

**ПРИОРИТЕТНЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПРОЕКТ «ОБРАЗОВАНИЕ»
РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ДРУЖБЫ НАРОДОВ**

**В.В. КУЗНЕЦОВА
В.Д. ЦЫДЕНДАМБАЕВ**

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ
ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ
ОРГАНИЗМОВ (ЭКСПЕРТИЗА ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ
НА БИОБЕЗОПАСНОСТЬ)**

Учебное пособие

**Москва
2008**

ВВЕДЕНИЕ

Научно-технический прогресс приводит к появлению новых многообещающих научных технологий, которым часто приписывается исключительная роль в решении глобальных проблем современного общества. Бурное развитие инновационных технологий и быстрое внедрение их в практику зачастую не подкреплено достаточно обоснованными оценками медицинских, экологических и социальных последствий их применения, а экономические интересы международных компаний, корпоративных групп и отдельных физических лиц, стимулированные практическим использованием достижений науки, доминируют над принципами безопасности новых технологий и новых видов продукции.

Развитие генно-инженерных технологий является одним из крупнейших достижений молекулярной биологии и молекулярной генетики, которое открывает перед человечеством широкие перспективы. Эти технологии нашли постоянную "прописку" в фундаментальной науке, где трансгенные организмы используются в качестве модели или инструмента при решении широкого спектра общебиологических проблем. Технологии с использованием рекомбинантных ДНК могут в перспективе сыграть важную роль в развитии генотерапии наследственных заболеваний, создании лекарственных препаратов нового поколения, производстве фармакологических и косметических средств и получении технического сырья. Особая роль может принадлежать генетически модифицированным микроорганизмам и изолированным клеткам или органам, например лекарственных растений, которые культивируются в замкнутых биотехнологических системах и являются суперпродуцентами метаболитов, обладающих ценными потребительскими свойствами. Как правило, в этом случае речь идет о произведенных с помощью генной инженерии химически чистых соединениях, использование которых, по сравнению с генетически модифицированными продуктами питания, не сопряжено с биологическими рисками, а их производство является экологически чистым.

В настоящее время наиболее широкое применение генная инженерия нашла в сфере производства новых сортов сельскохозяйственных растений, обладающих признаками, отсутствующими у родительских форм. По официальным данным, за период 1996–2003 гг. площадь выращиваемых трансгенных культур увеличилась с 1,7 до 67,7 млн га, а их общая рыночная стоимость в 2003 г. составила 4,5 млрд долл. США. В последние годы площади, занятые генетически модифицированными (ГМ) сортами растений, увеличиваются примерно на 10 млн га в год. Наибольшие площади заняты под [трансгенными](#) растениями сои (41,4 млн га, 61%), кукурузы (15,5 млн га, 23%), хлопка (7,2 млн га, 11%) и рапса (3,6 млн га, 5%). Из них растения с генами устойчивости к гербицидам выращиваются на 73% площадей, растения, продуцирующие белки, привносящие устойчивость к насекомым (инсектицидные белки), прежде всего Bt-токсины, – на 18%.



Из суммарной площади в 272 млн га, занятых упомянутыми четырьмя культурами, 25% принадлежит их трансгенным формам [1]. Около 95% территорий, занятых генетически модифицированными сортами сельскохозяйственных культур, приходится на пять стран: США, Канаду, Бразилию, Аргентину и Китай.

Быстрое и массовое производство таких сортов, легкость и кажущаяся научная предсказуемость приобретения ими заданных свойств, а также желание международных биотехнологических гигантов получить немедленную прибыль оттеснили на второй план вопросы безопасности генетически модифицированными организмами (ГМО) и полученных из них продуктов. Вместе с тем хорошо известно, что реальным или потенциальным выгодам от коммерческого выращивания ГМ-сортов растений сопутствуют и потенциальные опасности для здоровья человека и окружающей среды. Не вызывает сомнения, что подавляющая часть используемых в коммерческих целях ГМО безопасна, хотя полностью исключить потенциальную опасность отдельных трансгенных организмов не представляется возможным. Это обязывает производителей ГМО проводить тщательные исследования прямого или косвенного, краткосрочного или долговременного воздействия трансгенных организмов или полученных из них продуктов на здоровье человека и окружающую среду.

Подобный подход базируется на принципе предосторожности, согласно которому "отсутствие неоспоримых научных фактов не должно служить причиной отсрочки принятия мер для устранения или сведения к минимуму ... угрозы"¹. Принцип предосторожности обязывает производителей ГМО, предназначенных для коммерческого использования, доказать безопасность полученного генноинженерного продукта для человека и окружающей среды. При этом доказательство безопасности ГМО должно предшествовать его широкомасштабному коммерческому использованию, что направлено на минимизацию потенциальных угроз. Проблема оценки реальных и потенциальных рисков при использовании ГМО крайне актуальна; она приобрела в настоящее время важное социальное и экономическое звучание.

Курс дополнительной профессиональной подготовки в области агрономии, агробиотехнологии, рационального природопользования и безопасности "Биологическая безопасность генетически модифицированных организмов (экспертиза продуктов питания на биобезопасность)" посвящен оценке биологической безопасности ГМО и полученных из них продуктов. В рамках данного курса рассмотрены общие представления о структуре и функционировании генома, современные технологии получения ГМО и успехи, достигнутые в сельском хозяйстве и других сферах человеческой деятельности с помощью современных генно-инженерных технологий. Большое внимание уделено рассмотрению фундаментальных основ существования потенциальных и реальных рисков при использовании ГМО, а также анализу доступных литературных данных о пищевых, экологических и агрономических рисках при выращивании трансгенных растений. Рассматриваются вопросы международного и российского правового регулирования генно-инженерной деятельности, а также отношение населения и правительств различных стран мира к продуктам генно-инженерных технологий. Особое место отведено анализу современных методов идентификации трансгенов в сырье, продуктах питания и природных экосистемах, а также национальных стандартов, действующих в России в данной области, и стандартов ISO, посвященных регулированию потоков ГМ-продуктов питания.

Создание курса по биологической безопасности генетически модифицированных растений представляется крайне своевременным и отвечает критерию инновационности. Ценность его разработки определяется тем, что в настоящее время в России отсутствуют пособия по идентификации генетически модифицированных источников и биобезопасности ГМ-продуктов, в то время как интерес в мире к данной проблеме стремительно растет и охватывает все более широкие слои населения. Данный курс может иметь и важное социальное значение для формирования научного отношения к современным биотехнологиям и адекватной оценке их потенциальных рисков. Это будет способствовать снятию напряженности в обществе, вызванной активным распространением среди населения двух крайних точек зрения, одна из которых полностью отрицает потенциальную или реальную опасность ГМО и полученных из них продуктов, тогда как другая, напротив, считает все ГМ-продукты опасными. Объективная оценка ситуации в данной области будет способствовать развитию современных, эффективных и одновременно безопасных для человека и окружающей среды генно-инженерных технологий

При создании курса используются новейшие научные достижения в генетической и клеточной инженерии, молекулярной биологии, биохимии и физиологии растений, а также самые последние данные, полученные в области технологии создания трансгенных сельскохозяйственных культур, идентификации трансгенов в растениях и сырье, оценки биобезопасности генетически модифицированных растений и продуктов, полученных на их основе. В данном курсе предусмотрено использование новых учебно-методических материалов с применением информационно-коммуникационных технологий.

По своему содержанию и целевому назначению курс предусматривает изучение теоретического материала, закрепление этого материала на семинарских занятиях, а также проведение лабораторных (практических занятий), на которых слушатели будут приобретать необходимый навык для исследования продуктов питания на наличие в них генетически модифицированных источников. Последнее может быть крайне полезно для последующей работы в органах санэпиднадзора², институтах и лабораториях Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии, а также в других контролирующих ведомствах.

Предлагаемый учебный курс предназначен для специалистов-агрономов, прежде всего агробиотехнологов, как дополнительный образовательный проект или может быть курсом по выбору по специальности "Агрономия". Кроме того, данный курс может быть весьма полезен для широкого круга слушателей, интересующихся вопросами безопасности современных технологий для человека и среды его обитания.

Тема 1. Общие представления о геноме растений, структуре и функции ДНК

Сколько генов содержит эукариотическая клетка. ДНК как носитель генетической информации

Информация о росте и развитии любого живого организма закодирована в геноме, основу которого составляет дезоксирибонуклеиновая кислота (**ДНК**). **Геном** – это совокупность всех генов гаплоидного набора хромосом данного вида. **Ген** – это фрагмент ДНК, кодирующий одну или несколько полипептидных цепей или молекулу рибонуклеиновой кислоты (**РНК**). Молекула ДНК хранит весь запас генетической информации, необходимой для кодирования полного набора белков и РНК организма данного вида. Гены входят в состав хромосом. У растений геном локализован не только в ядре и митохондриях, как у животных, но и в хлоропластах. Все клетки одного организма имеют равное количество ДНК.

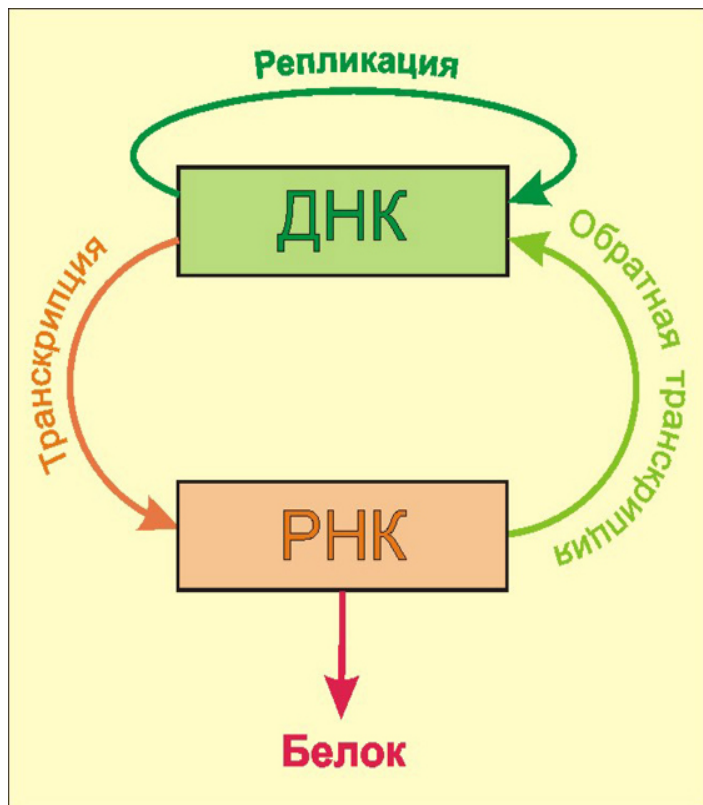
Геном прокариот, например, *E. coli*, содержащий 4 млн пар нуклеотидов (пн), состоит почти исключительно из уникальных последовательностей, кодирующих белки или РНК. Гены, кодирующие белки или полипептидные цепи, называются **структурными**.

Клетки эукариот содержат в 1000 раз больше ДНК (около 3×10^9 пн). Этой информационной емкости хватило бы для кодирования 3 млн белков. Однако реально большая часть эукариотического генома приходится не на уникальные последовательности, а на ДНК, выполняющую структурную функцию, на множественные повторы и на **спейсерную ДНК**. Спейсерная ДНК – это некодирующие фрагменты ДНК. Интересно, что у человека на долю генов приходится лишь 5% общей ДНК, тогда как повторяющиеся последовательности и спейсерная ДНК занимают 95% генетического материала.

К концу 2000 г. были полностью **секвенированы** (определены последовательности нуклеотидов) геномы 100 бактерий, дрожжей, круглого червя (нематоды), насекомого (дрозофилы), первого высшего растения (арабидопсиса), а также человека. Сейчас известно, что растение арабидопсис содержит 21000–25000 генов, плодовая мушка дрозофила – 13600 генов, червь нематода – 19100, а человек – всего лишь 32000 генов. Размер геномов растений крайне **вариабелен**. Например, размер генома однодольного растения триллиум (1×10^{11} пн) в 1000 раз превосходит размер генома арабидопсиса ($1,5 \times 10^8$ пн). Это различие в размерах растительных геномов достигается за счет различного содержания в них повторяющихся последовательностей и спейсерных ДНК.

Гены любого живого организма выполняют различные функции. Некоторые из генов кодируют так называемые “белки домашнего хозяйства”, обеспечивающие протекание основных жизненных процессов клетки. Эти гены **экспрессируются** (“работают”) постоянно во всех типах клеток в течение всей жизни организма. Другие гены включаются или выключаются на различных стадиях онтогенеза или в ответ на действие внешних и внутренних факторов.

Информация, закодированная в структурных генах, реализуется в процессах **транскрипции** и **трансляции** с участием транспортных РНК (тРНК), рибосомных РНК (рРНК) и рибосомных белков, ферментов и большого числа регуляторных факторов

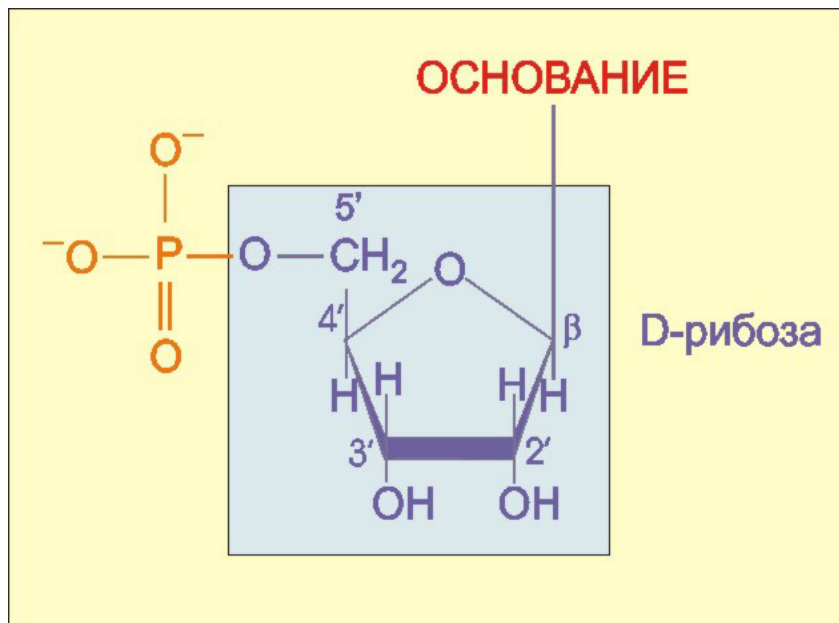


Каждая клетка реализует лишь часть закодированной в ДНК информации, т.е. имеет место [дифференциальная экспрессия генома](#). Под дифференциальной экспрессией генома понимают последовательную избирательную активацию или инактивацию генов, определяющих реализацию пространственно-временной программы онтогенетического развития организма и его реакции на внешние и внутренние сигналы. Чтобы генетическая информация передавалась от одного поколения к другому, во время деления клеток должна происходить [репликация ДНК](#), в ходе которой число родительских молекул ДНК удваивается. Затем молекулы ДНК распределяются между дочерними клетками. В результате каждая клетка получает точную копию набора родительских генов. Репликация ДНК отличается исключительной *точностью*.

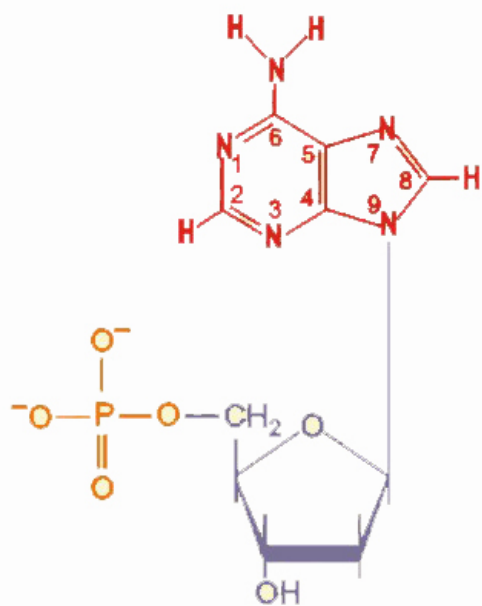
Строение ДНК.

Нуклеиновые кислоты были впервые выделены из ядер спермы лосося и гноя швейцарским биохимиком Фридрихом Мишером в 1868 – 1872 гг. и названы им нуклеином (от греч. nucleus – ядро). Одновременно Ф. Мишер высказал идею, что нуклеиновые кислоты могут иметь отношение к передаче генетической информации. Эта идея получила блестящее подтверждение спустя 75 лет в опытах Мак-Карти.

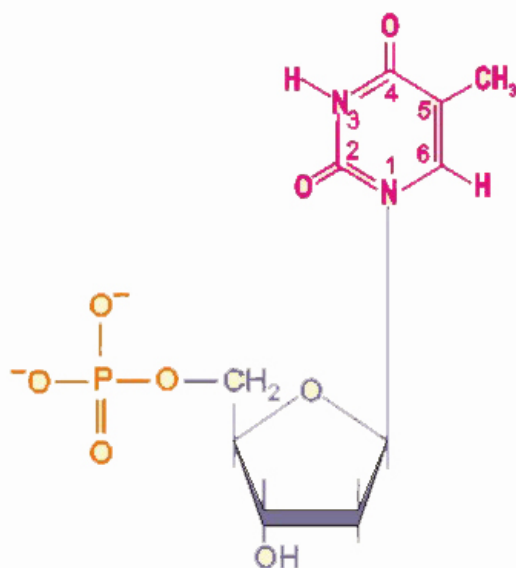
Мономерами нуклеиновых кислот являются *нуклеотиды*, которые состоят из азотистого основания, пятиуглеродного сахара (пентозы) и остатка фосфорной кислоты. Нуклеотид без фосфатной группы называется *нуклеозидом*.



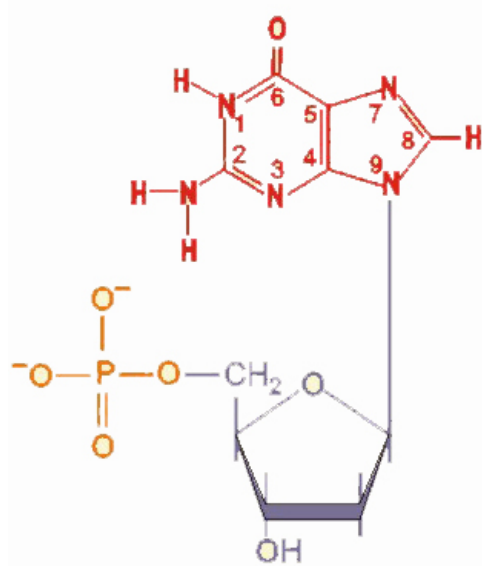
В ДНК углеводные остатки представлены 2-D-дезоксирибозой. В состав ДНК входят четыре азотистых основания: два *пуриновых* – аденин и гуанин (A, G) и два *пиримидиновых* – тимин и цитозин (T, C), а также минорные основания (5-метилцитозин и 7-метилгуанин). Нуклеотиды соединяются с помощью фосфодиэфирных связей, при этом фосфатная группа 5'-углеродного атома одного нуклеотида связана с 3'-ОН-группой пентозы соседнего нуклеотида, в результате образуется цепочка.



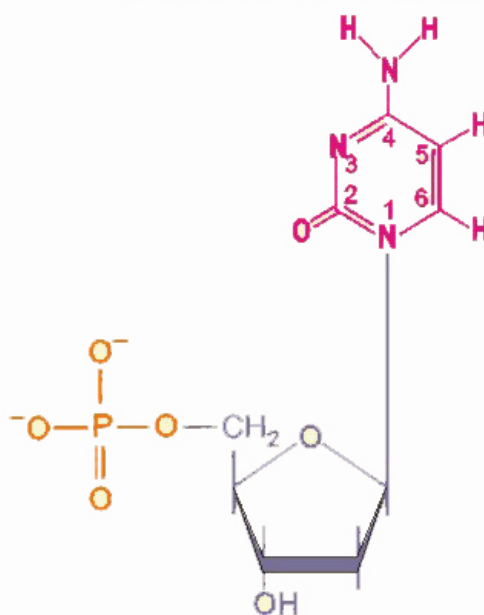
Дезоксиаденозинмонофосфат



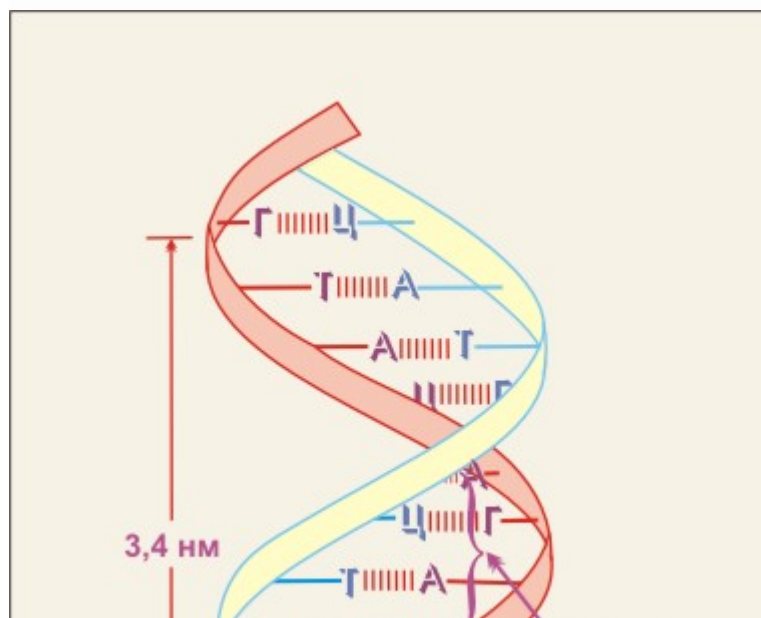
Дезокситимидинмонофосфат

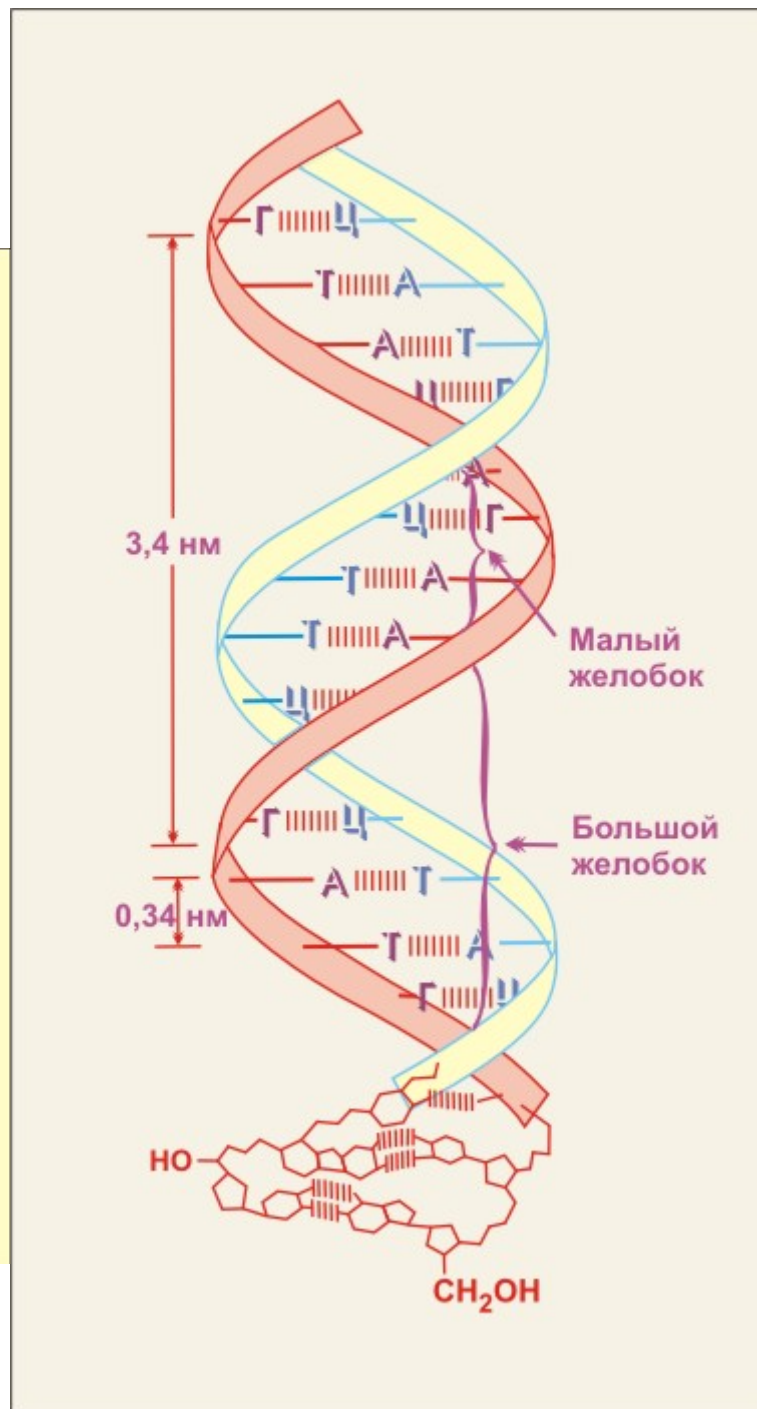
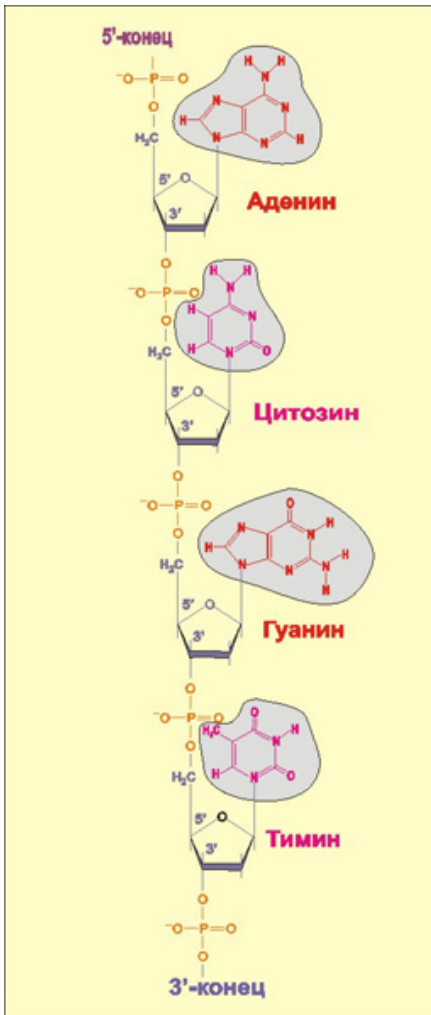


Дезоксигуанидинмонофосфат



Дезоксицитидинмонофосфат





Концы цепочек обозначаются как 5'-конец и 3'-конец. На 5'-конце цепи ДНК находится фосфатная группа, а на 3'-конце – ОН-группа.

В 1953 г. американец Джеймс Уотсон и англичанин Фрэнсис Крик постулировали вторичную структуру ДНК, в соответствии с которой молекула ДНК представляет собой *двойную спираль*, состоящую из двух антипараллельных полимерных цепей, закрученных друг относительно друга и вокруг общей оси. Азотистые основания обеих цепочек располагаются друг против друга так, что против пуринового основания одной цепи всегда располагается меньшее по размеру пиримидиновое основание другой цепи, т.е. аденин одной цепочки располагается против тимина другой, а гуанин – против цитозина, т.е. полинуклеотидные цепочки *комплементарны*. Цепи, образующие двойную спираль, удерживаются друг около друга за счет *водородных связей* между комплементарными основаниями. При этом аденин с тиминем образуют две, а гуанин с цитозином – три водородные связи. Ширина спирали – 1,8 нм. Каждый виток спирали содержит 10 пн, расстояние между основаниями составляет 0,34 нм, а длина полного витка спирали – 3,4 нм. Из гипотезы двойной спирали следует, что информация, закодированная в ДНК, может

быть точно воспроизведена, поскольку, согласно принципу комплементарности, каждая цепь ДНК служит *матрицей* для образования новой комплементарной цепи. При этом правильность репликации каждой из цепей ДНК обеспечивается точным соотношением и стабильностью пар (Г и Ц) и (А и Т) в двух дочерних молекулах. Каждая из новых цепей содержит одну цепь родительской ДНК и новую комплементарную ей цепь.

ДНК в ядре эукариот связана со специальными белками [гистонами](#) и негистоновыми белками. Основная часть ДНК растительной клетки локализована в ядре, в хромосомах, число которых различно у разных видов. Хромосома состоит из хроматина, содержащего ДНК (около 40%), гистоны (40%), [негистонные белки](#) (почти 20 %) и немного РНК. Гистоны – небольшие положительно заряженные эволюционно консервативные белки. Положительный заряд позволяет им связываться с ДНК независимо от ее нуклеотидного состава. Гистоны играют существенную роль в упаковке ДНК в особые образования – нуклеосомы. Нуклеосома состоит из ДНК длиной 145 пн и белковой глобулы, которая содержит восемь молекул разных гистонов. Всего существует пять основных классов гистонов, из которых четыре (H2A, H2B, H3, H4) входят в состав нуклеосом, по две молекулы каждого из них. Гистоны H2A и H2B содержат много лизина и аргинина. Гистоны H3 и H4 относятся к аргинин-богатым белкам. Гистон H1 очень богат лизином. Он связан с межнуклеосомной (линкерной) ДНК. Благодаря наличию нуклеосом хроматиновые волокна напоминают по внешнему виду нитки бус.

ДНК митохондрий и хлоропластов

В отличие от ядерной ДНК, *митохондриальная ДНК* (мтДНК) растений обычно представляет собой двухцепочечную кольцевую молекулу с молекулярной массой от 200 до 2400 тыс. (около $1,3 \times 10^7$ – $1,6 \times 10^9$) пн. В митохондриях содержится от 1 до 10 молекул ДНК. На долю мтДНК приходится около 10% общей клеточной ДНК. Митохондриальная ДНК кодирует белки цитохромной системы, фермент АТФазу, а также некоторые рибосомные РНК и транспортные РНК; 95% всех митохондриальных белков кодируются ядерной ДНК. Подобно мтДНК, *хлоропластные ДНК* (хпДНК) являются двухцепочечными кольцевыми молекулами. У высших растений молекулярная масса хпДНК находится в пределах от 90×10^6 до 100×10^6 . В хлоропласте содержится больше ДНК, чем в митохондрии. ДНК хлоропластов кодируют транспортные РНК, рибосомные РНК, а также более 100 хлоропластных белков (например, цитохром f и большую субъединицу – рибулозобисфосфаткарбоксилазы, малая субъединица этого фермента кодируется ядерной ДНК). Совокупность генов, расположенных в кольцевых молекулах ДНК пластид, получила название *пластома*.

Генетический код

Генетическая информация каждой клетки записана (закодирована) в *линейной последовательности нуклеотидов ДНК*, которая определяет последовательность расположения аминокислот в полипептидной цепи белка. Именно состав белков определяет строение, функции клетки, все процессы жизнедеятельности организма. Как можно в молекуле ДНК записать все особенности строения клеток организмов, живущих на Земле? Молекулы разных ДНК имеют различную последовательность нуклеотидов. Каждая аминокислота кодируется группой из трех соседних нуклеотидов ДНК (*триплетом нуклеотидов*). Из четырех оснований ДНК можно составить 64 различных комбинации по три основания. Эта зависимость между расположением оснований ДНК и аминокислотных остатков в полипептидной цепи получила название [генетического кода](#) .

Генетический код был расшифрован в 60-х гг. XX в. (Ф. Крик, С. Бреннер, М. Ниренберг, С. Очоа, Х. Коран, США). Он оказался *универсальным*, т.е. он один и тот же у всех организмов: бактерий, растений, грибов, животных и человека. Код *не перекрывается*, т.е. соседние триплеты не имеют общих оснований. Код *вырожден*, т.е. многие аминокислотные остатки кодируются несколькими триплетами нуклеотидов. Например, аргинин, лейцин и серин кодируются шестью триплетами; аланин, глицин, пролин, треонин и валин – четырьмя. Девяти другим аминокислотам соответствуют по два триплет, а триптофану и

метионину – по одному. Это означает, что вырожденность кода неодинакова для разных аминокислот. В то же самое время нет ни одного триплета, который бы сразу кодировал две аминокислоты.

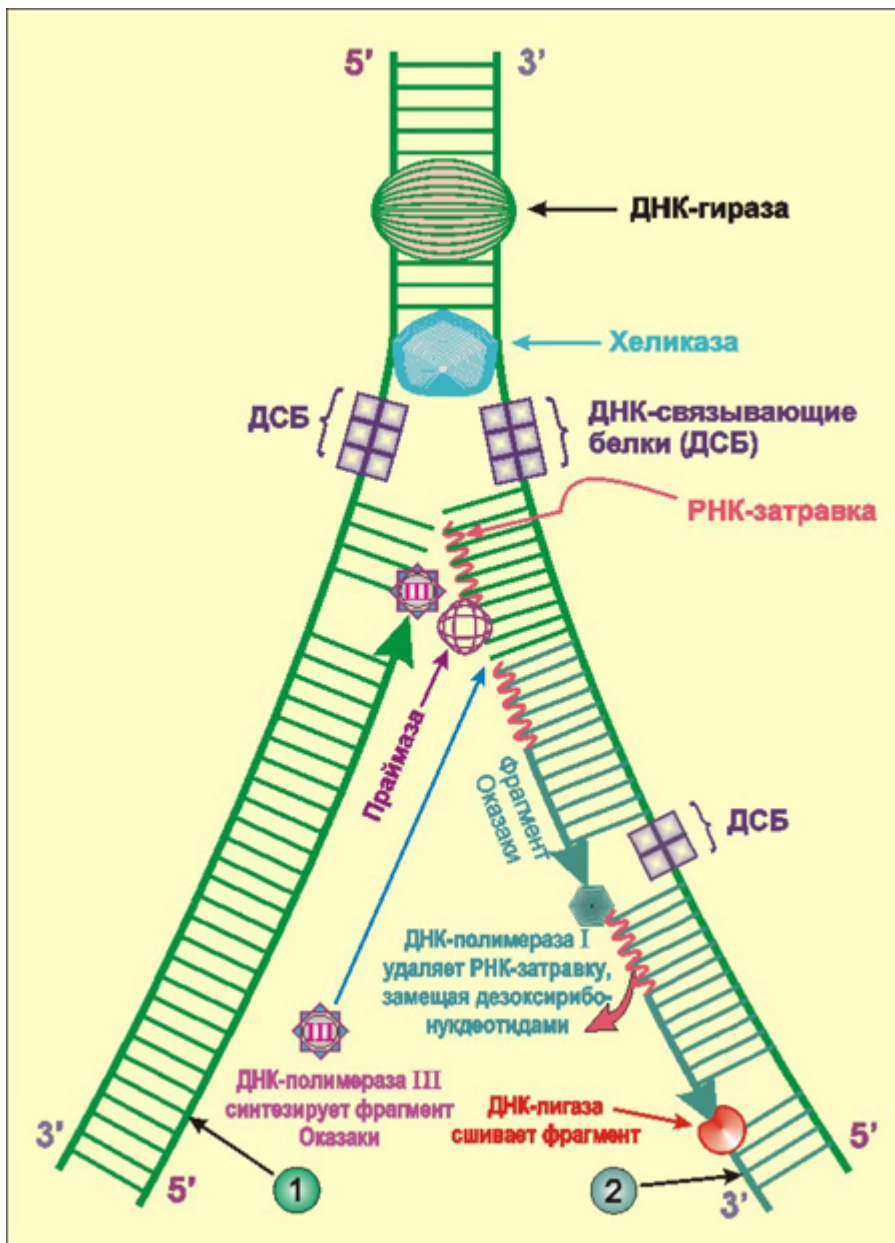
Тема 2. Репликация ДНК

Репликация – это синтез ДНК на ДНК как на матрице. Новая цепь ДНК образуется из мономеров – *дезоксирибонуклеотидов*. Синтез новой, дочерней, цепи ДНК происходит на одной из цепей материнской ДНК как *на матрице*, поэтому последовательность оснований в цепи-матрице определяет последовательность оснований в новой цепи: против аденина в цепи-матрице всегда пристраивается тимин, а против гуанина – цитозин, и наоборот. В результате новая цепь ДНК является копией старой, поэтому синтез ДНК и называется *репликацией*, т.е. копированием, или снятием реплики. [Репликация](#) состоит из нескольких последовательных этапов: 1) узнавание точки начала репликации, 2) расхождение цепей родительской ДНК, 3) инициация (начало) синтеза новых дочерних цепей, 4) элонгация (удлинение) дочерних цепей, 5) закручивание цепей в спираль, 6) терминация (окончание) репликации.

ДНК-полимеразы, матрицы, РНК-затравки, ДНК-хеликазы и ДНК-топоизомеразы: ключевые компоненты репликации

Синтез ДНК как у прокариот, так и у эукариот осуществляется при участии разных ферментов, основными среди них являются *ДНК-полимеразы*. Первый из этих ферментов был выделен А. Корнбергом в 1956 г. из *Escherichia coli*. Сейчас известны три ДНК-полимеразы (I, II и III). ДНК-полимеразы I и III удлиняют цепь ДНК, присоединяя последующий дезоксирибонуклеозидтрифосфат к ОН-группе на 3'-конце предыдущего нуклеотида растущей цепи. Так как считывание информации происходит от 3'-конца одной цепи к ее 5'-концу, то новая цепь растет в направлении 5' → 3' и *антипараллельна* цепи-матрице. Функции ДНК-полимеразы II пока не установлены. ДНК-полимеразы I и III обладают *тремя* ферментативными *активностями*. Кроме полимеразной, они имеют 3'-5'- и 5'-3'-*эксонуклеазные* активности, т.е. могут отщеплять нуклеотиды с любого конца цепи ДНК. Это важно для исправления ошибок в ходе репликации. Необходимым условием функционирования ДНК-полимераз является наличие *матрицы* и *затравки*, без которых она не может начать репликацию.

ДНК-полимеразы должны прочесть информацию, закодированную в ДНК. Однако доступ к этой информации возможен лишь в том случае, если *цепи родительской ДНК будут разделены*. Репликация начинается с того, что ДНК освобождается от гистонов, ее двойная спираль раскручивается, и обе цепи молекулы локально расходятся.



Раскручивание двойной спирали и удержание обеих цепей на некотором расстоянии друг от друга на время репликации осуществляют специальные белки: (1) ДНК-хеликазы разрывают водородные связи между основаниями; (2) дестабилизирующие белки (ДНК-связывающие белки) соединяются с одиночными цепями ДНК и препятствуют восстановлению вторичной структуры; (3) ДНК-топоизомеразы (или ДНК-гиразы) сначала разрывают одну или обе цепи ДНК, а затем заделывают эти бреши, позволяя цепям ДНК раскручиваться.

ДНК-полимеразы не умеют начинать синтез новой цепи. Они ведут синтез ДНК на одноцепочечной матрице при наличии *затравки*, или *праймера*, комплементарного фрагменту матрицы ДНК. ДНК-полимераза последовательно наращивает конец затравки, присоединяя к нему один нуклеотид за другим. Роль затравки выполняет *фрагмент РНК*. РНК-затравка синтезируется с помощью специального фермента *праймазы*. В качестве матрицы для их синтеза используется родительская двухцепочечная ДНК. Синтез РНК-затравки идет на матрице в направлении $5' \rightarrow 3'$. РНК-затравки состоят у эукариот из 10 нуклеотидов. После завершения синтеза дочерних цепей ДНК происходит удаление РНК-затравок. Возникшие бреши застраиваются ДНК-полимеразой I.

Цепи родительской ДНК антипараллельны. Это означает, что только одна из новых цепей может синтезироваться в направлении $5' \rightarrow 3'$. На второй цепи-матрице синтез дочерней цепи ДНК должен был бы идти в направлении $3' \rightarrow 5'$, однако не существует фермента, катализирующего полимеризацию нуклеотидов в этом направлении. Проведенные исследования показали, что вторая цепь ДНК тоже

синтезируется в направлении $5' \rightarrow 3'$, но *короткими фрагментами*, так называемыми *фрагментами Оказаки*. Фрагменты Оказаки синтезирует ДНК-полимераза Ш. Синтезированные фрагменты потом соединяются в единую цепь с помощью *ДНК-лигазы*. Она связывает 5'-фосфат одного фрагмента с 3'-ОН-группой другого.

Цепь ДНК, синтезируемая непрерывно в направлении $5' \rightarrow 3'$, т.е. в направлении движения репликативной вилки, называется *лидирующей*, или *ведущей*, а другая, синтезируемая прерывисто с образованием коротких фрагментов ДНК, – *отстающей*. Отстающая цепь синтезируется в направлении, противоположном движению репликативной вилки. На хромосомах имеется четко ограниченная область репликации, перемещающаяся вдоль родительской спирали и характеризующаяся местным расхождением цепей. Эта область за свою Y-форму получила название *репликативной вилки* (см. рисунок). Репликативная вилка образуется только в тех местах молекулы, где находятся специфические нуклеотидные последовательности, так называемые *точки инициации* (начала) *репликации*, состоящие из 300 нуклеотидов. В области репликативной вилки обе антипараллельные цепи реплицируются одновременно.

Механизмы репликации ДНК.

В репликативной вилке одновременно работают около 20 разных белков, осуществляя сложный процесс синтеза ДНК. Спираль ДНК расплетается *ДНК-хеликазой*, а ее цепи раскручиваются *ДНК-топоизомеразой*. С обеими одиночными цепями связывается множество молекул *ДНК-дестабилизирующего белка*, препятствующего ренатурации ДНК и облегчающего ДНК-полимеразе начало инициации репликации. В области репликативной вилки ДНК-полимеразы работают как на лидирующей, так и на отстающей цепях. Лидирующая цепь ДНК растет непрерывно в направлении движения репликативной вилки, а отстающая цепь реплицируется с образованием фрагментов Оказаки, синтез которых идет в противоположном направлении. Образование лидирующей цепи и каждого из фрагментов Оказаки начинается с синтеза катализируемого праймазой короткого комплементарного участка РНК, который играет роль затравки. Затем на 3'-конце этой РНК-затравки с помощью ДНК-полимеразы III синтезируется ДНК. После чего РНК-затравка вырезается, а появившаяся ниша застраивается комплементарной ДНК с помощью ДНК-полимеразы I. Последнее ковалентное присоединение фрагмента Оказаки к растущей цепи ДНК осуществляет ДНК-лигаза.

Процесс синтеза ДНК идет с огромной скоростью, которая у прокариот составляет около 500 нуклеотидов в 1 секунду, а у эукариот – 50 нуклеотидов в секунду. Высокая скорость репликации ДНК сочетается с фантастически высокой точностью. Частота ошибок при репликации ДНК *E. coli* не превышает 1 на 10^9 – 10^{10} нуклеотидов, т.е. неправильно встроенным оказывается лишь один из 10–100 млрд нуклеотидов. Подобная точность репликации определяется комплементарным взаимодействием нуклеотидов, а также наличием *корректирующего механизма* (экзонуклеазной активности) у ДНК-полимераз.

Итак, информация, заключенная в последовательности оснований родительской ДНК, передается дочерней ДНК. При этом образуются две дочерних двухцепочечных молекулы ДНК, идентичные родительской. Каждая из дочерних молекул содержит одну неизмененную цепь родительской ДНК и одну новую полинуклеотидную цепь. Такая репликация получила название *полуконсервативной*.

Тема 3. Структура и функции РНК

Как вы уже знаете, “инструкция” для синтеза ферментов и других белков записана в последовательности оснований в цепи ДНК, находящейся преимущественно в ядре. Синтез же белка идет на рибосомах, расположенных в цитоплазме. Следовательно, должен существовать механизм, переносящий генетическую информацию из ядра в цитоплазму, к рибосомам. Такими посредниками в синтезе белка являются *информационные или матричные рибонуклеиновые кислоты* (мРНК). В синтезе белка участвуют также *транспортные* (тРНК) и *рибосомные* (рРНК) РНК. Помимо перечисленных видов в ядре и в цитоплазме клеток обнаружены многочисленные *микро* РНК. Рибонуклеиновые кислоты содержатся во всех живых клетках в виде *одноцепочечных* молекул, которые, как и ДНК, состоят из нуклеотидов. Однако в состав РНК

вместо дезоксирибозы входит D-рибоза, а вместо тимина – урацил (U). Рибоза в отличие от дезоксирибозы у 2'-атома углерода содержит гидроксил (ОН-группу), а не водород.

Информационные (матричные) РНК

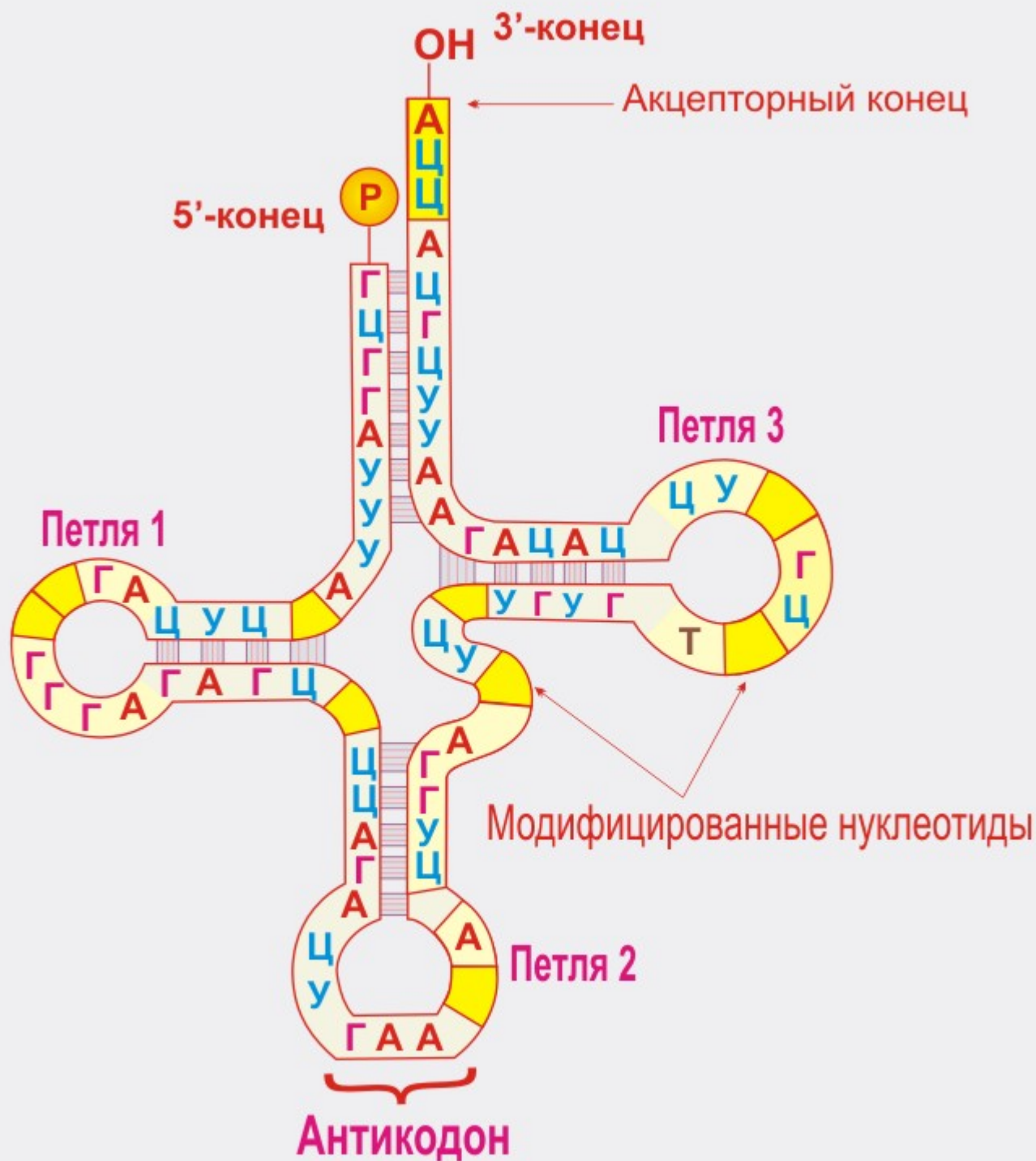
Информационные (матричные) РНК представляют собой одноцепочечные молекулы, состоящие из 300–10000 нуклеотидов. Так как каждая мРНК образуется непосредственно на полинуклеотидной цепи ДНК и является ее копией, то информация о последовательности аминокислотных остатков в белке, записанная с помощью нуклеотидных триплетов ДНК, превращается в процессе ее синтеза в последовательность нуклеотидных триплетов мРНК. Как и при репликации ДНК, главное в этом процессе – *комплементарное спаривание оснований*: каждому аденину в цепи ДНК соответствует урацил в цепи РНК, гуанину – цитозин и т.д. В результате последовательность оснований в новой цепи РНК представляет собой *комплементарную копию* цепи ДНК-матрицы. Как мы уже говорили, каждые три соседних нуклеотида мРНК определяют расположение одного аминокислотного остатка в полипептидной цепи. Они называются [кодонами](#). В клетке на долю мРНК приходится 3–5% от всех РНК. Продолжительность жизни мРНК сильно варьирует – от нескольких минут у бактерий до нескольких дней у млекопитающих.

Транспортные РНК

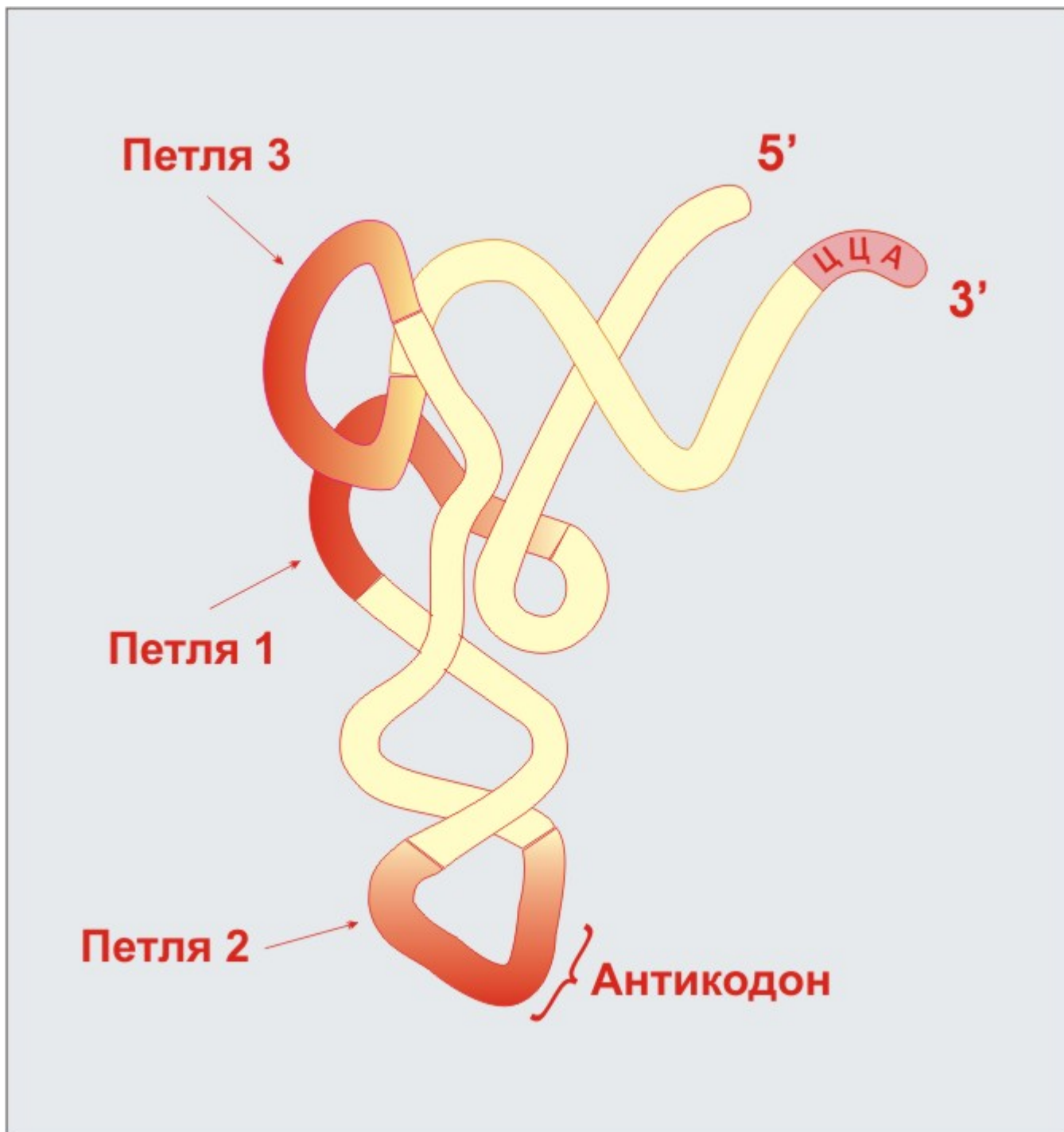
Чтобы на рибосоме шел синтез белка, к ней должны транспортироваться аминокислоты. Эту работу выполняют специальные РНК, которые так и называются [транспортными](#). Для каждой аминокислоты существует своя, по меньшей мере, одна, транспортная РНК. Транспортные РНК должны выбрать из 20 аминокислот свою, перенести их к рибосоме и расположить в синтезируемой полипептидной цепи в той последовательности, которая закодирована в мРНК. Следовательно, тРНК должна узнать свой кодон в мРНК. Узнавание кодона происходит с помощью [антикодона](#). Последовательность оснований в антикодоне строго соответствует приносимой аминокислоте. Узнавание происходит путем образования водородных связей между комплементарными основаниями кодона и антикодона. Последние образуются при условии, что полинуклеотидные цепи антипараллельны.

Итак, транспортные РНК переводят информацию с языка нуклеиновых кислот на язык белков. Эту функцию РНК иногда называют *адапторной*.

Молекулы тРНК состоят из 73–93 рибонуклеотидов и содержат много необычных (метилированных и диметилированных) производных пуриновых и пиримидиновых оснований. При этом 3'-конец цепи содержит *ССА-последовательность*, к которой и присоединяется аминокислота.



Половина нуклеотидов тРНК спарены и образуют участки двойной спирали. Обычно во *вторичной* структуре тРНК выделяют 4–5 ветвей: акцепторную, псевдоуридиновую, антикодоновую, дигидроуридиловую и дополнительную. Функционирование тРНК зависит, прежде всего, от акцепторной и антикодоновой ветвей. Молекулы всех тРНК по форме напоминают *лист клевера*, хотя трехмерная (пространственная) структура молекулы тРНК похожа на перевернутую букву "L".



Около 10% всех рибонуклеиновых кислот в клетке являются транспортными.

Рибосомные РНК

Эти РНК вместе с рибосомальными белками образуют рибосомы. На их долю приходится более 80% от всех РНК клетки.

В цитозоле находятся 80S рибосомы, а в хлоропластах и в митохондриях – 70S рибосомы и каждая рибосома состоит из двух субчастиц. В большой субчастице 80S рибосом растений содержится РНК с молекулярной массой $1,3 \times 10^6$, а в малой субчастице – с молекулярной массой $0,76 \times 10^6$. В большой и малой субчастицах 70S рибосом хлоропластов соответствующие РНК имеют молекулярные массы $1,1 \times 10^6$ и $0,56 \times 10^6$. Кроме того, в растительных рибосомах найдены *низкомолекулярные* РНК, получившие название 5S РНК, 4,5S РНК и 5,8S РНК. Последовательность нуклеотидов в рРНК всех высших растений и животных характеризуется консервативностью. Гены, кодирующие структуру рРНК эукариот, находятся в ядрышке.

Тема 4. Транскрипция

Транскрипция – это синтез РНК на ДНК как на матрице. В результате транскрипции образуются молекулы мРНК, несущие информацию о синтезе белка, а также транспортные и рибосомные РНК. Все три типа РНК синтезируются в ядре.

Транскрипция представляет собой первый этап реализации заключенной в ДНК генетической информации. На этом этапе информация о последовательности нуклеотидов в цепи ДНК переписывается в последовательность нуклеотидов в молекуле РНК. Синтезированная в ядре матричная РНК выходит из ядра и соединяется с рибосомами. Таким способом она переносит информацию от ДНК к рибосоме, где происходит синтез белка.

Весь процесс транскрипции условно делят на четыре основных этапа:

1. связывание РНК-полимеразы с ДНК,
2. инициация синтеза цепи РНК,
3. удлинение (элонгация) цепи РНК,
4. терминация синтеза цепи РНК.

Транскрипция осуществляется ферментами, получившими название *РНК-полимераз*. РНК-полимераза несколько напоминает ДНК-полимеразу: она синтезирует цепь РНК, присоединяя рибонуклеотиды к 3'-гидроксильному концу молекулы, т.е. строит цепи РНК в направлении 5'→3'. Матрицей служит *одна* из цепей ДНК. Кроме наличия всех четырех рибонуклеозидтрифосфатов, для работы фермента необходимы ионы Mg^{2+} и Zn^{2+} .

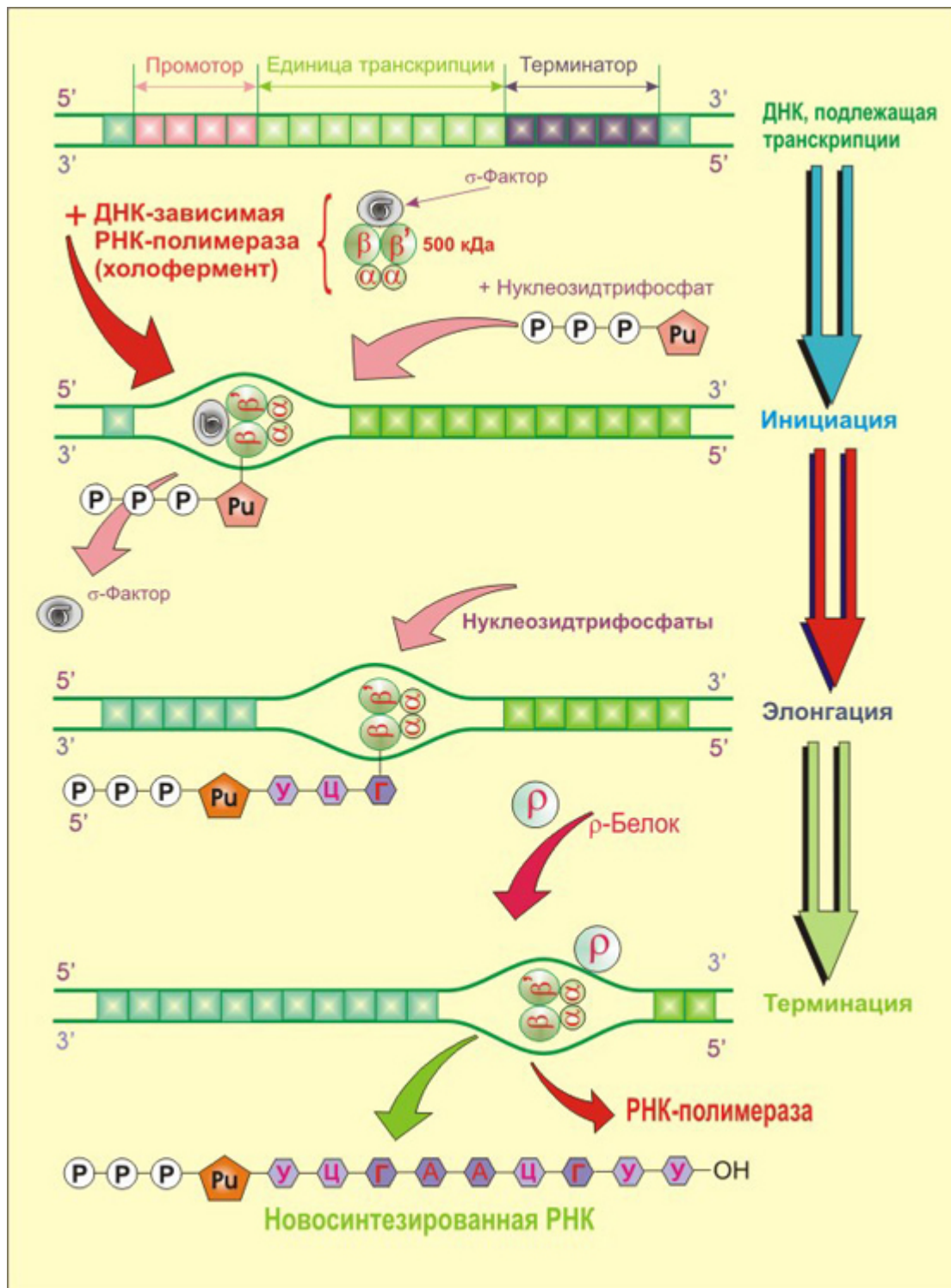
Бактериальная РНК-полимераза – это крупный фермент, состоящий из пяти субъединиц (α , β , β' , σ и ω) и имеющий молекулярную массу около 500 кД. Одна из субъединиц *сигма-фактор* (σ -фактор) необходима для правильного присоединения фермента к промотору. После начала транскрипции, когда синтезируемая цепь РНК будет состоять примерно из 8 нуклеотидов, σ -фактор отделяется от РНК-полимеразы. Функция α -субъединицы не известна, а функция β -субъединицы сводится к связыванию рибонуклеозидтрифосфатов.

Если у прокариот различные виды РНК синтезируются одной-единственной РНК-полимеразой, то у эукариот имеется по меньшей мере три РНК-полимеразы (I, II и III), каждая из которых считывает определенный тип генов и имеет более сложное строение, чем прокариотический фермент.

Эукариотические РНК-полимеразы состоят из 9–11 субъединиц. РНК-полимераза I локализуется в ядрах и обеспечивает синтез большинства рРНК. РНК-полимераза II находится в нуклеоплазме и обеспечивает синтез мРНК. РНК-полимераза III синтезирует, например тРНК. Во время транскрипции фермент связывается с рядом вспомогательных белков, которые на разных этапах присоединяются к комплексу "полимераза—ДНК", а затем покидают его. Поэтому если бактериальная полимераз узнает последовательность ДНК, то эукариотическая – комплекс из ДНК и белка. Кроме того, в растениях функционируют РНК-полимеразы хлоропластов и митохондрий. Хлоропласты имеют два типа РНК-полимераз: РНК-полимераза бактериального типа, большинство субъединиц которой кодируется хлоропластным геномом, и РНК-полимераза ядерного кодирования, которая состоит всего из одной субъединицы подобно РНК-полимеразе митохондрий.

Транскрипция у прокариот

Принято считать, что в основных чертах цикл транскрипции у эукариот и прокариот аналогичен.



Для начала синтеза РНК фермент должен связаться с *промотором*. Промотор – короткая последовательность из нескольких десятков нуклеотидов ДНК, с которой связывается РНК-полимераза. Промотор регулирует транскрипцию одного или нескольких генов. Нумерация нуклеотидов промотора ведется от *стартовой точки* транскрипции, которая обозначается номером +1. Поэтому номера нуклеотидов промотора отрицательны. Сравнение первичной структуры разных промоторов позволило выявить консервативные последовательности, центры которых локализованы в положениях –10 и –35. Последовательность участка –10 состоит из шести нуклеотидов (ТАТААТ), поэтому она получила название *ТАТА-блока*, или блока Прибнова. В области –35 консервативная последовательность имеет состав –ТТГАСА. Оптимальное расстояние между двумя участками –10 и –35 составляет 17 нуклеотидов. *Стартовая точка* транскрипции отстоит у разных промоторов от ТАТА-блока на 6–9 пар нуклеотидов.

Как мы уже сказали, за правильное связывание РНК-полимеразы с промотором у прокариот отвечает σ -фактор фермента. С его помощью РНК-полимераза узнает первое основание – *стартовый нуклеотид*.

Инициация синтеза РНК состоит в образовании первых нескольких звеньев цепи РНК. Для этого этапа необходимо наличие субстратов РНК-полимеразы, т.е. рибонуклеозидтрифосфатов. Первый нуклеотид входит в состав цепи, сохраняя свою трифосфатную группу, а последующие присоединяются к 3'-ОН-группе предыдущего нуклеотида с освобождением пиррофосфата.

На этапе инициации синтезируемая цепь связана с транскрибирующим комплексом непрочно и может освобождаться от него. Когда цепь достигнет длины от 3 до 9 нуклеотидов, комплекс полностью стабилизируется. Примерно в этот момент σ -фактор отделяется от РНК-полимеразы. Начинается этап элонгации.

Чем сильнее промотор, тем быстрее и больше синтезируется молекул мРНК в единицу времени. На некоторых промоторах синтез новой цепи РНК иницируется каждые 1–2 с, в то время как на других для начала синтеза требуется час.

Элонгация цепи РНК. РНК-полимераза двигается шаг за шагом вдоль ДНК, раскручивая перед собой ее спираль, обнажая с каждым шагом новые основания и последовательно присоединяя нуклеотиды к образующейся цепи в соответствии с правилом комплементарности. Последовательность нуклеотидов ДНК считывается по порядку группами из трех нуклеотидов, т.е. каждый раз РНК-полимераза передвигается по цепи ДНК на 3 нуклеотида. Добавляя к растущей цепи РНК по одному нуклеотиду, фермент постепенно увеличивает эту цепь в направлении 5' → 3', как и при синтезе ДНК, а РНК-полимераза движется по матричной цепи в направлении 3'→5'.

По мере движения РНК-полимеразы по матрице впереди происходит расплетание, а позади – восстановление двойной спирали ДНК. На этапе элонгации в ДНК одновременно расплетено около 18 пар нуклеотидов. Растущая цепь мРНК отходит от ДНК, т.е. происходит освобождение очередного звена растущей цепи РНК из комплекса с ДНК-матрицей и РНК-полимеразой.

После отделения от молекулы фермента σ -фактора с РНК-полимеразой соединяются несколько белков (*факторов элонгации*), свойства которых изучены хорошо, а функции еще не ясны.

Удлинение цепи мРНК продолжается до тех пор, пока РНК-полимераза не дойдет до последовательности нуклеотидов, которая содержит сигнал окончания транскрипции – *терминатор*. Максимальная скорость элонгации 50 нуклеотидов в секунду. Однако иногда в движении РНК-полимеразы по цепи ДНК возникают паузы.

Итак, РНК-полимераза, двигаясь вдоль цепи ДНК, переводит последовательность нуклеотидов ДНК в последовательность нуклеотидов РНК, т.е. происходит переписывание (транскрипция) генетической информации с молекулы ДНК на молекулу РНК. Образующаяся молекула мРНК сохраняет не только генетическую информацию ДНК, но и ее способность к спариванию комплементарных оснований.

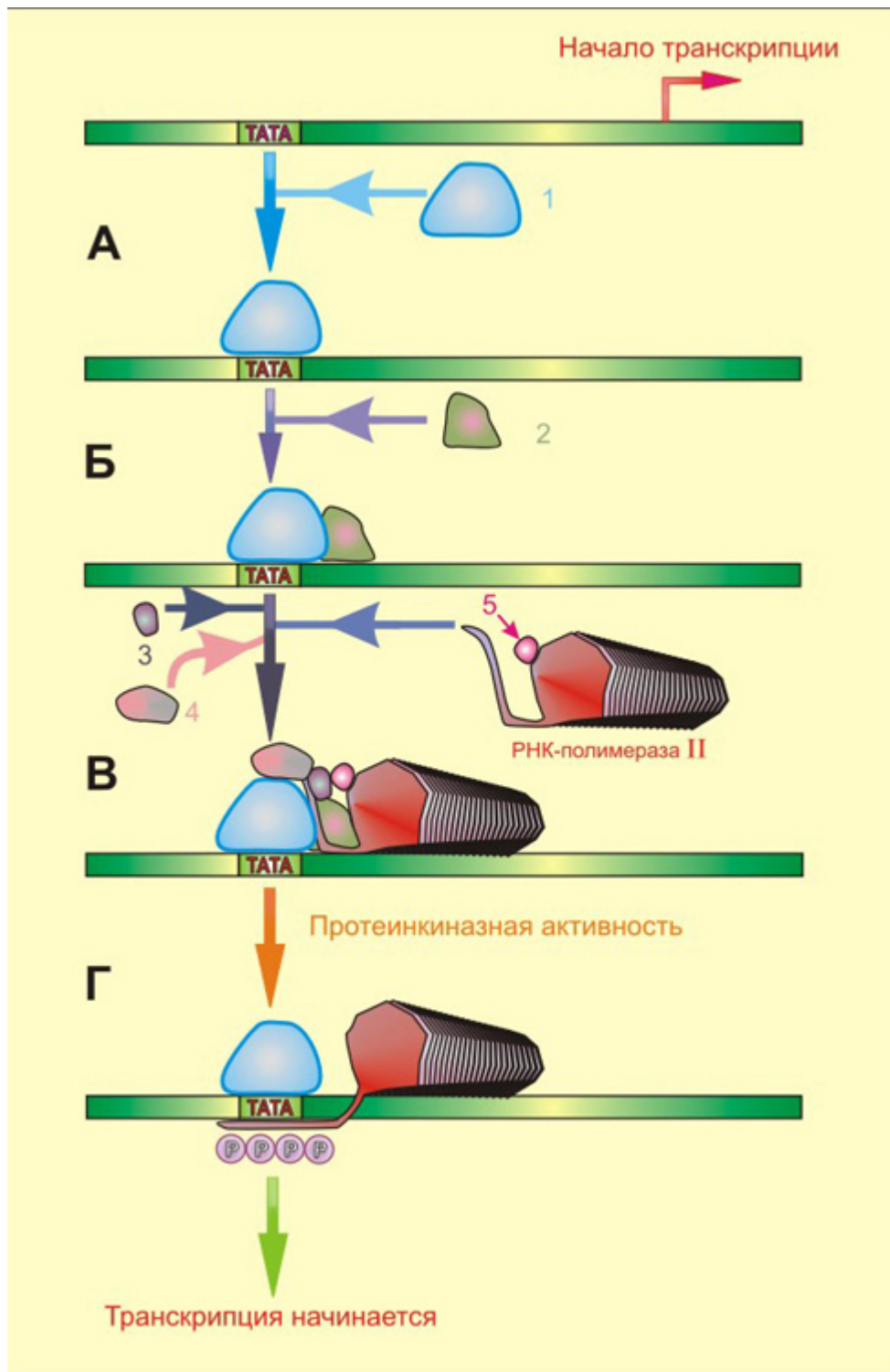
О конце транскрибируемого гена сигнализирует особая терминирующая последовательность в матрице ДНК, так называемый *стоп-сигнал*, содержащий участок, обогащенный гуанином и цитозином (*GC-парамии*), а также участок из 4–8 адениновых нуклеотидов, расположенных в значащей цепи подряд (*олиго-А-последовательность*). Транскрипция заканчивается в конце олиго-А-последовательности или сразу за ней. Для узнавания многих терминаторных участков РНК-полимеразе необходимы *факторы терминации* транскрипции. Терминация транскрипции требует участия еще одного регуляторного белка, так называемого *p-белка*.

В отличие от ДНК-полимеразы РНК-полимераза не обладает способностью к самокоррекции. Точность транскрипции много уступает точности репликации: РНК-полимераза ошибается в 40000 раз чаще, чем ДНК-полимераза.

Особенности транскрипции у эукариот

Транскрипция у эукариот – гораздо более сложный процесс, чем транскрипция в прокариот. Эукариоты характеризуются очень сложным промотором, т.е. последовательностями, расположенными на 5'-конце от точки начала транскрипции (регуляторной областью). Каждая из трех РНК-полимераз узнает *различные типы промоторов*. Гены, считываемые РНК-полимеразой III, имеют промотор, который лежит внутри этих генов и состоит из двух блоков, разделенных последовательностью длиной в 20 пн. Входящий в состав промотора ТАТА-блок играет ключевую роль в транскрипции, так как служит местом сборки транскрипционного иницирующего комплекса, определяя точное место начала транскрипции.

В отличие от *E. coli* у эукариот для правильной "посадки" РНК-полимеразы II на промотор требуется несколько дополнительных *транскрипционных факторов* (TF): *TFIID, TFIIIB, TFIIF, TFIIIE, TFIIH*. [Транскрипционные факторы](#) – это белки, увеличивающие скорость транскрипции за счет ускорения сборки иницирующего комплекса. Сначала мультисубъединичный фактор транскрипции TFIID, связывается с *ТАТА-блоком* промотора через ТАТА-связывающий белок.



Мы уже говорили, что TATA-блок промотора представляет собой нуклеотидную последовательность, богатую тиминном и аденином (TATAAAA) и расположенную на расстоянии 25–30 нуклеотидов до точки начала транскрипции.

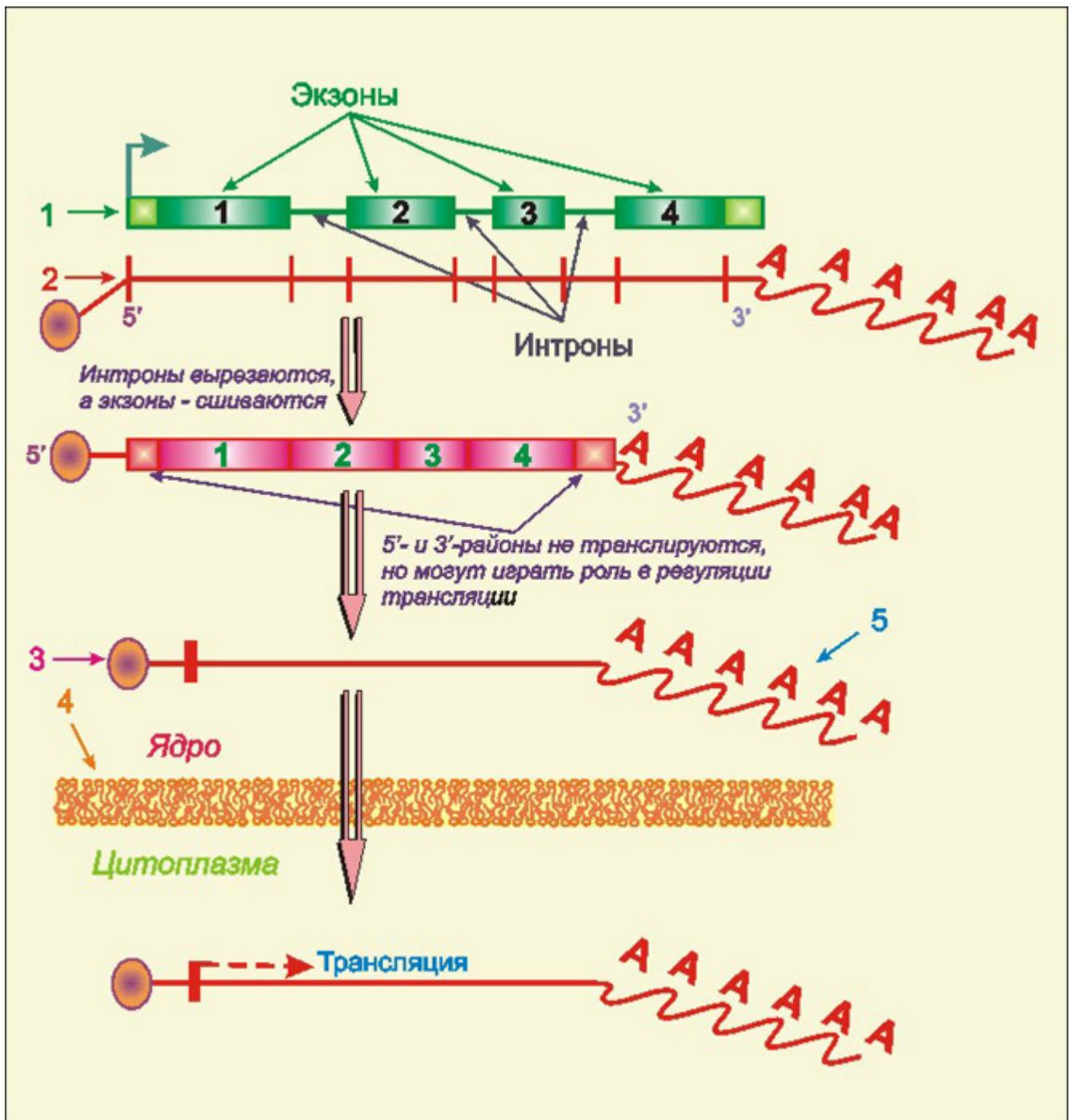
К образовавшемуся комплексу "TATA-блок—TFIID-фактор" присоединяется другой фактор транскрипции – TFIIB. Далее новый транскрипционный фактор TFIIF, связанный с РНК-полимеразой II, ассоциирует с образованным ранее комплексом вместе с двумя дополнительными факторами TFIIE и TFIIH. Все вместе эти белки образуют так называемый *комплекс инициации транскрипции*. В последующем TFIIH, обладающий протеинкиназной активностью, фосфорилирует РНК-полимеразу II, что сопровождается изменением ее конформации и началом движения РНК-полимеразы вдоль цепи. При этом некоторые общие транскрипционные факторы отсоединяются от комплекса, другие остаются с РНК-полимеразой II и транскрипция начинается.

Итак, синтез транскрипта (РНК) начинается в точке инициации транскрипции, а завершается в терминаторе. Участок ДНК, ограниченный промотором и терминатором называется транскриптоном. [Транскриптон](#) – это единица транскрипции.

У эукариот транскриптон обычно содержит только один ген. Транскриптоны прокариот называются [оперонами](#) и содержат несколько генов, кодирующих ферменты одного биохимического пути, например, утилизации лактозы или синтеза аминокислот. Матричная РНК, которая несет информацию об одном полипептиде, называется *моногенной* или *моноцистронной*. Если же она кодирует два или большее число полипептидов, то называется *полигенной*, или *полицистронной*. Однако у эукариот в результате транскрипции образуется еще не сама мРНК, а *первичный ядерный транскрипт* мРНК, или предшественник мРНК (пре-мРНК), что связано с *мозаичностью генов* эукариот, о которой речь пойдет дальше.

Мозаичность эукариотических генов

В отличие от бактерий гены эукариот имеют *мозаичную структуру*: участки ДНК, несущие информацию о структуре белка (*экзоны*), разделены неинформативными, не кодирующими, участками (*интронами*).



Число интронов в генах эукариот колеблется от одного до нескольких десятков. Размеры интронов варьируют в очень широких пределах. Только очень немногие эукариотические структурные гены вообще не имеют интронов. К ним относятся, например, гены гистонов и большинство генов белков теплового шока.

Интроны крайне разнообразны по структуре и не содержат каких-либо строго специфических для них последовательностей. Их первичная структура гораздо менее консервативна, чем структура экзонов. По настоящему консервативны лишь два первых и два последних основания в интронах. Это так называемые *незаменимые канонические нуклеотиды* – GU на одном конце и AG – на другом. Достаточно консервативны также места локализации интронов внутри родственных генов одного вида или в одинаковых генах разных видов.

Превращение пре-мРНК в мРНК называется [процессингом](#), или созреванием, ядерных эукариотических транскриптов.

Процессинг

Процессинг включает три этапа:

1. кэпирование 5'-конца транскрипта,
2. полиаденилирование его 3'-конца,
3. сплайсинг.

Кэпирование – это присоединение к 5'-концу первичного транскрипта химической группировки, называемой *кэпом* (колпачком). Кэп состоит из остатка 7-метилгуанозина, связанного 5'-фосфодиэфирной связью с концевым нуклеотидом РНК. Кэпированы все мРНК клетки. КЭП защищает растущую пре-мРНК от разрушения РНКазами, удлиняет время ее жизни в клетке. Кэпирование имеет важное значение для протекания дальнейшего процессинга и, возможно, для транспорта мРНК через ядерные поры.

Полиаденилирование – это присоединение к 3'-концу пре-мРНК фрагмента, состоящего примерно из 100–200 остатков адениловой кислоты (поли(А)-блок; poly(A)). Фермент, ответственный за этот процесс, называется *полиА-полимеразой*. Полиаденилирование конца пре-мРНК происходит в ядре на поздней стадии синтеза первичного транскрипта. Поли(А)-блок находится на 3'-конце почти всех эукариотических мРНК. Эти блоки отсутствуют у мРНК гистонов, а также у большинства транскриптов, кодируемых митохондриальным и хлоропластным геномом. Считается, что полиаденилирование транскрипта защищает мРНК от деградации и по этой причине увеличивает их стабильность в цитоплазме, а также обеспечивает транспорт мРНК через ядерную мембрану.

Последний этап созревания мРНК – [сплайсинг](#). В процессе которого интронные последовательности вырезаются из первичного транскрипта мРНК специальными ферментами – *рестриктазами*. Оставшиеся фрагменты сшиваются *лигазами*. В результате чего образуется более короткая молекула мРНК, непосредственно кодирующая белок. В некоторых случаях экзоны, если их много, могут сшиваться в *разных комбинациях*, в результате образуется несколько различных мРНК. Так как многие гены содержат десятков и более экзонов, то число вариантов зрелых молекул мРНК, отличающихся последовательностью экзонов, потенциально может быть достаточно большим. В данном случае речь идет об *альтернативном сплайсинге*.

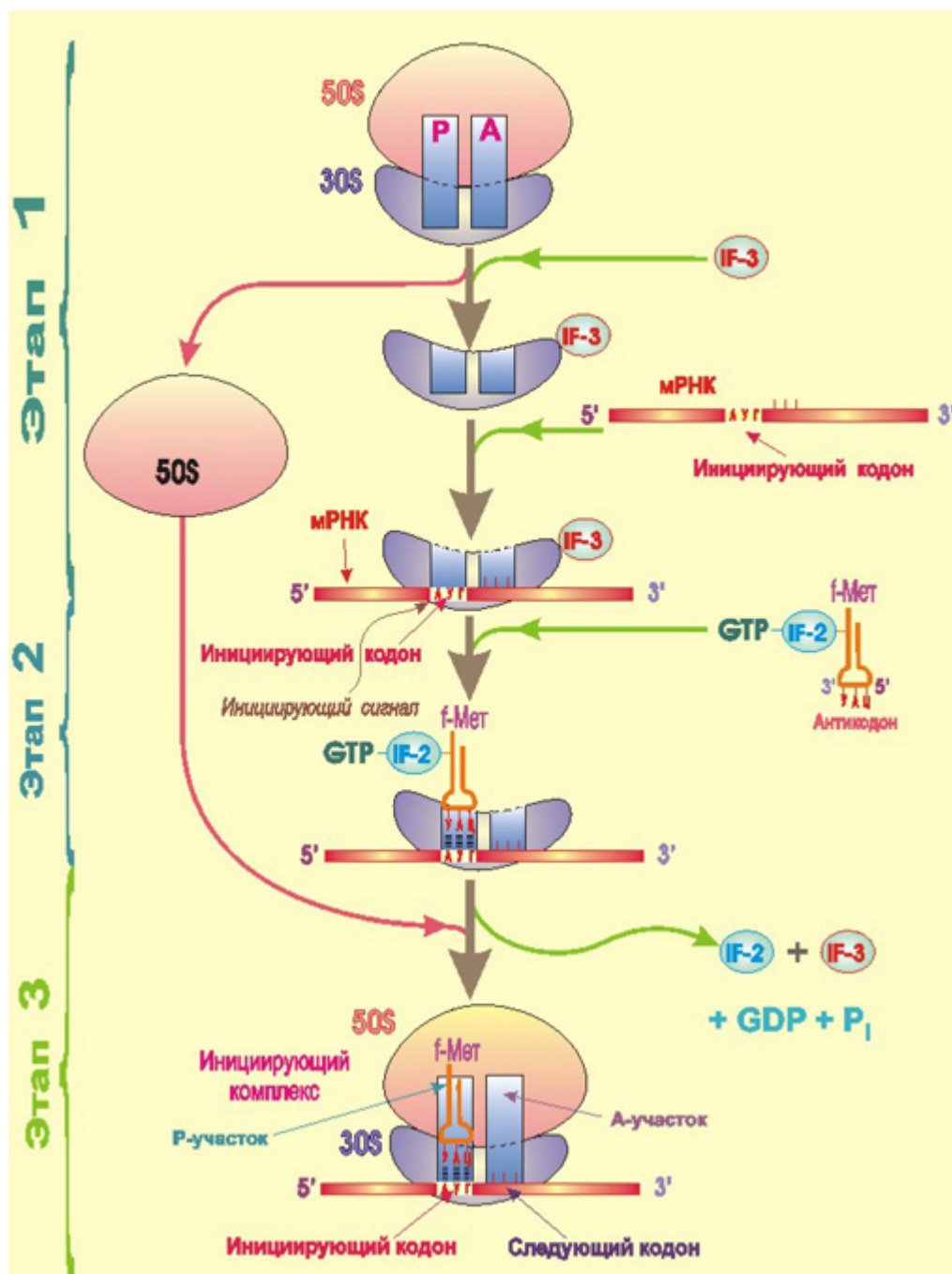
Таким образом, в результате процессинга первичный эукариотический транскрипт превращается в зрелую мРНК. Каждая мРНК содержит: 1) *лидерную*, или 5'-нетранслируемую, *последовательность*, состоящую из нескольких десятков нуклеотидов и имеющую важное значение для эффективной трансляции; 2) *кодирующую область* и 3) *концевую*, или 3'-нетранслируемую *последовательность*, которая может содержать от нескольких сот до тысячи нуклеотидов. Она определяет локализацию мРНК в клетке, а также влияет на стабильность матрицы. Заложённая в зрелой мРНК информация в дальнейшем используется белок-синтезирующей машиной клетки для новобразования белковой молекулы.

После завершения сплайсинга зрелые молекулы мРНК поступают в цитозоль через ядерные поры. Белки ядерных пор способствуют продвижению мРНК в цитоплазму посредством активного транспорта. В цитоплазме мРНК соединяется с рибосомами и служит матрицей для синтеза белка.

Тема 5. Трансляция

[Трансляция](#) – это синтез полипептидной цепи на мРНК как на матрице. Синтез белка является самым сложным и самым энергоёмким процессом в живой клетке. Его протекание требует участия около 300 различных макромолекул. Этот процесс идет с помощью рибосом. Синтезированная в ядре мРНК через поры в ядерной мембране выходит в цитоплазму и здесь соединяется с несколькими рибосомами, образуя *полирибосому*.

Рибосомы – органеллы, осуществляющие синтез белка. Каждый раз, когда начинается синтез белка, рибосома должна диссоциировать на субчастицы. Малая субчастица состоит из одной молекулы рРНК (18S-рРНК), связанной с 30–33 различными рибосомными белками. Большую субчастицу образуют свыше 40 различных рибосомных белков и три типа молекул РНК (5S-рРНК, 5,8S-рРНК и 28S-рРНК). Прокариотические рибосомы несколько меньше эукариотических и содержат меньшее число компонентов. Функция рибосомы заключается в том, чтобы удерживать в нужном положении мРНК и комплекс тРНК с аминокислотой до тех пор, пока между соседними аминокислотами не образуется пептидная связь, причем малая субчастица фиксирует положение мРНК и тРНК, а большая – катализирует образование пептидной связи. В рибосоме имеются два различных участка, с которыми связываются тРНК: Р-участок и А-участок. *Р-участок* (пептидил-тРНК-связывающий) удерживает молекулу тРНК, уже присоединенную к растущему концу полипептидной цепи. *А-участок* (аминоацил-тРНК-связывающий) обеспечивает удержание только что прибывшей молекулы тРНК с прикрепленной аминокислотой.



Этапы трансляции

Трансляцию делят на следующие этапы: активирование аминокислоты и образование ее комплекса с тРНК; инициация трансляции; элонгация полипептидной цепи; терминация трансляции; процессинг полипептидной цепи.

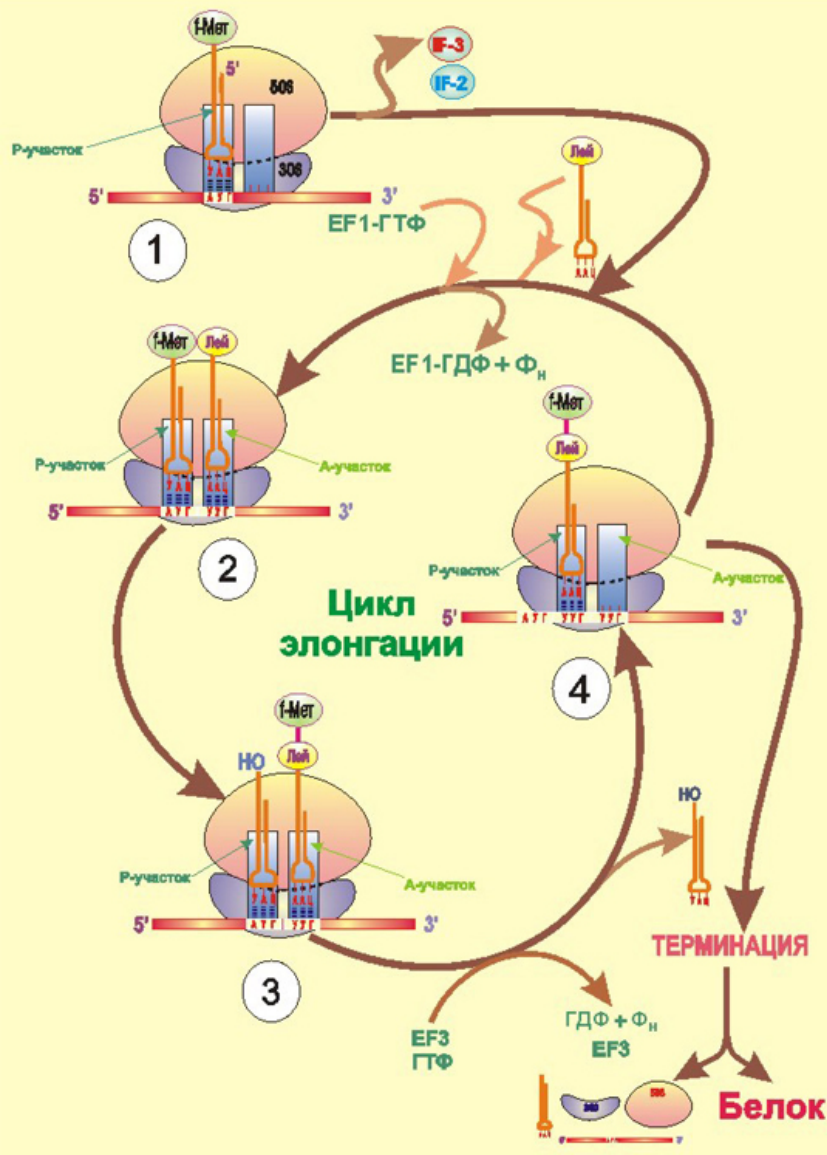
Активирование аминокислоты и образование ее комплекса с тРНК. Для участия в синтезе белка каждая аминокислота должна соединиться со своей тРНК, которая приносит ее к рибосоме. У эукариот для одной и той же аминокислоты имеется несколько тРНК. Присоединение аминокислоты к тРНК протекает в две фазы и приводит к образованию аминоацил-тРНК. На первой фазе под действием специфических ферментов и при участии АТФ как источника энергии карбоксильная группа аминокислоты связывается с АМФ. В результате образуется комплекс фермента с активированной аминокислотой и выделяется свободный пироглюкаты. На второй фазе активированная аминокислота связывается сложноэфирной связью с молекулой специфичной для нее тРНК. Активирование аминокислот и их присоединение к транспортным РНК происходит под действием ферментов, получивших название *аминоацил-тРНК-синтетаз*. Для каждой из аминокислот имеется своя синтетаза. Аминоацил-тРНК-синтетаза обеспечивает высокоспецифическую подгонку структуры тРНК к структуре активированной аминокислоты.

Инициация трансляции. Трансляция начинается со сборки инициаторного комплекса в том месте мРНК, с которого должен начаться синтез полипептидной цепи. Для образования инициаторного комплекса необходимы мРНК, субчастицы рибосомы, инициаторная тРНК, три белковых фактора инициации (*IF-1*, *IF-2*, *IF-3*), а также ионы магния и ГТФ. Выбрать правильную точку начала синтеза полипептидной цепи на молекуле мРНК помогает малая субчастица рибосомы, действующая совместно с факторами инициации, но в отсутствие большой субъединицы. Образование иницирующего комплекса протекает в несколько фаз ([см. рисунок](#)).

У прокариот на первой фазе инициации 30S-рибосомная субчастица соединяется с иницирующим фактором (*IF-3*). Этот фактор мешает объединению 30S- и 50S-субчастиц рибосомы. К комплексу 30S-субчастицы с *IF-3* присоединяется мРНК таким образом, что ее иницирующий (стартовый) кодон *AUG* связывается с определенным участком 30S-субчастицы. Правильное расположение иницирующего кодона на 30S-субчастице обеспечивается за счет комплементарных взаимодействий последовательности из восьми нуклеотидов на 5'-конце мРНК (последовательность Шайна-Дальгарно) и последовательностью 16S-рРНК 30S-субчастицы.

На следующей фазе инициации комплекс, состоящий из 30S-субчастицы, *IF-3* и иРНК, соединяется с фактором инициации *IF-2*, уже связанным с ГТФ и комплексом *fMet*-тРНК^{*fMet*}. У прокариот иницирующей аминокислотой является *N*-формилметионин (*fMet*). Приносит эту аминокислоту к малой частице рибосомы специальная инициаторная тРНК – тРНК^{*fMet*}. Комплекс *fMet*-тРНК^{*fMet*} попадает точно на стартовый кодон *AUG* мРНК. Подобная точность взаимодействия определяется тем обстоятельством, что для иницирующих и внутренних остатков метионина существует всего лишь один кодон. Иницирующий сигнал с 5' -конца иРНК от *AUG* указывает место, с которым надлежит связаться *fMet*-тРНК^{*fMet*}. Тем более, что внутренние кодоны *AUG* не способны связывать *fMet*-тРНК^{*fMet*}.

На заключительной фазе инициации образовавшийся комплекс взаимодействует с 50S-субчастицей рибосомы. Одновременно с этим молекула ГТФ, связанная с *IF-2*, гидролизуется до ГДФ и фосфата, что сопровождается освобождением из комплекса факторов инициации *IF-3* и *IF-2*, а также ГДФ и фосфата.



В результате образуется функционально активная 70S-рибосома, которая называется *инициирующим комплексом*. Рибосома содержит мРНК и иницирующую *fMet*-тРНК^{*fMet*}. Молекула *fMet*-тРНК занимает Р-участок, а ее антикодон (*UAC*) взаимодействует с иницирующим кодоном (*AUG*) на молекуле мРНК. А-участок рибосомы пока пуст.

У эукариот иницирующей аминокислотой является метионин (*Met*). Трансляция начинается со связывания комплекса метионина и специфической тРНК (*Met*-тРНК^{*Met*}) с факторами инициации и с малой субчастицей рибосомы. Затем мРНК присоединяется 5'-концом к комплексу "тРНК—малая рибосомная субчастица", и комплекс продвигается по мРНК до иницирующего кодона (*AUG*). В молекуле мРНК имеется обычно много триплетов *AUG*, и каждый из них кодирует метионин. Однако у эукариот лишь один из этих триплетов *AUG* узнается инициаторной тРНК, т.е. является старт-кодоном. Для включения метионина во *внутренние* участки полипептидной цепи используется другая тРНК.

Далее антикодон *UAC* инициаторной *Met*-тРНК^{*Met*} взаимодействует с кодоном *AUG* мРНК.

К комплексу присоединяется большая рибосомная субчастица, и образуется иницирующий комплекс.

Итак, в эукариотических клетках все синтезируемые полипептиды начинаются с остатка метионина, тогда как полипептиды, синтезируемые в митохондриях и хлоропластах, так же как и в бактериях, начинаются с формилметионина. Это является аргументом в пользу симбиотической теории происхождения органелл.

Элонгация полипептидной цепи. Основная реакция этого этапа – образование пептидной связи между карбоксильной группой на конце растущей полипептидной цепи и свободной аминогруппой аминокислоты. Приносимые транспортными РНК аминокислоты выстраиваются в определенной последовательности, которая обусловлена очередностью кодонов в мРНК. Каждая тРНК, принося активированные аминокислоты к рибосоме, находит свой антикодон на мРНК и таким способом аминокислота занимает свое место в белке.

Для этапа элонгации необходимы ионы магния и *факторы элонгации*: три белка цитозоля (*EF-1*, *EF-2*, *EF-3*), а также во время этого этапа гидролизуются две молекулы ГТФ. Объединение двух аминокислот, т.е. образование одной пептидной связи, происходит в течение 0,05 с.

Прежде всего в процессе элонгации молекула аминоацил-тРНК соединяется со свободным А-участком рибосомы, примыкающим к занятому Р-участку. Связывание осуществляется за счет комплементарного спаривания нуклеотидов антикодона с тремя нуклеотидами мРНК, находящимися в А-участке.

Комплементарная аминоацил-тРНК доставляется в А-участок *фактором элонгации EF-1*. Этот фактор не взаимодействует с *fMet*-тРНК^{*fMet*}. По этой причине инициаторная тРНК не попадает в А-участок. В то же время обычный метионин, связанный с тРНК, взаимодействует с EF-1 подобно всем другим аминоацил-тРНК. Этим и объясняется, что внутренние кодоны *AUG* не считаются инициаторной мРНК.

Далее карбоксильный конец полипептидной цепи отделяется в Р-участке от молекулы тРНК и образует пептидную связь с аминокислотой, присоединенной к молекуле тРНК в А-участке. Эта реакция катализируется *пептидилтрансферазой* – ферментом, прочно связанным с рибосомой. После образования пептидной связи ненагруженная тРНК занимает Р-участок, а дипептидил-тРНК занимает А-участок.

Следующим шагом является *транслокация*. Она сводится к тому, что ненагруженная тРНК покидает Р-участок, пептидил-тРНК переходит из А-участка в Р-участок, и мРНК продвигается на три нуклеотида. В результате следующий кодон занимает нужное положение в А-участке. Для транслокации необходим третий фактор элонгации (*EF-3*). В результате транслокации полипептидная цепь, присоединившая один, дополнительный, аминокислотный остаток, перемещается в большую субчастицу рибосомы.

После завершения этапа элонгации незанятый А-участок может принять новую молекулу тРНК, нагруженную следующей аминокислотой. Отделившаяся от Р-участка тРНК возвращается в цитозоль, где может присоединить новую аминокислоту.

Рибосома продолжает двигаться вдоль мРНК (ее каждый шаг равен одному кодону) вместе с полипептидной цепью. При этом на каждом шаге к полипептидной цепи прибавляется еще одна аминокислота. Белковая цепь синтезируется путем ее постепенного наращивания в направлении от *М*-конца к *С*-концу. Информационная РНК транслируется в направлении от 5'- к 3'-концу.

Следовательно, образование пептидной связи повторяется столько раз, сколько аминокислотных остатков входит в состав полипептидной цепи. В результате синтез любого белка можно представить в виде *циклов*, каждый из которых состоит из: 1) присоединения аминоацил-тРНК к свободному А-участку рибосомы; 2) образования пептидной связи между карбоксильным концом полипептидной цепи и новой аминокислотой; 3) транслокации. В бактериальной клетке продолжительность одного цикла около 1/20 с.

Терминация трансляции. Элонгация продолжается до тех пор, пока рибосома не дойдет до одного из кодонов *UAA*, *UAG* или *UGA*, называемых *стоп-кодонами*, или кодонами-терминаторами. Если А-участок рибосомы занят одним из стоп-кодонов, то связывания аминоацил-тРНК обычно не происходит. Сигналы терминации распознаются специальными белками – *факторами освобождения*.

Часто новосинтезированный белок подвергнется *процессингу*. Процессинг полипептидной цепи – это удаление у вновь синтезированной полипептидной цепи иницирующих аминокислот, отщепление ненужных аминокислотных остатков, а также модификация аминокислотных остатков в белке. Биологический смысл реакций процессинга (реакций *посттрансляционной модификации* белков) заключается в расширении функционального потенциала белковой молекулы за счет “направленного” преобразования отдельных остатков аминокислот или их обратимой модификации.

Тема 6. Регуляция экспрессии генов эукариот

У многоклеточных организмов дифференцировка клеток, изменение характера клеточного метаболизма, прохождение определенных этапов развития происходит в результате экспрессии разных генов одного и того же генома (*дифференциальной экспрессии генов*). Дифференциальная экспрессия генов обеспечивает синтез определенного набора структурных, ферментных и регуляторных белков. Спектр (набор) этих белков, синтез и активность которых регулируются эндогенными и экзогенными сигналами, в конечном счете определяет течение всех процессов в растительном организме. Обычно в клетке в каждый момент функционируют лишь 5% генов, а 95% – находятся в неактивном состоянии.

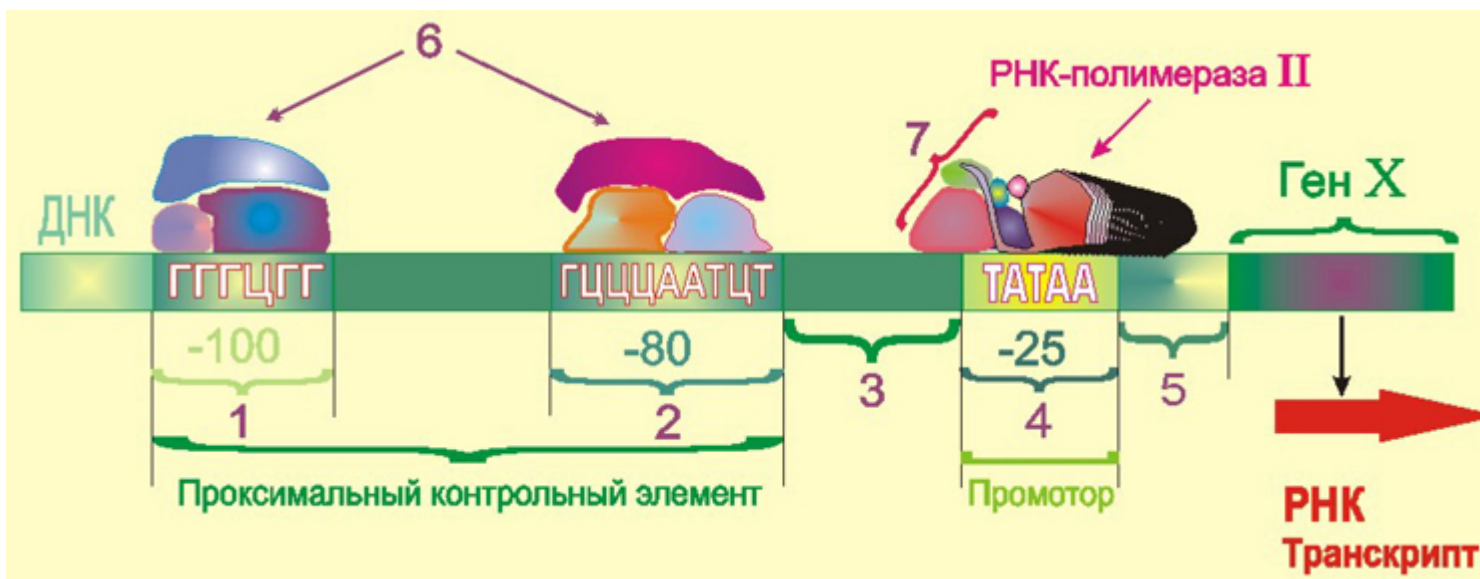
Экспрессия генов про- и эукариот регулируется на *уровне транскрипции*. Кроме того, регуляция может осуществляться на *посттранскрипционном уровне*: на этапе процессинга и сплайсинга пре-мРНК, трансляции и созревания белка, а также на уровне его стабильности.

Регуляция транскрипции у эукариот

Мы уже говорили, что регуляция экспрессии генов у высших организмов на уровне синтеза РНК является значительно более сложной, чем в клетках прокариот.

Клетки эукариот обычно содержат большое количество *регуляторных белков*. Активность гена часто зависит от действия нескольких регуляторных белков. Различные регуляторные белки взаимодействуют друг с другом. Комбинации нескольких регуляторных белков, контролирующих активность генов, могут определять развитие многих типов клеток. Различные типы клеток многоклеточного организма обладают разными белками-регуляторами, в результате каждый тип клеток транскрибирует свой собственный набор генов. Часть регуляторных белков, по-видимому, присутствует во всех тканях (например *р-белок*), тогда как другие обнаруживаются только в определенных типах клеток. Наличие большого числа регуляторных элементов, которые могут изменять активность единичного гена, позволяет осуществлять дифференциальную регуляцию экспрессии генов эукариот.

Мы уже говорили, что эукариоты характеризуются *сложным промотором*.



В промоторе эукариот можно выделить две основные части: *минимальный промотор*, состоящий из минимального набора регуляторных последовательностей, требуемых для экспрессии гена, и *дополнительные регуляторные последовательности*, которые изменяют активность минимального промотора. Помимо *TATA-блока*, минимальный промотор эукариот также содержит две дополнительные регуляторные последовательности: *CAAT-блок* и *GC-блок*. Эти две последовательности являются местом связывания транскрипционных факторов. Минимальный промотор генов, транскрибируемых РНК-полимеразой II, располагается на расстоянии 100 пн от места инициации транскрипции и включает несколько *проксимальных регуляторных последовательностей*.

Регуляторные последовательности ДНК, находящиеся в составе тех самых генов, которые они регулируют, называются *цис-действующими элементами* (от лат. *cis* – по эту сторону). Ряд других цис-действующих элементов расположен значительно дальше (до 1000 пн) от точки инициации транскрипции, чем проксимальные последовательности. Эти последовательности называются *дистальными регуляторными элементами* (от лат. *distalis* – дальше, отстоящий). Они могут стимулировать или ингибировать синтез РНК.

Помимо регуляторных последовательностей, входящих в состав промотора, у эукариот регуляторные белки могут связываться с ДНК в участках, удаленных на *тысячи и десятки тысяч* нуклеотидных пар от промотора. Далеко отстоящие регуляторные последовательности называются *энхансерами* или *сайленсорами*.

Энхансер (от англ. *enhancer* – усилитель) – это регуляторная последовательность ДНК, которая *активирует* транскрипцию гена. Энхансеры могут быть расположены справа или слева от промотора. Их местонахождение по отношению к регулируемому гену слабо влияет на биологическую активность.

Интересно, что энхансеры *не обладают полярностью*, т.е. их ориентацию можно менять без снижения активности. Энхансер безразличен к гену, который он регулирует. Некоторые энхансеры проявляют тканевую *специфичность*. Это позволяет рассматривать энхансеры как важный фактор дифференцировки клеток.

Далеко отстоящая регуляторная последовательность ДНК, которая *угнетает* транскрипцию гена, называется сайленсером. Сайленсеры по своим свойствам весьма напоминают энхансеры. Обычно энхансеры и сайленсеры локализируются в спейсере, т.е. в *нетранскрибируемой* области. *Механизм действия* и энхансеров и сайленсеров в настоящее время практически не исследован. В то же самое время, при образовании иницирующего комплекса возможен физический контакт между [промотором](#) и большинством далеко расположенных регуляторных элементов.

Транс-факторы

Транс-факторы – это специальные *белки*, которые регулируют *цис-действующие* элементы генов эукариот. Транскрипционные факторы, которые связываются с *цис-действующими* элементами, называются *транс-действующими факторами* ([транс-факторами](#)), так как кодирующие их гены могут быть локализованы в любом месте генома (от лат. *trans* – сквозь, через, находящийся по другую сторону). Транс-факторы, которые усиливают транскрипцию, называются [активаторами](#), а транс-факторы, ингибирующие ее, – [репрессорами](#).

Любой транс-фактор имеет три структурных элемента: 1) *ДНК-связывающий домен*, 2) *транскрипционно активный домен* и 3) *лиганд-связывающий домен*. ДНК-связывающие домены транскрипционных факторов должны взаимодействовать с регуляторными последовательностями ДНК за счет образования водородных и ионных связей, а также гидрофобных взаимодействий. Это предполагает наличие соответствующих консервативных структурных элементов в молекулах различных транс-факторов.

Транс-факторы передают первичный сигнал, полученный от рецепторов (сенсоров) плазмалеммы, на гены. Под действием поступившего сигнала транс-факторы изменяют свою биологическую активность, что позволяет им стимулировать или ингибировать работу различных групп генов.

Внутриклеточные механизмы передачи (трансдукции) сигнала

Наиболее универсальными вторичными мессенджерами являются ионы кальция (Ca^{2+}), циклическая АМФ (цАМФ), циклическая ГМФ (цГМФ), диацилглицерины (ДАГ), инозиттрифосфаты (ИТФ). Важная роль принадлежит *протеинкиназам* – ферментам, фосфорилирующим белки по строго определенным группам серина, треонина и тирозина. Присоединение фосфата приводит к изменению структуры белковой молекулы и ее функциональной активности.

Другие уровни регуляции экспрессии генов у эукариот

Помимо транскрипции, экспрессия генов растений может также регулироваться на *посттранскрипционном уровне*, который включает процессинг первичного транскрипта, трансляцию, созревание белка, а также создание стабильности его структуры.

Важным механизмом регуляции активности генов и клеточной дифференцировки является *альтернативный сплайсинг*. Колоссальные возможности для регуляции экспрессии генов открываются во время *трансляции*, а также в ходе *посттрансляционных событий*: образования олигомерных белков, ограниченного протеолиза вновь синтезированных полипептидов, многочисленных модификаций белков во время их созревания. *Продолжительность жизни* самих белков тоже влияет на экспрессию генома. Она колеблется у разных белков от нескольких минут до десятков часов. Регуляция генома осуществляется также на уровне *транспорта мРНК* в цитоплазму и транспорта белков в органеллы.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПРОВЕРКИ

Часть I. Элементарные сведения о структуре генома эукариот и регуляции его экспрессии

1. Что такое ген? Что такое геном?
2. Какой ген называется структурным?
3. Какая ДНК называется спейсерной?
4. Что такое секвенирование генома?
5. Что такое дезоксирибонуклеотид? Чем отличается нуклеотид от нуклеозида?
6. Какие основания входят в состав ДНК?
7. Как происходит спаривание оснований в молекуле ДНК?
8. Что такое гистоны и негистоновые белки?
9. Какие функции выполняет ДНК?
10. Что такое генетический код?
11. Чем отличаются ДНК хлоропластов и митохондрий от ядерных ДНК?
12. Что такое репликация?
13. Какие ферменты являются ключевыми в репликации ДНК?
14. В каком процессе участвуют ДНК-хеликазы и топоизомеразы?
15. Что такое фрагменты Оказаки?
16. В каком направлении идет синтез ДНК?
17. Почему ДНК полимеразы используют РНК-затравку?
18. Какую роль играют ДНК-лигазы?
19. Какие типы РНК Вы знаете?
20. Чем отличается первичная структура РНК от первичной структуры ДНК?
21. Какие функции выполняют мРНК?
22. Какое строение имеет молекула тРНК?
23. Что такое кодон? Что такое антикодон?
24. Какие кодоны называются иницирующими и терминирующими?
25. Какие функции выполняют тРНК? Как тРНК узнает свое место в мРНК?
26. Для чего нужны рРНК?
27. Какой процесс называется транскрипцией?
28. Что такое РНК-полимеразы и какова их роль?
29. Какие этапы выделяют в транскрипции?
30. Что такое промотор?
31. Какое строение имеет промотор эукариот?
32. Зачем нужен терминатор?
33. Что служит матрицей для синтеза РНК?
34. Как РНК-полимераза находит промотор?
35. Что такое экзон? Что такое интрон?
36. Какой процесс называется процессингом?
37. Что такое экспонирование? Что такое полиаденилирование?
38. Что такое сплайсинг? Чем отличается пре-мРНК от зрелой мРНК?
39. Что такое альтернативный сплайсинг?
40. Какую функцию выполняет обратная транскриптаза?
41. В чем различие и сходство между транскрипцией и репликацией?

42. Что такое трансляция и из каких этапов она состоит?
43. Какое строение имеет рибосома? Что такое полирибосома?
44. Какова функция рибосом?
45. Как происходит активирование аминокислот?
46. Из чего состоит иницирующий комплекс?
47. Какой кодон является иницирующим?
48. Какая аминокислота является инициаторной у прокариот и эукариот?
49. Из каких процессов состоит один цикл элонгации?
50. Какие кодоны являются стоп-кодонами?
51. Что такое процессинг полипептидной цепи?
52. На каких уровнях возможна регуляция экспрессии генов?
53. Что такое промотор?
54. Как происходит регуляция транскрипции?
55. Из каких регуляторных компонентов состоит промотор эукариот?
56. Что такое цис-действующие элементы и транс-факторы?
57. Что такое энхансеры и сайленсоры?
58. Какую функцию выполняют вторичные мессенджеры?
59. Какие вещества являются вторичными мессенджерами?

Тема 1. Общие представления о технологии создания ГМО

Получив элементарные представления о структуре и регуляции генома эукариот, мы можем кратко остановиться на том, что такое трансгенное растение и какова технология его получения.

Генетически модифицированные (трансгенные) организмы можно определить как организмы, генетический материал которых изменен способом, недостижимым при естественных путях внутривидовых скрещиваний. Получением трансгенных организмов занимается генная или [генетическая инженерия](#). Генетическую инженерию можно рассматривать как науку об изменении генетической программы клеток и о преодолении межвидовых барьеров. Ключевым звеном генноинженерных технологий является создание рекомбинантных ДНК. Рекомбинантная ДНК представляет собой химерную ДНК, состоящую из фрагментов ДНК различного происхождения.

Для получения [ГМО](#) используется так называемая генная технология, или технология рекомбинантных молекул. Генная инженерия позволяет переносить отдельные гены из любого живого организма в любой другой живой организм в составе кольцевых молекул ДНК, или плазмид. Подобный путь передачи в природе генетической информации известен как "горизонтальный перенос генов". Это явление широко распространено в бактериальном мире, и доля генов, приобретенных путем такой "отдаленной гибридизации", в геномах изученных бактерий предположительно составляет около 15% у свободноживущих форм и 8–9% у паразитических [\[3\]](#). На основании предварительных оценок частоту горизонтальных переносов у высших организмов или от них к бактериям интерпретировали как чрезвычайно низкую [\[4, 5\]](#). Однако работы последних лет свидетельствуют о более значительной распространенности этого механизма [\[6, 7\]](#). Во всяком случае явление горизонтального переноса – событие исключительное в жизни популяций растений и животных, сопровождающееся мощным геномным стрессом – мутагенезом и перестройками, приводящими к реорганизации всего генома [\[8\]](#).

Технология получения трансгенных растений включает в себя три принципиальных этапа:

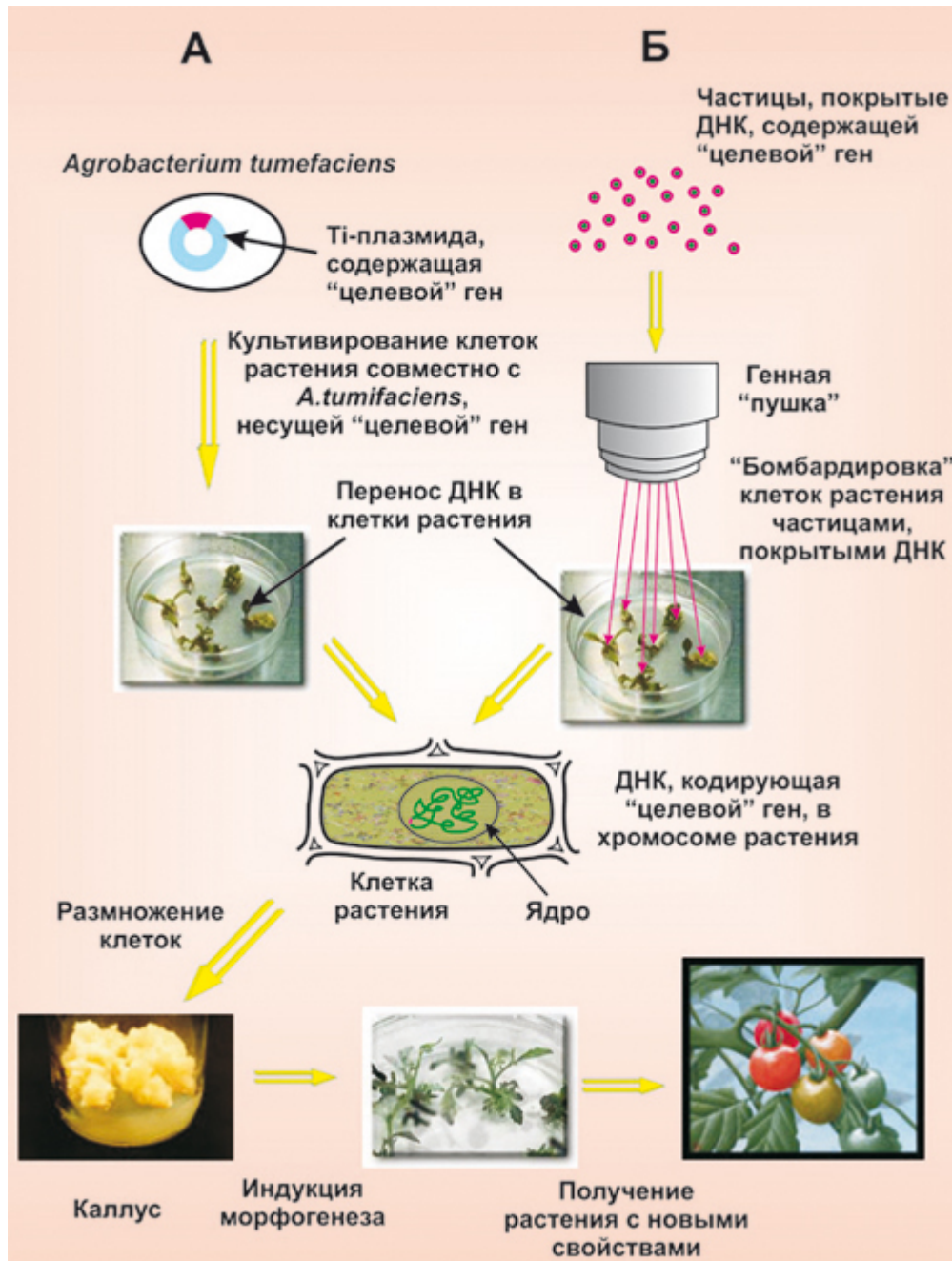
1. Поиск и выделение чужеродной ДНК, содержащей нужный нам (целевой) ген.
2. Создание вектора, т.е. такой конструкции, которая обеспечивает экспрессию чужеродного гена.
3. Подбор способа трансформации, т.е. метода введения вектора (рекомбинантной ДНК) в растение-реципиент.

В настоящее время существуют по меньшей мере три подхода для получения представляющих интерес генов:

1. выделение целевого гена из того или иного организма. С этой целью выделяют ДНК и подвергают ее рестрикции (т.е. разрезанию) с помощью ферментов, так называемых [рестриктаз](#) (или рестрикционных эндонуклеаз). Рестриктазы – это ферменты бактерий, которые узнают и разрезают ДНК в строго специфических последовательностях, состоящих из 4–8 нуклеотидов. Эти ферменты разрезают ДНК, как правило, на много фрагментов, поскольку в геноме имеется большое число сайтов рестрикции. Многие из полученных рестриктов будут содержать полный ген или только часть нужного гена, которая не сможет нормально экспрессироваться. Этот способ позволяет получить фрагмент ДНК, содержащий целевой ген. Для идентификации этого гена необходимо иметь, например, меченные зонды, позволяющие осуществлять его поиск среди множества рестрикционных фрагментов;
2. получение кДНКовой копии гена. В данном случае выделяют из растения не ДНК, а фракцию мРНК, которую используют для прямого синтеза копии нужного нам гена. кДНК синтезируется на мРНК как на матрице обратной транскриптазой или ревертазой;

3. синтез целевого гена (или его фрагмента) с помощью ПЦР. Этот метод прост и дешев, но для его применения необходимо знать первичную последовательность искомого гена, которую, как правило, без труда удастся найти в генных банках.

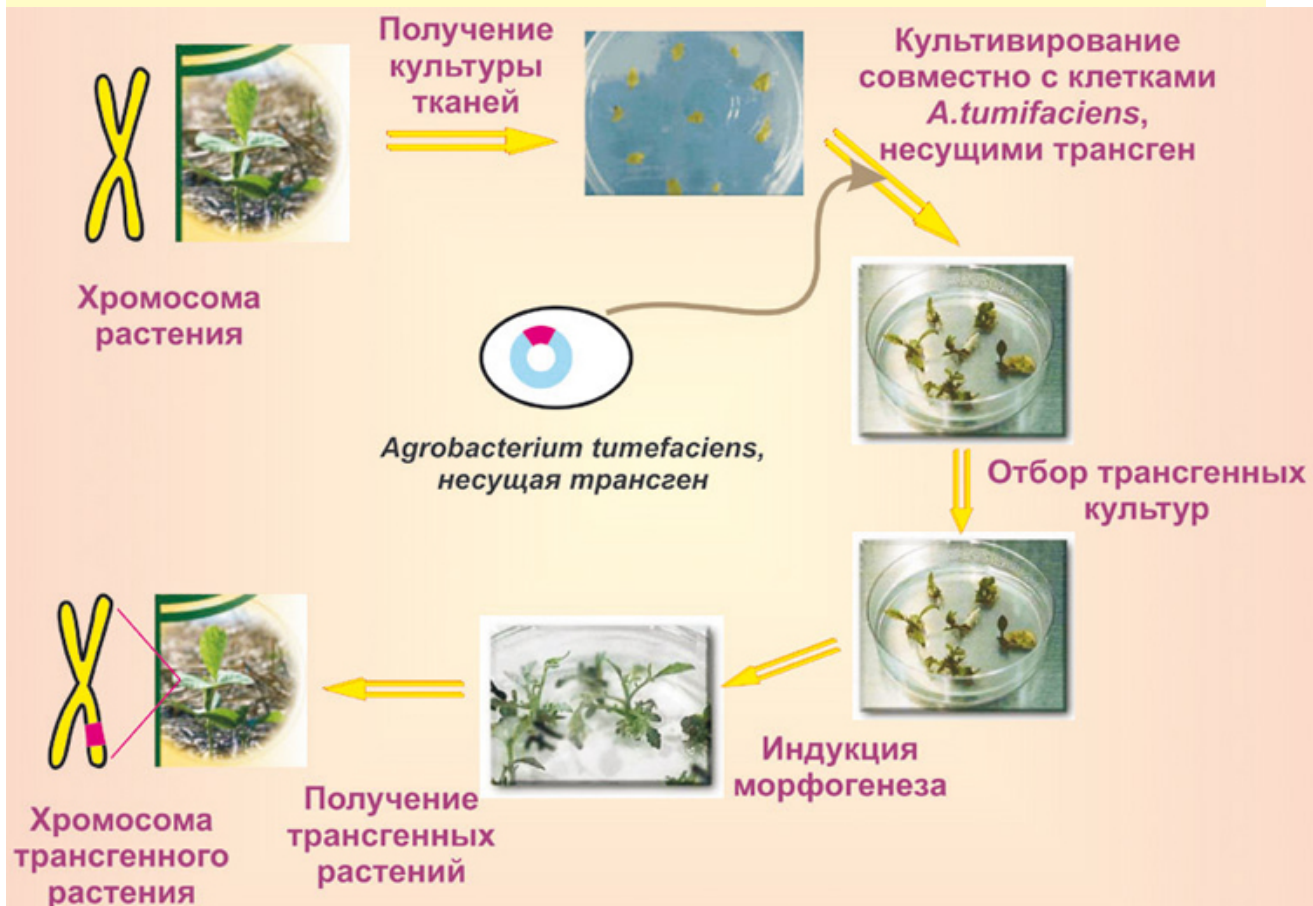
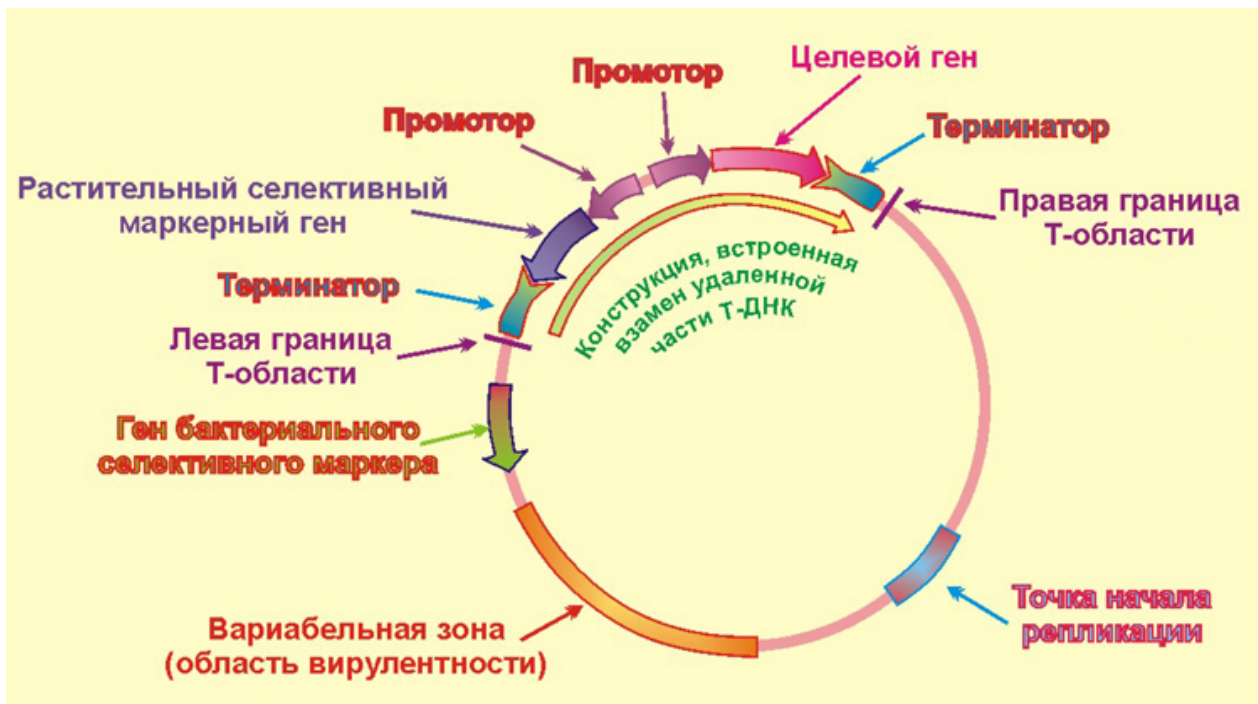
В настоящее время растения трансформируют двумя основными методами: с помощью T_i-плазмиды, несущей встроенный в нее целевой ген, который доставляется в клетки растения с помощью почвенной бактерии *Agrobacterium tumefaciens*, называемой иногда природным генным инженером, и методом биологической баллистики.



В природных условиях трансформация растений с помощью *A. tumefaciens* сопровождается образованием опухоли – корончатого галла вследствие встраивания копии небольшого фрагмента T_i-плазмиды (T-ДНК) бактерии в генетический аппарат клеток растений.



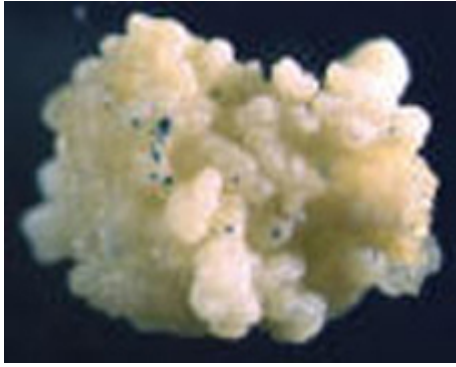
Генно-инженерные методы позволяют удалить часть Т-ДНК природной Т₁-плазмиды, заменив ее целевым геном и технологически необходимыми элементами, что дает возможность предотвратить образование галла и одновременно придать растению желаемое свойство. Этим способом обычно трансформируют двудольные растения, хотя иногда и однодольные.



В случае однодольных растений зачастую применяют второй метод. ДНК с "целевым" геном наносят на мельчайшие частички металла (например, вольфрама или золота) и этими частицами, летящими с огромной скоростью, бомбардируют клетки. При этом некоторые фрагменты чужеродной ДНК интегрируются в клеточный геном. Регенерация растений из таких клеток приводит к получению генетически модифицированного растения.

Трансформация растений *Agrobacterium* может быть осуществлена ее совместным культивированием с протопластами или инфицированием листовых дисков. В первом случае будет иметь место инокуляция протопластов бактерией, содержащей рекомбинантную плазмиду. После 2–3 дней

культивирования бактерию убивают с помощью антибиотика, и протопласты превращаются в микрокаллус.



Микрокаллус далее переносится на среду с канамицином. В этих условиях выживут только те клетки, которые трансформированы рекомбинантной плазмидой, содержащей как ген устойчивости к канамицину, так и чужеродный ген. Недостатком *Agrobacterium* как трансформирующего вектора является ограниченный спектр хозяев.

При втором способе трансформации маленькие диски из стерильного листа (или другой ткани) могут быть инкубированы с *Agrobacterium*, что позволит инфицировать их бактерией на местах среза. Селекцию трансформированных клеток осуществляют на среде с канамицином.

В обоих случаях – последняя стадия заключается в создании гормонального баланса в среде культивирования, который способствует регенерации растений. Результатом является получение трансгенного растения, которое экспрессирует чужеродный ген. Существуют стандартные методы доказательства трансгенности растения, передачи трансгена в процессе генеративного развития, а также экспрессии встроенного гена.

Помимо перечисленных существуют и другие методы прямого переноса генов в клетки и ткани: путем микроинъекции ДНК в протопласты, методом электропорации, использование липосом, состоящих из фосфатидилсерина и холестерина, для введения чужеродной ДНК в протопласты и др.

Особый интерес представляет создание так называемых транспластомных растений, которые характеризуются введением **желаемых трансгенов в хлоропластный геном**. Для большинства видов культурных растений хлоропласты наследуются строго по материнской линии, что исключает передачу трансгенов с пыльцой и генетическое загрязнение окружающей среды.

Одним из преимуществ внесения генов в хлоропластный геном является очень высокий уровень экспрессии трансгенов, что связано с большим количеством копий хлоропластного генома в клетке (5000–10000) и высокой эффективностью работы аппаратов транскрипции и трансляции при внесении прокариотических генов в прокариотический по природе хлоропластный геном.

По данным Малиги и др., введенные в хлоропласты трансгены экспрессировались весьма активно. При трансформации гена *cry1A* (с) из *Bacillus* его экспрессия достигала 3–5% от растворимого белка листьев табака. При самоопылении этих растений и проращивании полученных семян на среде с гербицидом все прорастающие растения были гомопластичны.

Тема 2. Перспективы использования генетически модифицированных растений

В 1914 г. население земного шара составляло около 1,6 млрд человек, в 1999 г. – превысило 6 млрд, а в 2025 г., по прогнозам, оно достигнет уже 8,3 млрд человек. Учитывая, что растительные продукты составляют 93% пищи человека, а остальные 7% составляют продукты животного происхождения, которые также образуются в результате потребления животными растительной пищи, остро встает вопрос – как прокормить население планеты?

Дальнейшее существенное увеличение урожая сельскохозяйственных культур вряд ли может быть достигнуто за счет химизации, механизации и мелиорации сельского хозяйства. Использование этих подходов в последние десятилетия привело к значительному увеличению урожая, но одновременно и инициировало целый ряд экологических и экономических проблем. Можно было бы рассчитывать повышать урожай за счет совершенствования классических методов генетики и селекции. Подходы традиционной генетики и селекции, действительно, себя еще далеко не исчерпали. Но наряду с этим очевидно, что необходим поиск и новых путей, которые позволили бы повысить урожай основных сельскохозяйственных культур, улучшить его качество и снизить себестоимость продукции, не ухудшая при этом состояние

окружающей среды. По мнению лауреата Нобелевской премии Нормана Борлауга, "только новые развивающиеся биотехнологии могут спасти мир от голода и экологических катастроф".

Технологии рекомбинантных ДНК в настоящее время очень широко используются в практике аграрного производства. Как было указано во введении, ежегодно площади, занятые [трансгенными](#) сортами сельскохозяйственных культур увеличивается на 10 млн га и составляют немногим более 100 млн га. Последние 15–20 лет усилия генных инженеров были направлены на получение высокоурожайных сортов культурных растений. С этой целью в растения вводили, прежде всего, гены устойчивости к пестицидам, вирусам и листогрызущим насекомым.



По состоянию на 2004 г. в мире разрешено выращивать в коммерческих масштабах трансгенную сою, рапс аргентинский и рапс польский (получение масла), цикорий, хлопчатник, кукурузу, дыню, папайя, картофель, рис, кабачки, сахарную свеклу, табак, томаты. Из технических культур также разрешен генетически модифицированный лен, из декоративных – гвоздика.

Помимо повышения устойчивости растений к гербицидам появилась еще одна возможность использования генов устойчивости к гербицидам – *борьба с растениями-паразитами*. Замачивание семян гербицидоустойчивых сортов в растворе гербицида или обработка его раствором проростков сопровождается торможением роста и ингибированием прорастания семян растений-паразитов (например, заразихи), но не культурных сортов сельскохозяйственных растений.

В самое последнее время появляется все больше сортов генетически модифицированных (ГМ, трансгенных) растений, *сочетающих в себе устойчивость к вредителям, гербицидам и болезням с повышением качества продукции за счет увеличения доли незаменимых аминокислот* в белках, увеличения содержания белков, жиров и углеводов, способные храниться более длительный срок без ухудшения качества.

Используются новые подходы и для получения *устойчивых к заболеваниям растений*. Установлено, что все растения, особенно их прорастающие семена, содержат небольшие пептиды (из 45–54 аминокислот, богатые цистеином), так называемые *дефензины*. Трансгенные растения табака с геном дефензина редьки под 35S промотором характеризовались снижением в семь раз размера пятен, вызываемых инфекцией патогена *Alternaria solani*. Оригинальным является использование *антибактериального пептида саркотоксина 1А мясной мухи* для получения трансгенных растений табака с повышенной устойчивостью к ряду патогенов. Создаются трансгенные растения, обладающие способностью конститутивно синтезировать элиситоры, что обеспечивает повышенную устойчивость растений, например, к *Pseudomonas*.

Наметился прорыв *в генетике минерального питания*. Выделен ген, отвечающий за транспорт фосфатов в растениях арабидопсиса и томатов. Этот ген активно экспрессируется при снижении содержания фосфатов в питательном растворе. Получают трансгенные растения, способные более эффективно поглощать фосфор. Ген *CHL1* арабидопсиса контролирует транспорт нитратов и влияет на их поглощение корнями из почвы. Трансгенные растения арабидопсиса с геном *CHL1* обладали повышенной способностью поглощать нитрат. Растения риса с несколькими генами транспорта нитрата из арабидопсиса также более эффективно поглощали нитрат.

Создаются трансгенные растения, *устойчивые к неблагоприятным условиям окружающей среды*. Появились первые сообщения о получении *устойчивых к холоду растений*. Эти растения конститутивно экспрессируют ген, кодирующий фактор транскрипции CBF-1, регулирующий работу многих

COR-генов, которые включаются в ответ на понижение температуры. Полученные трансгенные растения обладали повышенной устойчивостью к низким повреждающим температурам.

Большое внимание исследователей привлекает получение растений, *устойчивых к окислительному стрессу*, который происходит при протекании физиологических процессов особенно в условиях стресса, например, при низких температурах. Система инактивации свободных радикалов кислорода очень сложна, одним из ее компонентов является **SOD**. В настоящее время получены ряд растений, содержащих чужеродный ген SOD. Например, растения люцерны активно экспрессировали этот ген, обладая при этом повышенной устойчивостью к гербициду акрифторфену и повышенной регенерационной способностью после повреждения заморозками.

Получение *стресс-толерантных растений* (т.е. устойчивых не к одному, а к нескольким повреждающим воздействиям). Это крайне перспективное направление развития генноинженерных технологий, которое предусматривает создание растений – супераккумуляторов совместимых осмолитов, белков с функциями молекулярных шаперонов, а также растений с высокоактивными антиоксидантными системами.

Одним из новейших направлений использования трансгенных растений является их *применение для фиторемедиации* – т.е. очистки почв и грунтовых вод от загрязнений тяжелыми металлами, радионуклидами и т.п. Задача заключается в том, чтобы “научить” растения аккумулировать в листьях максимальное количество тяжелых металлов или радионуклидов, что и позволит очищать окружающую среду. Для создания подобных растений пытаются использовать *фитохелатины* – маленькие пептиды, которые используются в растительном мире для связывания и, таким образом, для инактивации тяжелых металлов. Другим подходом может быть использование генов *металлотионеинов* – богатых цистеином белков, также способных связывать тяжелые металлы.

Создание трансгенных растений – биореакторов. Использование трансгенных растений для производства коммерчески значимых белков и химикатов является весьма перспективным направлением биотехнологий. В настоящее время уже созданы установки по получению с помощью растений моноклональных антител, функциональных фрагментов антител и полимеров, подверженных биодegradации, что позволяет решить важные экологические проблемы по утилизации бытовых отходов. Получение “съедобных” вакцин, т.е. вакцин, производимых ГМ-растениями, является очень заманчивым направлением генной инженерии. Однако в настоящее время оно находится практически на уровне лабораторных исследований. В мире получено много трансгенных растений, употребление которых в пищу может быть полезно при лечении очень тяжелых заболеваний. Так, например, член-корреспондент РАН Р.К. Салаяев (Иркутск) совместно с учеными НПО “Вектор” (Кольцово) получили трансгенные растения томатов, плоды которых потенциально могут лечить от СПИДа и гепатита В. Однако до коммерческого использования эти разработки пока не доведены.

Тема 3. Фундаментальные основы существования реальных и потенциальных рисков при выращивании и использовании ГМО

Как мы отмечали выше, применение генно-инженерных технологий позволяет ускорить, по сравнению с традиционной селекцией, процесс создания нового сорта растений и получить прогнозируемый эффект по определенному признаку. Однако вместе с таким признаком организм приобретает целый набор новых качеств, предсказать которые заранее невозможно из-за несовершенства генно-инженерных технологий и слабой изученности механизмов регуляции экспрессии генома.

Ниже перечислены основные причины наличия рисков при выращивании и использовании генетически модифицированных организмов.

Непредсказуемость места интеграции рекомбинантной ДНК в геном организма-донора и числа встроенных ее копий. Это один из основных недостатков генно-инженерных технологий. В настоящее время исследователь не умеет “вставлять” чужеродный фрагмент ДНК в конкретное место генома хозяина. При

этом он не может предсказать заранее, в каком месте генома произойдет вставка чужеродного фрагмента ДНК и сколько таких вставок появится. Тем более он не может предвидеть последствий подобной трансформации, ее реализации на уровне индивидуальных генов (регуляторных или структурных), метаболизма (прежде всего гормонального, или вторичного) и функций.

Слабая изученность механизмов регуляции и функционирования генома высших растений. Непредсказуемость интеграции трансгена в растительный геном во многом обусловлена как слабым пониманием молекулярных механизмов этого процесса, так и недостаточной изученностью структуры и регуляции самого генома.

Плейотропный эффект *встроенного гена.* Неопределенность изменений клеточного метаболизма в ответ на трансформацию, обусловленная несовершенством технологии получения трансгенных растений и слабой изученностью генома, значительно усиливается плейотропным эффектом встроенного гена. Этот эффект заключается в следующем. Случайно встроенный фрагмент ДНК из другого живого источника может непредсказуемо изменить интенсивность экспрессии соседних генов и даже вызвать эпигенетическое, т.е. обусловленное конформационными или модификационными изменениями участков ДНК, молчание индивидуальных генов (сайленсинг), что делает вероятным модификацию клеточного метаболизма, направление изменений которого заранее предвидеть невозможно. Изменения активности экспрессии одного гена может отразиться на работе многих других генов, тем более что как сами гены, так и кодируемые ими белки связаны в организме сетью регуляторных взаимодействий. Появление нового, не предусмотренного эволюцией для данного биологического вида, элемента в ансамбле белков может привести к нарушению передачи сигналов в различных регуляторных и метаболических цепях, что вызывает непредсказуемое изменение признаков, характерных для данного вида.

Нарушение стабильности генома и изменение его функционирования вследствие трансформации прямо связаны с описанным выше плейотропным действием гена, а также с явлением дедифференцировки клеток в условиях *in vitro* при получении трансгенного растения. Стресс-обусловленный мутагенез и геномная нестабильность хорошо известны, и в настоящий момент отработываются более щадящие методы трансформации растений, например трансформация незрелых зародышей, что приводит к достоверному снижению геномных модификаций у таких растений по сравнению с полученными из клеточных культур [9]. Широкомасштабные исследования стабильности экспрессии генома стали возможны благодаря разработанной методике анализа экспрессионных данных с помощью микрочипов, но эти исследования пока проводятся на модельных объектах, таких, например, как арабидопсис (класс двудольных, растение, удобное для изучения растительного генома) [10].

Нарушение стабильности встроенного в геном чужеродного фрагмента ДНК может проявляться как в транзистентной, т.е. временной, непостоянной, экспрессии внедренных генов, так и в изменении числа их копий и положения в геноме. Например, для двух родственных линий из одной гомозиготной популяции трансгенного ячменя установлена разная активность промоторного комплекса, связанная с разной степенью его метилирования [11]. Так как обе линии являются производными одного трансформационного события, очевидно, что эпигенетические факторы (такие, как метилирование ДНК и гистонов) могут существенно изменять первоначально оцененную активность трансгенных конструкций. Анализ генома трансгенного риса показал существенную изменчивость числа встроенных копий (от одной до четырех) фрагментов ДНК в растениях из одной линии, а также значительную нестабильность самой конструкции [12]. Нестабильность вставки была выявлена и для сортов трансгенной сои [13].

Наличие во встраиваемом фрагменте ДНК (генетической конструкции) "технологического мусора", включающего, например, неполные и дефектные копии плазмид, "незаконные" инсерции, т.е. встраивания в геном конструкций или их участков, не предусмотренные применяемой методикой, вспомогательных плазмид, 35S-промотор и бактериальные терминаторы, гены устойчивости к антибиотикам.

Аллергические и токсические эффекты трансгенного белка, не выявляемые используемыми оценочными тестами. Несовершенство применяемых процедур тестирования применяемых белков будут подробно рассмотрены в конце следующего раздела.

Все перечисленные, а также ряд других ограничений современных методов получения ГМО являются источниками серьезных реальных и потенциальных биологических рисков и неопределенностей, которые нельзя не принимать во внимание.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПРОВЕРКИ

Часть II. Технология создания генетически модифицированных организмов и перспективы их использования

1. Что такое генетически модифицированный (трансгенный) организм?
2. В чем сходство и различие между генной технологией, технологией рекомбинантных ДНК и методами генетической инженерии?
3. Назовите принципиальные этапы получения трансгенных растений.
4. Какой ген называется целевым?
5. Как выделяют интересующих генного инженера ген их живого организма?
6. Зачем получают кДНК копию гена?
7. Каким методом можно синтезировать целевой ген?
8. Что такое процесс трансформации?
9. Почему говорят, что *Agrobacterium tumefaciens* – это природный генный инженер?
10. Что такое Ti-плазмида? Что такое T-ДНК?
11. Можно ли с помощью *A. tumefaciens* трансформировать однодольные растения?
12. Почему инфицирование растений с помощью *Agrobacterium* в природных условиях сопровождается образованием опухоли (галла)?
13. Какие методы прямой трансформации растений вы знаете?
14. Что такое трансплазмидные расщепления?
15. Каков ежегодный прирост площадей, занятых посевами трансгенных сортов с/х культур?
16. Какие виды с/х культур разрешены для коммерческого выращивания?
17. Какова доля площадей, занятых трансгенными растениями, приходится на сорта, устойчивые к гербицидам (к листогрызущим насекомым)?
18. Существуют ли коммерческие сорта с/х культур, устойчивые к повреждающим абиотическим факторам?
19. Можно ли трансгенные растения использовать для очистки окружающей среды от загрязнения?
20. Что такое съедобные вакцины?
21. Каковы фундаментальные основы существования реальных и потенциальных рисков при выращивании и использовании трансгенных организмов?
22. Что такое преютропный эффект встроенного трансгена?
23. Изменяется ли стабильность "работы" генома в результате процесса трансформации?

Тема 1. Биобезопасность генно-инженерной деятельности

Биобезопасность – это система мероприятий, направленных на предотвращение или снижение до безопасного уровня неблагоприятных воздействий ГМО на здоровье человека и окружающую среду при осуществлении генно-инженерной деятельности.

Международная структура [биобезопасности](#) и структура биобезопасности отдельных государств включает в себя: 1) законодательную базу, регулирующую генно-инженерную деятельность (ГИД); 2) систему, контролирующую соблюдение законодательства в области ГИД; 3) систему профессиональной оценки рисков и мотивированного принятия решений; 4) механизм взаимодействия с общественностью по вопросам принятия решений о разрешении ГИД и контроле над их исполнением [\[14\]](#).

Процедура оценки риска должна дать ответы на следующие три вопроса: 1) Что может выйти из строя? (возможность вредного воздействия – фактор риска), 2) Насколько вероятно, что это произойдет? (вероятность, что воздействие осуществится), 3) Какова будет величина последствий, если данное событие случится (масштаб последствия этого вредного воздействия) [\[14\]](#). В соответствии с действующими международными правовыми документами [\[15\]](#) целью процедуры оценки риска ГИД является идентификация всех возможных вредных для здоровья человека и окружающей среды прямых и непрямых, немедленных и отдаленных воздействий ГМО; оценка вероятности осуществления данных воздействий в рамках рассматриваемой ГИД и размера ущерба здоровью человека окружающей среде при допущении, что они осуществляются [\[14\]](#).

Рассмотрим далее доступные научные аргументы, позволяющие считать ГМО и полученные из них продукты опасными или потенциально опасными для человека и среды его обитания до тех пор, пока не будет доказано обратное. Все нежелательные риски, ожидаемые при возделывании и потреблении генетически модифицированных культур, можно условно разбить на пищевые, экологические и агротехнические [\[16, 17, 18, 19, 20, 21, 22\]](#).

Тема 2. Пищевые риски от употребления ГМО и полученных из них продуктов

Возможные негативные влияния на организм человека и животных, связанные с употреблением [ГМО](#), можно разбить на пять основных групп:

1. непосредственное действие токсичных и аллергенных трансгенных белков ГМО на человека и других теплокровных;
2. риски, опосредованные плейотропным действием трансгенов и кодируемых ими белков на "работу" генома и метаболизм растений;
3. риски, опосредованные накоплением гербицидов и их метаболитов в устойчивых сортах и видах сельскохозяйственных растений;
4. риски горизонтального переноса трансгенных конструкций, в том числе генов устойчивости к антибиотикам, в геном симбионтов для человека и животных бактерий;
5. риски производства биологически активных веществ с помощью ГМО.

Действие токсичных и аллергенных трансгенных белков ГМО на человека и других теплокровных

Токсичным или аллергенным действием обычно обладают трансгенные белки, обеспечивающие устойчивость растений-реципиентов к поражению различными видами насекомых, грибковыми и бактериальными заболеваниями. К этой группе относятся белки, поражающими факторами которых являются: ферментативная активность к компонентам клеточной стенки целевых организмов (например, хитиназы для насекомых и грибов), вызывающая разрушение клеток и гибель целевых организмов;

лектиновая активность (лектины и арселины), приводящая к связыванию белка с определенными рецепторами и мембранными гликопротеинами, а также к слипанию клеток желудочно-кишечного тракта и нарушению работы пищеварительных ферментов насекомых-вредителей; ингибирование функционирования рибосомальных белков (**RIPs-белки**), что ведет к нарушению синтеза новых клеточных полипептидов; ингибирование функций пищеварительных ферментов протеаз и амилаз целевых организмов; формирование сквозных каналов в клеточной мембране (Сгу-протоксины *Bacillus thuringiensis*) и лизис атакованных данными полипептидами клеток; проникновение фрагментов исходного белка через стенки кишечника и связывание с ганглиозидами клеточных мембран (растительные протоксины: уреазы и канатоксины), что приводит к экзоцитозу клеток различных типов, разрушению кровяных пластинок и в конечном итоге к гибели целевого организма.

К настоящему времени накоплено достаточно много данных о значительной токсичности или аллергенности представителей большинства указанных классов белков, проявляемой при их введении перорально. Пищеварительные ферменты, мембранные белки и белки, определяющие межклеточные взаимодействия у эукариот, имеют значительное количество сходных доменов и могут обладать общими свойствами, в том числе и способностью к связыванию вышеупомянутыми белками. Так, при повышении активности соевых уреаз наблюдается снижение индекса перевариваемости корма бройлерными цыплятами, даже несмотря на снижение активности трипсинового ингибитора [23]. Сходным действием на пищеварительные ферменты насекомых, животных и человека обладают растительные ингибиторы протеаз [24,25,26,27]. Ряд растительных ингибиторов альфа-амилазы образует комплексы с ферментами слюнных и поджелудочной желез и достигает максимальной активности при температуре 35–50°C [28, 29]. Некоторые ингибиторы альфа-амилаз хорошо известны как сильные аллергены, например, тетрамерный ингибитор амилазы пшеницы [30].

RIPs-белки, или ингибиторы рибосомальных белков, имеют узкую видовую специфичность к различным рибосомальным белкам. Они удаляют консервативный аденин из 28S-rРНК, что препятствует сборке рибосом и приводит к гибели клеток. К этой группе белков относится рицин, один из сильнейших ядов, и циннамомин, формирующий устойчивость трансгенных растений к насекомым [31]. Поскольку инактивация рибосом происходит в данном случае необратимо, то даже слабая аффинность RIPs к рибосомальным белкам млекопитающих будет приводить к кумулятивному эффекту.

О формировании иммунного ответа на некоторые трансгенные лектины (природные белки, специфично связывающие углеводы) широко известно в связи с сенсационными результатами опытов доктора А. Пуштаи (Исследовательский институт Рауэтт, Великобритания) [32,33,34]. Высокие пищевые риски при использовании лектинов были подтверждены и в других исследованиях. Так, лектин нарцисса, обладающий ярко выраженными свойствами инсектицида, является мутагеном, причем наиболее сильное мутагенное действие установлено на культурах лимфоцитов человеческих эмбрионов [35]. Проводимые работы с трансгенными инсектицидными лектинами бразильского ореха *Bertholletia excelsa* были прекращены в связи с их высокой аллергенностью [36, 37].

Показано также, что, например, трансгенная соя, устойчивая к гербициду раундапу (глифосат), может вызывать аллергию у людей. Сильными аллергенами оказались плоды трансгенного растения папайи, устойчивого к одному из вирусных заболеваний. Трансгенная кукуруза сорта StarLink®, синтезирующая Vt-токсин (Сгу9С), разрешена к использованию лишь в качестве кормовой культуры [38] по причине ее высокой аллергенности. В результате неконтролируемого переопыления данный признак был передан растениям пищевых сортов. Известен случай, когда урожай гибридных растений был использован для получения пищевых продуктов, это вызвало громкий скандал, который разгорелся в 2000–2001 гг. Есть многочисленные данные, что аллергенами являются Сгу-белки, гены которых переносят в растения для защиты от листогрызущих насекомых, например от колорадского жука [39, 40].

Популярны трансгенные конструкции на основе ферментов группы хитиназ, которыми трансформированы различные сорта риса [41,42,43], картофеля [44, 45], пшеницы [46] и других культур. В то же время хорошо известны так называемые латексные или банановые аллергии, главным аллергеном в которых выступают хитиназы авокадо, бананов и каштана [47, 48].

Таким образом, характеристикам трансгенных белков, обладающих инсектицидной активностью, необходимо уделять особо пристальное внимание, поскольку примерно половина патогенез-зависимых белков растений (PR-proteins) являются аллергенами [49]. Увеличение их содержания в устойчивых к заболеваниям трансгенных сортах растений сопряжено с прямым риском повышения аллергенности продуктов питания, изготовленных на основе этих сортов.

Интересные данные были получены при проведении сравнительного анализа частоты заболеваний, связанных с качеством продуктов питания в США и Скандинавских странах. Население этих стран имеет высокий уровень жизни, качественно близкую продуктовую корзину, сопоставимые медицинские услуги. Оказалось, что за несколько последних лет в США в 3–5 раз частота пищевых заболеваний была выше, чем в странах Скандинавии. Единственное существенное отличие в качестве питания – активное употребление в пищу населением США генетически модифицированных продуктов и их практическое отсутствие в рационе народов Скандинавии. В России до появления импортных генетически модифицированных продуктов, по данным отечественных аллергологов, уровень аллергических заболеваний был в 5–7 раз ниже, чем в США. За последние годы эта разница практически нивелировалась. Представленные косвенные данные позволяют предполагать, что повышение уровня аллергических заболеваний, связанных с пищей, обусловлено увеличением в пищевом рационе доли генетически модифицированных продуктов.

Серьезную опасность представляют детские аллергические заболевания – экссудативный диатез и нейродермит, имеющие особый статус в аллергологии. Иммунная система человека окончательно формируется только к 12–14 годам, а кишечная флора, адаптированная к “взрослой” пище – к трем годам. Слизистая оболочка пищеварительного тракта ребенка обладает повышенной проницаемостью как для питательных веществ, так и для патогенов. Детский организм остро реагирует на “чужие” белки, к которым он не адаптирован, отсюда – особенно высокая чувствительность к аллергенам. Основываясь на многочисленных наблюдениях, фармакологи рекомендовали полностью исключить ГМО из состава детского питания [50]. С 2004 года практически во всех странах Евросоюза использование ГМО в продуктах детского питания, предназначенного для детей до четырех лет, запрещено.

Особую угрозу для здоровья человека представляют потенциальные негативные эффекты генетически модифицированных продуктов при их длительном и неконтролируемом употреблении. В настоящее время известны лишь некоторые данные по влиянию длительного употребления таких продуктов питания, например трансгенного картофеля, на организм животных. Так, доктором А. Пуштаи было экспериментально продемонстрировано, что длительное скормливание животным трансгенного картофеля вызывает у них серьезные изменения внутренних органов, в частности слизистой оболочки кишечника, частичную атрофию печени и изменение тимуса. Эти данные были опубликованы после проведения экспериментов и подтверждения заявленных результатов старшим патологом университета Абердина С.В. Ивеном [32]. Результаты, полученные Ивеном, вызвали бурную дискуссию и сомнения, однако позднее они были подтверждены на культурах клеток крови человека и колоректальной карциномы [51,52].

Подобные же данные по влиянию трансгенного картофеля на организм животных получил академик В.А. Тутельян, директор Института питания РАМН, по мнению которого “существует определенный риск для здоровья человека при употреблении в пищу продуктов, полученных путем генной инженерии. В каждом конкретном случае однозначно предсказать конечный результат не представляется возможным” [53]. В.А. Тутельян экспериментально продемонстрировал негативное влияние на крыс трансгенного картофеля, устойчивого к колорадскому жуку. Животным скормливали вареный картофель, нормальный или генетически модифицированный (сорт Рассет Бербанк Ньюлиф, компании “Монсанто”), в течение 1 и 6 месяцев. Включение в рацион крыс трансгенного картофеля на протяжении 6 месяцев “приводило к статистически достоверному снижению концентрации гемоглобина и среднего содержания гемоглобина в одном эритроците”. Изменения печени у крыс наблюдались в три раза чаще, чем у животных, которым скормливали контрольный картофель, измененные гепатоциты обнаруживались во всех долях печени. Одновременно отмечались признаки жировой дистрофии, статистически достоверное увеличение

абсолютной массы почек, чаще встречались макроскопические изменения органов, которые авторы исследования отнесли к разряду интеркутентных заболеваний.

И.В. Ермаковой (Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН) на крысах было показано, что при добавлении в корм ГМ-сои, у подопытных животных выявлены существенные изменения в поведенческих реакциях (возрастание агрессивности, потеря материнского инстинкта, поедание приплода), повышенная смертность среди приплода в первом поколении, отсутствие второго и третьего поколений, сокращение числа животных в помете, существенные патологические изменения по морфологии и гистологической структуре репродуктивной и мочевыводящей систем.

Об опасности ГМ-кукурузы MON863 говорят результаты проверки биологической безопасности, проведенной специалистами "Монсанто". Эти результаты стали доступны только по решению суда. В ходе анализа этих результатов, полученных специалистами компании "Монсанто", французским экспертам удалось установить, что в экспериментальной группе самок наблюдалось резкое увеличение показателей как веса печени, так и общего веса тела, зафиксировано нарушение функции почек, повышение содержания сахара и жиров в крови, причем уровень жиров повышался на 40%. В отличие от самок у самцов происходил резкий сброс весовых характеристик, что в первую очередь отразилось на функции печени и почек. Так, при детальном исследовании измененных почек и анализе ионного состава мочи у экспериментальных животных, оказалось, что в результате возникших патологических изменений, уровень фосфора и натрия в моче у мужских особей понизился на 30%. Это может иметь прямую связь с установлением диагноза нефропатия.

Самым последним свидетельством существования опасных медико-биологических рисков, привносимых ГМ-продуктами, стали исследования группы ученых из Комитета по независимой информации и исследованиям в области генной инженерии (Париж), Института биологии Университета Кайена (Кайен), Университета Руана (Мон-Сент-Эньян), проводивших независимую проверку представленных данных по безопасности ГМ-кукурузы MON863 американской компании "Монсанто", реализуемой на европейских и мировых рынках. На коммерческой основе эта кукуруза выращивается в Соединенных Штатах и Канаде с 2003 г. Ее одобрили для импорта и использования в продуктах питания в таких странах как Япония, Корея, Тайвань, Филиппины и Мексика. После длительных дебатов, в Европе кукуруза MON863 получила одобрение Европейской Комиссии для использования в качестве корма для животных в 2005 г. и в 2006 г. – для пищевых целей. В России же трансгенная кукуруза MON863 была одобрена к использованию еще в 2003 году (свидетельство о регистрации № 77.99.02.916.Г.000010.04.03). По мнению французских ученых, в отношении трансгенной кукурузы MON863, выявленные патологические отклонения у животных *никак нельзя назвать "отклонением в пределах физиологической нормы"*, как заключается в отчете по биологической безопасности корпорации "Монсанто", а продукт, одобренный для питания населения в Европейском Союзе, впрочем, также как и для других жителей планеты, в том числе и России, оказался токсичным для печени и почек. "Полученные результаты свидетельствуют о необходимости проведения дополнительных исследований и подтверждают необходимость введения немедленного запрета на использование этой линии кукурузы в пищу человека и животных", – заявил руководитель исследовательской группы профессор Жиль-Эрик Сералини (Gilles-Eric Seralini).

Риски, опосредованные плейотропным действием трансгенов и кодируемых ими белков на "работу" генома и метаболизм растений

Однако основные риски использования ГМ-продуктов питания кроются не столько в трансгенном белке, сколько в непрогнозируемом изменении клеточного метаболизма растения в процессе его трансформации, т.е. встраивания трансгена в растительный геном. Растения в норме синтезируют десятки тысяч различных веществ, а с учетом того, что в отличие от всех других живых организмов растения имеют так называемый "вторичный метаболизм" – сотни тысяч, невозможно предугадать какие именно характеристики могут измениться в результате произошедшего трансформационного события. Одним из особенно опасных для человека последствий употребления в пищу [ГМО](#) может оказаться потребление трансгенной растительной продукции, где в ответ на нарушение метаболизма при введении

чужеродных генов могут накапливаться полиамины. Полиамины – органические азотсодержащие основания высокой биологической активности встречаются как нормальные продукты обмена веществ растений в микроколичествах, близких к гормональным. Однако при нарушении обмена веществ в неблагоприятных условиях окружающей среды (засуха, засоление, действие техногенных факторов в городах и вблизи промышленных предприятий) возникает опасность их накопления в клетках до токсических концентраций. Особенно опасна аккумуляция путресцина и кадаверина, которые впервые были открыты еще в 1885 г. как продукты разложения белка гнилостными бактериями и названы “трупными” ядами. Они вызывают отравление, образование язв на коже и слизистых оболочках органов, способствуют ускоренному развитию раковых опухолей. Полиамины в токсичных количествах могут оказываться в организме человека как в результате потребления некачественных продуктов животного происхождения, так и с растительной пищей. Одной из особенностей ядовитых растений (белладонна и др.) и грибов (мухоморы, бледная поганка) является высокое содержание в них путресцина и кадаверина. Исследования последних лет показали, что при активации экспрессии [генов](#), отвечающих за образование полиаминов, обычно употребляемые в пищу растения или их плоды (в частности, томаты) содержали избыточные количества этих соединений, о чем свидетельствовали образующиеся на листьях некрозы.

Близкими к описываемым негативным пищевым эффектам являются риски, обусловленные приобретением ГМО вследствие самого процесса трансформации, способности синтезировать токсичные для человека метаболиты или же потерей способности генетически модифицированного организма синтезировать важные для человека биологически активные соединения. Классическим примером подобного типа негативных эффектов (хотя, надо сказать, имеется и иная трактовка рассматриваемого случая) служит приобретение генетически модифицированной бактерией – суперпродуцентом триптофана, используемого в качестве пищевой добавки, – способности синтезировать в следовых количествах близкое по структуре триптофану (но уже токсичное!) соединение 1,1'-этилен-*бис*(триптофан). Первыми жертвами этого генетически модифицированного организма и заложниками американской системы оценки биобезопасности стали граждане США. Регулярное употребление ими пищевой добавки, содержащей данное токсичное соединение, приводило к очень тяжелому заболеванию, называемому синдромом эозинофилии-миалгии, которое характеризуется изнурительными мышечными болями, спазмами дыхательных путей и может даже привести к смерти [\[54\]](#).

Риски, опосредованные накоплением гербицидов и их метаболитов в устойчивых к гербицидам сортах и видах сельскохозяйственных растений

Возделывание сортов сельскохозяйственных растений, устойчивых к действию пестицидов, дает заметный экономический эффект – ручная или машинная прополка заменяется быстрой обработкой полей пестицидами, приводящей к гибели сорняков, но не выращиваемых трансгенных сортов. Для придания растению повышенной устойчивости к такому распространенному гербициду как глифосат, используют конструкции на основе одного из двух генов: EPSPS (5-енолпирувилшикамат-3-фосфат синтаза, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) и GOX (глифосат оксидоредуктаза). Сами по себе эти белки не являются ни аллергенами, ни токсинами.

Для оценки безопасности пищевого применения таких сортов необходимо знать, какова способность этих растений к накоплению ядовитых для человека и животных химикатов, а также предстоит выяснить, не происходит ли аккумуляция других ядовитых метаболитов или аллергенов в результате плейотропных эффектов трансгенных конструкций. Следует иметь в виду, что практически все пестициды токсичны для человека. Глифосат, например, является канцерогеном, вызывая лимфому [\[55, 56\]](#). Имеются данные, что при обработке глифосатом устойчивых к нему сортов сахарной свеклы растения накапливают токсичные метаболиты глифосата [\[57\]](#). Более того, показана способность репродуктивных тканей хлопчатника, устойчивого к глифосату, аккумулировать чрезвычайно высокие (смертельные) концентрации этого гербицида – от 0,14 до 0,48 мг/кг сухого вещества [\[58\]](#). Для сравнения отметим, что допустимые дозы

остаточного глифосата и его токсичных метаболитов в пищевых продуктах в США составляют 0,02 мг/кг сухого вещества, т.е. в 7–24 раз ниже.

Другим широко распространенным гербицидом является атразин. Устойчивость культурных растений к его действию обеспечивается встраиванием в геном гена цитохрома CYP1A1, представителя класса P-450 цитохромов [59, 60]. Вместе с тем известно множество работ, посвященных канцерогенным, иммунотоксичным и эмбриотоксичным свойствам цитохрома P-450 [например, 61, 62].

К вышесказанному о потенциальной опасности трансгенных сортов культур, устойчивых к гербицидам, следует добавить, что, как правило, информация о наличии остаточных количеств гербицидов в этих растениях производителями не предоставляется, хотя пищевой риск от аккумуляции этих токсичных химикатов в подобном сырье огромен.

Риски горизонтального переноса трансгенных конструкций, в том числе генов устойчивости к антибиотикам, в геном симбионтов для человека и животных бактерий

Вероятность встраивания трансгенной конструкции из растения в геном млекопитающих и человека ничтожно мала. Клетки высших эукариот имеют несколько изолирующих барьеров, эффективно препятствующих горизонтальному переносу генов. Даже в случае такого переноса клетка, как правило, не размножается, находясь в терминальной стадии дифференцировки. Перенос конструкции в половые клетки вообще невероятен, и это очевидно, если учесть, что гемато-тестикулярный барьер непроницаем для крупных молекул. Но не следует забывать, что человек имеет эндосимбионтов, в частности, кишечную бактериальную флору (*Escherichia coli*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. bifidus*, *L. bulgaricus* и *L. caucasicus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium* и др.). Известно, что бактерии способны к трансформации, причем трансформации подвержены как кольцевые, так и линейные формы ДНК с инвертированными повторами [63]. Фрагменты трансгенной ДНК идентифицированы в содержимом кишечника, крови и молоке коров и свиней, питающихся ГМО [64, 65].

В настоящее время в трансгенных конструкциях, как правило, используются в качестве маркерных последовательностей гены устойчивости к антибиотикам, которые позволяют генному инженеру производить отбор генетически модифицированных клеток и растений [66, 67]. При трансформации ими симбионтов или патогенных для человека и животных бактерий трансгенные конструкции могут "включиться" в состав бактериального генома, что приведет к формированию устойчивости к антибиотикам или самих симбионтов бактерий, или патогенной микрофлоры. Результатом использования такого антибиотика при заболевании будет быстрый отбор устойчивых к нему бактерий, вследствие чего антибиотик либо начнет перерабатываться непосредственно в кишечнике, не достигая целевых патогенных бактерий, либо не будет оказывать влияния на резистентные к нему патогены. Основные бактерии-симбионты живут в толстой кишке, и риск метаболизма антибиотиков бактериями кишечной флоры касается, в основном, плохо всасывающихся антибиотиков, например неомидина и канамицина.

Трансгенные конструкции, несущие в качестве маркерного признака устойчивость к таким препаратам, ранее широко использовались биотехнологическими компаниями. В то же время было установлено, что перенос устойчивости к антибиотикам осуществляется и от патогенных бактерий *Acinetobacter baumannii* к *E.coli* и *Proteus mirabilis* [68]. Действительно, эффективная бактериальная система переноса генов устойчивости к антибиотикам представлена IncQ-подобными плазмидами, передающимися между *E.coli*, *Acinetobacter sp.* и другими штаммами бактерий [69]. Вероятность формирования рекомбинантных плазмид, несущих гены устойчивости из конструкций к антибиотикам, практически не изучена.

Вызывает беспокойство и возможность рекомбинации между последовательностью 35S-промотора и близкими последовательностями геномов некоторых вирусов, в том числе вирусов человека. До сих пор не проведено детальных экспериментальных исследований этого вопроса [70]. В последние годы были получены результаты, подтверждающие возможность экспрессии генов, находящихся под 35S-промотором, в клетках самого разного происхождения, в том числе и человека [71]. В отношении

экспрессии генов в клетках человека авторы делают вывод, что низкий уровень экспрессии генов, находящихся под этим промотором, снижает риск отрицательного воздействия в случае переноса трансгенной конструкции в клетки млекопитающих. Однако методика проведения этих экспериментов, по которой производилась оценка экспрессии маркерного гена на невстроенной в геном экстрахромосомной конструкции (т.е. авторы вводили в клетки плазмиды, содержащие испытываемую конструкцию, и проводили оценку экспрессии репортерных генов с этих плазмид, не добиваясь их встраивания в геном), предполагает значительные возможности изменения активности экспрессии, а следовательно, и проявления потенциального эффекта, в том числе и негативного, после встраивания генов. При низком уровне экспрессии конструкций эффект не наблюдается, а при усилении экспрессии он, как правило, непредсказуем, если не проверен экспериментально. Указанные факты еще более усиливают риск непредсказуемых последствий горизонтального переноса трансгенных конструкций.

Критика метода отбора трансформированных культур по устойчивости к антибиотикам привела к тому, что Агентство ООН по стандартизации генетически модифицированных сортов растений не рекомендовало использование репортерных генов устойчивости к антибиотикам для получения новых сортов пищевых культур. Однако в большинстве случаев это требование биотехнологическими корпорациями игнорируется. Так, согласно сообщению М. Марли (Mr. Morley) в английском парламенте от 25 июня 2003 г., в Англии выращиваются сорта трансгенных растений, несущие гены устойчивости к канамицину, неомоцину, ампициллину, амоксицину и гигромицину [72].

Риски производства биологически активных веществ с помощью ГМО ("фармагеддон")

В настоящее время предпринимаются активные попытки создания трансгенных сортов растений, способных к интенсивному синтезу биологически активных веществ, в частности, вакцин, гормонов, факторов свертывания крови, индустриальных энзимов, антител человека, контрацептивных белков и подавляющих иммунитет цитокинов – растворимых белков, синтезируемых кроветворными клетками костного мозга и представляющих собой сигнальные полипептидные молекулы иммунной системы. Семейство цитокинов включает интерлейкины, интерфероны, ростовые и колониестимулирующие факторы и хемокины. В связи с этими экспериментами широкое распространение получил термин "фармагеддон" [73]. На полях Калифорнии, где выращиваются пищевые сорта риса, проводятся открытые полевые испытания по созданию трансгенного риса, несущего человеческие белки лактоферрин и лизозим, используемые в фармакологии при энзимотерапии. Американская компания "Эпицит" сообщила о создании и испытаниях сорта кукурузы, вырабатывающего человеческие антитела на поверхностные белки спермы, с целью получения противозачаточных препаратов [74]. Переопыление такого сорта с пищевыми сортами может привести к серьезным региональным демографическим последствиям.

Неконтролируемое введение вакцин в состав пищевых продуктов также несет в себе колоссальные риски. В ходе эмбриогенеза формирующаяся иммунная система "учится" распознавать "свои" белки, не путая их в дальнейшем с "чужими". Белки, экспонируемые клеткам иммунной системы во время эмбриогенеза, запоминаются как "свои". Если белок вакцины в это время попадет в кровоток эмбриона, то родившийся ребенок не сможет вырабатывать иммунитет к данному заболеванию, всегда распознавая данную бактерию или вирус как "свой".

При сборе урожая любой пищевой культуры огромная масса растительных остатков – листья, стеблей и корней остается на полях. Вероятность прямого распространения в почвенных водах белков, входящих в состав растений, низка. Но значительно выше вероятность горизонтального переноса трансгенных конструкций в почвенные и другие бактерии. Кроме этого, существует еще один аспект рисков – это неконтролируемая вакцинация птиц и млекопитающих, обитающих в данной местности. Если трансгенные вакцины направлены против бактерий и вирусов, имеющих местных животных в качестве переносчиков (или бактерий, родственных болезнетворным бактериям человека), то такая вакцинация спровоцирует мощный отбор среди патогенов и формирование суперинфекций.

Тема 3. Экологические риски

Ввиду малой изученности негативных воздействий [ГМО](#) на живые системы экологические последствия коммерческого использования трансгенных растений на функционирование и стабильность природных и агробиоценозов остаются непредсказуемыми. Можно ожидать, что редкие природные виды, имеющие узкую приспособленность, исчезнут, появятся особые сорняки, невосприимчивые к гербицидам, резко сократится численность птиц и насекомых, обитающих вокруг “трансгенных” полей. Проблема регуляции экологических рисков стоит особенно остро. Все современные национальные и международные законодательства учитывают лишь фактически подтвержденное негативное действие новой технологии на природу, что в отношении ГМО означает необратимые изменения окружающей среды.

В настоящее время можно обсуждать следующие пять групп экологических рисков при коммерческом использовании ГМО:

1. неконтролируемый перенос трансгенных конструкций вследствие переопыления с дикорастущими родственными и предковыми видами, что приведет к снижению биоразнообразия дикорастущих предковых форм культурных растений и видов животных, формирование так называемых суперсорняков;
2. риски неконтролируемого горизонтального переноса трансгенных конструкций в почвенную микрофлору;
3. негативное влияние на биоразнообразие через поражение токсичными трансгенными белками нецелевых насекомых и почвенной микрофлоры и нарушение трофических цепей;
4. риски быстрого появления устойчивости к используемым трансгенным токсинам у насекомых-фитофагов, бактерий, грибов и других вредителей в результате отбора на признак устойчивости, высокоэффективного для этих организмов;
5. риски появления новых, более патогенных штаммов фитовирусов при взаимодействии фитовирусов с трансгенными конструкциями, проявляющими локальную нестабильность в геноме растения-хозяина и тем самым являющимися наиболее вероятной мишенью для рекомбинации с вирусной ДНК.

О появлении суперсорняков в результате развития устойчивости сорных растений к гербицидам говорят сообщения из Канады. Перекрестное опыление генетически модифицированного рапса зафиксировано на расстоянии около 5 км от опытного участка. В случае насекомоопыляемых растений это расстояние увеличивается до 10–11 км. В результате перекрестного опыления трансгенных сортов рапса с дикорастущими родственными видами появились гибриды, устойчивые к гербициду Roundup Ready, которые реально превратились в суперсорняки [\[75, 76\]](#). В Мексике и Гватемале – на родине кукурузы, а также в Китае и Индии в местах произрастания предковых форм современного риса за счет неконтролируемого переопыления дикорастущих видов с трансгенными растениями, выращиваемыми на экспериментальных полях, природные популяции предковых форм этих растений и традиционные местные сорта уже “насыщены” трансгенами [\[77, 78\]](#). Вполне естественно, что эти данные подвергались острой критике со стороны лабораторий, финансируемых крупными биотехнологическими корпорациями [\[79, 80\]](#). На страницах журнала “Science” развернулась бурная дискуссия по данному вопросу, и прозвучал призыв к повторным и независимым экспертным оценкам биоразнообразия природных популяций. Специалисты из Национального института экологии (Мексика) и независимых научных групп в 2002–2003 гг. подтвердили значительное засорение аборигенных сортов кукурузы, по крайней мере в трети фермерских хозяйств девяти штатов Мексики [\[81\]](#). Трудно сказать, как текущая инвазия (заражение) отразится на дикорастущих видах в будущем, но биоразнообразии традиционных сортов уже в настоящее время необратимо подорвано.

Сторонники широкого коммерческого использования ГМО обычно голословно утверждают, что в отсутствие отбора по новому признаку генетически модифицированный организм “растворится” в природной популяции и не нанесет ей никакого ущерба. Однако данные по трансгенным особям рыб семги

(*Salmo salar*) и медаки (*Oryzias latipes*) опровергают эти рассуждения. Известно, что генетически модифицированная семга, выращиваемая на экспериментальных фермах в США, обладает уникальным свойством быстрого развития и достижения особенно крупного размера, в несколько раз превышающего норму, за счет конститутивного синтеза гормона роста [82]. Самцы, обладающие наиболее крупными размерами, имеют значительное преимущество при размножении, и поэтому генотип, определяющий это преимущество, быстро насыщает популяцию. Потомство таких быстро растущих самцов в условиях, близких к природным, менее жизнеспособно, чем потомство самцов дикого типа. Проведены лабораторные эксперименты с внедрением аналогичной конструкции в искусственную популяцию медаки [83]. В ходе экспериментов были выявлены изменения компонент приспособленности у трансгенных особей, в том числе снижение выживаемости потомства и рост конкурентоспособности самцов. Применив математическое моделирование, исследователям удалось показать эффективную интрогрессию (самопроизвольный перенос) конструкции и последующее резкое сокращение популяции вплоть до ее вымирания всего за шесть поколений, даже при условии незначительного попадания в нее трансгенных особей (менее 0,1% от численности популяции). Если учесть ежегодные выбросы с промышленных ферм по производству лосося (до 100000 особей) в природную среду, становится очевидным, что такой риск абсолютно реальный, как для данного вида, так и для всей локальной экосистемы [82].

Аналогичная ситуация для растений в принципе возможна при условии селективного преимущества трансгенных сортов в диких условиях. Такие результаты уже получены для энтомоцидных сортов рапса и подсолнечника, умеющих "убивать" насекомых-вредителей и имеющих в их присутствии преимущество в жизнеспособности по сравнению с дикими формами [84, 85]. Другой возможный механизм интрогрессии трансгенной конструкции в природные популяции – перерождение в сорняк культурного растения, имеющего сходные характеристики с дикорастущими предковыми формами, под действием плейотропных эффектов конструкции [86]. Работы по оценке этих рисков, в первую очередь у зерновых культур, имеющих такие характеристики, как отмечено в [87], отсутствуют.

Принципиальная возможность трансформации бактерий трансгенными конструкциями из растительных геномов была показана в экспериментах с почвенными бактериями. Первые результаты по оценке рисков горизонтального переноса трансгенных конструкций от растений к почвенным бактериям были опубликованы в 1994 г. [88, 89]. За истекший период полевые эксперименты не выявили достоверно подтвержденных случаев горизонтального переноса конструкций к бактериям, за исключением оценок тотальной ДНК, выделенной из почвы. Но с помощью этих экспериментов нельзя точно доказать инкорпорацию (включение) трансгенов в геном бактерии [90]. Анализируя результаты полевых испытаний, авторы [90] приводят ряд убедительных доказательств несовершенства применяемых методик: исследователям доступны только 10% бактериальной флоры и частота рекомбинационных событий может требовать не учитываемого исследователями дополнительного селекционного отбора трансформированных штаммов. В экспериментальных условиях была продемонстрирована возможность переноса трансгенов от растений к бактериям [91, 92]. Показана также зависимость вероятности перемещения трансгенных конструкций от их гомологии бактериальному геному [93].

Широкое использование генетически модифицированных сортов сельскохозяйственных растений может привести к нарушению системы естественного биологического контроля над насекомыми-вредителями из-за отрицательного воздействия инсектицидных белков, продуцируемых трансгенными растениями, на нецелевые организмы, в том числе на хищных и паразитических насекомых. В обзорах, посвященных этой проблеме, отмечены факты негативного действия Bt-токсинов, продуцируемых трансгенными сортами культур, на насекомых, являющихся естественными врагами сельскохозяйственных вредителей, и на другие нецелевые организмы [87, 94]. Напротив, насекомые-фитофаги на протяжении миллионов лет адаптировались к кормовой базе – растениям, для которых наиболее эффективным инструментом борьбы были различные токсины. Поэтому в арсенале методов формирования устойчивости к токсинам насекомых-вредителей имеется значительный набор механизмов, обеспечивающих быстрое формирование такой устойчивости, в том числе и к токсинам, продуцируемым трансгенными растениями. Американскими и китайскими исследователями показано, что применение Bt-токсина для получения

устойчивых к насекомым растений привело к тому, что некоторые вредители (например, бабочка *Plitela xylyostella*) развились в особые популяции, которые стали невосприимчивы к токсину [87, 95]. Существует опасность негативного влияния токсинов, кодируемых трансгенами, на жизнедеятельность почвенных насекомых и микроорганизмов, а также возможность модификации эпифитотических характеристик природных фитовирусов в результате генетической рекомбинации между трансгенами и генами природных вирусов, приводящей к образованию новых вирулентных штаммов.

Потенциальные экологические риски от использования генетически модифицированных растений, экспрессирующих Cry-гены, в настоящее время не подвергаются сомнению. Даже специалисты компании "Монсанта" (США) не отрицают, что массовое внедрение Bt-сортов растений ускоряет появление насекомых, устойчивых к токсину. Близкую позицию по данному вопросу занимает и Агентство по охране окружающей среды США (EPA). По мнению сотрудников EPA, введение в культуру растений, синтезирующих белки Cry-генов, может привести и к другим нежелательным последствиям, в частности, к изменению типа питания части вредителей и к их переходу на другие виды растений (цит. по [96]).

Актуальность обсуждаемой проблемы нашла понимание у многих международных организаций и национальных правительств. Так, в Великобритании была сформирована и действовала на протяжении трех лет (до 2003 г.) обширная научная программа FSE (Farm Scale Evaluation), в которую были вовлечены десятки лабораторий из многих национальных институтов и научных центров. Исследования финансировались правительством Шотландии, Английским департаментом продовольствия и сельского хозяйства (DEFRA) и Научным советом по биологии и биотехнологии (BBSRC). В ходе исследований была проведена оценка сельскохозяйственных угодий, занятых как генетически модифицированными, так и традиционными сортами, изучено биоразнообразие агроценозов и окружающих их биоценозов, проведены исследования, касающиеся пищевых рисков и рисков горизонтального переноса. (Результаты исследований публикуются на страницах "Философских трудов Лондонского Королевского общества" и обсуждаются в ежегодных изданиях "GM Science Review".) Получили подтверждение экологические риски использования гербицидо-устойчивых сортов растений, приводящие к достоверному изменению спектра и численности видов, а в ряде случаев – к снижению биоразнообразия био- и агроценозов, специфичного для каждого из изученных сортов [97,98,99]. Данные по влиянию Bt-сортов на биоценозы противоречивы. Работы, проведенные американскими и канадскими исследователями, не показали значительного влияния продуцируемого растением токсина на нецелевой организм или передачу токсина по трофическим цепям [100, 101]. Однако следует иметь в виду, что в этих исследованиях применялись модели действия токсина на единственный нецелевой организм или единственную пищевую цепь, что ставит под сомнение адекватность используемых исследователями моделей. В то же время получены подтверждения гибели нецелевых организмов под влиянием Bt-токсинов [87, 102,103]. На сегодняшний день главный вывод, сделанный британским научным сообществом из проведенного исследования, заключается в необходимости строгой индивидуальной оценки каждой новой генетически модифицированной культуры по всем возможным рискам, связанным с ее коммерческим использованием.

Тема 4. Агротехнические риски

Агротехнические риски тесно связаны с экологическими. Возможный отбор сортов культур, устойчивых к насекомым-вредителям, потенциальное ухудшение качества почв – это те экологические риски, которые прямо ведут к снижению декларируемой производительности самого сорта и могут влиять на общую производительность хозяйства.

Остановимся на некоторых из пяти основных агротехнических рисков:

1. риски непредсказуемых изменений нецелевых свойств и признаков модифицированных сортов, связанные с плейотропным действием введенного гена;
2. снижение сортового разнообразия сельскохозяйственных культур вследствие массового применения монокультур ГМО;

3. риски отсроченного изменения свойств через несколько поколений, связанные с адаптацией нового гена генома и с проявлением как новых плейотропных свойств, так и изменением уже декларируемых;
4. неэффективность трансгенной устойчивости к вредителям через несколько лет массового использования данного сорта;
5. возможность использования терминаторных технологий для монополизации производства семенного материала.

Выше было описано явление плейотропного действия гена и его связь с пищевыми рисками. Сходная ситуация возникает и в отношении агротехнических рисков. Попытка защитить картофель от грызущих насекомых (например, колорадского жука) методами генетической инженерии приводит к тому, что защищенные трансгенные растения неожиданно становятся уязвимыми для других вредителей. Особенно опасно снижение устойчивости клубней трансгенного картофеля к фитопатогенам при его зимнем хранении. Информация, поступающая из некоторых российских научных организаций, свидетельствует о том, что клубни устойчивого к колорадскому жуку картофеля имеют пониженную устойчивость к фитофторозу. Иными словами, сокращение потерь урожая на 8–10%, которые дает защита трансгенного картофеля от колорадского жука с помощью Vt-токсина, с избытком перекрывается потерями от гниения генетически модифицированных клубней в процессе их хранения [104, 105]. Более того, по данным В.А. Тутельяна, содержание нитратов в трансгенном картофеле практически вдвое выше по сравнению с традиционным сортом, а содержание витамина С и бета-каротина, напротив, ниже [53].

Неожиданные проявления обнаруживаются не только у экспериментальных видов культур, но и у растений, уже получивших коммерческий статус. Так, было обнаружено, что у устойчивого к гербицидам вида сои, выведенного компанией "Монсанто", в жарких климатических условиях стручки самопроизвольно раскрывается, что приводит к потере 40% урожая. Известны также случаи, когда плоды трансгенных растений существенно теряли свои вкусовые качества. Накопление лигнина от полутора до двукратного уровня относительно нормы было выявлено для десяти гибридных линий Vt-кукурузы, модифицированной геном токсина Cry1Ab [106]. Это приводило к уменьшению интенсивности микробной биодеградации растительных остатков Vt-кукурузы в почве и существенно снижало общую метаболическую активность почвы. С накоплением лигнина существенно снижалась и пищевая ценность силосной массы, что также не декларируется производителем при продаже генетически модифицированных сортов кукурузы.

Серьезной агротехнической проблемой для сельскохозяйственного производства, использующего генетически модифицированные сорта растений, может стать эпигенетическое молчание трансгенов, реализуемое на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях. В первом случае происходит инактивация промоторов трансгенов таким образом, что ингибируется их транскрипция, а во втором случае транскрипция осуществляется, но синтезированная в ядре мРНК деградирует в цитоплазме. Интродуцированные гены могут становиться эпигенетически молчащими сразу, а также после короткого и даже длительного периода экспрессии. Во многом такое свойство трансгенов обусловлено как непредсказуемой интеграцией рекомбинантных молекул ДНК в растительный геном, так и неопределенным заранее их количеством [107].

Монопольное владение семенными и химическими корпорациями генетически модифицированными растениями и семенами, а также химикатами, приводит фермера или даже в целом государство – покупателя трансгенных семян – к сверхзависимости от производителя посевного материала. К тому же по существующим положениям фирма продает семена на условиях, по которым покупатель не может оставлять часть своего урожая для посева на следующий год. В противном случае он нарушит патентное право и будет подвергнут судебному преследованию. К тому же, согласно юридическому договору, который фермер должен подписать с компанией, последняя не несет никаких гарантийных обязательств, и вся ответственность за любые неблагоприятные последствия ложится на фермера. Эта ситуация усугубляется тем, что в настоящее время отсутствуют технологии для предотвращения загрязнения традиционных сортов трансгенами.

Особое неудобство и даже опасность для покупателя представляют так называемые терминаторные технологии, когда продаваемые биотехнологической фирмой семена дают лишь один урожай (одно поколение, F1). Попытка использовать часть урожая для посева на следующий год приводит к тому, что семена или не прорастают, или гибнут сразу после прорастания. Все это делает любого покупателя семян абсолютно зависимым от компаний, производящих семена генетически модифицированных растений и пестициды.

Следует также отметить, что начало коммерческого выращивания генетически модифицированных сортов растений может привести к фактической утрате государством, в частности Россией, статуса потенциального производителя экологически чистой (органической) продукции и ее поставщика на европейский рынок. По оценкам некоторых западных экспертов, объем рынка органической продукции в настоящее время составляет около 100 млрд долл. США в год. Существует очень большая вероятность того, что коммерческое выращивание генетически модифицированных сортов на территории России будет означать потерю этой возможности.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПРОВЕРКИ

Часть III. Реальные и потенциальные риски при использовании генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов

1. Что такое биологическая безопасность?
2. Какова международная структура биобезопасности?
3. Какова цель процедуры оценки риска генно-инженерной деятельности?
4. Какие группы рисков Вам известны при выращивании трансгенных растений и использовании полученных из них продуктов?
5. Что представляют собой пищевые риски при использовании трансгенных продуктов?
6. Известны ли факты о токсическом и аллергенном воздействии трансгенных продуктов на животных и организм человека?
7. Как Вы оцениваете результаты экспериментов А. Пуштаи и В.А. Тутельяна о влиянии трансгенного картофеля на животных?
8. Аллергенны ли Bt-токсины?
9. Возможны ли нарушения вторичного метаболизма растений в результате трансформации?
10. Почему трансгенные растения содержат гены устойчивости к антибиотикам?
11. Существует ли риск передачи генов устойчивости к антибиотикам в геном симбионтных для человека бактерий?
12. В чем заключаются риски производства биологически активных веществ с помощью генетически модифицированных растений?
13. В чем заключаются экологические риски при коммерческом использовании трансгенных организмов?
14. Что такое суперсорняки?
15. Возможно ли негативное воздействие трансгенных организмов на стабильность природных популяций?
16. Возможно ли появление устойчивых популяций вредителей при выращивании трансгенных Bt-культур?
17. В чем заключаются агротехнические риски при коммерческом выращивании трансгенных сортов с/х культур?
18. Что такое терминаторные технологии?

Тема 1. Правовое регулирование биобезопасности ГМО в международном праве

Риски, связанные с производством и потреблением биотехнологической продукции, начали обсуждаться в научной литературе еще с 1983 г., а уже к середине 1980-х гг. в промышленно развитых странах вырабатывается государственная политика в области практического применения биотехнологий. Аргументы сторонников соблюдения принципов предосторожности получили экспериментальное подтверждение, что заставило правительства многих стран усилить контроль за производством, распространением и применением ГМО, внести коррективы в сельскохозяйственную политику и отказаться от производства ряда сортов ГМО и вывело вопросы обеспечения биобезопасности в системе международных отношений на первые роли. Принимая во внимание потенциально возможный ущерб для окружающей среды и здоровья человека, широкое использование современных биотехнологий потребовало правового урегулирования этой достаточно новой сферы межгосударственных отношений.

Впервые вопросы безопасности генно-инженерной деятельности оказались в центре внимания крупных международных организаций уже с середины 80-х гг. XX в. На Венской встрече государств – участников Совещания по безопасности и сотрудничеству в Европе (ныне ОБСЕ) в 1986 г. было положено начало деятельности Европейской экономической комиссии ООН (ЕЭК ООН), призванной разработать руководящие принципы безопасности в области биотехнологии. На XXI сессии ЕЭК ООН (сентябрь 1994 г.) были обобщены материалы по биобезопасности (законы, постановления, инструкции и т.д.), представленные правительствами 30 государств, а также рядом международных организаций [108]. При финансовой поддержке Организации экономического сотрудничества и развития (OECD) эксперты государств-членов подготовили два важнейших доклада – о безопасности при работе с рекомбинантными ДНК [109] и о планировании и проведении экспериментов при контролируемом высвобождении генетически измененных растений и микроорганизмов в окружающую среду [110]. Важной вехой в процессе разработки международных руководящих принципов безопасности в биотехнологии явилась публикация “Кодекса добровольного поведения при высвобождении организмов в окружающую среду” [111], подготовленного группой экспертов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) и различных организаций ООН – по промышленному развитию (ЮНИДО), продовольственной и сельскохозяйственной организации (ФАО) и Программы по окружающей среде (ЮНЕП). Работа экспертов была продолжена и после нескольких лет переговоров после окончательной доработки завершилась принятием в июне 1992 г. Конвенции о биологическом разнообразии, в декабре 1995 г. в Каире Международных руководящих принципов техники безопасности в области биотехнологии [112] и в январе 2000 г. в Монреале протокола, известного как Картахенский протокол по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии. Этот протокол предполагалось принять на предыдущем совещании в колумбийском городе Картахена, но тогда не удалось согласовать все спорные моменты. Протокол был открыт для подписания с 15 мая 2000 г. по 4 июня 2001 г. За это время его успели подписать 103 государства. По состоянию на 2007 год Сторонами Картахенского протокола были уже свыше 200 стран. Протокол вступил в силу 11 сентября 2003 г. – на 90-й день с момента сдачи на хранение 50-го документа о его ратификации, принятии, одобрении или присоединении.

Картахенский протокол по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии. Основные положения

Конвенции о биологическом разнообразии (КБР), принятая в 1992 г. в Рио-де-Жанейро и вступившая в силу в конце 1993 г. – первый универсальный международный договор о сохранении и устойчивом использовании биологического разнообразия планеты [114]. В главе “Экологически безопасное использование биотехнологии” биотехнология рассматривается как “растущая наукоемкая отрасль”. В ней признается, что “сама по себе биотехнология не в состоянии разрешить все фундаментальные проблемы окружающей среды и развития. Тем не менее, можно рассчитывать на то, что она внесет весомый вклад, в частности, в дело повышения уровня медицинского обслуживания, укрепления продовольственной

безопасности на основе внедрения рациональных методов ведения сельского хозяйства, улучшения поставок питьевой воды, повышения эффективности процессов промышленной переработки сырья, содействия внедрению рациональных методов облесения и лесовосстановления и обеззараживания опасных отходов” [115]. Мировое сообщество сможет получить максимальную выгоду от использования биотехнологий, если эта деятельность будет направлена на содействие разработке согласованных на международной основе принципов, призванных обеспечить экологически безопасное использование биотехнологии, укрепить доверие и рассеять опасения общественности, содействовать становлению рациональных методов применения биотехнологии и обеспечить создание соответствующих стимулирующих механизмов, особенно в развивающихся странах. В связи с этим ставится задача обеспечить безопасность при разработке, применении, передаче биотехнологий и их обмене на основе международных договоренностей относительно принципов оценки и учета факторов риска.

Основная цель Картахенского протокола сформулирована в статье 1: “В соответствии с принципом принятия мер предосторожности, содержащимся в Принципе 15 Рио-де-Жанейрской Декларации по окружающей среде и развитию, **цель** настоящего Протокола заключается в содействии обеспечению надлежащего уровня защиты в области безопасной передачи, обработки и использования живых измененных организмов, являющихся результатом применения современной биотехнологии и способных оказать неблагоприятное воздействие на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия, с учетом также рисков для здоровья человека и уделением особого внимания трансграничному перемещению”.

Проблема обеспечения безопасности в области биотехнологии рассматривается в рамках КБР в подпункте “g” ст. 8 и в пунктах 3 и 4 ст. 19. В частности, в подпункте “g” ст. 8 содержится общее обязательство Сторон “... устанавливать или поддерживать средства регулирования, контроля или ограничения риска, связанного с использованием и высвобождением живых измененных организмов (далее – **ЖИО**), являющихся результатом современной биотехнологии и способных оказывать неблагоприятное воздействие на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия”. В пункте 3 ст. 19 участникам КБР предлагается рассмотреть необходимость и условия принятия протокола в области безопасной передачи, использования и применения ЖИО. Пункт 4 этой же статьи гласит, что каждая Сторона Протокола обязана предоставлять непосредственно или требовать от любого физического или юридического лица, находящегося под ее юрисдикцией и предоставляющей такие ЖИО, передачи любой имеющейся информации о правилах использования и технике безопасности при работе с ними, а также любой имеющейся информации о потенциально вредном воздействии соответствующих конкретных ЖИО той Стороне, в которую ввозятся эти организмы.

В этой статье Протокола обозначен основной принцип биобезопасности – международно-правовой принцип принятия мер предосторожности. С одной стороны, этот принцип отражает общую тенденцию природоохранных международных соглашений: любое неблагоприятное воздействие на окружающую среду легче предупредить, чем устранять его последствия. С другой стороны, он непосредственно затрагивает ситуацию с использованием достижений современной биотехнологии. Наука не рассматривает **генетическую инженерию** (по терминологии Протокола – современную биотехнологию) как нечто изначально опасное для здоровья человека и окружающей среды. Вместе с тем, в силу того, что эта революционная технология еще относительно новая, опыт использования ее достижений сравнительно невелик, необходимо регулировать генно-инженерную деятельность на государственном и межгосударственном уровне, чтобы избежать возможных неблагоприятных последствий. В ст. 19 определен объект Протокола: “живые измененные организмы, являющиеся результатом применения современной биотехнологии и способные оказать неблагоприятное воздействие на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия”.

В ст. 3 Протокола закреплены определения терминов “**живой измененный организм**” и “современная биотехнология”, которые исключают неоднозначность их толкования и применения Сторонами. Согласно пункту “g” указанной статьи, “живой измененный организм” означает любой живой организм, обладающий новой комбинацией генетического материала, полученной благодаря использованию

[современной биотехнологии](#). Таким образом, указывается на наиболее существенные отличительные признаки ЖИО, которых нет у обычных живых организмов. Понятие "современная биотехнология" охватывает как применение методов *in vitro* с использованием нуклеиновых кислот, включая рекомбинантную дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) и прямую инъекцию нуклеиновых кислот в клетки или органеллы, так и методов, основанных на слиянии клеток организмов с разным таксономическим статусом, которые позволяют преодолеть естественные физиологические репродуктивные или рекомбинационные барьеры и которые не являются методами, традиционными для выведения и селекции".

Следует особо подчеркнуть, что в качестве объекта Картахенского протокола рассматриваются не все ЖИО, а только те, которые **"способны оказать неблагоприятное воздействие на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия, с учетом также рисков для здоровья человека"**.

В ст. 4 Протокола определена сфера его действия – "трансграничное перемещение, транзит, обработка и использование всех живых измененных организмов, способных оказать неблагоприятное воздействие на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия, с учетом также рисков для здоровья человека". Вместе с тем в статьях 5 и 6 указывается, что "вне зависимости от положений ст. 4 и без ущерба для любого права Стороны проводить оценку рисков в отношении всех ЖИО до принятия решений относительно импорта настоящей **Протокол не применяется** к трансграничным перемещениям живых измененных организмов, представляющих собой фармацевтические препараты для человека, которые регулируются другими соответствующими международными соглашениями или организациями", а также не применяется к транзиту ЖИО и к их импорту с целью использования в замкнутых системах.

В этой связи следует особо отметить, что нормы Картахенского протокола **не регулируют** трансграничное перемещение так называемого "генетически модифицированного продовольственного сырья и пищевых продуктов" (т.е. продуктов, полученных из ЖИО, ["генетически модифицированных продуктов"](#), ГМП), как это предполагалось на начальных этапах его разработки. Эксперты пришли к заключению, что **безопасность** такого сырья и продуктов **можно обеспечить** только одним способом – **использовать безопасные ЖИО**. Важно подчеркнуть, что, **с точки зрения Протокола**, продукты и сырье, полученные из ЖИО, не могут оказывать неблагоприятное воздействие на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия, а риски для здоровья человека, связанные с ЖИО, в принципе не отличаются от таковых при использовании обычных организмов. Исходя из этих соображений, в Протоколе предусмотрены определенные отличия в процедурах трансграничного перемещения ЖИО, предназначенных для высвобождения в окружающую среду, и для ЖИО, которые предполагается использовать в качестве продовольствия, кормов или переработки (см. ниже).

Основное положение Протокола состоит в требовании применения процедуры заблаговременного обоснованного согласия до первого преднамеренного трансграничного перемещения ЖИО, предназначенных для преднамеренного высвобождения в окружающую среду Стороны импорта (ст. 7). Это означает, что любое юридическое или физическое лицо, имеющее намерение ввезти ЖИО (например, семена сельскохозяйственных культур, предназначенные для посева) в какое-либо государство, являющееся Стороной Протокола, должно заблаговременно информировать об этом специально уполномоченные органы этой страны, предоставив соответствующую информацию о ЖИО, месте и времени его высвобождения (приложение I к Протоколу). При этом ввоз ЖИО производится только в случае получения экспортером разрешения страны импорта, которое выдается после тщательного анализа рисков возможных неблагоприятных последствий высвобождения ЖИО для здоровья человека и окружающей среды (ст. 8–10).

Важно отметить, что в Картахенском протоколе были обобщены и получили дальнейшее развитие принципы оценки и предупреждения риска возможных неблагоприятных эффектов [ГИД](#), которые теперь имеют юридическое выражение, единообразное для всех Сторон Протокола. В частности, подчеркивается, что оценка рисков должна осуществляться научно обоснованным и транспарентным образом и 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 (приложение III к Протоколу).

Несколько иная ситуация с ЖИО, завозимыми для непосредственного использования в качестве пищевого сырья, кормов или для переработки (т.е. без высвобождения в окружающую среду). В этом случае ввоз осуществляется в соответствии со ст. 11 Картахенского протокола, согласно которой основанием для ввоза ГМО является **факт регистрации** ГМ-сорта, породы, штамма в стране происхождения. Т.е. все ступени оценки биобезопасности – от создания до регистрации – трансгенный сорт, порода, штамм проходят в стране происхождения. Каждое государство, принимающее решение относительно внутреннего использования ЖИО, которые могут стать объектом трансграничного перемещения, обязано информировать об этом других участников Протокола через механизм посредничества в течение 15 дней после его принятия. При этом оно должно предоставить полную информацию о безопасности ГМ-сорта, породы, штамма. Перечень вопросов, на которые необходимо ответить, определен в приложении II к Протоколу. Тем не менее, любая Сторона Протокола имеет право запросить у таких органов дополнительную информацию, касающуюся биобезопасности ввозимых ГМО, либо принять в рамках своего законодательства дополнительные меры биобезопасности. В частности, возможно проведение выборочного контроля завозимых из-за рубежа ЖИО, если они предназначены для непосредственного использования в качестве продовольствия, корма или для переработки.

Государство-импортер может в любое время пересмотреть и изменить свое решение относительно трансграничного перемещения ЖИО с учетом новой научной информации о потенциальных неблагоприятных воздействиях ЖИО на здоровье человека и состояние окружающей среды (ст. 12). В таком случае оно должно в течение 30 дней информировать об этом экспортера и механизм посредничества Протокола, изложив доводы, лежащие в основе принятого решения. ЖИО, попавшие в окружающую среду, не признают границ между государствами и поэтому возможно их непреднамеренное трансграничное перемещение. В связи с этим Стороны Протокола берут на себя обязательство принятия мер по регулированию рисков возможных неблагоприятных последствий высвобождения ЖИО в окружающую среду. В Протоколе определен порядок действий Сторон в случае непреднамеренного высвобождения ЖИО, которые могут оказать значительное неблагоприятное воздействие на здоровье человека и окружающую среду при трансграничном перемещении таких ЖИО (ст. 17).

Каждая Сторона обязана принимать необходимые правовые, административные и другие меры для выполнения своих обязательств, предусмотренных в рамках Протокола (ст. 2). Речь идет о разработке и принятии соответствующего законодательства, регулирующего безопасность в ГИД, создании административных органов или наделении соответствующими полномочиями уже существующих, ответственных за реализацию обязательств и законодательства. Таким образом, присоединение к Картахенскому протоколу какой-либо страны не только обеспечивает возможность урегулирования вопросов, связанных с экспортом и импортом ЖИО, но и создает предпосылки для создания национальной системы биобезопасности, которая является важнейшим атрибутом эффективного и безопасного использования достижений современных биотехнологий, развития [генетической инженерии](#) "как одного из наиболее перспективных научных направлений". Для непосредственного выполнения своих обязательств в рамках Протокола каждая Сторона обязана назначить один национальный координационный центр, который от ее имени отвечает за связь с секретариатом Протокола, а также один или несколько компетентных национальных органов, отвечающих за выполнение требуемых им административных функций.

Как видно из выше приведенных основных положений Картахенского протокола, его успешное выполнение во многом зависит от обмена информацией и опытом между Сторонами Протокола и его Секретариатом. С целью оказания содействия Сторонам в осуществлении Протокола и в обмене научной, технической, природоохранной и юридической информацией и опытом в отношении ЖИО предусмотрено создание "механизма посредничества" (ст. 20). Общество получит максимальную выгоду от использования достижений, современной биотехнологии, если каждый его член будет уверен, что государство в состоянии

обеспечить безопасность продуктов ГИД. В связи с этим необходимо расширять осведомленность населения о сравнительных преимуществах современных биотехнологий и связанных с ними рисках, о том, как эти риски можно предупредить. Общественность должна иметь доступ к полной и достоверной информации о ГМО, которые предполагается использовать, результатах государственной экспертизы их безопасности для здоровья человека и окружающей среды, о функционировании государственной системы биобезопасности.

В Картахенском протоколе важное место отведено вопросам, связанным с ответственностью за его нарушение и с возмещением ущерба. В ст. 25, посвященной незаконным трансграничным перемещениям ЖИО, выдвигается требование, чтобы каждая Сторона принимала соответствующие внутренние меры, направленные на недопущение и в соответствующих случаях предусматривающие наказание за трансграничные перемещения ЖИО, осуществляемые в нарушение ее внутренних мер по осуществлению настоящего Протокола. В случае незаконного трансграничного перемещения затронутая Сторона может потребовать от Стороны происхождения, чтобы она удалила за свой счет соответствующий ЖИО путем его репатриации или уничтожения. Каждая Сторона должна предоставлять *“механизму посредничества по биобезопасности”* информацию о случаях незаконных трансграничных перемещений, касающихся ее.

Орхусская конвенция и Международная конвенция по охране новых сортов растений

На Международной конференции *“Окружающая среда для Европы”*, состоявшейся в июне 1998 г. в датском городе Орхус, была принята Конвенция о доступе к информации, участии общественности в принятии решений и доступе к правосудию по вопросам, касающимся окружающей среды, которая получила название ***“Орхусская конвенция”***. [116] Одним из объектов этой конвенции является информация *“о планируемой и осуществляемой деятельности, которая может оказывать значительное воздействие на окружающую среду”* (ст. 5). К ней может быть отнесена и деятельность, связанная с высвобождением ГМО в окружающую среду.

Основные положения Орхусской конвенции созвучны ст. 23 Картахенского протокола по биобезопасности. Речь в ней, в частности, идет о том, что *“Каждая Сторона обеспечивает, чтобы... государственные органы в ответ на просьбу о предоставлении экологической информации предоставляли общественности, в рамках национального законодательства, такую информацию, включая ...копии фактической документации, содержащей или включающей такую информацию”* (ст. 4).

“Каждая Сторона обеспечивает, чтобы:

1. государственные органы располагали экологической информацией, имеющей отношение к их функциям, и обновляли ее;
2. были созданы обязательные системы для обеспечения надлежащего поступления в государственные органы информации о планируемой и осуществляемой деятельности, которая может оказывать значительное воздействие на окружающую среду” (ст. 5).

Стороны Конвенции должны обеспечивать участие общественности в принятии решений относительно разрешения деятельности, связанной с экологическими рисками (ст. 6). При этом: *“Заинтересованная общественность адекватно, своевременно и эффективно информируется в зависимости от обстоятельств либо путем публичного уведомления, либо в индивидуальном порядке на самом начальном этапе процедуры принятия решений по вопросам, касающимся окружающей среды, в частности:*

- о планируемом виде деятельности и заявке, по которой будет приниматься решение;
- о характере возможных решений или проекте решения;
- о государственном органе, ответственном за принятие решения;
- о предусматриваемой процедуре, включая то, каким образом и когда такая информация может быть предоставлена;
- о начале осуществления процедуры;

- о возможностях для участия общественности;
- о времени и месте любого намечаемого публичного слушания;
- о наличии государственного органа, в котором можно получить соответствующую информацию, и о том, куда соответствующая информация была передана для рассмотрения общественностью;
- о наличии соответствующего государственного органа или любого другого официального органа, которому могут представляться замечания или вопросы, и о сроках представления замечаний или вопросов;
- о том, какая экологическая информация, касающаяся планируемого вида деятельности, имеется в наличии;
- об охвате данного вида деятельности национальной или трансграничной процедурой оценки воздействия на окружающую среду.

Процедуры участия общественности предусматривают разумные сроки осуществления различных этапов, которые обеспечивают достаточное время для информирования общественности в соответствии с пунктом 2 (*указанной статьи – курс. мой*) и подготовки и эффективного участия общественности в процессе принятия решений по вопросам, касающимся окружающей среды”.

В ст. 6 также содержится положение, непосредственно касающееся ГМО: “Каждая Страна в рамках своего национального законодательства применяет в возможной степени и надлежащим образом положения настоящей статьи к решениям, относящимся к выдаче разрешений на преднамеренное высвобождение генетически измененных организмов в окружающую среду” (ст. 6.12).

Если Орхусская конвенция связана с информированием и участием общественности в принятии решений, касающихся биобезопасности, то **Международная конвенция по охране новых сортов растений**, принятая еще в декабре 1961 г. в Женеве [117]³, затрагивает вопросы патентования, а следовательно, и использования в хозяйственной деятельности ГМ-сортов растений. В п. 5 ст. 14 Конвенции, определяющей объем права селекционера, речь идет, в том числе, о сортах сельскохозяйственных растений, в значительной мере наследующих свойства других сортов и полученных с помощью методов генной инженерии.

Комиссия “Кодекс Алиментариус” и Программа ФАО/ООН по стандартам на пищевые продукты

Комиссия “Кодекс Алиментариус” (Codex Alimentarius [118]) занимается осуществлением Совместной программы ФАО/ВОЗ по стандартам на пищевые продукты, цель которой состоит в охране здоровья потребителей и обеспечении добросовестных методов торговли пищевыми продуктами.

Для многих пищевых продуктов уровень их безопасности, который, в общем и целом, воспринимается обществом как должное, отражает предысторию их безопасного потребления людьми. В этой связи признается, что во многих случаях знание, которое требуется для устранения рисков, связанных с пищевыми продуктами, было накоплено в процессе их длительного использования в прошлом. Как правило, пищевые продукты считаются безопасными, если в процессе их разработки, первичного производства, обработки, хранения, обращения и приготовления были приняты соответствующие меры предосторожности. Опасности, связанные с пищевыми продуктами, подвергаются процессу анализа рисков со стороны Комиссии “Кодекс Алиментариус” в порядке оценки потенциальных рисков и, при необходимости, разработки соответствующих подходов к их устранению. Проведение анализа рисков осуществляется в соответствии с общими решениями Комиссии “Кодекс Алиментариус”⁴, а также в соответствии с Рабочими принципами анализа рисков Кодекса [119]⁵.

Принципы анализа рисков и руководящие положения по оценке безопасности пищевых продуктов, полученных методами современной биотехнологии. Комиссия “Кодекс Алиментариус” на своей 26-й сессии в 2003 г. приняла принципы и руководящие положения по пищевым продуктам, полученным методом биотехнологии. Это – всеобъемлющие принципы анализа рисков, связанных с пищевыми

продуктами, полученными методом современной биотехнологии, и руководящие положения по оценке безопасности пищевых продуктов, полученных на основе растений и микроорганизмов, созданных с использованием метода рекомбинантной ДНК.

Хотя анализ рисков использовался в течение длительного времени для решения проблем, связанных с химическими опасностями (например, с остатками пестицидов, загрязняющих веществ, пищевых и технологических добавок) и все шире используется в настоящее время для решения проблем, связанных с микробиологическими опасностями и питательными свойствами, сами принципы для пищевых продуктов до начала работы Комиссии "Кодекс Алиментариус" в целом конкретно не разрабатывались. Концепцию анализа рисков можно, в общих выражениях, применять к пищевым продуктам в целом, в том числе и к пищевым продуктам, полученным методом современной биотехнологии. Вместе с тем признается, что в случае ее применения не к какому-то конкретному виду опасности, которая может таиться в том или ином пищевом продукте, а ко всему продукту в целом эта концепция должна быть изменена.

Процесс анализа рисков в случае пищевых продуктов, полученных с использованием методов современной биотехнологии, должен соответствовать "Рабочим принципам анализа рисков Кодекса", которые включают оценку рисков, регулирование риска, информирование о риске, последовательность требований, предъявляемых к данным, создание потенциала развивающихся стран, обмен информацией и процессы пересмотра.

Оценка рисков включает оценку безопасности, имеющей целью определить наличие какой-либо опасности, проблемы питательного свойства или иного фактора, связанного с безопасностью, и в случае наличия – собрать информацию, касающуюся их характера и серьезности. Оценка безопасности должна включать сопоставление между пищевым продуктом, полученным с использованием методов современной биотехнологии, и его [обычным аналогом](#) с уклоном в сторону определения сходств и различий. Если в результате оценки безопасности выявлены новый или изменившийся вид опасности, проблема питательного свойства или иной фактор, связанный с безопасностью, то характер сопряженного с ними риска следует надлежащим образом описать в целях определения его отношения к здоровью человека.

Оценка безопасности определяется по итогам соответствующей оценки пищевого продукта в целом или одного из его компонентов по отношению к соответствующему обычному аналогу 1) с учетом как предусмотренных, так и непредусмотренных последствий, 2) посредством определения новых или изменившихся видов опасности, 3) посредством определения изменений, имеющих отношение к здоровью человека, в основных питательных веществах.

На этапе, предшествующем сбыту того или иного пищевого продукта, в каждом конкретном случае необходимо провести соответствующую оценку безопасности на основе системного и комплексного подхода. Данные и информация, основанные на объективных научных выводах, полученные с использованием надлежащих методов и подвергнутые анализу с помощью соответствующих статистических приемов, должны быть такого качества и, в соответствующих случаях, в таком количестве, которое позволяло бы провести объективный критический научный анализ со стороны специалистов. Оценка риска должна применяться ко всем соответствующим аспектам пищевых продуктов, полученных с использованием методов [современной биотехнологии](#). В основе концепции оценки рисков, связанных с этими продуктами, лежит анализ научно обоснованных данных и информации, относящихся к разным отраслям знаний, с учетом факторов, упомянутых в данных сопроводительных Руководящих положениях.⁶

Научные данные для оценки риска обычно получают из самых различных источников, таких как разработчики продуктов, научная литература, общая техническая информация, ученые, ведущие самостоятельную научную работу, органы нормативного регулирования, международные организации и другие заинтересованные стороны. Данные необходимо оценивать с использованием надлежащих научно-обоснованных методов оценки риска. Оценка риска должна производиться с учетом всех имеющихся научных данных и информации, полученных по итогам проведения различных процедур проверки, при условии, что эти процедуры научно обоснованы, а измеренные параметры сопоставимы.

Меры регулирования риска применительно к пищевым продуктам, полученным методом современной биотехнологии, должны быть пропорциональны существующему риску, строиться на результатах оценки риска и, в соответствующих случаях, учитывать иные правомерные факторы в соответствии с общими решениями Комиссии "Кодекс Алиментариус" [120] а также с Рабочими принципами анализа рисков Кодекса. Комиссия считает, что один и тот же уровень защиты с точки зрения рисков, связанных с воздействием на здоровье человека в части безопасности и питательных свойств, может быть достигнут с помощью различных мер регулирования риска, и что в этой связи данный уровень защиты будет эквивалентным. Специалисты по регулированию риска должны принимать во внимание факторы неопределенности, выявленные в процессе оценки риска, и применять соответствующие меры по устранению этих неопределенностей. Меры по регулированию риска могут включать, в соответствующих случаях, маркировку пищевых продуктов,⁷ условия сертификации в целях сбыта и послесбытовой мониторинг.

На всех этапах оценки и регулирования риска исключительно важное значение приобретает эффективная система информирования о риске. Это интерактивный процесс, в котором участвуют все заинтересованные стороны, в том числе правительство, промышленность, научные круги, средства массовой информации и потребители. Информирование о риске должно включать прозрачные процессы принятия решений по вопросам оценки безопасности и регулирования риска. Эти процессы должны находить всестороннее отражение в соответствующей документации на всех этапах и быть открыты для ознакомления с ними общественности, но с соблюдением правомерной заинтересованности в сохранении конфиденциальности коммерческой и промышленной информации. В частности, доклады, подготовленные по оценкам безопасности и другим аспектам процесса принятия решений, должны быть доступны для всех заинтересованных сторон. Для описания и регулирования рисков, связанных с пищевыми продуктами, полученными методами современной биотехнологии, необходимо разработать прозрачную и четко определенную базу нормативного регулирования. Это предполагает в обязательном порядке последовательность требований, предъявляемых к данным, наличие принципов оценки, приемлемый уровень риска, а также наличие механизмов информирования и консультации и процессов принятия своевременных решений.

В связи с пищевыми продуктами, полученными методом современной биотехнологии, необходимо принимать меры по расширению возможностей органов нормативного регулирования, в особенности в развивающихся странах, по оценке и регулированию рисков и информированию о них, в том числе по обеспечению соблюдения, или по интерпретации оценок, проведенных другими компетентными органами или признанными экспертными организациями, включая доступ к аналитическим методам. Кроме того, в целях эффективного применения этих принципов необходимо принимать все меры по созданию потенциала развивающихся стран либо на основании двусторонних соглашений либо с помощью международных организаций.⁸ Нормативные органы регулирования, международные организации, экспертные органы и промышленные круги должны способствовать обмену информацией, в том числе по аналитическим методам, через посредство соответствующих контактных пунктов, включая контактные пункты Кодекса, но не ограничиваясь ими, а также с помощью других соответствующих средств. В условиях быстрых темпов прогресса в области биотехнологии подход к оценке безопасности пищевых продуктов, полученных методом современной биотехнологии, следует, при необходимости, пересматривать в целях включения в систему анализа рисков новых научных данных. Когда новые научные данные, относящиеся к оценке рисков, становятся доступными, систему оценки следует пересматривать с учетом этих данных и, в случае необходимости, соответствующим образом адаптировать меры по регулированию риска.

Государственное регулирование биобезопасности в США

Государственный контроль в области безопасности генно-инженерной деятельности впервые появился в США. Первое высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду было произведено в США еще в 1983 г. с официального согласия Национального института здравоохранения (NIH). В 1976 г. был сформирован специальный комитет⁹ Белого дома при содействии Министерства по

науке и технологии, чтобы предложить план государственного регулирования применения биотехнологии в промышленности и сельском хозяйстве, который был опубликован [OSTP](#) в 1986 г. как Координированная система взглядов по регулированию биотехнологии [[121](#)] и осуществляется по сегодняшний день. Он исходит из принципа, что сама по себе методология биотехнологии не представляет новых рисков для здоровья человека и окружающей среды (не является опасной) и соответственно государством не должен регулироваться сам процесс создания ГМО. Производство и потребление продуктов биотехнологии должно регулироваться таким же образом, как продуктов других технологий [[122](#)]. Регулированию подвергаются сами продукты в зависимости от их свойств и оценки присущих им факторов риска, а не технология создания данного продукта. Концепция регулирования биотехнологии в США определяет роль и область компетенции соответствующих государственных учреждений и выражает следующие принципиальные положения:

- генно-инженерные организмы не отличаются фундаментально от немодифицированных организмов;
- регулируется деятельность, связанная с продуктами биотехнологии, но не сам процесс их создания;
- существующая законодательная база США в большинстве случаев адекватна для надзора за продуктами биотехнологии;
- уполномоченные учреждения по надзору за безопасностью биотехнологии должны ограничивать [ГИД](#) только в случае очевидности того, что риск, связанный с использованием определенных продуктов биотехнологии, является чрезмерным и неприемлемым.

Оценка риска ГИД как составной элемент государственной системы биобезопасности США основана на научном и индивидуальном подходе. В основе процедуры оценки риска ГИД лежит принцип, в соответствии с которым ГМО или новый продукт, изготовленный на основе ГМО, должны сравниваться с традиционными аналогами, имеющими длительную историю безопасного использования человеком. Такое сравнение основано на исследовании однотипных факторов риска, присущих как аналогу, так и оцениваемому организму (токсичность, потенциальная аллергенность, возможность превращения в сорное растение, потенциал вредоносности и т.д.). Целью такой оценки является определение того, связано ли использование ГМО (новых продуктов) с появлением каких-либо новых рисков для здоровья человека и окружающей среды или увеличением данных рисков в сравнении с использованием их традиционных аналогов. В США оценку риска ГИД осуществляют ученые и специалисты, находящиеся на государственной службе, в штате уполномоченных государственных институтов, а не специальные, совещательные органы, как, например, во многих европейских странах, при этом проведение вневедомственной научной экспертизы не является обязательным, хотя для решения отдельных проблем могут привлекаться вневедомственные экспертные комиссии и комитеты.

Специального федерального закона, регулирующего отношения в области биобезопасности, в США нет, как нет и какой-либо одной специфической организации, регулирующей вопросы безопасности ГИД и ответственной как за оценку риска ГИД, так и за выдачу разрешения на ее осуществление. Оценка безопасности и регулирование ГИД осуществляют те же государственные службы, которые оценивают безопасность иных, не генно-инженерных организмов, а также безопасность новых продуктов питания, лекарственных препаратов, химических, физических и прочих потенциально опасных для здоровья человека и окружающей среды агентов. Такой подход к построению административной системы как раз и отражает философию регулирования ГИД, подразумевающую, что регулируется новый "продукт, а не процесс".

Основными федеральными органами, осуществляющими регулирование в области биобезопасности, являются:

- Министерство сельского хозяйства США,^{[10](#)}
- Агентство по охране окружающей среды,^{[11](#)}
- Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Министерства здравоохранения и социальных услуг.^{[12](#)}

Эти государственные органы в рамках своей компетенции осуществляют регулирование использования тех или иных продуктов генетической инженерии.

Система биобезопасности США предусматривает, что безопасность ГМО рассматривается в соответствии с его предназначением и планируемым порядком использования, при этом возможность его применения может регулироваться более чем одним уполномоченным учреждением.¹³ Следует также отметить, что, несмотря на то, что оценка безопасности ГИД сфокусирована на продуктах ГИД как таковых, причиной осуществления надзора за их безопасностью, по крайней мере, в случае высвобождения в окружающую среду ГМ-растений (USDA-APHIS¹⁴) и обязательной регистрации генно-инженерных растительных пестицидов (EPA), является сам факт применения генетической инженерии. При этом оценка риска продуктов ГИД осуществляется на несравнимо более высоком уровне, чем оценка риска аналогичных организмов, полученных методами традиционной селекции (включая мутагенез).

До помещения на рынок ГИО должно быть подтверждено его соответствие стандартам, содержащимся в таких законах, как федеральный Закон о пищевых продуктах, лекарственных и косметических препаратах¹⁵, федеральный Закон об инсектицидах, фунгицидах и родентицидах¹⁶, Закон о контроле над токсическими веществами¹⁷, федеральный Закон о вредителях растений¹⁸. Для новых сортов трансгенных растений при их регистрации специальных требований не предъявляется.

В США установлена процедура обязательного уведомления уполномоченных учреждений производителем и (или) оценки риска ГИД для окружающей среды, предшествующая разрешению на полевые испытания генно-инженерных организмов. Ведущим государственным учреждением в области надзора за порядком осуществления полевых испытаний генно-инженерных растений (ГМ-растений) и их коммерческого выращивания является USDA-[APHIS](#). Рассматривая заявку юридических лиц на проведение полевых испытаний ГМ-растений, APHIS изучает ряд критериев биобезопасности данных организмов:

- стабильность включенного генетического материала (трансгенных конструкций),
- возможность переноса встроенных чужеродных генов иным растениям,
- вероятность заболеваний человека и животных, обусловленных генетической модификацией,
- вероятность продукции патогенных (инфекционных) организмов,
- неблагоприятное воздействие ГМ-растений на окружающую среду и др.

Если эксперты USDA-APHIS в процессе оценки риска предполагаемого испытания приходят к заключению о несущественном влиянии испытуемого организма на окружающую среду, то заявителю выдается разрешение на его проведение.¹⁹

С позиции принципа предосторожности APHIS определяет меры защиты от неконтролируемого распространения пыльцы ГИО или частей ГИО в окружающей среде. Все полевые испытания, проводимые после получения разрешения от APHIS или согласно процедуре уведомления, осуществляются при соблюдении специальных стандартов выращивания растений. Данные стандарты предусматривают наличие репродуктивной изоляции ГИО от иных растений среды испытаний, чтобы минимизировать случайный выход ГИО за границы участка испытаний. Как правило, APHIS не устанавливает ограничений на размеры полевых испытаний.

В случае полевых испытаний трансгенных растений, продуцирующих пестициды (например, Bt-инсектицидный токсин бактерии *Bacillus thuringiensis* или белок вирусного капсида), на площади более чем 10 акров (4,05 га) производитель испытаний должен получить разрешение на экспериментальное использование инсектицида от Агентства по охране окружающей среды ([EPA](#)). Ожидается, что заявитель проведет предварительные консультации с сотрудниками EPA для определения формата необходимых для получения разрешения данных. В процессе рассмотрения заявки о предполагаемых испытаниях извещается общественность.

Министерство сельского хозяйства США закончило разработку процедуры регулирования широкомасштабного высвобождения ГМ-растений, подпадающей под действие федерального Закона о защите растений (прежде федерального Закона о вредителях растений), еще в 1993 г. Эта процедура

устанавливает порядок ходатайства заявителя (селекционной фирмы) о придании "нерегулируемого статуса" генно-инженерным сортам растений для их коммерческих посадок [129]. При этом предполагается, что коммерческие посадки данных образцов ГМ-растений не будут в дальнейшем регулироваться на территории США уполномоченными государственными учреждениями. Данная процедура в 1997 г. также была упрощена [127]. В настоящее время регулируемый объект (ГМО), определен как любой организм, генетический материал которого изменен с помощью методов генетической инженерии и при этом организм-донор, организм-реципиент или вектор принадлежат к любому роду или таксону живых организмов, известных в качестве вредителей растений (или к организмам, которые потенциально могут выступать в качестве вредителей растений)²⁰.

Для установления "нерегулируемого статуса ГИО" заявитель подает в USDA-APHIS запрос установленного образца. На основании представленной информации экспертами USDA-APHIS проводится оценка риска для окружающей среды предполагаемого масштабного высвобождения ГМО. Анализируются факторы риска, обуславливающие возможные неблагоприятные последствия для окружающей среды вследствие проявления "сорняковых" качеств ГМО и признаков, характерных для сельскохозяйственных вредителей, возможное неблагоприятное прямое и опосредованное воздействие ГМО на другие организмы среды высвобождения. Затем, для того чтобы сельскохозяйственная культура получила "нерегулируемый статус", USDA готовит специальные документы ("Оценка риска для окружающей среды" и "Определение нерегулируемого статуса"), в которые заносятся результаты оценки вышеуказанных факторов риска. Названные документы подлежат публикации в Federal Register²¹ с целью получения замечаний от общественности и заинтересованных официальных лиц. Данная публикация содержит краткий обзор предоставляемого запроса (т.е. основные характеристики трансгенного растения), объясняет роль иных регулирующих ГИД организаций (EPA и FDA), порядок предоставления комментариев (мнений) и получения дополнительной информации, включая копию запроса (но исключая любую деловую конфиденциальную информацию). Процесс обсуждения занимает обычно около 10 месяцев, после чего администрация USDA-APHIS получает весь комплект необходимой информации. В итоге, если экспертами показано, что организм, о котором идет речь в запросе, не представляет риска для других растений в среде предполагаемого высвобождения и так же безопасен в использовании, как и традиционные аналоги, USDA-APHIS принимает решение о том, что данный организм не является более объектом регулирования. APHIS публикует "Определение нерегулируемого статуса" в Federal Register, что вновь предоставляет возможность общественности для комментариев (критических замечаний) к принятым APHIS результатам оценки безопасности ГИО для окружающей среды. Принятое решение о нерегулируемом статусе позволяет возделывать ГМО, проводить с ними опыты и использовать их для получения новых сортов растений без каких-либо дополнительных санкций со стороны USDA-APHIS.

В случае выращивания на территории США ГМ-растений, обладающих пестицидными свойствами (таких как Bt-кукуруза, хлопок, картофель и др.), APHIS координирует свою регулируемую деятельность с EPA. По действующему законодательству США все используемые в практике пестициды, включая пестициды, вырабатываемые ГМ-растениями вследствие активности трансгенов, подлежат анализу и регистрации со стороны EPA. Согласно Закону FIFRA, EPA должно убедиться, что предполагаемый к использованию пестицид отвечает принятым федеральным стандартам безопасности. Закон FFDCA уполномочивает EPA определять государственные стандарты относительно уровня безопасного остаточного содержания пестицидов в продуктах питания. В рамках регулирования порядка высвобождения ГМ-растений, продуцирующих вещества с пестицидными свойствами, EPA, во-первых, предоставляет заявителю разрешение на их экспериментальное использование (РЭИ) в период полевых испытаний и, во-вторых, проводит регистрацию данных образцов для широкомасштабного коммерческого применения на территории США.

В 1994 г. EPA опубликовало инструкцию для регулирования деятельности, связанной с использованием пестицидов, производимых ГМ-растениями, в соответствии с законами FIFRA и FFDCA. В 2001 г. правила²² осуществления соответствующей ГИД были установлены окончательно. Кроме того, EPA представило официальное разъяснение, какие средства защиты, продуцируемые самими растениями, не

подлежат контролю [[130,131,132](#)]. По определению ЕРА, средства защиты, продуцируемые растениями, – это пестицидные соединения (вещества), которые вырабатываются и используются самим живым растением для защиты от вредителей, таких как насекомые, вирусы или грибы.

На этапе коммерциализации ГМ-растений, производящих пестициды, заявитель должен зарегистрировать их в ЕРА. Для регистрации пестицидов генно-инженерного происхождения ЕРА должно рассмотреть все данные относительно потенциальной опасности их для человека и окружающей среды. На основании оценки полной информации ЕРА должно вынести определение о том, что использование рассматриваемого пестицида “в общем не приведет к необоснованному неблагоприятному воздействию”, после чего генно-инженерный сорт растения получает официальную регистрацию. Для проведения оценки риска предполагаемого высвобождения и регистрации трансгенного пестицида ЕРА обычно требуется около года²³. В этот период общественности дается возможность выносить на обсуждение свои замечания о допустимости регистрации данного ГМО.

Согласно федеральному Закону о пищевых продуктах, лекарственных и косметических препаратах (FFDCA), FDA уполномочено проводить оценку безопасности для здоровья человека и животных продуктов питания и фуража до поступления их на товарный рынок и санкционировать их поступление на рынок. FDA также имеет право исключить продукт из торговли после поступления его на товарный рынок и применять штрафные санкции (меры уголовной и гражданской ответственности) к продающим продукты организациям или частным лицам, если данные продукты представляют опасность для здоровья людей и животных. Это заставляет производителей продуктов питания поставлять на товарный рынок качественную, безопасную продукцию.

В 1992 г. FDA опубликовало в Federal Register заявление об официальном курсе (подходах) этого агентства относительно регулирования деятельности по производству и использованию продуктов питания, созданных на основе ГМ-растений [[133](#)]. Целью политики FDA было разработать основанный на оценке риска путь принятия решений, направляющий деятельность селекционеров растений и производителей продуктов питания на производство безопасной продукции, и содействовать им в разрешении критических проблем, важных для обеспечения безопасности, сохранения питательной ценности и показателей здорового питания новых продуктов. Эксперты FDA разработали “стандарты безопасности”, которые применяются в равной степени к оценке новых продуктов питания, произведенных как традиционным путем, так и с применением биотехнологии. Руководствуясь данными стандартами, FDA обеспечило регулирование порядка применения в пищевой промышленности веществ, у которых нет длительной истории безопасного употребления и которые требуют специальной санкции FDA для использования в качестве пищевых добавок до выхода соответствующей продукции на товарный рынок. Кроме того, FDA регулирует проблемы, связанные с необходимостью специального маркирования продуктов в соответствии с законом FFDCA. Отметим, что для производителей продуктов питания не требуется разрешение FDA для поступления их на товарный рынок или использование специальной маркировки для новых видов пищевых продуктов в том случае, если новые продукты питания существенно эквиваленты традиционным продуктам, уже находящимся на товарном рынке.

Согласно директивам, разработанным FDA и опубликованным в 1997 г., у производителей продуктов питания из трансгенных растений запрашивается основная информация относительно безопасности новых продуктов и оценки их питательных свойств. Производители представляют ученым FDA научные данные о своих продуктах, добровольно участвуя в таком консультативном процессе. Целью добровольных консультаций FDA является совместная работа с производителем нового продукта, начиная с ранних стадий его разработки для идентификации и разрешения любых проблем относительно его безопасности, которые будут регулироваться агентством при поступлении данного продукта на товарный рынок. Примерами таких проблем являются: существенно увеличенный в продуктах уровень растительных токсикантов или пищевых антагонистов, уменьшение содержания в продуктах важных питательных веществ, присутствие в них новых аллергенов или недозволенных пищевых добавок. После проведенных консультаций производитель представляет в FDA данные, которые он считает достаточными для доказательства безопасности продукта и формат которых соответствует регулирующим положениям FDA и

закону FFDCА. FDA не выдает санкцию на возможность производства и потребления нового продукта питания, а только информирует в письменном виде производителя о том, что на основании представленной информации не имеет более к производителю вопросов и напоминает ему об установленной законом ответственности за безопасность для потребителей произведенного продукта.

В мае 2000 г. правительство США объявило ряд новых инициатив, направленных на усиление эффективности и прозрачности для производителей системы регулирования биобезопасности и на улучшение информированности о новых продуктах потребителей и фермеров. Среди данных инициатив особенно важны следующие:

- подготовка Советом по качеству окружающей среды и Министерством по науке и технологиям критического обзора федерального законодательства по охране окружающей среды;
- разработка FDA требований по обязательному заблаговременному уведомлению о любой новой продовольственной культуре или продуктах питания, которые поступают на товарный рынок;
- расширение состава ученых в консультативных комитетах FDA по продуктам питания и ветеринарии для проведения сельскохозяйственной биотехнологической экспертизы;
- разработка FDA указаний по адекватной маркировке пищевых продуктов, как содержащих, так и не содержащих ингредиенты, полученные с применением биотехнологии.

Министерству сельского хозяйства предложено предпринять действия для обеспечения фермеров заслуживающей доверия информацией о спросе (ассортименте) и наилучшей технологии возделывания новых ГМ-сортов продовольственных культур.

В январе 2001 г. FDA опубликовало правила для обязательной процедуры извещения о новых продуктах питания до поступления их на товарный рынок [134]. Согласно данным правилам, FDA будет требовать от производителей представления экспериментальных данных и информации о новых продуктах, предназначенных для питания населения и для кормления сельскохозяйственных животных, за 120 дней до начала коммерческого использования данных продуктов. Это означает, что когда разработка данных правил завершится, FDA отойдет от текущей добровольной системы консультаций и перейдет к обязательной системе надзора за новыми продуктами питания и кормами.

Исходя из того положения, что новые продукты питания не отличаются от традиционных продуктов, FDA не требует обязательного специального маркирования для продуктов питания, изготовленных, либо включающих ингредиенты из ГМО. ГМП, как и традиционные продукты, являются предметом правил маркировки, основанных на законе FFDCА. Т.е. маркировке подлежат лишь те продукты питания, употребление которых обуславливает специальные риски для здоровья человека и окружающей среды (например, в случае изменения питательных свойств продукта, присутствия в нем аллергенов). При этом маркировка должна быть правдивой и не вводить в заблуждение потребителя. В случае если продукт питания отличается от традиционного аналога настолько, что общепринятое или обычное его наименование более к нему не применимо, оно должно быть изменено таким образом, чтобы указать данные отличительные особенности. Недавно FDA опубликовало руководящий документ (инструкцию) по маркировке новых продуктов. В документе представлены примеры формулировок для маркирования ГМП и для продуктов, изготовленных по традиционным технологиям.

В США широко распространена "обратная маркировка", когда на упаковке говорится об отсутствии ГМ-источников в том или ином продукте. Осуществляется достаточно жесткий контроль за продуктами питания, если они предназначены для внутреннего потребления; ГМП не допускаются в систему безопасных (так называемых органических) продуктов питания, что свидетельствует о молчаливом признании того факта, что употребление ГМП в пищу содержит риски для здоровья человека. Так, Национальный совет США по стандартизации органической, т.е. безопасной для здоровья человека, продукции в сентябре 1991 г. единогласно постановил, что ГМО и полученные из них продукты питания должны быть запрещены для продажи в системе органической пищи. Кроме того, в США действуют очень жесткие правила на импорт ГМО и ГМП.

Государственное регулирование биобезопасности в странах Европейского Союза

В основе существующего законодательства по биобезопасности стран Европейского Союза (ЕС) лежат директивные документы, устанавливающие порядок осуществления основных направлений [ГИД](#). Законодательство ЕС по биотехнологии существует с начала 1990-х гг., и за последнее десятилетие оно много раз дополнялось и изменялось. Европейский Союз выработал специальное законодательство по биобезопасности, направленное на защиту здоровья своих граждан и окружающей среды в условиях интенсивного внедрения продуктов биотехнологии (по терминологии ЕС, генетически модифицированных организмов – ГМО) на рынок стран ЕС. Под ГМО подразумеваются организмы, за исключением человеческой особи, и микроорганизмы, в которых генетический материал изменен способом, не встречающимся в естественных, природных условиях (не путем скрещивания или природной рекомбинации). Основными защитными законодательными инструментами являются директивы ЕС, регулирующие генно-инженерную деятельность в замкнутых системах и порядок высвобождения продуктов ГИД. При этом директива, регулирующая высвобождение ГМО в окружающую среду, дополнена специальными постановлениями, касающимися порядка поступления на рынок пищи и кормов, состоящих из ГМО или включающих ГМО.

Базовым документом при разработке законодательства стран ЕС по осуществлению ГИД в замкнутых системах, касающейся разных видов ГМО (не только микроорганизмов) является Директива 90/219/ЕЕС (далее – Директива-219) [\[135\]](#), которая регулирует использование генетически модифицированных микроорганизмов (ГММ) в замкнутых системах в исследовательских и промышленных условиях с целью защиты здоровья человека и окружающей среды от вероятных вредных воздействий данных ГММ.

В Директиве-219 констатируется, что с целью обеспечения необходимой биобезопасности государства-члены ЕС должны принять все необходимые меры для исключения неблагоприятных эффектов ГММ на здоровье человека и окружающую среду, которые могут возникнуть при использовании ГММ в закрытых системах. Краеугольным принципом обеспечения биобезопасности, закрепленным в данной и иных регулирующих ГИД директивах, является обязательная предварительная оценка риска предполагаемой ГИД. Пользователи ГММ (физические и юридические лица) должны провести предварительную оценку риска для предполагаемых операций с ГММ в закрытых системах. Компетентные государственные организации затем оценивают информацию о риске данной ГИД и принимают решение о возможности ее осуществления. Никакая ГИД не может осуществляться без оценки риска и разрешения компетентных организаций на ее проведение.

Директива-219 также определяет меры гигиены и защиты при осуществлении генно-инженерной деятельности с разными группами ГММ в замкнутых системах. В частности, в случае ГИД с микроорганизмами группы I (не патогенными) должны применяться принципы безопасной работы и гигиены, характерные для хорошей микробиологической практики (всего указано семь таких принципов). Вдобавок к обычным мерам безопасности указывается перечень специальных мер при работе с ГММ группы II (патогенными микроорганизмами). Эти меры перечислены в специальном приложении IV к Директиве и детально регламентируют действия по обеспечению безопасности, исключающие контакт ГММ с внешней средой и вредное влияние ГММ на здоровье человека и окружающую среду. В приложении IV даны необходимые технические характеристики, порядок работы и личной гигиены персонала при использовании закрытых систем трех категорий с разной степенью “закрытости” от окружающей среды. Директива предусматривает, что меры по использованию ГММ в закрытых системах должны периодически пересматриваться и соответствовать новым научным и техническим данным по управлению риском и утилизации отходов.

Директива-219 предполагает учреждение в странах ЕС компетентных организаций, исполняющих необходимые меры по обеспечению безопасности ГИД; принимающих и рассматривающих заявки на проведение ГИД в замкнутых системах. Регламентируется порядок уведомления данных организаций о намерении осуществления юридическими и физическими лицами ГИД. Учитывается, что

необходимая форма запроса и его рассмотрения увеличивает безопасность использования ГМО. Констатируется, что компетентные организации должны организовать инспекцию точного исполнения вышеуказанных мер по обеспечению биобезопасности ГИД. Предусмотрено, что до начала ГИД в случае необходимости должен быть выработан и предоставлен компетентным организациям план защитных действий при непредвиденных обстоятельствах, угрожающих здоровью населения и окружающей среде. Директива-219 предусматривает действие еще одной важной составляющей системы биобезопасности – возможность предоставления соответствующей информации общественности и обсуждения с общественностью любых аспектов ГИД в замкнутых системах.

Директива 2001/18/ЕС (далее – Директива-18) [136] согласуется с принципом принятия мер предосторожности и имеет целью сблизить законодательства стран ЕС в области биобезопасности и защитить здоровье человека и окружающую среду при высвобождении в нее ГМО. Директива-18 регулирует все случаи высвобождения ГМО:

1. высвобождение ГМО в окружающую среду для любых целей, кроме размещения их на товарном рынке (не коммерческое высвобождение);
2. высвобождение ГМО с целью помещения на рынке.

В приложении I к Директиве-18 перечислены конкретные способы изменения генетического материала, применяемые для создания ГМО. Организмы, где рекомбинация генетического материала достигнута способами, отличными от перечисленных, не рассматриваются как ГМО. Под помещением на рынок понимается доступность ГМО или комбинаций ГМО для приобретения физическими и юридическими лицами как за оплату, так и бесплатно. Во избежание вероятных вредных воздействий на здоровье человека и окружающую среду вследствие высвобождения ГМО или размещения ГМО на рынке Директива-18 регламентирует превентивное принятие определенных мер биобезопасности в странах ЕС, а также тщательную предварительную оценку риска возможных вредных воздействий на здоровье человека и окружающую среду каждого случая высвобождения ГМО.

В Директиве-18 указывается, что страны ЕС (в лице компетентных организаций и общественности) должны быть уверены, что потенциально вредные эффекты высвобождения ГМО (прямые и опосредованные, немедленные и отдаленные) тщательно оценены. С этой целью любое лицо (производитель или импортер), намеренное осуществить высвобождение ГМО, должно уведомить о своем намерении компетентные органы строго регламентированным в Директиве образом. Запрос на высвобождение должен содержать техническое досье на ГМО и информацию, включающую полную оценку риска данного высвобождения. Компетентные органы после тщательного изучения запроса принимают решение о возможности высвобождения. Никакое высвобождение ГМО без разрешения не допускается.

В приложении II к Директиве-18 представлены принципы и подробная методология оценки риска при высвобождении ГМО. Оценка риска основана на научной, последовательной идентификации и оценке потенциально вредных эффектов высвобождения ГМО. Учитываются как прямой, так и непрямой, немедленный или отдаленный во времени возможный ущерб от высвобождения ГМО здоровью человека и окружающей среде.

Определенные в Директиве-18 принципы положены в основу обязательной методологии оценки риска, которая обеспечивает подробный анализ вероятных вредных эффектов высвобождения ГМО. В результате оценки идентифицируются вероятные механизмы неблагоприятных эффектов (прямые, непрямые). Далее проводится количественная оценка каждого выявленного потенциально вредного воздействия высвобождения при допущении, что оно произойдет, и производится оценка вероятности наступления таких эффектов. Оценка риска формулируется на основании каждого признака ГМО, несущего потенциальную опасность для здоровья человека и окружающей среды. Выявляются управляемые риски высвобождения и стратегия управления ими. В итоге определяется общий, совокупный риск высвобождения при предлагаемой стратегии управления.

Директивой-18 регламентируется, что страны ЕС должны определить компетентные органы, ответственные за исполнение требований биобезопасности. Данные органы обязаны изучать соответствие заявок на высвобождение вышеуказанным требованиям, контролировать проведение оценки риска высвобождения ГМО и принимать обоснованные и ответственные решения о проведении ГИД. Директива-18 определяет, что соответствующие компетентные органы должны осуществлять инспекцию и контроль над точным соблюдением мер биобезопасности, указанных в разрешении на высвобождение, и исключить случаи несанкционированного появления ГМО на рынке. Заявители должны, кроме того, проводить мониторинг помещенных на рынок ГМО и информировать компетентные органы о его результатах согласно требованиям, представленным в приложении VII к Директиве. Такой мониторинг необходим для отслеживания вероятных непредвиденных последствий высвобождения и исключения возможного ущерба гражданам и окружающей среде. Компетентные органы стран ЕС обязаны контролировать результаты мониторинга ГМО. Директива-18 предусматривает консультации с научными организациями и общественностью по вопросу высвобождения того или иного ГМО. Для обсуждения в каждом случае предоставляется необходимая информация и время.

Порядок обращения на рынке ГМП и кормов регулируется не только Директивой-18, но и рядом других постановлений (258/97; 1139/98; 50/2000). Рамки действующего законодательства расширены, и система безопасности улучшена в "Предложениях по регулированию Европейским Парламентом и Советом деятельности, связанной с генетически модифицированной пищей и кормами" (2001/0173 COD) [137]. Под пищевыми ГМП и кормами понимаются пища и корма, включающие, состоящие или произведенные из ГМО. Упомянутые Предложения предусматривают, кроме того, специфическую оценку ГИД, связанной с пищевыми добавками, пищевыми красителями или кормовыми добавками, если все они производятся из ГМО. Законодательством не рассматриваются случаи помещения на рынок продукции с содержанием ГМО в количестве 0,9% и менее, а также не регулируются действия, производимые над продуктами и кормами, полученными с помощью ГМО, но не содержащими ГМО.

Данная система законодательных актов регулирует оценку пищевых ГМП и ГМ-кормов, порядок разрешения на их высвобождение (помещение на рынок) и порядок специального их маркирования. Целью этих актов является повышение степени защиты жизни и здоровья человека и животных, а также, окружающей среды от вероятных неблагоприятных последствий при употреблении ГМП, и кроме того, защита интересов потребителя. Для обеспечения такой защиты для производителей и импортеров предусмотрены специальные разрешения на помещение на рынок пищевых ГМП и кормов. Последние не должны представлять риска для здоровья человека, животных и окружающей среды:

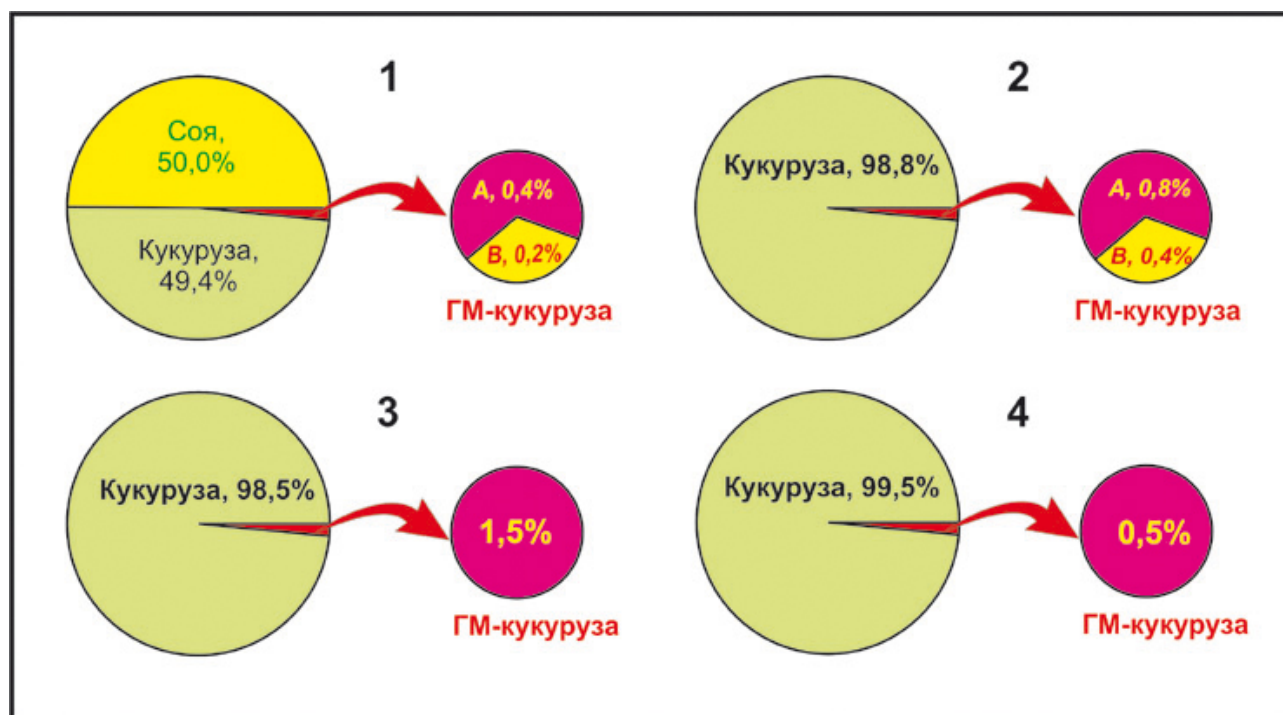
- не должны каким-либо образом вводить в заблуждение потребителя (пользователя) относительно их природы.
- не должны ухудшать пищевую ценность и вкусовые качества тех пищевых продуктов и кормов, которые они предназначены заменить.
- не должны приносить вред потребителю вследствие ухудшения каких-либо качеств животных продуктов в результате использования ГМ-кормов.

Процедура разрешения на помещение на рынок ГМП и ГМ-кормов несколько отличается от таковой в случае ГМО, но базовые правила и принципы в обоих случаях идентичны. Запрос на высвобождение их на рынок пищи и кормов подается компетентным специальным органам ЕС, который включает полное техническое досье на ГМП и ГМ-корм согласно приложениям III и IV Директивы-18. Разрешение на высвобождение может быть получено только после проведения заявителем процедуры оценки риска в соответствии с принципами приложения II к Директиве-18. Заявитель должен представить план мониторинга за действием ГМП и ГМ-корма на окружающую среду согласно приложению VII.

Научная оценка рисков проводится Европейским Управлением продовольственной безопасности и включает как угрозы окружающей среде, так и угрозы здоровью человека и животных. Отзывы о результатах оценки общедоступны. На основании отзыва Европейского управления

продовольственной безопасности Комиссия составляет проекты о выдаче разрешения или отказе в нем. Проект одобряется квалифицированным большинством государств-членов в Регулирующем комитете ЕС. Разрешенные продукты регистрируются в общественном реестре ГМП и кормов. Разрешения выдаются на 10-летний срок.

Поскольку в странах ЕС потребители требуют ясного обозначения ГМП и ГМ-кормов, чтобы делать осознанный выбор того или иного продукта, продукты питания, разрешенные к обращению на рынке, должны иметь соответствующую маркировку (Постановления ЕС 258/97; 1139/98; 50/2000). Маркировка производится в случае присутствия в продукте ДНК или белка, появившихся вследствие генетической модификации, в количестве, превышающем 0,9% от массы ГМ-компонента одного вида, например, ГМ-кукурузы.



ГМ-корма маркируются согласно Директиве-18, которая рассматривает только живые ГМО.

“Предложения по регулированию Европейским Парламентом и Советом деятельности, связанной с генетически модифицированной пищей и кормами” расширяют рамки существующего положения и предусматривают маркирование всех пищевых ГМП независимо от результатов определения в них чужеродной ДНК или белка. Все виды ГМП, требующие разрешения для помещения на рынок, предполагают и обязательное маркирование; ГМ-корма должны маркироваться по тем же принципам, что и продукты питания. Предусматривается маркирование большого ассортимента кормов, не требующих этого согласно текущему законодательству.

Таким образом, законодательство ЕС предъявляет очень жесткие требования к безопасности ГИД для здоровья человека и окружающей среды. В странах ЕС в целях безопасности обязательно должны проводиться следующие мероприятия:

- Тщательная предварительная оценка риска ГИД, выработка действий, исключающих вредные эффекты ГИД, разработка плана экстренных действий в случае незапланированных ситуаций.
- Организация административной системы органов, которые принимают компетентные решения о разрешении ГИД заявителем, ведут контроль и мониторинг соблюдения законных требований при осуществлении ГИД, прекращают ГИД заявителя в случае возникновения опасности для здоровья человека и окружающей среды.
- Информирование и участие общественности в принятии соответствующих решений.

Некоторые страны, в том числе Франция, Италия и Греция требуют маркировки всех продуктов, содержащих любое количество чужеродных компонентов. Правила о новых видах пищи, введенные в действие с 18 апреля 2004 г., устанавливают обязательную маркировку пищевых продуктов и ингредиентов, содержащих или состоящих из ГМО. Действующие правила Совета (ЕС) 1829/2003 [138] устанавливают положения о маркировке пищевых продуктов и ингредиентов, полученных из ГМО, в последние годы приняты ряд Европейских стандартов (ISO/DIS 21568:2003, 21571:2002, 21572:2004, 21569:2002 и др.), регламентирующих порядок отбора образцов, методы выделения ДНК и методы качественного и количественного определения ГМИ в продуктах питания. Предлагается также указывать на упаковке не только наличие ГМ-ингредиентов, но и организацию, проводившую оценку продукта на биобезопасность. При этом в Европе необходимо маркировать даже те продукты (масло, сахар и т.п.), которые не содержат чужеродных фрагментов ДНК или кодируемых ими белков.

Тема 2. Правовое регулирование биобезопасности ГМО в российском законодательстве

Федеральные законы

Поскольку первые сведения о существовании биологических и экологических рисков бесконтрольного распространения и использования в пищу ГМО появились почти сразу же за появлением их на рынке, многие государства мира были вынуждены дополнить свою законодательную базу в целях регулирования этого нового явления. Признание государством существования биологических и экологических рисков при использовании ГМО и полученных из них продуктов выразилось прежде всего в том, что еще в середине 80-х гг. XX в. начали разрабатываться [международные договоры и соглашения](#), призванные регулировать на государственном и межгосударственном уровне деятельность, связанную с производством, хранением, транспортировкой, трансграничными перевозками продуктов новых биотехнологий.

Российская Федерация является участником Конвенции о биологическом разнообразии 1992 г.²⁴ [114] и Протокола о едином порядке применения технических, медицинских, фармацевтических, санитарных, ветеринарных, фитосанитарных и экологических стандартов, норм, правил и требований в отношении товаров, ввозимых в государства–участники соглашений о Таможенном союзе [139, 140]. Т.е. Россия является одной из сторон международных договоров, регулирующих основные сферы деятельности, к которым ГИД может иметь то или иное отношение. В России при регулировании вопросов, связанных с этой деятельностью в замкнутых системах и выпуска ГМО в окружающую среду, в том числе и с коммерческими целями, применяются законы, другие документы и нормативные акты, разработанные конкретно не с целью регулирования ГИД, но по своему содержанию имеющие отношение к сферам ее применения. Поэтому отпадает необходимость в создании большого пакета документов, за исключением самых необходимых, в частности определяющих методику и процедуру оценки безопасности и государственной регистрации ГМО. Прошедший регистрацию ГМО автоматически становится объектом законодательства соответствующего профиля.

В России качество и безопасность пищевых продуктов регулируются Федеральным законом от 02.01.2000 г. № 29-ФЗ “О качестве и безопасности пищевых продуктов” [141], некоторыми другими законами, Санитарными правилами и нормами (СанПиН), национальными и отраслевыми стандартами, а также стандартами организаций. Качество и безопасность пищевых продуктов обеспечивается посредством:

- применения мер государственного регулирования;
- проведения фирмами и частными предпринимателями, осуществляющими деятельность по изготовлению и обороту пищевых продуктов, организационных, агрохимических, ветеринарных, технологических, санитарно-противоэпидемических, фитосанитарных и других мероприятий по

выполнению требований нормативных документов к пищевым продуктам, условиям их изготовления, хранения, транспортировки и реализации;

- проведения производственного контроля за качеством и безопасностью пищевых продуктов, условиями их изготовления, хранения, транспортировки и реализации;
- внедрения систем управления качеством;
- применения мер по пресечению нарушений требований, изложенных в нормативных документах.

Еще в середине 90-х гг. XX в. в России был разработан и принят основополагающий закон, призванный по замыслу законодателя, лечь в основу системы биологической безопасности страны – **Федеральный закон от 06.07.1996 г. № 86-ФЗ "О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности"** [142]. Этот Федеральный закон регулирует отношения в сфере природопользования, охраны окружающей среды и обеспечения экологической безопасности, возникающие при осуществлении ГИД, однако порядок осуществления ГИД и применения ее методов к человеку, тканям и клеткам в составе его организма, за исключением генодиагностики и генной терапии (генотерапии), не является предметом регулирования этого Федерального закона.

Законом № 86-ФЗ определены основные понятия, применяемые в ГИД – [генная инженерия](#), [генная терапия](#), [генодиагностика](#), [генно-инженерно-модифицированный организм](#), [выпуск генно-инженерно-модифицированных организмов в окружающую среду](#), [защита биологическая](#), [защита физическая](#), [клинические испытания](#), [система замкнутая](#), [система открытая](#), трансгенные организмы.

Задачами государственного регулирования в области [ГИД](#) (статья 4) являются:

- установление основных направлений деятельности федеральных органов государственной власти, органов государственной власти субъектов Российской Федерации, органов местного самоуправления, юридических лиц и граждан (физических лиц) в области ГИД;
- установление основных положений правового регулирования отношений, возникающих в области ГИД;
- определение механизма, обеспечивающего безопасность граждан и окружающей среды в процессе осуществления ГИД и использования ее результатов;
- установление правовых основ международного сотрудничества Российской Федерации в области ГИД;
- создание условий для развития приоритетных направлений в области ГИД.

Для реализации указанных задач принимаются федеральные и региональные программы в области развития ГИД.

Статья 5 Закона № 86-ФЗ гласит, что основными направлениями государственного регулирования в области ГИД в России являются:

1. улучшение условий жизни человека и охрана здоровья,
2. охрана и восстановление окружающей среды, сохранение биологического разнообразия,
3. повышение эффективности сельского хозяйства и добывающей и перерабатывающей промышленности;
4. обеспечение сохранения и улучшения кадрового состава, а также профессиональной подготовки специалистов в области ГИД.

При этом указывается, что ГИД должна быть основана на принципах:

- безопасности граждан;
- общедоступности сведений о безопасности ГИД;

- сертификации продукции, содержащей результаты ГИД, с указанием полной информации о методах получения и свойствах данного продукта.

Это означает, что **умышленное или непреднамеренное не информирование населения о ГМ-продуктах и их характеристиках**, является грубейшим нарушением ст. 5 Закона № 86-ФЗ и ряда других законов и нормативных актов.

Статьей 6 Закона № 86-ФЗ определены виды ГИД, подлежащей лицензированию. В частности, обязательному лицензированию подлежат работы, соответствующие III и IV уровням риска – работы в замкнутых системах, представляющие умеренную опасность и особо опасные для здоровья человека (ст. 7). Закон приравнивает к III и IV уровням риска все работы, производимые с микроорганизмами в замкнутых системах в масштабах, превышающих лабораторные исследования, а также любую ГИД в условиях открытых систем. Кроме того, обязательному лицензированию подлежат утилизация отходов ГИД, покупка, продажа, обмен и иная деятельность, связанная с генно-инженерными технологиями и ГМО.

Регулированию проблем, связанных с ГМО, посвящены и некоторые положения других федеральных законов. К числу таких законов относится и **Закон РФ от 07.02.1992 г. № 2300-1 "О защите прав потребителей"** [143]. Первоначально он не содержал требования о донесении до потребителя информации о содержании ГМО в том или ином пищевом продукте, однако Федеральным законом от 21.12.2004 г. № 171-ФЗ [144] в п. 2 ст. 10 этого Закона была внесена соответствующая поправка и в соответствии с ней "...информация о товарах в обязательном порядке должна содержать сведения об основных потребительских свойствах, в том числе информацию о наличии в продуктах питания компонентов, полученных с применением генно-инженерно-модифицированных организмов (далее – ГМО). Указанная информация доводится до сведения потребителей самим изготовителем (исполнителем, продавцом)". То есть обязанность информирования потребителя о наличии ГМО в пищевых продуктах **вне зависимости от их количества** была возложена на производителя (импортера, продавца). Однако в 2007 г. под давлением последних в это положение была внесена количественная характеристика. Федеральным законом от 25.10.2007 г. № 234-ФЗ [145], вступившим в силу уже с 12 декабря 2007 г., в п. 2 ст. 10 Закона РФ "О защите прав потребителей" внесены изменения, уточняющие перечень той информации о товаре, которую производитель (импортер, продавец) обязан довести до сведения потребителя. В последней редакции этот пункт Закона звучит так – "...сведения об основных потребительских свойствах товаров (работ, услуг), в отношении продуктов питания сведения о составе (в том числе наименование использованных в процессе изготовления продуктов питания пищевых добавок, биологически активных добавок, информация о наличии в продуктах питания компонентов, полученных с применением генно-инженерно-модифицированных организмов, в случае, **если содержание указанных организмов в таком компоненте составляет более девяти десятых процента**), пищевой ценности, назначении, об условиях применения и хранения продуктов питания, о способах изготовления готовых блюд, весе (объеме), дате и месте изготовления и упаковки (расфасовки) продуктов питания, а также сведения о противопоказаниях для их применения при отдельных заболеваниях. Перечень товаров (работ, услуг), информация о которых должна содержать противопоказания для их применения при отдельных заболеваниях, утверждается Правительством Российской Федерации".

Предоставлять и потребителям, а также органам государственного надзора и контроля полную и достоверную информацию о качестве и безопасности пищевых продуктов, соблюдении требований нормативных документов при изготовлении и обороте пищевых продуктов, обязывает производителей и Федеральный закон от 02.01.2000 г. № 29-ФЗ "О качестве и безопасности пищевых продуктов" [141] (ст. 5). Кроме того, этот закон в ст. 10 предусматривает **государственную регистрацию** новых пищевых продуктов (а в соответствии с международным законодательством пищевые продукты, содержащие ГМО, относятся именно к *новым продуктам*) как изготовленных в Российской Федерации, так и впервые ввозимых на территорию Российской Федерации, которая, помимо экспертизы документации, подтверждающей соответствие этой продукции нормативной документации, включает внесение пищевых продуктов, а также их изготовителей и поставщиков в Государственный реестр пищевых продуктов, материалов и изделий,

разрешенных для изготовления и реализации на территории Российской Федерации или ввоза на ее территорию. Закон № 29-ФЗ ввел также **государственный надзор, контроль и мониторинг** качества и безопасности пищевых продуктов (статьи 13 и 14), а также определил требования к обеспечению качества и безопасности **новых** пищевых продуктов, материалов и изделий при их разработке и постановке на производство (ст. 16).

В ст. 26 Федерального закона от 30.03.1999 г. № 52-ФЗ "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения" [146] указано, что условия работы в области генной инженерии не должны оказывать вредного воздействия на человека и допускаются только при наличии санитарно-эпидемиологических заключений о соответствии условий выполнения таких работ санитарным правилам.

Постановления Правительства РФ

В целях обеспечения согласованных действий заинтересованных органов исполнительной власти по реализации Федерального закона "О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности" Постановлением Правительства РФ от 22.04.1997 г. № 464 [147] была создана Межведомственная комиссия по проблемам ГИД, в задачи которой входило:

- обеспечение создания и совершенствования инфраструктуры и системы контроля в области обеспечения безопасности ГИД;
- обеспечение разработки правил безопасного получения, использования и передачи ГМО и их фрагментов;
- обеспечение создания и поддержания централизованного банка данных в области ГИД и биобезопасности;
- координация разработки и реализации разрешительно-уведомительной системы при осуществлении ГИД на основе оценки и управления потенциальными рисками;
- координация деятельности федеральных органов исполнительной власти, органов исполнительной власти субъектов Российской Федерации, научных, производственных организаций и учебных заведений в области разработки порядка и обеспечения безопасной передачи ГМО, их фрагментов и генно-инженерных технологий;
- координация деятельности федеральных органов исполнительной власти, органов исполнительной власти субъектов Российской Федерации по разработке нормативных правовых актов, регулирующих ГИД;
- обеспечение разработки предложений по развитию приоритетных направлений ГИД в Российской Федерации;
- контроль за гармонизацией механизма обеспечения биобезопасности в Российской Федерации с действующими международными аналогами;
- представление в Правительство Российской Федерации ежегодного доклада об обеспечении биобезопасности в стране.

Постановлением Правительства РФ № 215 от 16.04.2004 г. [148] эта комиссия была **упразднена**.

Правительство РФ своим постановлением от 19.06.1994 г. № 706 [149] утвердило Положение о государственном ветеринарном надзоре в Российской Федерации, которое в качестве одного из объектов обязательного государственного надзора определяет порядок приобретения, депонирования и использования в научно-исследовательских целях штаммов микроорганизмов и их генетически измененных форм (п. 5 главы 2).

Постановлением Правительства РФ от 16.02.2001 г. № 120 "О государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов" **введена государственная регистрация ГМО на биобезопасность и утверждено положение о государственной регистрации ГМО** [150]. Обязательной регистрации подлежат ГМО в случае их первого выпуска в окружающую среду,

промышленного использования или импорта. Этим постановлением государственная регистрация ГМО и ведение сводного государственного реестра зарегистрированных ГМО возложена на Министерство промышленности, науки и технологий РФ, которое создало экспертный совет по вопросам биобезопасности²⁵.

В соответствии с Положением, утвержденным Постановлением Правительства РФ от 16.02.2001 г. № 120, государственная регистрация ГМО включает:

- a. прием и рассмотрение заявления о государственной регистрации модифицированного организма;
- b. анализ представленных сведений о биобезопасности предлагаемого для государственной регистрации модифицированного организма;
- c. организация и проведение экспертизы для определения биобезопасности²⁶ модифицированного организма;
- d. принятие решения о биобезопасности модифицированного организма;
- e. внесение модифицированного организма в реестр и выдача свидетельства о его государственной регистрации.

Заявитель, планирующий осуществить первый на территории Российской Федерации выпуск в окружающую среду ГМО, его промышленное использование или импорт, подает заявление о государственной регистрации модифицированного организма в Минпромнауки РФ. Заявитель представляет заявление о государственной регистрации модифицированного организма с указанием его таксономического статуса, а также материалы, содержащие сведения о заявителе и разработчике модифицированного организма, характеристику модифицированного организма, необходимую для описания внесенной генетической модификации и новых свойств модифицированного организма, сведения о месте происхождения организма-реципиента, оценку риска использования модифицированного организма (в сравнении с исходным немодифицированным организмом) и рекомендации по уменьшению допустимого риска, сведения о предполагаемом использовании модифицированного организма и сведения о регистрации за рубежом модифицированного организма.

В целях обеспечения объективности и надлежащего уровня качества проверки представляемых заявителями сведений о биобезопасности ГМО приказом Минпромнауки России от 10.07.2001 г. № 264 [[151](#)] были утверждены Положение об Экспертном совете Минпромнауки России по вопросам биобезопасности – постоянно действующем органе, созданном в соответствии с Постановлением Правительства РФ от 16.02.2001 г. № 120 – и его персональный состав.

Экспертный совет в течение 45 дней проводит экспертизу представленных сведений о биобезопасности модифицированного организма, на основании которого Минпромнауки РФ принимает решение о государственной регистрации модифицированного организма или об отказе в такой регистрации и информирует об этом заявителя. Отказ в государственной регистрации должен быть мотивированным. В случае принятия Экспертным советом решения о недостаточности данных для заключения о биобезопасности модифицированного организма и необходимости получения дополнительных сведений Минпромнауки РФ запрашивает у заявителя дополнительную информацию о модифицированном организме. Сведения о модифицированном организме вносятся в реестр в течение 10 дней со дня принятия решения о его государственной регистрации. В этот же срок заявителю выдается свидетельство о государственной регистрации указанного модифицированного организма, подписанное Министром промышленности, науки и технологий РФ и заверенное печатью Министерства. Срок действия свидетельства о государственной регистрации модифицированного организма – до 5 лет с даты включения его в реестр. Срок действия свидетельства может быть продлен на следующие 5 лет. Для этого владелец свидетельства не менее чем за 3 месяца до истечения срока его действия должен представить заявление о перерегистрации в порядке, установленном для государственной регистрации модифицированного организма. Государственная регистрация модифицированного организма может быть аннулирована (с соответствующей записью в реестре) в случае выявления негативного воздействия модифицированного организма на окружающую

среду, подтвержденного экспертизой, по инициативе федеральных органов исполнительной власти, органов местного самоуправления, заинтересованных организаций и граждан.

При экспертизе пищевых продуктов из ГМИ в экспертный совет обязательно должна быть представлена информация, отражающая их медико-генетическую оценку, включая внесенную последовательность генов, маркерные гены устойчивости к антибиотикам, промоторы, терминаторы, усилители и сведения об экспрессии соседних генов, а также о стабильности ГМО на протяжении нескольких поколений (с учетом стабильности уровня экспрессии генов). Кроме того, представляются медико-биологическая оценка пищевой продукции, включая санитарно-химические показатели качества и безопасности, результаты токсикологических исследований, изучения возможных аллергенных, канцерогенных и мутагенных эффектов, его влияния на функцию воспроизводства, а также информация о влиянии трансформации на органолептические, физико-химические и технологические свойства продукта.

Постановлением Правительства РФ от 18 января 2002 г. № 26 введена государственная регистрация кормов, полученных из генетически модифицированных источников, и утверждено Положение о ней [152].

Своим распоряжением от 09.02.2005 г. № 150-р Правительство РФ утвердило состав Правительственной комиссии по вопросам биологической и химической безопасности Российской Федерации [153].

Постановления Главного государственного санитарного врача РФ

В целях недопущения поступления на потребительский рынок страны продукции, потенциально опасной для здоровья населения, и в соответствии с Законами Российской Федерации "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения" [146], "О защите прав потребителей" [143], "О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности" [142], приказами Минздрава и Минздравсоцразвития РФ и рекомендациями Межведомственной комиссии по проблемам ГИД Главным государственным санитарным врачом РФ были изданы ряд постановлений, регулирующих проблемы в области использования ГМО.

Еще Постановлением от 06.04.1999 г. № 7 [154] Главный государственный санитарный врач РФ ввел с 01.07.1999 г. государственную регистрацию пищевых продуктов и продовольственного сырья, а также компонентов (фрагментов) для их производства, полученных из генетически модифицированных источников. Этим постановлением были **впервые** утверждены Положение о проведении гигиенической экспертизы и регистрации пищевой продукции, полученной из генетически модифицированных источников и форма Регистрационного удостоверения, установлен порядок ее проведения, а также установлено, что регистрационное удостоверение является документом, дающим право ввоза продукции из-за рубежа, постановки ее на производство и реализации населению. Также были определены органы, уполномоченные проводить Гигиеническую экспертизу, технологическую и медико-генетическую оценку пищевой продукции, полученной из генетически модифицированных источников, и организационно-технические мероприятия, связанные с гигиенической оценкой этой продукции. Постановлениями № 13 и № 14 от 08.11.2000 г. введена маркировка ²⁷[155] и санитарно-эпидемиологическая экспертиза [156] пищевых продуктов, полученных из ГМИ.

Постановлением от 14.11.2001 г. № 36 [157] введен в действие СанПиН 2.3.2.1078-01 "Гигиенические требования к безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов", а Постановлением от 05.03.2004 г. № 8 был введен в действие СанПиН 2.3.2.1842-04 (дополнения и изменения № 3 к СанПиН 2.3.2.1078-01) [158], которым уровень ГМИ в продуктах питания, подлежащий маркировке снижен с 5 до 0,9%.²⁸

Нормативной документацией регламентированы четыре класса закрытых систем:

1. когда действия с ГМО не несут ущерба человеку и окружающей природной среде;
2. когда действия с ГМО могут причинить незначительный ущерб;
3. когда действия с ГМО могут причинить ущерб средней величины;

4. когда действия с ГМО могут причинить значительный ущерб.

Выделенные классы аналогичны делению закрытых систем в директиве ЕС. Первый совпадает с системами, в которых используются организмы группы I (не патогенные), а три последующих – с тремя категориями систем манипулирования организмами группы II (патогенными).

Региональные нормативные документы, посвященные обороту ГМО

В подавляющем большинстве регионов России законодательство, регулирующее оборот ГМО, не разработано. Наиболее четко эта проблема решена в Москве. В целях создания условий для реализации прав потребителей, в том числе на получение полной и достоверной информации о товарах, осуществления их правильного выбора, обеспечения качества и безопасности пищевой продукции на территории города Москвы Правительство Москвы своим постановлением от 13.02.2007 г. № 88-ПП "О дополнительных мерах по обеспечению качества и безопасности пищевых продуктов, информированию потребителей в городе Москве" [159]

1. **ввело** с 1 июля 2007 г. на территории города Москвы добровольную маркировку продуктов питания (пищевых продуктов) на отсутствие в их составе ГМО;
2. **рекомендовало** производителям, поставщикам и розничным продавцам воздержаться от производства, поставок и реализации пищевых продуктов, содержащих ГМО, на территории города Москвы;
3. **ввело** добровольную маркировку пищевых продуктов знаком "Не содержит ГМО!" производителями или продавцами, определило порядок получения права на использование такой маркировки и поручило организовать работу по широкому информированию производителей, оптовых предприятий и розничных торговых компаний о добровольной маркировке пищевых продуктов на отсутствие в их составе ГМО;
4. **утвердило** описание знака "Не содержит ГМО!", положение о порядке выдачи разрешений на его использование, состав Комиссии и уполномоченный орган по выдаче разрешений на маркировку пищевых продуктов, не содержащих ГМО;
5. **определило**, что плата за выдачу разрешения на маркировку пищевых продуктов знаком "Не содержит ГМО!" не взимается;
6. **поручило** Государственной инспекции города Москвы по качеству сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия, а также Комитету ветеринарии города Москвы обеспечить контроль за отсутствием ГМО в пищевой продукции, маркированной знаком "Не содержит ГМО!";
7. **поручило** Департаменту потребительского рынка и услуг города Москвы совместно с заинтересованными общественными организациями подготовить и направить в Правительство РФ предложения об утверждении требований к форме и способу, обеспечивающих наглядность доведения до сведения потребителей информации о содержании в пищевых продуктах ГМО;
8. **ввело** проведение проверок соблюдения организациями пищевой промышленности, оптовой и розничной торговли требований законодательства о доведении до сведения потребителей информации о наличии в пищевой продукции ГМО и мониторинг качества и безопасности пищевой продукции, определило органы, уполномоченные проводить эти проверки и мониторинг, и поручило обеспечить широкое информирование населения о результатах проводимых мероприятий;
9. **рекомендовало** органам государственного контроля при проведении мероприятий по контролю качества и безопасности пищевых продуктов привлекать к проведению проверок общественные организации в установленном порядке;
10. **подтвердило**, что информация, полученная в ходе проведения мероприятий по контролю соблюдения требований законодательства о доведении до сведения потребителей информации о наличии в пищевой продукции ГМО, является открытой и подлежит широкому распространению, в том числе посредством привлечения общественных организаций;

11. **выделило** из бюджета города Москвы на 2007 г. средства на закупку оборудования для оснащения лабораторий и проведения лабораторных исследований по выявлению наличия ГМО в пищевых продуктах, отобранных в ходе мероприятий по контролю и мониторингу, на основе качественного анализа в соответствии с национальным стандартом Российской Федерации [ГОСТ Р 52174-2003](#) "Биологическая безопасность. Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения с применением биологического микрочипа"
12. **поручило** Департаменту продовольственных ресурсов города Москвы, Государственной инспекции города Москвы по качеству сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия в срок до 1 марта 2007 г. представить предложения Правительству Москвы о создании за счет средств бюджета города Москвы по статье "Продовольственная безопасность города" при Государственной инспекции города Москвы по качеству сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия городского испытательного центра по исследованию сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия, в том числе на содержание ГМО;
13. **поручило** Департаменту образования города Москвы с участием общественных организаций проработать программу тематического курса "Биологическая безопасность пищевых продуктов" для изучения его в рамках предметов "Биология" и "Обеспечение безопасности жизнедеятельности" в общеобразовательных учреждениях и учреждениях среднего профессионального образования;
14. **поручило** Департаменту потребительского рынка и услуг города Москвы создать и осуществить ведение Реестра недобросовестных продавцов, производителей и поставщиков, реализующих пищевую продукцию с содержанием ГМО в нарушение установленных требований к информированию потребителей;
15. **поручило** Государственным заказчикам при проведении конкурсов по размещению заказов для государственных нужд города Москвы в качестве одного из критериев оценки заявок на участие в конкурсе предусмотреть отсутствие ГМО в поставляемых пищевых продуктах и обеспечить контроль за соблюдением этого условия в государственных контрактах при реализации продукции.

Во исполнение Постановления Правительства Москвы от 13.02.2007 г. № 88-ПП в настоящее время в Москве проводится активная работа по налаживанию системы независимой экспертизы продуктов питания на наличие в них чужеродных источников, оборудованию лабораторий, их сертификации, обучению персонала. Было создано 15 независимых лабораторий, которые с 1 июля 2007 г. осуществляют мониторинг наличия ГМО/ГМИ в пищевой продукции.

Национальные стандарты РФ

Для обнаружения трансгенных компонентов растительного происхождения известен способ использования антител для идентификации чужеродных белков. Этим способом можно выявлять присутствие чужеродных белков лишь заведомо известной природы, причем на каждый возможный трансгенный белок нужно наработать свой тип антител. Белки сами по себе, как правило, нестабильны и в ходе обработки сырья при изготовлении пищевых продуктов могут легко менять конформацию и целостность, становясь вследствие этого недоступными для обнаружения с помощью антител. Чувствительность способа выявления чужеродных белков на основе антител не всегда достаточна для надежной детекции малых количеств белка в трансгенных продуктах. Более чувствителен и надежен, чем метод анализа белков, метод, основанный на выявлении в испытуемых пробах трансгенной ДНК, так как ДНК как биополимер более стабильна по сравнению с белком. Кроме того, появляется возможность выявлять не только экспрессирующиеся участки генома, но и вспомогательные, такие как промоторы и терминаторы транскрипции.

Значительным шагом вперед в области оценки биобезопасности ГМО и полученных из них продуктов в России явилось создание на базе Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН в 2002 г. совместным решением Российской академии наук и Госстандарта РФ Технического комитета № 447

“Биологическая безопасность пищевых продуктов, кормов и товаров народного потребления и методы ее контроля” Госстандарта России (приказ Госстандарта России от 01.08.2002 г. № 175), по инициативе которого был создан оригинальный и наиболее современный метод обнаружения ГМО, ставший одним из двух действующих в настоящее время национальных стандартов. Другим стандартом²⁹ является ГОСТ Р 52173-2003 “Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения”. Оба эти национальные стандарта были приняты Постановлением Госстандарта РФ от 29.12.2003 г. № 403-ст.

ГОСТ Р 52173-2003 “Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения” [160]

Метод был разработан группой западных ученых, прошел в 1998 г. валидацию в ходе межлабораторных испытаний IUPAC³⁰ и был опубликован в Journal of AOAC International [161]. Существенно, что этот метод идентификации ГМИ в растениях был предложен применительно лишь к двум культурам – к генетически модифицированным сое и кукурузе. Метод основан на использовании полимеразной цепной реакции (ПЦР) и направлен на идентификацию в продуктах питания “технологического мусора” (в данном случае регуляторных элементов), который представляет собой две различные последовательности ДНК. Одна из них (35S) является фрагментом [промотора](#) вируса мозаики цветной капусты, а вторая – частью NOS-терминатора из бактерии *Agrobacterium tumefaciens*. В настоящее время может считаться не перспективным из-за ориентации авторов на устаревшие к настоящему времени технологии получения ГМО.

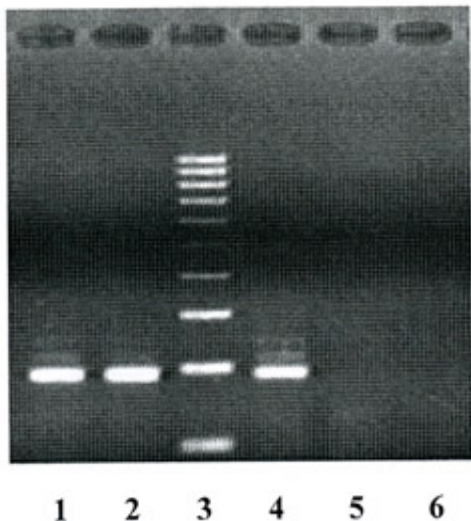
Область применения. Метод распространяется на пищевые продукты растительного происхождения, полученные из ГМО, продукты их переработки, а также на продукты, содержащие их, и предназначен для идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения.

Метод основан на полимеразной цепной реакции (ПЦР) с соответствующими праймерами.

Обнаружение ГМО осуществляют следующим образом. В микроцентрифужных пробирках вместимостью 1,5 см³ готовят смесь № 1, состоящую из 52,5 мм³ 10× реакционного буфера для ПЦР с MgCl₂, 26 мм³ смеси нуклеотидов, 13 мм³ праймера на промотор 35S-1 (концентрацией 20 мкМ), 13 мм³ праймера на промотор 35S-2 (концентрацией 20 мкМ), 2,5 мм³ фермента Taq1-ДНК полимеразы (концентрацией 5 ед./мм³), 52,5 мм³ раствора БСА и 260 мм³ деионизированной воды и смесь № 2, состоящую из 52,5 мм³ 10× реакционного буфера для ПЦР с MgCl₂, 26 мм³ смеси нуклеотидов, 13 мм³ праймера на терминатор NOS-1 (концентрацией 20 мкМ), 13 мм³ праймера на терминатор NOS-2 (концентрацией 20 мкМ), 2,5 мм³ фермента Taq-ДНК полимеразы (концентрацией 5 ед./мм³), 52,5 мм³ раствора БСА и 260 мм³ деионизированной воды. Смеси перемешивают в течение 5 сек на аппарате для встряхивания, не допуская образования пены или пузырьков и центрифугируют на настольной микроцентрифуге 30 сек при 3000 об/мин. Реакционные смеси № 1 и № 2 разливают по 90 мм³ в пять разных чистых микроцентрифужных пробирок вместимостью 0,2 см³ (или 0,5 см³, в зависимости от типа используемого ДНК-амплификатора) для проведения ПЦР. Реакционные смеси № 1 и №2 готовят непосредственно перед проведением ПЦР.

В первые две пробирки с реакционной смесью № 1 и первые две пробирки с реакционной смесью № 2 добавляют дозатором раствор ДНК, выделенной из испытуемого продукта. В третью пробирку с реакционной смесью № 1 и в третью пробирку с реакционной смесью № 2 добавляют по 0,5 мм³ раствора ДНК, выделенной из стандартного образца состава генетически не модифицированного источника пищи растительного происхождения (Certified Reference Material IRMM³¹ № 410R³². SB-0). В четвертую пробирку с реакционной смесью № 1 и в четвертую пробирку с реакционной смесью № 2 добавляют по 0,5 мм³ раствора ДНК, выделенной из стандартного образца состава генетически модифицированного источника пищи растительного происхождения (Certified Reference Material IRMM № 410R. SB-5). В пятую пробирку с реакционной смесью № 1 и в пятую пробирку с реакционной смесью № 2 ничего не добавляют – холостой опыт. В каждую пробирку со смесью добавляют, не перемешивая, по одной капле (20-40 мм³) масла вазелинового по ГОСТ 3164.

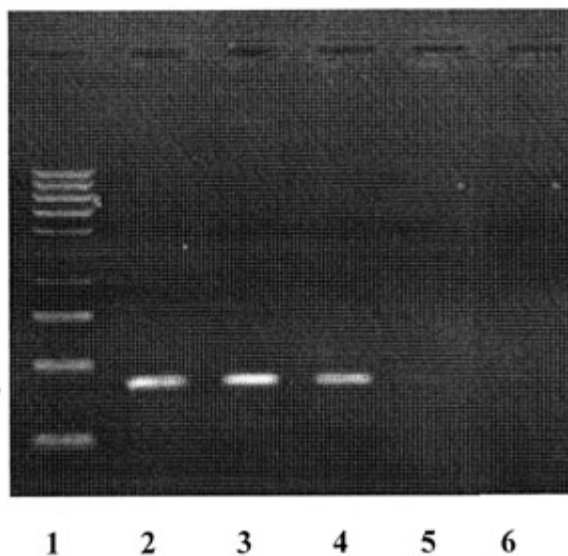
195 п.н.



Все пробирки со смесями помещают в ДНК-амплификатор для проведения ПЦР. Амплификация для праймеров на промотор 35S и терминатор NOS приводится по специальной программе, различной для разного типа амплификаторов. По окончании ПЦР из каждой микроцентрифужной пробирки осторожно из-под слоя вазелинового масла отбирают по 4 мм³ смеси и переносят в отдельный карман геля. В отдельный карман геля вносят 4 мм³ маркера молекулярной массы ДНК. Гель помещают в камеру прибора для проведения горизонтального электрофореза, заполненную буфером ТБЕ 1×. Электрофорез проводят при напряженности электрического поля 6 В/см геля в условиях стабилизации напряжения в течение 65 мин. Визуализацию

продуктов ПЦР после гель-электрофореза осуществляют с помощью видеосистемы (например, "Gel Doc 2000™ Gel Documentation System", "Bio-Rad Laboratories" (США), кат. № 900-7980) предназначенной для ввода в компьютер, анализа и документирования изображений люминисцирующих следов ДНК в гелях, окрашенных бромидом этидия: диапазон излучения 300- 400 нм, чувствительность – не менее 10 нг ДНК (по бромиду этидия). Результат идентификации в виде файл-паспорта сохраняется на жестком магнитном носителе и может быть выведен на видеомонитор или принтер. Примеры полученных изображений приведены ниже.

180 п.н.



Обработка результатов анализа. В пробе со стандартом ГМИ (ДНК, выделенная из стандартного образца генетически модифицированного источника пищи растительного происхождения (Certified Reference Material IRMM № 410R. SB-5), содержащего промотор 35S) должна присутствовать окрашенная полоса, размер ПЦР-продукта, формирующего эту полосу на гель-электрофореграмме, составляет 195 п.о. Проба со стандартом без ГМИ (ДНК, выделенная из стандартного образца генетически не модифицированного источника пищи растительного происхождения (Certified Reference Material IRMM № 410R. SB-0) и холостой опыт не должны содержать ПЦР-продуктов, формирующих на гель-электрофореграмме полосы размером 195 пн. В пробе со стандартом ГМИ (ДНК, выделенная из стандартного образца генетически модифицированного источника пищи растительного происхождения (Certified Reference Material IRMM № 410R. SB-5), содержащего терминатор NOS, должна присутствовать окрашенная полоса, размер ПЦР-продукта, формирующего эту полосу на гель-электрофореграмме, составляет 180 пн. Проба со стандартом без ГМИ (ДНК, выделенная из стандартного образца генетически не модифицированного источника пищи растительного происхождения (Certified Reference Material IRMM №

410R. SB-0) и холостой опыт не должны содержать ПЦР-продуктов, формирующих на геле-электрофореграмме полосы размером 180 п.о.

Интерпретация результатов. Для контроля результатов идентификации используют положительный контроль – раствор ДНК, выделенной из стандартного образца состава генетически модифицированного источника пищи растительного происхождения (Certified Reference Material IRMM № 410R. SB-5), и два отрицательных контроля – холостой опыт и раствор ДНК, выделенной из стандартного образца состава генетически не модифицированного источника пищи растительного происхождения (Certified Reference Material IRMM № 410R. SB-0). Обнаружение в исследуемой пробе ПЦР-продуктов размером 195 и 180 пн свидетельствует о наличии генетически модифицированных источников в продукте. Отсутствие в исследуемой пробе ПЦР-продуктов размером 195 и 180 пн свидетельствует об отсутствии генетически модифицированных источников в продукте. В то же время, обнаружение в отрицательных контролях ПЦР-продуктов размером 195 и/или 180 пн свидетельствует о получении ложно-положительного результата. Это возможно при загрязнении ГМИ оборудования и/или реактивов. В этом случае необходимо обработать поверхности лабораторных столов и дозаторов раствором 1 н. HCl, заменить реактивы на свежеприготовленные, повторить амплификацию. Отсутствие же в положительном контроле ПЦР-продуктов размером 195 и/или 180 пн свидетельствует о получении ложно-отрицательного результата. Это возможно в случае потери активности одного из компонентов реакционной смеси для ПЦР. В этом случае необходимо заменить реактивы на свежеприготовленные и повторить амплификацию.

ГОСТ Р 52174-2003 "Биологическая безопасность. Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения с использованием биологического микрочипа" [162]

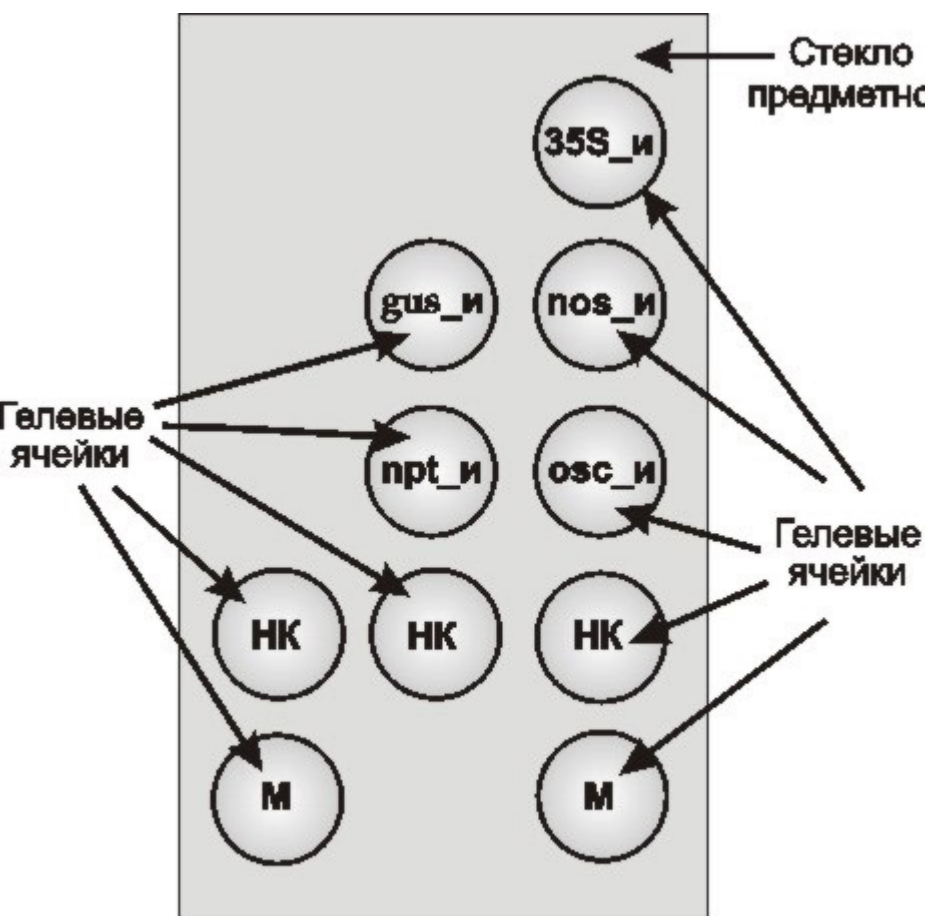
На сегодняшний день известно, что получившая распространение методика обнаружения ГМО на основе тестирования одного промотора (35S) и одного терминатора (*nos*) с помощью традиционной ПЦР имеет ряд недостатков и, следовательно, малоэффективна, так как в настоящее время значительная доля (до 30–50%) трансгенных растений создается с применением иных промоторов и терминаторов. Кроме того, использование в качестве маркеров фрагментов ДНК фитопатогенов может приводить к ложно-положительным результатам в случае, если исходные растения были заражены соответствующими вирусами и/или бактериями. Выявляемые с помощью традиционной ПЦР фрагменты ДНК имеют длину около 200 пн, что означает, что в случае распада ДНК, например, при термической обработке исходного сырья, до фрагментов меньшей длины данный метод идентификации трансгенов оказывается непригодным. Также серьезным недостатком метода традиционной ПЦР является визуальный характер оценки результатов, что может приводить к их ложной интерпретации и не позволяет определять количественные соотношения. Следует отметить, что описанная методика ПЦР, использующая в качестве ДНК-мишеней две детерминанты трансгенности, малоперспективна, так как в связи с рекомендациями ВОЗ и ФАО намечается отказ от применения в практике генетической инженерии растений регуляторных фрагментов ДНК из патогенных микроорганизмов.

Для устранения недостатков известных методов силами ученых двух институтов Российской академии наук³³ была успешно осуществлена разработка принципиально нового метода идентификации генетически модифицированных источников в сырье и продуктах питания для оценки их биобезопасности. Метод основан на новейшей технологии микрочипов.

На основе этого метода был разработан ГОСТ Р 52174-2003 "Биологическая безопасность. Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения с использованием биологического микрочипа", который в 2003 году принят Госстандартом РФ в качестве национального стандарта.

Область применения. Метод распространяется на растительное сырье и пищевые продукты растительного происхождения, полученные из генетически модифицированных растений, и предназначен для идентификации генетически модифицированных растений и продуктов на их основе.

Метод основан на методологии идентификации генетических детерминант трансгенности с помощью гибридизации на микрочипах, в ячейках которых иммобилизованы фрагменты маркерных последовательностей ДНК, характерных для большинства трансгенных растений. Метод позволяет одним



испытанием с высокой чувствительностью определить наличие большого числа различных наиболее вероятных генетических детерминант трансгенности. Он позволяет проводить постоянное дальнейшее увеличение охвата вероятных трансгенных последовательностей ДНК без повышения длительности и трудоемкости анализа.

В этом методе предложено использование мультиплексной ПЦР для одновременной амплификации фрагментов генов и регуляторных элементов, используемых при трансформации растений. Детекцию присутствия или отсутствия набора трансгенных последовательностей ДНК проводят с помощью однократной гибридизации на специально подобранных олигонуклеотидах-зондах ([Таблица. 1](#)), иммобилизованных на изготовленных для этой цели биологических микрочипах. Метод включает также способы регистрации и интерпретации результатов анализа.

Сущность метода заключается в новом подходе для обнаружения генетических детерминант трансгенности в растительном материале и продуктах на его основе, с использованием олигонуклеотидного биологического микрочипа. Метод основан на мультиплексной ПЦР с использованием высокоспецифичных праймеров, комплементарных последовательностям исследуемых генов и регуляторных элементов, с последующей гибридизацией этих фрагментов на биологическом микрочипе, содержащем оригинальный набор дифференцирующих олигонуклеотидов. Микрочипы производит Центр биологических микрочипов ИМБ РАН. Схема микрочипа и соответствующие пояснения приведены на рисунке.

Биологические микрочипы представляют собой массив микроячеек гидрогеля, закрепленных на поверхности стекла. В ячейках иммобилизован набор олигонуклеотидов, гомологичных трансгенным последовательностям ДНК. Каждая из ячеек содержит индивидуальный ковалентно иммобилизованный олигонуклеотид, причем иммобилизованные олигонуклеотиды имеют иную последовательность, чем [праймеры](#) на те же гены. Кроме того, на микрочипе расположены ячейки с неспецифическими олигонуклеотидами (с индексом "НК"), выполняющие роль отрицательного контроля гибридизации, а также две ячейки (с индексом "М"), маркированные флуоресцентным красителем и предназначенные для правильной ориентации микрочипа. Позиция на биочипе всех ячеек (как опытных, так и контрольных) строго детерминирована. Поверхность микрочипа, на которой расположены микроячейки, закрыта пластиковым корпусом гибридизационной камеры, которая вместе со стеклом образует замкнутое пространство, служащее для проведения гибридизации. Корпус камеры снабжен отогнутым краем для

удаления камеры после проведения гибридизации и двумя отверстиями для внесения образца, которые герметизируются при помощи липкой ленты.

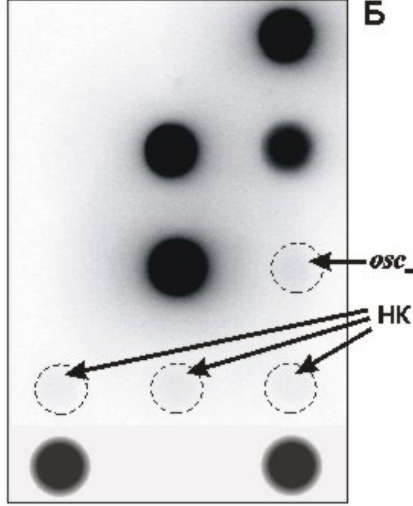
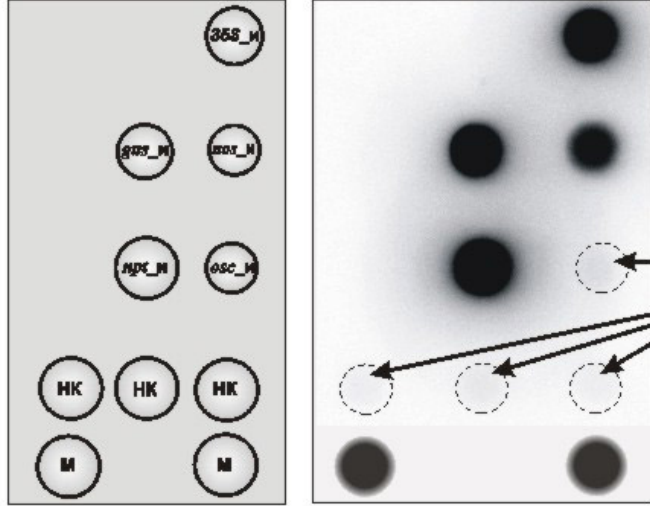
Исучаемые фрагменты ДНК образуют совершенные стабильные гибридизационные дуплексы только с соответствующими (полностью комплементарными) олигонуклеотидами. Со всеми остальными олигонуклеотидами изучаемые фрагменты ДНК могут формировать лишь нестабильные несовершенные дуплексы. Дифференциацию совершенных и несовершенных дуплексов выполняют путем сравнения интенсивностей флуоресценции ячеек, в которых образовались дуплексы. Интенсивность сигнала в ячейке, в которой образовался совершенный гибридизационный дуплекс, во много раз выше, чем в ячейке, где мог формироваться лишь несовершенный дуплекс. При этом детерминированный порядок расположения олигонуклеотидов в ячейках биочипа дает возможность установить, какие именно маркерные гены и регуляторные элементы входят в состав трансгенной ДНК. Результаты гибридизации могут быть интерпретированы однозначно как визуально, так и с помощью программы "Imageware", входящей в состав аппаратно-программного комплекса "Чипдетектор-03" для анализа флуоресцентных изображений, получаемых на биологических микрочипах.

Применение высокоспецифичных праймеров позволяет амплифицировать фрагменты небольшого размера – около 100 пн – трансгенной ДНК, если таковая присутствует в геноме испытуемого источника. Получаемые одноцепочечные флуоресцентно-меченые фрагменты ДНК способны вступать в специфическое гибридизационное взаимодействие с олигонуклеотидами, иммобилизованными на биологическом микрочипе. Известный порядок расположения олигонуклеотидов на биологическом микрочипе дает возможность установить, какие именно маркерные гены и регуляторные элементы входят в состав трансгенной ДНК. Разработанные условия гибридизации обеспечивают высокую степень дифференциации между теми ячейками биологического микрочипа, где произошла гибридизация, и теми, где специфических гибридов не возникло. Дизайн праймеров и олигонуклеотидов обеспечивает абсолютную специфичность их взаимодействия с искомыми трансгенными последовательностями ДНК. При этом иммобилизованный олигонуклеотид имеет иную последовательность, чем праймеры для амплификации, что исключает возможность гибридизации в ячейке какой-либо случайно амплифицированной флуоресцентно-меченой ДНК. Визуальная регистрация результатов гибридизации дополнена количественной регистрацией на основе специально приспособленной компьютерной программы, позволяющей точно определить степень превышения сигнала над уровнем фона.

Принципиальная схема обнаружения фрагментов трансгенной ДНК. К выделенной из образца ДНК добавляют несколько пар праймеров, специфичных к консервативным областям маркерных генов и регуляторных участков ДНК, обычно используемых при трансформации растений. Проводят реакцию мультиплексной ПЦР в выбранном режиме. Накопление флуоресцентно-меченных одноцепочечных ПЦР-продуктов достигается за счет избытка в каждой из пар одного из праймеров, содержащего на 5'-конце флуоресцентную метку. Полученные продукты ПЦР гибридизуют на биологическом микрочипе с иммобилизованными зондами, комплементарными последовательностям фрагментов детектируемых генов и/или регуляторных элементов.

Обнаружение ГМО осуществляют следующим образом. Непосредственно перед анализом готовят смесь в микропробирках для проведения мультиплексной ПЦР, в состав которой входят: реакционный буфер для ПЦР; смесь дезоксинуклеотид-трифосфатов в концентрации 200 мкМ каждого; несколько пар праймеров в количестве 5–10 пмоль для флуоресцентно-меченных праймеров и 0,5–2 пмоль для немеченых праймеров; 12,5 единиц активности термостабильной Taq ДНК-полимеразы, а также испытуемая суммарная ДНК в количестве 1–3 мкг на пробу. Микропробирки помещают в программируемый термостат-термоциклер и проводят реакцию ПЦР в следующем режиме: денатурация при 95° С – 30 с (в первом цикле – 5 мин), отжиг при 60 (± 5)° С – 30 с, элонгация при 72° С – 30 с (в последнем цикле – 5 мин), всего порядка 35–45 циклов.

Для проведения гибридизации аликвотную часть образца, полученного в результате ПЦР, смешивают с буфером гибридизации с доведением компонентов последнего до следующих концентраций: GuSCH – 1 М, HEPES, pH 7,5 – 50 мМ, EDTA – 5 мМ. Полученную смесь помещают на биологический



микрочип, герметично закрывают гибридационной камерой и проводят гибридацию при 37° С в течение 14–18 часов. После гибридации микрочип трижды промывают дистиллированной водой при 25° С и высушивают. Регистрацию гибридационной картины осуществляют, используя приборно-программный комплекс “Чипдетектор” с помощью программы Imageware. Интерпретация результатов гибридации осуществляется путем сравнения

интенсивности флуоресцентного сигнала в ячейках 35S_и, gus_и, nos_и, npt_и, ocs_и с интенсивностью сигнала в ячейках НК, служащих отрицательным контролем. Если отношение хотя бы одного из этих сигналов превышало пороговое значение, определяемое для каждой из анализируемых ячеек и задаваемое в программе Imageware, то следует заключение о том, что исследуемый образец является трансгенным. На рисунке приведен результат гибридации на биологическом микрочипе.

Обнаружение маркерных генов *npt* и *gus*, промоторов *nos* и 35S в образце ДНК из картофеля сорта Desiree позволяет заключить, что этот картофель является трансгенным.

Стандарт допускает использование реактивов и аппаратуры других производителей, однако их квалификация должна быть не ниже указанной в стандарте.

Введение в действие с 1 июля 2004 г. ГОСТ Р 52174-2003 направлено на нормализацию положения в России в области оценки биобезопасности продуктов питания, на реализацию требований действующего законодательства РФ.

Тема 3. Законодательство стран СНГ

Законодательство Республики Беларусь

Наиболее подробно законодательство по обеспечению биобезопасности ГМО разработано в Республике Беларусь, основой которого Закон “О безопасности генно-инженерной деятельности” [163]. Большинство проектов законодательных актов по биобезопасности было разработано и обсуждено общественностью в ходе выполнения совместного проекта правительства Республики Беларусь, Программы ООН по окружающей среде и Глобального экологического фонда (проекта ЮНЕП-ГЭФ).

В этом законе впервые раскрыто содержание важнейших понятий в области ГИД, которые имеют значение для правильного формирования и развития нормативно-правовой базы в этой области отношений. Его положения не распространяются на отношения, связанные с применением методов генетической инженерии к человеку, его органам и тканям, а также обращением с фармацевтическими препаратами, продовольственным сырьем и пищевыми продуктами, кормами для животных, полученными из генно-инженерных организмов или их компонентов, которые регулируются специальным законодательством о здравоохранении. Не претендуя на всеобъемлющее урегулирование ГИД, он устанавливает основы правового регулирования четырех групп общественных отношений, соответствующим главным направлениям ГИД, сложившимся в мировой практике: а) осуществление ГИД в замкнутых системах; б) высвобождение ГМО в окружающую среду для проведения испытаний, т.е. для оценки и отбора полезных и безопасных для человека улучшенных сортов растений и пород животных на специально обустроенных территориях; в) использование полученных результатов в хозяйственной деятельности; г) перемещение различных ГМО через границу Республики Беларусь, т.е. ввоз, вывоз и транзит, например, семян сельскохозяйственных культур, клубней картофеля и др. Согласно закону любой из этих видов ГИД может выполняться только при соблюдении следующих основополагающих принципов:

- принятие мер предосторожности при осуществлении ГИД;
- сохранение биологического разнообразия и естественных экологических систем;
- научно обоснованный, интегрированный и индивидуальный подход при оценке риска возможных неблагоприятных последствий ГИД для здоровья человека и состояния окружающей среды;
- ответственность за нарушение законодательства в области безопасности ГИД;
- доступ граждан и общественных объединений к информации в области безопасности ГИД;
- международное сотрудничество в области безопасности ГИД.

Основополагающими законами Республики Беларусь в области безопасности ГИД в замкнутых системах являются Закон "О здравоохранении" [164], определяющий государственную политику в области охраны здоровья граждан Республики Беларусь, правовые, социально-экономические и организационные основы системы здравоохранения и Закон "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения" [165], регулирующий общественные отношения в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения Республики Беларусь, сохранения и укрепления здоровья, физического, духовного развития и долголетней активной жизни людей. Последний определяет компетенцию республиканских и местных органов государственной власти и управления в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения; обязанности предприятий, учреждений, организаций и иных хозяйствующих субъектов независимо от их подчиненности и форм собственности, общественных объединений, должностных лиц и граждан по соблюдению санитарных норм, правил, гигиенических нормативов и проведению санитарно-гигиенических, профилактических, противоэпидемиологических и противорадиационных мероприятий, а также систему государственного контроля и надзора; виды ответственности за нарушения санитарного законодательства.

В целях обеспечения постоянного контроля за соблюдением требований биологической безопасности и режима работы с патогенными для человека, в том числе ГМ, микроорганизмами в лабораториях учреждений Министерства здравоохранения Беларуси используется 15 различных нормативно-правовых и инструктивно-методических документов (Таблица 2.) в том числе ряд нормативных документов, разработанных еще в СССР и не противоречащих действующему законодательству. Они сохраняют юридическую силу в нашей стране до принятия на их основе национальных нормативно-правовых актов в данной области.

Высвобождение ГМО в окружающую среду для проведения испытаний в Республике Беларусь регулируется Законом "Об охране окружающей среды" [166]. В нем содержится статья 49 "Требования в области охраны окружающей среды к деятельности, которая оказывает или может оказывать вредное биологическое воздействие на окружающую среду". Согласно этой статье "интродукция, акклиматизация, выращивание, разведение и использование растений, животных, не свойственных естественным экологическим системам, а также созданных искусственным путем без разработки мер по предотвращению их вредного воздействия на естественные экологические системы, получения положительных заключений соответствующих экспертиз и (или) разрешений, в соответствии с законодательством Республики Беларусь запрещаются...". В этой статье имеется отсылочная норма к специальному законодательству, касающемуся высвобождения ГМО в окружающую среду, в котором названные требования должны быть конкретизированы (Таблица 3.).

В статье 17 Закона Республики Беларусь "О безопасности генно-инженерной деятельности" предусматривается, что испытания ГМО при их первом высвобождении в окружающую среду должны осуществляться на специально оборудованных участках по испытанию ГМО (контролируемое высвобождение). Требования к участкам по испытанию ГМО определяются нормативными правовыми и техническими нормативными правовыми актами, принимаемыми Министерством природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь по согласованию с Национальной академией наук Беларуси, в частности Порядком аккредитации полигонов для проведения контролируемого высвобождения ГМО в окружающую среду.

Государственная экспертиза безопасности ГМО проводится в соответствии с Положением о порядке организации и проведения государственной экспертизы безопасности ГМО. Эксперты в своей работе руководствуются Методическими указаниями по оценке риска ГИД (проекты документов разработаны в ходе выполнения проекта ЮНЕП-ГЭФ). Разрешение на высвобождение ГМО в окружающую среду может быть отозвано или приостановлено в случае нарушения юридическими лицами законодательства Республики Беларусь в области биобезопасности, а также в случае получения дополнительной достоверной информации о неблагоприятном воздействии данных ГМО на здоровье человека и состояние окружающей среды. Решение о приостановлении или аннулировании действия разрешения на высвобождение ГМО в окружающую среду доводится до заявителя в письменной форме.

В соответствии с Законом Республики Беларусь "О безопасности генно-инженерной деятельности" [163] под термином "использование ГМО в хозяйственной деятельности" понимают: "разведение и (или) выращивание (культивирование) ГМ-сортов растений, пород животных, штаммов микроорганизмов для производства сельскохозяйственной и микробиологической продукции, а также в иных хозяйственных целях" (Таблица 4.).

В соответствии с Законом Республики Беларусь "О патентах на сорта растений" от 13 апреля 1995 года [167] ГМ-сорта растений относятся к категории сортов, существенным образом наследующих признаки другого сорта (ст. 7). В связи с этим любой ГМО, представляющий селекционный интерес, чтобы быть включенным в Государственный реестр охраняемых сортов растений Республики Беларусь и получить, таким образом, правовую защиту должен пройти процедуру патентования. Согласно Закону Республики Беларусь "О семенах" от 14 февраля 1997 года [168], семена сортов с/х растений и древесно-кустарниковых пород могут использоваться на посевные цели только после того, как они включены в Государственный реестр или признаны перспективными и если иное не предусмотрено этим законом и другими актами законодательства Республики Беларусь. Для определения хозяйственной ценности и других свойств сортов с/х растений и древесно-кустарниковых пород с целью рекомендации их для использования в производстве в Беларуси проводится государственное сортоиспытание, результаты которого учитываются как при патентной экспертизе заявки на сорт (в соответствии с Законом о патентах на сорта растений), так и являются основанием для их включения или не включения в Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород Республики Беларусь.

Проблема государственной регистрации и оборота генно-инженерных сортов растений, предназначенных для непосредственного использования в качестве пищевого сырья, продуктов питания, кормов или для переработки (т.е. завозимых из-за рубежа семян сортов, высвобождение которых в окружающую среду не предполагается) заслуживает отдельного внимания. Специальная процедура государственной регистрации таких сортов в существующем законодательстве не предусмотрена. Поэтому их ввоз в Республику Беларусь осуществляется в соответствии с требованиями статьи 11 Картахенского протокола [113] по биобезопасности и требованиями существующего законодательства, регулирующего ввоз пищевого сырья, продуктов питания и кормов. Речь, в частности, идет о соблюдении фитосанитарных норм, процедуре государственной регистрации согласно постановлению Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 2 сентября 2003 года "О государственной гигиенической регламентации и регистрации продовольственного сырья и пищевых продуктов, полученных из или с использованием генетически модифицированных источников".

Законодательство Республики Украина

На Украине система государственного регулирования вопросов, связанных с ГИД, практически отсутствует. До вступления в силу 21 июня 2007 г. закона № 1103-V "О государственной системе биобезопасности при создании, испытании, транспортировании и использовании генетически модифицированных организмов" нормативных актов, посвященных этим вопросам, не было. Этим законом определяются правовые и организационные основы регулирования общественных отношений в области обращения с ГМО с целью их безопасного высвобождения в окружающую природную среду, предупреждения возможного отрицательного влияния ГМО и продукции, произведенной с их применением,

на здоровье человека. Данным документом устанавливается необходимость лицензирования генетически-инженерной деятельности в замкнутой системе, государственной регистрации ГМО, сортов сельскохозяйственных растений и продукции, полученной с применением ГМО. Согласно проекту процедуру государственной регистрации осуществляют центральные органы исполнительной власти в зависимости от хозяйственного назначения ГМО.

Постановлением Кабинета Министров Украины от 1 августа 2007 г. № 985 "Вопрос оборота пищевых продуктов, которые содержат генетически модифицированные организмы и/или микроорганизмы" [169], изданным во исполнение Законов Украины "О защите прав потребителей" и "О детском питании" и с целью гармонизации законодательства Украины с нормами Европейского Союза Кабинет Министров Украины, с 1 ноября 2007 г. определен порядок ввоза и реализация пищевых продуктов, которые содержат ГМО и/или ГМ-микроорганизмы в количестве более 0,9%, необходимость наличия соответствующего их маркирования и указания качественного состава таких продуктов. Ввоз, производство и реализация пищевых продуктов, которые содержат ГМО и/или ГМ-микроорганизмы и предназначены для детского питания, этим Постановлением запрещены.

Законодательство Республики Молдова

Виды деятельности, связанные с получением, испытанием, производством, использованием и реализацией организмов, генетически модифицированных с применением методов современной биотехнологии в Республике Молдова регламентирует закон от 21.12.2001 г. № 755-XV "О биологической безопасности" [170]. При этом подчеркивается, что человеческий организм объектом генетических модификаций быть не может. Введенный этим законом специальный режим регулирования, разрешения и управления указанными видами деятельности призван обеспечить их осуществление в условиях биологической безопасности, позволяющих предупредить, исключить или уменьшить риск неблагоприятного воздействия генетически модифицированных организмов на здоровье человека, биологическое разнообразие, экологическое равновесие и качество окружающей среды. В то же время, под действие этого закона не подпадают организмы, полученные путем генной инженерии, предусмотренные в Положении о разрешении и лицензировании видов деятельности, связанных с получением, испытанием, использованием и реализацией ГМО, очищенные продукты, в том числе фармацевтические препараты, предназначенные для человека и для использования в ветеринарии, деятельность по транспортировке независимо от способа транспортировки, а также операции по реализации и импорту/экспорту, которые регламентируются другими нормативными актами.

Законом установлены классы риска для замкнутых систем в зависимости от степени потенциальной опасности для здоровья человека и окружающей среды, возникающей при осуществлении регулируемых им видов деятельности, определен круг допускаемых к ним физических и юридических лиц, а также установлено, что разрешение на эти виды деятельности выдается Национальной комиссией по биологической безопасности. Законом также определена организационная структура обеспечения биологической безопасности в Республике Молдова, процедура разрешения преднамеренного внесения ГМО в окружающую среду, порядок выпуска на рынок и импорта/экспорта ГМО и производных от них продуктов, обязательность информирования и консультирования с общественностью, а также определена ответственность за нарушение законодательства.

Законодательство Республики Казахстан

Основой законодательства, регулирующего биобезопасность ГМО и продуктов содержащих их производные в Республики Казахстан является Закон от 08.04.2004 г. №543-II "О качестве и безопасности пищевых продуктов" [171]. Этим законом также определены основные понятия, связанные с биобезопасностью пищевых продуктов, установлено, что на территории страны в обороте могут находиться продукты, материалы и изделия, соответствующие требованиям нормативных документов и прошедшие государственную регистрацию в порядке, установленном законодательством Республики Казахстан. Закон определил средства, путем которых достигается обеспечение качества и безопасности пищевых продуктов,

материалов и изделий, установил обязанность физических и юридических лиц, осуществляющих деятельность по обороту пищевых продуктов, материалов и изделий, предоставлять полную и достоверную информацию об их качестве и безопасности, а также обязанность уполномоченных органов в области стандартизации, метрологии и сертификации, санитарно-эпидемиологического благополучия населения, ветеринарии и фитосанитарии обеспечивать последних такой информацией в пределах своей компетенции. В законе определены обязанности органов государственной власти в области обеспечения качества и безопасности пищевых продуктов, материалов и изделий, а также установлены нормативные акты, которыми определяются требования к безопасности по обороту пищевых продуктов, материалов и изделий. Этим же законом введена государственная регистрация пищевых продуктов, материалов и изделий и определен ее порядок, определены государственные органы, призванные осуществлять надзор и контроль в области обеспечения качества и безопасности пищевых продуктов, материалов и изделий, определены общие требования к качеству и безопасности пищевых продуктов (в том числе и содержащих ГМИ) от разработки до реализации, а также к продукции, ввозимой на территорию Республики Казахстан, установлен порядок изъятия из оборота некачественных и опасных пищевых продуктов, материалов и изделий, их утилизации и уничтожения, прописаны права и обязанности физических и юридических лиц, осуществляющих деятельность по их обороту. Законом также установлена ответственность за нарушение законодательства Республики Казахстан о качестве и безопасности пищевых продуктов.

Законодательство Республики Таджикистан

Государственное регулирование ГИД в Республике Таджикистан осуществляется в соответствии с Законом "О биологической безопасности" [172]. Принятие этого закона стало важным этапом для создания правовой основы регулирования деятельности, связанной с созданием, использованием и распространением ГМО в Таджикистане, после присоединения республики к Картахенскому протоколу по биобезопасности и подготовке Национального рамочного документа по биобезопасности. Этот закон регулирует в Таджикистане деятельность по разработке, испытанию, производству, импорту, экспорту и выпуску на рынок и в окружающую среду ГМО, направлен на уменьшение риска неблагоприятного воздействия ГМО на здоровье человека, биологическое разнообразие, экологическое равновесие и состояние окружающей среды. Его положения распространяются на виды деятельности, связанные с:

- получением, размножением, импортом, экспортом, испытанием и использованием в замкнутых системах в различных целях микроорганизмов, растений и животных, генетически модифицированных с применением методов [современной биотехнологии](#);
- преднамеренным внесением в окружающую среду и выпуском на рынок живых организмов, генетически модифицированных с применением методов современной биотехнологии, включая любые живые структуры, способные воспроизводить организмы, каковыми являются семена, клубни, черенки, пыльца, споры и др;
- непреднамеренным внесением в окружающую среду ГМО;
- преднамеренным внесением в окружающую среду и выпуском на рынок переработанных продуктов, содержащих ГМО и/или неживые компоненты живых ГМО в переработанном виде или переработанных;
- любым видом исследований ГМО, включая лабораторные, клинические, полевые, опытно-промышленные;
- непреднамеренным или незаконным трансграничным перемещением ГМО;
- -хранением, захоронением, уничтожением ГМО и/или производных от них продуктов, утилизацией отходов, являющихся результатом применения методов современной биотехнологии;
- -операциями по преднамеренному импорту и экспорту ГМО и производных от них продуктов.

Под действие Закона не попадают организмы, полученные путем [генной инженерии](#), предусмотренные в Положении о разрешении и лицензировании видов деятельности, связанных с получением, испытанием, использованием и реализацией генетически модифицированных организмов,

очищенные продукты, в том числе фармацевтические препараты, предназначенные для человека и для использования в отрасли ветеринарии, деятельность по транспортировке, независимо от способа транспортировки, а также операции по реализации, импорту и экспорту, которые регламентируются другими нормативными правовыми актами Республики Таджикистан.

Законом установлены классы риска для замкнутых систем в зависимости от степени потенциальной опасности для здоровья человека и окружающей среды, возникающей при осуществлении регулируемых им видов деятельности, введено лицензирование деятельности в области биологической безопасности, определены круг допускаемых к ним физических и юридических лиц и компетенция Правительства Республики Таджикистан и специально уполномоченного государственного органа в области регулирования отношений по обеспечению биологической безопасности. Законом также определены порядок использования ГМО в [замкнутых системах](#) и организационная система обеспечения биологической безопасности в Республике Таджикистан, процедура разрешения преднамеренного внесения ГМО в окружающую среду, порядок выпуска на рынок и импорта/экспорта ГМО и производных от них продуктов, обязанности пользователя ГМО в случае аварии, мероприятия при незаконном ввозе ГМО на территорию страны, процедура информирования общественности, а также определена ответственность за нарушение законодательства.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПРОВЕРКИ

Часть IV. Правовое регулирование биобезопасности ГМО

1. Когда была принята Конвенция о биологическом разнообразии?
2. Подписала ли Конвенция о биологическом разнообразии РФ?
3. Что представляет собой Картахенский протокол по биобезопасности?
4. В чем заключается суть Картахенского протокола?
5. Распространяется ли действие Картахенского протокола на ГМО или на ГМ сырье и полученные из него продукты?
6. Что обозначает понятие "живой измененный организм"?
7. Как понимать "принцип принятия мер предосторожности"?
8. Что дает присоединение страны к Картахенскому договору?
9. В чем заключается ответственность за нарушение обязательств, предусмотренных Картахенским протоколом?
10. Что дает Орхусская конвенция для защиты окружающей среды от коммерческого использования ГМО?
11. В чем заключается значение Международной конвенции по охране новых сортов растений?
12. Какие задачи решает Комиссия "Кодекс Алиментариус"?
13. В чем заключаются принципы анализа рисков и руководящие положения по оценке безопасности пищевых продуктов, провозглашенные Комиссией "Кодекс Алиментариус"?
14. Какова законодательная база регулирования биобезопасности в США?
15. Какие федеральные органы США вовлекаются в регулирование биобезопасности ГМО?
16. Какова система государственного регулирования биобезопасности ГМО в странах Евросоюза?
17. Какие законодательные акты определяют порядок государственного регулирования генно-инженерной деятельности в РФ?
18. Маркируются ли в России ГМ продукты питания?
19. Какие национальные стандарты идентификации трансгенов в сырье и в продуктах питания Вам известны?
20. В чем заключается суть метода идентификации трансгенов с использованием биологического микрочипа?
21. Какие методы количественной оценки трансгенов в сырье и продуктах питания Вам известны?

Таблица 1. Список олигонуклеотидов, иммобилизованных на микрочипе

Название олигонуклеотида	Детектируемая мишень	Последовательность олигонуклеотида [5'-NH ₂ -(B) _n]
35S_и	35S-промотор	5' GCC ATC ATT GCG ATA AAG G
gus_и	ген <i>gus</i>	5' CTG GTA TCA GCG CGA A
nos_и	терминатор <i>nos</i>	5' GCT AAG CAC ATA CGT CAG AA
npt_и	ген <i>nptII</i>	5' GGC AGC GCG GCT ATC
ocs_и	терминатор <i>ocs</i>	5' TTC TGT TGT GCA CGT TGT A

Таблица 2 Перечень актов законодательства Республики Беларусь, регулирующих безопасность работ с микроорганизмами разных групп патогенности в замкнутых системах *

п/п	Наименование законодательных актов
1.	Закон Республики Беларусь "О здравоохранении" от 18 июня 1993 г. (изменения и дополнения от 03.05.1996 г.; от 03.03.1997 г.; от 11.01.2002 г.)
2.	Закон Республики Беларусь "О санитарно-эпидемическом благополучии населения" от 23 ноября 1993 г. (изменения и дополнения от 15.07.1997 г.; от 09.07.1999 г.; от 23.05.2000 г.)
3.	Закон Республики Беларусь "О безопасности генно-инженерной деятельности" (проект закона принят в первом чтении Палатой представителей Национального собрания Республики Беларусь 29 апреля 2004 г.)
4.	Постановление Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 25 ноября 1997 г. № 25 "О комиссии по контролю за соблюдением требований биологической безопасности и противоэпидемического режима (режимная комиссия)"
5.	Санитарные правила по безопасности работ с микроорганизмами. Часть 1. Порядок выдачи разрешения на работу с микроорганизмами I—IV групп патогенности и рекомбинантными молекулами ДНК (СП 1.2.006-93)
6.	Санитарно-эпидемиологические правила "Безопасность работы с рекомбинантными молекулами ДНК". 1989 г.
7.	Санитарные правила "Безопасность работы с микроорганизмами I—II групп патогенности" (СП 1.2.011-94)

8.	Особенности методических приемов при работе с возбудителями инфекционных болезней человека I и II групп патогенности бактериальной этиологии (практическое руководство). 1989 г.
9.	Положение о порядке учета, хранения, обращения, отпуска и пересылки культур бактерий, вирусов, риккетсий, грибов, простейших, микоплазм, бактериальных токсинов, ядов биологического происхождения. 1980 г.
10.	Инструкция по режиму работы с аэрозолями возбудителей особо опасных и других бактериальных инфекций. 1977 г.
11.	Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения. 1981 г.
12.	Правила техники безопасности, производственной санитарии и санитарно-противо-эпидемического режима для предприятий по производству бактериальных и вирусных препаратов. 1980 г.
13.	Инструкция по соблюдению противоэпидемического режима в лабораториях диагностики СПИД. 1991 г.
14.	Инструкция по санитарно-эпидемическому контролю систем вентиляции производственных помещений. 1973 г.
15.	Инструкция по использованию кондиционеров при работе в заражном блоке. 1986 г.
16.	Методические рекомендации по определению коэффициента проницаемости фильтров по бактериальному аэрозолю. 1988 г.
17.	Инструкция о противоэпидемическом режиме работы с антибиотикоустойчивыми культурами ООИ. 1979 г.
18.	Общие принципы организации и медико-технические требования к проектированию лаборатории максимальной защиты при вирусологических исследованиях. 1987 г.

* С текстами законодательных актов, перечисленных в таблице, можно ознакомиться на сайте Национального координационного центра биобезопасности <http://biosafety.org.by/rus/legislation.html>

Таблица 3 Перечень актов законодательства Республики Беларусь, регулирующих безопасность при высвобождении генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний *

№ п/п	Наименование законодательных актов
1.	Закон Республики Беларусь от 6 мая 2002 г. "О присоединении Республики Беларусь к Картахенскому Протоколу по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии"

2.	Закон Республики Беларусь "Об охране окружающей среды" (в редакции закона от 17 июля 2002 г.)
3.	Закон Республики Беларусь "О безопасности генно-инженерной деятельности" (проект закона принят в первом чтении Палатой представителей Национального собрания Республики Беларусь 29 апреля 2004 г.)
4.	Закон Республики Беларусь от 6 мая 2002 г. "О присоединении Республики Беларусь к Картахенскому Протоколу по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии"
5.	Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 5 июня 2002 г. № 734 "О мерах по реализации положений Картахенского протокола по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии"
6.	Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 19 июня 1998 г. № 963 "О создании Национального координационного центра биобезопасности"
7.	Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 5 июня 2002 г. № 734 "О мерах по реализации положений Картахенского Протокола по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии"
8.	Порядок выдачи разрешений на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний (проект документа разработан в ходе выполнения проекта ЮНЕП-ГЭФ)
9.	Порядок аккредитации участков для проведения контролируемого высвобождения генно-инженерных организмов в окружающую среду (проект документа разработан в ходе выполнения проекта ЮНЕП-ГЭФ)
10.	Положение о порядке организации и проведения государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов (проект документа разработан в ходе выполнения проекта ЮНЕП-ГЭФ)

* Большинство актов законодательства, регулирующего безопасность при высвобождении генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний, в настоящее время находится на стадии разработки. С текстами законодательных актов, перечисленных в таблице, можно ознакомиться на сайте Национального координационного центра биобезопасности <http://biosafety.org.by/rus/legislation.html>

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПРОВЕРКИ

Часть I. Элементарные сведения о структуре генома эукариот и регуляции его экспрессии

1. Что такое ген? Что такое геном?
2. Какой ген называется структурным?
3. Какая ДНК называется спейсерной?
4. Что такое секвенирование генома?
5. Что такое дезоксирибонуклеотид? Чем отличается нуклеотид от нуклеозида?
6. Какие основания входят в состав ДНК?
7. Как происходит спаривание оснований в молекуле ДНК?

8. Что такое гистоны и негистоновые белки?
9. Какие функции выполняет ДНК?
10. Что такое генетический код?
11. Чем отличаются ДНК хлоропластов и митохондрий от ядерных ДНК?
12. Что такое репликация?
13. Какие ферменты являются ключевыми в репликации ДНК?
14. В каком процессе участвуют ДНК-хеликазы и топоизомеразы?
15. Что такое фрагменты Оказаки?
16. В каком направлении идет синтез ДНК?
17. Почему ДНК полимеразы используют РНК-затравку?
18. Какую роль играют ДНК-лигазы?
19. Какие типы РНК Вы знаете?
20. Чем отличается первичная структура РНК от первичной структуры ДНК?
21. Какие функции выполняют мРНК?
22. Какое строение имеет молекула тРНК?
23. Что такое кодон? Что такое антикодон?
24. Какие кодоны называются иницирующими и терминирующими?
25. Какие функции выполняют тРНК? Как тРНК узнает свое место в мРНК?
26. Для чего нужны рРНК?
27. Какой процесс называется транскрипцией?
28. Что такое РНК-полимеразы и какова их роль?
29. Какие этапы выделяют в транскрипции?
30. Что такое промотор?
31. Какое строение имеет промотор эукариот?
32. Зачем нужен терминатор?
33. Что служит матрицей для синтеза РНК?
34. Как РНК-полимераза находит промотор?
35. Что такое экзон? Что такое интрон?
36. Какой процесс называется процессингом?
37. Что такое экспонирование? Что такое полиаденилирование?
38. Что такое сплайсинг? Чем отличается пре-мРНК от зрелой мРНК?
39. Что такое альтернативный сплайсинг?
40. Какую функцию выполняет обратная транскриптаза?
41. В чем различие и сходство между транскрипцией и репликацией?
42. Что такое трансляция и из каких этапов она состоит?
43. Какое строение имеет рибосома? Что такое полирибосома?
44. Какова функция рибосом?
45. Как происходит активирование аминокислот?
46. Из чего состоит иницирующий комплекс?
47. Какой кодон является иницирующим?
48. Какая аминокислота является инициаторной у прокариот и эукариот?
49. Из каких процессов состоит один цикл элонгации?
50. Какие кодоны являются стоп-кодонами?
51. Что такое процессинг полипептидной цепи?
52. На каких уровнях возможна регуляция экспрессии генов?
53. Что такое промотор?
54. Как происходит регуляция транскрипции?
55. Из каких регуляторных компонентов состоит промотор эукариот?
56. Что такое цис-действующие элементы и транс-факторы?
57. Что такое энхансеры и сайленсеры?

58. Какую функцию выполняют вторичные мессенджеры?
59. Какие вещества являются вторичными мессенджерами?

Часть II. Технология создания генетически модифицированных организмов и перспективы их использования

1. Что такое генетически модифицированный (трансгенный) организм?
2. В чем сходство и различие между генной технологией, технологией рекомбинантных ДНК и методами генетической инженерии?
3. Назовите принципиальные этапы получения трансгенных растений.
4. Какой ген называется целевым?
5. Как выделяют интересующих генного инженера ген их живого организма?
6. Зачем получают кДНК копию гена?
7. Каким методом можно синтезировать целевой ген?
8. Что такое процесс трансформации?
9. Почему говорят, что *Agrobacterium tumifaciens* – это природный генный инженер?
10. Что такое Ti-плазида? Что такое T-ДНК?
11. Можно ли с помощью *A. tumifaciens* трансформировать однодольные растения?
12. Почему инфицирование растений с помощью *Agrobacterium* в природных условиях сопровождается образованием опухоли (галла)?
13. Какие методы прямой трансформации растений вы знаете?
14. Что такое трансплазмидные расчтения?
15. Каков ежегодный прирост площадей, занятых посевами трансгенных сортов с/х культур?
16. Какие виды с/х культур разрешены для коммерческого выращивания?
17. Какова доля площадей, занятых трансгенными растениями, приходится на сорта, устойчивые к гербицидам (к листогрызущим насекомым)?
18. Существуют ли коммерческие сорта с/х культур, устойчивые к повреждающим абиотическим факторам?
19. Можно ли трансгенные растения использовать для очистки окружающей среды от загрязнения?
20. Что такое съедобные вакцины?
21. Каковы фундаментальные основы существования реальных и потенциальных рисков при выращивании и использовании трансгенных организмов?
22. Что такое преютропный эффект встроенного трансгена?
23. Изменяется ли стабильность "работы" генома в результате процесса трансформации?

Часть III. Реальные и потенциальные риски при использовании генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов

1. Что такое биологическая безопасность?
2. Какова международная структура биобезопасности?
3. Какова цель процедуры оценки риска генно-инженерной деятельности?
4. Какие группы рисков Вам известны при выращивании трансгенных растений и использовании полученных из них продуктов?
5. Что представляют собой пищевые риски при использовании трансгенных продуктов?
6. Известны ли факты о токсическом и аллергенном воздействии трансгенных продуктов на животных и организм человека?

7. Как Вы оцениваете результаты экспериментов А. Пуштаи и В.А. Тутельяна о влиянии трансгенного картофеля на животных?
8. Аллергенны ли Bt-токсины?
9. Возможны ли нарушения вторичного метаболизма растений в результате трансформации?
10. Почему трансгенные растения содержат гены устойчивости к антибиотикам?
11. Существует ли риск передачи генов устойчивости к антибиотикам в геном симбионтов для человека бактерий?
12. В чем заключаются риски производства биологически активных веществ с помощью генетически модифицированных растений?
13. В чем заключаются экологические риски при коммерческом использовании трансгенных организмов?
14. Что такое суперсорняки?
15. Возможно ли негативное воздействие трансгенных организмов на стабильность природных популяций?
16. Возможно ли появление устойчивых популяций вредителей при выращивании трансгенных Bt-культур?
17. В чем заключаются агротехнические риски при коммерческом выращивании трансгенных сортов с/х культур?
18. Что такое терминаторные технологии?

Часть IV. Правовое регулирование биобезопасности ГМО

1. Когда была принята Конвенция о биологическом разнообразии?
2. Подписала ли Конвенция о биологическом разнообразии РФ?
3. Что представляет собой Картахенский протокол по биобезопасности?
4. В чем заключается суть Картахенского протокола?
5. Распространяется ли действие Картахенского протокола на ГМО или на ГМ сырье и полученные из него продукты?
6. Что обозначает понятие "живой измененный организм"?
7. Как понимать "принцип принятия мер предосторожности"?
8. Что дает присоединение страны к Картахенскому договору?
9. В чем заключается ответственность за нарушение обязательств, предусмотренных Картахенским протоколом?
10. Что дает Орхусская конвенция для защиты окружающей среды от коммерческого использования ГМО?
11. В чем заключается значение Международной конвенции по охране новых сортов растений?
12. Какие задачи решает Комиссия "Кодекс Алиментариус"?
13. В чем заключаются принципы анализа рисков и руководящие положения по оценке безопасности пищевых продуктов, провозглашенные Комиссией "Кодекс Алиментариус"?
14. Какова законодательная база регулирования биобезопасности в США?
15. Какие федеральные органы США вовлекаются в регулирование биобезопасности ГМО?
16. Какова система государственного регулирования биобезопасности ГМО в странах Евросоюза?
17. Какие законодательные акты определяют порядок государственного регулирования генно-инженерной деятельности в РФ?
18. Маркируются ли в России ГМ продукты питания?
19. Какие национальные стандарты идентификации трансгенов в сырье и в продуктах питания Вам известны?
20. В чем заключается суть метода идентификации трансгенов с использованием биологического микрочипа?
21. Какие методы количественной оценки трансгенов в сырье и продуктах питания Вам известны?

ПЕРЕЧЕНЬ ВОПРОСОВ ДЛЯ ИТОГОВОЙ АТТЕСТАЦИИ

1. В чем заключаются особенности структуры генома растений?
2. Чем отличаются ДНК хлоропластов и митохондрий от ядерных ДНК?
3. Что такое репликация и каковы механизмы ее протекания?
4. Какие типы РНК существуют в клетках эукариот?
5. Что такое процесс транскрипции и как он протекает?
6. Что такое промотор? Каково строение промотора эукариот?
7. Как Вы понимаете мозаичную структуру генов?
8. Какой такое процессинг мРНК и как он протекает?
9. Что такое сплайсинг? Чем отличается пре-мРНК от зрелой мРНК?
10. В чем различие и сходство между транскрипцией и репликацией?
11. Что такое трансляция, и из каких этапов она состоит?
12. Каковы строение и функции рибосом?
13. Как регулируется "работа" генов у растений?
14. Что такое генетически модифицированный (трансгенный) организм?
15. Назовите принципиальные этапы получения трансгенных растений.
16. Как получить целевые гены?
17. Что такое процесс трансформации? Какие способы трансформации Вам известны?
18. Действительно ли *Agrobacterium tumefaciens* является природным генным инженером?
19. Что такое Ti-плазида и какова ее структура?
20. Можно ли с помощью *A. tumefaciens* трансформировать двудольные и однодольные растения?
21. Какие методы прямой трансформации растений вы знаете?
22. Что такое трансплазмидные растения?
23. Каковы современные достижения использования трансгенных сортов с/х культур?
24. Каковы перспективы использования методов генной инженерии в различных областях народного хозяйства?
25. Как создавать стресс-толерантные сорта растений?
26. Можно ли создать трансгенные растения для очистки загрязненных территорий?
27. Каковы фундаментальные основы существования реальных и потенциальных рисков при выращивании и использовании трансгенных организмов?
28. Что такое биологическая безопасность? Какова международная структура биобезопасности?
29. Какова цель процедуры оценки риска генно-инженерной деятельности?
30. Какие группы рисков Вам известны при выращивании трансгенных растений и использовании полученных из них продуктов?
31. Что представляют собой пищевые риски при использовании трансгенных продуктов?
32. Как Вы оцениваете потенциальные риски при длительном использовании ГМ продуктов питания?
33. Почему трансгенные растения содержат гены устойчивости к антибиотикам?
34. Существует ли риск передачи генов устойчивости к антибиотикам в геном симбионтов для человека бактерий?
35. В чем заключаются риски производства биологически активных веществ с помощью генетически модифицированных растений?
36. В чем заключаются экологические риски при коммерческом использовании трансгенных организмов?

37. Возможно ли негативное воздействие трансгенных организмов на стабильность природных популяций?
38. В чем заключаются агротехнические риски при коммерческом выращивании трансгенных сортов с/х культур?
39. Что представляет собой Картахенский протокол по биобезопасности?
40. Распространяется ли действие Картахенского протокола на ГМО или на ГМ сырье и полученные из него продукты?
41. Как понимать "принцип принятия мер предосторожности"?
42. В чем заключается ответственность за нарушение обязательств, предусмотренных Картахенским протоколом?
43. Что дает Орхусская конвенция для защиты окружающей среды от коммерческого использования ГМО?
44. В чем заключается значение Международной конвенции по охране новых сортов растений?
45. Какие задачи решает Комиссия "Кодекс Алиментариус"?
46. В чем заключаются принципы анализа рисков и руководящие положения по оценке безопасности пищевых продуктов, провозглашенные Комиссией "Кодекс Алиментариус"?
47. Какова законодательная база регулирования биобезопасности в США?
48. Какие федеральные органы США вовлекаются в регулирование биобезопасности ГМО?
49. Какова система государственного регулирования биобезопасности ГМО в странах Евросоюза?
50. Какие законодательные акты определяют порядок государственного регулирования генно-инженерной деятельности в РФ?
51. Какие национальные стандарты идентификации трансгенов в сырье и в продуктах питания Вам известны?
52. В чем заключается суть метода идентификации трансгенов с использованием биологического микрочипа?
53. Какие методы количественной оценки трансгенов в сырье и продуктах питания Вам известны?

APHIS - Animal and Plant Health Inspection Service, Служба проверки здоровья животных и растений Министерства сельского хозяйства США.

Codex Alimentarius - (лат. "пищевое законодательство" или "пищевой кодекс") представляет собой сборник принятых на международном уровне пищевых стандартов, изложенных в единообразной форме. Он также включает кодексы практики, руководящие принципы и другие рекомендуемые меры, направленные на оказание содействия в достижении целей свода стандартов "Кодекс Алиментариус". Публикация сборника "Кодекс Алиментариус" имеет целью обеспечить руководство и содействие в деле разработки и принятия определений пищевых продуктов и предъявляемых к ним требований и оказать помощь в их согласовании и, как следствие, в упрощении международной торговли. Авторы "Кодекс Алиментариус" выражают надежду, что этот труд, изложенный в сжатой форме, позволит широко использовать и понять принципы анализа рисков и оценки безопасности пищевых продуктов, полученных методом биотехнологии, и окажет помощь правительствам, органам регулирования, отраслям пищевой промышленности, а также всем представителям торговой сети и потребителям пищевых продуктов в их применении.

EPA. - Environmental Protection Agency, Агентство по охране окружающей среды США

FDA - Food and Drug Administration, Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Министерства здравоохранения и социальных услуг США.

FFDCA - Federal Food, Drug, and Cosmetic Act

FIFRA - Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act *in vitro* - (лат.) "в пробирке"

NIH - National Health Institute, Национальный институт здравоохранения США.

OSTP - Office of Science and Technology Policy, Департамент по научной и технологической политике США

RIPs-белки - белки-ингибиторы функционирования рибосомальных белков

SOD -супероксиддисмутаза, фермент инактивирующий супероксидный радикал

USDA - U.S. Department of Agriculture, Министерство сельского хозяйства США

Активатор - транс-фактор, который усиливает транскрипцию

Антикодон - группа из трех оснований, занимающая фиксированное положение в транспортной РНК, которая комплементарна кодону в информационной (матричной) РНК

Биобезопасность - это система мероприятий, направленных на предотвращение или снижение до безопасного уровня неблагоприятных воздействий ГМО на здоровье человека и окружающую среду при осуществлении генно-инженерной деятельности

Выпуск генно-инженерно-модифицированных организмов (ГМО) в окружающую среду - действие или бездействие, в результате которых произошло внесение ГМО в окружающую среду (данное понятие не применяется к деятельности, связанной с изменением наследственного генетического материала человека посредством использования методов генной инженерии для целей генной терапии (генотерапии))

Ген - это фрагмент ДНК, кодирующий одну или несколько полипептидных цепей или молекулу рибонуклеиновой кислоты (РНК).

Генетически модифицированные источники (ГМИ) - (синоним - генетически модифицированные продукты, ГМП) - продукты, полученные из генетически модифицированных организмов (ГМО), содержащие ингредиенты из ГМО или произведённые с участием ГМО

Генетический код - система записи наследственной информации в молекулах нуклеиновых кислот, основанная на определении чередований последовательностей нуклеотидов в ДНК, образующих кодоны соответствующих аминокислот белков

Генная (генетическая) инженерия - совокупность методов и технологий, в том числе технологий получения рекомбинантных рибонуклеиновых и дезоксирибонуклеиновых кислот, по выделению генов из организма, осуществлению манипуляций с генами и введению их в другие организмы

Генная терапия (генотерапия) - совокупность генно-инженерных (биотехнологических) и медицинских методов, направленных на внесение изменений в генетический аппарат соматических клеток человека в целях лечения заболеваний

Генно-инженерная деятельность (ГИД) - деятельность, осуществляемая с использованием методов генной инженерии и генно-инженерно-модифицированных организмов

Генодиагностика - совокупность методов по выявлению изменений в структуре генома

Генно-инженерно-модифицированный организм (ГМО) - организм или несколько организмов, любое неклеточное, одноклеточное или многоклеточное образование, способные к воспроизводству или передаче наследственного генетического материала, отличные от природных организмов, полученные с применением методов генной инженерии и содержащие генно-инженерный материал, в том числе гены, их фрагменты или комбинации генов; Синонимы - живые изменённые организмы (ЖИО), трансгенные организмы

Геном - совокупность всех генов организма, характерная для гаплоидного набора хромосом данного вида

Гибридизация молекулярная - спаривание цепей нуклеиновых кислот за счет взаимодействия комплементарных нуклеотидов

Гистоны - небольшие положительно заряженные эволюционно консервативные белки. Положительный заряд позволяет им связываться с ДНК независимо от ее нуклеотидного состава

Дифференциальная экспрессия генома - последовательная избирательная активация или инактивация генов, определяющих реализацию пространственно-временной программы онтогенетического развития организма и его реакции на внешние и внутренние сигналы

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота, носитель генетической информации

ЖИО - живой измененный организм (см. *Генно-инженерно-модифицированный организм*)

Защита биологическая - создание и использование в генной инженерии безопасной для человека и объектов окружающей среды комбинации биологического материала, свойства которого исключают нежелательное выживание генно-инженерно-модифицированных организмов в окружающей среде и (или) передачу им генетической информации

Защита физическая - создание и использование специальных технических средств и приемов, предотвращающих выпуск ГМО в окружающую среду и (или) передачу ими генетической информации

Иммобилизованные - белки, нуклеиновые кислоты или их фрагменты, а также изолированные клетки или микроорганизмы, присоединенные каким-либо путем к твердому субстрату и используемые в фундаментальной науке, биотехнологии или промышленности

Клинические испытания - проверка эффективности и безопасности генной терапии (генотерапии)

Кодон - последовательность из трех соседних нуклеотидов в ДНК или РНК, кодирующая определенную аминокислоту либо начало и конец трансляции

Кэпирование - присоединение к 5'-концу первичного транскрипта химической группировки, называемой *кэпом* (колпачком). Кэп состоит из остатка 7-метилгуанозина, связанного 5'-фосфодиэфирной связью с концевым нуклеотидом РНК

Маркерный ген - дополнительный ген, который вводят в вектор для последующего отбора трансформированных клеток. Существуют два типа маркерных генов: селективные гены (отвечающие за устойчивость к антибиотикам и гебицидам) и репортерные гены, кодирующие нейтральные для клеток белки (β -глюкуронидазу (GUS), зеленый флюоресцентный белок (GFP), люциферазу (LUC) и хлорамфениколацетилтрансферазу (CAT), наличие которых в тканях может быть легко тестировано

Маркерные последовательности - последовательности ДНК, вводимые в организм для однозначного определения конкретных особей или их потомства

Микрочип (биочип, DNA-microarrays) - это организованное размещение молекул ДНК на специальном носителе, представляющем собой пластинку из стекла или пластика. Микроскопический размер биочипа позволяет размещать на небольшой площади огромное количество разных молекул ДНК и считывать с этой площади информацию с помощью флуоресцентного микроскопа или специального лазерного устройства для чтения

Международные договоры и соглашения - Конвенция по биологическому разнообразию, Картахенский протокол к ней, Орхусская конвенция, Протокол о едином порядке применения технических, медицинских, фармацевтических, санитарных, ветеринарных, фитосанитарных и экологических стандартов, норм, правил и требований в отношении товаров, ввозимых в государства-участники соглашений о Таможенном союзе

Негистоновые белки - очень разнообразны. К ним относятся ферменты, обеспечивающие функционирование генома (РНК-полимеразы, ДНК-полимеразы, топоизомеразы и др.), а также белки, важные для поддержания структуры хроматина и регуляции активности генома

"Обычный аналог" - означает родственный организм/разновидность, их компоненты и/или продукты, в отношении которых накоплен опыт определения их безопасности на основе их повсеместного использования в пищу. При этом подразумевается, в обозримом будущем пищевые продукты, полученные с использованием методов современной биотехнологии, в качестве обычных аналогов использоваться не будут

Олигонуклеотид - короткая (до 100 нуклеотидов) молекула нуклеиновой кислоты, содержащая или дезоксирибонуклеотиды, либо рибонуклеотиды

Оперон - транскриптон прокариот, содержит несколько генов, кодирующих ферменты одного биохимического пути

Плейотропный эффект - встроенный в случайное место генома фрагмент ДНК из другого живого источника может непредсказуемо изменить интенсивность экспрессии соседних генов и даже вызвать эпигенетическое, то есть обусловленное конформационными или модификационными изменениями участков ДНК, молчание индивидуальных генов (сайленсинг)

Полиаденилирование - присоединение к 3'-концу пре-мРНК фрагмента, состоящего примерно из 100–200 остатков адениловой кислоты (поли(А)-блок; poly(A))

Праймер (затравка) - короткий олигонуклеотид, комплементарный участку более длинной молекулы ДНК или РНК и необходимый для начала процесса репликации (синтеза ДНК)

Промотор - короткая последовательность из нескольких десятков нуклеотидов ДНК, с которой связывается РНК-полимераза; регулирует транскрипцию одного или нескольких генов

Процессинг - превращение пре-мРНК в мРНК, созревание ядерных эукариотических транскриптов

РЭИ - разрешение на экспериментальное использование ГМО

Репликация ДНК - синтез ДНК на ДНК как на матрице

Репрессор - транс-фактор, который ингибирует транскрипцию

Рестриктазы - ферменты бактерий, которые узнают и разрезают ДНК в строго специфических последовательностях, состоящих из 4-8 нуклеотидов

Рибосома - субклеточная органелла, осуществляющая синтез белка

РНК - рибонуклеиновая кислота

РЭИ - разрешение на экспериментальное использование ГМО в период полевых испытаний, выдаваемое Агентством по охране окружающей среды США (EPA)

Сайленсор - далеко отстоящая регуляторная последовательность ДНК, которая *угнетает* транскрипцию гена

Система замкнутая - система осуществления ГИД, при которой генетические модификации вносятся в организм или генно-инженерно-модифицированные организмы (ГМО), обрабатываются, культивируются, хранятся, используются, подвергаются транспортировке, уничтожению или захоронению в условиях существования физических, химических и биологических барьеров или их комбинаций, предотвращающих контакт ГМО с населением и окружающей средой

Система открытая - система осуществления ГИД, предполагающая контакт генно-инженерно-модифицированных организмов (ГМО) с населением и окружающей средой при их намеренном выпуске в окружающую среду, применении в медицинских и алиментарных целях, экспорте и импорте, при передаче технологий

“Современная” биотехнология - означает применение методов *in vitro* с использованием нуклеиновых кислот, включая рекомбинантную дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) и прямую инъекцию нуклеиновых кислот в клетки или органеллы, либо методов, основанных на слиянии клеток организмов с разным таксономическим статусом, которые позволяют преодолеть естественные физиологические репродуктивные или рекомбинационные барьеры и которые не являются методами, традиционными для выведения и селекции. См. также **“генетическая инженерия”**

Спейсерная ДНК - некодирующие фрагменты ДНК

Сплайсинг - процесс, в ходе которого интронные (некодирующие) последовательности вырезаются из первичного транскрипта мРНК специальными ферментами – *рестриктазами*, а оставшиеся кодирующие фрагменты (экзоны) сшиваются *лигазами*. В результате образуется более короткая (зрелая) молекула мРНК, непосредственно кодирующая белок

Структурные (смысловые) гены - гены, кодирующие РНК или последовательность аминокислот в белковой молекуле, то есть определяющие структуру белков

Терминатор - содержит сигнал окончания транскрипции (трансляции)

Трансген – ген, встроенный методами генетической инженерии, в чужеродный для него геном (геном другого организма); генетически (генно-инженерно) модифицированный организм (ГМО)

Трансгенные организмы (ГМО) - животные, растения, микроорганизмы, вирусы, генетическая программа которых изменена с использованием методов генной инженерии

Транскриптон - единица транскрипции, участок ДНК, ограниченный промотором и терминатором

Транскрипция - синтез РНК на ДНК как на матрице. В результате транскрипции образуются молекулы мРНК, несущие информацию о синтезе белка, а также транспортные и рибосомные РНК. Все три типа РНК синтезируются в ядре

Транскрипционные факторы - белки, увеличивающие (или снижающие) скорость транскрипции за счет ускорения (или замедления) сборки иницирующего комплекса

Трансляция - синтез полипептидной цепи на мРНК как на матрице, т.е. синтез белка

Транс-фактор - специальный *белок*, который регулирует *cis*-действующие элементы генов эукариот

cis-Действующие элементы - Регуляторные последовательности ДНК, находящиеся в составе тех самых генов, которые они регулируют (от лат. *cis* – по эту сторону). Далеко отстоящие регуляторные последовательности называются энхансерами или сайленсорами

Энхансер (от англ. *enhancer* – усилитель) - это регуляторная последовательность ДНК, которая *активирует* транскрипцию гена. Энхансеры могут быть расположены или справа, или слева от промотора

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. James C. Global Status of Commercialized Transgenic Crops: 2003. ISAAA Briefs. 2003. No 30. P.53-59.
2. Конвенция о биологическом разнообразии, 1992; <http://www.biosafety.ru/index.php?idp=23&idn=1339&idnt=4>
3. Koonin E.V., Makarova K.S., Arvind L. Horizontal gene transfer in prokaryotes: quantification and classification. Annual Rev. Microbiol. 2001. V. 55. P. 709–742.
4. Froman B.E., Tait R.C., Gottlieb L.D. Isolation and characterization of the phosphoglucose isomerase gene from *Escherichia coli*. Mol Gen Genet. 1989. V. 217. № 1. P.126–131.
5. Doolittle R.F., Feng D.F., Anderson K.L., et al. A naturally occurring horizontal gene transfer from a eukaryote to a prokaryote. J Mol Evol. 1990. V. 31. № 5. P.383–388.
6. Scholl E.H., Thorne J.L., McCarter J.P., et al. Horizontally transferred genes in plant-parasitic nematodes: a high-throughput genomic approach. Genome Biol. 2003. V. 4. № 6. R39.
7. de Almeida L.M., Carareto C.M. Multiple events of horizontal transfer of the Minos transposable element between *Drosophila* species. Mol Phylogenet Evol. 2005. V. 35. № 3. P.583–594.
8. Лёзин Г.Т., Макарова К.В., Великодворская В.В., и др. Структура и эволюционная роль мобильного элемента Пенелопа у видов *Drosophila* группы *virilis*. Мол.биол. 2001. т. 35. № 5. с. 805–815.
9. Labra M., Vannini C., Grassi F., et al. Genomic stability in *Arabidopsis thaliana* transgenic plants obtained by floral dip. Theor. Appl. Genet. 2004. V. 109. № 7. P. 1512–1518.
10. Ouakfaoui El.S., Miki B. The stability of the *Arabidopsis* transcriptome in transgenic plants expressing the marker genes *nptII* and *uidA*. Plant J. 2005. V.41. № 6. P. 791–800.
11. Meng L., Bregitzer P., Zhang S., et al. Methylation of the exon/intron region in the Ubi1 promoter complex correlates with transgene silencing in barley. Plant Mol. Biol. 2003. V. 53. № 3. P.327–340.
12. Yang L., Ding J., Zhang C., et al. Estimating the copy number of transgenes in transformed rice by real-time quantitative PCR. Plant Cell Rep. 2005. V.23. № 10–11. P.759–763.
13. Windels P., Taverniers I., Depicker A., et al Characterisation of the Roundup Ready soybean insert. Eur. Food Res. Technol., 2001. V.231. P.107–112.
14. Ермишин А.П., В.Е. Подлиских, Воронкова Е.В., Аношенко Б.А., Зарьков В.М. "Биотехнология, биобезопасность, биоэтика", "Технология", Минск, 2005, 430 с.
15. **Директива** 2001/18/ЕС Европейского парламента и Совета от 12 марта 2001 г. "О преднамеренном выпуске в окружающую среду генетически измененных организмов и аннулирование Директивы 90/220/ЕЕС Совета". http://www.biosafety.be/GB/Dir.Eur.GB/Del.Rel./2001_18/2001_18_TC.html
16. Жученко А.А. Роль генетической инженерии в адаптивной системе селекции растений. С.-х. биология. 2003. № 1. С. 3–33.
17. Кузнецов Вл.В., Куликов А.М., Митрохин И.А. и Цыдендамбаев В.Д. ГМО и биологическая безопасность. Экос-информ. 2004. № 10. С. 1–64.
18. Куликов А.М. ГМО и риски их использования. Физиология растений. 2005. Т. 52. С. 115–128.
19. Монастырский О.А. Продовольственная безопасность России: вчера, сегодня, завтра. Экос-информ. 2004. № 4. С. 1–64.
20. Семенюк Е.Г. Агроэкологические аспекты использования генетически модифицированных сельскохозяйственных культур. Агрехимия. 2001. № 1. С. 80–93.

21. Семенюк Е.Г. Проблема оценки риска трансгенных растений. *Агрехимия*. 2001. Т. 10. С. 85–96.
22. Кузнецов Вл.В. Возможные биологические риски при использовании генетически модифицированных сельскохозяйственных культур. *Вестник ДВО РАН*. 2005. Т.121. №3. С. 40–54.
23. Navarro G.H., Lopez C.C., Garcia E., et al. FE/SBM, 2001. 107-2001–E in http://www.asa-europe.org/online/Navarro_ExFFSBM.pdf
24. Reseland J.E., Holm H., Jacobsen M.B., et al. Proteinase inhibitors induce selective stimulation of human trypsin and chymotrypsin secretion. *J. Nutr.* 1996. V.126, № 3, P.634–642.
25. Holm H., Jorgensen A., Hanssen L.E. Raw soy and purified proteinase inhibitors induce the appearance of inhibitor-resistant trypsin and chymotrypsin activities in Wistar rat duodenal juice. *J. Nutr.* 1991. V.121, №4, P.532–538.
26. Tan-Wilson A.L., Wilson K.A. Relevance of multiple soybean trypsin inhibitor forms to nutritional quality. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1986. V.199, P.391–411.
27. Struthers B.J., MacDonald J.R. Comparative inhibition of trypsins from several species by soybean trypsin inhibitors. *J. Nutr.* 1983. V.113, № 4, P. 800–804.
28. Yoshikawa H., Kotaru M., Tanaka C., et al. Characterization of kintoki bean (*Phaseolus vulgaris*) alpha-amylase inhibitor: inhibitory activities against human salivary and porcine pancreatic alpha-amylases and activity changes by proteolytic digestion. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*. 1999. V.45, № 6, P. 797–802
29. Suehiro I., Otsuki M., Yamasaki T., et al. Effect of alpha-glucosidase inhibitor on human pancreatic and salivary alpha-amylase. *Clin. Chim. Acta.* 1981. V.117, № 2, P. 145–152.
30. Kusaba-Nakayama M., Ki M., Kawada E., et al. Intestinal absorbability of wheat allergens, subunits of a wheat alpha-amylase inhibitor, expressed by bacteria. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2001. V.65, № 11, P. 2448–2455.
31. He W.J., Liu W.Y. Intestinal absorbability of wheat allergens, subunits of a wheat alpha-amylase inhibitor, expressed by bacteria. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2003. V.35, № 7. P. 1021–1027.
32. Ewen S.W., Pusztai A. Effect of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine. *Lancet*, 1999. V. 354. № 9187, P. 1353–1354.
33. Pusztai A., Bardocz G.G., Alonso R., et al. Expression of the insecticidal bean alpha-amylase inhibitor transgene has minimal detrimental effect on the nutritional value of peas fed to rats at 30% of the diet. *J. Nutr.* 1999. V.129, № 8, P. 1597–1603.
34. Ewen S.W., Pusztai A. Health risks of genetically modified foods. *Lancet*. 1999. V. 354; № 9179, P.684.
35. Summers C., Forrest J., Norval M., et al. The potentially insecticidal *Narcissus pseudonarcissus* lectin demonstrates age-related mitogenicity. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2002. V.33, № 1. P. 47–49.
36. Lehrer S.B. In: G.J. Persley and M.M. Lantin (Eds.), *Agricultural Biotechnology and the Poor*, Consultative Group on International Agricultural Research, 2000. Washington DC, USA, P.149–155.
37. Nordlee J.A., Taylor S.L., Townsend J.A., et al. Identification of Brazil nut allergen in transgenic soybeans. *N. Engl. J. Med.* 1996. V.334, № 11. P. 666–692.
38. *Bacillus thuringiensis* subspecies *tolworthi* Cry9c protein and the genetic material necessary for its production in corn; exemption from the requirement of a tolerance // U.S. Environmental Protection Agency / U.S. Fed. Reg. 1998. Vol. 63. P. 28258–28261.
39. Bernstain J.A., Bernstein I.L., Bucchini L., et al. Clinical and laboratory investigation of allergy to genetically modified foods. *Environ. Health Perspect.* 2003. Vol. 111. P. 1114–1121.
40. Bernstain I.L., Bernstein J.L., Miller M., et al. Immune responses in farm workers after exposure to *Bacillus thuringiensis* pesticides. *Environ. Health Perspect.* 1999. Vol. 107. P. 575–582.
41. Itoh Y., Takahashi K., Takizawa H., et al. Family 19 chitinase of *Streptomyces griseus* HUT6037 increases plant resistance to the fungal disease. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2003. V.67, № 4, P.847–855.
42. Datta K., Baisakh N., Thek K.M., et al. Pyramiding transgenes for multiple resistance in rice against bacterial blight, yellow stem borer and sheath blight. *Theor. Appl. Genet.* 2002. V.106, № 1. P.1–8.

43. Kim J.K., Jang I.C., Wu R., et al. Co-expression of a modified maize ribosome-inactivating protein and a rice basic chitinase gene in transgenic rice plants confers enhanced resistance to sheath blight. *Transgenic Res.* 2003. V.12 № 4, P. 475–484.
44. Esposito F., Fogliano V., Cardi T., et al. Glycoalkaloid content and chemical composition of potatoes improved with nonconventional breeding approaches. *J. Agric. Food Chem.* 2002. V.50. № 6, P.1553–1561.
45. Wu G., Shortt B.J., Lawrence E.B., et al. Activation of Host Defense Mechanisms by Elevated Production of H₂O₂ in Transgenic Plants. *Plant Physiol.* 1997. V.115. № 2. P.427–435.
46. Anand A., Zhou T., Trick H.N., et al. Greenhouse and field testing of transgenic wheat plants stably expressing genes for thaumatin-like protein, chitinase and glucanase against *Fusarium graminearum*. *J Exp Bot.* 2003. V.54, № 384. P.1101–1111.
47. Palacios S. A. Diagnosis and therapeutic aspects. *Allergol. Immunopathol. (Madr).* 2001. V.29, №5. P. 212–221.
48. Sussman G.L., Beezhold D.H., Kurup V.P. Allergens and natural rubber proteins. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002. V. 110, № 2 Suppl, P.S33–S39.
49. Hoffmann-Sommergruber K. Pathogenesis-related (PR)-proteins identified as allergens. *Biochem. Soc. Trans.* 2002 V.30, Pt 6, P.930–935.
50. Cantani A., Micera M. Genetically modified foods and children potential health risks. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2001. V.5, № 1. P.25–29.
51. Fenton B., Stanley K., Fenton S., et al. Differential binding of the insecticidal lectin GNA to human blood cells. *Lancet.* 1999. V. 354. P. 1354–1355.
52. Gabor F., Stangl M., Wirth M. Lectin-mediated bioadhesion: binding characteristics of plant lectins on the enterocyte-like cell lines Caco-2, HT-29 and HCT-8. *J. Control Release.* 1998. V. 55. P. 131–142.
53. Отчет Института питания РАМН “Медико-биологические исследования трансгенного картофеля, устойчивого к колорадскому жуку” (по соглашению с фирмой “Монсанто”), утвержденный В.А.Тутельяном. М.: Институт питания РАМН, 1998. 63 с.
54. Glick B.R., Pasternak J.J. *Molecular Biotechnology. Principles and Applications of Recombinant DNA.* Washington, D.C.: ASM PRESS, 1998. 589 p.
55. De Roos A.J., Zahm S.H., Cantor K.P., et al. Integrative assessment of multiple pesticides as risk factors for non-Hodgkin’s lymphoma among men. *Occup. Environ. Med.* 2003. V.60;11- doi:10.1136/oem.60.9.e11.
56. De Roos A.J., Blair A., Rusiecki J.A., et al. Cancer incidence among glyphosate-exposed pesticide applicators in the agricultural health study. *Environmental Health Perspectives.* 2005. V.113. № 1. P. 49–54.
57. Muller B.P., Zumdick A., Schuphan I., et al. Metabolism of the herbicide glufosinate-ammonium in plant cell cultures of transgenic (rhizomania-resistant) and non-transgenic sugarbeet (*Beta vulgaris*), carrot (*Daucus carota*), purple foxglove (*Digitalis purpurea*) and thorn apple (*Datura stramonium*). *Pest Manag. Sci.* 2001. V.57, № 1, P.46–56.
58. Pline W.A., Price A.J., Wilcut J.W., et al. Absorption and translocation of glyphosate in glyphosate-resistant cotton as influenced by application method and growth stage. *Weed Science,* 2001. V.49. P.460–467.
59. Yamada T., Ishige T., Shiota N., et al. Enhancement of metabolizing herbicides in young tubers of transgenic potato plants with the rat CYP1A1 gene. *Theor. Appl. Genet.* 2002. V.105, №4. P. 515–520.
60. Bode M., Stobe P., Thiede B., et al. Biotransformation of atrazine in transgenic tobacco cell culture expressing human P450. *Pest. Manag. Sci.* 2004. V.60, № 1, P.49-58.
61. Birnbaum L.S., Fenton S.E. Cancer and developmental exposure to endocrine disruptors. *Environ. Health Perspect.* 2003. V. 111, № 4. P.389–394.
62. Cooper R.L., Goldman J.M., Stoker T.E. Neuroendocrine and reproductive effects of contemporary-use pesticides. *Toxicol. Ind. Health.* 1999 V.15, № 1–2. P.26–36.

63. Lin C.T., Lin W.H., Lyu Y.L., et al. Inverted repeats as genetic elements for promoting DNA inverted duplication: implications in gene amplification. *Nucleic Acids Res.* 2001 V.29, №17. P. 3529–3538.
64. Phipps R.H., Deaville E.R., Maddison B.C. Detection of transgenic and endogenous plant DNA in rumen fluid, duodenal digesta, milk, blood, and feces of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2003. V.86, №12. P.4070–4078.
65. Chowdhury E.H., Mikami O., Nakajima Y., et al. Detection of genetically modified maize DNA fragments in the intestinal contents of pigs fed StarLink CBH351. *Vet. Hum. Toxicol.* 2003. V.45, № 2. P.95–96.
66. Felsot A. Herbicide Tolerant Genes. Pt.1: Squaring Up Roundup Ready Crops. *Agrichemical and Environmental News*, 2000. Is.173 <http://www.aenews.wsu.edu/Sept00AENews/Sept00AENews.htm>
67. Khan M.S., Maliga P. Fluorescent antibiotic resistance marker for tracking plastid transformation in higher plants. *Nat. Biotechnol.* 1999. V.17, № 9. P.910–915.
68. Blahova J., Kralikova K., Krcmery V. Sr., et al. Transferable antibiotic resistance in multiresistant nosocomial *Acinetobacter baumannii* strains from seven clinics in the Slovak and Czech Republics. *J. Chemother.* 2001. V.13, № 2. P.143–147.
69. Smalla K., Heuer H., Gotz A., et al. Exogenous isolation of antibiotic resistance plasmids from piggery manure slurries reveals a high prevalence and diversity of IncQ-like plasmids. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000. V.66, № 11. P.4854–4862.
70. Kuiper H.A., Kleter G.A. The scientific basis for risk assessment and regulation of genetically modified foods. *Trends in Food Science and Technology.* 2003. V.14. P.277–293.
71. Vlasak J., Smahel M., Pavlik A., et al. Comparison of hCMV immediate early and CaMV 35S promoters in both plant and human cells. *J. Biotechnol.* 2003. V. 103. № 3. P.197–202.
72. The United Kingdom Parliament. The Commons Hansard Written Answers text for Wednesday 25 June 2003, // 2003. Volume No.407, Part No.416, <http://www.parliament.the-stationery-office.co.uk/pa/cm200203/cmhansrd/vo030625/index/30625-x.htm>
73. Ho M.W. Pharmageddon. // *Science in Society*, 2003, V.17, P.23–24.
74. McKie R. Guardian Anlimited. 2001. September 9, (<http://www.guardian.co.uk/gmdebate/Story/0,2763,549002,00.html>).
75. Beckie H.J., Hall L.M., Warwick S.I. Impact of herbicide-resistant crops as weeds in Canada. *In Proc. Br. Crop Protection Conf.–Weeds*, Brighton, UK. 12–15 Nov. 2001. Br. Crop Protection Council, Farnham, Surrey, UK. P. 135–142.
76. Friesen L.F., Nelson A.G., Van Acker R.C. Evidence of contamination of pedigreed canola (*Brassica napus*) seedlots in western Canada with genetically engineered herbicide resistance traits. *Published in Agron. J.* 2003. V.95. P.1342–1347.
77. Quist D., Chapela I.H. Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature.* 2001. V. 414, № 6863. P. 541–543.
78. Gepts P., Papa R. Possible effects of (trans)gene flow from crops on the genetic diversity from landraces and wild relatives. *Environ. Biosafety Res.* 2003. V.2. № 2. P.89–103.
79. Kaplinsky N., Braun D., Lisch D., et al. Biodiversity (Communications arising): maize transgene results in Mexico are artifacts. *Nature.* 2002, V.416, № 6881. P. 601–602.
80. Metz M., Futterer J. Biodiversity (Communications arising): suspect evidence of transgenic contamination. *Nature.* 2002, V.416. № 6881. P. 600–601.
81. ETC Group. Maize Rage in Mexico: GM maize contamination in Mexico – 2 years later. 10 October 2003. www.etcgroup.org.
82. Doyle D., Kelso T. Genetically engineered salmon, ecological risk, and environmental policy. *Bulletin of Marine Science*, 2004, V.74, № 3, P.509–528.

83. Muir W.M., Howard R.D. Possible ecological risks of transgenic organism release when transgenes affect mating success: sexual selection and the Trojan gene hypothesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V.96. № 24. P.13853–13856.
84. Ramachandran S., Buntin D., All J.N., et al. Intraspecific competition of an insect resistance transgenic canola in seed mixtures. Agron. J. 2000. V.92. P.368–374.
85. Stewart A.N., All J.N., Raymer P.L., et al. Increased fitness of transgenic insecticidal rapeseed under insect selection pressure. Mol. Ecol. 1997. V.6. P. 773–779.
86. Williamson M., Perrings J., Fitter A. Increased fitness of transgenic insecticidal rapeseed under insect selection pressure. Trends Ecol. Evol. 1990. V.5. P.417–419.
87. Dale P.J., Clarke B., Fontes E.M.G. Potential for the environmental impact of transgenic crops. Nature Biotechnology 2002. V.20, P.567–574.
88. Smalla K., Gebhard F., van Elsas J. D., et al. In: Proceedings of the 3rd International Symposium on The Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Microorganisms. 1994. The University of California Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, Calif. P. 157–168.
89. Becker J., Siegert H., Logemann J., Schell J. Begleitende Sicherheitsforschung zur Freisetzung genetisch veränderter Petunien, 1994. Bundesministerium für Forschung und Technologie (ed.) Biologische Sicherheit. Bundesministerium für Forschung und Technologie, Bonn, Germany. S. 563–578.
90. Nielsen K.M., Bones A.M., Smalla K., et al. Аграрная Россия, научно-производственный журнал. 2005. № 1, С. 28–44.
91. Nielsen K.M., Bones A.M., van Elsas J.D. Induced natural transformation of *Acinetobacter calcoaceticus* in soil microcosms. Appl. Environ. Microbiol. 1997. V. 63. № 10. P. 3972–3977
92. Gebhard F., Smalla K. Transformation of *Acinetobacter* sp. strain BD413 by transgenic sugar beet DNA. Appl. Environ. Microbiol. 1998, V. 64, № 4. P. 1550–1554.
93. Tepfer D., Garcia-Gonzales R., Mansouri H., et al. Homology-dependent DNA transfer from plants to a soil bacterium under laboratory conditions: implications in evolution and horizontal gene transfer. Transgenic Res. 2003. V. 12. № 4. P. 425–437.
94. Groot A.T., Dicke M. Insect-resistant transgenic plants in a multi-trophic context. Plant J. 2002. V. 31. № 4. P. 387–406.
95. Tabashnik B.E., Carriere Y., Dennehy T.J., et al. Insect resistance to transgenic Bt crops: lessons from the laboratory and field. J. Econ. Entomol. 2003. V. 96. № 4. P. 1031–1038.
96. Кащьян В. Пестициды и трансгенные растения как международная агроэкологическая проблема, Москва, 1998, 167 с.
97. Roy D.B., Bohan D.A., Haughton A.J., et al. Invertebrates and vegetation of field margins adjacent to crops subject to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. Philos. Trans. R Soc Lond. B Biol. Sci. 2003. V.358. № 1439. P.1879–1898.
98. Hawes C., Haughton A.J., Osborne J.L., et al. Responses of plants and invertebrate trophic groups to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. Philos. Trans. R Soc. Lond. B Biol. Sci. 2003. V.358. № 1439. P.1899–1913.
99. Haughton A.J., Champion G.T., Hawes C., et al. Invertebrate responses to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops. II. Within-field epigeal and aerial arthropods. Philos. Trans. R Soc. Lond. B Biol. Sci. 2003. V.358. № 1439. P.1863–1877.
100. Schuler T.H., Denholm I., Clark S.J., et al. Effects of Bt plants on the development and survival of the parasitoid *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) in susceptible and Bt-resistant larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). J. Insect Physiol. 2004. V.50. №5. P.435–443.
101. Sears M.K., Hellmich R.L., Stanley-Horn D.E., et al. Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations: a risk assessment. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. V.98. № 21. P. 11937–11942.

102. Marroquin L.D., Elyassnia D., Griffiths J.S., et al. *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin susceptibility and isolation of resistance mutants in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*. 2000. V.155. № 4. P.1693–1699.
103. Scriber J.M. *Bt* or not *Bt*: Is that the question? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001. V. 98, № 22. P. 12328–12330.
104. Kuiper H.A., Kleter G.A., Noteborn H.P., et al. Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. *Plant J*. 2001 V. 27, № 6. P. 503–528.
105. Соколов М.С., Марченко А.И. Потенциальный риск возделывания трансгенных растений и потребления их урожая. *Сельскохозяйственная биология*, 2002, № 5. С. 3–23.
106. Saxena D., Stotzky G. Bt corn has a higher lignin content than non-Bt corn. *Am. J. Bot.* 2001 V. 88. № 9. P. 1704–1706.
107. Тищенко Е.Н., Моргун В.В. Экспрессия трансгенов, проблемы и стратегии для практического применения. *Физиология и биохимия культ. растений*. 2004. Т. 36. С. 279–290.
108. ООН. Европейская Экономическая Комиссия. Перечень руководящих положений по биобезопасности в области биотехнологии. 1995. Нью-Йорк; Женева. – 65 с.
109. Recombinant DNA safety considerations. OECD. Paris, 1986. – 67 p.
110. Good developmental principles: Guidance for the design of small scale field research with genetically modified plants and micro-organisms. OECD. Paris, 1990. – 30 p.
111. Voluntary code of conduct for the release of organisms into the environment. UNIDO. Vienna, 1991.
112. Международные руководящие принципы техники безопасности ЮНЕП в области биотехнологии. ЮНЕП, 1996.– 40 с.
113. Картахенский протокол по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии <http://www.biosafety.ru/index.php?idp=23&idn=1338&idnt=4>
114. Конвенция о биологическом разнообразии (Рио-де-Жанейро, 3-14 июня 1992 года) <http://www.biosafety.ru/index.php?idp=23&idn=1339&idnt=4>
115. Повестка дня на XXI век, глава 16: Экологически безопасное использование биотехнологии. ЮНЕСД, 1992.
116. Конвенция о доступе к информации, участии общественности в процессе принятия решений и доступе к правосудию по вопросам, касающимся окружающей среды. Четвертая Конференция министров “Окружающая среда для Европы”, Орхус, Дания, 23-25 июня 1998 года <http://accord.cis.lead.org/prtr/aarhus.htm>
117. Международная конвенция по охране новых сортов растений от 2 декабря 1961 г., пересмотренная в Женеве 10 ноября 1972 г., 23 октября 1978 г. и 19 марта 1991 г. http://www.gosort.com/docs/rus/upov_conv.pdf
118. Комиссия “Кодекс Алиментариус” и Программа ФАО/ООН по стандартам на пищевые продукты. <http://www.codexalimentarius.net>
119. Codex Alimentarius – Guideline for the Conduct of Food Safety Assessment of Foods Derived from Recombinant-DNA Plants. http://www.codexalimentarius.net/download/standards/10007/CXG_044e.pdf или http://codexeuropa.ch/pdf_files/biotech_2004r.pdf
120. http://codexeuropa.ch/pdf_files/biotech_2004r.pdf
121. Coordinated Framework for the Regulation of Biotechnology: Announcement of Policy and Notice for Public Comment // *U.S. Fed. Reg.* 1986. V. 51, P. 23302-23350.
122. Office of Science and Technology Policy (OSTP). Exercise of Federal oversight within scope of statutory authority: Planned introductions of biotechnology products into the environment. *Federal Register*.1992. V. 57, P. 6753–6762.
123. Federal Food, Drug, and Cosmetic Act <http://www.fda.gov/opacom/laws/fdact/fdctoc.htm>

124. Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act <http://www.epa.gov/oecaagct/lfra.html>
125. Toxic Substances Control Act <http://www.epa.gov/lawsregs/laws/tsca.html>
126. Federal Plant Pest Act <http://ipl.unm.edu/cwl/fedbook/fedpest.html>
127. United States Department of Agriculture (USDA). Genetically Engineered Organisms and Products; Simplification of Requirements and Procedures for Genetically Engineered Organisms (7 CFR Part 30). Federal Register. 1997. V. 62, P. 23945–23958.
128. United States Department of Agriculture (USDA). Introduction of Organisms and Products Altered or Produced Through Genetic Engineering Which are Plant Pests or Which There is Reason to Believe are Plant Pests (7 CFR 340) (1993a) (www.aphis.usda.gov/bbep/bp/7cfr340.html).
129. 340.0 Restrictions on the Introduction of Regulated Articles// <http://www.aphis.usda.gov/brs/pdf/7cfr340.pdf>
130. Environmental Protection Agency (EPA). Regulations Under the Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act for Plant-Incorporated Protectants (formerly Plant Pesticides) (40 CFR Parts 152 and 174). Federal Register. 2001a. V. 66, P. 37772–37817.
131. Environmental Protection Agency (EPA). Exemption for the Requirement of a Tolerance Under the Federal Food, Drug and Cosmetic Act for Residues of Nucleic Acids that are part of Plant-Incorporated Protectants (formerly Plant Pesticides) (40 CFR Part 174). Federal Register. 2001b. V. 66, P. 37817–37830.
132. Environmental Protection Agency (EPA). Exemption for the Requirement of a Tolerance Under the Federal Food, Drug and Cosmetic Act for Residues Derived through Conventional Breeding from Sexually Compatible Plants of Plant-Incorporated Protectants (formerly Plant Pesticides) (40 CFR Part 174). Federal Register. 2001c. V. 66, P. 37830–37854.
133. Food and Drug Administration (FDA). Statement of Policy: Foods Derived from New Plant Varieties Federal Register. 1992. 57, 22984–23001.
134. Food and Drug Administration (FDA). Premarket Notice Concerning Bioengineered Foods (21 CFR Parts 192 and 592). Federal Register. 2001. V. 66, P. 4706–4738.
135. Council Directive of 23 April 1990 on the contained use of genetically modified micro-organisms (90/219/EEC). http://ec.europa.eu/enterprise/pharmaceuticals/eudralex/vol-1/dir_1990_219/dir_1990_219_en.pdf
136. Directive 2001/18/EC of the European Parliament and the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC. http://www.biosafety.be/GB/Dir.Eur.GB/Del.Rel./2001_18/2001_18_TC.html
137. Proposal for a Regulation of the European Parliament and the Council on genetically modified food and feed (2001/0173 COD). <http://register.consilium.eu.int/pdf/en/03/st10/st10811en03.pdf>
138. Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically modified food and feed <http://www.biosafety.ru/index.php?idp=116&idnt=29&idn=1341>
139. Протокол о едином порядке применения технических, медицинских, фармацевтических, санитарных, ветеринарных, фитосанитарных и экологических стандартов, норм, правил и требований в отношении товаров, ввозимых в государства–участники соглашений о Таможенном союзе (Подписан в г. Москве 28.01.1999) <http://www.lawmix.ru/abro.php?id=5216>
140. Постановление Правительства РФ № 948 от 25.08.1999 г. "Об утверждении протокола о едином порядке применения технических, медицинских, фармацевтических, санитарных, ветеринарных, фитосанитарных и экологических стандартов, норм, правил и требований в отношении товаров, ввозимых в государства–участники соглашений о таможенном союзе". <http://interlaw.consultant.ru/doc5992.html>
141. Федеральный закон № 29-ФЗ от 2 января 2000 г. "О качестве и безопасности пищевых продуктов". <http://www.mosprod.ru/ru/law/law1/200407121353-8074.htm>

142. Федеральный закон № 86-ФЗ от 6 июля 1996 г. "О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности". http://oagb.ru/law.php?act=&txt_id=256
143. Закон Российской Федерации от 7 февраля 1992 г. № 2300-1 "О защите прав потребителей". <http://www.garant.ru/law/10006035-000.htm>
144. Федеральный закон от 21 декабря 2004 г. № 171-ФЗ О внесении изменений в Закон Российской Федерации "О защите прав потребителей" и о признании утратившим силу пункта 28 статьи 1 Федерального закона "О внесении изменений в Закон Российской Федерации "О защите прав потребителей" <http://www.rg.ru/2004/12/29/potrebitel-dok.html>
145. Федеральный закон № 234-ФЗ от 25 октября 2007 г. "О внесении изменений в Закон Российской Федерации "О защите прав потребителей" и часть вторую Гражданского кодекса Российской Федерации". <http://www.garant.ru/hotlaw/doc/104598.htm>
146. Федеральный закон № 52-ФЗ от 30.03.1999 г. (ред. от 10.01.2003 г.) "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения" http://www.zonazakona.ru/law/zakon_rf/1872/
147. Постановление Правительства РФ от 22 апреля 1997 г. № 464 "О Межведомственной комиссии по проблемам генно-инженерной деятельности" <http://infopravo.by.ru/fed1997/ch06/akt20038.shtm>
148. Постановление Правительства РФ от 16.04.2004 г. № 215 "Об упорядочении состава координационных, совещательных, иных органов и групп, образованных Правительством Российской Федерации" http://lawrussia.ru/texts/legal_364/doc364a850x748.htm
149. Постановление Правительства РФ от 19 июня 1994 г. № 706 "Об утверждении Положения о государственном ветеринарном надзоре в Российской Федерации" <http://www.vetlek.ru/zakon/?id=11>
150. Постановление Правительства РФ от 16 февраля 2001 г. № 120 "О государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов" <http://elementy.ru/Library9/p120.htm>
151. Приказ Минпромнауки России от 10.07.2001 г. № 264 "О создании экспертного совета Минпромнауки России по вопросам биобезопасности" <http://www.inpravo.ru/data/base526/text526v561i241.htm>
152. Постановление Правительства РФ от 18 января 2002 г. № 26 "О государственной регистрации кормов, полученных из генно-инженерно-модифицированных организмов" http://fsvps.ru/fsvps-docs/ru/regLicensing/docs/regRules_01.pdf
153. Распоряжение Правительства РФ от 9 февраля 2005 г. № 150-р http://www.government.ru/archiv/data/static_text.html-st_id_7811_he_id_755.htm
154. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 6 апреля 1999 г. № 7 "О проведении гигиенической экспертизы и регистрации пищевой продукции, полученной из генетически модифицированных источников". <http://biosafety.ru/index.php?idp=23&idn=574>
155. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ № 13 от 8 ноября 2000 г. "О нанесении информации на потребительскую упаковку пищевых продуктов, полученных из генетически модифицированных источников". <http://www.consultant.ru/online/base/?req=doc;base=LAW;n=69758;ref=s>
156. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ № 14 от 8 ноября 2000 г. "О порядке проведения санитарно-эпидемиологической экспертизы пищевых продуктов, полученных из генетически модифицированных источников". <http://biosafety.ru/index.php?idp=23&idn=1324>
157. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 14 ноября 2001 г. № 36 "О введении в действие санитарных правил" (с изменениями от 31 мая 2002 г.) <http://biosafety.ru/index.php?idp=23&idn=1172>
158. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 5 марта 2004 № 8 "О введении в действие СанПиН 2.3.2.1842-04 Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Дополнения и изменения № 3 к СанПиН 2.3.2.1078-01". <http://biosafety.ru/index.php?idp=23&idn=1173>

159. Постановление Правительства Москвы от 13 февраля 2007 г. №88-ПП "О дополнительных мерах по обеспечению качества и безопасности пищевых продуктов, информированию потребителей в городе Москве" <http://biosafety.ru/index.php?idp=23&idn=906>
160. ГОСТ Р 52173-2003 "Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения"
161. *Lipp M., Brodmann P., Pietsch K., et al.* IUPAC collaborative trial study of a method to detect genetically modified soy beans and maize in dried powder J. AOAC International, (1999), vol. 82, no. 4, p. 923. <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=1203215>
162. ГОСТ Р 52174-2003 "Биологическая безопасность. Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения с использованием биологического микрочипа"
163. Закон Республики Беларусь от 9 января 2006 г. № 96 "О безопасности генно-инженерной деятельности".) <http://biosafety.org.by/rus/legislation.html>.
164. Закон Республики Беларусь "О здравоохранении" от 18 июня 1993 г. // Ведамасці Вярхоунага Савета Рэспублікі Беларусь, 1993 г., № 24, ст. 290.
165. Закон Республики Беларусь "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения" от 23 ноября 1993 г. // Ведамасці Вярхоунага Савета Рэспублікі Беларусь, 1993 г., № 36, ст.451; Ведамасці Нацыянальнага сходу Рэспублікі Беларусь, 1997 г., № 28, ст.486; 1999 г., № 25, ст.427; Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2000 г., № 52, 2/172.
166. Закон Республики Беларусь "Об охране окружающей среды" (в редакции Закона от 17 июля 2002 г.) // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2002 г., № 85, 2/875.
167. Закон Республики Беларусь "О патентах на сорта растений" от 13 апреля 1995 г. // Ведамасці Вярхоунага Савета Рэспублікі Беларусь, 1995 г. № 19, ст. 235; Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2001 г., № 57, 2/ 791; 2004 г., № 103, 2/1040.
168. Закон Республики Беларусь "О семенах" от 14 февраля 1997 г. // Ведамасці Нацыянальнага сходу Рэспублікі Беларусь, 1997 г., № 9, ст. 91.
169. Постановление Кабинета Министров Украины от 1 августа 2007 г. № 985 "Вопрос оборота пищевых продуктов, которые содержат генетически модифицированные организмы и/или микроорганизмы" <http://www.biosafety.ru/index.php?idp=116&idnt=30&idn=1320>
170. Закон Республики Молдова от 21 декабря 2001 г. № 755-XV "О биологической безопасности" <http://www.biosafety.ru/index.php?idp=116&idnt=30&idn=974>
171. Закон Республики Казахстан от 8 апреля 2004 года №543-II "О качестве и безопасности пищевых продуктов" <http://www.biosafety.ru/index.php?idp=116&idnt=30&idn=864>
172. Закон Республики Таджикистан "О биологической безопасности" <http://www.biosafety.ru/index.php?idp=116&idnt=30&idn=555>

Нормативные источники

1. **Указ Президента Российской Федерации** от 8 августа 2001 г. № 1004 "Об утверждении списка возбудителей заболеваний (патогенов) человека, животных и растений, генетически измененных микроорганизмов, токсинов, оборудования и технологий, подлежащих экспортному контролю"
2. **Федеральный закон** от 5 июля 1996 г. № 86-ФЗ "О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности" (в ред. Федерального закона от 12.07.2000 г. № 96-ФЗ);
3. **Федеральный закон** от 2 января 2000 г. 29-ФЗ "О качестве и безопасности пищевых продуктов" (в ред. Федеральных законов от 30.12.2001 г. № 196-ФЗ, от 10.01.2003 г. № 15-ФЗ, от 30.06.2003 г. № 86-ФЗ, от 22.08.2004 г. № 122-ФЗ, от 09.05.2005 N 45-ФЗ, от 05.12.2005 г. № 151-ФЗ, от 31.12.2005 г. № 199-ФЗ, от 31.03.2006 г. № 45-ФЗ, от 30.12.2006 г. № 266-ФЗ);
4. **Федеральный закон** "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения" от 30 марта 1999 г. № 52-ФЗ (в ред. Федеральных законов от 30.12.2001 г. № 196-ФЗ, от 10.01.2003 г. № 15-ФЗ,

- от 30.06.2003 г. № 86-ФЗ, от 22.08.2004 г. № 122-ФЗ, от 09.05.2005 г. № 45-ФЗ, от 31.12.2005 г. № 199-ФЗ, от 18.12.2006 г. № 232-ФЗ, от 29.12.2006 г. № 258-ФЗ, от 30.12.2006 г. № 266-ФЗ, от 26.06.2007 г. № 118-ФЗ);
5. **Федеральный закон** "О защите прав потребителей" от 7 февраля 1992 г. № 2300-1 (в ред. Федеральных законов от 09.01.1996 г. № 2-ФЗ, от 17.12.1999 г. № 212-ФЗ, от 30.12.2001 г. № 196-ФЗ, от 22.08.2004 г. № 122-ФЗ, от 02.11.2004 г. № 127-ФЗ, от 21.12.2004 г. № 171-ФЗ, от 27.07.2006 г. № 140-ФЗ, от 16.10.2006 г. № 160-ФЗ, и от 25.11.2006 г. № 193-ФЗ);
 6. **Федеральный закон** от 5 декабря 1998 г. № 183-ФЗ "О государственном надзоре и контроле за качеством и безопасностью зерна и продуктов его переработки" (в ред. Федеральных законов от 10.01.2003 г. №15-ФЗ и от 16.03.2006 г. № 41-ФЗ);
 7. **Федеральный закон** от 23 ноября 1995 г. № 174-ФЗ "Об экологической экспертизе" (в ред. Федеральных законов от 15.04.1998 г. № 65-ФЗ, от 22.08.2004 г. № 122-ФЗ (ред. 29.12.2004 г.), от 21.12.2004 г. № 172-ФЗ, от 31.12.2005 г. № 199-ФЗ, от 04.12.2006 г. № 201-ФЗ, от 18.12.2006 г. № 232-ФЗ);
 8. **Федеральный закон** "О техническом регулировании" от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ (в ред. Федеральных законов от 09.05.2005 г. № 45-ФЗ, от 01.05.2007 г. № 65-ФЗ)
 9. **Директива** 2001/18/ЕЭС Европейского парламента и Совета от 12 марта 2001 г. "О преднамеренном выпуске в окружающую среду генетически измененных организмов и аннулирование Директивы 90/220/ЕЕС Совета"
 10. Правила (ЕС) № 1830/2003 Европейского Парламента и Совета от 22 сентября 2003 г. Официальный журнал ЕС, 18.10.2003. L. 268.
 11. Картахенский протокол по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии, 29 февраля 2000 г.
 12. Постановление Правительства РФ от 16 февраля 2001 г. № 120 "О государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов";
 13. Постановление Правительства РФ от 29 августа 2001 г. № 634 "Об утверждении положения об осуществлении контроля за внешнеэкономической деятельностью в отношении возбудителей заболеваний (патогенов) человека, животных и растений, генетически измененных микроорганизмов, токсинов, оборудования и технологий" (в ред. Постановлений Правительства РФ от 03.10.2002 г. № 731, от 04.02.2005 г. № 54);
 14. Постановление Правительства РФ от 4 апреля 2001 г. № 262 "О государственной регистрации отдельных видов продукции, представляющих потенциальную опасность для человека, а также отдельных видов продукции, впервые ввозимых на территорию Российской Федерации" (в ред. Постановлений Правительства РФ от 05.07.2001 г. № 499, от 14.01.2002 г. № 11, от 11.02.2003 г. № 90, от 01.02.2005 г. № 49, от 26.01.2007 г. № 50, от 10.03.2007 г. № 149)
 15. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 6 апреля 1999 г. № 7 "О порядке гигиенической оценки и регистрации пищевой продукции, полученной из генетически модифицированных источников"
 16. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 14 ноября 2001 г. № 36 "О введении в действие санитарных правил" СанПиН 2.3.2.1078-01 "Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов" (с изменениями от 31 мая 2002 г.);
 17. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 16.09.2003 г. № 149 "О проведении микробиологической и молекулярно-генетической экспертизы генетически модифицированных микроорганизмов, используемых в производстве пищевых продуктов";
 18. Постановление Главного государственного врача Российской Федерации от 31.12.2004 г. № 13 "Об усилении надзора за пищевыми продуктами, полученными из ГМИ".
 19. Постановление Главного государственного врача Российской Федерации от 29 августа 2006 г. № 28 "Об усилении надзора за производством и оборотом пищевых продуктов";

20. Постановление Главного государственного врача Российской Федерации от 8 декабря 2006 г. № 32 "О надзоре за пищевыми продуктами, содержащими ГМО";
21. Постановление Правительства Москвы от 13 февраля 2007 г. № 88-ПП "О дополнительных мерах по обеспечению качества и безопасности пищевых продуктов, информированию потребителей в городе Москве";
22. ГОСТ Р 52173-2003 "Продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников растительного происхождения";
23. ГОСТ Р 52174-2003 "Биологическая безопасность. Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения с применением биологического микрочипа".
24. **Кодекс Алиментариус.** Комиссия "Кодекс Алиментариус" и Программа ФАО/ООН по стандартам на пищевые продукты

Дополнительная литература

1. Вл.В.Кузнецов, А.М.Куликов, И.А.Митрохин, В.Д.Цыдендамбаев 2004. Генетически модифицированные организмы и биологическая безопасность. *Экос*, № 10, 64 с.
2. О.А.Монастырский 2004. Продовольственная безопасность России: вчера, сегодня, завтра. *Экос*, № 4, 64 с.
3. ГМО – скрытая угроза России (И.В.Стариков, ред.). 2004. М.: ОАГБ, ЦЭПР, 144 с.
4. Е.В.Скурко 2007. Генно-инженерные биотехнологии. Вопросы правового и экономического регулирования. М.; Ось-89, 176 с.
5. Зоны свободные от ГМО (В.Б.Копейкина, ред.). 2007. М.: Геос, 106 с.
6. В.В.Закревский 2006. Генетически модифицированные источники пищи растительного происхождения. Практическое руководство по санитарно-эпидемиологическому надзору. СПб.: Диалект, ? с. – **у тебя должна быть ксерокопия!**

ССЫЛКИ НА ИНТЕРНЕТ-РЕСУРСЫ

Альянс стран СНГ "За биобезопасность"

<http://biosafety.ru/>

Новости Социально-экологического союза.

<http://www.seu.ru/seu-news/>

Codex Alimentarius

http://www.codexalimentarius.net/web/index_en.jsp

GM Regulations in Food – Feed (Workshop 09.06.2007)

http://www.afsca.be/labos/vorming/doc07/2007-09-06_NRL_GMO_WORKSHOP.pdf

Кодекс Алиментариус. Пищевые продукты, полученные методом современной биотехнологии.

<http://www.norden.org/pub/miljo/jordogskov/sk/TN2004541.pdf>

Farid E. Ahmed Testing of Genetically Modified Organisms in Foods

http://books.google.ru/books?id=hYFRbq3QR4EC&pg=RA1-PA216&lpg=RA1-PA216&dq=ISO/DIS+21569:2002&source=web&ots=DE3ojFwcWL&sig=77axGtgusOPTupv5pJiWImQs2yA&hl=ru&sa=X&oi=book_result&resnum=10&ct=result#PRA1-PA237,M1

International Organization of Standardization (ISO).

<http://www.iso.org/iso/home.htm>

Ресурсный Центр по Реализации Орхусской Конвенции

<http://www.aarhus.tj/National%20Rep.html>

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРЕПОДАВАТЕЛЯ

Пособие может успешно использоваться как для слушателей ДПО, так и для магистрантов, изучающих проблемы безопасности современных биотехнологий, а также законодательную базу, регулирующую генно-инженерную деятельность. Освоение данного курса предполагает чтение лекций, проведение лабораторно-практических и семинарских занятий. При этом тематика семинарских занятий выходит за рамки лекционного курса, что позволяет расширить кругозор слушателей по вопросам биобезопасности ГМО и полученных из них продуктов. Важным элементом и инновационностью предлагаемого пособия является проведение лабораторных занятий, на которых слушатели получают элементарные навыки молекулярно-биологической работы и приобретают практическую способность самостоятельно идентифицировать ГМИ в пищевых продуктах.

Данное пособие снабжено системой проверки знаний, которая включает:

1. контрольные вопросы, позволяющие оценить степень усвоения материала слушателями в процессе обучения;
2. предлагаются темы для самостоятельной работы студентов, которые будут развивать навыки работы слушателей с литературой и навыки подготовки ими научных выступлений; эти же цели преследует написание курсовых (реферативных) работ и их последующая защита.
3. Бально-рейтинговая система оценки открывает широкие возможности для проведения на каждом занятии (прежде всего, семинарском) экспресс-опросов студентов, используя для этой цели тестовые задания по темам, а также приведенные в пособии тренинговые задания.
4. Более основательная оценка слушателей может быть проведена на специальных коллоквиумах, на которых опрос с использованием предложенной в пособии тест-системы может сочетаться с проверкой глубины знаний всего пройденного материала, основываясь на вопросах итоговой аттестации.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ СТУДЕНТА

Сначала необходимо прочесть материал в конспекте лекций и в данном пособии, а также, в случае необходимости, в предлагаемой обязательной и дополнительной литературе. Затем надо усвоить

материал, рассматриваемый на семинарских и лабораторно-практических занятиях, после чего можно приступать к самопроверке знаний и подготовке к проверке знаний преподавателем. С этой целью надо попытаться ответить на вопросы, которые касаются пройденного на данный момент времени материала. Наиболее эффективным в усвоении предлагаемого курса могут оказаться тестовые задания, поскольку правильность ответов в этом случае может быть проверена слушателями без помощи преподавателя. После освоения материала можно обратиться к тренинговым заданиям, которые не имеют "подсказок". В случае затруднений необходимо консультироваться с преподавателем, а также обратиться к глоссарию. Изучению данного курса будет содействовать самостоятельная работа слушателей с литературой по темам, предложенным для самостоятельной работы. А также подготовка рефератов или курсовых работ. Глубокому пониманию методов идентификации трансгенов будут способствовать семинарские и научно-практические работы в лаборатории. К окончанию курса желательно, чтобы слушатели свободно отвечали на вопросы, предложенные для итоговой аттестации и без труда справлялись с тестовыми и тренинговыми заданиями.

Описание курса

Общее описание курса.

Курс дополнительной профессиональной подготовки в области агрономии, агробиотехнологии, рационального природопользования и безопасности.

Данный курс посвящен крайне актуальной проблеме, имеющей важное социальное и экономическое звучание, – оценке биологической безопасности генетически модифицированных (трансгенных) организмов (ГМО) и полученных из них продуктов. В рамках данного курса рассмотрены общие представления о структуре и функционировании генома, современные технологии получения ГМО и успехи, достигнутые в сельском хозяйстве и других сферах человеческой деятельности с помощью современных генно-инженерных технологий. Большое внимание уделено рассмотрению фундаментальных основ существования потенциальных и реальных рисков при использовании ГМО, а также анализу доступных литературных данных о пищевых, экологических и экономических рисках при широкомасштабном выращивании трансгенных растений. Рассматриваются вопросы международного и российского правового регулирования генно-инженерной деятельности, а также отношение населения и правительств различных стран мира к продуктам генно-инженерных технологий. Особое место отведено анализу современных методов идентификации трансгенов в сырье, продуктах питания и природных экосистемах, а также национальных стандартов, действующих в России в данной области, и стандартов ISO, посвященных регулированию потоков ГМ продуктов питания.

Целевая аудитория

Интенсивное использование в практике сельского хозяйства ГМО и полученных из них продуктов требует научно-обоснованной интерпретации достижений современных биотехнологий, прежде всего технологии рекомбинантных ДНК, и понимания причин возможных рисков в условиях научной неопределенности и отсутствия убедительных доказательств биобезопасности продуктов генноинженерной деятельности. Это пособие направлено на формирование у слушателей способности позитивно воспринимать современные генноинженерные технологии, которым, безусловно, принадлежит большое будущее, и одновременно понимать необходимость минимизации возможных негативных последствий от эксплуатации подобных технологий.

Предлагаемый учебный курс предназначен для специалистов-агрономов, прежде всего, агробиотехнологов, как дополнительный образовательный проект, или может быть курсом по выбору по специальности "Агрономия". Помимо этого данный курс может быть весьма полезен для широкого круга слушателей, интересующихся вопросами безопасности современных технологий для человека и среды его обитания.

По своему содержанию и целевому назначению этот курс предусматривает изучение теоретического материала, закрепление этого материала на семинарских занятиях, а также проведение лабораторных (практических занятий, на которых слушатели будут приобретать необходимый навык для исследования продуктов питания на наличие в них генетически модифицированных источников. Последнее может быть крайне полезно для последующей работы в органах Санэпиднадзора, институтах и лабораториях Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии, а также в других контролирующих ведомствах.

Содержание курса

Краткое введение в современную биотехнологию: история, достижения и перспективы. Успехи развития генно-инженерных технологий и их применение в различных сферах человеческой деятельности. Геном растений: структура и его регуляция. Функционирование индивидуальных генов и специфика экспрессии трансгенов. Современные подходы и методы при получении генетически модифицированных (трансгенных) растений. Ti- плазида – природный генный инженер. Методы прямой трансформации растений (биологическая баллистика, электропорация и др.). Проблемы биобезопасности ГМО и полученных из них продуктов: потенциальные и реальные риски для здоровья человека. Фундаментальные основы существования рисков. Безопасность разрешенных к коммерческому использованию ГМ продуктов питания. Реальные и потенциальные риски коммерческого выращивания генетически модифицированных сортов растений для агроценозов и природных экосистем. Восприятие населением разных стран трансгенных продуктов питания. Зоны, свободные от ГМО. Правовое регулирование потоков ГМО и продуктов их переработки. Картахенский протокол и трансграничное перемещение ГМО. Законодательное регулирование биобезопасности продуктов генно-инженерных технологий в США, странах Евросоюза и СНГ. Государственное регулирование генно-инженерной деятельности и безопасности ГМО и продуктов их переработки в России. Качественные методы идентификации и количественные методы оценки генетически-модифицированных источников в живых организмах и пищевых продуктах. Получение трансгенных и клонированных животных и проблемы биобезопасности. Комиссия "Кодекс Алиментариус" и Программа ФАО/ООН по стандартам на пищевые продукты. Перспективы создания ГМО, безопасных для человека и окружающей среды. Термины и определения в области молекулярной биологии, генетической инженерии и биобезопасности.

Требования к уровню усвоения содержания курса (знания, умения, навыки)

После изучения данного курса, студент должен:

- знать:
 - теоретические основы структуры и функционирования генома растений;
 - основы получения трансгенных растений методами генетической инженерии;
 - молекулярно-биологические методы идентификации трансгенов в растениях и в продуктах их переработки;
 - международное и национальное законодательство, регулирующее генноинженерную деятельность;
 - фундаментальные основы существования рисков генетически модифицированных организмов, безопасность которых не доказана;
 - научные данные по исследованию биологической безопасности ГМ организмов;

- иметь четкое представление о достижениях и перспективах развития генно-инженерных биотехнологий.
- уметь:
 - с научных позиций критически оценивать информацию по вопросам безопасности ГМО и продуктов их переработки;
 - представление о возможных экологических и экономических рисках при широкомасштабном выращивании трансгенных сортов растений;
 - иметь представление о возможных путях минимизации потенциальных рисков для человека и природной среды при выращивании ГМ сортов растений и употреблении ГМ пищевых продуктов;
 - практический навык самостоятельного анализа продуктов питания и сельскохозяйственных культур на наличие в них генетически модифицированных источников с использованием современных молекулярно-биологических методов;
 - основы знаний по организации и функционированию исследовательских лабораторий по анализу растительного материала на наличие в них генетически модифицированных источников.

Цели и задачи курса

Цель курса – теоретическая подготовка специалистов-агробиотехнологов, а также слушателей других специальностей, проявляющих интерес к вопросам безопасности новейших технологий, в области оценки биобезопасности генетически-модифицированных организмов и продуктов их переработки для человека и среды его обитания, с получением начальных практических навыков работы по идентификации трансгенов.

Основные задачи курса:

- дать представление о физико-химических основах генетической инженерии;
- дать представление о современных методах конструирования генетически модифицированных организмов;
- дать представление о международной и национальной законодательной базе в области контроля за биобезопасностью генетически модифицированных растений и продуктов их переработки;
- сформировать у слушателей теоретическую базу для самостоятельной научной оценки достижений и перспектив развития новейших генно-инженерных технологий, а также потенциальных рисков при их широком коммерческом использовании;
- сформировать начальные навыки идентификации трансгенов с помощью новейших молекулярно-биологических методов;
- ознакомить слушателей с организацией и функционированием системы контроля за потоками генетически модифицированных растений и полученных из них продуктов;

Инновационность курса

Создание курса по биологической безопасности генетически модифицированных растений представляется крайне своевременным и актуальным. Широкое использование в аграрном производстве ряда стран генетически модифицированных сортов сельскохозяйственных культур и повсеместная продажа продуктов питания, содержащих генетически модифицированные источники, вызывает беспокойство потребителей и остро ставит вопрос о необходимости подготовки специалистов в области оценки биобезопасности растений, полученных методами рекомбинантной ДНК, и трансгенных продуктов питания. Ценность создания данного курса определяется еще и тем, что в настоящее время в России отсутствуют пособия по идентификации и биобезопасности ГМ продуктов, в то время как интерес в мире к данной проблеме катастрофически растет и охватывает все более широкие слои населения. Помимо этого в области биобезопасности вступили в силу более 20 международных конвенций, хартий, договоров,

налагающих на подписавшие их страны обязательства по соблюдению принципа принятия мер предосторожности. Этот принцип должен соблюдаться и в России в случае широкомасштабного коммерческого выращивания ГМ сортов растений и появления на рынке трансгенных продуктов питания.

Данный курс может иметь и важное социальное значение для формирования научного отношения к современным биотехнологиям и адекватной оценке их потенциальных рисков. Это будет способствовать снятию напряженности в обществе, вызванной активным распространением среди населения двух крайних точек зрения, одна из которых полностью отрицает потенциальную или реальную опасность ГМО и полученных из них продуктов, тогда как другая, напротив, считает все ГМ продукты опасными. Объективная оценка ситуации в данной области будет способствовать развитию современных, эффективных и одновременно безопасных для человека и окружающей генноинженерных технологий

При создании курса используются новейшие научные достижения в генетической и клеточной инженерии, молекулярной биологии, биохимии и физиологии растений, а также самые последние данные, полученные в области технологии создания трансгенных сельскохозяйственных культур, идентификации трансгенов в растениях и сырье, оценке биобезопасности генетически модифицированных растений и продуктов, полученных на их основе. В рамках курса большое внимание уделено рассмотрению российского и международного законодательства в области регуляции генно-инженерной деятельности, а также нормативных документов, регламентирующих проведение оценки биобезопасности продуктов, содержащих генетически модифицированные источники. В рамках курса будут кратко рассмотрены потенциальные риски широкого использования трансгенных сортов растений для агроценозов и природных экосистем, а также возможные агротехнические риски.

В данном курсе предусмотрено использование новых учебно-методических материалов с применением информационно-коммуникационных технологий.

По каждой теме лабораторно-практического занятия слушатели заполняют соответствующий раздел рабочей тетради в электронном виде, используя дополнительную литературу, в том числе, ресурсы Интернета. Консультации в рамках курса могут осуществляться не только очно, но и с помощью электронной почты в ходе самостоятельного изучения слушателями материала

Структура курса

Продолжительность программы обучения составляет **72 часа**.

На изучение отводится:

- 24 часа лекционного времени,
- 12 часов лабораторно-практических занятий.
- 36 часов самостоятельной подготовки студентов.

Проводится два письменных коллоквиума (тестирования) на основе пройденного материала.

Организационно-методическое построение курса.

Лекционный курс предусматривает изучение физико-химических основ генетической инженерии растений, принципов и методов конструирования трансгенных организмов, ознакомление с современным состоянием и перспективами использования генно-инженерных технологий в аграрном производстве и других сферах человеческой деятельности, с вопросами биологической безопасности, международным и национальным законодательством в области обеспечения биологической безопасности генетически модифицированных растений и продуктов их переработки, а также с современными методами идентификации трансгенов и организации системы мониторинга за потоками генетически модифицированных пищевых продуктов.

Лабораторно-практические занятия включают в себя ознакомление с методами получения генетически модифицированных организмов и молекулярно-биологическими методами анализа экспрессии

индивидуальных генов, а также с новейшими методами, которые включают использование ПЦР, биологического микрочипа, ПЦР в реальном времени, иммуно-ферментного анализа для идентификации генетически модифицированных источников в сырье и пищевых продуктах.

На лабораторно-практических занятиях студенты получают начальные навыки работы современными молекулярно-биологическими методами идентификации трансгенов, получают опыт ведения экспериментальных журналов и описания полученных результатов анализа. После каждого занятия рабочая тетрадь подписывается преподавателем.

Итоговое занятие. Курс завершается выполнением итогового задания, защитой курсовой работы и сдачей экзамена.

Темы лекций

Тема 1.

Краткое введение в современную биотехнологию: достижения и перспективы генетической инженерии. Термины и определения (2 часа.)

Тема 2.

Геном растений: структура и его регуляция. Специфика экспрессии трансгенов (2 часа.)

Тема 3.

Современные подходы и методы при получении генетически модифицированных (трансгенных) растений (2 часа.)

Тема 4.

Проблемы биобезопасности ГМО и полученных из них продуктов: потенциальные и реальные риски для здоровья человека. Фундаментальные основы существования рисков (2 часа.)

Тема 5.

Реальные и потенциальные риски коммерческого выращивания генетически модифицированных сортов растений для агроценозов и природных экосистем (2 часа.)

Тема 6.

Восприятие населением разных стран трансгенных продуктов питания. Зоны, свободные от ГМО (2 часа.)

Тема 7.

Правовое регулирование потоков ГМО и продуктов их переработки. Картахенский протокол и трансграничное перемещение ГМО (2 часа.)

Тема 8.

Законодательное регулирование биобезопасности продуктов генно-инженерных технологий в США, странах Евросоюза и СНГ (2 часа.)

Тема 9.

Государственное регулирование генно-инженерной деятельности и безопасности ГМО и продуктов их переработки в России (2 часа.)

Тема 10.

Качественные методы идентификации и количественные методы оценки генетически-модифицированных источников в живых организмах и пищевых продуктах (2 часа.)

Тема 11.

Получение трансгенных и клонированных животных и проблемы биобезопасности (2 часа.)

Тема 12

Комиссия "Кодекс Алиментариус" и Программа ФАО/ООН по стандартам на пищевые продукты. Перспективы создания ГМО безопасных для человека и окружающей среды (2 часа.)

Темы лабораторно-практических и семинарских занятий

Занятие 1. Методы изучения экспрессии генов (2 часа)

Занятие 2. Методические основы генно-инженерных манипуляций. Способы переноса генетической информации в клетки растений (4 часа)

Занятие 3. Правила техники безопасности в лаборатории. Методы идентификации трансгенов: ПЦР и электрофорез, использование биочипов (2 часа)

Занятие 4. Методы количественной оценки трансгенов: ПЦР в реальном времени, иммуноферментный анализ (2 часа)

Занятие 5. Методы оценки риска пищевых продуктов для здоровья человека (2 часа)

Описание системы контроля знаний

Условия и критерии системы контроля знаний. От студентов требуется посещение лекций, обязательное посещение лабораторно-практических занятий, обязательная сдача коллоквиумов, обязательное заполнение рабочей тетради.

Особо ценится активная работа на лабораторно-практических занятиях. Для успешной работы студент должен прочесть указанную преподавателем накануне литературу и активно участвовать в дискуссии на семинарах.

Самостоятельная работа студента предполагает, прежде всего, внимательное изучение дополнительных теоретических материалов и образовательных Интернет-ресурсов к каждой теме, осуществление самопроверки с помощью вопросов, приведенных в конце темы, обязательное выполнение практических индивидуальных заданий, а также обязательное выполнение индивидуальной письменной курсовой итоговой работы.

Курс завершается выполнением итогового задания, защитой своей работы и сдачей экзамена за весь курс.

Правила проведения рубежного контроля знаний по дисциплине.

Коллоквиумы (рубежная аттестация) в течение курса проводится дважды – на 5-й неделе после получения базовых знаний в области молекулярной биологии и генетической инженерии и на 12 неделе, когда слушатели освоят теоретический материал по биобезопасности ГМО и получают практические навыки по самостоятельному исследованию продуктов питания и сырья на наличие генетически модифицированных источников. Перечень вопросов, выносимых на коллоквиум, дается за неделю до проведения аттестации. Конкретные вопросы, на которые предстоит отвечать студентам, определяются по вариантам в день аттестации. Каждый вариант включает в себя как теоретические вопросы, так и задания по практическим занятиям.

Время, выделяемое на написание контрольной работы – 1 академический час.

Защита письменной итоговой работы проводится на последнем занятии. Перечень тем работ для защиты на итоговом занятии предоставляется слушателям на первом занятии.

Бально-рейтинговая система

Бально-рейтинговая система оценки успеваемости является обязательной для слушателей ДПО.

В соответствии с бально-рейтинговой системой слушатель, набирая баллы по формам учебной работы в ходе изучения данной дисциплины, имеет возможность:

- автоматически получить зачет и итоговую оценку "отлично", "хорошо" или "удовлетворительно" по курсу, не сдавая экзамена.

В соответствии с бально-рейтинговой системой оценивается также курсовая работа, по итогам защиты которой слушателю выставляется оценка.

Правила бально-рейтинговой системы:

- сообщаются слушателям в начале обучения;
- размещаются на странице преподавателя на учебном портале РУДН (<http://web-local.rudn.ru>);
- не могут быть изменены до завершения курса.

Балльная структура оценки:

Посещение занятий – 1 балл (1 балл x 12 = **12 баллов**);

Активная работа на семинарских занятиях (научные сообщения, самостоятельное изучение и освещение дополнительных вопросов курса) – 18 баллов (3 балла x 6 = **18 баллов**)

Рубежный контроль – два коллоквиума в семестр по 20 баллов каждый (20 баллов x 2 = **40 баллов**).

Защита итогового курсового проекта (работы) – **30 баллов**;

Всего – **100 баллов**.

Шкала оценок:

A (5+) – 95 – 100 баллов;

B (5) - 90 – 94;

C (4) – 76 – 89;

D (3+) – 60 – 75;

E (3) – 56 – 59;

FX (2+) – 33 – 55;

F (2) – менее 33.

Показатель		Неудовлетворительно		Удовлетворительно		Хорошо	Отлично	
кредит	Сумма баллов	F	FX	E	D	C	B	A
		2	2+	3	3+	4	5	5+
2	100	менее 33	33-55	56-59	60-75	76-89	90-94	95-100

Пояснение оценок:

A – выдающийся ответ;

B – очень хороший ответ;

C – хороший ответ;

D – достаточно удовлетворительный ответ;

E – отвечает минимальным требованиям удовлетворительного ответа;

FX – означает, что студент может добрать баллы только до минимального удовлетворительного ответа

F – неудовлетворительный ответ (либо повтор курса в установленном порядке, либо основание для отчисления).

Академическая этика

Все имеющиеся в творческой работе сноски тщательно выверяются и снабжаются "адресами". Не допустимо включать в свою работу выдержки из работ других авторов без указания на это, пересказывать чужую работу близко к тексту без отсылки к ней, использовать чужие идеи без указания первоисточников. Это касается и источников, найденных в интернете. Необходимо указывать полный адрес сайта. Все случаи плагиата должны быть исключены. В конце работы дается исчерпывающий список всех использованных источников.

Темы курсовых работ

1. Конструирование генетически-модифицированных растений.
2. Методы трансформации растений.
3. Современные методы идентификации генетически модифицированных источников в растительном сырье и полученных из них продуктов.
4. Отечественные и международные ГОСТы для анализа продуктов питания на наличие генетически-модифицированных источников.
5. Агробактериальная трансформация растений. T1 - плаزمида – природный генный инженер.
6. Конструирование различных сортов сельскохозяйственных культур с полезными свойствами (устойчивость к пестицидам, абиотическим факторам, насекомым, биопатогенам и т.п.).
7. Трансгенные продукты питания и возможные пищевые риски.
8. Перспективы использования современных генно-инженерных технологий.
9. Преимущества и недостатки генно-инженерного способа получения трансгенных растений.
10. Клонирование животных и человека: возможные риски.
11. Технология получения съедобных вакцин и проблемы биобезопасности.
12. Генетически-модифицированные сорта сельскохозяйственных культур и проблемы генетического загрязнения агроценозов и природных экосистем.
13. Картахенский протокол и проблемы трансграничного перемещения генетически – модифицированных организмов.
14. Сравнительный анализ правового регулирования биобезопасности ГМО в США и странах Евросоюза.
15. Правовое регулирование биобезопасности ГМО и продуктов их переработки в России.
16. Оценка биологической безопасности устойчивых к пестицидам ГМ сортов растений.
17. Трансгенные животные: перспективы использования в различных сферах деятельности и возможные риски.
18. "Устойчивые" к листогрызущим насекомым трансгенные сельскохозяйственные культуры и проблемы сохранения биоразнообразия.

Программа курса

Аннотированное содержание курса

Содержание лекционного курса

Тема 1.

Краткое введение в современную биотехнологию: достижения и перспективы генетической инженерии. Термины и определения (2 часа)

- Молекулярная биология и молекулярная генетика как основа генетической инженерии.
- Краткая историческая справка об основных этапах развития биотехнологии.
- Состояние и дальнейшие перспективы развития генетической инженерии в сельском хозяйстве.
- Состояние и перспективы развития генетической инженерии в медицине и других сферах человеческой деятельности.

- Потенциальные риски для человека и окружающей среды, связанные с развитием современных генно-инженерных технологий.
- Термины и определения:
 - молекулярно-биологические
 - генно-инженерные
 - специфика терминов из области биологической безопасности
 - особенность терминологии законодательного регулирования биобезопасности ГМО и продуктов их переработки в национальных и международных правовых актах.

Тема 2.

Геном растений: структура и его регуляция. Специфика экспрессии трансгенов (2 часа.)

- Регуляция транскрипции генов у прокариот.
- Сколько генов содержит эукариотическая клетка.
- Особенности структуры генома растений.
- Геномы митохондрий и пластид: структура и регуляция.
- Регуляция транскрипции эукариотических генов.
- Как построены эукариотические гены.
- Регуляторные последовательности эукариотического гена. Эхансеры. Сайленсоры. Как изучают регуляторные элементы гена.
- Различные уровни регуляции экспрессии генов эукариот.
- Специфика экспрессии трансгенов у растений.
- Внутриклеточные механизмы передачи сигнала и вторичные мессенджеры.

Тема 3.

Современные подходы и методы при получении генетически модифицированных (трансгенных) растений (2 часа)

- Введение в проблему (подбор целевого гена, выбор метода переноса транс-гена в растение, регенерация растения и доказательства его трансгенности).
- Агробактериальная трансформация – природный генный инженер. Векторы на основе Ti- и Ri-плазмид. Общее понятие о промежуточных, бинарных и челночных векторах.
- ДНК-содержащие вирусы как векторные молекулы.
- Перспективы использования геномов хлоропластов и митохондрий для создания векторов.
- Методы прямого переноса ДНК в клетки растений (микроинъекция ДНК, трансформация растительных протопластов, электропорация, перенос трансгенов с помощью липосом). Метод биологической баллистики.
- Регенерация растений из трансформированных клеток.
- Энзимология генно-инженерных манипуляций.
- Доказательства трансгенности полученных растений.

Тема 4.

Проблемы биобезопасности ГМО и полученных из них продуктов: потенциальные и реальные риски для здоровья человека. Фундаментальные основы существования рисков (2 часа)

- Действие токсичных и аллергенных трансгенных белков ГМО на человека и других теплокровных

- Риски, опосредованные плейотропным действием трансгенов и кодируемых ими белков на функционирование генома и метаболизм растений
- Риски, опосредованные накоплением гербицидов и их метаболитов в устойчивых к гербицидам сортах и видах с/х растений
- Риски горизонтального переноса трансгенных конструкций, в том числе генов устойчивости к антибиотикам, в геном симбионтных для человека и животных бактерий
- Риски производства биологически активных веществ с помощью ГМО
- Фундаментальные основы существования рисков

Тема 5.

Реальные и потенциальные риски коммерческого выращивания генетически модифицированных сортов растений для агроценозов и природных экосистем (2 часа)

- Неконтролируемый перенос трансгенных конструкций вследствие переопыления с дикорастущими родственниками, что снижает биоразнообразие;
- Риски неконтролируемого горизонтального переноса трансгенных конструкций в почвенную микрофлору;
- Снижение биоразнообразия через поражение токсичными трансгенными белками нецелевых насекомых и почвенной микрофлоры, что приводит к нарушению трофических цепей;
- Риски быстрого появления устойчивости к используемым трансгенным токсинам у насекомых-фитофагов, бактерий, грибов и других вредителей;
- Риски появления новых, более патогенных штаммов фитовирусов при взаимодействии фитовирусов с трансгенными конструкциями

Тема 6.

Восприятие населением разных стран трансгенных продуктов питания. Зоны, свободные от ГМО (2 часа)

- Отношение населения США, стран Африканского континента, Евросоюза к выращиванию ГМ растений и потреблению трансгенных продуктов питания;
- Требования к маркированию продуктов питания в разных регионах мира
- Движение общественности за создание зон, свободных от ГМО;
- Политика Правительства Москвы в области регулирования безопасности ГМ продуктов питания.

Тема 7.

Правовое регулирование потоков ГМО и продуктов их переработки. Картахенский протокол и трансграничное перемещение ГМО (2 часа)

- 1986 г. – начало работы комиссии ООН по разработке руководящих принципов в области биотехнологий;
- 1993 г. вступила в силу Конвенция о биологическом разнообразии;
- 2000 г. – принят Картахенский протокол по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии;
 - обозначен основной принцип биобезопасности – международно-правовой принцип принятия мер предосторожности;
 - определен объект – ГМО, полученный с помощью биотехнологий и способный негативно влиять на биоразнообразие;
 - сфера действия Протокола – трансграничное перемещение ГМО;
 - Упрощенная процедура ввоза некоторых видов ГМО;

- Обязательства государств по выполнению взятых на себя международных обязательств по соблюдению условий Протокола;
- Привлечение общественности к соблюдению сторонами условий Картахенского протокола

Тема 8.

Законодательное регулирование биобезопасности продуктов генно-инженерных технологий в США, странах Евросоюза и СНГ (2 часа)

- Государственное регулирование биобезопасности в США (Мин-во с/х США (USDA), Агентство по охране окружающей среды (EPA), Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Министерства здравоохранения и санитарных услуг (FDA))
- Регулирование биобезопасности генно-инженерной деятельности при выпуске ГМО в окружающую среду или в замкнутые системы;
- Госрегулирование биобезопасности при высвобождении в окружающую среду трансгенных организмов с пестицидными признаками.
- Евросоюз – Директивы 90/219/ЕЕС и 2001/18/ЕС. Специфика государственного регулирования биобезопасности ГМО в Евросоюзе.
- Регулирование биобезопасности ГМО в Республике Беларусь и других странах СНГ.

Тема 9.

Государственное регулирование генно-инженерной деятельности и безопасности ГМО и продуктов их переработки в России (2 часа)

- РФ участник Конвенции о биологическом разнообразии 1992 г.
- Закон о государственном регулировании генно-инженерной деятельности (1996) и целый ряд других близких законов;
- Межведомственная комиссия по проблемам генно-инженерной деятельности;
- Выделено 4 группы риска
- Обязательность маркирования ГМ продуктов питания;
- Порядок регистрации ГМ организмов и ГМ сырья

Тема 10.

Качественные методы идентификации и количественные методы оценки генетически-модифицированных источников в живых организмах и пищевых продуктах (2 часа)

- Теоретическая база разработки методов идентификации трансгенов;
- Национальный стандарт на качественную идентификацию ГМИ с использованием обычно ПЦР и электрофореза, а также мультиплексной ПЦР и биочипов;
- ГОСТ Р 52173-2003 "Продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников растительного происхождения";
- ГОСТ Р 52174-2003 "Биологическая безопасность. Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения с применением биологического микрочипа".
- Методы количественной оценки содержания ГМИ в трансгенных организмах и продуктах их переработки с использованием ПЦР в реальном времени;
- Методы количественной оценки содержания ГМИ в трансгенных организмах и продуктах их переработки с использованием Вестерн-блот-анализа.

Тема 11.

Получение трансгенных и клонированных животных и проблемы биобезопасности (2 часа)

- Технология трансгеноза животных организмов
- Технология клонирования животных
- Клонирование человека
- Проблемы безопасности трансгенных и клонированных животных;
- Перспективы получения и использования трансгенных животных в различных областях человеческой деятельности.

Тема 12

Комиссия "Кодекс Алиментариус" и Программа ФАО/ООН по стандартам на пищевые продукты. Перспективы создания ГМО безопасных для человека и окружающей среды (2 часа)

- Генетически модифицированные продукты как новый вид пищи, на которую распространяется принцип принятия мер предосторожности;
- ISO в области безопасности генетически модифицированных продуктов питания;
- Требование к фирмам-создателям новых сортов с/х культур Комиссии "Кодекс Алиментариус" конструировать трансгенные растения нового поколения, обладающие минимальными рисками для окружающей среды и человека.

Лабораторно-практические занятия

Занятие 1. Правила техники безопасности в лаборатории. Методы идентификации трансгенов: ПЦР и электрофорез, использование биочипов.

Информационное обеспечение занятия.

Основная литература:

1. ГОСТ Р 52173-2003 "Продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников растительного происхождения";
2. ГОСТ Р 52174-2003 "Биологическая безопасность. Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения с применением биологического микрочипа".

Дополнительная литература:

1. Primrose S.B. and Twyman "Principes of Gene manipulation and Genomics" (7th Edition). Blackwell Publishing, USA, 2006, 644 p.

Занятие 2. Методы количественной оценки трансгенов: ПЦР в реальном времени, иммуноферментный анализ

Информационное обеспечение занятия.

Обязательная литература:

1. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. 1984. "Методы генетической инженерии".

2. Методические инструкции фирм-производителей амплификаторов, обеспечивающих количественную оценку продуктов ПЦР в реальном времени.

Дополнительная литература:

1. Primrose S.B. and Twyman "Principes of Gene manipulation and Genomics" (7th Edition). Blackwell Publishing, USA, 2006, 644 p.

Семинарские занятия

Семинар 1. Методы изучения экспрессии генов.

Вопросы к семинару:

1. Выделение нуклеиновых кислот.
2. Электрофорез нуклеиновых кислот.
3. Молекулярная гибридизация нуклеиновых кислот.
4. Нозерн-гибридизация, Саузерн-гибридизация, дот-гибридизация.
5. Вестерн-гибридизация.
6. Полимеразная цепная реакция. ПЦР в реальном времени.
7. Обратная транскрипция-полимеразная цепная реакция.

Семинар 2. Методические основы генно-инженерных манипуляций. Способы переноса генетической информации в клетки растений.

Вопросы к семинару:

1. Энзимология генно-инженерных манипуляций.
2. Векторы и создание рекомбинантных ДНК. Экспрессируемые векторы. Экспрессия генов в бактериях. Бактериальные плазмидные векторы.
3. Библиотеки генов на базе плазмидных векторов и бактериофага. Создание библиотек генов на базе плазмид-космид.
4. Выделение генов.
5. Синтез кДНК. Создание банка кДНК.
6. Способы трансформации растений.

Семинар 3. Оценка риска пищевых продуктов для здоровья человека.

Вопросы к семинару:

1. Комиссия "Кодекс Алиментариус" и вопросы биобезопасности трансгенных пищевых продуктов.
2. Оценка токсичности ГМ пищевых продуктов
3. Аллергенный потенциал ГМ пищевых продуктов
4. Использование концепции существенной эквивалентности для оценки биобезопасности ГМО и продуктов их переработки.
5. Возможные механизмы негативного воздействия ГМ продуктов питания на организм человека.

Биологическая безопасность генетически модифицированных организмов (экспертиза продуктов питания на биобезопасность)

Тематический План

Содержание лекционного курса

Тема 1.

Краткое введение в современную биотехнологию: достижения и перспективы генетической инженерии. Термины и определения (2 часа)

- Молекулярная биология и молекулярная генетика как основа генетической инженерии.
- Краткая историческая справка об основных этапах развития биотехнологии.
- Состояние и дальнейшие перспективы развития генетической инженерии в сельском хозяйстве.
- Состояние и перспективы развития генетической инженерии в медицине и других сферах человеческой деятельности.
- Потенциальные риски для человека и окружающей среды, связанные с развитием современных генно-инженерных технологий.
- Термины и определения:
 - молекулярно-биологические
 - генно-инженерные
 - специфика терминов из области биологической безопасности
 - особенность терминологии законодательного регулирования биобезопасности ГМО и продуктов их переработки в национальных и международных правовых актах.

Тема 2.

Геном растений: структура и его регуляция. Специфика экспрессии трансгенов (2 часа.)

- Регуляция транскрипции генов у прокариот.
- Сколько генов содержит эукариотическая клетка.
- Особенности структуры генома растений.
- Геномы митохондрий и пластид: структура и регуляция.
- Регуляция транскрипции эукариотических генов.
- Как построены эукариотические гены.
- Регуляторные последовательности эукариотического гена. Энхансеры. Сайленсоры. Как изучают регуляторные элементы гена.
- Различные уровни регуляции экспрессии генов эукариот.
- Специфика экспрессии трансгенов у растений.
- Внутриклеточные механизмы передачи сигнала и вторичные мессенджеры.

Тема 3.

Современные подходы и методы при получении генетически модифицированных (трансгенных) растений (2 часа)

- Введение в проблему (подбор целевого гена, выбор метода переноса транс-гена в растение, регенерация растения и доказательства его трансгенности).

- Агробактериальная трансформация – природный генный инженер. Векторы на основе Ti- и Ri-плазмид. Общее понятие о промежуточных, бинарных и челночных векторах.
- ДНК-содержащие вирусы как векторные молекулы.
- Перспективы использования геномов хлоропластов и митохондрий для создания векторов.
- Методы прямого переноса ДНК в клетки растений (микроинъекция ДНК, трансформация растительных протопластов, электропорация, перенос трансгенов с помощью липосом). Метод биологической баллистики.
- Регенерация растений из трансформированных клеток.
- Энзимология генно-инженерных манипуляций.
- Доказательства трансгенности полученных растений.

Тема 4.

Проблемы биобезопасности ГМО и полученных из них продуктов: потенциальные и реальные риски для здоровья человека. Фундаментальные основы существования рисков (2 часа)

- Действие токсичных и аллергенных трансгенных белков ГМО на человека и других теплокровных
- Риски, опосредованные плейотропным действием трансгенов и кодируемых ими белков на функционирование генома и метаболизм растений
- Риски, опосредованные накоплением гербицидов и их метаболитов в устойчивых к гербицидам сортах и видах с/х растений
- Риски горизонтального переноса трансгенных конструкций, в том числе генов устойчивости к антибиотикам, в геном симбионтных для человека и животных бактерий
- Риски производства биологически активных веществ с помощью ГМО
- Фундаментальные основы существования рисков

Тема 5.

Реальные и потенциальные риски коммерческого выращивания генетически модифицированных сортов растений для агроценозов и природных экосистем (2 часа)

- Неконтролируемый перенос трансгенных конструкций вследствие переопыления с дикорастущими родственниками, что снижает биоразнообразие;
- Риски неконтролируемого горизонтального переноса трансгенных конструкций в почвенную микрофлору;
- Снижение биоразнообразия через поражение токсичными трансгенными белками нецелевых насекомых и почвенной микрофлоры, что приводит к нарушению трофических цепей;
- Риски быстрого появления устойчивости к используемым трансгенным токсинам у насекомых-фитофагов, бактерий, грибов и других вредителей;
- Риски появления новых, более патогенных штаммов фитовирусов при взаимодействии фитовирусов с трансгенными конструкциями

Тема 6.

Восприятие населением разных стран трансгенных продуктов питания. Зоны, свободные от ГМО (2 часа)

- Отношение населения США, стран Африканского континента, Евросоюза к выращиванию ГМ растений и потреблению трансгенных продуктов питания;
- Требования к маркированию продуктов питания в разных регионах мира
- Движение общественности за создание зон, свободных от ГМО;
- Политика Правительства Москвы в области регулирования безопасности ГМ продуктов питания.

Тема 7.

Правовое регулирование потоков ГМО и продуктов их переработки. Картахенский протокол и трансграничное перемещение ГМО (2 часа)

- 1986 г. – начало работы комиссии ООН по разработке руководящих принципов в области биотехнологий;
- 1993 г. вступила в силу Конвенция о биологическом разнообразии;
- 2000 г. – принят Картахенский протокол по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии;
 - обозначен основной принцип биобезопасности – международно-правовой принцип принятия мер предосторожности;
 - определен объект – ГМО, полученный с помощью биотехнологий и способный негативно влиять на биоразнообразие;
 - сфера действия Протокола – трансграничное перемещение ГМО;
 - Упрощенная процедура ввоза некоторых видов ГМО;
 - Обязательства государств по выполнению взятых на себя международных обязательств по соблюдению условий Протокола;
 - Привлечение общественности к соблюдению сторонами условий Картахенского протокола

Тема 8.

Законодательное регулирование биобезопасности продуктов генно-инженерных технологий в США, странах Евросоюза и СНГ (2 часа)

- Государственное регулирование биобезопасности в США (Мин-во с/х США (USDA), Агентство по охране окружающей среды (EPA), Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Министерства здравоохранения и санитарных услуг (FDA)§
- Регулирование биобезопасности генно-инженерной деятельности при выпуске ГМО в окружающую среду или в замкнутые системы;
- Госрегулирование биобезопасности при высвобождении в окружающую среду трансгенных организмов с пестицидными признаками.
- Евросоюз – Директивы 90/219/ЕЕС и 2001/18/ЕС. Специфика государственного регулирования биобезопасности ГМО в Евросоюзе.
- Регулирование биобезопасности ГМО в Республике Беларусь и других странах СНГ.

Тема 9.

Государственное регулирование генно-инженерной деятельности и безопасности ГМО и продуктов их переработки в России (2 часа)

- РФ участник Конвенции о биологическом разнообразии 1992 г.
- Закон о государственном регулировании генно-инженерной деятельности (1996) и целый ряд других близких законов;
- Межведомственная комиссия по проблемам генно-инженерной деятельности;
- Выделено 4 группы риска
- Обязательность маркирования ГМ продуктов питания;
- Порядок регистрации ГМ организмов и ГМ сырья

Тема 10.

Качественные методы идентификации и количественные методы оценки генетически-модифицированных источников в живых организмах и пищевых продуктах (2 часа)

- Теоретическая база разработки методов идентификации трансгенов;
- Национальный стандарт на качественную идентификацию ГМИ с использованием обычно ПЦР и электрофореза, а также мультиплексной ПЦР и биочипов;
- ГОСТ Р 52173-2003 "Продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников растительного происхождения";
- ГОСТ Р 52174-2003 "Биологическая безопасность. Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения с применением биологического микрочипа".
- Методы количественной оценки содержания ГМИ в трансгенных организмах и продуктах их переработки с использованием ПЦР в реальном времени;
- Методы количественной оценки содержания ГМИ в трансгенных организмах и продуктах их переработки с использованием Вестерн-блот-анализа.

Тема 11.

Получение трансгенных и клонированных животных и проблемы биобезопасности (2 часа)

- Технология трансгеноза животных организмов
- Технология клонирования животных
- Клонирование человека
- Проблемы безопасности трансгенных и клонированных животных;
- Перспективы получения и использования трансгенных животных в различных областях человеческой деятельности.

Тема 12

Комиссия "Кодекс Алиментариус" и Программа ФАО/ООН по стандартам на пищевые продукты. Перспективы создания ГМО безопасных для человека и окружающей среды (2 часа)

- Генетически модифицированные продукты как новый вид пищи, на которую распространяется принцип принятия мер предосторожности;
- ISO в области безопасности генетически модифицированных продуктов питания;
- Требование к фирмам-создателям новых сортов с/х культур Комиссии "Кодекс Алиментариус" конструировать трансгенные растения нового поколения, обладающие минимальными рисками для окружающей среды и человека.

Лабораторно-практические занятия

Занятие 1. Правила техники безопасности в лаборатории. Методы идентификации трансгенов: ПЦР и электрофорез, использование биочипов.

Информационное обеспечение занятия.

Основная литература:

1. ГОСТ Р 52173-2003 "Продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников растительного происхождения";

2. ГОСТ Р 52174-2003 "Биологическая безопасность. Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения с применением биологического микрочипа".

Дополнительная литература:

1. Primrose S.B. and Twyman "Principes of Gene manipulation and Genomics" (7th Edition). Blackwell Publishing, USA, 2006, 644 p.

Занятие 2. Методы количественной оценки трансгенов: ПЦР в реальном времени, иммуноферментный анализ

Информационное обеспечение занятия.

Обязательная литература:

1. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. 1984. "Методы генетической инженерии".
2. Методические инструкции фирм-производителей амплификаторов, обеспечивающих количественную оценку продуктов ПЦР в реальном времени.

Дополнительная литература:

1. Primrose S.B. and Twyman "Principes of Gene manipulation and Genomics" (7th Edition). Blackwell Publishing, USA, 2006, 644 p.

Семинарские занятия

Семинар 1. Методы изучения экспрессии генов.

Вопросы к семинару:

1. Выделение нуклеиновых кислот.
2. Электрофорез нуклеиновых кислот.
3. Молекулярная гибридизация нуклеиновых кислот.
4. Нозерн-гибридизация, Саузерн-гибридизация, дот-гибридизация.
5. Вестерн-гибридизация.
6. Полимеразная цепная реакция. ПЦР в реальном времени.
7. Обратная транскрипция-полимеразная цепная реакция.

Семинар 2. Методические основы генно-инженерных манипуляций. Способы переноса генетической информации в клетки растений.

Вопросы к семинару:

1. Энзимология генно-инженерных манипуляций.
2. Векторы и создание рекомбинантных ДНК. Экспрессируемые векторы. Экспрессия генов в бактериях. Бактериальные плазмидные векторы.
3. Библиотеки генов на базе плазмидных векторов и бактериофага. Создание библиотек генов на базе плазмид-космид.
4. Выделение генов.

5. Синтез кДНК. Создание банка кДНК.
6. Способы трансформации растений.

Семинар 3. Оценка риска пищевых продуктов для здоровья человека.

Вопросы к семинару:

1. Комиссия "Кодекс Алиментариус" и вопросы биобезопасности трансгенных пищевых продуктов.
2. Оценка токсичности ГМ пищевых продуктов
3. Аллергенный потенциал ГМ пищевых продуктов
4. Использование концепции существенной эквивалентности для оценки биобезопасности ГМО и продуктов их переработки.
5. Возможные механизмы негативного воздействия ГМ продуктов питания на организм человека.



Кузнецов Владимир Васильевич Цыдендамбаев Владимир

Член-корреспондент Российской академии наук, доктор биологических наук, профессор, директор Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, профессор кафедры ботаники, физиологии, патологии растений и агrobiотехнологии Аграрного факультета РУДН, председатель Технического комитета "Биологическая безопасность пищевых продуктов, кормов, товаров народного потребления и методы ее контроля" Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии, эксперт Комитета по безопасности Государственной думы РФ, председатель Научного совета по физиологии растений и фотосинтезу Российской академии наук. Основные направления научной деятельности – адаптация и выживание растений в экстремальных условиях, биологическая безопасность, регуляция экспрессии генома. Автор более 250 научно-методических работ, а также национальных стандартов по биобезопасности пищевых продуктов.

Дылыкович

Кандидат биологических наук, заместитель директора Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, член Координационного совета по развитию методов контроля за распространением генно-модифицированной продукции, включая организмы (ГМО) и источники (ГМИ), и Технического комитета "Биологическая безопасность пищевых продуктов, кормов, товаров народного потребления и методы ее контроля" Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии. Основное направление научных исследований – физиология, биохимия и молекулярная биология растений. Автор более 100 научных статей, 2 авторских свидетельств и патентов, а также национальных стандартов по биобезопасности пищевых продуктов.