

щее время пытается охватить две стороны - производство органических продуктов питания для некоторых стран по высокой цене, хотя заметна тенденция к выращиванию ГМ-культур. Страна также пыталась объявить некоторые области зонами свободными от ГМО с целью повышения уровня доверия среди других стран к их продуктам питания.

ЛЕКЦИЯ 5

ПРОБЛЕМЫ БИОБЕЗОПАСНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГМО

ВОПРОСЫ

- 1. Методы обнаружения ГМО*
- 2. Критерии и методы оценки безопасности ГМО*
- 3. Требования к полевым испытаниям ГМ-растений*

1. Методы обнаружения ГМО

Увеличение использования ГМО и их компонентов в производстве продуктов питания, сельскохозяйственных кормов и фармацевтических препаратов делает всё более актуальным вопрос разработки эффективных методов идентификации трансгенной ДНК.

В настоящее время наиболее разработаны и широко применяются методы обнаружения фрагментов чужеродной ДНК, основанные на использовании различных видов ПЦР (полимеразная цепная реакция). ПЦР - это метод, который позволяет проверить генетический материал, выделенный из исследуемого образца, на наличие в его составе участка чужеродной или измененной ДНК и используется для получения множества копий непротяженных участков ДНК, специфичных для каждого конкретного белка, а также исследуемого генетически обусловленного признака (Рис. 1).

В основе метода ПЦР лежит способность хорошо известных в молекулярной биологии ферментов, ДНК-полимераз, осуществлять направленный синтез второй, т.е. комплементарной (спаренной) цепи ДНК, по имеющейся матрице одноцепочечной ДНК, наращивая небольшую олигонуклеотидную затравку (праймер), комплементарную участку этой матрицы, до размеров в несколько тысяч или даже десятков тысяч звеньев. Повышая температуру, можно добиться остановки реакции и последующей денатурации полученной ДНК, т.е. разделения цепей полученной в ходе реакции двуцепочечной ДНК. Если в реакционной смеси присутствует избыток праймера, то, значительно снизив температуру, чтобы праймер мог вновь связаться с тем же самым комплементарным участком ДНК, и, добавив новую порцию фермента, можно вновь установить температуру, необходимую для реакции полимеризации, и, таким образом, проведя реакцию еще раз, увеличить количество ранее полученного продукта. Многократное, или как говорят цикличе-

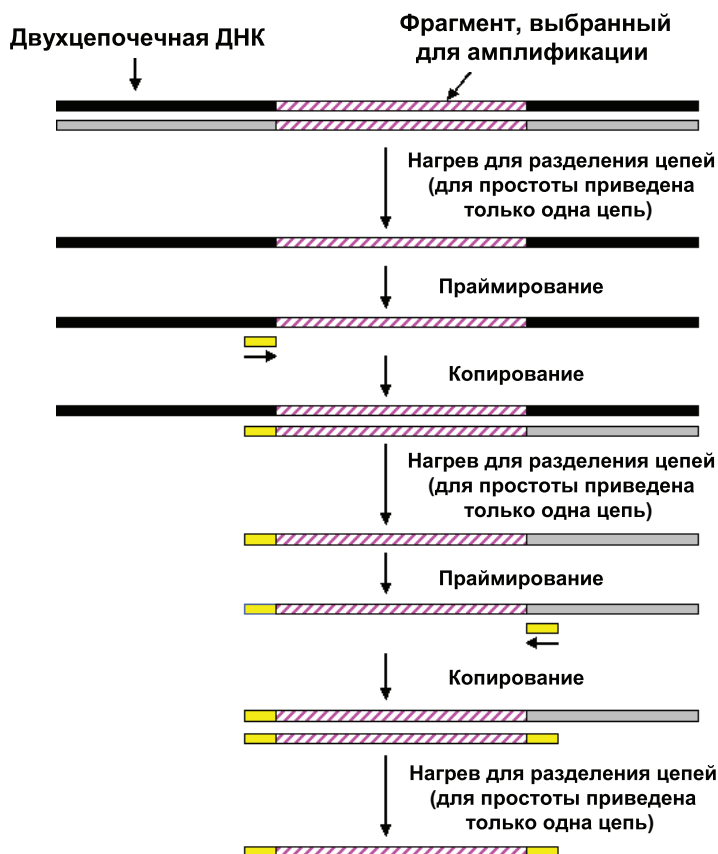


Рис. 1. Метод ПЦР (www.sciencerussian.sibenzyme.com)

ское, повторение этой процедуры позволяет наработать значительное количество копий участка ДНК, начинающегося с данного праймера. Один цикл ПЦР осуществляется за 1–2 мин, так что в течение нескольких часов можно получить 100 млрд. копий.

Описанный метод позволяет получать достаточное количество материала для разнообразных экспериментальных исследований. ПЦР используют в опытах по клонированию или направленной модификации нуклеотидных последовательностей, а также во всех тех случаях, когда для проведения анализа нужно увеличить количество исследуемого генетического материала; примеры тому – пренатальная (до рождения) диагностика рецессивных наследственных заболеваний, исследование ископаемых остатков живых существ, проведение «молекулярной дактилоскопии» в судебной практике, выявление трансгенной ДНК в сель-

скохозяйственных и пищевых продуктах, идентификация патогенных микроорганизмов в биологических жидкостях человека.

Кроме описанного выше метода ПЦР, для выявления трансгенных фрагментов ДНК используется целый ряд других методов:

- **Методы обнаружения ГМО, основанные на исследовании трансгенных белков.** Процесс создания ГМ растений основан на введении в клетки организма-реципиента чужеродных генных конструкций обеспечивающих синтез новых белков. Таким образом, появляющиеся в растении в результате генетической модификации белки могут служить маркерами генетической модификации. К этой группе методов относят различные иммунологические методики, основанные на использовании *антител (особые белки, вырабатываемые иммунной системой организма в ответ на проникновение чужеродных организмов или их фрагментов) специфичных к маркерным белкам, используемым при создании ГМО.*

- **Хроматографические методы.** Используются в том случае, когда генетическая модификация приводит к появлению и/или увеличению содержания специфических жирных кислот или триглицеридов. Использование подобного метода диагностики была показана для растительного масла полученного из ГМ рапса.

- **Методы спектроскопии.** В ряде случаев генетические модификации могут приводить к изменению структуры растительных волокон при отсутствии видимых изменений в белковом или жирнокислотном составе. Подобный тип изменений наблюдается, например у трансгенной сои линии 40-3-2 (Roundup Ready Soy).

- **Технология ДНК-чипов.** ДНК-чипы - это наборы из большого числа олигонуклеотидов на миниатюрных твердых подложках, предназначенные для анализа последовательности ДНК. Метод основан на том, что с помощью фотолитографии на небольшой поверхности размещают огромное число **олигонуклеотидов (одноцепочечные фрагменты ДНК)**. Количество таких полинуклеотидных ячеек, а следовательно и количество различных нуклеотидных последовательностей, может превышать 1 млн. на 1 см², их длина варьирует от 9-10 до 1000 нуклеотидов. После проведения ПЦР, полученные продукты реакции могут быть автоматически проанализированы методом гибридизации с мечеными олигонуклеотидами на ДНК-чипах, что значительно ускоряет процесс идентификации трансгенной ДНК.

2. Критерии и методы оценки безопасности ГМО

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:

$$\text{риск} = \text{вероятность} \times \text{последствие, или} \\ \text{риск} = \text{вероятность негативного воздействия фактора риска} \times \\ \times \text{величина последствий воздействия.}$$

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) целью 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 явля-

ется 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 эффективное.

- **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 рис. 2 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.

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 окружа-

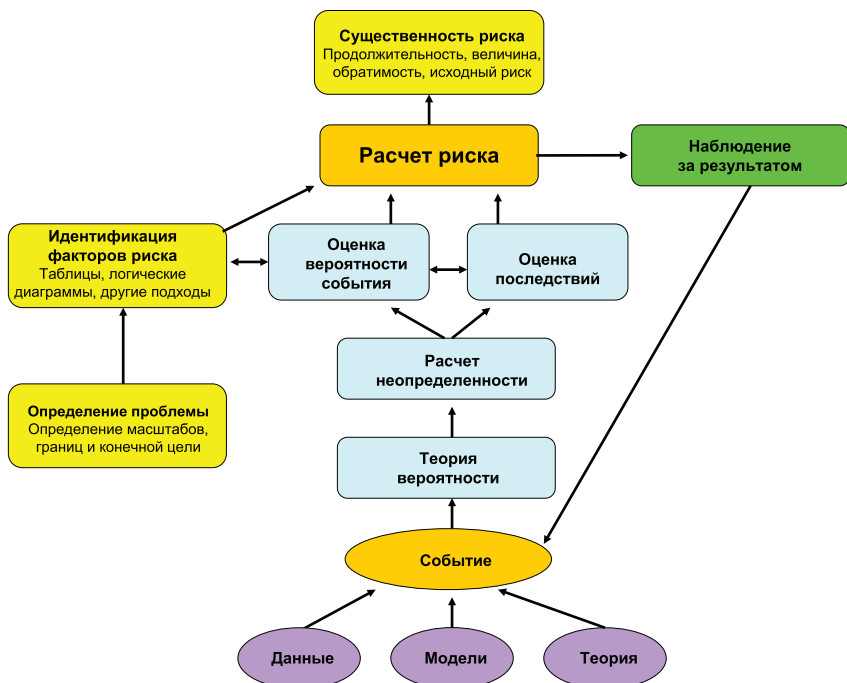


Рис. 2. Компоненты системы оценки риска

ющую 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.

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 регулируемыми, включая, если это необходимо, определение стратегий для регулирования таких рисков. Оценка риска, обусловленного его каждым идентифицированным фактором.

3. Требования к полевым испытаниям ГМ-растений

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 обустраивают так, чтобы предотвратить несанкционированное перемещение семян и вегетативной массы испытываемых растений (рис. 3).

Основными целями выращивания ГМ-растений на испытательном поле является изучение генетических, физиологических и других механизмов формирования хозяйственно-ценных признаков, заданных введением в генотип испытываемых 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.



Рис. 3. 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.

Например, в соответствии с законодательством Республики Беларусь, 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 испытания;
- 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).

В паспорте указываются:

- наименование юридического лица (фамилия и инициалы индивидуального предпринимателя), осуществляющего испытания;

- 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 (рис. 4). Для этого предусматривается

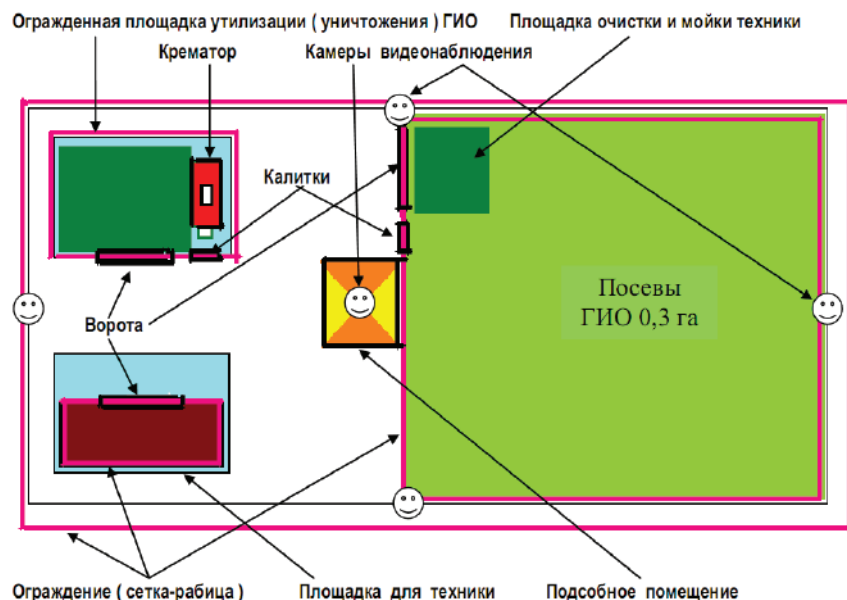


Рис 4. Схема размещения объектов опытного поля (полигона) для испытаний непатогенных генно-инженерных организмов (ГИО)

размещение видеокамер наблюдения, обеспечение охранной сигнализацией, подача светового и звукового предупредительных сигналов при движении кого-либо в сторону объекта, а в случае 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 и соблюдать технику безопасности работ с генно-инженерными организмами. Они несут полную ответственность за нарушение безопасности генно-инженерной деятельности.

ЛЕКЦИЯ 6

ГМО И ОБЕСПЕЧЕНИЕ БИОБЕЗОПАСНОСТИ

ВОПРОСЫ

1. *Картахенский протокол по биобезопасности*
2. *Законодательство стран ЕС и СНГ в области биобезопасности*

1. Картахенский протокол по биобезопасности

Необходимость в международном масштабе регулировать деятельность, связанную с современной биотехнологией и её потенциальным воздействием на окружающую среду и здоровье человека, государства члены ООН признали на конференции в Рио-де-Жанейро в 1992 году. На ней 193 государства (плюс Европейское Содружество в целом как отдельный участник конференции) подписали **Конвенцию по биоразнообразию**, *основной целью является сохранение биологического разнообразия, устойчивое использование его составляющих и справедливый раздел прибыли, полученной в результате использования генетических ресурсов нашей планеты.*

При создании Конвенции государства её члены признали, что биотехнология может содействовать достижению целей Конвенции в случае, если она будет развиваться и применяться при наличии соответствующих мер безопасности в интересах сохранения окружающей среды и здоровья человека. Стороны-участницы договорились о разра-