующих методов:
- 1. определяется наличие или отсутствие гомологии новых белков с токсинами белковой природы, а также с белками, обладающими фармакологической, или иной биологической активностью (при использовании специализированных баз данных, например, SuperToxic);
- Информация о специализированных базах данных для оценки токсичности на сайте: <http://www.t3db.org/databases>



- 2. изучается стабильность белка при обработке, хранении, технологической переработке; влияние температуры и pH, возможные модификации и/или образование стабильных белковых фрагментов в результате различных воздействий;
- 3. исследуется устойчивость белка к обработке протеолитическими ферментами в эксперименте *in vitro*; Устойчивость (пп. 2 и 3) указывает на длительное сохранение биологической активности трансгенного белка в желудочно-кишечном тракте и возможную токсичность.
- 4. Если доказано структурное сходство белка с известными токсинами либо возможность длительного сохранения его биологической активности, проводят дальнейшее исследование токсичности в экспериментах на модельных животных:
 - а) исследования острой пероральной токсичности белка (в эксперименте на грызунах);
 - б) определение токсичности в субхронических экспериментах (данные 90-дневных исследований на грызунах или других модельных быстрорастущих животных). Используемая доза белка не должна быть ниже средней дневной нормы потребления человеком.
- Нужно учитывать, что если ГМО эквивалентен аналогу, за исключением продукта трансгена, то в экспериментах по скармливанию используется очищенный белок.

Оценка потенциальной аллергенности белков ГМ растений



Установление аллергенного потенциала продуктов питания, изготовленных из ГМО FAO/WHO, 2001

Организм – источник трансгена является аллергеном

1. Сравнение аминокислотной последовательности белка(ов) из аллергенных источников с аминокислотными последовательностями известных аллергенов с использованием баз данных, содержащих информацию о трехмерной структуре и функции известных аллергенов и родственных им белков.

База данных	Сайт
Allermatch	http://www.allermatch.org/ Предсказание потенциальной аллергенности белка на основании последовательности
WebAllergen	http://weballergen.bii.a-star.edu.sg/ Предсказание потенциальной аллергенности белка на основании последовательности
SDAP (Structural Database of Allergenic Proteins)	http://fermi.utmb.edu/SDAP/ Содержит различные источники информации, ссылки, вычислительные средства
AllerTool	http://research.i2r.a-star.edu.sg/AllerTool/ Вебсервер для предсказания аллергенности и кроссреактивности
AlgPred	http://www.imtech.res.in/raghava/algpred/ Предсказание аллергенности <i>in silico</i>
Allergen Database for Food Safety (ADFS)	http://allergen.nihs.go.jp/ADFS База данных, позволяющая предсказывать аллергенность
The Allergen Database	http://allergen.csl.gov.uk/index.html Основная база данных по структурам аллергенов
Allergome	http://www.allergome.org/ Обширный источник информации и ссылок по аллергенным молекулам
Allfam	http://www.meduniwien.ac.at/allergenes/allfam/ Классификация аллергенов
IUIS (Allergen nomenclature)	http://www.allergen.org/

Если гомология установлена (установлено 35% сходство последовательностей случайных фрагментов из 80 аминокислот или выявлено полное сходство 6 последовательных аминокислот у сравниваемых белков) – продукт признается аллергеном и дальнейшие тесты не проводятся.

Если гомология не установлена, проводится специфический сывороточный скрининг - иммунохимические исследования *in vitro* с использованием IgE, выделенных из сыворотки крови пациентов, страдающих аллергией.

Если тест положительный – ГМО признается аллергеном

Если тест отрицательный - проводятся дальнейшие исследования:

Тесты на определение устойчивости к воздействию протеолитических ферментов желудочно-кишечного тракта (пепсина)

Целевой сывороточный скрининг (иммунологические тесты *in vitro* с использованием сывороток крови людей, чувствительных к аллергенам, из сходных источников. Например, при тестировании белка однодольных – сыворотки людей, чувствительных к травам и т.д.)

Исследования на модельных животных

Не известно, является ли организм - источник трансгена аллергеном

Установление гомологичности аминокислотной последовательности белка-продукта трансгена аминокислотной последовательности известного аллергена

Если гомология установлена – продукт признается аллергеном

Если тест отрицательный - проводятся дальнейшие исследования:

Целевой сывороточный скрининг (иммунологические тесты *in vitro* с использованием образцов сывороток крови, содержащих высокие уровни IgE антител, из сходных источников.

Различают 6 групп организмов – дрожжи/плесневые грибки, однодольные, двудольные, беспозвоночные, позвоночные, и «другие». Используется панель из 50 образцов сывороток с высокими уровнями IgE к аллергенам соответствующей группы.

Если в ходе теста выявляется положительная реакция хотя бы с 1 из сывороток, белок признается аллергеном и дальнейшая оценка, как правило, не проводится, однако для подтверждения данных могут быть использованы тесты *in vivo/ ex vivo* (при расхождении данных – вторые считаются более убедительными)

- Токсикологические и аллергологические тесты (*in vitro*, исследования *in vivo* на модельных животных) проводит ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены» (лаборатория профилактической и экологической токсикологии), Академическая 8