

УТВЕРЖДАЮ

Директор ГНУ «Институт леса
НАН Беларуси», к.б.н.

А.Н. Никитин
«10» _____ 2026 г.



ПРОТОКОЛ

оценки биобезопасности генно-инженерных организмов

1. Общие положения

Исполнитель, уполномоченная организация по оценке рисков – ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»

Заказчик – ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

Цель – получение разрешения на высвобождение непатогенных генно-инженерных организмов – трансгенной линии картофеля – в окружающую среду для проведения испытаний.

Объект оценки – модификация генома растений картофеля (*Solanum tuberosum* L., сорт Юлия) векторной конструкцией, несущей целевой ген эндонуклеазы Cas9, обеспечивающий нокаут целевых генов-мишеней StDMR6-1 и StCHL1, под контролем CaMV 35S промотора, а также селективный ген HygR, обеспечивающий устойчивость к антибиотику гигромицину.

Основание – договор № 1 от 02.03.2026 г.

Исполнителем, на основании представленной Заказчиком информации об оценке риска о возможных вредных воздействиях генно-инженерных организмов на здоровье человека и окружающую среду, а также о мерах по предупреждению такого риска, оформленную в соответствии с Приложением 1 к «Положению о порядке проведения оценки рисков возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на здоровье человека и окружающую среду», утвержденного Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 12.06.2019 № 382 «Об оценке рисков в генно-инженерной деятельности и выдаче разрешительного документа [1], руководствуясь методическими рекомендациями [2, 3], консенсусным документом Организации экономического сотрудничества и развития по биологии рода *Solanum* [4], руководством и данными Механизма посредничества по биобезопасности ВСН [5, 6], данными ISAAA (Международной службы по сбору агротехнологических разработок [7], проведена оценка биобезопасности при первом высвобождении в окружающую среду для проведения испытаний заявленного Заказчиком генно-инженерного организма.

2. Методология проведения оценки рисков трансгенной линии картофеля со встроенным геном эндонуклеазы Cas9, обеспечивающим нокаут целевых генов-мишеней StDMR6-1 и StCHL1

Проведение оценки рисков трансгенной линии картофеля со встроенным геном эндонуклеазы Cas9, обеспечивающим нокаут целевых генов-мишеней StDMR6-1 и StCHL1, являющихся регуляторами защитных реакций растения, задействованных патогеном *Phytophthora infestans* в колонизации и заражении растительного организма, проводилось на основании предоставленной Заказчиком информации об оценке риска возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на здоровье человека и окружающую среду, а также о мерах по предупреждению такого риска (далее – Досье) в соответствии с Приложением 1 к «Положению о порядке проведения оценки рисков возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на здоровье человека и окружающую среду» [1]. Выявление потенциальных рисков, связанных с высвобождением трансгенной линии картофеля проводилось в контексте рисков, вызываемых немодифицированным реципиентом (картофелем *Solanum tuberosum*). При этом принимался во внимание масштаб высвобождения (ограниченные полевые испытания), принимающая среда первого высвобождения, и вероятные потенциальные принимающие среды, в которых планируется высвобождение.

Методология оценки риска включала:

Этап 1. Выявление любых новых генотипических и фенотипических характеристик, связанных с генетически модифицированным организмом (ГМО), которые могут оказать неблагоприятное воздействие на биологическое разнообразие в вероятной потенциальной принимающей среде, с учетом также рисков для здоровья человека.

Этап 2. Оценка степени вероятности фактического возникновения таких неблагоприятных последствий с учетом интенсивности и характера воздействия ГМО на вероятную потенциальную принимающую среду.

Этап 3. Оценка последствий в том случае, если такое неблагоприятное воздействие действительно будет иметь место.

Этапы 2 и 3 проведены одновременно.

Этап 4. Оценка совокупного риска, вызываемого ГМО, на основе оценки вероятности возникновения и последствий выявленного неблагоприятного воздействия.

Этап 5. Вынесение рекомендации относительно того, являются ли риски приемлемыми или регулируемые, включая, если это необходимо, определение стратегий для регулирования таких рисков.

На первом этапе выдвигались гипотезы в отношении потенциальных рисков ГМО, научно-достоверные сценарии реализации рисков, а также определялись пути дифференциации риска и вредного воздействия. С целью установления, какие новые характеристики ГМО могут стать причиной неблагоприятного воздействия при взаимодействии с вероятной потенциальной принимающей средой (установление экологического риска) и какие новые характеристики могут представлять риск для здоровья человека была проанализирована информация, представленная в Досье. Информация касается особенностей вектора, встраиваемых последовательностей, особенностей организма-реципиента (*Solanum tuberosum*), ГМО. Проведен сравнительный анализ генотипических и фенотипических характеристик ГМО и организма-реципиента (*Solanum tuberosum*), особенностей потенциальных принимающих сред и информации, касающейся предполагаемого вида использования ГМО.

При выявлении потенциальных экологических рисков особое внимание было уделено следующим особенностям ГМО, потенциальной принимающей среды и взаимодействия ГМО с потенциальной принимающей средой, которые могут привести к возникновению такого риска:

– особенности ГМО (по сравнению с реципиентными организмами), которые могут оказывать влияние на выживаемость, размножение и распространение в потенциальной принимающей среде;

– известные и прогнозируемые условия потенциальной принимающей среды, которые могут оказывать влияние на выживаемость, размножение, рассеивание ГМО;

– способность к переносу генетической информации: наличие в потенциальной принимающей среде диких или культурных родственных видов, способных к гибридизации с ГМО, вероятность переноса трансгенов от ГМО к таким организмам;

– идентификация и описание организмов-мишеней (организмов, на которых направлено действие) продуктов трансгенов ГМО;

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

На 2 и 3 этапах оценки рисков оценена вероятность возникновения каждого неблагоприятного последствия и оценены последствия, в том случае если такое неблагоприятное воздействие наступит.

Вероятность возникновения неблагоприятного последствия оценивалась качественно с использованием следующих терминов: «высоко вероятно», **«вероятно»**, «маловероятно» и **«весьма маловероятно»**.

Оценка последствий неблагоприятного воздействия была выражена качественно с использованием следующих терминов: **«существенное»**, **«среднее»**, **«незначительное»** или **«маргинальное»**.

На 4 этапе была дана качественная оценка совокупного риска, вызываемого ГМО. Оценка совокупного риска дана с использованием следующих терминов **«высокий»**, **«средний»**, **«низкий»**, **«незначительный»** или **«неопределенный»**.

На 5 этапе были определены рекомендации относительно того, являются ли риски приемлемыми или регулируемыми, а также даны рекомендации относительно стратегий для регулирования таких рисков.

Оценка рисков для здоровья человека проводилась по установленным в Республике Беларусь инструкциям [2].

3. Этап 1. Выявление любых новых генотипических и фенотипических характеристик, связанных с ГИО, которые могут оказать неблагоприятное воздействие на биологическое разнообразие в вероятной потенциальной принимающей стороне, с учетом рисков для здоровья человека

3.1. Информация, имеющая существенное отношение к оценке риска

3.1.1. Характеристика реципиентного организма

Картофель (*Solanum tuberosum* L.), произрастающий на территории Республики Беларусь, является тетраплоидом.

Размножается вегетативным и половым путём. Специфические факторы, влияющие на размножение растений картофеля, отсутствуют. Относится к растениям-самоопылителям. Однако, возможно переопыление посредством насекомых (преимущественно, шмелей и пчел). Потомство воспроизводится в вегетационный период – с мая по сентябрь месяц.

Для использования в хозяйственной деятельности картофель выращивают в виде клубней. Клубни картофеля после созревания переходят в состояние покоя. Обычно хранятся в специальных хранилищах при плюсовой температуре. Оставшиеся в почве не убранные во время уборки клубни могут сохраняться и прорасти на следующий год. На выживаемость оказывают влияние температура и степень поражения фитопатогенами.

Семенное размножение картофеля ограничено и используется только в селекционной работе. Рассеивание картофеля естественным путем практически не происходит и может осуществляться только при помощи человека. Завязавшиеся семена в процессе уборки картофеля, как правило, уничтожаются вместе с вегетативной массой.

В Республике Беларусь картофель относится к растениям низкого уровня риска миграции трансгена в природные популяции родственных видов растений. Он характеризуется полной половой несовместимостью с другими культивируемыми видами растений и очень низкой совместимостью с дикими

ми видами картофеля. В Беларуси дикие виды картофеля не произрастают. На территории Республики Беларусь единственным дикорастущим родственным видом культурного картофеля является паслен черный (*Solanum nigrum* L.) – это сорняк, растущий в посадках культурного картофеля. Однако спонтанная гибридизация между *Solanum tuberosum* и *Solanum nigrum* в естественных условиях не происходит и получение межвидовых гибридов возможно только в экспериментальных условиях *in vitro*.

3.1.2. Характер генетической модификации, метод, использованный для переноса генетической конструкции, стабильность вставки

Цель генетической модификации – включение в геном реципиентного организма (*Solanum tuberosum*, сорт Юлия) функционально активного гена эндонуклеазы *Cas9 Streptococcus pyogenes*, обеспечивающего нокаут целевых генов-мишеней *StDMR6-1*, *StCHL1*, являющихся регуляторами защитных реакций растения, задействованных патогеном *Phytophthora infestans* в колонизации и заражении растительного организма.

Полученные разработчиками генетически-модифицированная линия картофеля содержит, по сравнению с исходным сортом, вставку чужеродной ДНК, которая включает в себя следующий генетический материал:

- целевой ген эндонуклеазы *Cas9 Streptococcus pyogenes*, белковый продукт которого вносит 2-х цепочечные разрывы в цепи ДНК в гены мишени *StDMR6-1*, *StCHL1*;

- спейсерные последовательности гидРНК *Solanum tuberosum* для функциональной активности белка *Cas9*, комплементарные протоспесерам генов мишеней *StDMR6-1*, *StCHL1*;

- маркерный ген *HygR* устойчивости к антибиотику гигромицину *Escherichia coli* для селективного отбора трансформантов;

- 35S промотор вируса мозаики цветной капусты (CaMV), обеспечивающий конститутивную экспрессию целевых генов;

– промотор гена нопалин-синтазы *Agrobacterium tumefaciens*, обеспечивающий конститутивную экспрессию маркерного гена;

– *OsU3* промотор *Oryza sativa (rice)*, обеспечивающий конститутивную транскрипцию малых РНК в ядре;

– RNA polymerase III терминатор (растительный), обеспечивающий терминацию малых РНК в ядре.

Организмы-доноры встраиваемых нуклеотидных последовательностей не являются опасными для здоровья человека (по классификации ВОЗ).

Метод переноса генетической конструкции – агробактериальная трансформация листовых дисков и частей стебля асептической культуры картофеля.

По данным Заявителя вектор не способен к самостоятельному переносу и встраиванию в хромосомную ДНК. Без вспомогательной плазмиды pRK2013, которая отсутствует в *Agrobacterium tumefaciens* и трансформированном геноме картофеля, вектор не может быть перенесен в другие бактерии. Стабильность инкорпорации/наследования привнесенной ДНК, по данным Заявителя, может быть оценена по результатам изучения T₀-T₄ поколений.

По структуре и функциям встроенные последовательности соответствуют своему назначению. T-ДНК содержат только последовательности, содержащиеся в переносимых генетических конструкциях, необходимые для осуществления устойчивости растений картофеля к фитофторозу и для отбора трансформантов. Потенциально опасные последовательности в интегрированных в геном растений фрагментах ДНК отсутствуют. Заявителем не выявлено во встроенной T-ДНК каких-либо неизвестных последовательностей.

Обнаружение и идентификация элементов встроенной T-ДНК проводилось Заявителем методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием праймеров, разработанных и апробированных *in silico* в программе SnapGene Viewer 6.0 и базе данных NCBI: U3-F – agcttaaggaatctttaaacat-acgaacagat; 35-f – tcaacaagggtaatatccggaaacctcctcgga; 35-R – ag-tcccccggtgtctctccaaatgaaatgaac (электрофореграммы представлены в Досье). Чувствительность метода соответствует стандартной методике детекции

определения последовательностей ДНК с помощью ПЦР и электрофореза в агарозном геле.

3.1.3. Способность переноса вектора в другие организмы

Перенос T-области вектора из генома трансгенного картофеля возможен в процессе переопыления с сортами культурного картофеля.

Данные, подтверждающие способность приобретения мобильности встроенного вектора и переноса его в другие организмы, отсутствуют. Инсерция T-ДНК в растительном геноме не обладает свойствами мобильности или переноса в другие организмы.

3.1.4. Молекулярные характеристики генетически модифицированного организма, относящиеся к модификации

Для введения в растения картофеля экспрессионных кассет использовали генетические конструкции, созданные на основе бинарного вектора *pRGEB31*, в состав которых входят гидРНК, комплементарные протоспейсерам генов *StDMR6-1* и *StCHL1*, слитые с gRNAscaffold под регуляцией *U3* промотора и терминатора транскрипции для малых РНК, ген белка Cas9 (Csn1) нуклеазы из *Streptococcus pyogenes* под *CaMV 35S* промотором и *NOS* терминатором, а также ген *Hyg* устойчивости к гигромицину для селекции растений.

Наличие экспрессионных кассет в векторе *pRGEB31*, содержащих регуляторные элементы для гидРНК слитой с gRNAscaffold и гена нуклеазы Cas9, было установлено заявителем с использованием метода ПЦР. Размеры выявленных Заявителем фрагментов, содержащих *OsU3* промотор и терминатор транскрипции для малых РНК для гидРНК+gRNAscaffold и *35S* промотор и *NOS* терминатор для регуляции гена нуклеазы Cas9 – 1 398 п.н. и 4 466 п.о., соответственно, соответствует теоретически рассчитанным (электрофореграмма представлена в Досье).

Мишенью для функциональной активности белка Cas9 являются интактные гены картофеля *StCHL1* и *StDMR6-1*, а именно их протоспейсерные последовательности. Данные гены являются регуляторами защитных реакций растения, задействованных патогеном *Phytophthora infestans* в колонизации и заражении растительного организма. Воздействие эндонуклеазы Cas9 на протоспейсерные последовательности данных генов у растений может вызывать устойчивость к фитофторозу без изменения признаков архитектоники.

По данным Заявителя количество копий трансгенов при *Agrobacterium*-опосредованной трансформации составляет не более 3, что может быть подтверждено как молекулярно-генетическими методами, так и при изучении семенного потомства в T₀-T₄ поколениях. Степень и уровень экспрессии трансгенной линии картофеля Заявителем не изучалась.

3.1.5. Характеристика генетически модифицированного организма

Морфологических изменений у трансгенной линии картофеля по сравнению с контролем (исходный сорт Юлия) не выявлено. В генетическом отношении заявляемая трансгенная линия отличается от реципиентного организма по двум генам – целевому (*Cas9*) и селективному (*HygR*), и отличаются от реципиентного растения по двум признакам – устойчивость к фитофторозу, которая связана с экспрессией встроенного гена, белковый продукт которого вносит 2-х цепочечные разрывы в цепи ДНК в гены мишени *StDMR6-1*, *StCHL1*, и устойчивость к антибиотику гигромицину.

Трансгенная линия картофеля сорта Юлия T₀ поколения с инсерцией T-ДНК по биологическим свойствам ничем не отличаются от реципиентных растений картофеля. Поэтому какого-то специфического воздействия принимающей среды на выживаемость, размножение и распространение трансгенной линии картофеля не предполагается.

Ген эндонуклеазы Cas9 и ген устойчивости к гигромицину находятся под контролем конститутивных промоторов, вследствие чего они должны экспрессироваться во всех частях растения.

Следует отметить, что технология редактирования генома на основе системы CRISPR/Cas9, использованная для создания заявляемой трансгенной линии картофеля, – относительно простой, но эффективный и высокоспецифичный инструмент, с помощью которого в определенные участки растительного генома можно вносить изменения, такие как инсерции, делеции, замены нуклеотидов. На сегодняшний день данная технология применяется для редактирования генома более 30 видов сельскохозяйственных растений, включая такие важнейшие культуры, как рис, соя, пшеница, кукуруза и картофель. При выращивании данных растений отрицательных эффектов на окружающую среду и человека не показано.

Уровень функциональной активности белков, кодируемых трансгенной линией картофеля, не изучался.

Разработанные трансгенные растения могут превосходить исходный сорт по конкурентоспособности благодаря повышенной устойчивости к фитофторозу в силу лучшей выживаемости и урожайности.

3.1.6. Потенциальная токсичность и аллергенности

Оценка проведена Заявителем по установленным Инструкциям [2].

По данным Заявителя, анализ гомологии нуклеотидных последовательностей и их аминокислотных продуктов заявляемой трансгенной линии, созданной на основе сорта картофеля Юлия, выявил полную идентичность (100%) с известными последовательностями нуклеотидными последовательностями и их белковых продуктами, представленными в базе данных NCBI.

По литературным данным, белки Cas9, используемые в системе редактирования генома CRISPR/Cas9, не являются пищевыми аллергенами, однако могут вызывать иммунный ответ.

На основании данных о нуклеотидной и аминокислотной последовательностях продуктов экспрессии трансгенной вставки заявляемой линии картофеля был проведен поиск на присутствие возможных аллергенов и токсинов с помощью базы данных T3DB. Проведенное исследование показало

отсутствие гомологии нуклеотидных и аминокислотных последовательностей трансгенной вставки с известными аллергенами и токсинами. Таким образом, в результате проведенных исследований по оценке биобезопасности трансгенной линии картофеля показано, что молекулярно-генетические характеристики продуктов встроенных генов характеризуют их как не представляющие опасности для здоровья человека и животных.

3.1.7. Цель высвобождения, условия высвобождения

Высвобождение будет осуществляться на специально подготовленном участке (далее – опытном поле) на Биологической опытной станции Института генетики и цитологии НАН Беларуси, расположенной в Академгородке (г. Минск, ул. Ф. Скорины, 34, Первомайский район), соответствующим требованиям биобезопасности, установленным в Республике Беларусь, с целью изучения устойчивости трансгенной линии картофеля к фитофторозу по сравнению с контрольным сортом картофеля Юлия.

В районе расположения опытного поля и поблизости каких-либо природоохранных объектов и территорий нет.

В севообороте выращиваются такие сельскохозяйственные культуры как: пшеница, ячмень, подсолнечник и картофель. Таким образом, участок земли для испытаний существенно не отличается от среды обитания культивируемого в республике картофеля.

Подготовка участка для посадки и технология выращивания заявляемой трансгенной линии картофеля ничем не отличается от обычной подготовки почвы – вспашка трактором, боронование, окучивание посаженных растений. В случае необходимости участок может поливаться, поскольку на экспериментальном поле имеется водопроводная сеть.

Заявителем предусмотрены меры предупреждения риска высвобождения ГИО. В конце вегетационного периода вся надземная часть растений будет срезаться и уничтожаться путём сжигания в крематоре. Трансгенные растения будут высаживаться на специальном полигоне, огороженном оградой –

металлической сеткой. Территория полигона будет находиться под круглосуточным контролем камер слежения и звуковой сигнализации. Таким образом, территория полигона будет охраняться от проникновения животных и посторонних лиц. Поблизости от участка никаких диких и культурных родственных видов, способных к гибридизации с трансгенным картофелем, нет. По завершении вегетационного периода вся надземная часть растения будет сожжена в крематоре, а клубни будут тщательно выбраны и перенесены в хранилище и использоваться в дальнейших исследованиях. Участок будет вспахан и заборонован. Использование специального полигона для выращивания и испытания трансгенных растений, оборудованного хранилища клубней, биологические особенности размножения картофеля не предполагают непредвиденного распространения трансформантов.

4. Этап 2. Оценка степени вероятности фактического возникновения неблагоприятных последствий, с учетом интенсивности и характера воздействия ГИО на вероятную потенциальную принимающую среду.
Этап 3. Оценка последствий в том случае, если такое неблагоприятное воздействие действительно будет иметь место

4.1. Оценка экологического риска

4.1.1. Гипотеза. Миграция и последующая интрогрессия трансгенов в дикие популяции в результате вертикального (обмен генетической информацией между организмами, принадлежащими к одному виду растений) переноса генов. Появление новых, более агрессивных сорняков в результате генетической модификации и/или переноса трансгенов, способствующих повышению агрессивности вида, диким родственными видами.

Картофель – вегетативно размножаемое культурное растение, не обладающее способностью к выживанию вне культурных биоценозов в климатических условиях Республики Беларусь. Картофель не является сорным расте-

нием. Он характеризуется полной половой несовместимостью с другими культивируемыми видами растений и крайне низкой совместимостью с дикими видами картофеля, которые не произрастают в Республике Беларусь. На территории Республики Беларусь единственным дикорастущим родственным видом культурного картофеля является паслен черный (*Solanum nigrum* L.), не относящийся к серии *petota*, – это сорняк, растущий в посадках культурного картофеля. Спонтанная гибридизация между *Solanum tuberosum* и *Solanum nigrum* в естественных условиях не происходит и получение межвидовых гибридов возможно только в экспериментальных условиях *in vitro*. Проведенные ранее сотрудниками Института генетики и цитологии НАН Беларуси эксперименты по опылению кастрированных цветков паслена смесью пыльцы трансгенных линий картофеля (опылено более 50 цветков) показали полное отсутствие завязываемости гибридных ягод и семян, что полностью согласуется с данными литературных источников. Таким образом, в условиях Беларуси можно полностью исключить возможность переноса трансгенов диким сородичам культурного картофеля (данные Заявителя).

Вероятность миграции трансгенов в дикие популяции и появление новых более агрессивных сорняков при возделывании в Республике Беларусь и других странах, кроме указанных выше, в которых произрастают дикие сородичи, – весьма маловероятно. Оценка последствия (кроме стран, в которых произрастают дикие сородичи) – маргинальное.

4.1.2. Гипотеза. Вероятность передачи трансгенов культурным сортам картофеля и последствия такой передачи

Культурный тетраплоидный картофель относят к растениям самоопылителям. Вместе с тем, возможен перенос трансгена к культурным сортам картофеля при совместном культивировании посредством переопыления насекомыми (шмели, пчелы). На территории опытного поля, соответствующего требованиям безопасности, ульев нет.

Картофель – вегетативно размножаемое растение. Клубни с полей убирают во время сборки урожая. Вместе с тем, оставшиеся в почве клубни могут сохраняться и прорасти на следующий год. На выживаемость влияют климатические факторы и степень заражения нематодами, колорадским жуком и фитопатогенными микроорганизмами. Возможно также формирование семян, однако, рассеивание картофеля естественным путем практически не происходит.

Завязывание семян в результате переопыления трансгенных клонов с сортами культурного картофеля и распространение в окружающей среде гибридов не может иметь каких-либо негативных последствий для биологического разнообразия. Для посадки картофеля как вегетативно размножаемой культуры используют исключительно семенные клубни определенного сорта.

В конце вегетационного периода выращивания трансгенных растений на специальном опытном поле, соответствующем требованиям безопасности, вся наземная часть растений будет срезаться и уничтожаться путем кремации, а клубни тщательно выбираться и храниться в специальных хранилищах.

Вероятность передачи трансгенов культурным сортам картофеля при возделывании трансгенного картофеля на территории опытного поля, соответствующего требованиям безопасности, – маловероятно. Оценка последствий – **незначительное.**

При возможном дальнейшем коммерческом выращивании на вероятность передачи трансгена будет влиять степень контроля за полнотой сборки урожая и уничтожение семян вместе с вегетативной массой в процессе уборки. Для предотвращения переноса пыльцы от трансгенного картофеля к нетрансгенному посредством насекомых при дальнейшем коммерческом использовании в качестве изолирующего фактора может применяться его возделывание от нетрансгенного на расстоянии 150-200 м, что является достаточным изолирующим фактором для предотвращения переноса пыльцы, и отсутствие ульев поблизости от полей, на которых возделывается картофель.

4.1.3. Гипотеза. Миграция и последующая интрогрессия трансгенов в результате горизонтального (обмен генетической информацией между организмами, принадлежащими к разным видам) переноса генов

Возможен перенос генов в геном бактерий. Однако способностью к самостоятельному переносу вектор не обладает, и без вспомогательной плазмиды pRK2013 он не может быть перенесен в другие бактерии. Такая вспомогательная плазида отсутствует в *Agrobacterium tumifaciens* и трансформированном геноме картофеля.

Вероятность возникновения неблагоприятного последствия – **маловероятно**. Оценка последствия – **незначительное**.

4.1.4. Сокращение биологического (генетического) разнообразия в результате изменения естественных биоценозов, вытеснения местных сортов

Вероятность возникновения неблагоприятного последствия – **маловероятно**. Оценка последствия – **незначительное**.

4.1.5. Гипотеза. Воздействие продукта трансгенов на организмы, не являющиеся мишенью их заданного действия

Заявляемая трансгенная линия несет по сравнению с немодифицированным сортом Юлия последовательности двух генов – целевого (*Cas9*), продуцирующего белковый продукт, который вносит 2-х цепочечные разрывы в цепи ДНК в гены мишени *StDMR6-1*, *StCHL1*, задействованные патогеном *Phytophthora infestans* в колонизации и заражении растительного организма, и селективного (*HygR*), обеспечивающего устойчивость к антибиотику гигромицину.

Действие продуктов трансгенной линии не направлено на организмы-мишени, организмов-немишеней нет.

Оценка вероятности воздействия на организмы-мишени и организмов-немишени – **маловероятно**. Оценка последствия – **незначительное**.

4.1.6. Гипотеза. Появление живых организмов, резистентных или толерантных к продуктам трансгенов

Вероятность возникновения неблагоприятного последствия при выращивании на территории опытного поля, соответствующего требованиям биобезопасности, – **маловероятно**. Оценка последствия – **незначительное**.

На основании данных оценки вероятности отдельных возможных экологических рисков, суммарный экологический риск при выращивании трансгенной линии картофеля со встроенным геном эндонуклеазы Cas9, обеспечивающим нокаут целевых генов-мишеней *StDMR6-1*, *StCHL1*, оценен, как **незначительный**. При возможном коммерческом возделывании трансгенного картофеля должны быть применены меры регулирования, указанные в п. 3. В случае возможного возделывания трансгенного картофеля в странах произрастания диких сородичей уровень суммарного экологического риска и меры его регулирования должны быть пересмотрены.

4.2. Оценка риска здоровью человека

4.2.1. Гипотеза. Трансгенный картофель при использовании в пищу оказывает токсический эффект на здоровье человека и аллергические реакции

На основании данных о нуклеотидной и аминокислотной последовательностях продуктов экспрессии трансгенной вставки заявляемой линии картофеля Заявителем определено наличие или отсутствие гомологии новых белков с токсинами белковой природы, а также с белками, обладающими фармакологической или иной биологической активностью.

Анализ гомологии нуклеотидных последовательностей и их аминокислотных продуктов заявляемой трансгенной линии картофеля выявил полную идентичность (100%) с известными последовательностями нуклеотидными последовательностями и их белковых продуктами, представленными в базе данных NCBI. Проведенное исследование с использованием базы данных TrSDb показа-

ло отсутствие гомологии нуклеотидных и аминокислотных последовательностей трансгенной вставки с известными аллергенами и токсинами.

По литературным данным, белки Cas9, используемые в системе редактирования генома CRISPR/Cas9, не являются пищевыми аллергенами, однако могут вызывать иммунный ответ.

В результате проведенных исследований по оценке биобезопасности трансгенной линии картофеля показано, что молекулярно-генетические характеристики продуктов встроенных генов характеризуют их как не представляющие опасности для здоровья человека и животных.

Вероятность возникновения неблагоприятного последствия при выращивании на территории опытного поля – **маловероятно**. Оценка последствия – **незначительное**, общий риск – **незначительный**.

5. Этап 4. Оценка совокупного риска, вызываемого ГИО, на основе вероятности возникновения и последствий для каждого выявленного неблагоприятного воздействия. Этап 5. Вынесение рекомендации относительно того, являются ли риски приемлемыми или регулируемые, включая, если это необходимо, определение стратегий для регулирования таких рисков

Суммарный экологический риск и риск для здоровья человека при выращивании трансгенной линии картофеля на территории опытного поля оценивается как «**низкий**». Возможные риски являются приемлемыми.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В результате проведенной оценки рисков возможных вредных воздействий на здоровье человека и окружающую среду трансгенной линии картофеля со встроенными последовательностями гена *Cas9*, белковый продукт которого вносит 2-х цепочечные разрывы в цепи ДНК в гены мишени *StDMR6-1*, *StCHL1*, и гена *HygR*, обеспечивающего устойчивость к антибиотику гигромицину, выводы которой основываются на результате анализа данных Досье, представленных Заявителем (Институт генетики и цитологии НАН Беларуси), уполномоченная организация (Институт леса НАН Беларуси) считает, что риск высвобождения заявляемой трансгенной линии картофеля в окружающую среду для проведения испытаний на территории опытного поля, соответствующего требованиям безопасности к опытным полям и другим объектам, предназначенным для проведения испытаний непатогенных генно-инженерных организмов, является **низким**.

2. Созданная и встроенная в геном растений картофеля генно-инженерная модификация содержит элементы, выделенные из ДНК организмов, которые не относятся к категории опасных для здоровья человека. По структуре и функциям соответствует своему назначению. Характеризуется отсутствием во встроенной ДНК каких-либо неизвестных или потенциально опасных последовательностей, а также стабильностью инкорпорации и наследуемости целевого гена. Метод обнаружения встроенного фрагмента ДНК, основанный на ПЦР, характеризуется высокой чувствительностью, надежностью и достаточной специфичностью.

3. Заявителем разработаны меры мониторинга при выращивании трансгенной линии картофеля на территории опытного поля, меры по регулированию рисков, меры очистки территории опытного поля по окончании вегетационного периода, являющиеся эффективными для преодоления долгосрочного неблагоприятного воздействия.

4. Представленная Заявителем трансгенная линия картофеля со встроенными последовательностями генов *Cas9* и *HygR* может быть выпущена в окружающую среду для проведения испытаний на территории опытного поля, соответствующего требованиям безопасности к опытным полям и другим объектам, предназначенным для проведения испытаний непатогенных генно-инженерных организмов.

Метод мониторинга форм – ПЦР к последовательностям целевого и селективного генов.

**ВЫВОДЫ О ДОПУСТИМОСТИ (НЕДОПУСТИМОСТИ)
ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ТРАНСГЕННОЙ ЛИНИИ КАРТОФЕЛЯ СО
ВСТРОЕННЫМИ ГЕНАМИ *Cas9* и *HygR* В ОКРУЖАЮЩУЮ СРЕДУ
ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ**

Представленная Заявителем трансгенная линия картофеля сорта Юлия со встроенной последовательностью гена *Cas9*, обеспечивающей нокаут целевых генов-мишеней *StDMR6-1*, *StCHL1*, являющихся регуляторами защитных реакций растения, задействованных патогеном *Phytophthora infestans* в колонизации и заражении растительного организма, и гена *HygR*, обеспечивающей устойчивость к антибиотику гигромицину, может быть высвобождена в окружающую среду для проведения испытаний на территории опытного поля, соответствующего требованиям безопасности к опытным полям и другим объектам, предназначенным для проведения испытаний непатогенных генно-инженерных организмов.

Заведующий лабораторией селекции,
семеноводства и сохранения
генетических ресурсов леса
ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»,
к.б.н., доцент



Д.И. Каган

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1 Постановление Совета Министров Республики Беларусь «Об оценке рисков в генно-инженерной деятельности и выдаче разрешительного документа» 12 июня 2019 г. № 382 // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. – 2019. – Рег. № 5/46619.

2 Порядок проведения оценки риска возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на здоровье человека: Инструкция по применению / В. Г. Цыганков [и др.] // утв. Мин-вом здравоохранения Респ. Беларусь 25 августа 2006. – Рег. №076-0806. – Минск, 2006. – 15 с.

3 Мозгова Г. В. Оценка рисков воздействия ГМО на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия, с учетом рисков для здоровья человека: методические рекомендации. – Минск: Право и экономика, 2014. – 58 с.

4 Consensus document on the biology of *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* (potato). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology. – No. 8. – Режим доступа: <http://www.oecd.org/science/biotrack/46815598.pdf>

5 Руководство по оценке рисков в отношении живых измененных организмов // Электронный ресурс. – Режим доступа: <http://www.cbd.int/doc/meetings/bs/mop-06/official/mop-06-13-add1-ru.pdf>.

6 Механизм посредничества по биобезопасности. База данных: ЖИО, гены и организмы. – Режим доступа: <https://bch.cbd.int/database/organisms/>.

7. Международная служба по сбору агробиотехнологических разработок. – Режим доступа: <http://www.isaaa.org/>.