



Детекция и идентификация генно-инженерных организмов как ключевой аспект научной поддержки обеспечения биологической безопасности и безопасности пищевых продуктов и кормов в Республике Беларусь

*Семинар по результатам подготовки
Четвертого Национального доклада по биобезопасности
к Картахенскому протоколу по биобезопасности*

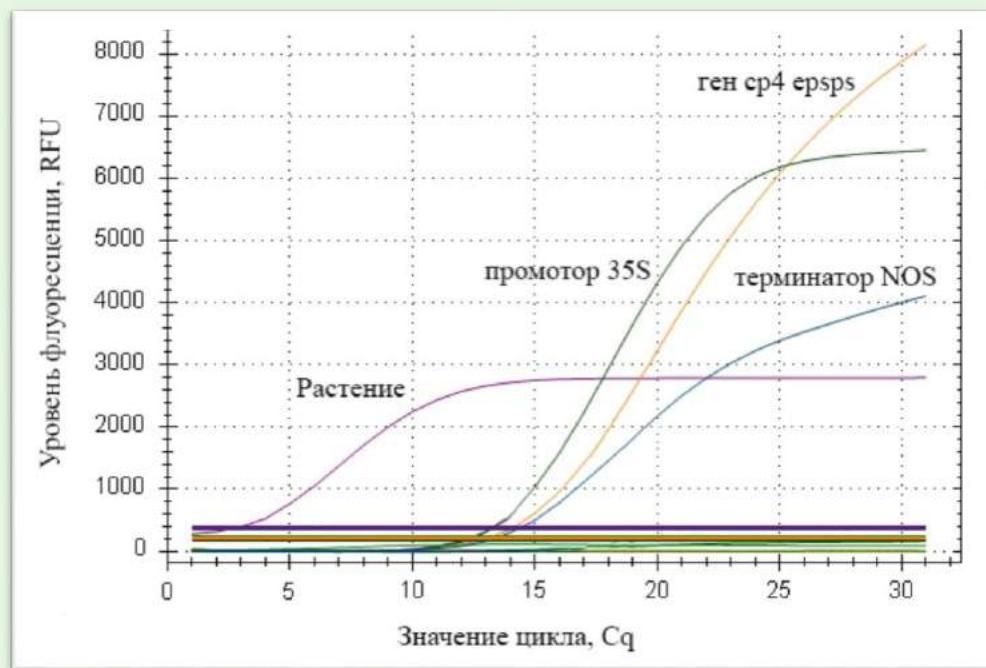
г. Минск, 21 октября 2022 г.

Научный сотрудник Национального
координационного центра биобезопасности
Института генетики и цитологии НАН Беларуси

Островская Анастасия Николаевна

Методы детекции и идентификации ГМО растительного происхождения подразделяют на 3 группы:

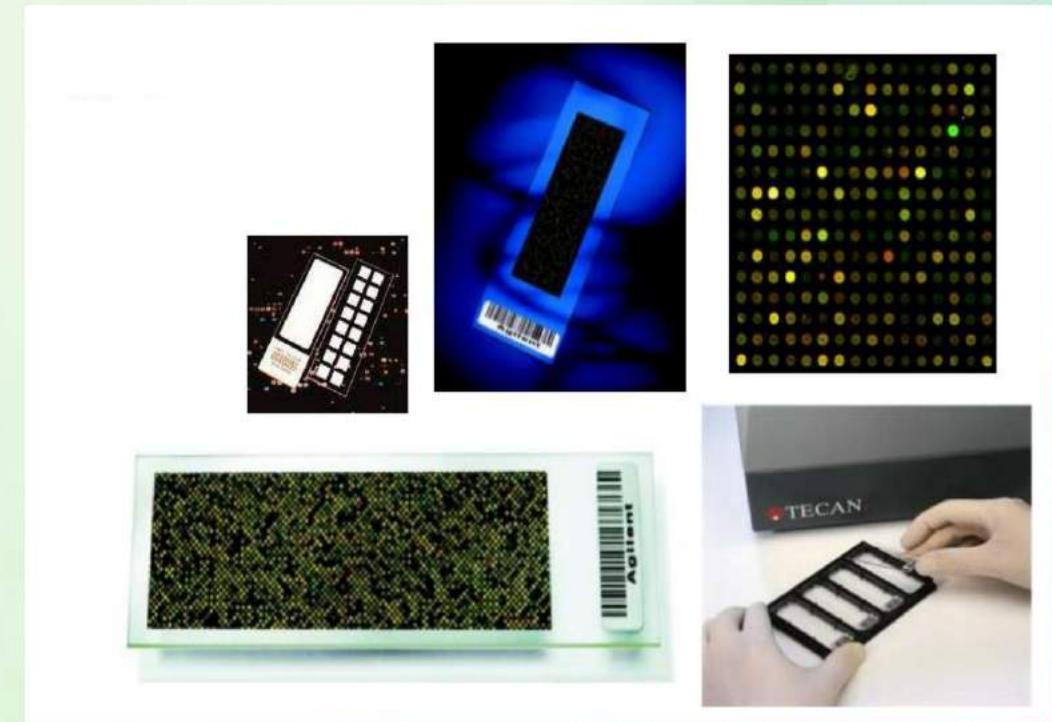
- 1) химические;
- 2) иммунологические;
- 3) метод ПЦР.



МИКРОЧИПОВАЯ ТЕХНОЛОГИЯ (МИКРОЧИПЫ, ДНК-ЧИПЫ)

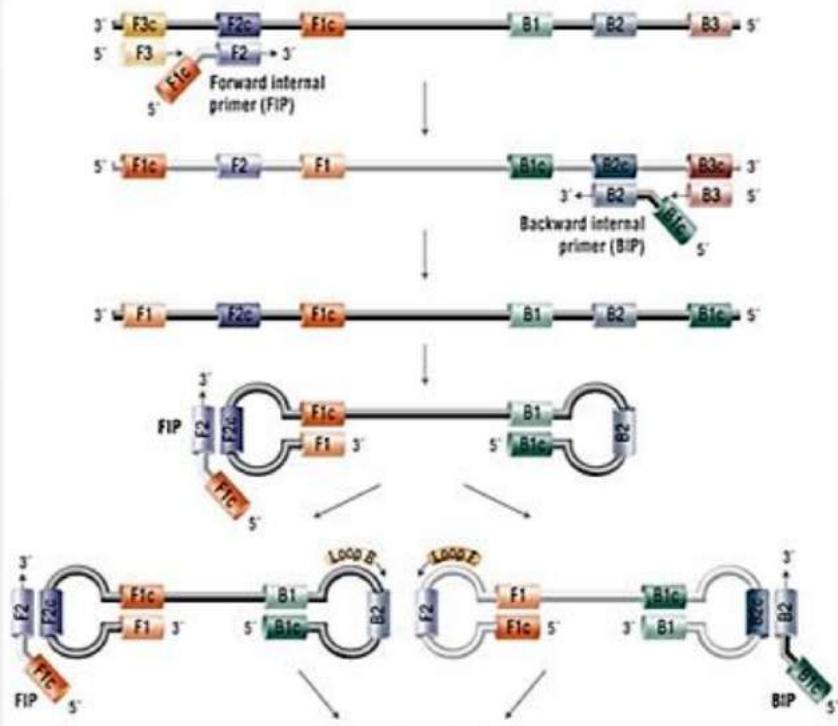
Основные преимущества:

- параллельное обнаружение большого количества генетических элементов в сложных образцах ДНК в одном анализе;
- миниатюрность;
- высокая чувствительность и производительность



ПЕТЛЕВАЯ ИЗОТЕРМИЧЕСКАЯ АМПЛИФИКАЦИЯ ДНК И РНК (ПИА, LAMP)

Схема протекания LAMP



Преимущества метода:

- простой и эффективный вариант ПЦР;
- не требует дорогостоящего оборудования (для проведения реакции достаточно водяной бани с нагревательным блоком)

Ограничения метода:

- трудностью подбора праймеров (необходима специфичность праймеров к выбранному участку гена и высокая вероятность образования димеров между собой);
- трудность расшифровки результатов анализа при малом количестве продукта;
- высокий риск контаминации;
- трудности при разработке мультиплексной ПЦР

ЦИФРОВАЯ КАПЕЛЬНАЯ ПЦР (цкПЦР, ddPCR)

Детекция ГМО с помощью метода ddPCR



Преимущества метода по сравнению с ПЦР в реальном времени:

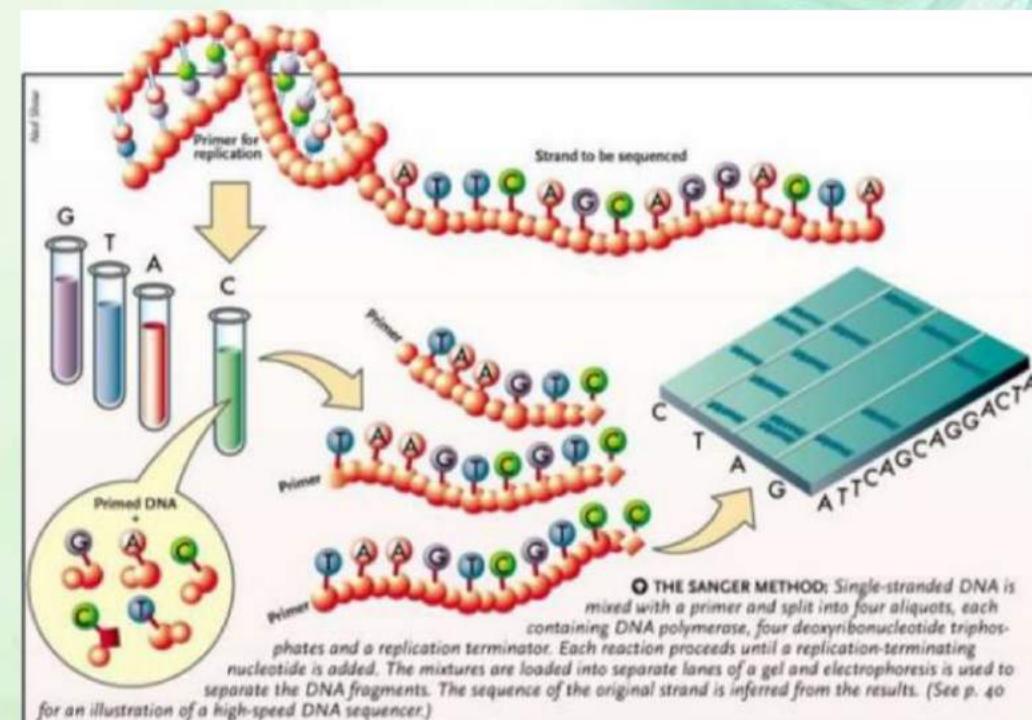
- **прямое обнаружение редкого варианта мишени в сложном окружении;**
- **исключительная чувствительность и точность даже при анализе единичных молекул ДНК;**
- **отсутствие калибровочных кривых;**
- **низкая чувствительность к присутствию ингибиторов.**

СЕКВЕНИРОВАНИЕ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ (NGS)

NGS – это группа методов, основанных на одновременном секвенировании (параллельном прочтении) множества индивидуальных молекул ДНК (от десятков миллионов до миллиардов).

Вся технология NGS упрощенно состоит из 3 основных этапов:

- I. Подготовка библиотек (матриц),
- II. оценка их качества
- III. Секвенирование
- IV. Анализ данных – биоинформатика



ТЕХНОЛОГИЯ KASP

Метод генотипирования KASP основан на конкурентной аллель-специфической ПЦР и позволяет определить в обоих аллеях однонуклеотидный полиморфизм, а также вставку или делецию специфического участка.

Принцип метода

К образцу ДНК добавляют смесь специфических к SNP праймеров и универсальную для генотипирования 2-х кратную реакционную смесь (мастермикс), затем проводят полимеразную цепную реакцию с последующим считыванием флуоресценции по конечной точке.

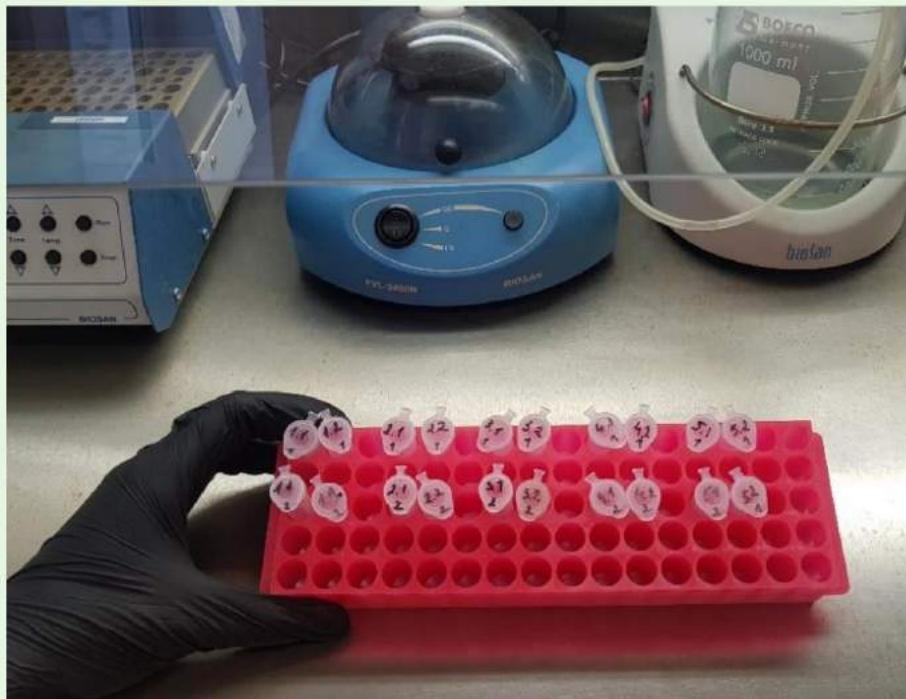


Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ)

ПЦР-РВ является наиболее эффективным методом выявления ГМО и качественного и количественного определения ГМ-линий, т.к. направлен на непосредственное выявление чужеродной вставки в модифицированной последовательности генома.

Polymerase chain reaction
(PCR)

Подходы к детекции и идентификации разрешённых и неразрешённых ГМО



Рутинный скрининг по выявлению ГМО включает:

1. пробоподготовку;
2. экстракцию ДНК;
3. качественный анализ скрининговых последовательностей (при необходимости выявление разрешённых и неразрешённых линий);
4. количественный анализ и расчёт неопределённости измерений.

Подходы к детекции и идентификации разрешённых и неразрешённых ГМО

До недавнего времени первым этапом выявления ГМО являлся скрининг, направленный на выявление 35S-промоторов вируса мозаики цветной капусты (CaMV), вируса мозаики норичника (FMV) и терминатора NOS *A. Tumefaciens*.



Для надежной детекции ГМО необходим **расширенный набор скрининговых элементов!**

ОТКУДА БЕРУТСЯ НОВЫЕ ГЕНЫ И ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ?

Целевые гены

- Бактерии: **cp4 epsps** – *A. tumefaciens*
штамм СР4
bar - *Streptomyces hydroscopicus*
gox - *Ochrobactrum anthropi*
Гены **cry** – *B. thuringiensis*
- Растения: **mrspss** – *Zea mays*
PG (antisense) – *Solanum lycopersicum*

Маркерные гены

- Бактерии: **nptII** – *E. coli*
bla – *E. coli*
GUS – *E. coli*

ДНК растения

Чужеродная ДНК

ГМО



Промоторы

- Вирусы: **p35S** – вирус мозаики цветной капусты
FMV – вирус мозаики норичника
- Бактерии: **pNOS** – *A. tumefaciens*
- Растения: **pUBiZM1** – *Zea mays*
pSsuAra – *Arabidopsis thaliana*
pActin1 – *Oryza sativa* (рис)

Терминаторы

- Вирусы: **t35S** – вирус мозаики цветной капусты
- Бактерии: **tNOS, tOCS, tg7** – *A. tumefaciens*
- Растения: **tE9** – *Pisum sativum* (горох)

ЛИНИИ СОИ И КУКУРУЗЫ, СОДЕРЖАЩИЕСЯ В КОРМАХ, В КОТОРЫХ ДОПУСКАЕТСЯ СОДЕРЖАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОРГАНИЗМОВ СВЫШЕ 0,9%

В ветеринарно-санитарных правилах обеспечения безопасности в ветеринарно-санитарном отношении кормов и кормовых добавок, утвержденных Постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 10.02.2011 г, приложение 2 разрешено содержание свыше 0,9% для 9 ГМ-линий сои и для 11 ГМ-линий кукурузы

Указанием Департамента Ветеринарного и продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь № 06-11/3368 от 29 октября 2021 г. ГМ-линии сои MON87708, DAS-44406-6, ГМ-линии кукурузы DAS-40278-9, MZHGOJG, 1507, MON863 были включены в список разрешенных в Республике Беларусь.

МИНИСТЕРСТВА СЕЛЬСКОЙ
ГОСПОДАРСТВА И ХАРПАВАННІХ
РЕСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ

ДЕПАРТАМЕНТ
ВЕТЕРИНАРНАГА і
ХАРПАВАТА
НАДЗОРУ

Кіров, 15, 220030, г. Мінск
Тэл./факс (017)327-10-72, тэл. (017)327-27-78

29.10.2021 № 06-11/3368

№ №

МИНИСТЕРСТВА СЕЛЬСКОГО
ХОЗЯЙСТВА И ПРОДОВОЛЬСТВІЯ
РЕСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ

ДЕПАРТАМЕНТ
ВЕТЕРИНАРНОГО і
ПРОДОВОЛЬСТВЕННОГО
НАДЗОРУ

Кіров, 15, 220030, г. Мінск
Тэл./факс (017)327-10-72, тэл. (017)327-27-78

Управления (отделы) ветеринарных
комитетов по сельскому хозяйству и
продовольствию областям (Брест,
Витебск, Гомель, Гродно, Минск,
Могилев)

ГУ «Мінскская городская ветеринарная
станция»

ГУ «Белорусское управление
государственного ветеринарного
надзора на государственной границе и
транспорте»

ГУ «Ветеринарный надзор»

ГУ «Белорусский государственный
ветеринарный центр»

УКАЗАНИЕ

До внесения соответствующих изменений в Ветеринарно-санитарные правила обеспечения безопасности в ветеринарно-санитарном отношении кормов и кормовых добавок, утвержденные постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 10.02.2011 № 10, считать также допустимым содержание генетически модифицированных организмов свыше 0,9 % каждого из компонентов в кормах с содержанием сои и кукурузы следующих линий:

1. Соя линии MON87708, устойчивая к гербициду Дикамба (номер свидетельства о регистрации RU.77.99.57.011.E.002302.07.19 от 02.07.2019).

2. Соя линии DAS-44406-6, устойчивая к гербицидам 2,4-Д, глифосату и глафосинату аммония (номер свидетельства о регистрации RU.77.99.88.011.R.002419.07.21 от 13.07.2021).

3. Кукуруза линии DAS-40278-9, устойчивая к гербициду - 2,4-дихлорфеноксихусусной кислоте (2,4-Д) и определенным арилоксиленоксипропионатам (номер свидетельства о регистрации RU.77.99.88.011.E.000933.03.19 от 13.03.2019).

4. Кукуруза линии MZHGOJG, устойчивая к глифосату и глафосинату аммония (номер свидетельства о регистрации RU.77.99.88.011.E.001046.03.18 от 14.03.2018).

5. Кукуруза линии 1507, устойчивая к определенным видам четынекрылых насекомых-вредителей и глафосинату аммония (номер свидетельства о регистрации RU.77.99.32.011.E.001395.03.17 от 23.03.2017).

6. Кукуруза линии MON863, устойчивая к жуку диабротика (Diabrotica spp.) (номер свидетельства о регистрации RU.77.99.26.011.E.022755.06.11 от 29.06.2011).

При этом декларирование производителем в документе, подтверждающем качество и безопасность продукции, наличия указанных генетически модифицированных организмов в кормах является обязательным.

Главный государственный
ветеринарный инспектор
Республики Беларусь

И.И.Смирльгин

Базы данных и веб-сайты поиска одобренных генетически модифицированных линий в Республике Беларусь и ЕАЭС

- линии ГМ-растений, прошедшие оценку рисков и разрешённые на территории ЕАЭС, представлены в Едином реестре свидетельств о государственной регистрации (единая форма Таможенного союза) https://portal.eaeunion.org/sites/odata/_layouts/15/Portal.EEC.Registry.Ui/DirectoryForm.aspx?ViewId=1631d8b8-efd5-4a46-80d9-e252e7986bb&ListId=0e3ead06-5475-466a-a340-6f69c01b5687&ItemId=231#;
- реестр свидетельств о государственной регистрации ГМЛ (единая форма Таможенного союза, российская часть) Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека расположен <http://fp.crc.ru/evrazes/?type=max;>
- список ГМЛ, разрешённых к обороту в Республике Беларусь, можно найти на веб-сайте НКЦБ http://www.biosafety.by/wp-content/uploads/2019/01/razreshennye_lini.pdf;
- список ГМЛ, одобренных в Российской Федерации и Европейском союзе [https://www.genbitgroup.com/ru/gmo/gmodatabase/;](https://www.genbitgroup.com/ru/gmo/gmodatabase/)
- поиск ГМЛ, одобренных в других странах, не входящих в ЕАЭС, можно осуществить, используя базы данных Механизма посредничества к Картагенскому протоколу по биобезопасности <https://bch.cbd.int/en/>, OECD «BioTrack Product Database» <https://biotrackproductdatabase.oecd.org> либо базу данных одобренных ГМ-событий Международной службы по сбору агробиотехнологических приложений [http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase.](http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase)

Информация о специфичных элементах и смысловых генах, входящих в состав неразрешённых ГМ-линий сои, позволяющая провести эффективный скрининг по их выявлению

ГМ-линия	Смысловой ген	Промотор	Терминатор
DAS-81419-2	Cry1Ac, cry1F, pat	AtUbi10, CsVMV	t-ORF-23, t-ORF-1
DAS-68416-4	aad-12	AtUbi10, CsVMV	t-ORF-23, t-ORF-1
GU262	pat	p35S	t35S
GU 94-1	gm-fad2-1	p35S, p-7S	tNOS, t-phas
GU-94-19	gm-fad2-1	p35S, p-7S	tNOS, t-phas
G 168	gm-fad2-1, gm-hra	SAMS, KTi3	t-gm, t-KTi3
DP-305423	gat, gm-hra	SAMS, SCP1	t-Pinil, t-gm
DP-356043	Pj.D6D, Nc.Fad3	p-75	tE9, ttml3
MON87769	cpt4epsps, fad2, fatb	p-7S, FMV, p-TSF1	tE9
MON 87705	dmo	p-PC1SV	tE9
MON 87708	cry1A.105, cry2Ab2	pActin2, pSsuAra	t-MT, t-Pt1
MON 87712	CS-BOX32-ARATH, cpt4epsps	FMV, p-e35S, p-TFS1	tE6, tE9
W62	bar	p35S	Tnos, T-Ssu
W98	bar	p35S	Tnos, T-Ssu
IND410 (Verdeca HB4)	CS-HD4, bar	p-HD4, p35S	tNOS



В случае **невозможности выявления неразрешённых ГМ-линий** по схеме скрининга их необходимо **идентифицировать** только с помощью **специфического коммерческого набора к данной линии.**

Для других видов ГМО, отличных от сои и кукурузы, наличие скрининговых последовательностей необходимо сверять с использованием вышеперечисленных баз данных, что также помогает предварительно определить наличие разрешённых и неразрешённых ГМЛ.

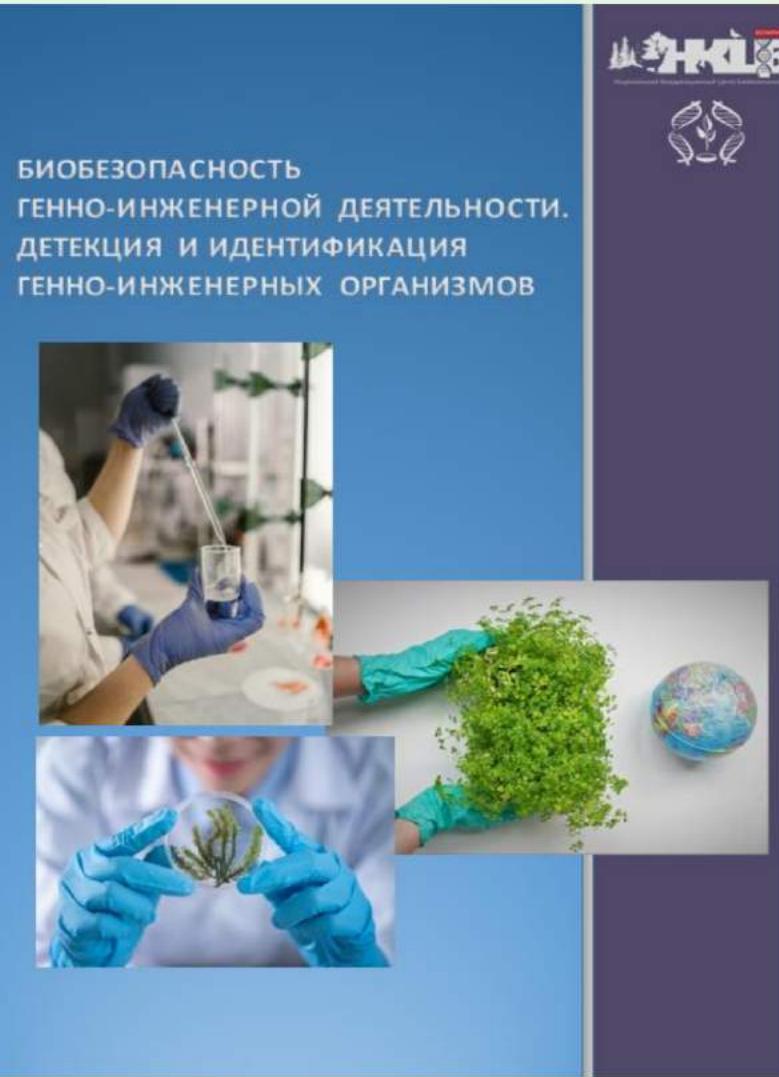
Взятые НКЦБ обязательства

«Научная поддержка биологической безопасности и безопасности пищевых продуктов и кормов»

<https://www.cbd.int/action-agenda/contribute/>

**Способствовать научной
поддержке биологической
безопасности и безопасности
пищевых продуктов и кормов
путем проведения комплексного
лабораторного контроля
несанкционированных ЖИО в
семенах, ЖИО в продуктах
питания и кормах и в сырье,
предназначенном для пищевых
продуктов и кормов.**

The screenshot shows a dark-themed website interface. At the top, there is a navigation bar with links for 'ENGLISH' (with a flag icon), 'Sign up for an account | Sign In', 'Search' (with a magnifying glass icon), and other language options. Below the navigation, there are links for 'BIODIVERSITY CONVENTION', 'CARTAGENA PROTOCOL', 'NAGOYA PROTOCOL', 'COUNTRIES', and 'PROGRAMMES'. A search bar below the navigation bar contains the text 'Biosafety' and 'Academic or research institute'. Underneath the search bar, it says '5 results'. On the right side of the page, there is a small graphic of a fork, knife, and person. Below the search bar, there is a section titled 'Scientific Support to Biosafety and Food and Feed Safety' with a detailed description of the commitment made by the Institute of Genetics and Cytology, Belarus. At the bottom of the page, there is a row of small icons representing various aspects of biodiversity and environmental science.



ГКНЦ
Государственный Консорциум Национального Центра Геномики



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!





Национальный
координационный
центр биобезопасности



Институт генетики и цитологии
Национальной академии наук
Беларусь

ГЛАВНАЯ О ЦЕНТРЕ НОВОСТИ ФОРУМЫ ВЕБИНАРЫ НАПИСАТЬ НАМ ОТВЕТЫ НА ВОПРОСЫ

МЕНЮ

ЗАКОНОДАТЕЛЬСТВО

Законы Республики Беларусь

Нормативно-правовые акты

Проекты законов

ДОКУМЕНТЫ

Международные документы

Конференции сторон КБР

Публикации

Рецензии

БАНК ДАННЫХ ГИО

Использование ГИО

ГИО в Беларусь

ГИК в продуктах питания

Детекция ГМО

Общественные обсуждения

Оценки рисков

Опытные поля

МЕХАНИЗМ ПОСРЕДНИЧЕСТВА

Использование генно-инженерных организмов

Использование ГИО в научных целях В настоящее время генно-инженерные (генетически модифицированные) организмы широко используются в фундаментальных и прикладных научных исследованиях. С помощью ГИО исследуются закономерности развития многих заболеваний, процессы старения...

Гено-инженерные организмы в Беларусь

Что такое генетическая инженерия?

Использование генно-инженерных организмов

О центре

Национальный координационный центр биобезопасности создан в 1998 г. с целью обеспечения эффективного участия

Детекция ГМО

Идентификация генетически модифицированных организмов является обязательной составной частью процесса сертификации

Общественные обсуждения

В Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь

<https://biosafety.igc.by/>

Контакты:

220072 Минск, ул. Академическая 27.

Национальный координационный центр
биобезопасности

Института генетики и цитологии НАН Беларуси

Тел./факс: +375 17 378 16 91;
+375 44 784 16 91

e-mail: ldgmo@igc.by