



Некоторые организационные и методические подходы повышения эффективности детекции генетически модифицированных составляющих в пищевых продуктах

Ермишин А.П., Холмецкая М.О.

Аккредитация испытательных, калибровочных и поверочных лабораторий.
Тез. докл. конф./под ред. Н.А.Жагоры. – Минск: БелГИМ, 2008, С. 101-104.

В соответствии с Законом Республики Беларусь «О качестве и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов для жизни и здоровья человека» и Законом «О защите прав потребителей» потребитель имеет право на получение информации о продуктах питания, реализуемых на территории Республики Беларусь, в том числе информации о том, что продукт является генетически модифицированным или содержит генетически модифицированные компоненты (составляющие), если такой факт имеет место.

Механизм реализации этих требований законодательства определен в постановлении Совета Министров Республики Беларусь от 28 апреля 2005 г. № 434 «О некоторых вопросах информирования потребителей о продовольственном сырье и пищевых продуктах», которым, в частности, предусмотрено создание и аккредитация в Госстандарте лабораторий на проведение испытаний продовольственного сырья и пищевых продуктов для определения наличия генетически модифицированных составляющих (далее – ГМС), а также утвержден перечень сырья и продуктов, подлежащих контролю за наличием генетически модифицированных составляющих. В этот перечень вошли продукты и сырье, которые с наибольшей вероятностью могут появиться на рынке Беларуси, а именно продукты и сырье, произведенные из сои и кукурузы.

В 2006 году в мире под трансгенными сортами было занято 102 млн га, которые, в основном, приходятся на четыре культуры: сою (58,6 млн га – 57% площадей под ГМ-культурами), кукурузу (25,2 млн га – 25% площадей), хлопчатник (13,4 млн га – 13% площадей) и рапс (4,8 млн га – 5% площадей) (<http://www.isaa.org>, brief No35-2006). Хлопчатник и рапс не относятся к важным продовольственным культурам в Беларуси. К тому же, произведенное из них масло практически не содержит ДНК или протеины, в связи с чем не подлежит анализу на наличие ГМС. На долю остальных допущенных к использованию ГМ-культур (томаты, картофель, сахарная свекла, рис и др.) приходятся весьма незначительные площади, причем в странах, расположенных далеко от Беларуси (США, Австралии, Канаде, Японии) и экспорт из которых этих продуктов весьма проблематичен. Республика Беларусь в настоящее время не производит сельскохозяйственную продукцию из собственных или зарегистрированных в Беларуси зарубежных сортов генно-инженерных растений. Таким образом, расширение перечня культур, подлежащих анализу на наличие ГМС, в ближайшие годы представляется необоснованным.

Законодательство Республики Беларусь по маркировке пищевых продуктов, которые являются генетически модифицированными или содержат генетически модифицированные компоненты (далее – ГМ-продуктов), несколько отличается от такового, принятого в Российской Федерации и в Европейском Союзе. Так, в Российской Федерации и в Европейском Союзе допускается отсутствие маркировки ГМ-продуктов при условии, если содержание ГМС не превышает 0,9%. В Беларуси применяется беспороговая система маркировки. То есть, в случае даже обнаружения следов ГМС продукт подлежит маркировке. В Российской Федерации и в Европейском Союзе

существует система государственной регистрации (допуска к использованию) трансгенных событий (линий) для: 1) выращивания с целью производства продукции; 2) для использования в качестве продуктов питания, кормов и для переработки (импортируемая продукция). В Беларуси имеется система государственной регистрации сортов генно-инженерных растений, пород генно-инженерных животных и штаммов генно-инженерных микроорганизмов, предназначенных для производства продукции на территории Республики Беларусь. Регистрация трансгенных событий (линий) для использования в качестве продуктов питания, кормов и для переработки не предусмотрена. То есть, законодательство Республики Беларусь допускает использование и оборот ГМ-продуктов, в том числе ввозимых из-за рубежа, произведенных из любого из допущенных к использованию трансгенного сорта, поскольку все новые трансгенные линии и созданные на их основе сорта проходят многолетнюю всестороннюю оценку безопасности для здоровья человека в соответствии с законодательством страны происхождения. Санитарно-гигиенические требования к пищевым продуктам, произведенным из трансгенных сортов растений и сортов традиционной селекции не различаются.

В соответствии с названными особенностями законодательства о маркировке в Российской Федерации и Европейском Союзе принята следующая последовательность анализа пищевых продуктов на наличие ГМС: Выделение ДНК -- идентификация растительной ДНК -- идентификация регуляторных последовательностей, маркерных генов, характерных для большинства ГМ-растений -- идентификация трансформационного события (линии) -- количественный анализ рекомбинантной ДНК. В соответствии с законодательством Республики Беларусь идентификация трансформационного события (линии) и количественный анализ рекомбинантной ДНК не требуются, что значительно упрощает и удешевляет анализы.

В своей деятельности аккредитованные лаборатории для выявления ГМС используют методики, утвержденные Госстандартом. Это, прежде всего, СТБ ГОСТ Р 52173-2005 «Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения», применение которого обеспечивает высокое качество анализов при сравнительно невысокой их стоимости. Метод основан на идентификации рекомбинантной ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). В частности, он предполагает выявление в ДНК, выделенной из анализируемого пищевого сырья, регуляторных последовательностей, характерных для большинства трансгенных сортов сои и кукурузы: промотора 35S вируса мозаики цветной капусты и терминатора *NOS* из *A.tumefaciens*. С целью выявления ДНК сои и кукурузы как традиционных, так и генно-модифицированных сортов в исследуемом пищевом продукте, а также проверки качества выделяемых из исследуемых образцов препаратов ДНК, применяются методы идентификации последовательностей ДНК, специфичных для всех линий сои (ген лектина) и кукурузы (ген зеина). В ряде аккредитованных в Беларуси лабораторий для детекции ГМС применяют приборы, позволяющие одновременно определять количественное содержание ГМС (метод ПЦР в реальном времени). При этом процесс анализа проб в значительной степени автоматизирован, нет необходимости проводить оценку результатов амплификации с помощью электрофореза. Однако стоимость анализов по сравнению с методикой, предусмотренной СТБ ГОСТ Р 52173-2005, в несколько раз выше.

С целью достижения высокого качества, репрезентативности и воспроизводимости результатов методика проведения анализов в соответствии с выше названным стандартом предъявляет жесткие требования к помещениям для отдельных этапов анализа, применяемому оборудованию, качеству реактивов, подготовке персонала, порядку отбора образцов и составления средних проб. Для контроля качества отдельных этапов анализа предусмотрено наличие ряда контрольных проб. Качество выделения ДНК оценивают по наличию в пробах последовательностей ДНК, специфичных для всех линий сои (ген

лектина) и (или) кукурузы (ген зеина) и отсутствию таковых в пробе отрицательного контрольного образца (ДНК нетрансгенных растений, отличных от сои и кукурузы). Качество проведения реакции амплификации оценивают по наличию в пробах положительных контрольных образцов (трансгенной сои и трансгенной кукурузы) последовательностей ДНК, специфичных для сои и (или) кукурузы, а также последовательностей ДНК, характерных, для ГМС (промотора 35S и (или) терминатора NOS); отсутствию названных фрагментов ДНК в пробе отрицательного контроля (раствор ТЕ-буфера).

Метод детекции ГМС, основанный на реакции ПЦР, обладает исключительно высокой чувствительностью: он позволяет обнаруживать в анализируемых образцах ДНК уже около тридцати копий искомым последовательностей ДНК. В связи с этим к лабораториям, персоналу предъявляются исключительно жесткие требования к качеству работ. Поэтому очень важно, что применяемые методы позволяют четко оценить качество выполнения отдельных этапов анализа образцов, как описано выше. Появление искомым фрагментов ДНК, специфичных для сои, кукурузы, трансгенных линий, в пробах отрицательного контрольного образца или отрицательного контроля (контаминация проб) свидетельствуют о недостаточном качестве проведения, соответственно, этапа выделения ДНК и этапа амплификации ДНК. Такие испытания необходимо повторить, стараясь устранить возможные причины контаминации. Испытания, в которых имеет место контаминация пробы отрицательного контрольного образца или отрицательного контроля считаются недействительными.

Исключительно высокая чувствительность применяемого метода анализа делает крайне мало вероятным получение отрицательного результата (отсутствие ГМС) для образцов, содержащих ГМС, в случае соблюдения репрезентативности выборки (отбор образцов) и методики приготовления средних проб. Данная особенность метода, а также использование ряда положительных и отрицательных контролей для оценки качества анализов делает возможным испытание всего одной средней пробы образца. Это является фактором, позволяющим существенно уменьшить стоимость проводимых испытаний. С другой стороны, высокая чувствительность метода делает вероятным получение ложно положительного результата (наличие ГМС) для образцов, не содержащих ГМС, из-за контаминации. В связи с этим все образцы, для которых получены положительные результаты, обязательно должны быть проанализированы повторно. Таким образом, решение о том, что образец содержит ГМС должно выноситься только в случае воспроизведения положительного результата в двух последовательно проведенных испытаниях.

Важным, с экономической точки зрения, направлением оптимизации методики детекции ГМС в пищевых продуктах и сырье, является использование метода обнаружения только последовательности ДНК промотора 35S вируса мозаики цветной капусты без параллельного обнаружения последовательности терминатора NOS. В основу методов детекции ГМС, принятых в Республике Беларусь, были взяты соответствующие методы, применяемые, прежде всего, в Российской Федерации. В то же время, как показано выше, законодательство по маркировке в этих странах несколько различается. В частности, в Российской Федерации предусмотрено испытание широкого спектра продуктов, имеющих генетически модифицированные аналоги, а не только продуктов из сои и кукурузы, как в Республике Беларусь. Анализ наличия регуляторных элементов у всех трансгенных линий кукурузы, официально зарегистрированных в мире для производства сельскохозяйственной продукции (см. www.agbios.com.) показал, что по состоянию на конец 2007 года в общей сложности допущено к использованию 39 таких линий, в том числе 13 половых гибридов между различными ГМ-линиями. Из них содержат 35S-промотор – 36 трансгенных событий (92%), 35S-промотор+терминатор NOS – 38 трансгенных событий (97,4%). Среди линий, у которых нет промотора 35S (GA21, MIR604, LY038) линии MIR604, LY038 зарегистрированы сравнительно недавно и их

появление на рынке Беларуси в ближайшее время мало вероятно. Следует также иметь в виду, что высоко лизиновая линия LY038 применяется исключительно для производства кормов. На конец 2007 года было зарегистрировано 12 трансгенных линий сои, из которых 11 (91,7%) содержат 35S-промотор. Линия MON89788 зарегистрирована в 2007 году, следовательно, появление ее на рынке Беларуси в ближайшие годы не предвидится. Для этой линии характерно использование исключительно растительных регуляторных элементов, поэтому она не может быть идентифицирована с помощью методов, принятых в Республике Беларусь, так как не содержит ни промотор 35S, ни терминатор NOS.

Таким образом, количество трансгенных линий сои и кукурузы, которые можно обнаружить в ГМ-продуктах с помощью методов детекции 35S-промотора и сочетания детекции 35S-промотора и терминатора NOS приблизительно одинаково (92% и 97,4% - для кукурузы и 91,7% для обоих методов - для сои). Учитывая, что процедура детекции ГМС не связана с оценкой безопасности анализируемых продуктов, а предназначена исключительно для информирования потребителей, то эти показатели следует рассматривать как весьма высокие.